

lek. Aleksandra Paluszkiewicz

Rozprawa Doktorska

"Ocena łącznego zastosowania
cytodiagnostyki i molekularnej identyfikacji DNA
HPV w wykrywaniu śródnabłonkowej neoplazji szyjki
macicy"

Promotor: prof. dr hab. Witold Kędzia

Klinika Ginekologii

Katedra Ginekologii i Perinatologii

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań 2014

*Składam serdeczne podziękowania
mojemu Promotorowi i mentorowi
Prof. Witoldowi Kędzi
za wszelką pomoc, jakiej mi udzielił
w czasie dotychczasowej współpracy,
a zwłaszcza za cenne uwagi merytoryczne.*

*Pragnę również podziękować
Dr Marcinowi Przybylskiemu
za wsparcie, zachętę i okazaną pomoc.*

Spis treści :

1. Wstęp.....	5
1.1. Epidemiologia raka szyjki macicy.....	5
1.2. Profilaktyka i trendy epidemiologiczne raka szyjki macicy w Europie.....	8
1.3. Sytuacja epidemiologiczna i prognozy zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy w Polsce.....	12
1.4. Podstawy programu profilaktyki raka szyjki macicy.....	20
1.4.1 Rozpoczęcie i zakończenie skriningu, odstępy między badaniami.....	21
1.4.2 Wybór testu skriningowego.....	24
1.5. Populacyjny Program Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy w Polsce – założenia, cele, problemy.....	29
1.6. Wirus brodawczaka ludzkiego a rak szyjki macicy.....	36
1.6.1 Rola odkrycia HPV.....	36
1.6.2 Zakażenie HPV i jego rola w karcynogenezie.....	37
1.6.3 Śródnabłonkowa neoplazja szyjki macicy jako rzeczywisty stan przedrakowy.....	39
1.6.4 Zakażenie HPV incydentalne i przetrwałe.....	42
1.6.5 Diagnostyka HPV.....	44
1.7 Nowa koncepcja narzędzia diagnostycznego – test podwójny.....	47
1.8 Koszty skriningu.....	49
2. Cele pracy.....	50
3. Materiał.....	51
4. Metodyka badań.....	52
4.1. Cytodiagnostyka.....	52
4.2. Diagnostyka wirusologiczna.....	52
4.3. Badanie kolposkopowe.....	53
4.4. Biopsja szyjki macicy.....	54
5. Metody statystyczne.....	56
6. Wyniki badań.....	57
6.1. Wyniki cytodiagnostyki i testu molekularnego.....	61
6.2. Wyniki testu podwójnego.....	73

6.3. Analiza ekonomiczna.....	74
7. Wnioski.....	76
8. Dyskusja.....	77
Streszczenie.....	84
Summary.....	86
Spis tabel.....	88
Spis wykresów.....	90
Spis rycin.....	92
Wykaz skrótów.....	93
Piśmiennictwo.....	96

1. Wstęp

1.1. Epidemiologia raka szyjki macicy.

Rak szyjki macicy, powodując 528 000 nowych zachorowań rocznie, znajduje się obecnie na czwartym miejscu wśród nowotworów złośliwych u kobiet na świecie, plasując się za rakiem piersi, jelita grubego i płuc.¹ Jest również czwartą najczęstszą przyczyną zgonów kobiet z powodu nowotworów złośliwych na świecie. W 2012 roku liczba zgonów z powodu raka szyjki macicy sięgnęła 266 000, co stanowi 7,5 % wszystkich zgonów kobiet, których przyczyną były nowotwory złośliwe. Analizując powyższe dane należy pamiętać, że dotyczą one jedynie krajów prowadzących wiarygodną rejestrację chorób nowotworowych.

Prawie 70% przypadków rejestrowanych jest w krajach rozwijających się Afryki, części Azji i Ameryki Południowej, gdzie rak szyjki macicy odpowiada za większość przypadków przedwczesnej umieralności wśród kobiet w wieku reprodukcyjnym. Wysoka zapadalność i umieralność na raka szyjki macicy powoduje, że stanowi on problem zdrowotny o zasięgu globalnym.¹

Rak szyjki macicy pozostaje najczęstszym nowotworem złośliwym u kobiet w krajach Afryki Wschodniej i Środkowej.² Globalnie ponad 1/5 nowych zachorowań na ten nowotwór notuje się w Indiach.¹

Wartości współczynników standaryzowanych zachorowalności na raka szyjki macicy znacząco odbiegają od siebie w poszczególnych regionach świata, różnice te sięgają nawet 20 punktów. Od lat najwyższe standaryzowane współczynniki zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy dotyczą krajów Afryki Subsaharyjskiej, gdzie notuje się rocznie 34,8 nowych zachorowań na 100 000 kobiet, z czego średnio 22,5 kobiety umierają z powodu tej choroby.¹

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem, będąca częścią WHO, kładzie duży nacisk na konieczność prowadzenia efektywnego skriningu i szczepień ochronnych przeciwko HPV w regionach Afryki takich jak Zimbabwe, Uganda i Malawi, gdzie zachorowalność na raka szyjki macicy jest najwyższa na świecie (ponad 50 na 100 000 kobiet).³ Do regionów o wysokim ryzyku występowania raka szyjki macicy (współczynnik zachorowalności 33,3 / 100 000) zaliczana jest także Melanezja. Dla porównania współczynniki zachorowalności i umieralności w krajach Ameryki Północnej

są niskie i wynoszą odpowiednio 6,6 i 2,5 na 100 000 kobiet.² Najniższe wskaźniki zachorowalności notuje się w Australii/Nowej Zelandii (5,5) oraz Azji Zachodniej (4,4).²

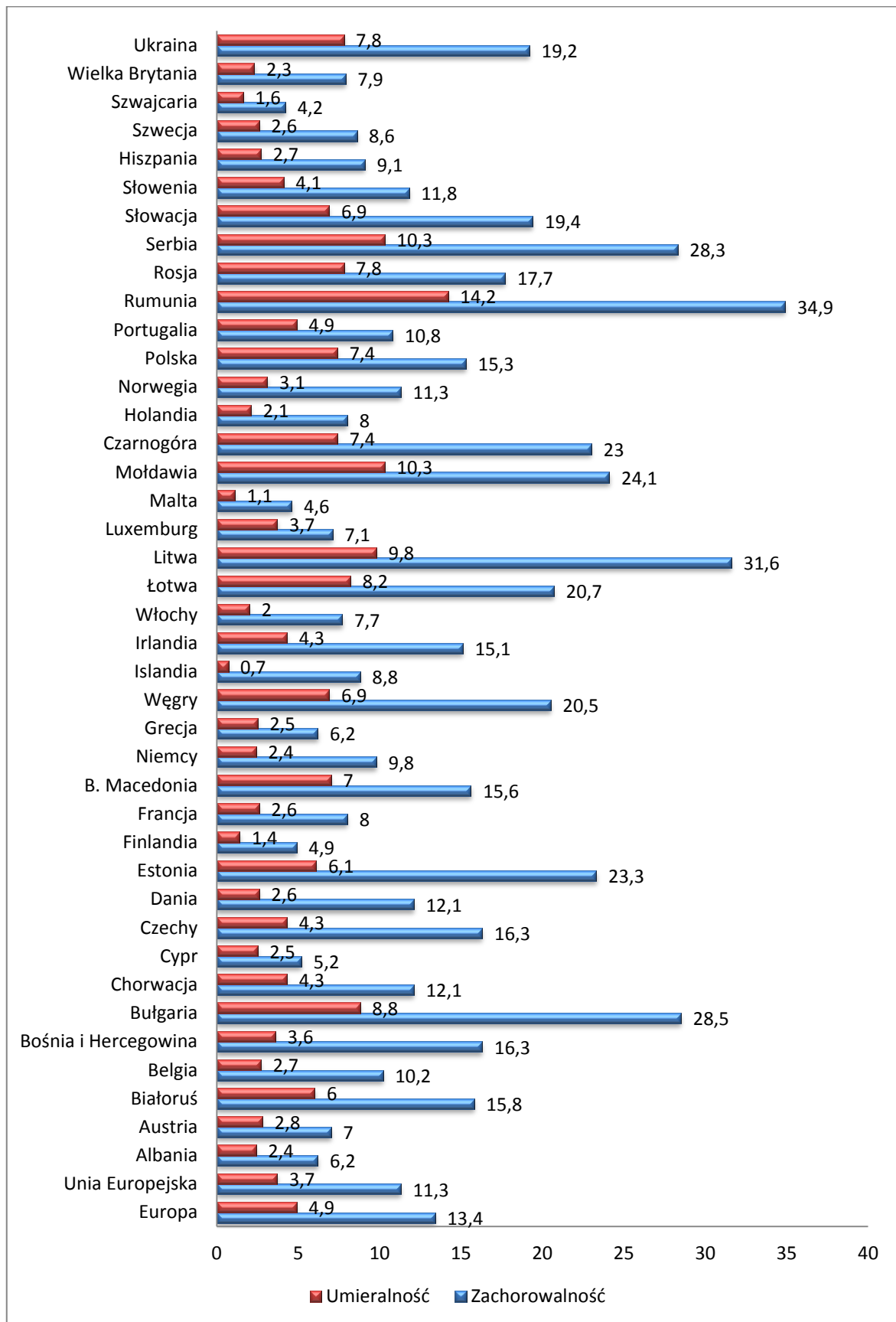
Zarówno wskaźniki zachorowalności jak i umieralności na raka szyjki macicy wyraźnie korelują z podziałem pomiędzy krajami rozwiniętymi i rozwijającymi się. Najwyższe wskaźniki przeżyć 5-letnich kobiet leczonych z powodu raka szyjki macicy osiągają kraje takie jak USA, Japonia czy kraje Europy Zachodniej.⁴

Prawie 9 na 10 zgonów z powodu raka szyjki macicy (87%) dotyczy krajów słabo rozwiniętych. Umieralność jest od lat najwyższa w regionach takich jak Melanezja (współczynnik umieralności 20,6/100 000), Afryka Środkowa (22,2/100 000) oraz Afryka Wschodnia (27,6/100 000). Najniższe wskaźniki umieralności (poniżej 2/100 000) dotyczą Australii/Nowej Zelandii, Europy Zachodniej i Zachodniej Azji.²

W Europie wskaźniki epidemiologiczne raka szyjki macicy są dość zróżnicowane (wykres 1). W całej Europie współczynnik zachorowalności w 2012 roku wynosił 13,4, umieralności zaś 4,9, a biorąc pod uwagę jedynie kraje Unii Europejskiej, współczynniki te mają wartość odpowiednio 11,3 oraz 3,7. Wyraźnie zaznaczają się jednak różnice między starymi a nowymi tj. przyłączonymi w latach 2004-2007 państwami członkowskimi UE. Dla porównania, w 2004 roku zachorowalność dla 15 krajów Unii wynosiła 9,5/100 tys., a wskaźnik dla nowych państw członkowskich wynosił ponad 17/100t tys. Najwyższa zachorowalność na raka szyjki macicy w Europie występuje obecnie w Rumunii (34,9), na Litwie (31,6), w Bułgarii (28,5) oraz Serbii (28,3). Najwyższa umieralność charakteryzuje Rumunię (14,2), Mołdawię i Serbię (10,3). Najniższymi wskaźnikami epidemiologicznymi mogą pochwalić się kraje takie jak Finlandia, Szwajcaria i Malta. Na Islandii obserwuje się najniższą w Europie umieralność z powodu raka szyjki (0,7).

Według danych IARC z 2012 roku Polska, ze współczynnikiem zachorowalności 15,3 a umieralności 7,4, wypada średnio na tle innych państw Unii. Według raportu Krajowego Rejestru Nowotworów, w 2011 roku współczynniki epidemiologiczne w Polsce wynosiły odpowiednio 12,9 dla zachorowalności i 6,7 dla umieralności. Są to współczynniki standaryzowane dla populacji europejskiej.

Wykres 1. Standaryzowane współczynniki zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy w państwach Europy (źródło : IARC/EUCAN 2012)



1.2. Profilaktyka i trendy epidemiologiczne raka szyjki macicy w Europie.

Analizując sytuację epidemiologiczną Europy, wyraźnie widać, że najwyższa zachorowalność i umieralność na raka szyjki macicy dotyczy regionu Europy Wschodniej. Jest to wynik wieloletnich zaniedbań na polu prowadzenia profilaktyki i wczesnego wykrywania raka szyjki macicy w tej części Europy.

Pierwsze doniesienia o efektach wprowadzenia dobrej jakości programów skriningowych zostały opublikowane w latach 1960-1970. Udokumentowano wtedy spadek zachorowalności na inwazyjnego raka szyjki macicy wśród kobiet poddanych skriningowi cytologicznemu aż o 90% w porównaniu do populacji nieobjętej skriningiem.⁵ Zorganizowane programy skriningowe w Europie zostały wprowadzone po raz pierwszy w latach 50-tych i 60-tych w prawie wszystkich krajach wchodzących wówczas w skład Unii Europejskiej.⁶

Efekty prowadzenia dobrze zorganizowanych programów profilaktyki doskonale widać na przykładzie krajów skandynawskich. W Finlandii, gdzie narodowy program skriningowy funkcjonuje od wczesnych lat 60-tych ubiegłego wieku, zachorowalność i umieralność na raka szyjki macicy obniżyły się aż o 80%. Od roku 1995 współczynniki te utrzymują się na stałym poziomie, jednym z najniższych w Europie. W Finlandii funkcjonuje system wysyłania zaproszeń na badanie przesiewowe. W 2005 roku zaproszenia dotarły aż do 98% kobiet objętych skriningiem w wieku między 30 a 60 rokiem życia. Zgłaszalność do programu w tym kraju jest wysoka. W 2009 roku wynosiła 71% i różniła się w poszczególnych grupach wiekowych. Najniższa chęć udziału w programie profilaktyki dotyczy kobiet z najmłodszej grupy wiekowej.⁷

Dania w latach czterdziestych XX wieku należała do krajów o bardzo wysokiej zachorowalności na raka szyjki macicy, co wyrażał współczynnik standaryzowany szacowany na ponad 25/100 tys. kobiet. Populacyjny program skriningowy w tym kraju wprowadzono w 1962r. Zaproszenia wysyłano tylko do kobiet, które w ciągu ostatnich 3 lat nie miały pobranego wymazu cytologicznego.⁷ Realizacja programu doprowadziła do redukcji zachorowalności osiągając poziom 12/100 tys.²

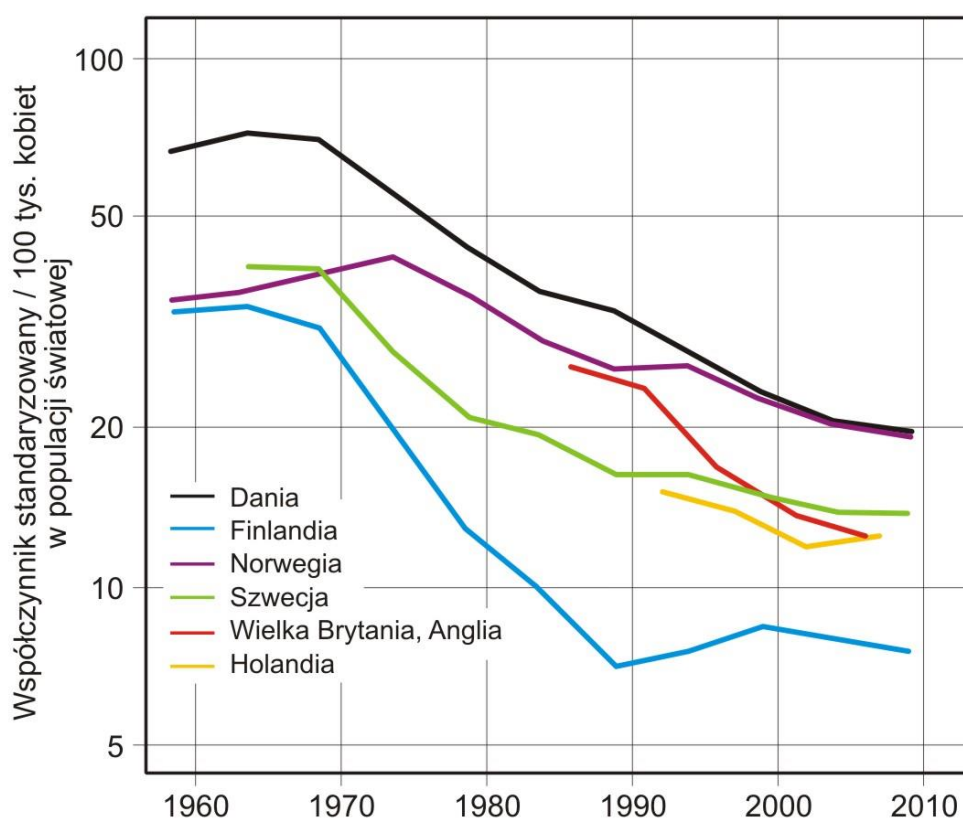
W Holandii kobiety w wieku co najmniej 30 lat od 1996 roku otrzymują co 5 lat zaproszenie na bezpłatne badanie cytologiczne. W 2003 roku 77% kobiet w tym kraju miało wykonany przynajmniej jeden wymaz cytologiczny w ciągu ostatnich 5 lat, a

zgłaszalność do programu wyniosła 65%. Zdecydowaną większość przypadków raka wykryto u kobiet niepoddających się regularnie skriningowi.⁷

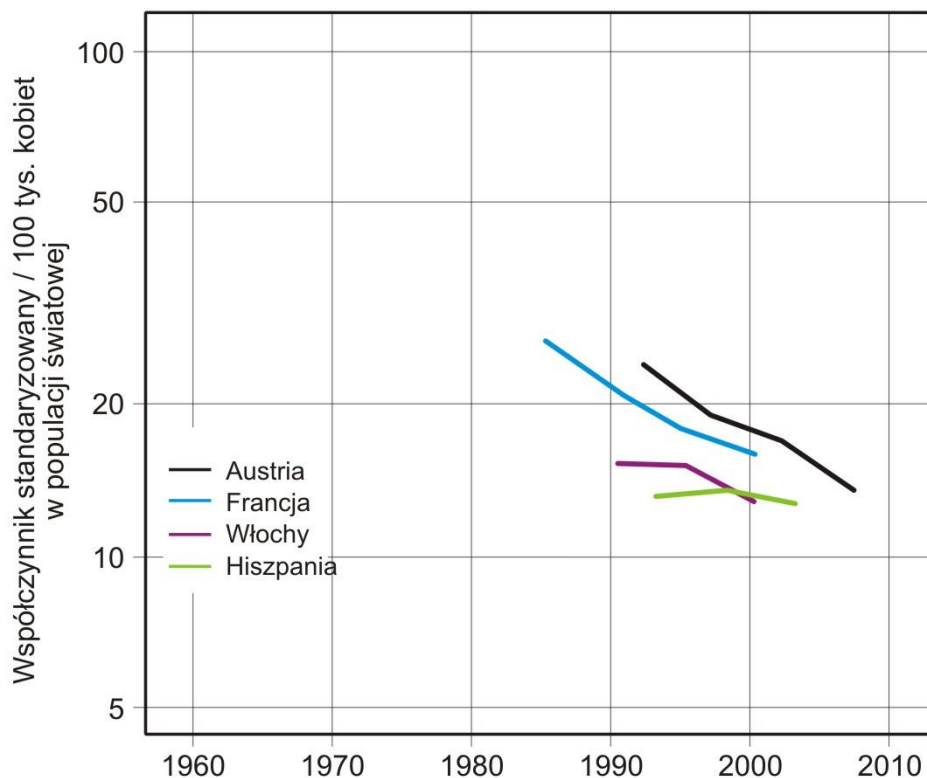
Wielka Brytania rozpoczęła realizację narodowego programu skriningowego w 1988 roku i już od wielu lat zgłaszalność do programu przekraczała 80% populacji docelowej. W ostatnich latach współczynnik zachorowalności spadł z 15/100 tys. w okresie przedskriningowym do około 7-8/100 tys.⁷ Oszacowano, iż realizacja programu ratuje w Wielkiej Brytanii życie 3000 kobiet rocznie.⁸

Malejące trendy zachorowalności i umieralności dotyczą większości krajów Europy Zachodniej – Austrii, Francji, Włoch, Norwegii i Szwecji (wykres 2 i 3). Spadek wskaźników dotyczył w największym stopniu lat 1960 - 1990. Po tym okresie obserwowana jest nadal tendencja spadkowa, ale w minimalnym zakresie.⁹

Wykres 2. Trendy zachorowalności na raka szyjki macicy w krajach Europy Zachodniej w latach 1960-2010.⁹



Wykres 3. Trendy zachorowalności na raka szyjki macicy w krajach Europy Środkowej i Południowej w latach 1960-2010.⁹



Odmienne przedstawia się sytuacja epidemiologiczna w krajach Europy Wschodniej.

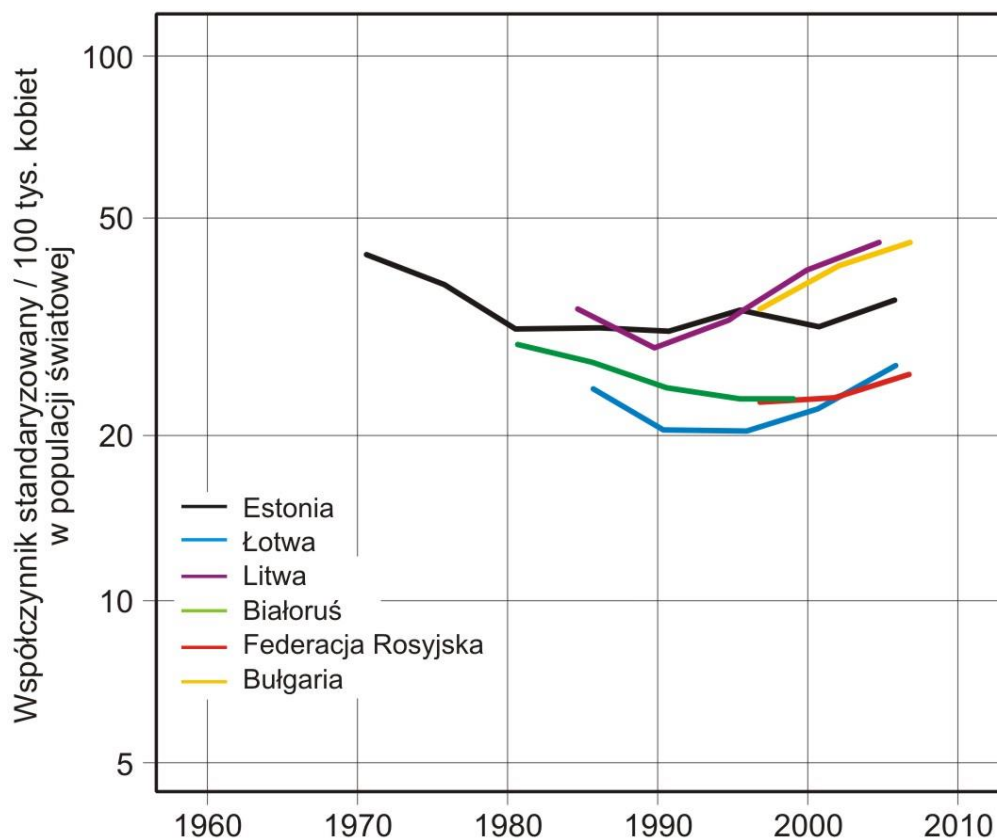
W Rumunii, która od lat wyróżnia się niekorzystnie na tle innych państw europejskich z najwyższymi wskaźnikami zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy, od wielu dekad dostępny jest skrining oportunistyczny, regionalny. Według danych z 2006 roku, jedynie 10-16% kobiet kwalifikujących się wiekowo, zostało objętych profilaktyką cytologiczną. Obecnie trwają prace nad wprowadzeniem w tym kraju zorganizowanego programu badań przesiewowych, problemem pozostają kwestie finansowe i brak wystarczającej ilości wykwalifikowanych ośrodków.⁷

W Estonii, w której wskaźniki epidemiologiczne wielokrotnie przewyższają te w sąsiedniej Finlandii, zorganizowany program skriningowy, realizowany jest od 2006 roku. Nadal obserwuje się rosnący trend zachorowalności na raka szyjki macicy w tym kraju. Największym problemem jest bardzo niski odsetek kobiet z populacji wiekowej faktycznie objętych skriningiem.⁷

Na Litwie populacyjny program skriningowy obowiązuje od 2004 roku, jednak dużą jego ułomnością pozostaje brak systemu wysyłania imiennych zaproszeń na badania oraz niskie nakłady finansowe na prowadzenie profilaktyki.⁷

Również w krajach takich jak Bułgaria, Rosja, Białoruś i Litwa brak dobrze funkcjonującego programu skriningowego powoduje, że wskaźniki zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy utrzymują się tam na stałym wysokim poziomie, a nawet rosną (wykres 4).⁹

Wykres 4. Trendy zachorowalności na raka szyjki macicy w krajach Europy Wschodniej w latach 1960-2010.⁹



1.3. Sytuacja epidemiologiczna i prognozy zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy w Polsce.

Polska jest krajem o średniej zachorowalności na nowotwory złośliwe. Według Krajowego Rejestru Nowotworów, stanowią one drugą, po chorobach układu krążenia, przyczynę zgonów. Charakterystyczną cechą, negatywnie wyróżniającą nasz kraj wśród państw europejskich, jest fakt, iż nowotwory złośliwe są główną przyczyną zgonów w populacji polskiej poniżej 65 roku życia.¹⁰

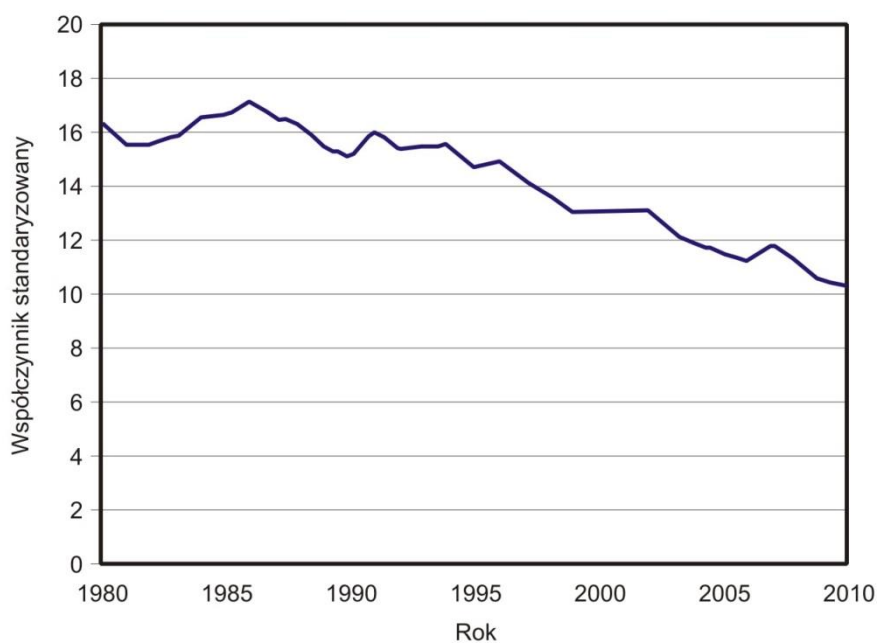
Rak szyjki macicy stanowił w 2006 roku 5,2% wszystkich zachorowań na nowotwory złośliwe. Liczba ta zmalała do 4% w roku 2010. Liczba zachorowań na raka szyjki macicy wynosiła w 2010 roku nieco ponad 3000 kobiet, z których ponad 1700 zmarło. 10

Analiza zachorowalności na raka szyjki macicy w Polsce wykazuje, że sytuacja epidemiologiczna na przestrzeni ostatnich trzydziestu lat uległa korzystnym zmianom, których największa dynamika miała miejsce w ostatniej dekadzie. W Polsce w 2005 roku wprowadzono Populacyjny Program Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy. Skriningiem zostały objęte wszystkie Polki w wieku 25 – 59 lat, zarejestrowane w Narodowym Funduszu Zdrowia, które niezależnie od miejsca zamieszkania, co 3 lata otrzymywały listownie imienne zaproszenie na wykonanie badania cytologicznego.

Zachorowalność na raka szyjki macicy w Polsce od lat 60 - tych ubiegłego stulecia wykazywała tendencję zwykłą, osiągając szczyt na początku lat osiemdziesiątych. Współczynnik zachorowalności w 1980 roku wynosił aż 16,4, a w 1985 roku - 16,8/100 000 kobiet. Od około połowy lat dziewięćdziesiątych obserwuje się obniżenie współczynników zachorowalności, co ilustruje tabela 1 i wykres 5. Zachorowalność na nowotwory złośliwe szyjki macicy zmniejszyła się o około 30% w ciągu ostatnich trzech dekad. Nadal jednak, w porównaniu do średniej dla krajów Unii Europejskiej, częstość zachorowań na nowotwory szyjki macicy w Polsce jest o około 15% wyższa.¹⁰

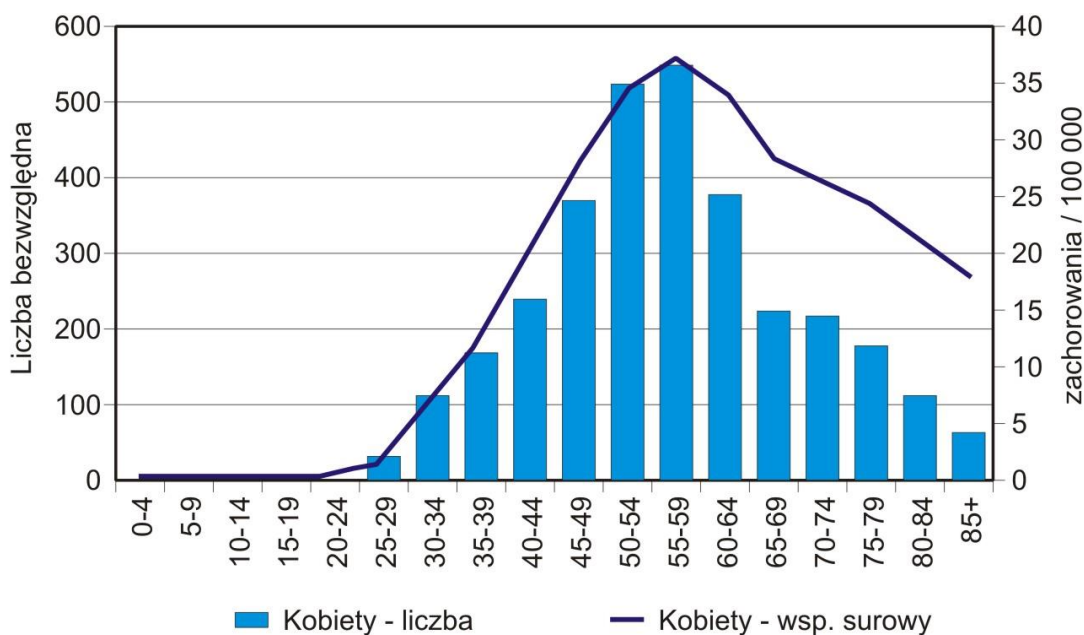
Tabela 1. Zachorowalność na raka szyjki macicy w Polsce w latach 1980-2010. ¹⁰

Rok	Liczba	Wsp.surowy	Wsp.standaryzowany (dla populacji światowej)
1980	3532	19,4	16,4
1985	3837	20,1	16,8
1990	3658	18,7	15,1
1995	3856	19,5	14,8
2000	3597	18,1	13,1
2005	3263	16,6	11,5
2010	3078	15,5	10,3

Wykres 5. Trendy zachorowalności na raka szyjki macicy w Polsce w latach 1980-2010. ¹⁰

Biorąc pod uwagę wiek zachorowania na raka szyjki macicy, obserwuje się wzrost liczby notowanych przypadków począwszy od 20 roku życia (wykres 6). Najwięcej, bo około 60% zachorowań dotyczy grupy kobiet w wieku między 45 a 64 rokiem życia. Ryzyko zachorowania na raka szyjki macicy wzrasta z wiekiem do końca szóstej dekady życia.

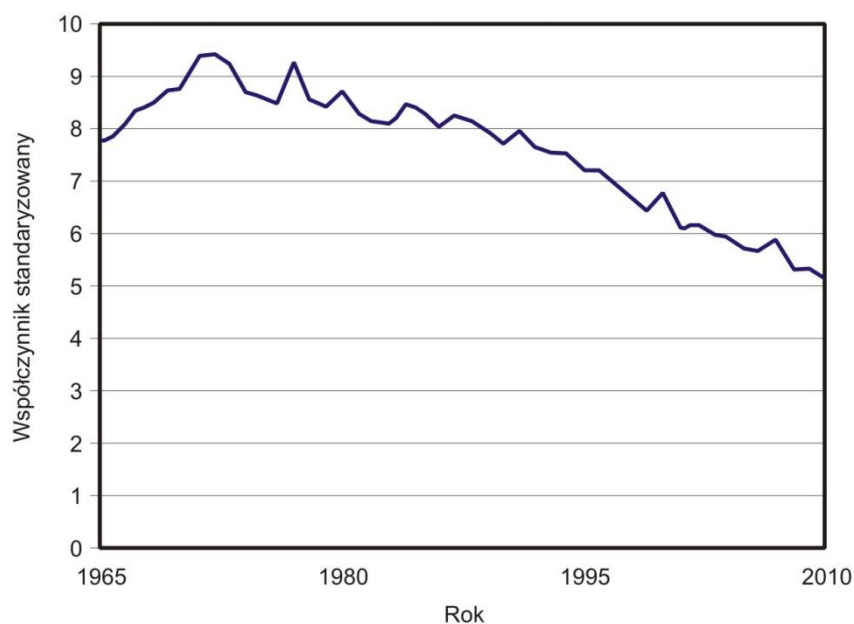
Wykres 6. Zachorowalność na raka szyjki macicy w Polsce w latach 2008-2010 w zależności od wieku.¹⁰



Liczba zgonów z powodu raka szyjki macicy w 2010 roku wyniosła nieco ponad 1700 kobiet. Większość (52%) zgonów występuje wśród kobiet między 50 a 69 rokiem życia, a ryzyko zgonu wzrasta wraz z wiekiem. W latach 1965-2010 współczynnik umieralności na raka szyjki macicy w Polsce zmniejszył się o 45% (wykres 7.) Pomimo obserwowanego od końca lat osiemdziesiątych spadku umieralności jest ona w Polsce aż o 70% wyższa niż przeciętna dla krajów Unii Europejskiej.¹⁰

Analiza powyższych wskaźników zachorowalności i umieralności pokazuje rozkład ryzyka zachorowań w poszczególnych grupach wiekowych i może stanowić ważną wskazówkę dla organizatorów badań profilaktycznych opartych zarówno na prewencji pierwotnej i wtórnej. Nasilenie działań profilaktycznych powinno dotyczyć populacji do 60 roku życia.

Wykres 7. Trendy umieralności na raka szyjki macicy w Polsce w latach 1965-2010.¹⁰



Obecnie w Polsce obserwowana jest niewielka tendencja spadkowa współczynników zachorowalności i umieralności. Częstość występowania nowotworów szyjki macicy zmniejsza się we wszystkich grupach wiekowych. Przy utrzymaniu się obecnych tendencji, oczekiwany jest spadek zachorowalności do $7-8/10^5$ w ciągu najbliższych dwóch dekad. Prognozuje się, że największy spadek zachorowalności dotyczyć będzie kobiet powyżej 65 r.ż., a następnie grupy kobiet najmłodszych (25-44 r.ż.) Stosunkowo najmniejszy spadek zachorowalności jest oczekiwany w grupie kobiet między 45 a 64 rokiem życia i tej grupy w perspektywie dotyczyć będzie 60% zachorowań. Malejące trendy zachorowalności niosą ze sobą proste konsekwencje w postaci spadku umieralności, zarówno w całej populacji, jak i w grupach wiekowych. Podobnie jak w przypadku zachorowalności, szacuje się, że większość zgonów z powodu raka szyjki macicy w 2025 roku przypadnie na grupę kobiet powyżej 45 r.ż.¹¹

Dobrym przykładem prowadzenia skutecznej profilaktyki jest Wielkopolska. W roku 2005, tj. roku wprowadzenia populacyjnego programu profilaktyki w naszym kraju, Wielkopolska znajdowała się w grupie województw o najwyższych współczynnikach zachorowalności (12,6). W ciągu 6 lat realizacji programu

skriningowego współczynnik zachorowalności w Wielkopolsce wykazuje wyraźną, konsekwentną tendencję spadkową. W roku 2011 wartość tego współczynnika wyniosła 9,3/100 tys. kobiet, co plasuje Wielkopolskę wśród województw o najniższej zachorowalności (tabela 2). Spadek współczynnika o ponad 3 punkty sprawia, iż województwo wielkopolskie znajduje się na poziomie zachorowalności obserwowanym w krajach takich jak Szwecja czy Holandia.¹

Spośród innych województw o najwyższej, przed wprowadzeniem skriningu, zachorowalności (lubuskie, warmińsko-mazurskie, podlaskie, pomorskie), jedynie w województwie lubuskim udało się po 5 latach uzyskać istotny spadek współczynnika o 2,4 punktu. W województwie warmińsko-mazurskim współczynniki utrzymują się na tym samym poziomie, a w pomorskim wręcz niepokojąco rosną.

Najniższą od lat zachorowalność notuje się w województwie podkarpackim. Prawdopodobnie jest to konsekwencją odmienności w stylu życia kobiet z tego regionu Polski. Najważniejszym czynnikiem jest tutaj niższa przeciętna liczba partnerów płciowych w życiu kobiet, co wiąże się z obniżeniem ryzyka zachorowania.

Tabela 2. Zachorowalność na raka szyjki macicy w poszczególnych województwach w latach 2005-2011.¹²

	Współczynnik standaryzowany na 100 tys. kobiet (standaryzacja dla populacji światowej)						
Województwo	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
DOLNOŚLĄSKIE	11,9	12,6	12,1	11,6	10,2	11,0	10,4
KUJAWSKO-POMORSKIE	11,3	11,3	12,7	11,9	10,8	13,4	6,9
LUBELSKIE	11,3	10,6	11,6	13,1	11,3	8,2	8,6
LUBUSKIE	13,4	12	11,8	13,7	11,3	12,2	11,0
ŁÓDZKIE	12,2	11,4	11,9	11,2	11,0	9,3	9,1
MAŁOPOLSKIE	11,4	11	13	10,1	10,3	9,8	10,5
MAZOWIECKIE	10,7	9,9	10,5	10,3	10,9	10,1	8,4
OPOLSKIE	9,5	12,3	12,8	11,8	10,6	8,5	10,5
PODKARPACKIE	10	10,1	10,3	8,4	8,2	8,0	7,3
PODLASKIE	13	12,3	13,2	12,2	13,2	11,2	11,7
POMORSKIE	11,9	13,6	12,5	12,7	12,8	13,3	14,7
ŚLĄSKIE	11,1	11,4	11,8	9,9	10,6	9,6	9,6
ŚWIĘTOKRZYSKIE	11,1	13,9	12,1	9,9	8,1	10,1	11,2
WARMIŃSKO-MAZURSKIE	13,2	10,7	14	13,3	12,2	14,5	12,7
WIELKOPOLSKIE	12,6	10,6	11	11,9	8,9	8,9	9,3
ZACHODNIOPOMORSKIE	12,4	11,3	11,7	13,7	9,0	10,4	9,7
POLSKA	11,5	11,3	11,8	11,3	10,5	10,3	9,8

W 2010 roku w Wielkopolsce wykryto 223 nowe przypadki raka szyjki, co w stosunku do roku 2001 oznacza spadek o prawie 50% (tabela 3). Wzrosła natomiast liczba przypadków raka przedinwazyjnego i inwazyjnego wykrytych w skriningu. W połączeniu z faktem, iż zachorowalność utrzymała się na podobnym poziomie, stanowi to potwierdzenie efektywnego prowadzenia profilaktyki. Jednocześnie w 2010 roku wykryto w skriningu o 12 przypadków raka mniej niż w roku 2009, co może to oznaczać korzystny trend epidemiologiczny. Dzieje się tak poprzez leczenie stanów przednowotworowych, co zapobiega rozwojowi przedinwazyjnych i inwazyjnych postaci raka.¹³

Tabela 3. Zachorowalność na raka szyjki macicy w Wielkopolsce w latach 2001-2010.¹³

Rok	Liczba bezwzględna (nowe zachorowania)	Współczynnik standaryzowany
2001	334	14,7
2002	298	12,7
2003	255	10,6
2004	242	10,2
2005	301	12,6
2006	255	11,1
2007	272	11,0
2008	290	11,9
2009	221	8,9
2010	223	8,9

Umieralność na raka szyjki macicy w Wielkopolsce zmniejszyła się o 28% w ciągu ostatnich 10 lat (tabela 4). W 2010r. zgłoszono 127 zgonów z powodu raka szyjki, jest to liczba o 51 przypadków mniejsza niż w roku poprzednim, 2009. Spadek liczby zgonów o 40% świadczy o tym, że tempo spadku umieralności narasta i stanowić może potwierdzenie efektywności skriningu. Współczynnik standaryzowany zgonów w Wielkopolsce zmniejszył się z 6,4 w roku 2006 roku tj. roku wprowadzenia programu profilaktyki do 4,5, po 4 latach trwania jego realizacji. Oznacza to osiągnięcie jednego z najniższych w Polsce współczynników umieralności.¹³

Tabela 4. Umieralność na raka szyjki macicy w Wielkopolsce w latach 2001-2010.¹³

Rok	Bezwzględna liczba zgonów	Współczynnik standaryzowany
2001	162	6,4
2002	156	6,1
2003	135	5,3
2004	153	6,0
2005	157	5,7
2006	159	6,2
2007	152	5,8
2008	126	4,5
2009	178	6,4
2010	127	4,5

1.4. Podstawy profilaktyki raka szyjki macicy.

Celem wdrożenia programów profilaktycznych jest obniżenie wskaźników zachorowalności i umieralności z powodu określonej jednostki chorobowej.

Prewencja raka szyjki macicy obejmuje profilaktykę pierwotną, wtórną i trzeciorzędową. Profilaktyka pierwotna, czyli pierwszorzędowa, polega na stosowaniu szczepień ochronnych przeciwko onkogenym typom HPV oraz ograniczeniu ekspozycji na znane czynniki ryzyka, czyli głównie przeciwdziałanie zakażeniu HPV. Profilaktyka wtórna (drugorzędowa) opiera się na procesie wykrywania wczesnych zmian przednowotworowych, czyli śródnabłonkowej neoplazji szyjki macicy (CIN1, CIN2, CIN3) oraz wczesnych postaci raka. Profilaktyka trzeciorzędowa to prawidłowe leczenie wykrytych zmian oraz opieka nad pacjentkami po leczeniu.

Narzędziem profilaktyki wtórnej jest badanie przesiewowe. Zgodnie z zaleceniami WHO, badanie przesiewowe wykonuje się w populacji osób zdrowych, bezobjawowych, a dodatni wynik świadczyć będzie o możliwości istnienia choroby u danej osoby. Zastosowanie testu przesiewowego powinno przynosić korzyści społeczne i ekonomiczne, a także redukować śmiertelność w danej populacji.¹⁴ Samo badanie powinno być tanie, obiektywne, powtarzalne. Powinno być także niebolesne i nieinwazyjnie wykrywać stany przedrakowe, które można łatwo wyleczyć. Przede wszystkim jednak, powinno charakteryzować się dobrymi parametrami dokładności wykrywczej. Wysoka czułość i swoistość testu diagnostycznego z dużym prawdopodobieństwem umożliwi potwierdzenie istnienia choroby u osoby rzeczywiście chorej oraz wykluczenie jej u osoby zdrowej. Pozytywna wartość predykcyjna wskazuje proporcje osób z dodatnim wynikiem testu, które rzeczywiście są chore, negatywna wartość predykcyjna, proporcje osób z ujemnym wynikiem testu, faktycznie zdrowych.

Rak szyjki macicy jest nowotworem, którego dobrze poznany rozwój, daje duże możliwości prowadzenia efektywnej profilaktyki. Dotyczy to wszystkich jej rodzajów, ze szczególnym uwzględnieniem profilaktyki wtórnej. Szyjka macicy jest łatwo dostępna badaniu, zmiany nabłonkowe o charakterze przednowotworowym zostały dobrze opisane, a ich wczesne wykrycie daje możliwość całkowitego wyleczenia. Aby spełnić założenie skринingu, jakim jest zmniejszenie śmiertelności w populacji, należy ustalić

następujące kwestie :

- w jakim wieku rozpocząć skrining
- w jakim wieku zakończyć skrining
- w jakich odstępach czasowych wykonywać badania
- czy prowadzić skrining u kobiet po usunięciu macicy wraz z szyjką
- jaki test (testy) diagnostyczne stosować.

1.4.1 Rozpoczęcie i zakończenie skriningu, odstępy między badaniami.

Zalecenia Europejskiej Komisji Badań nad Rakiem (IARC) i Komisji Europejskiej wyraźnie mówią, że zorganizowane programy skriningowe oparte na cytologii powinny być wdrożone u kobiet między 20 a 30 rokiem życia. Poddawanie skriningowi młodszych kobiet niesie ze sobą minimalne korzyści, przy potencjalnym ryzyku licznych, niepotrzebnych interwencji diagnostycznych i terapeutycznych.¹⁵

W krajach europejskich, które jako pierwsze wprowadziły efektywne narodowe programy aktywnej profilaktyki w latach 60-tych i 70-tych ubiegłego wieku, tj. Finlandii, Szwecji, Holandii, Islandii i Wielkiej Brytanii, rekomendowano rozpoczęcie wykonywania badań przesiewowych u kobiet pomiędzy 21 a 25 rokiem życia.⁷

Obecnie większość krajów Unii Europejskiej rekomenduje rozpoczęcie skriningu od 25 roku życia. Jedynie 4 kraje Unii prowadzą skrining u kobiet przed 20-tym rokiem życia (Austria, Luksemburg, Słowacja, Hiszpania), natomiast niektóre z nowych państw członkowskich zalecają badania przesiewowe począwszy od 30-tego roku życia (Bułgaria, Litwa, Estonia). Granicę 30 roku życia przyjęto również w Holandii.¹⁶ Najnowsze wytyczne amerykańskich towarzystw naukowych (ACOG, ACS, USPSTF) zalecają rozpoczęcie skriningu w 21 roku życia, bez względu na wiek inicjacji seksualnej i obecność lub brak czynników ryzyka.^{17,18}

Ustalając optymalny wiek rozpoczęcia skriningu należy wziąć pod uwagę etiologię i rozwój śródnabłonkowej neoplazji szyjki macicy i raka. Głównym czynnikiem rozwoju nowotworu jest przetrwałe zakażenie onkogennymi typami HPV. Sama infekcja HPV jest najczęstszym zakażeniem przenoszonym drogą płciową na świecie i może

pojawić się wkrótce po rozpoczęciu współżycia.¹⁹ Większość nastolatek i młodych kobiet spontanicznie zwalcza infekcję 1-2 lata po zakażeniu. Szacunkowo jedynie 10% kobiet pozostaje HPV pozytywnych po 5 latach od nabycia wirusa.²⁰

Rozpowszechnienie wirusa wśród kobiet poniżej 25 r.ż. wynosi około 24%, a w grupie kobiet 35-44 r.ż. już tylko 9%.²¹ U nastolatek 90% zakażeń HPV i zmian szyjki macicy o charakterze LG SIL ulega samoistnej regresji bez leczenia.²²

Badanie kohortowe przeprowadzone w ramach skriningu w Kanadzie wykazało, że u kobiet w wieku 18-34 lat, 84% zmian przednowotworowych w szyjce ulega samoistnej regresji, 16% zaś przekształca się w postacię bardziej zaawansowane. U kobiet w wieku powyżej 35 lat, regresja dotyczy już tylko 40%, a progresja pozostałych 60% zmian.²³

Biorąc pod uwagę powyższe doniesienia, a przede wszystkim fakt, że śródnowotworowa neoplazja rozwija się w ciągu 3-5 lat po zakażeniu HPV²⁴ wydaje się, że optymalnym wiekiem do rozpoczęcia skriningu jest 25 rok życia, i takie są również zalecenia Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego w powyższej kwestii.

Analizując zachorowalność na raka szyjki macicy w zależności od wieku, wyraźnie widać, że ryzyko zachorowania wzrasta wraz z wiekiem do końca 6-tej dekady życia, po czym ulega zmniejszeniu.¹⁰

Komitet Doradczy ds. Prewencji Raka Unii Europejskiej zaleca stosowanie skriningu między 25-30 r.ż., a 60-65 r.ż. Górna granica wieku nie powinna być niższa niż 60-ty rok życia.²⁵ Według IARC kobiety, które poddane były regularnemu skriningowi, mogą zakończyć skrining w 65 r.ż.²⁶

Zdecydowana większość krajów Unii Europejskiej prowadzi skrining do 59-65-tego roku życia. Czechy i Łotwa jako górną granicę przyjęły 69-70 rok życia, a kilka krajów nie określa wieku zakończenia badań przesiewowych. Należą do nich Austria, Niemcy, Grecja, Luksemburg i Słowacja.¹⁶

Wytyczne amerykańskie zalecają zakończenie skriningu w 65 roku życia u kobiet poddanych regularnym badaniom tj. mających 3 kolejne udokumentowane, prawidłowe wyniki testu cytologicznego lub 2 prawidłowe wyniki testu podwójnego, w ciągu ostatnich 10 lat przed zakończeniem skriningu. Kobiety z CIN2, CIN3 lub rakiem in situ w wywiadzie powinny kontynuować skrining przez co najmniej 20 lat od

zakończenia leczenia. Kobiety leczone z powodu inwazyjnego raka szyjki macicy pozostają pod kontrolą onkologa do końca życia.¹⁷

W 1986 roku Międzynarodowa Komisja Badań nad Rakiem przeprowadziła wielośrodkowe badanie mające na celu oszacowanie redukcji zachorowania na raka szyjki w zależności od częstości badań w skrinigu (tabela 5).

Tabela 5. Zmniejszenie zachorowalności na raka płaskonabłonkowego w zależności od częstości wykonywania badania cytologicznego.²⁷

Częstość badań	Grupa wiekowa	Redukcja zachorowania (%)	Całkowita liczba wymazów w życiu kobiety
Co roku	20-64	93	45
Co 3 lata	20-64	91	15
Co 3 lata	25-64	90	13
Co 3 lata	35-64	78	10
Co 5 lat	20-64	84	9
Co 5 lat	25-64	82	8
Co 5 lat	35-64	70	6
Co 10 lat	25-64	64	5

Różnica w redukcji zachorowalności przy badaniu prowadzonym corocznie w porównaniu z badaniami wykonywanymi co 3 lata jest bardzo niewielka (93 vs. 91%), koszty skriningu w populacji rosną zaś trzykrotnie (45 vs. 15 wymazów na jedną kobietę). Wykonywanie badań co 5 lat wiąże się z ograniczeniem liczby zachorowań o 84%, koszty skriningu natomiast są o prawie połowę niższe niż w przypadku badań co 3 lata (15 vs. 9 wymazów na jedną kobietę). Oczekiwany spadek zachorowań zakłada jednak 100% - towe objęcie docelowej populacji skriningiem i 100% - tową zgłaszalność. Duża część populacji uczestnicząca w skriningu, a nie częstość wykonywanych badań, wydaje się być najważniejszym czynnikiem powodzenia programu profilaktyki.

Obecnie w Unii Europejskiej zalecane interwały między badaniami wahają się od roku do 5 lat. Państwa, w których wykonuje się skrining co roku to Austria, Niemcy, Czechy, Grecja, Słowacja i Luksemburg. Bułgaria zaleca badanie co 2 lata. Finlandia,

która osiągnęła bardzo niskie wskaźniki epidemiologiczne po wprowadzeniu programu skriningowego prawie 50 lat temu, rekomenduje odstęp 5-letni między badaniami. Podobnie 5-letni interwał stosuje się w Estonii, Holandii i Rumunii. Część krajów, takich jak Dania, Irlandia, Hiszpania, Szwecja i Wielka Brytania, stosuje 3-5 letnie odstępy, w zależności od wieku kobiet. Pozostałe państwa, w tym Polska, zaleca powtarzanie skriningu co 3 lata.¹⁶

Amerykańskie towarzystwa naukowe zalecają 3-letnie interwały w przypadku posługiwania się skriningiem opartym na cytologii. Od roku 2012 rekomenduje się interwały 5-letnie w przypadku zastosowania testu podwójnego tzn. badania cytologicznego i testu molekularnego na obecność DNA HPV.^{17,18} Zarówno wytyczne europejskie, jak i amerykańskie odradzają przeprowadzanie badań przesiewowych co roku.^{16,17,18}

1.4.2 Wybór testu skriningowego.

Do niedawna na świecie w profilaktyce raka szyjki macicy powszechnie wykonywało się jedynie test skriningowy oparty na cytodiagnostyce.²⁸ Badanie cytologiczne można wykonać w sposób konwencjonalny, przenosząc komórki nabłonka na szkiełko podstawowe lub wykorzystując tzw. podłoże płynne – LBC (liquid base cytology). Ocenę rozmazu przeprowadza się w klasyfikacji The Bethesda System (TBS) lub Papanicolaou.

Pierwsza klasyfikacja oceny wymazów cytologicznych wprowadzona została przez Papanicolaou i Koprowską w 1954 roku. Umożliwiło to wdrożenie masowych, populacyjnych badań przesiewowych, opartych o cytodiagnostykę, które to działania doprowadziły do 50% spadku zachorowalności i 70% umieralności na raka szyjki macicy w krajach realizujących zorganizowane programy profilaktyki.²⁹ Historia profilaktyki i wczesnego wykrywania raka szyjki macicy w USA jest w literaturze nazywana „amerykańską historią sukcesu” – w latach 50-tych XX wieku rak szyjki macicy był jedną z wiodących przyczyn zgonów kobiet w Stanach Zjednoczonych, a po wprowadzeniu programów badań przesiewowych, umieralność obniżyła się w latach 1955-1992 aż o 70%.³⁰

W 1988 roku Amerykański Narodowy Instytut Walki z Nowotworami (National Cancer Institute, NCI) wprowadził nowy system klasyfikacji rozmazów cytologicznych – The Bethesda System (TBS). Klasyfikacja Bethesda (zmodyfikowana w 1992 i 2001 roku) jest systemem obecnie obowiązującym, pozwalającym na podanie dokładnego opisu zmian, zgodnego z terminologią patomorfologiczną. Umożliwia to m.in. rozdzielenie rozpoznań cytologicznych wskazujących na obecność neoplazji, od rozpoznań związanych ze stanami zapalnymi, atrofią, zakażeniami i innymi zmianami, niemającymi charakteru nowotworowego lub przednowotworowego. Dzięki swemu opisowemu charakterowi klasyfikacja Bethesda umożliwiła zbliżenie rozpoznań cytologicznych do odpowiadającym im rozpoznań histopatologicznych, czyli stopni zaawansowania neoplazji szyjki macicy.

Do nieprawidłowych pod względem onkologicznym rozpoznań w systemie Bethesda zaliczane są :

- ASC (atypical squamous cells) – atypowe komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego
 1. ASC-US (atypical squamous cells of undetermined significance) – atypowe komórki nabłonka o nieokreślonym znaczeniu
 2. ASC-H (atypical squamous cells, cannot exclude H-SIL) – atypowe komórki nabłonkowe, nie można wykluczyć H-SIL
- LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesion) – zmiany niskiego stopnia w komórkach nabłonka płaskiego
- HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesion) – zmiany wysokiego stopnia w komórkach nabłonka płaskiego
- AGC (atypical glandular cells of undetermined significance) – atypowe komórki nabłonka gruczołowego o nieokreślonym znaczeniu (dawniej AGUS)
- rozpoznanie cytologiczne raka płaskonabłonkowego
- rozpoznanie cytologiczne raka gruczołowego (adenocarcinoma)

Pomimo wprowadzenia klasyfikacji TBS wraz z ostatnimi modyfikacjami, czułość i swoistość oceny rozmazu cytologicznego pozostaje niska, a ponadto znacznie różni się w zależności od ośrodka. Według różnych źródeł, czułość cytodiagnostyki dla

wykrywania neoplazji średniego i wysokiego stopnia (CIN 2, CIN 3) wynosi między 37% a 85%.^{31, 32} Na podstawie metaanalizy badań obejmujących w sumie 60 000 kobiet, skupionych na ocenie dokładności narzędzia skriningowego w postaci cytodiagnostyki w krajach posiadających zorganizowane programy skriningowe, określono, że średnia wartość czułości cytodiagnostyki dla wykrywania CIN 2+ wyniosła 53%.³³ Analiza wyników w innych ośrodkach wykazała jednak znaczące różnice w czułości cytologii – od 18,6 % do 76,7 % w badaniu HART.³⁴

Cytologia jest badaniem subiektywnym, a jej wynik końcowy zależy nie tylko od kompetencji szeregu osób zaangażowanych w proces diagnostyczny ale również wymaga rozbudowanej logistyki. Na właściwy wynik badania cytologicznego składają się czynniki takie jak właściwe pobranie materiału z szyjki macicy, utrwalenie, barwienie, odczytywanie, ustalenie rozpoznania cytologicznego oraz sposób odesłania wyniku. Błędy mogą pojawiać się na każdym z tych etapów wpływając negatywnie na wiarygodność wyniku końcowego. Na całym świecie w żadnym programie badań przesiewowych nie udało się wyeliminować tych błędów całkowicie. Wprowadzono natomiast modyfikacje w postaci np. wprowadzenia podłoża płynnego (liquid base cytology, LBS), którego zastosowanie zmniejsza liczbę preparatów nie nadających się do oceny lub wątpliwych, a interpretacja badania wykonanego w ten sposób zajmuje mniej czasu. Pojedyncze badanie cytologiczne na podłożu płynnym jest jednak bardziej kosztowne od cytologii konwencjonalnej. W literaturze istnieją doniesienia o nieco wyższej czułości i specyficzności cytodiagnostyki na podłożu płynnym, ale nie wszyscy autorzy potwierdzają te różnice.³⁵

Największą ułomnością badania cytologicznego pozostaje nadal wysoki odsetek wyników fałszywie ujemnych, wynoszący :

- dla zmian typu HSIL 4,6%
- dla raka płaskonabłonkowego 3,3%
- dla raka gruczołowego 8,9%
- dla raka gruczołowego in situ 11,7 %.³⁶

Niska czułość badania cytologicznego oraz stosunkowo wysoki odsetek wyników

falszywie ujemnych stały się powodem kontynuowania poszukiwań nowych metod diagnostycznych, które można byłoby zastosować do wykrywania neoplazji szyjki macicy w masowych badaniach profilaktycznych. Obecnie na świecie nie podważa się roli przetrwałego zakażenia onkogennymi typami HPV w powstawaniu śródnabłonkowej neoplazji szyjki macicy i jej progresji do raka przedinwazyjnego i inwazyjnego. Wiedza na temat biologii wirusa i procesu karcynogenezy została wykorzystana praktycznie przez wprowadzenie molekularnych testów na obecność DNA HPV.

Test na obecność DNA HPV ma potwierdzoną w licznych badaniach znacznie wyższą czułość i negatywną wartość predykcyjną w porównaniu z cytodiagnostyką. W 2007 roku kanadyjskie badanie obejmujące 10 tys. kobiet wykazało czułość testu HPV w wykrywaniu zmian HG SIL (CIN 2 i CIN 3) na poziomie 94,6 %, podczas gdy czułość cytologii wyniosła jedynie 55,4 %. W tej samej pracy oceniono czułość i swoistość obu metod razem – wyniosły one odpowiednio 100% i 92,5%.³⁷

Wysoka negatywna wartość predykcyjna testu DNA HPV, dochodząca do 100%, oznacza minimalne ryzyko rozwoju CIN lub raka w ciągu najbliższych kilku lat przy negatywnym wyniku testu. W praktyce łączy się to z możliwością wydłużenia odstępów między kolejnymi badaniami w skriningu, a co za tym idzie, obniżeniem kosztów. W dużym badaniu europejskim wykazano, że 6 letnie ryzyko rozwoju CIN 3 przy negatywnym wyniku testu na DNA HPV jest znacząco niższe niż przy prawidłowym wyniku cytologicznym (0,27% vs. 0,97%).³⁸ Z kolei Katki i wsp. w retrospektywnym badaniu obejmującym 330 tys. kobiet powyżej 30. r.ż. poddanych testowi podwójnemu wykazali, że zastosowanie cytologii i testu na DNA HPV w odstępach 5- lub 6-letnich daje lepszą „ochronę” przed rakiem szyjki macicy niż badanie cytologiczne przeprowadzane co 3 lata.³⁹ Istnieją także doniesienia o większej czułości testu podwójnego w wykrywaniu gruczolakoraka szyjki macicy.⁴⁰

Przewaga testu molekularnego nad cytologią wynika także z faktu, iż poprzez możliwość określenia typu wirusa, umożliwia on wyodrębnienie grupy kobiet wysokiego ryzyka. W badaniach wykazano, że w Polsce u kobiet z rozpoznaniem HG SIL najczęściej występują typy HPV 16, 33, 18, 31 i 56.⁴¹ Kobiety, u których stwierdzono zakażenie HPV o wysokim potencjale onkogennym mają podwyższone ryzyko rozwoju

neoplazji i/lub raka w ciągu następnych 3-10 lat i na nie należy zwrócić szczególną uwagę podczas realizacji programu skriningowego.

1.5. Populacyjny Program Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy w Polsce – założenia, cele, problemy.

W Polsce program badań przesiewowych realizowany jest od 2005 roku. Przez pierwsze lata nie miał on charakteru aktywnego i był stosowany selektywnie. Dopiero wprowadzone w ciągu następnych 2 lat modyfikacje stworzyły szansę na podwyższenie efektywności skriningu i realizację celów programu.

Na mocy ustawy z dnia 1 lipca 2005 roku o ustanowieniu programu wieloletniego "Narodowy program zwalczania chorób nowotworowych" (Dz. U. Nr 143, poz. 1200 z późn. zm.) z dniem 1 stycznia 2006 roku rozpoczęto realizację m.in. Populacyjnego Programu Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy.

1. Cel główny :

- zmniejszenie umieralności kobiet na raka szyjki macicy
- obniżenie wskaźnika umieralności z powodu raka szyjki macicy do poziomu osiągniętego w przodujących w tym zakresie krajach Unii Europejskiej

2. Cele pośrednie :

- podniesienie poziomu wiedzy kobiet na temat profilaktyki raka szyjki macicy
- wprowadzenie na terenie całego kraju standardu postępowania diagnostycznego

opartego na następujących elementach :

- pobieraniu rozmazu cytologicznego jednorazową szczoteczką typu cyto-brush
- przeprowadzaniu badań przez wyszkolonych cytotechników i patomorfologów
- dokonywaniu oceny mikroskopowej w systemie Bethesda 2001.⁴²

Jako optymalny sposób realizacji programu określono system imiennego zapraszania kobiet na badania. Programem objęto wszystkie kobiety w wieku od 25 do 59 lat, ubezpieczone w Narodowym Funduszu Zdrowia, które w ciągu ostatnich 3 lat nie miały wykonanego wymazu cytologicznego. W chwili wprowadzenia programu oznaczało to konieczność objęcia skriningiem 8 mln kobiet.

Zalecenia Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego mówią, iż w przypadku prawidłowych wymazów cytologicznych i braku czynników ryzyka zachorowania na raka

szyjki macicy, zaleca się przeprowadzanie cytologii raz na 3 lata. Analogiczne zasady przyjęto w założeniach programu. Kobiety należące do grupy wysokiego ryzyka, tj, zakażone wirusem HIV, przyjmujące leki immunosupresyjne, zakażone wirusem HPV wysokiego ryzyka i leczone w przeszłości z powodu CIN2, CIN3 lub raka szyjki macicy powinny poddawać się kontroli cytologicznej co 12 miesięcy. W przypadku stwierdzenia niepokojących zmian pacjetniki kierowane są na dalszą diagnostykę.^{42,43}

Program realizowany w latach 2006 – 2015 składa się z trzech etapów:

I Etap podstawowy obejmuje:

- zarejestrowanie kobiety w programie SIMP (System Informatyczny Monitorowania Profilaktyki) jeśli znajduje się w ustalonej przez Ministerstwo Zdrowia grupie wiekowej
- wypełnienie ankiety,
- pobranie materiału cytologicznego do badania przy użyciu jednorazowego wziernika i szczoteczki typu cyto-brush
- badanie ginekologiczne
- edukację w zakresie prewencji nowotworu szyjki macicy,
- wysłanie pobranego materiału wraz z wypełnioną ankietą do pracowni diagnostycznej,
- wręczenie przez lekarza pacjentce wyniku badania i decyzja, co do dalszego postępowania:
 - zalecenie ponownego zgłoszenia się na badanie po trzech latach w przypadku prawidłowego wyniku i braku czynników ryzyka
 - zalecenie wcześniejszego badania cytologicznego (po 12 miesiącach) w ramach Programu w uzasadnionych przypadkach, tj. kobietom zakażonym wirusem HIV, przyjmującym leki immunosupresyjne, zakażonym HPV wysokiego ryzyka
 - skierowanie do odpowiedniej placówki z listy NFZ realizującej świadczenia zdrowotne w ramach etapu pogłębionej diagnostyki, jeżeli konieczna jest kolposkopowa weryfikacja wstępnego rozpoznania.

II Etap diagnostyczny obejmuje :

- wykonanie oceny mikroskopowej materiału cytologicznego przesłanego przez realizatora etapu podstawowego Programu,
- wynik badania musi być opisany w systemie Bethesda 2001
- przesłanie wyniku badania do poradni, w której pobrano materiał,
- komputerowa archiwizacja wyników i zbiorcze opracowanie danych statystycznych,
- prowadzenie elektronicznej bazy danych badanych kobiet i wyników badań.

III Etap pogłębionej diagnostyki obejmuje :

- zarejestrowanie (wprowadzenie do bazy danych) kobiety skierowanej w ramach realizacji etapu podstawowego programu,
- badanie kolposkopowe,
- w przypadku zaistnienia wskazań do weryfikacji obrazu kolposkopowego - pobranie celowanych wycinków z tarczy szyjki macicy oraz wyłuszczenie kanału szyjki i ewentualnie jamy macicy, a następnie przesłanie materiału do pracowni diagnostycznej,
- badanie histopatologiczne pobranego materiału w pracowni diagnostycznej i postawienie ostatecznego rozpoznania,
- decyzja, co do dalszego postępowania (skierowanie na leczenie lub określenie terminu kolejnego badania cytologicznego).

Zgodnie z rozstrzygnięciem postępowań konkursowych Ministerstwa Zdrowia na lata 2011 - 2015, od dnia 1 stycznia 2011 roku Populacyjny Program Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy jest nadzorowany przez 17 ośrodków, w tym 1 Centralny Ośrodek Koordynujący (COK) oraz 16 Wojewódzkich Ośrodków Koordynujących (WOK), które monitorują i koordynują realizację programów na terenie kraju.

Program współfinansowany jest przez Ministerstwo Zdrowia (administracja, logistyka) oraz Narodowy Fundusz Zdrowia (świadczenia, badania cytologiczne). Rozmazy pobierają lekarze ginekolodzy, a od 2008 roku również przeszkolone położne, certyfikowane przez Centralny Ośrodek Koordynujący. Bezpłatne badania cytologiczne

realizowane są przez świadczeniodawców wyłanianych na drodze procedury konkursowej przez NFZ. Całość programu nadzoruje Minister Zdrowia. W programie istnieje system kontroli jakości udzielanych świadczeń – jest on całkowicie z informatyzowany i monitorowany on-line w rejestrze, czyli Systemie Informatycznego Monitorowania Profilaktyki (SIMP). Rejestracja badań cytologicznych w ramach programu w systemie SIMP umożliwia stały nadzór nad realizacją skринingu.⁴⁴

Wskaźniki monitorowania oczekiwanych efektów realizacji programu to przede wszystkim :

- zgłaszalność na badania, określona przez :
 - liczbę kobiet wiekowo kwalifikująca się do programu
 - liczbę kobiet, do których wysłano zaproszenia
 - liczbę kobiet, które zgłosiły się na badania
 - liczbę kobiet, które zostały poinformowane przez lekarza podstawowej opieki zdrowotnej o konieczności wykonania badania cytologicznego.
- efekty badań, czyli
 - liczbę wykonanych badań
 - liczbę kobiet z prawidłowym wynikiem badania cytologicznego
 - liczbę kobiet z wykrytymi zmianami o charakterze neoplazji co najmniej średniego stopnia (CIN2+)
 - liczbę kobiet, którym zalecono ponowne badanie cytologiczne po 12 miesiącach
 - liczbę kobiet skierowanych do etapu pogłębionej diagnostyki
 - liczbę kobiet z rozpoznaniem raka nieinwazyjnego
 - liczbę kobiet z rozpoznaniem inwazyjnego raka szyjki macicy.

Po 7 latach realizacji programu, zespół ekspertów Koalicji na Rzecz Walki z Rakiem Szyjki Macicy w Polsce wyodrębnił 3 główne problemy :

1. Niska zgłaszalność do programu

2. Ograniczona dostępność badań cytologicznych
3. Niska jakość wykonania badania cytologicznego.

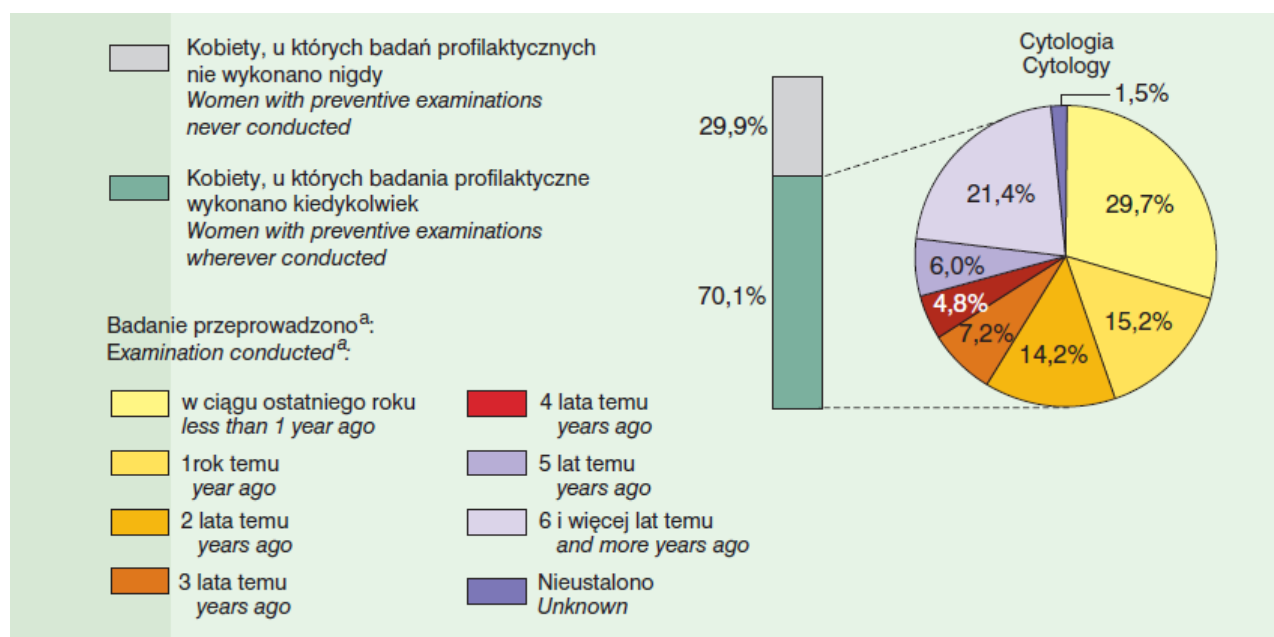
1. Zgłaszalność do programu.

Jak wynika z raportu Centralnego Ośrodka Koordynującego, w latach 2007-2010 wysłano 13 mln zaproszeń na badania cytologiczne. Skorzystało z nich ok. 3 mln kobiet w wieku 25-59 r.ż. czyli 24% populacji docelowej. Zaproszenia w latach 2007-2009 wysłano ogółem do 9 706 tys. kobiet, co stanowi 99,7% populacji w wieku 25-59 r.ż. W latach 2007-2009 obserwowany był systematyczny wzrost zgłaszalności na cytologię – od 21.25% w 2007 roku, 24.4% w 2008 roku do prawie 27% w roku 2009. W 2010 roku nastąpiło zatrzymanie tej tendencji i zgłaszalność utrzymała się na poziomie roku poprzedniego (27%). Według raportu częściej na zaproszenia odpowiadają i uczestniczą w badaniach mieszkanki wsi w porównaniu do mieszkanki miast (39,3% vs. 16,8%). Obserwuje się przy tym trend malejący w zgłaszalności mieszkanki szczególnie dużych miast. Największą zgłaszalność w ramach programu profilaktyki w reakcji na odebrane imienne zaproszenia, zanotowano w województwach warmińsko – mazurskim, zachodniopomorskim, opolskim i lubelskim, najmniejszą zaś populację kobiet zbadano w województwach mazowieckim, łódzkim, małopolskim i wielkopolskim.⁴⁴ Poziom zgłaszalności poniżej 30% należy uznać za absolutnie niewystarczający dla osiągnięcia głównego celu programu jakim jest obniżenie śmiertelności w populacji. Dane pochodzące z USA wskazują, że aż 83%-86% Amerykanek wykonuje badanie cytologiczne przynajmniej raz na 3 lata.⁴⁵ W Finlandii i Islandii po wprowadzeniu narodowych programów profilaktyki, osiągnięto niemal 100% - towy poziom zgłaszalności, w Wielkiej Brytanii przez wiele lat ponad 80% kobiet podlegało regularnemu skrinigowi, a w Niemczech, mimo istnienia jedynie skriningu oportunistycznego, aż 80% kobiet w wieku 20-40r.ż. miało wykonany przynajmniej jeden rozmaz w ciągu ostatnich 3 lat.⁷

Statystyki oparte na rejstrze SIMP nie biorą jednak pod uwagę badań wykonanych w ramach ambulatoryjnej opieki specjalistycznej lub odpłatnie w gabinetach prywatnych. Według danych Głównego Urzędu Statystycznego (GUS) odsetek

kobiet w wieku 15 + objętych skriningiem jest dużo większy i obejmuje ponad 66% ankietowanych kobiet (rycina 1). Oczywiście dane te mogą być zawyżone, gdyż opierają się na deklaracjach respondentów.⁵⁰

Rycina 1. Wyniki ankiety GUS przeprowadzonej wśród kobiet powyżej 15 roku życia, dotyczącej poddania się badaniu cytologicznemu.⁵⁰



Niska zgłaszalność to jeden rodzaj przeszkody w rozwoju skriningu, innym problemem pozostaje zaniechanie dalszych badań wśród kobiet, u których stwierdzono nieprawidłowy wynik rozmazu cytologicznego. W latach 2007-2010 zagadnienie to objęło 75 854 pacjentki, czyli 2,6% ogółu pobranych wymazów. Spośród nich, do etapu diagnostyki pogłębionej trafiło 9 567 kobiet. Stanowi to jedynie 12,6% grupy pacjentek, które powinny zostać poddane dalszej diagnostyce. Dalsze losy 66 tys. pacjentek (87,4%) nie są znane, ze względu na brak informacji na ich temat w systemie SIMP. Kobiety te mogły zostać skierowane na oddziały szpitalne w celu wykonania pogłębionej diagnostyki w systemie przyjęć jednodniowych, gdyż te same badania są tam wyceniane korzystniej niż w ramach opieki ambulatoryjnej. Część kobiet mogła poddać się dalszej diagnostyce w gabinetach prywatnych a część zaniechać dalszych czynności. Wielkość poszczególnych grup jest jednak trudna lub w ogóle niemożliwa do oszacowania.⁴⁴

2. Dostępność badań.

Badania w ramach Populacyjnego Programu Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy są bezpłatne. Oznacza to, iż czynnik finansowy bezpośrednio nie stanowi bariery dla kobiet. Dla wielu kobiet konieczność dojazdu do oddalonej placówki jest czynnikiem ograniczającym, który okaże się decydujący o rezygnacji z udziału w programie. Długi czas oczekiwania na wizytę, w połączeniu z niskim poziomem mobilizacji obserwowanym w Polsce, zwiększa ryzyko, że dana pacjentka zapomni o umówionej wizycie a wyznaczenie kolejnego terminu będzie dla niej jeszcze większym wyzwaniem.

3. Jakość wykonania i sama metoda badania cytologicznego.

Z audytów przeprowadzonych przez Centralny i Wojewódzkie Ośrodki Koordynujące w latach 2007-2010 wynika, że część wyników cytologicznych realizowanych w ramach programu może być fałszywie dodatnich lub fałszywie ujemnych. Średnio 31% wykonanych cytologii kwalifikowało się jako warunkowo odpowiednie do oceny a około 1% jako nieodpowiednie do oceny.⁴⁴

1.6. Wirus brodawczaka ludzkiego a rak szyjki macicy.

1.6.1 Rola odkrycia HPV.

Odkrycie związku zakażenia wirusem brodawczaka ludzkiego z inicjacją procesu karcynogenezy w komórkach nabłonka stało się kamieniem milowym w badaniach nad etiologią raka szyjki macicy. Autor odkrycia, profesor Harald zur Hausen rozpoczął badania nad HPV w latach 70-tych ubiegłego stulecia, kiedy teza o udziale wirusa w rozwoju choroby nowotworowej wydawała się jeszcze nieprawdopodobna. Prof. zur Hausen założył, że w komórkach nowotworowych zakażonych HPV powinno występować wirusowe DNA zintegrowane z genomem komórki. Opracowanie metod detekcji wirusowego DNA w komórkach nowotworowych powinno zatem umożliwić wykrycie genów HPV warunkujących proliferację komórki. Harald zur Hausen poświęcił ponad 10 lat na poszukiwanie różnych typów wirusa HPV, co było tym trudniejsze, że jedynie niektóre fragmenty DNA wirusa stawały się częścią genomu komórek nowotworowych. Zur Hausen ustalił, że wirusy brodawczaka ludzkiego stanowią heterogenną rodzinę, a tylko niektóre typy wirusa są wysoce onkogenne. Po latach badań potwierdził występowanie DNA HPV w preparatach biopsyjnych złośliwych guzów szyjki macicy, identyfikując w ten sposób w 1983r. nowy onkogenny typ wirusa – HPV 16. Rok później zur Hausen sklonował HPV 16 i 18 pochodzące od pacjentek chorych na raka szyjki macicy. Jak potwierdzono w późniejszych licznych badaniach, oba typy wirusa HPV 16 i 18 są obecne w ponad 70% preparatów biopsyjnych nowotworów złośliwych szyjki macicy na świecie. Profesor zur Hausen opisał nieznane wcześniej właściwości wirusa HPV, co umożliwiło zrozumienie mechanizmów karcynogenezy i poznanie czynników predysponujących do przetrwania wirusa i transformacji nowotworowej w komórce. Za swoje odkrycie został uhonorowany w 2008 roku Nagrodą Nobla.⁵¹

Dzięki odkryciu prof. zur Hausena możliwe było stworzenie profilaktycznej szczepionki przeciwko najczęstszym onkogennym typom wirusa – HPV 16 i 18. Szacuje się, że za kilkanaście lat jej zastosowanie u osób HPV negatywnych może obniżyć częstość występowania

- zmian typu CIN2/HSIL o 60%,
- raka płaskonabłonkowego szyjki macicy o 76%

- raka gruczołowego o 95%⁵²

1.6.2 Zakażenie HPV i jego rola w karcynogenezie.

Wirus brodawczaka ludzkiego (HPV) należy do rodziny Papillomaviridae. Wykazuje on swoisty tropizm do komórek nabłonkowych skóry, jamy ustnej, gardła, krtani, przewodu pokarmowego oraz okolic anogenitalnych. Wirus atakuje keratynocyty w warstwie podstawnej nabłonka, ale jego pełen cykl życiowy zachodzi w dojrzałych, zróżnicowanych keratynocytach. Wirusy HPV są przyczyną różnego rodzaju zmian rozrostowych nabłonka tzn. brodawek, kłykcin, zmian o charakterze neoplazji śródnabłonkowej i zmian inwazyjnych np. raka szyjki macicy, sromu, pochwy, prącia i odbytu.⁵³

W grupie dotychczas zidentyfikowanych ponad 200 typów HPV, wyróżnia się podgrupy : α , β , γ , μ i ν . Podgrupa α to wirusy atakujące nabłonek szyjki macicy. Można je podzielić na typy HPV o wysokim i niskim potencjale onkogennym. Typy wysokoonkogenne to przede wszystkim HPV 16, HPV 18, HPV 31, HPV 33 i HPV 45, łącznie są one odpowiedzialne za powstanie ponad 95% raków szyjki macicy. Najczęstsze typy nisko-onkogenne to HPV 6 i HPV 11, powodujące rozwój kłykcin kończystych narządów płciowych.⁵⁴

Materiał genetyczny wirusa HPV stanowi dwuniciowy kolisty fragment DNA, składający się z 7800 par zasad. W genomie wirusa można wyróżnić trzy regiony :

- region LCR (long control region) – region niekodujący białek wirusowych
- region E (early) – region kodujący białka wczesne, odpowiedzialne za procesy transkrypcyjne i regulacyjne
- region L (late) – region kodujący białka strukturalne kapsydu wirusa.

Wrotami zakażenia HPV są mikrourazy nabłonka. Komórki warstwy podstawnej nabłonka są bogate w integryny, prawdopodobne receptory wiążące cząstkę wirusa. W zainfekowanych komórkach genom wirusa pozostaje w postaci episomalnej w niewielu kopiach. W trakcie procesu dojrzewania komórek nabłonka, dochodzi m.in. do ekspresji genów E6 i E7, które biorą udział w stymulacji cyklu komórkowego. Białka E6 i E7 oddziałują również z obecnymi w komórce gospodarza regulatorami cyklu. Białko E6

bierze udział w degradacji białka supresorowego p53, którego brak w komórce uniemożliwia regulację cyklu, naprawę DNA oraz apoptozę.⁵⁵ Białko E6 może również aktywować podjednostkę ludzkiej telomerazy - hTERT (human telomerase reverse transcriptase), co prowadzi do zaburzenia procesu apoptozy.⁵⁶ Z kolei białko E7 może wiązać się m.in. z białkiem RB, odpowiedzialnym za supresję transformacji nowotworowej komórki. Potencjał onkogenny wykazuje także białko E5 – głównie poprzez regulację ekspresji innych onkoprotein wirusa oraz hamowanie apoptozy.⁵⁴

Inaktywacja czynności białek p53 i pRB stanowi jeden z najważniejszych czynników odpowiedzialnych za transformację nowotworową komórek nabłonkowych. Białka E6 i E7 doprowadzają do destabilizacji genomu komórkowego i rozpoczęcia procesu karcynogenezy. Takich właściwości nie mają jednak białka E6 i E7 wirusów HPV niskoonkogennych. Ich oddziaływanie z komórkowymi regulatorami cyklu są znacznie słabsze i nie prowadzą do degradacji białek supresorowych p53 i pRB; nie mają one również zdolności aktywacji telomerazy.

Wirus brodawczaka ludzkiego zaliczany jest do grupy wirusów proliferacyjnych. Czynnikiem ułatwiającym szerzenie się infekcji jest stan immunosupresji. Najczęstszym modelem transmisji HPV jest aktywność seksualna i bezpośredni kontakt z zainfekowanym nabłonkiem i/lub naskórkiem okolic anogenitalnych.⁵⁶

Infekcję HPV i rozwój zmian przednowotworowych i nowotworowych szyjki macicy można monitorować przy pomocy testów na obecność materiału genetycznego wirusa, badania kolposkopowego, cytologicznego i histologicznej oceny wycinków z tarczy części pochwowej szyjki macicy. Klinicznie infekcja wirusem brodawczaka przebiega w trzech fazach (podział wg Basty)⁵⁸:

- stadium utajone – jest to najczęstsza forma zakażenia, bez objawów klinicznych i mikroskopowych; wykrycie zakażenia w tej fazie możliwe jest jedynie na podstawie wirusologicznych testów molekularnych na obecność DNA HPV

- stadium subkliniczne – możliwe do wykrycia w badaniu cytologicznym, kolposkopowym i badaniu histopatologicznym wycinków.

- stadium jawne klinicznie – obecność zmian makroskopowych: ognisk leukoplakii i zmian brodawczakowatych (brodawczaki płaskonabłonkowe,

mikrobrodawczaki, brodawczaki atypowe, kłykciny kończyste)

- stadium współistniejące z neoplazją śródnabłonkową lub rakiem inwazyjnym

Stadium subkliniczne infekcji HPV w obrazie kolposkopowym daje objawy w postaci wtórnego zmniejszenia przejrzystości nabłonka, wtórnego punkcikowania i mozaiki oraz zbielenia nabłonka wokół otwartych kraterów gruczołowych. Zmiany występują najczęściej w obrębie strefy transformacji.⁵⁹

W badaniu cytologicznym jednym z pierwszych wykładników infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego jest koilocytoza. W komórkach nabłonka dochodzi do nagromadzenia wakuoli zawierających glikogen – materiał energetyczny dla wirusa. Pojawiają się zmiany w jądrze komórki, w tym przede wszystkim różnokształtność (heteronucleosis), nadbarwność chromatyny (hyperchromatosis), zmiana wielkości i liczby jąder w komórce (polinucleosis). Można też stwierdzić zaburzenie stosunku ilości cytoplazmy do wielkości jądra komórkowego (macronucleosis), a także różną ilość cytoplazmy w różnych komórkach (heterocytosis).⁶⁰

Dalsze zmiany spowodowane infekcją HPV dotyczą nie tylko morfologii komórki, ale także architektury nabłonka i jego aktywności mitotycznej.

1.6.3 Śródnabłonkowa neoplazja szyjki macicy jako rzeczywisty stan przedrakowy

Pojęcie raka przedinwazyjnego (CIS – carcinoma in situ) zostało wprowadzone po raz pierwszy w 1932 roku celem określenia obecności komórek złośliwych obejmujących wszystkie warstwy nabłonka, bez przerwania ciągłości jego warstwy podstawnej.⁶¹ Dalsze badania Brodersa potwierdziły możliwość progresji CIS do raka inwazyjnego. Termin „dysplazja” wprowadził Reagan w 1953 roku aby opisać atypowe zmiany w nabłonku, nie spełniające kryteriów raka przedinwazyjnego, ale nie będące też nabłonkiem prawidłowym. W latach sześćdziesiątych Richart wysunął teorię, wg której istnieje ciągłość morfologiczna między dysplazją dużego stopnia a rakiem przedinwazyjnym, i w 1968 roku zastąpił pojęcie dysplazji terminem śródnabłonkowej neoplazji szyjki macicy (CIN – cervical intraepithelial neoplasia).⁶² Zmiany określane odtąd jako CIN 3 obejmują zarówno dysplazję dużego stopnia jak i raka przedinwazyjnego.

Śródnabłonkową neoplazję szyjki macicy cechują :

- zmiany architektury nabłonka : nieprawidłowe dojrzewanie komórek, zaburzenie stratyfikacji nabłonka, zwiększenie gęstości komórek w nabłonku, zastępowanie prawidłowych komórek warstwy podstawnej niezróżnicowanymi komórkami nieprawidłowymi, zbliżenie poszczególnych warstw do siebie, zatarcie granic między granicami warstw nabłonka
- zmiany cytologiczne w nabłonku : atypia jąder komórkowych, polimorfizm jąder, nadbarwność chromatyny, obecność licznych mitoz, często patologicznych, w wyższych warstwach nabłonka⁶³

Stopień nasilenia zmian oraz poziom, do którego nieprawidłowe komórki sięgają w nabłonku, determinuje stopień zaawansowania CIN.

CIN 1 czyli śródnabłonkową neoplazję małego stopnia charakteryzuje zaburzenie różnicowania komórek jedynie w dolnej 1/3 nabłonka. Górne warstwy podlegają prawidłowemu procesowi dojrzewania. Atypia jąder komórkowych niskiego stopnia występuje na całej grubości nabłonka, a w powierzchniowych warstwach można zaobserwować liczne koilocyty.⁶³

W CIN 2 nieprawidłowe komórki wykazują wysoki stosunek wielkości jądra do cytoplazmy i zajmują dolne 2/3 nabłonka. Widoczna jest utrata polaryzacji komórek i liczne mitozy. W śródnabłonkowej neoplazji dużego stopnia – CIN 3, obserwuje się obecność niezróżnicowanych nieprawidłowych komórek, atypię i nieprawidłowe podziały mitotyczne w komórkach na całej grubości nabłonka.⁶³

Neoplazję CIN 1 określa się również mianem LG SIL (Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion) – śródnabłonkowa zmiana szyjki niskiego stopnia, a CIN 2 i CIN 3 nazywa się łącznie HG SIL (High Grade Squamous Intraepithelial Lesion), czyli śródnabłonkową zmianą dużego stopnia.

W tabeli 6 przedstawiono klasyfikacje cytologiczne Papanicolaou i The Bethesda System oraz odpowiadające im rozpoznania patomorfologiczne.

Tabela 6. Porównanie klasyfikacji cytologicznych i odpowiadających im rozpoznań patomorfologicznych.⁶⁴

Klasyfikacja Papanicolaou	Dysplazja	CIN	Bethesda (TBS)
I	norma	norma	Norma
II	atypia/inflammatio	atypia	zmiany zapalno - odczynowe/ASCUS
III	łagodna dysplazja	CIN I	ASCUS/LGSIL
III	umiarkowana dysplazja	CIN II	HGSIL
III	zaawansowana dysplazja	CIN III	HGSIL
IV	rak przedinwazyjny (in situ)	CIN III	HGSIL
V	rak inwazyjny	rak	Rak

Najważniejsze czynniki prognostyczne rozwoju i progresji CIN to :

- zakażenie wysokoonkogennymi typami HPV (16,18,31,33,45)
- czas trwania zakażenia (wprost proporcjonalny do ryzyka rozwoju neoplazji)
- obniżona sprawność układu immunologicznego
- koinfekcja Chlamydia trachomatis, HIV, infekcja licznymi typami HPV
- ciąża
- wielorództwo.⁶³

Mniejsze prognostycznie znaczenie dla rozwoju neoplazji ma długoletnie palenie tytoniu i dieta uboga w antyoksydanty.⁶³

Powstawanie śródnabłonkowej neoplazji szyjki macicy jest z reguły procesem wieloletnim. Szacuje się, że średni czas od zakażenia wirusem brodawczaka ludzkiego do powstania CIN 3 to 8 – 10 lat. Kolejne 3 – 5 lat musi upłynąć, aby na podłożu śródnabłonkowej neoplazji rozwinął się rak szyjki macicy. Ryzyko progresji do wyższych stopni neoplazji, a w konsekwencji do raka dotyczy ok.10% zmian typu CIN 1, 10%-30%

zmian typu CIN 2 oraz zdecydowanej większości CIN 3.⁶⁵

Obecnie przyjmuje się, że CIN 1 jest histologiczną manifestacją zakażenia wirusowego, a nie rzeczywistym stanem przednowotworowym.⁶⁶ Progresja CIN 2 do CIN 3 i raka inwazyjnego dotyczy tych komórek, w których doszło do integracji DNA wirusa z genomem komórki nabłonkowej i wzrostu ekspresji onkoprotein wirusowych (E6 i E7). Cykl produktywny cząstek wirusa zachodzi przede wszystkim w CIN 1, rzadko w CIN 2, natomiast w zmianach typu CIN 3 obserwuje się głównie ekspresję onkogennych białek E6 i E7, nie ma natomiast ekspresji białek E2 i E4, które pełnią rolę regulatorów replikacji i transkrypcji DNA wirusa. Z powyższych względów zmiany typu CIN 1 (i dużo rzadziej CIN 2) mogą ulegać samoistnej regresji.

Najczęściej zmiany typu CIN 1 są konsekwencją przejściowego zakażenia HPV i w ok. 80% przypadków cofają się samoistnie. Aktualnie na świecie skrining raka szyjki jest nastawiony na wykrywanie zmian co najmniej CIN 2 (określanych w piśmiennictwie jako CIN 2+), co znajduje potwierdzenie w wytycznych WHO z 2013 roku.

1.6.4 Zakażenie HPV incydentalne i przetrwałe.

Zakażenie wirusem HPV jest obecnie najczęstszym zakażeniem przenoszonym drogą płciową. Według US Centers for Disease Control and Prevention 79 milionów Amerykanów jest aktualnie zainfekowanych HPV, a rocznie rozpoznaje się ok. 14 milionów nowych zakażeń. Rozpowszechnienie wirusa jest tak duże, że szacunkowo znaczna większość kobiet i mężczyzn aktywnych seksualnie nabędzie infekcję przynajmniej jednym z typów HPV w ciągu całego życia.

W większości przypadków zakażenie HPV jest stanem przejściowym, zwłaszcza w populacji kobiet młodych poniżej 25 roku życia. Według Amerykańskiego Towarzystwa Badań nad Rakiem (American Cancer Society, ACS) 49% nowych zakażeń dotyczy dziewcząt i kobiet pomiędzy 15 a 24 rokiem życia. Po 25 roku życia maleje ilość nowych zakażeń, ale wzrasta ryzyko przejścia zakażenia w formę przetrwałą.

Rozpowszechnienie wirusa brodawczaka jest sumą zakażeń incydentalnych i zakażeń przetrwałych, które nie uległy samoistnej regresji. Według Castle i wsp. ponad

90% nowych infekcji w każdym wieku ulega regresji w ciągu 6 – 18 miesięcy.⁶⁷ Na prawdopodobieństwo cofnięcia się zakażenia ma wpływ czas jego trwania. Największą szansę regresji mają zakażenia krótkotrwałe. Infekcje wykrywane u kobiet powyżej 30 roku życia trwają dłużej niż u kobiet młodszych, ponieważ prawdopodobnie są to wieloletnie infekcje przetrwałe.⁶⁸ Eliminacja incydentalnego zakażenia HPV odbywa się prawdopodobnie przy udziale limfocytów T CD4+.⁶⁹

Udowodnione czynniki ryzyka rozwoju infekcji przetrwałej to stan immunosupresji (np. nosiciele wirusa HIV, biorcy przeszczepów) oraz typ wirusa.⁷⁰ Nie zaprzecza się jednak udziału innych czynników ryzyka takich jak palenie tytoniu, przyjmowanie doustnych środków antykoncepcyjnych, infekcja Chlamydia trachomatis.⁷¹

Typem wirusa o największym ryzyku rozwoju infekcji przetrwałej i zmian typu CIN 3 jest typ HPV 16.⁷² W badaniu Castle i wsp. u 40 % kobiet, u których dwukrotnie stwierdzono obecność HPV 16 w odstępie 9-21 miesięcy, CIN 2+ rozwinęło się w ciągu następnych 3 lat obserwacji. Dla typu HPV 18 odsetek CIN 2+ wyniósł 15 %, a dla pozostałych typów wysokiego ryzyka łącznie 9%.⁶⁷

Wysokoonkogenne typy wirusa brodawczaka ludzkiego stwierdza się w ponad 95% przypadków raka płaskonabłonkowego i 55-90% gruczolakoraka. Wg metaanalizy obejmującej ponad 115 tys. kobiet HPV- pozytywnych, typy wirusa najczęściej wykrywane w raku szyjki macicy to :

- HPV 16 (57 %)
- HPV 18 (16%)
- HPV 58 (5%)
- HPV 33 (5%)
- HPV 45 (5%)
- HPV 31 (4%).⁷³

W ciągu ostatniej dekady, nawet w krajach prowadzących zorganizowany skrining, zaobserwowano wzrost częstości występowania inwazyjnego raka gruczołowego, który stanowi 10-20% wszystkich raków szyjki macicy.⁷⁴ Najczęściej spotykanym wysokoonkogennym typem HPV w tych przypadkach był HPV 18.⁷⁵

1.6.5 Diagnostyka HPV.

Metody pośrednio wskazujące na obecność wirusa:

1. Ocena mikroskopowa preparatów cytologicznych lub histologicznych – możliwe do stwierdzenia są koilocyty, komórki atypowe, komórki wielojądrowe, rogowacenie pojedynczych komórek, akantozę, parakeratozę
2. Odczyny immunohistochemiczne lub immunocytochemiczne w kierunku obecności białka p16 w preparatach cytologicznych i histologicznych.

Metody bezpośrednio wskazujące na obecność wirusa:

1. Badanie w mikroskopie elektronowym – pozwala na identyfikację wirusa np. w zeszkobinach z kłykcin. Metoda ta jest bardzo rzadko stosowana, gdyż liczba cząstek wirusa jest niewielka .
2. Diagnostyka molekularna – hybrydyzacja DNA HPV metodą PCR lub Hybrid Capture.

Analiza obecności wirusów wysoko- i wybranych niskoonkogennych z możliwością identyfikacji genotypów jest obecnie metodą z wyboru w rutynowym wykrywaniu HPV ze względu na wysoką czułość, nieinwazyjność i wysoki wskaźnik powtarzalności wyników. Pozwalają one na wykrycie obecności wirusa zarówno w fazie objawowej zakażenia, jak i w stadium infekcji utajonej.

Aktualnie najbardziej popularna jest metoda real-time PCR (łańcuchowej reakcji polimerazy w czasie rzeczywistym) polega na szybkim kopiowaniu poszukiwanego fragmentu DNA HPV przy użyciu swoistych primerów i jego namnożeniu do wielu kopii w czasie rzeczywistym. Detekcja amplifikowanego materiału odbywa się przy użyciu

sond molekularnych DNA znakowanych fluorescencyjnie.

Rzadziej stosowana metoda Hybrid Capture 2 czyli oznaczanie HPV metodą sond genetycznych jest testem zaaprobowanym przez Amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA) do diagnostyki molekularnej zakażeń HPV.

Rozwój diagnostyki molekularnej doprowadził w ostatnich latach do odkrycia metody wykrywającej transkrypty mRNA wirusów HPV wysokiego ryzyka. Umożliwia to wyodrębnienie pacjentek z przetrwałym zakażeniem wirusowym, u których rozpoczął się proces wbudowywania DNA wirusa w materiał genetyczny komórek nabłonka. Metoda ta odznacza się dużą czułością i swoistością.

W praktyce w Polsce obecnie dostępne są następujące testy identyfikujące określoną liczbę genotypów wirusa:

- **Test HPV 2** - test jakościowy, oparty na metodzie real-time PCR, wykrywający najczęstsze genotypy niskiego ryzyka (HPV 6 i 11) odpowiedzialne za powstawanie brodawek i kłykcin kończystych narządów płciowych zarówno kobiet, jak i mężczyzn.

- **Test HPV12 i Test HPV14** - jakościowy test HPV12 wykrywa 12 najczęstszych typów HPV wysokiego ryzyka: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 i pozwala na dokładne określenie ich genotypu. Test HPV14 jest uzupełnieniem testu HPV12 i jest rozszerzony o detekcję nieskoonkogennych genotypów 6 i 11.

- **Test HPV 13** – AMPLICOR® Human Papilloma Virus (HPV) Test - test jakościowy wykrywający 13 najczęstszych typów wysoko onkogenicznego wirusa HPV: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 i 68. Wynik zawiera informację o zakażeniu typami 16 i/lub 18 oraz pozostałymi typami, bez ich określania.

- **HPV 37** – LINEAR ARRAY HPV Genotyping Test - wykrywa 37 genotypów HPV 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 62, 64, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73 (MM9), 81, 82 (MM4), 83 (MM7), 84 (MM8), IS39 oraz CP6108. Jest to również test jakościowy, wynik zawiera informację o wykrytych typach wirusa.

- **Test HPV mRNA** – NucliSENS EasyQ™ HPV - to test jakościowy, wykrywający transkrypty mRNA onkogenów E6/E7 pięciu wysokoonkogennych genotypów HPV 16, 18, 31, 33 i 45. Stwierdzenie transkryptów mRNA E6/E7 potwierdza ekspresję wirusowych onkoprotein, co jest niezbędne do transformacji nowotworowej komórki. Test ten posiada certyfikat do diagnostyki klinicznej (CE-IVD) i pozwala na wykrycie infekcji przetrwałych, czyli wyodrębnienie grupy kobiet wysokiego ryzyka rozwoju CIN i raka szyjki macicy.

1.7. Nowa koncepcja narzędzia diagnostycznego – test podwójny.

Zastosowanie w skriningu testu podwójnego (tzw. co-testing) polega na jednoczesnym wykonaniu wymazu cytologicznego oraz testu na obecność wirusa HPV. Po raz pierwszy test podwójny został ujęty w rekomendacjach Amerykańskiego Towarzystwa Położników i Ginekologów (ACOG) w 2003 roku. Stosowanie testu podwójnego miało wówczas status rekomendacji „opcjonalnej”. Oznacza to, że kobiety po 30-tym roku życia mogły uzupełnić wykonywaną raz na 3 lata cytologię o test na DNA HPV. W 2009 roku ACOG zmienił status rekomendacji testu podwójnego na najwyższy (poziom A), a Amerykańskie Towarzystwo Badań nad Rakiem (American Cancer Society, ACS) wprowadziło rekomendację stosowania testu podwójnego jako alternatywy do cytologii w 2-3 letnich interwałach.⁷⁶

Największe zmiany w rekomendacjach amerykańskich towarzystw naukowych dokonały się w marcu 2012 roku. Zarówno Amerykańskie Towarzystwo Położników i Ginekologów (ACOG), Amerykańskie Towarzystwo Badań nad Rakiem (ACS), Amerykańskie Towarzystwo Kolposkopii i Patologii Szyjki Macicy (ASCCP) jak i Amerykańskie Towarzystwo Patologii Klinicznej (ASCP) silnie rekomendują stosowanie testu podwójnego w grupie kobiet między 30 a 65 rokiem życia. Interwały między kolejnymi badaniami wydłużono do 5 lat. Wytyczne dotyczące testu podwójnego mają najsilniejszy stopień rekomendacji A (tabela 7). Zastosowanie w skriningu samej cytologii w grupie wiekowej 30-65 r.ż. jest określone jako opcja akceptowalna. US Preventive Services Task Force jako jedyne towarzystwo stawia wykonywanie samej cytologii i testu podwójnego na jednakowo wysokim poziomie rekomendacji. W grupie wiekowej 21-29 r.ż. badanie cytologiczne w trzyletnich interwałach pozostaje jedyną zalecaną opcją.^{17,18}

ACS/ASCCP/ASCP i ACOG rekomendują również genotypowanie HPV w zakresie typów 16 i 18 u kobiet HPV-pozytywnych ale z prawidłowym wynikiem cytologii. Wykrycie typu 16 i/lub 18 jest wskazaniem do wykonania kolposkopii.¹⁷

Tabela 7. Rekomendacje amerykańskich towarzystw naukowych z 2012 roku dotyczące skriningu raka szyjki macicy.^{17,18}

Populacja	ACS/ASCCP/ASCP	USPSTF	ACOG
Poniżej 21 r.ż.	Skrining niewskazany	Skrining niewskazany	Skrining niewskazany
Wiek 21-29 r.ż.	Cytologia co 3 lata	Cytologia co 3 lata	Cytologia co 3 lata
Wiek 30-65 r.ż.	Preferowany test podwójny co 5 lat; akceptowalna cytologia co 3 lata	Test podwójny co 5 lat lub cytologia co 3 lata	Preferowany test podwójny co 5 lat; akceptowalna cytologia co 3 lata
Powyżej 65 r.ż.	Zakończenie skriningu w 65 r.ż. Warunek : brak CIN2+ w ciągu ostatnich 20 lat, adekwatny skrining dotychczas tj. 3 kolejne prawidłowe wyniki cytologii lub 2 kolejne prawidłowe wyniki testu podwójnego	Zakończenie skriningu w 65 r.ż. Warunek : adekwatny skrining dotychczas tj. 3 kolejne prawidłowe wyniki cytologii lub 2 kolejne prawidłowe wyniki testu podwójnego	Zakończenie skriningu w 65 r.ż. Warunek : brak CIN2+ w ciągu ostatnich 20 lat, adekwatny skrining dotychczas tj. 3 kolejne prawidłowe wyniki cytologii lub 2 kolejne prawidłowe wyniki testu podwójnego
Po hysterektomii ze wskazań innych niż CIN2+/ rak szyjki	Skrining niewskazany	Skrining niewskazany	Skrining niewskazany
Po zaszczepieniu przeciwko HPV	Jak u kobiet nieszczepionych	Jak u kobiet nieszczepionych	Jak u kobiet nieszczepionych

1.8. Koszty skriningu

W Polsce, zgodnie z zaleceniami Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego, w przypadku prawidłowych wymazów cytologicznych i braku czynników ryzyka, zaleca się wykonanie cytologii raz na 3 lata. Centralny Ośrodek Koordynujący Program Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy dokonał analizy kosztów poniesionych na realizację Programu w latach 2007-2009 (tabela 8). Celem analizy było wyliczenie jednostkowego kosztu badania cytologicznego oraz kosztu wykrycia jednego raka szyjki macicy. Do nakładów pozamedycznych zaliczono koszty funkcjonowania Ośrodków Koordynujących oraz wysyłki zaproszeń na badania przez NFZ. Koszty medyczne (pobranie i ocena rozmazu) zostały obliczone w oparciu o średnią cenę punktu NFZ z 2010r.

Tabela 8. Koszt wykonania jednej cytologii w latach 2007-2009.⁴⁴

	2007	2008	2009
Koszty pozamedyczne	21,5 zł	14,8 zł	10,6 zł
Koszty medyczne	6pkt NFZ x 8,52 zł = 51,1 zł		
Łącznie koszty jednej cytologii	72,6 zł	66,0 zł	61,8 zł

W 2009 roku dzięki realizacji Programu wykryto 622 przypadki raka szyjki macicy. Koszt wykrycia jednego przypadku raka wyniósł 15 043 zł.

Na podstawie liczby nieprawidłowych wyników cytologii i szacunkowej liczby wyników fałszywie dodatnich, wyliczono liczbę wykrytych stanów przedrakowych. Prawdopodobny koszt wykrycia jednego przypadku kształtował się na poziomie 600 zł.⁴⁴

Średni koszt badania molekularnego na obecność 13 wysokoonkogennych typów HPV to 258,00 zł. Wykonanie kolposkopii z biopsją skrawkową i oceną patomorfologiczną to średnio 290,00 zł.

2. Cele pracy.

1. Ocena wartości diagnostycznej testu podwójnego cytologia/HPV HR w wykrywaniu zmian CIN 2+.
2. Porównanie wartości diagnostycznej poszczególnych składowych testu podwójnego w wykrywaniu CIN 2+.
3. Analiza ekonomiczna wykorzystania testu podwójnego do badań skriningowych.

3. Materiał.

Materiał pobrano od 1281 pacjentek diagnozowanych w Pracowni Patofizjologii Szyjki Macicy Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego w Poznaniu (PPSM GPSK) w latach 2011-2013.

Kryterium włączenia stanowił nieprawidłowy wynik badania cytologicznego lub kliniczne podejrzenie patologii u kobiet z prawidłowym wynikiem cytologii. Udział procentowy pacjentek z poszczególnymi rozpoznaniem cytologicznymi przedstawiono w tabeli 9.

Za wynik nieprawidłowy w systemie Bethesda uznano rozpoznania : ASC-US, ASC-H, LSIL, HSIL, AGC oraz podejrzenie raka. Wyniki nieprawidłowe cytoonkologicznie w klasyfikacji Papanicolaou to stopień IIIB, IV i V.

Wszystkie pacjentki miały wykonany test molekularny na obecność DNA HPV wysokiego ryzyka oraz kolposkopię z biopsją miejsc najbardziej podejrzanych. U wszystkich kobiet wykonano diagnostyczne łyżeczkowanie ścian kanału szyjki macicy.

Wiek pacjentek zamykał się w przedziale od 16 do 79 r.ż.

Dla celów pracy pacjentki podzielono na 5 grup wiekowych :

1. Pacjentki poniżej 24 r.ż.
2. Pacjentki między 24 a 29 r.ż.
3. Pacjentki między 30 a 39 r.ż.
4. Pacjentki między 40 a 49 r.ż.
5. Pacjentki powyżej 50 r.ż.

Tabela 9. Liczebność grup pacjentek z poszczególnymi rozpoznaniem cytologicznymi.

rozpoznanie cytologiczne	prawidłowe	ASC-US	LSIL	HSIL	ASC-H	AGC	podejrzenie raka
liczba pacjentek	143	389	502	188	51	8	9

4. Metodyka badań.

4.1. Cytodiagnostyka

W Pracowni Patofizjologii Szyjki Macicy stosowany jest schemat oceny rozmazów cytologicznych zgodny z zasadami obowiązującymi w programach profilaktyki raka szyjki macicy w Unii Europejskiej.

Materiał z tarczy części pochwowej i kanału szyjki macicy pobierano szczoteczką typu cyto-brush, a następnie po usunięciu nadmiaru śluzu przenoszono na odtłuszczone szkiełko podstawowe. Bezpośrednio po pobraniu materiał umieszczano w 96% alkoholu etylowym na co najmniej 10 minut. Następnie materiał płukano wodą destylowaną, osuszano i przenoszono do roztworu hematoksyliny na 10 minut. Kolejny etap to ponowne płukanie wodą destylowaną w celu usunięcia nadmiaru barwnika. Jakość barwienia podlega kontroli mikroskopowej. Wybarwione szkiełka podstawowe zanurzano w barwniku Orange na 2 minuty, następnie dokonywano dwukrotnego płukania w 96% alkoholu, po czym zanurzano w barwniku EA 36 na 2 minuty. Kolejno materiał poddaje się czterokrotnemu płukaniu w roztworach alkoholowych, a następnie zanurza się w ksylenie. Tak wybarwiony i utrwalony rozmaz pokrywano ksylenem w małym stężeniu oraz balsamem kanadyjskim. Po nałożeniu szkiełka nakrywkowego preparat był gotowy do oceny mikroskopowej przez cytotechnika. Preparaty klasyfikowano według obowiązującego systemu Bethesda (TBS). Wszystkie preparaty nieprawidłowe pod względem cytoonkologicznym poddawane były powtórnej ocenie przez lekarza patomorfologa.

4.2. Diagnostyka wirusologiczna.

Materiał do badania pobierano szczoteczką typu cyto-brush z tarczy części pochwowej i kanału szyjki a także ze sklepień pochwy. Materiał umieszczano w buforze płynnym ThinPrep PreservCyt Solution i do czasu oceny wirusologicznej przechowywano w temperaturze od +2 do +8 stopni Celsjusza. Do oceny obecności HPV użyto testu molekularnego AMPLICOR HumanPapillomaVirus Roche DiagnosticsTM. Test ten identyfikuje DNA trzynastu najczęściej występujących wysokoonkogennych typów wirusa HPV : 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 59, i 68

w warunkach in vitro. Test ten oparty jest na metodzie real-time PCR. Procedura badania składa się z czterech etapów :

- przygotowanie próbki
- amplifikacja poszukiwanego fragmentu DNA za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy
- hybrydizacja zamplifikowanych produktów do sond oligonukleotydowych
- detekcja zamplifikowanych fragmentów związanych z sondami dzięki oznaczeniu kolorymetrycznemu (znakowanie fluorescencyjne).

Test AMPLICOR HPVTM wykonuje równoczesną amplifikację PCR DNA β -globiny, co zapewnia kontrolę komórkową. Mieszanina amplifikacyjna Master Mix zawiera pary starterów DNA dla 13 typów wirusa HPV HR oraz β -globiny. Selektywna amplifikacja badanego kwasu nukleinowego jest zapewniona przez zastosowanie enzymu AmpEraseTM.

4.3. Badanie kolposkopowe.

Diagnostyka kolposkopowa wykonywana w PPSM składa się z czterech podstawowych etapów :

- uwidocznienie szyjki macicy, pochwy i sromu,
- ocena zmian na szyjce macicy, pochwie i zewnętrznych narządach płciowych,
- ewentualne pobranie wycinków do badań histopatologicznych,
- weryfikacja wyników badania cytologicznego, kolposkopowego i histologicznego.⁷⁷

Po uwidocznieniu szyjki macicy, usunięciu nadmiaru śluzu i przemyciu tarczy części pochwowej roztworem 0,9% NaCl, uwidoczniano strefę przekształceń nabłonków na tarczy części pochwowej. Uwidocznienie całej strefy przekształceń było podstawą klasyfikacji obrazu kolposkopowego jako satysfakcjonującego.⁷⁸ Badanie kolposkopowe rozpoczynano od 2-8 – krotnego powiększenia w celu oceny całej szyjki, następnie przy 15 – krotnym powiększeniu dokonywano oceny podejrzanych zmian na szyjce.

Powiększenia 15-krotne wykorzystywano do oceny podnabłonkowego łożyska naczyniowego. Następnym etapem badania było wykonanie próby z 3% wodnym roztworem kwasu octowego. Roztwór ten powoduje obrzęk i zbielenie nabłonka szyjki na drodze odwracalnej reakcji koagulacji cytokeratyn, obecnych w nabłonku i podścielisku. Kolejnym etapem badania było wykonanie próby Schillera z płynem Lugola. Płyn Lugola wchodzi w reakcję z glikogenem zawartym w nabłonku wielowarstwowym płaskim. Po przemyciu tarczy części pochwowej prawidłowy nabłonek płaski wybarwia się na ciemnobrązowo, natomiast nabłonek neoplastyczny, ubogi w glikogen, wybarwia się na kolor jasnożółty lub nie wybarwia się wcale, pozostawiając tzw. obszar jodonegatywny. Końcowym etapem badania kolposkopowego była ocena sklepień i ścian pochwy podczas wysuwania wziernika.

Badanie kolposkopowe w Pracowni Patofizjologii Szyjki Macicy wykonywano przy użyciu kolposkopu stereoskopowego Olympus OCS-500. Oceny obrazów kolposkopowych dokonano przy pomocy skali Reida.

Skala Reida (Reid Colposcopic Index, RCI) jest obiektywnym narzędziem służącym do oceny stopnia zaawansowania procesu neoplastycznego. Skala ocenia cztery elementy obserwowanej zmiany i za każdy parametr przyznaje od 0 do 2 punktów (tabela 10). Wykorzystanie skali jest szczególnie przydatne do odróżnienia zmian niskiego stopnia (LG SIL) od zmian typu HG SIL. Ocena obrazu kolposkopowego na 2 do 5 punktów przemawia za obecnością zmian typu CIN 1 lub CIN 2. Punktacja powyżej 6 punktów sugeruje obecność CIN 3 lub raka.⁷⁹

Tabela 10. Skojarzony indeks kolposkopowy Reida.⁷⁹

Cecha zmiany	0 pkt	1 pkt	2 pkt
Margines zmiany po kwasie octowym	Niewyraźne granice zmiany, kłaczkowaty margines zmiany, granice „geograficzne”, zmiany satelitarne poza strefą przekształceń	Regularne, widoczne, ostre granice zmiany	Uniesione granice zmiany, zwinięte brzegi, granice wewnętrzne pomiędzy zmianami o różnej gęstości
Kolor zmiany po kwasie octowym	Półprzezroczysty, śnieżnobiały szybko ustępujący	Lekko matowy, lekko szary, nieczysty biały	Matowy, szary, gęsty, długo utrzymujący się po naniesieniu kwasu
Naczynia po kwasie octowym	Płaska mozaika, delikatne punkcikowanie	Zanik naczyń powierzchniowych po naniesieniu kwasu	Wyniosłe punkcikowanie i mozaika, naczynia nieprawidłowe
Test Schillera	Ciemnobrązowe zabarwienie, obszar jodonegatywny o punktacji 3 lub mniej z oceny powyższych cech	Częściowe wybarwienie jodem	Brak reakcji na jod, obszar jodonegatywny o punktacji powyżej 3 z oceny powyższych cech

4.4. Biopsja szyjki macicy.

U każdej z pacjentek zakwalifikowanych do badania wykonano celowane pobranie wycinków z miejsc podejrzanych na szyjce macicy oraz wytyżeczkowanie ścian kanału szyjki macicy. Wybór miejsc biopsji podyktowany był oceną kolposkopową.

Narzędzia biopsyjne zapewniały odpowiednią wielkość pobranego materiału tkankowego (grubość min. 2mm, szerokość min. 3mm), co umożliwia wiarygodną ocenę histologiczną.

Materiał z biopsji poddawano procesowi utrwalenia w buforowanym roztworze formaliny i po odwodnieniu zatapiano w bloczkach parafinowych. Wycinki umieszczano na szkiełkach i barwiono według schematu H + E (hematoksylina i eozyna).

Wszystkie preparaty przygotowywano i poddawano ocenie w Pracowni Patomorfologicznej Ginekologiczno – Położniczego Szpitala Klinicznego w Poznaniu.

5. Metody statystyczne.

Dla analizowanych metod diagnostycznych (cytodiagnostyki i testu molekularnego na obecność DNA HPV) wyznaczono liczebności obserwowane prawdziwie dodatnie, prawdziwie ujemne, fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne. Na podstawie powyższych wartości obliczono czułość, swoistość, wartość predykcyjną dodatnią i ujemną z 95% przedziałami ufności. Porównano czułość i swoistość cytologii i HPV testem Mc Nemara, natomiast PPV i NPV testem dla dwóch frakcji.

Wyznaczono pięć grup wiekowych, w których również obliczono wymienione wskaźniki. Zbadano czy wraz ze wzrostem wieku rosną wartości czułości, swoistości PPV i NPV testem χ^2 dla trendu.

Hipotezy statystyczne weryfikowano na poziomie istotności $\alpha=0,05$.

Obliczenia wykonano przy pomocy pakietu statystycznego StatSoft, Inc. (2011) STATISTICA (data analysis software system), v 10 oraz MedCalc v13,0,6,0 w Katedrze Informatyki i Statystyki Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu.

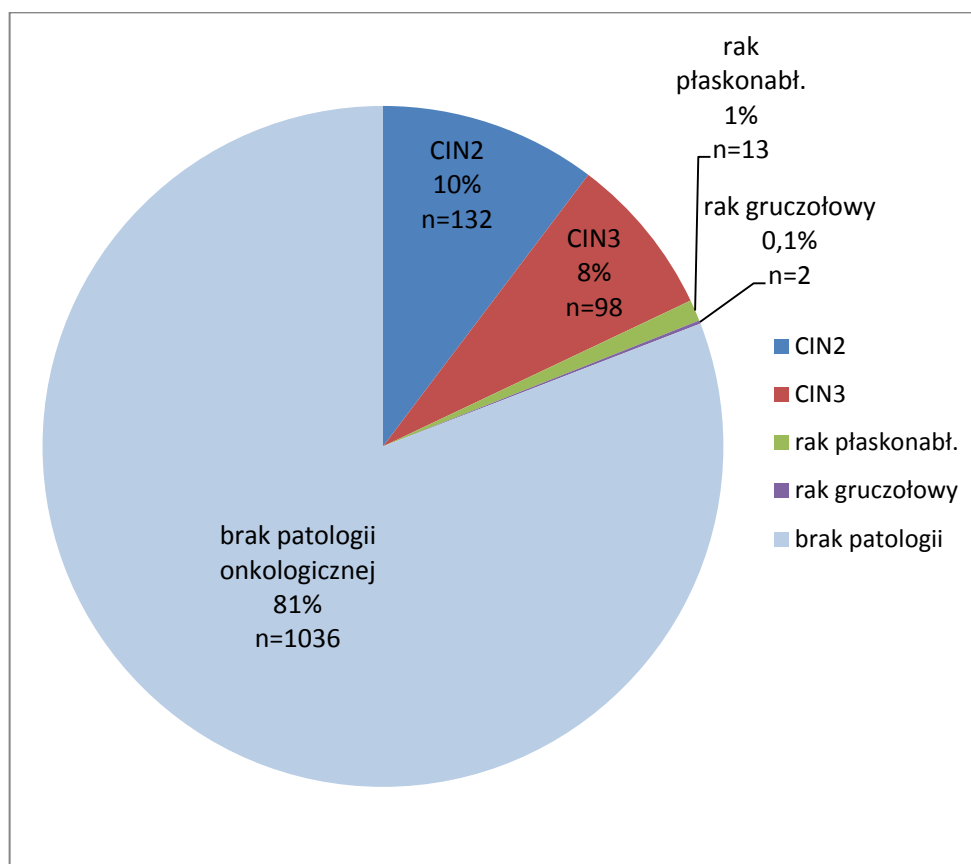
6. Wyniki badań.

W grupie 1281 pacjentek, po weryfikacji histopatologicznej, potwierdzono istnienie neoplazji CIN 2+ u 245 pacjentek (19%) – wykres 8. Wyniki podzielono w zależności od rozpoznania na :

- 132 pacjentki z rozpoznaniem CIN 2 (10%)
- 98 pacjentek z rozpoznaniem CIN 3 (8%)
- 13 pacjentek z rozpoznaniem raka płaskonabłonkowego (1%)
- 2 pacjentki z rozpoznaniem raka gruczołowego (0,1%)
- 1036 pacjentek z wykluczoną rzeczywistą patologią szyjki macicy (81%).

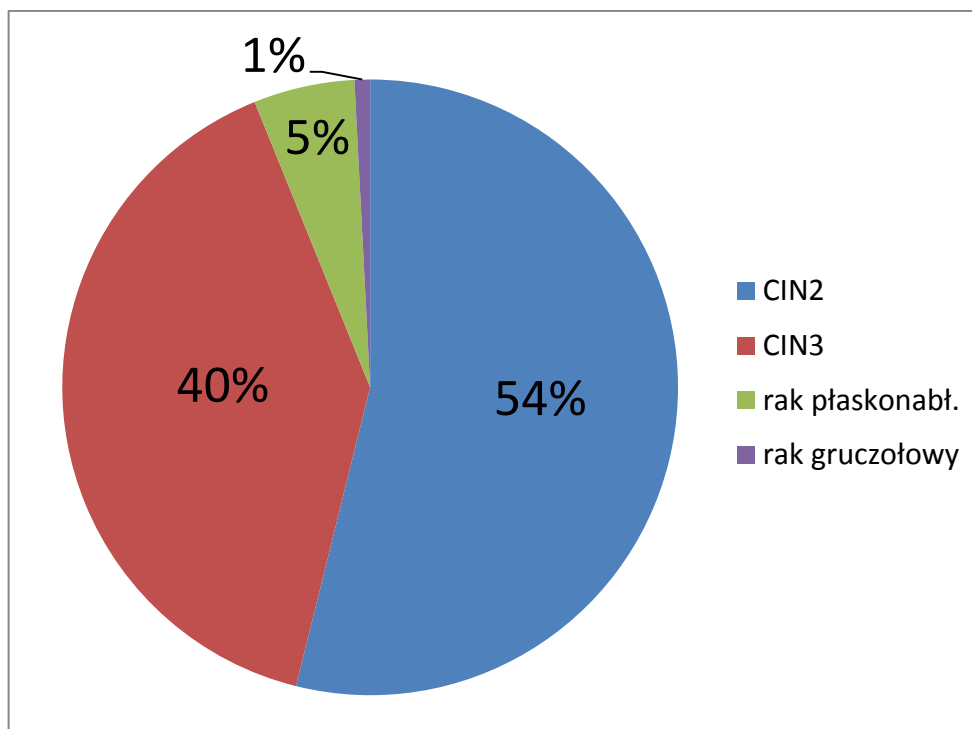
Do ostatniej grupy włączono pacjentki z rozpoznaniem CIN 1, koilocytosis, ectopia glandularis.

Wykres 8. Udział procentowy poszczególnych rozpoznań histopatologicznych w całej badanej populacji kobiet.



Do grupy badanej zakwalifikowano 245 pacjentek z rozpoznaniem histopatologicznymi CIN 2, CIN 3 i raka. Do grupy kontrolnej włączono 1036 pacjentek, u których nie potwierdzono istnienia neoplazji CIN 2+.

Wykres 9. Udział procentowy poszczególnych rozpoznań histopatologicznych w grupie badanej pacjentek (n=245)



Wśród pacjentek z grupy badanej najczęstszym rozpoznaniem było rozpoznanie śródnabłonkowej neoplazji szyjki macicy średniego stopnia – CIN 2, które stanowiło 54% wszystkich rozpoznań neoplastycznych (wykres 9). Pozostałe rozpoznania stanowiły :

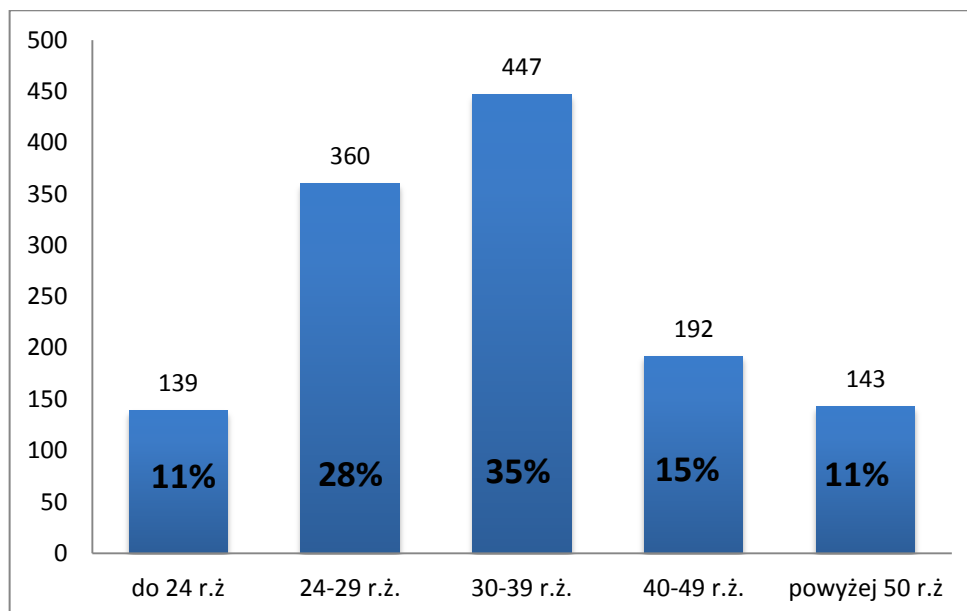
- CIN 3 – 40%
- rak płaskonabłonkowy – 5%
- rak gruczołowy – 1 %.

Całą populację pacjentek podzielono na 5 grup wiekowych (wykres 10) :

- do 24 roku życia – 139 kobiet – 11%
- między 24 a 29 rokiem życia - 360 kobiet – 28%
- między 30 a 39 rokiem życia – 447 kobiet – 35%

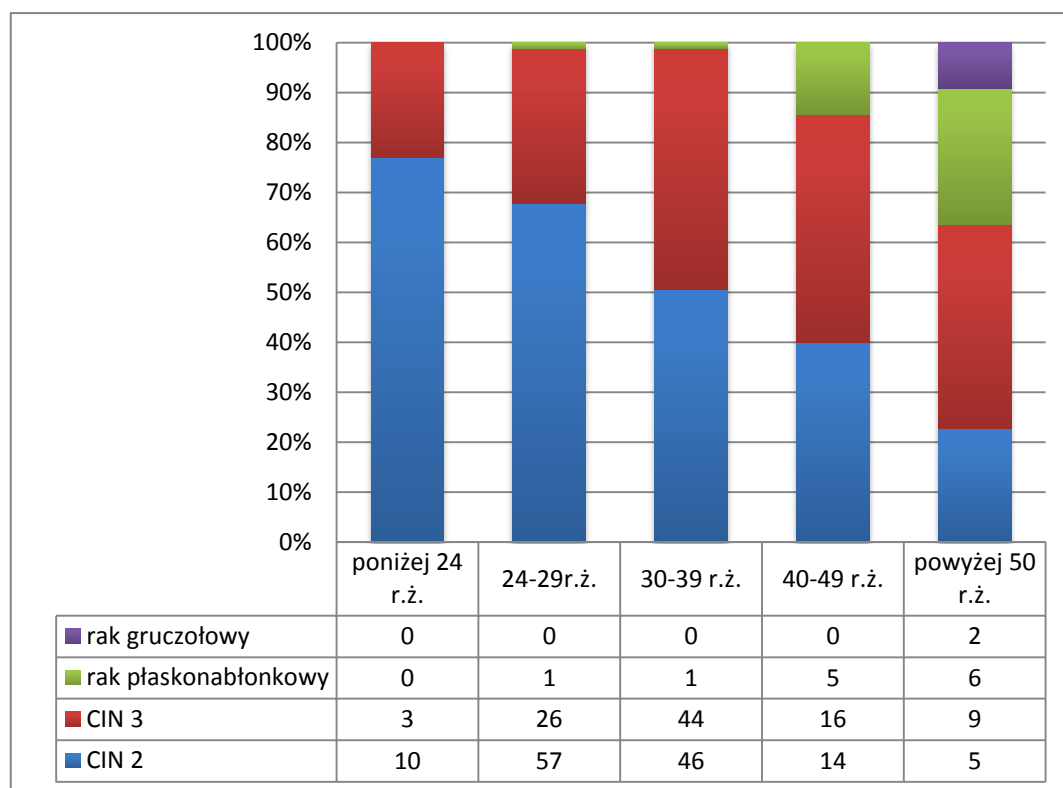
- między 40 a 49 rokiem życia – 192 kobiety – 15%
- powyżej 50 roku życia – 143 kobiety – 11%.

Wykres 10. Udział procentowy poszczególnych grup wiekowych w całej populacji badanej (n=1281)



We wszystkich grupach wiekowych oprócz grupy 40-49 r.ż., najczęstszym rozpoznaniem o charakterze neoplazji była śródnabłonkowa neoplazja średniego stopnia – CIN 2. W grupie wiekowej między 40-49 r.ż. najczęstszym rozpoznaniem było CIN 3. Wszystkie przypadki raka gruczołowego oraz większość przypadków raka płaskonabłonkowego (11/13) stwierdzono w grupie kobiet powyżej 40. roku życia. Wraz z wzrostem wieku spadał odsetek kobiet ze zmianami typu CIN2. Wzrastał natomiast wyraźnie odsetek pacjentek z zaawansowaną neoplazją CIN 3 i rakiem szyjki macicy (wykres 11).

Wykres 11. Udział procentowy poszczególnych rozpoznań o charakterze neoplazji w grupach wiekowych.

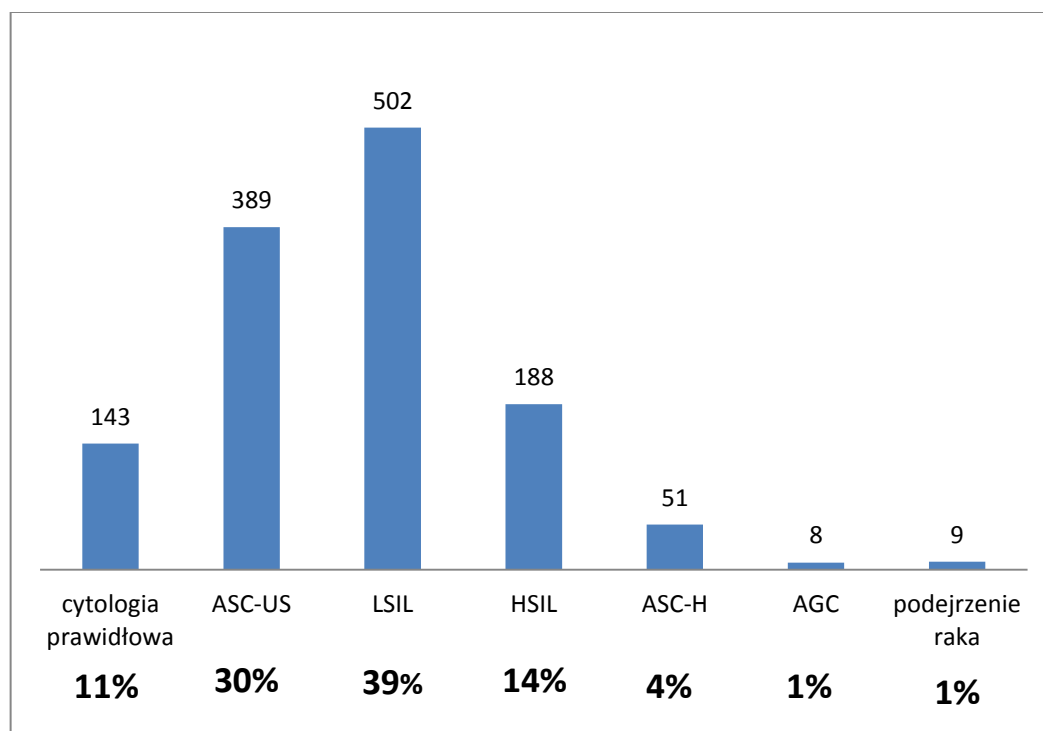


6.1. Wyniki cytodiagnostyki i testu molekularnego.

Odsetek nieprawidłowych rozpoznań cytologicznych w grupie badanych 1281 pacjentek wyniósł 89% (1147/1281) – wykres 12. Wyniki podzielono w zależności od rozpoznania cytologicznego na :

- 389 pacjentek z rozpoznaniem ASC-US
- 502 pacjentki z rozpoznaniem LSIL
- 188 pacjentek z rozpoznaniem HSIL
- 51 pacjentek z rozpoznaniem ASC-H
- 8 pacjentek z rozpoznaniem AGC
- 9 pacjentek z podejrzeniem raka
- 143 pacjentki z prawidłowym wynikiem badania cytologicznego.

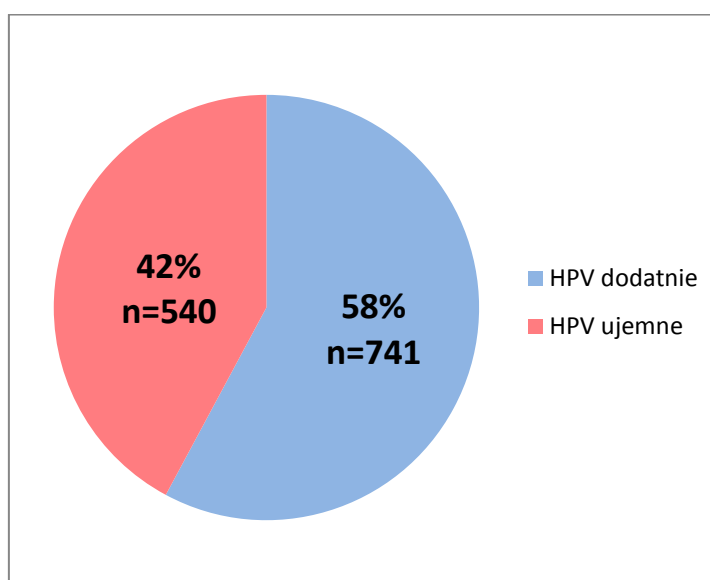
Wykres 12. Udział procentowy poszczególnych rozpoznań cytologicznych w populacji badanej (n=1281).



Najczęstszym rozpoznaniem we wszystkich grupach wiekowych było rozpoznanie cytologiczne L-SIL (39% wszystkich rozpoznań).

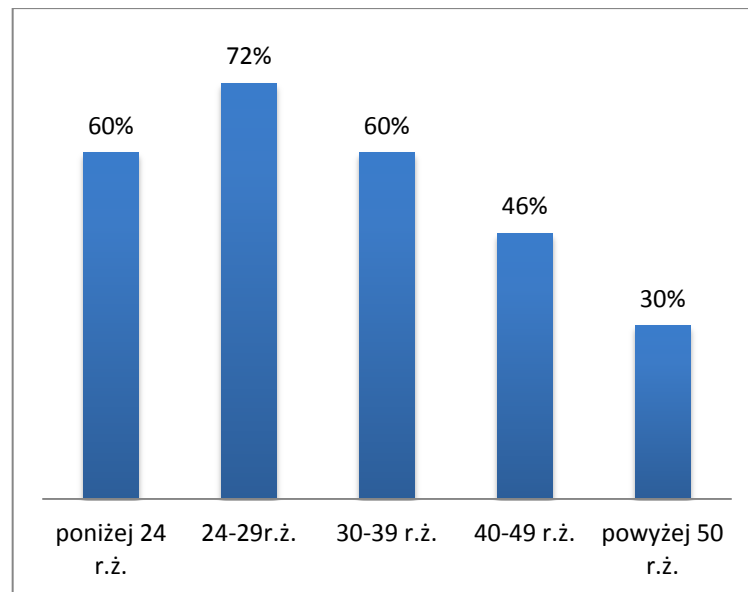
Po wykonaniu testu molekularnego w całej badanej populacji, dodatni wynik stwierdzono u 58% pacjentek (741/1281), a ujemny u 42% (540/1281) – wykres 13.

Wykres 13. Udział procentowy pacjentek z dodatnim i ujemnym wynikiem testu molekularnego w całej badanej populacji (n=1281).



W grupie wiekowej 24-29 r.ż. odsetek kobiet HPV – pozytywnych wynosił 72%. W grupach kobiet starszych odsetek ten był mniejszy i w grupie kobiet powyżej 50. roku życia wynosił już tylko 30% (wykres 14).

Wykres 14. Odsetek kobiet z dodatnim wynikiem testu molekularnego na obecność DNA HPV w poszczególnych grupach wiekowych.



Najczęstszym izolowanym typem wirusa HPV identyfikowanym u kobiet we wszystkich grupach wiekowych był HPV 16. Zakażenie HPV 16 stanowiło od 41% do 50% wszystkich zakażeń HPV w danej grupie wiekowej. Największą część zakażeń identyfikowanych w każdej grupie wiekowej stanowiła grupa tzw. typów rzadkich HPV : 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 i 68. Ponad 50% kobiet było zakażonych przynajmniej jednym z w/w typów wirusa. Zaobserwowano również, że z wiekiem maleje liczba równoczesnych zakażeń dwoma i więcej wysokoonkogennymi typami wirusa (tabela 11).

W grupie kobiet z potwierdzoną neoplazją CIN 2+, ponad 70% pacjentek było zakażonych typami HPV 16 i/lub HPV 18 (172/245).

Tabela 11. Udział procentowy zakażeń różnymi typami HPV w grupach wiekowych.

	<24 r.ż	24-29 r.ż	30-39 r.ż.	40-49 r.ż.	>50 r.ż
Izolowany HPV 16	17%	25%	26%	36%	44%
Izolowany HPV 18	0%	4%	3%	3%	2%
Izolowane typy rzadkie	54%	42%	47%	49%	44%
HPV 16,18	1%	2%	1%	0%	2%
HPV 16,rzadkie	23%	22%	17%	7%	7%
HPV 18,rzadkie	6%	3%	5%	3%	0%
HPV 16,18, rzadkie	0%	3%	1%	1%	0%

Po porównaniu rozpoznań cytologicznych i wyników testu molekularnego z rozpoznaniem histopatologicznymi, stwierdzono, że cytodiagnostyka nie wykryła 11,8% (29/245) przypadków neoplazji CIN 2+ (tabela 12). Było to 19 przypadków neoplazji śród nabłonkowej średniego stopnia (CIN 2) oraz 10 przypadków neoplazji wysokiego stopnia (CIN 3). Dzięki cytodiagnostyce wykryto wszystkie przypadki raka płaskonabłonkowego oraz gruczołowego. Odsetek wyników fałszywie dodatnich w przypadku cytodiagnostyki wyniósł 89,9% (931/1036), przy założeniu, że celem skriningu było wykrycie rzeczywistej patologii szyjki czyli CIN 2+.

W przypadku testu molekularnego nie wykryto 5,3% wszystkich przypadków neoplazji CIN 2+ (13/245). Było to 10 pacjentek z rozpoznaniem CIN 2, 2 z rozpoznaniem CIN 3 oraz jeden przypadek raka gruczołowego. Dzięki testowi molekularnemu wykryto wszystkie przypadki raka płaskonabłonkowego. Wyniki fałszywie dodatnie, przy założeniach opisujących cel skriningu analogicznie do cytodiagnostyki, w przypadku testu HPV wyniosły 49,1% (509/1036). Nie zanotowano przypadku rozpoznania zmiany CIN 2+ przy ujemnym wyniku testu molekularnego i prawidłowym wyniku oceny wymazu cytologicznego.

Tabela 12. Zestawienie rozpoznań histopatologicznych z rozpoznaniem cytologicznymi i wynikami testu molekularnego w całej badanej populacji (n=1281).

BIOPSJA HP	ogółem	CYTOLOGIA		Test HPV DNA	
		prawidłowa	nieprawidłowa	ujemny	dodatni
CIN2	132	19	113	10	122
CIN3	98	10	88	2	96
Rak płaskonabł.	13	0	13	0	13
Gruczolakorak	2	0	2	1	1
Brak patologii	1036	105	931	527	509

Tabela 13. Porównanie czułości i swoistości cytodiagnostyki i testu HPV dla rozpoznań CIN2+ w całej badanej populacji (n=1281).

	Cytologia		Test HPV	
CZUŁOŚĆ	88,1 %	95%CI: 83,4% - 91,9%	94,6 %	95%CI: 91,1% - 97,1%
SWOISTOŚĆ	10,1 %	95%CI: 8,3% - 12,1%	50,8 %	95%CI: 47,7% - 53,9%
Pozytywna wartość predycyjna PPV	18,8 %	95%CI: 16,6% - 21,2%	31,3 %	95%CI: 27,9% - 34,7%
Negatywna wartość predycyjna NPV	78,3 %	95%CI: 70,4% - 85,0%	97,5 %	95%CI: 95,9% - 98,7%

Czułość cytologii w wykrywaniu zmian o charakterze neoplazji CIN 2+ w całej badanej grupie kobiet została oceniona na 88,1% (95%CI: 83,4% - 91,9%), a swoistość na 10,1% (95%CI: 8,3% - 12,1%) – tabela 13. W przypadku testu molekularnego czułość wyniosła 94,6% (95%CI: 91,1% - 97,1%) a swoistość 50,8% (95%CI: 47,7% - 53,9%).

Tabela 14. Porównanie czułości cytodiagnostyki i testu molekularnego.

Cytologia	88,16%
Test HPV	94,69%
Różnica	6,530%
95% CI	1,323% - 11,848%
Chi-kwadrat (A/D)	McNemara 201,0049
(B/C)	5,357143
Poziom istotności	P = 0,02064

Tabela 15. Porównanie swoistości cytodiagnostyki i testu molekularnego.

Cytologia	10,14%
Test HPV	50,87%
Różnica	40,730%
95% CI	37,048% - 44,288%
Chi-kwadrat (A/D)	McNemara 295,2891
(B/C)	364,6934
Poziom istotności	P = 0,0000

Posługując się testem chi-kwadrat McNemara obliczono, iż zarówno różnica czułości jak i swoistości cytologii i testu HPV jest istotna statystycznie (tabela 14 i 15).

Negatywna wartość predykcyjna testu molekularnego wyniosła 97,5 % (95%CI: 95,9% - 98,7%), a cytologii 78,3 % (95%CI: 70,4% - 85,0%).

Pozytywna wartość predykcyjna została oceniona na 18,8 % (95%CI: 16,6% - 21,2%) dla cytologii i 31,3 % (95%CI: 27,9% - 34,7%) dla testu HPV.

Zarówno wartości PPV jak i NPV testu molekularnego zostały oszacowane na statystycznie istotnie większe od cytodiagnostyki (tabela 16 i 17)

Tabela 16. Porównanie pozytywnej wartości predykcyjnej (PPV) cytodiagnostyki i testu molekularnego.

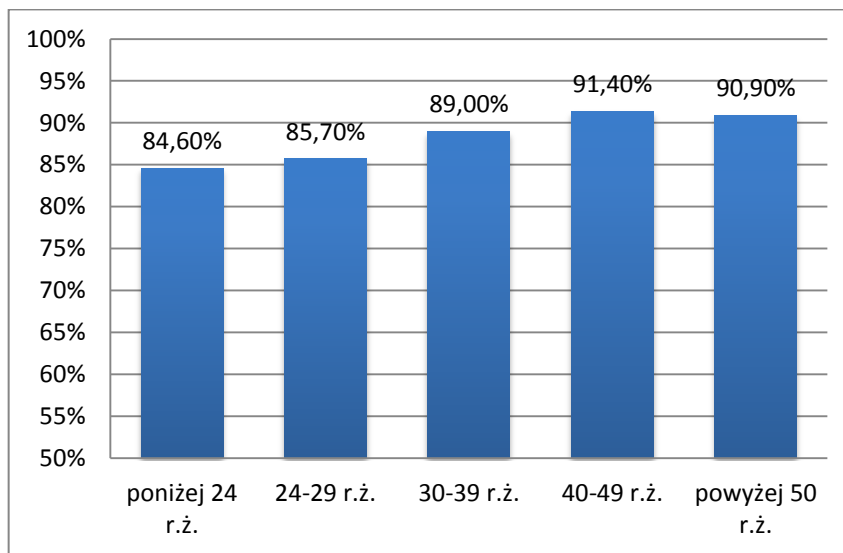
Cytologia	18,83%
Test HPV	31,31%
Różnica	12,480%
95% CI	8,387% - 16,607%
Chi-kwadrat	38,055
Poziom istotności	P < 0,0001

Tabela 17. Porównanie negatywnej wartości predykcyjnej (NPV) cytodiagnostyki i testu molekularnego.

Cytologia	78,36%
Test HPV	97,59%
Różnica	19,230%
95% CI	12,379% - 27,247%
Chi-kwadrat	64,676
Poziom istotności	P < 0,0001

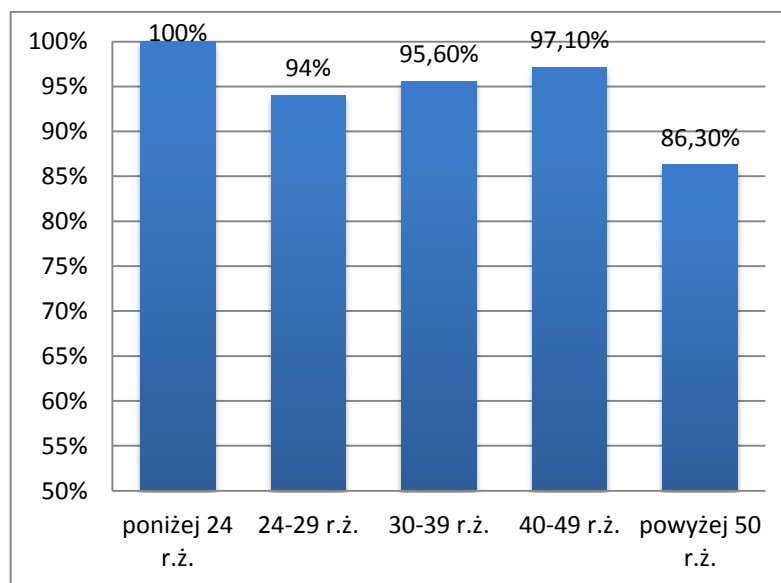
Czułość cytologii w poszczególnych grupach wiekowych przedstawiono na wykresie 15.

Wykres 15. Porównanie czułości cytodiagnostyki w grupach wiekowych.



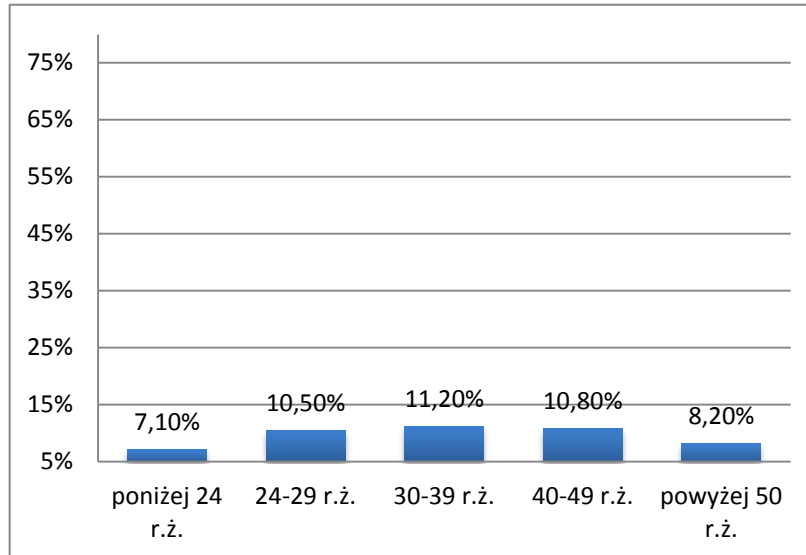
Posługując się testem Chi-kwadrat dla trendu, przy wartości $p=0,301514$, nie wykazano istotnej statystycznie zależności czułości cytodiagnostyki od wieku kobiet (brak trendu). Czułość testu molekularnego w poszczególnych grupach wiekowych przedstawia wykres 16.

Wykres 16. Porównanie czułości diagnostycznej testu HPV w grupach wiekowych.

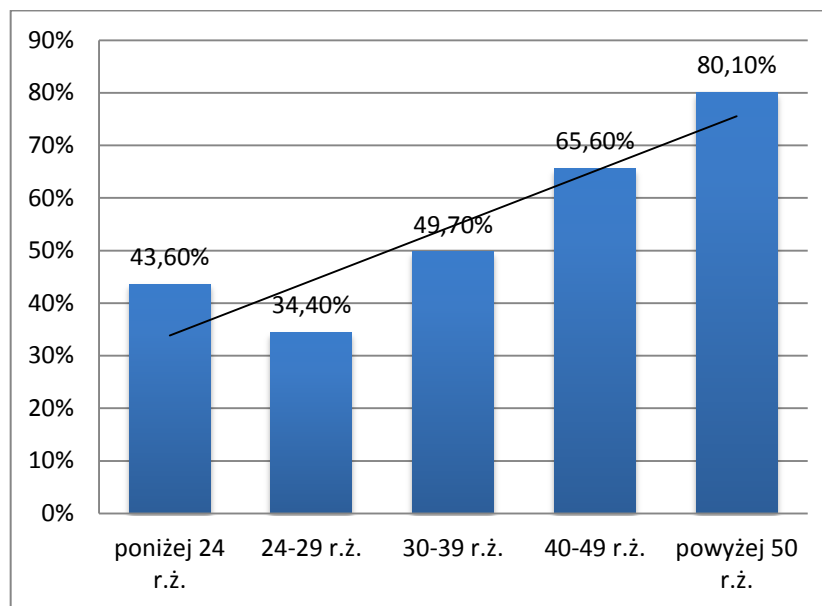


Podobnie jak w przypadku cytologii, nie wykazano istotnego statystycznie trendu czułości diagnostycznej testu HPV w grupach wiekowych ($p=0,234301$).

Wykres. 17. Porównanie swoistości cytodiagnostyki w grupach wiekowych.



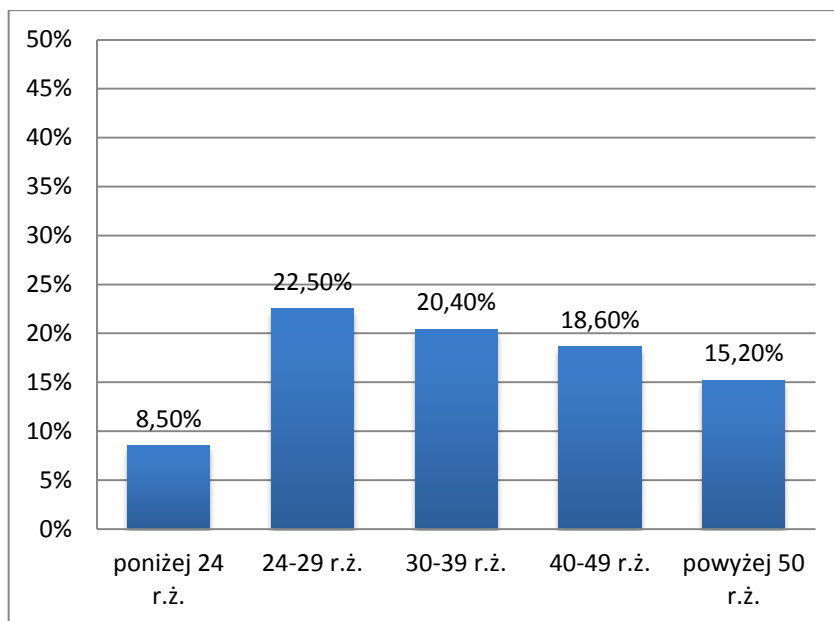
Wykres 18. Porównanie swoistości testu molekularnego w grupach wiekowych.



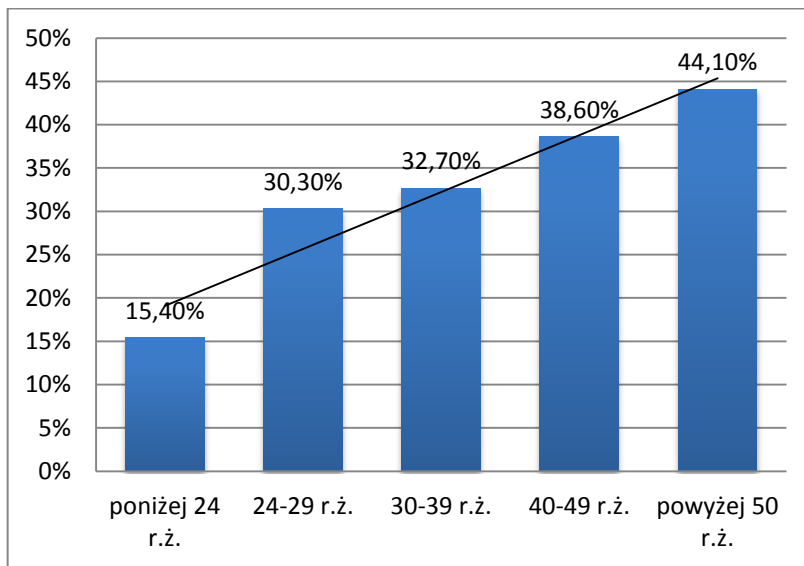
Swoistość testu HPV podlegała istotnemu statystycznie trendowi wzrostowemu wraz z wiekiem kobiet ($p=0,034201$) – wykres 18.

Wykresy 19 i 20 ilustrują wartości PPV cytologii i testu molekularnego w poszczególnych grupach wiekowych.

Wykres 19. Porównanie pozytywnej wartości predykcyjnej (PPV) cytologii w grupach wiekowych.



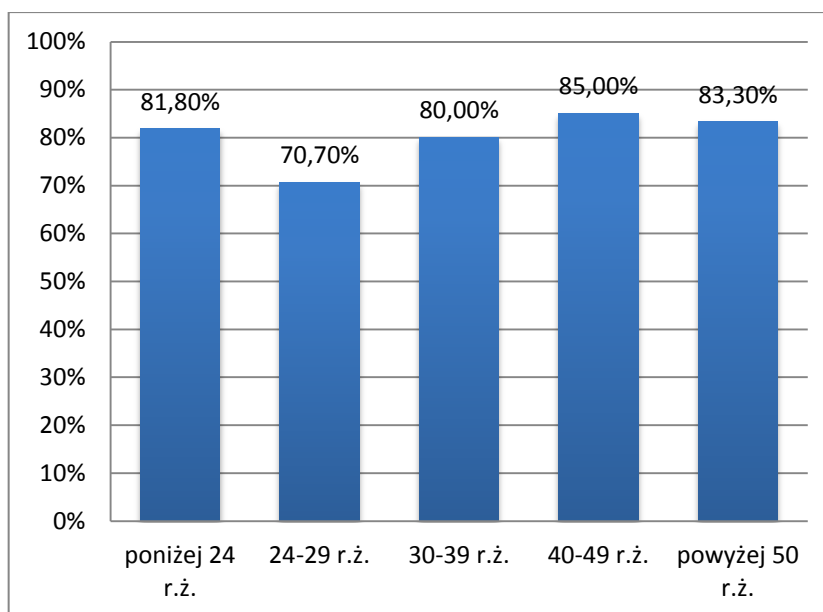
Wykres 20. Porównanie pozytywnej wartości predykcyjnej testu HPV w grupach wiekowych.



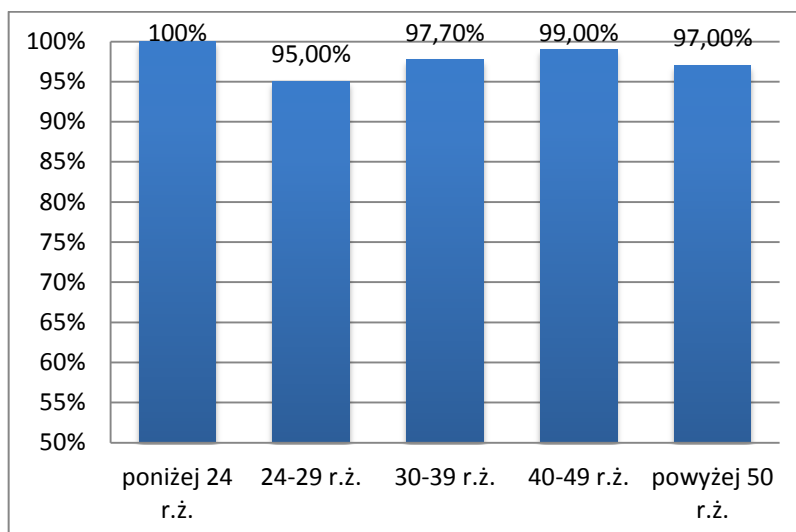
W przypadku testu molekularnego wykazano systematyczny wzrost PPV wraz z wiekiem kobiet ($p=0,019802$).

Na wykresach 21 i 22 przedstawiono wartości NPV cytologii i testu HPV w poszczególnych grupach wiekowych.

Wykres 21. Porównanie negatywnej wartości predykcyjnej cytodiagnostyki w grupach wiekowych.



Wykres 22. Porównanie negatywnej wartości predykcyjnej testu HPV w grupach wiekowych.



Nie zaobserwowano istotnego statystycznie trendu NPV w grupach wiekowych zarówno dla cytodiagnostyki, jak i testu HPV.

Dokładność metod (accuracy, ACC) obliczono wg poniższego wzoru.

$$ACC = \frac{TP + TN}{n}$$

Dla cytologii dokładność diagnostyczna wyniosła 25% a dla testu molekularnego została oszacowana na 59%.

6.2. Wyniki testu podwójnego.

Czułość testu połączonego składającego się z badania cytologicznego i testu molekularnego dla wykrywania zmian o charakterze neoplazji średniego i wysokiego stopnia oraz raka wyniosła 100% (95% CI; 98,51% - 100,00%) – tabela 18. Umożliwiło to wykrycie wszystkich przypadków patologii szyjki macicy w badanej populacji 1281 kobiet.

Tabela 18. Wyniki testu połączonego w całej badanej grupie kobiet.

Cytologia + test HPV		
Czułość	100,00%	95% CI (98,51% - 100,00%)
Swoistość	7,05%	95% CI (5,56% - 8,78%)
PPV	20,28%	95% CI (18,05% - 22,66%)
NPV	100,00%	95% CI (95,07% - 100,00%)

6.3. Analiza ekonomiczna.

Biorąc pod uwagę średnie koszty badania cytologicznego, testu DNA HPV, kolposkopii i biopsji, liczbę wykrytych przypadków neoplazji i raka oraz liczbę wyników fałszywie pozytywnych oszacowano średni koszt wykrycia jednego przypadku CIN 2+ w populacji 1281 przebadanych pacjentek dla każdej z metod (tabela 19).

Tabela 19. Koszt identyfikacji pojedynczego przypadku CIN 2+ dla całej populacji badanej (n=1281)

	CYTOGIADNOSTYKA	TEST DNA HPV	TEST PODWÓJNY
KOSZT	1896 zł	2350 zł	3092 zł

W tabeli 20 przedstawiono średni koszt wykrycia CIN 2+ w populacji kobiet powyżej 30 roku życia.

Tabela 20. Koszt identyfikacji pojedynczego przypadku CIN 2+ dla populacji kobiet 30+ (n=782)

	CYTOGIADNOSTYKA	TEST DNA HPV	TEST PODWÓJNY
KOSZT	1653 zł	2263 zł	3102 zł

W całej populacji 1281 kobiet wykryto 245 przypadków CIN 2+. W tabeli 21 przedstawiono odsetek wykrytych zmian CIN 2+ w populacji poniżej i powyżej 30 roku życia.

Tabela 21. Udział procentowy wykrytych zmian CIN 2+ w populacji poniżej i powyżej 30 roku życia.

wiek	poniżej 30 roku życia n=499	ponyżej 30 roku życia n=782
% wykrytych CIN 2+	39,6 n=97	60,4 n=148

Szacunkowo 10% CIN2+ ulega progresji w ciągu 10 lat. Średnie koszty leczenia onkologicznego w 2009 roku w Polsce przedstawiono w tabeli 22.

Tabela 22. Koszty leczenia onkologicznego raka szyjki macicy w Polsce w 2009r.⁴⁴

Procedury dla C53 w 2009 roku	Koszt jednostkowy	Liczba wykonanych procedur	Koszt całkowity
Leczenie operacyjne	10920 zł	1334	14 567 280 zł
Brachyterapia	7558 zł	1708	12 909 064 zł
Teleterapia	8699 zł	1307	11 369 593 zł
Chemioterapia	2850 zł	1276	3 636 600 zł
Ogółem			42 482 537 zł

Do wyżej przedstawionych kosztów poszczególnych procedur leczniczych należałoby doliczyć koszty wizyt diagnostycznych przed i w trakcie leczenia, koszty wizyt kontrolnych po zakończeniu leczenia oraz koszty całego wachlarza świadczeń socjalnych. Trudne do oszacowania są również koszty społeczne – związane z utratą zdolności do wykonywania pracy czy, w przypadku zgonu, opieką nad małoletnimi dziećmi. Wszystko to należy uwzględnić w rachunku opłacalności ekonomicznej wdrażania nowych metod diagnostycznych.

7. Wnioski.

1. Wartość diagnostyczna testu podwójnego przewyższa parametry diagnostyczne cytodiagnostyki i badań molekularnych stosowanych oddzielnie do identyfikacji zmian CIN 2+. Tylko połączenie obu metod prowadzi to wykrycia wszystkich przypadków patologii szyjki macicy w badanej populacji.
2. Test molekularny charakteryzuje się statystycznie istotnie większą czułością, swoistością, PPV i NPV niż cytodiagnostyka.
3. Koszty skriningu są najwyższe w przypadku zastosowania testu podwójnego. Redukcja populacji docelowej dla testu podwójnego do kobiet w wieku 30+ ograniczy częściowo wzrost kosztów skriningu przy utrzymaniu jego efektywności wykrywczej zmian CIN 2+.

8. Dyskusja.

Na świecie trwają próby rozwiązania kwestii wyboru nowego, konkurencyjnego do cytodiagnostyki, narzędzia diagnostycznego do wykrywania stanów przedrakowych szyjki macicy. Oczekiwania stawiane nowym strategiom diagnostycznym to :

- jak najprecyzyjniejsza identyfikacja pacjentek z neoplazją,
- zwiększenie czułości i swoistości testu diagnostycznego,
- możliwość wyodrębnienia tzw. grupy pacjentek wysokiego ryzyka, u których nie stwierdza się zmian o charakterze onkologicznym, ale istnieje duże ryzyko ich rozwoju w ciągu najbliższych kilku lat,
- obiektywizacja testu diagnostycznego
- eliminacja błędów ludzkiego poprzez wprowadzenie automatyzacji
- wybór najbardziej optymalnej metody diagnostycznej dla danej grupy wiekowej,
- wydłużenie odstępów między badaniami,
- osiągnięcie zamierzonego efektu programu badań przesiewowych, jakim jest zmniejszenie śmiertelności w populacji, przy możliwie najniższych kosztach,
- zmniejszenie problemu niewystarczającej zgłaszalności kobiet na badania
- zmniejszenie kosztocłonności profilaktyki, przy jednoczesnym wzroście efektywności diagnostycznej badań.

Wprowadzona w XX wieku cytodiagnostyka jako podstawa programów badań przesiewowych, przyczyniła się do ogromnego spadku zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy na świecie. Cytodiagnostyka coraz trudniej spełnia kryteria nowoczesnego testu przesiewowego, mimo tego jest wciąż stosowana powszechnie do dnia dzisiejszego w badaniach profilaktycznych. Najpoważniejszą ułomnością rozmazów cytologicznych wydaje się być duża liczba wyników fałszywie negatywnych. Badania wykazały, że 20-40% nowych przypadków raka szyjki macicy jest diagnozowanych u kobiet poddanych regularnemu skriningowi cytologicznemu.^{80,81} Niektóre prace wykazują odsetek wyników fałszywnie ujemnych cytodiagnostyki dochodzący do nawet 50%.⁸² Może to być spowodowane błędami na wielu etapach procesu diagnostycznego, nieprawidłową techniką pobierania, barwienia i utrwalania materiału i błędami w ocenie rozmazu przez cytotechnika. Od 1% do 8% rozmazów

cytologicznych jest określanych jako nienadające się do oceny.⁸⁶ W badaniu Islama i wsp. wyniki nienadające się do oceny poddano powtórnej analizie i wykazano obecność zmian o charakterze atypii, a nawet raka w 7% przypadków.⁸³

Duży odsetek wyników fałszywie negatywnych dotyczy w szczególności zmian zlokalizowanych głęboko wewnątrz kanału szyjki macicy. W literaturze podkreśla się niższą czułość cytodiagnostyki w wykrywaniu gruczolakoraka w porównaniu do zmian wywodzących się z nabłonka płaskiego zlokalizowanego na tarczy części pochwowej szyjki macicy.⁸⁴ Wynika to przede wszystkim z braku możliwości pełnego dostępu do wnętrza kanału, natomiast zastąpienie niegdyś stosowanych wymazówek i szpatulek szczoteczkami endocerykalnymi, znacząco wpływa na zwiększenie czułości cytologii w wykrywaniu zmian nabłonka gruczołowego.⁸⁵ Szwedzkie badanie na grupie kobiet z rozpoznaniem AIS (adenocarcinoma in situ) wykazało, że u 63,4% z nich cytologia wykazała jedynie nieprawidłowości komórek płaskonabłonkowych, co doprowadziło do ingerencji chirurgicznej i pozwoliło ostatecznie ustalić właściwego rozpoznania raka gruczołowego.⁸⁶

W niniejszej pracy odsetek wyników fałszywie ujemnych wyniósł 11,8 % i dotyczył zmian o charakterze śródnabłonkowej neoplazji średniego i wysokiego stopnia. W celu szerszej oceny ryzyka uzyskania wyniku fałszywie ujemnego należałoby zwiększyć liczebność grupy kontrolnej. Na potrzeby wykonywanych badań włączono tylko 143 kobiety z prawidłowym wynikiem oceny wymazu cytologicznego. Należy jednak zauważyć, że cytodiagnostyka umożliwiła detekcję wszystkich 13 przypadków raka płaskonabłonkowego i 2 przypadków gruczolakoraka.

Istotnym problemem okazała się jednak znaczna liczba wyników fałszywie dodatnich, która w przypadku cytologii wyniosła aż 89,9%. Wynika to z pewnością z faktu, iż badana populacja 1281 kobiet jest niejednorodna; duża część pacjentek została skierowana do Pracowni Patofizjologii Szyjki Macicy z nieprawidłowym wynikiem badania cytologicznego wykonanym w innym ośrodku, celem pogłębienia diagnostyki. Standard i jakość cytodiagnostyki wykonywanej poza PPSM jest trudny do

oceny i może odbiegać od norm przyjętych w Unii Europejskiej. W każdym przypadku w PPSM został wykonany test molekularny i kolposkopia z biopsją. Tak duży odsetek wyników fałszywie dodatnich wynika być może z faktu błędnego klasyfikowania rozmazów cytologicznych i nadrozpoznaniania zmian oznaczanych jako ASC-US w innych ośrodkach w Wielkopolsce. Wiele doniesień wskazuje na fakt, że ASC-US pozostaje najczęściej formułowanym nieprawidłowym wynikiem oceny rozmazu cytologicznego, a jego wiarygodność i wartość prognostyczna pozostaje niska. Na świecie podkreśla się, iż nawet w najlepszych ośrodkach i przy spełnieniu warunków jakości wymazów jako nadających się do oceny, zakres interpretacji rozpoznania ASC-US pozostaje bardzo szeroki.⁸⁷ W badaniach wykazano, że tylko 20% rozpoznań ASC-US współistnieje z rzeczywistą zmianą neoplastyczną szyjki macicy,⁸⁸ a u 50-80% kobiet weryfikacja histopatologiczna nie potwierdza istnienia patologii w obrębie nabłonka płaskiego. W mojej pracy na 389 pacjentki z rozpoznaniem ASC-US neoplazja szyjki macicy została potwierdzona jedynie w 6 przypadkach, co stanowi 1,54%. W populacji 1281 pacjentek najczęstszym nieprawidłowym wynikiem cytologicznym był nie ASC-US lecz LSIL, który stanowił 39% wszystkich rozpoznań. U pacjentek z LSIL potwierdzono istnienie neoplazji średniego i wysokiego stopnia w 18,32% przypadkach.

Czułość i swoistość cytodiagnostyki według różnych autorów różni się znacznie między ośrodkami. Badanie Mayrand na ponad 10 tysiącach kobiet wykazało, że średnia czułość cytologii w wykrywaniu zmian CIN 2 i CIN 3 wyniosła 55,4%. W niektórych doniesieniach wykazano wzrost czułości cytologii wraz z wiekiem pacjentek.⁸⁹ Według przeglądu prac Nanda⁹⁰ rozpiętość czułości cytodiagnostyki była bardzo duża i wahała się od 30% do 87%. Z kolei swoistość cytologii została oceniona średnio na 98%. Była ona niższa dla zmian typu HG SIL niż LG SIL, co prowadziło do niepotrzebnych interwencji.

W niniejszej pracy czułość cytodiagnostyki została oceniona na 88,1%, bez istotnego trendu w grupach wiekowych, a swoistość jedynie na 10,1%. Bardzo niska swoistość spowodowana dużą liczbą wyników fałszywie dodatnich generuje

niepotrzebne koszty pogłębionej diagnostyki. Przede wszystkim jednak prowadzi do niepotrzebnych, inwazyjnych zabiegów diagnostycznych, co nie jest obojętne dla zdrowia, a także stanu psychicznego pacjentek. Analizując wyniki pracy, można zaryzykować twierdzenie, że opierając się jedynie na cytodiagnostyce, należałoby wykonać 931 zbędnych kolposkopii i biopsji szyjki macicy, aby wykryć 216 przypadków neoplazji i raka. Jak już jednak wcześniej wspomniano, populacja kobiet włączonych do badania jest pod wieloma względami specyficzna. Do PPSM jako ośrodka wyższego stopnia referencji kierowane były pacjentki z podejrzeniem istniejącej patologii szyjki macicy. Odsetek nieprawidłowych wyników cytologicznych wyniósł 89%, podczas gdy w ogólnej populacji kobiet w programach przesiewowych stanowi on od 1% do 8% wszystkich ocenionych rozmazów. W Polsce w ramach Programu Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy w 2008 roku nieprawidłowe wyniki cytologiczne stanowiły 2,43%.⁹¹

Związek pomiędzy przewlekłym zakażeniem wirusem brodawczaka ludzkiego a rozwojem śródnamionkowej neoplazji szyjki macicy i raka, a także progresją tych zmian, jest udokumentowany ponad wszelką wątpliwość. Rozwój kierunków badawczych zajmujących się biologią wirusa i molekularnym mechanizmem karcynogenezy doprowadził do możliwości praktycznego wykorzystania tej wiedzy. Obecnie na świecie trwa dyskusja nad miejscem diagnostyki wirusologicznej zakażenia HPV wysokiego ryzyka w programach skriningowych. W Europie prowadzonych jest 6 dużych wieloośrodkowych badań mających na celu ocenić bezpieczeństwo stosowania testu HPV jako badania pierwszego rzutu. Z kolei badanie ALTS (ASC-US/LSIL Trial Study) prowadzone w Stanach, opierało się na idei tzw. reflex testing, czyli wykonywania testu molekularnego w sytuacji stwierdzenia nieprawidłowego wyniku cytologicznego. Teza ta koreluje z założeniami będącymi podstawą planowania badań na potrzeby niniejszej pracy. Badanie ALTS wykazało, że włączenie testu HPV do algorytmu diagnostycznego może obniżyć liczbę kolposkopii o 50%, podczas gdy czułość wykrywania zmian typu CIN 3 została oceniona na 96%.⁹²

Wielu autorów potwierdza, że test molekularny charakteryzuje się wyższą czułością niż cytodiagnostyka, ale niższą swoistością. W niniejszej pracy zarówno czułość jak i swoistość testu DNA HPV została oszacowana na większą od cytologii, a różnice parametrów opisujących oba testy były istotne statystycznie. Swoistość testu HPV w całej grupie badanych kobiet wyniosła jedynie 50,8%. Analizując jednak ten parametr w poszczególnych grupach wiekowych wyraźnie widać stopniowy wzrost swoistości wraz z wiekiem pacjentek. W grupie wiekowej 24-29 lat swoistość testu molekularnego wynosiła 34,4% a w grupie powyżej 50 r.ż. przekraczała 80%. Jest to logiczną konsekwencją naturalnego przebiegu zakażenia HPV. Wirus brodawczaka ludzkiego jest szeroko rozpowszechniony wśród młodych kobiet. Szacuje się, że zakażenie nim dotyczy 43% kobiet w wieku 14-40 lat.⁹³ Infekcja u dziewcząt i młodych kobiet w ogromnej części przypadków jest zwalczana przez organizm samoistnie. W pierwszym roku infekcji regresja dotyczy 40%-70% młodych kobiet, a w ciągu 2-5 lat może osiągnąć nawet 100%.⁹⁴ Jednocześnie, w tej grupie wiekowej rak szyjki macicy występuje niezmiernie rzadko, współczynnik zachorowalności wynosi około 0,1 na 100 tysięcy.⁹⁵ Dane te tłumaczą dużą liczbę wyników fałszywie dodatnich testu molekularnego w grupach najmłodszych kobiet, a co za tym idzie, niską swoistość. Jednocześnie wraz z rosnącym wiekiem kobiet wrasta ryzyko przejścia zakażenia w formę przetrwałą a także zmniejsza się szansa na samoistne cofnięcie się infekcji. Zmniejsza się również rozpowszechnienie wirusa w populacji. Włączenie testu HPV do skriningu dopiero u kobiet po 30 roku życia, wydaje się więc być bardzo uzasadnione pod względem medycznym i ekonomicznym skriningu.

Największe znaczenie praktyczne dla realizacji programów przesiewowych ma jednak negatywna wartość predykcyjna testu. W efekcie badań prowadzonych na potrzeby niniejszej pracy zarówno NPV jak i PPV testu molekularnego były istotnie statystycznie większe w porównaniu z cytodiagnostyką. Wysoka wartość NPV oznacza minimalne ryzyko rozwoju choroby przy negatywnym wyniku testu. Biorąc pod uwagę przebieg zakażenia HPV, czas upływający od zakażenia do rozwoju neoplazji i jej ewentualnej progresji do raka szyjki macicy, a także punkt uchwytu testu HPV uważa się, że włączenie go do programów skriningowych pozwala na bezpieczne wydłużenie

odstępów między badaniami. W niniejszej pracy NPV testu molekularnego osiągnęła wartość 97,5%, a w połączeniu z cytologią – 100%. Prawie identyczne wyniki osiągnięto w badaniach Mayrand i wsp. (2007r.)⁹⁶ Dane te jednoznacznie przemawiają zarówno za włączeniem diagnostyki molekularnej do skriningu cytologicznego, jak i za bezpiecznym dla kobiet wydłużeniem przerw czasowych między kolejnymi badaniami.

Za wydłużeniem interwałów między badaniami przemawia również przedstawiona wcześniej analiza spadku zachorowalności na raka szyjki macicy (tabela 5). Opierając się tylko na skriningu cytologicznym wykazano, że wykonywanie badań co 3 lata prowadzi do szacowanej redukcji zachorowalności o 91%. Przy stosowaniu odstępów 5-letnich spadek zachorowalności byłby o 7% niższy, przy dwukrotnie mniejszej liczbie wymazów w życiu kobiety, a co za tym idzie, o połowę mniejszymi kosztami skriningu. Co istotne, wykonywanie badania cytologicznego co roku, praktycznie nie wpływa na dalsze obniżenie się zachorowalności na raka szyjki macicy, jakie można osiągnąć stosując interwały 3-letnie.²⁷ W obliczu ograniczeń cytodiaagnostyki jako metody, włączenie do skriningu drugiego testu diagnostycznego wydaje się jedynym racjonalnym sposobem na osiągnięcie dalszego obniżenia współczynników zachorowalności i umieralności.

W niniejszym badaniu potwierdzono, że ani cytodiaagnostyka ani test molekularny stosowane oddzielnie, nie są wolne od wyników fałszywie ujemnych. Zwraca uwagę jednak różnica w ilości wyników fałszywie dodatnich – w przypadku cytologii było to 931, a w przypadku testu molekularnego – 509 przypadków, a więc prawie o połowę mniej. Wynik fałszywie dodatni wiąże się z niepotrzebnym pogłębieniem diagnostyki, wykonaniem kolposkopii, biopsji i ryzykiem oraz dyskomfortem pacjentki z tym związanym. Testowi podwójnemu poddano całą grupę pacjentek, w której 39% stanowiły kobiety do 30 roku życia. Ze względu na rosnącą z wiekiem swoistość testu molekularnego, można z dużym prawdopodobieństwem założyć, że gdyby test HPV wykonano tylko u pacjentek po 30 roku życia, odsetek wyników fałszywie pozytywnych byłby znacznie mniejszy.

Biorąc pod uwagę średnie koszty badania cytologicznego, testu DNA HPV, kolposkopii i biopsji, liczbę wykrytych przypadków neoplazji i raka oraz liczbę wyników fałszywie pozytywnych oszacowano średni koszt wykrycia jednego przypadku CIN 2+ dla każdej z metod. Był on najwyższy dla testu podwójnego.

Test podwójny, który pozornie wydaje się kosztowną propozycją, jest jednak rozwiązaniem najbardziej ekonomicznym. Zakładając, że posługujemy się jedynie cytologią w odstępach 3-letnich, liczba wymazów w życiu jednej kobiety wynosi 14 (w wieku 21, 24, 27, 30, 33, 36, 39, 42, 45, 48, 51, 54, 57 i 60 lat). Koszt monitorowania jednej kobiety przez cały okres nadzoru skriningowego między 25 a 59 rokiem życia wyniósłby 26 166zł (14 x 1896zł). Posługując się natomiast nowym algorytmem z wykorzystaniem testu HPV, monitorowanie skriningowe oparte byłoby na wykonaniu trzech wymazów cytologicznych (w wieku 21, 24 i 27 lat) a od 30 roku życia poddawana byłaby testowi podwójnemu raz na 5 lat (w 30, 35, 40, 45, 50, 55 i 60 roku życia). Koszt skriningu dla jednej kobiety wyniósłby 27 332zł (3 x 1896zł + 7 x 3092zł). Różnica w potencjalnych bezpośrednich kosztach między cytodiagnostyką a testem podwójnym jest minimalna. Test podwójny dodatkowo charakteryzuje się 100% czułością i 100% negatywną wartością predykcyjną, co oznacza dalsze, znaczne obniżenie kosztów związanych z potencjalnym leczeniem onkologicznym niewykrytych przez cytodiagnostykę przypadków neoplazji.

Na podstawie wyników badań oraz coraz liczniejszych doniesień z literatury światowej wydaje się, że połączenie testu molekularnego z cytodiagnostyką stanowić będzie podstawę programów skriningowych w przyszłości. Koncepcja testu podwójnego nie jest obca na polu medycyny prewencyjnej. Połączenie dwóch narzędzi diagnostycznych stosuje się do wczesnego wykrywania raka piersi, raka jelita, grubego, płuc czy jajnika.

W Polsce w 2014 roku w województwach wielkopolskim i mazowieckim, zgodnie z wytycznymi światowymi, wdrożony został Program Pilotażowy łącznego zastosowania cytodiagnostyki i testu molekularnego do wykrywania stanów przednowotworowych szyjki macicy.

Streszczenie.**Wstęp:**

Wprowadzenie zorganizowanych programów skriningowych opartych na cytodiagnostyce doprowadziło do znacznego spadku zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy w krajach europejskich, Stanach Zjednoczonych a także w Polsce. Realizacja programów profilaktyki ujawniła jednak niedoskonałości wykorzystywanego testu diagnostycznego czyli badania cytologicznego, jako metody identyfikacji stanów przedrakowych szyjki macicy.

Według najnowszych wytycznych amerykańskich towarzystw naukowych, test podwójny złożony z wymazu cytologicznego i molekularnej oceny obecności DNA HPV jest wskazywany jako optymalne rozwiązanie kwestii wyboru nowego narzędzia diagnostycznego dla programów badań przesiewowych raka szyjki macicy.

Cel pracy:

Celem pracy jest ocena wartości diagnostycznej testu podwójnego oraz poszczególnych jego składowych (cytodiagnostyki i testu DNA HPV) w wykrywaniu śródnabłonkowej neoplazji szyjki macicy średniego i dużego stopnia w zależności od wieku populacji, a także analiza ekonomiczna wykorzystania testu podwójnego do badań skriningowych.

Materiał i metody:

Materiał stanowi 1281 pacjentek diagnozowanych w Pracowni Patofizjologii Szyjki Macicy w Poznaniu w latach 2011-2013. U każdej z kobiet wykonano wymaz cytologiczny oraz test molekularny na obecność 13 wysoko onkogennych typów HPV, a następnie badanie kolposkopowe z pobraniem wycinków z tarczy pochwowej szyjki macicy. Weryfikacja histopatologiczna umożliwiła określenie parametrów dokładności wykrywczej badania cytologicznego, testu molekularnego oraz połączenia dwóch metod razem (czułość, swoistość, dokładność, pozytywna i negatywna wartość predykcyjna) w różnych grupach wiekowych.

Wyniki:

Test molekularny w porównaniu z cytodiagnostyką charakteryzował się większą czułością, swoistością oraz dokładnością diagnostyczną. Czuość cytodiagnostyki do wykrywania zmian typu CIN 2+ została oceniona na 88,1% (95%CI: 83,4%-91,9%) a

testu molekularnego na 94,6% (95%CI: 91,1%-97,1%). Swoistość i pozytywna wartość predykcyjna testu HPV rośnie wraz z wiekiem pacjentek. Czułość i negatywna wartość predykcyjna testu połączonego wyniosła 100%, co świadczy o wysokiej wartości diagnostycznej testu do wykrywania zmian przedrakowych szyjki macicy.

Summary.**Introduction:**

Implementing organized cytology-based screening programs resulted in major decrease in cervical cancer incidence and mortality worldwide. Despite the fact that the Pap smear had a profound effect on cervical cancer prevention, cytologic screening has inherent limitations, that have forced many to revisit the utility of cytology as a primary screening test.

According to the newest ACOG/ASC/ASCCP/USPSTF guidelines, HPV DNA testing is strongly recommended in women over 30 years old as an addition to cytology (also known as co-testing).

Objectives:

Comparison of sensitivity, specificity, accuracy, positive and negative predictive value of Pap smear and HPV DNA testing.

Assesment of sensitivity, specificity, accuracy, positive and negative predictive value of Pap smear combined with HPV DNA testing.

Cost evaluation of each method.

Material and method:

The study included 1281 patients with either abnormal Pap smear result or normal Pap smear result and clinical suspicion of cervical pathology. All women were examined in the Laboratory of Patophysiology of Uterine Cervix in Gynecology and Obstetrics Clinical Hospital of Poznan University of Medical Sciences in 2011-2013. In all patients the following examinations were performed: Pap smear, HPV testing, colposcopy, cervical punch biopsy and endocervical curettage.

Results:

HPV testing detected CIN 2+ with a sensitivity of 94,6% (95%CI: 91,1%-97,1%) compared to sensitivity of cytology of 88,1% (95%CI: 83,4%-91,9%). Specificity and

positive predictive value of HPV testing increased with age. Using HPV testing combined with cytology allowed detection of all CIN 2+ lesions. Sensitivity and negative predictive value of co-testing was calculated to be 100%.

Co-testing is characterized by high usefulness in identifying cervical intraepithelial neoplasia grade 2 and higher. Both cytology and HPV testing used separately have limitations and had shown false negative results. Combination of two methods was the most sensitive and cost effective strategy.

Spis tabel:

Tabela 1. Zachorowalność na raka szyjki macicy w Polsce w latach 1980-2010.....	13
Tabela 2. Zachorowalność na raka szyjki macicy w poszczególnych województwach w latach 2005-2011.....	17
Tabela 3. Zachorowalność na raka szyjki macicy w Wielkopolsce w latach 2001-2010...18	
Tabela 4. Umieralność na raka szyjki macicy w Wielkopolsce w latach 2001-2010.....	19
Tabela 5. Zmniejszenie zachorowalności na raka płaskonabłonkowego szyjki macicy w zależności od częstości wykonywania... badania cytologicznego.....	23
Tabela 6. Porównanie klasyfikacji cytologicznych i odpowiadających im rozpoznań patomorfologicznych.....	41
Tabela 7. Rekomendacje amerykańskich towarzystw naukowych z 2012 roku dotyczące skriningu raka szyjki macicy.....	48
Tabela 8. Koszt wykonania jednego wymazu cytologicznego w latach 2007-2009 w Polsce.....	49
Tabela 9. Liczebność grup pacjentek z poszczególnymi rozpoznaniem cytologicznymi.....	51
Tabela 10. Skojarzony indeks kolposkopowy Reida.....	55
Tabela 11. Udział procentowy zakażeń różnymi typami HPV w grupach wiekowych.....	64
Tabela 12. Zestawienie rozpoznań histopatologicznych z rozpoznaniem cytologicznymi i wynikami testu molekularnego w całej badanej populacji (n=1281).....	65
Tabela 13. Porównanie czułości i swoistości cytologii i testu HPV dla rozpoznań CIN2+ w całej badanej populacji.....	65
Tabela 14. Porównanie czułości cytodiagnostyki i testu molekularnego.....	66

Tabela 15. Porównanie swoistości cytodiagnostyki i testu molekularnego.....	66
Tabela 16. Porównanie pozytywnej wartości predykcyjnej cytodiagnostyki i testu molekularnego.....	67
Tabela 17. Porównanie negatywnej wartości predykcyjnej cytodiagnostyki i testu molekularnego.....	67
Tabela 18. Wyniki testu połączonego w całej badanej grupie kobiet.....	73
Tabela 19. Koszt identyfikacji pojedynczego przypadku CIN 2+ dla całej populacji badanej (n=1281).....	74
Tabela 20. Koszt identyfikacji pojedynczego przypadku CIN 2+ dla populacji kobiet 30+ (n=782).....	74
Tabela 21. Udział procentowy wykrytych zmian CIN 2+ w populacji poniżej i powyżej 30 roku życia.....	75
Tabela 22. Koszty leczenia onkologicznego raka szyjki macicy w Polsce w 2009r.....	75

Spis wykresów

Wykres 1. Standaryzowane współczynniki zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy w państwach Europy.....	7
Wykres 2. Trendy zachorowalności na raka szyjki macicy w krajach Europy Zachodniej w latach 1960-2010.....	9
Wykres 3. Trendy zachorowalności na raka szyjki macicy w krajach Europy Środkowej i Południowej w latach 1960-2010.....	10
Wykres 4. Trendy zachorowalności na raka szyjki macicy w krajach Europy Wschodniej w latach 1960-2010.....	11
Wykres 5. Trendy zachorowalności na raka szyjki macicy w Polsce w latach 1980-2010.....	13
Wykres 6. Zachorowalność na raka szyjki macicy w Polsce w latach 2008-2010 w zależności od wieku.....	14
Wykres 7. Trendy umieralności na raka szyjki macicy w Polsce w latach 1965-2010.....	15
Wykres 8. Udział procentowy poszczególnych rozpoznań histopatologicznych w całej badanej populacji kobiet.....	57
Wykres 9. Udział procentowy poszczególnych rozpoznań histopatologicznych w grupie badanej pacjentek (n=245).....	58
Wykres 10. Udział procentowy poszczególnych grup wiekowych w całej populacji badanej (n=1281).....	59
Wykres 11. Udział procentowy poszczególnych rozpoznań o charakterze neoplazji w grupach wiekowych.....	60
Wykres 12. Udział procentowy poszczególnych rozpoznań cytologicznych w populacji badanej (n=1281).....	61
Wykres 13. Udział procentowy pacjentek z dodatnim i ujemnym wynikiem testu molekularnego w całej badanej populacji (n=1281).....	62

Wykres 14. Odsetek kobiet z dodatnim wynikiem testu molekularnego na obecność DNA HPV w poszczególnych grupach wiekowych.....	63
Wykres 15. Porównanie czułości cytodiagnostyki w grupach wiekowych.....	68
Wykres 16. Porównanie czułości diagnostycznej testu HPV w grupach wiekowych.....	68
Wykres. 17. Porównanie swoistości cytodiagnostyki w grupach wiekowych.....	69
Wykres 18. Porównanie swoistości testu molekularnego w grupach wiekowych.....	69
Wykres 19. Porównanie pozytywnej wartości predykcyjnej (PPV) cytologii w grupach wiekowych.....	70
Wykres 20. Porównanie pozytywnej wartości predykcyjnej testu HPV w grupach wiekowych.....	70
Wykres 21. Porównanie negatywnej wartości predykcyjnej cytodiagnostyki w grupach wiekowych.....	71
Wykres22. Porównanie negatywnej wartości predykcyjnej testu HPV w grupach wiekowych.....	71

Spis rycin.

Rycina 1. Wyniki ankiety GUS przeprowadzonej wśród kobiet powyżej 15 roku życia,
dotyczącej poddania się badaniu cytologicznemu.....34

Wykaz skrótów.

ACC – accuracy, dokładność [metody]

ACS – American Cancer Society, Amerykańskie Towarzystwo Badań nad Rakiem

ACOG – American Congress of Obstetricians and Gynecologists, Amerykańskie Towarzystwo Położników i Ginekologów

ALTS – ASC-US/LSIL Triage Study

ASCCP – American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, Amerykańskie Towarzystwo Kolposkopii i Patologii Szyjki Macicy

ASCP – American Society for Clinical Pathology, Amerykańskie Towarzystwo Patologii Klinicznej

ASC-US – atypical squamous cells of undetermined significance, atypowe komórki nabłonka płaskiego o nieokreślonym znaczeniu

ASC-H – atypical squamous cells, cannot exclude HSIL, atypowe komórki nabłonka płaskiego, nie można wykluczyć HSIL

ASR – age standardized rate, współczynnik standaryzowany do wieku w danej populacji

AGC – atypical glandular cells, atypowe komórki gruczołowe

AGUS – atypical glandular cells of undetermined significance, atypowe komórki gruczołowe o nieokreślonym znaczeniu

CIN – cervical intraepithelial neoplasia, śródnabłonkowa neoplazja szyjki macicy

CIS – carcinoma in situ, rak przedinwazyjny

COK – Centralny Ośrodek Koordynujący

DNA – deoxyribonucleic acid, kwas deoksyrybonukleinowy

EUCAN – European Union Cancer Database

FDA – US Food and Drug Administration, Amerykańska Agencja Żywności i Leków

GUS – Główny Urząd Statystyczny

hTERT – human telomerase reverse transcriptase, odwrotna transkryptaza telomerazy ludzkiej

HART – HPV in Addition to Routine Testing, test HPV jako uzupełnienie rutynowego skriningu

HIV – human immunodeficiency virus, ludzki wirus niedoboru odporności

HPV – human papillomavirus, wirus brodawczaka ludzkiego

HSIL – high-grade squamous intraepithelial lesion, zmiana śródnabłonkowa dużego stopnia

IARC – International Agency for Research on Cancer, Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem

LBS – liquid base cytology, cytologia na podłożu płynnym

LCR – long control region, długi region kodujący HPV

LSIL – low-grade squamous intraepithelial lesion, zmiana śródnabłonkowa małego stopnia

mRNA – messenger ribonucleic acid, matrycowy kwas rybonuleinowy

NCI – National Cancer Institute, Narodowy Fundusz Walki z Nowotworami

NPV – negative predictive value, negatywna wartość predykcyjna

NFZ – Narodowy Fundusz Zdrowia

PCR – polymerase chain reaction, reakcja łańcuchowa polimerazy

PPV – positive predictive value, pozytywna wartość predykcyjna

PPSM – Pracownia Patofizjologii Szyjki Macicy

PTG – Polskie Towarzystwo Ginekologiczne

SIMP – System Informatycznego Monitorowania Profilaktyki

TBS – The Bethesda System, system Bethesda, klasyfikacja Bethesda

USPSTF - United States Preventive Services Task Force

WHO – Światowa Organizacja Zdrowia

WOK – Wojewódzki Ośrodek Koordynujący

Piśmiennictwo

- ¹ Latest world cancer statistics, International Agency for Research on Cancer, WHO 2013.
- ² Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F : GLOBOCAN 2012 v1.0 Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013.
- ³ Latest global cancer trends in five continents, International Agency for Research on Cancer, WHO Oct 2013.
- ⁴ Gatta G, Trama A, Capocaccia R : Variation in cancer survival and patterns of care across Europe: roles of wealth and health-care organization. National Cancer Institute Monograph 2013,46:79-87.
- ⁵ IARC Working Group on Cervical Cancer Screening : Screening for cancer of the uterine cervix. IARC Sci Publ. 1986; (76):15-24.
- ⁶ Linos A, Riza E : Comparisons of cervical cancer screening programmes in the European Union, Eur J Cancer. 2000 Nov;36(17):2260-5.
- ⁷ Anttila A, Ronco G : Description of the national situation of cervical cancer screening in the member states of the European Union, Europ J Cancer 2009 Oct;45(15):2685-708.
- ⁸ Peto J, Gilham C, Fletcher O, Matthews FE : The cervical cancer epidemic that screening has prevented in the UK. Lancet 2004;364:249–56.
- ⁹ Vaccarella S, Lortet-Tieulent J, Plummer M, Franceschi S, Bray F : Worldwide trends in cervical cancer incidence: Impact of screening against changes in disease risk factors. Eur J Cancer. 2013 Oct;49(15):3262-73.
- ¹⁰ Wojciechowska U, Didkowska J : Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce. Krajowy Rejestr Nowotworów, Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie. <http://onkologia.org.pl/raporty/> dostęp z dnia 23/03/2014.
- ¹¹ Zatoński W, Didkowska J, Wojciechowska U : Prognozy zachorowalności i umieralności na nowotwory złośliwe w Polsce do 2025 roku, Warszawa 2009
- ¹² Raporty Krajowego Rejestru Nowotworów <http://onkologia.org.pl/raporty/> dostęp z dnia 23/03/2014.

- ¹³ Dyzmann-Sroka A : Nowotwory złośliwe w Wielkopolsce 2010, biuletyn Wielkopolskiego Centrum Onkologii.
- ¹⁴ Wilson J, Jungner G : Principles and practices of screening for disease. World Health Organization Public Health Paper 34, Geneva 1968.
- ¹⁵ European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening 2008, IARC Handbooks of Cancer Prevention, 2005
- ¹⁶ Anttila A, von Karsa L, Aasmaa A, Fender M, Patnick J, Rebolj M, Nicula F, Vass L, Valerianova Z, Voti L, Sauvaget C, Ronco G : Cervical cancer screening policies and coverage in Europe, *Eur J Cancer* 2009 Oct;45(15):2649-58.
- ¹⁷ Saslow D., Solomon D., Lawson HW, et al.; American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *Am J Clin Pathol* 2012; 137:516-542.
- ¹⁸ Moyer VA., US Preventive Services Task Force. Screening for cervical cancer : US Preventive Services Task Force recommendation statement. *Ann Intern Med* 2012; 156:880-891.
- ¹⁹ Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, McQuillan G, Swan DC, Patel SS, Markowitz LE. Prevalence of HPV infection among females in the United States, *JAMA*. 2007 Feb 28;297(8):813-9.
- ²⁰ Moscicki AB, Shiboski S, Broering J, Powell K, Clayton L, Jay N, Darragh TM, Brescia R, Kanowitz S, Miller SB, Stone J, Hanson E, Palefsky J : The natural history of human papillomavirus infection as measured by repeated DNA testing in adolescent and young women. *J Pediatr*. 1998 Feb;132(2):277-84.
- ²¹ Bruni L, Diaz M, Castellsagué X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjosé S.: Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis*. 2010 Dec 15;202(12):1789-99.
- ²² Ho G, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD : Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women *N Engl J Med*. 1998 Feb 12;338(7):423-8.
- ²³ van Oortmarsen GJ, Habbema JD : Epidemiological evidence for age-dependent regression of pre-invasive cervical cancer, *Br J Cancer* 1991 Sep;64(3):559-65.
- ²⁴ Mount SL, Papillo JL : A study of 10,296 pediatric and adolescent Papanicolaou

smear diagnoses in northern New England. *Pediatrics*. 1999 Mar;103(3):539-45.

²⁵ Advisory Committee on Cancer Prevention, European Union 2000.

²⁶ IARC Handbooks of Cancer Prevention Volume 10 Cervix Cancer Screening, 2005.

²⁷ IARC 1986, European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening 2008.

²⁸ Kitchener H, Castle P, Cox J : Achievements and limitations of cervical cytology screening. *Vaccine* 2006, 24 Suppl. 3, 63-70.

²⁹ Saslow D, Runowicz CD, Solomon D, Moscicki AB, Smith RA, Eyre HJ, Cohen C; American Cancer Society : American Cancer Society guideline for the early detection of cervical neoplasia and cancer. *CA Cancer J. Clin.* 2002, 52, 342-362.

³⁰ Horner MJ, Altekruse SF, Zou Z, Wideroff L, Katki HA, Stinchcomb DG : US Geographic Distribution of Pre-Vaccine Era Cervical Cancer Screening, Incidence, Stage, and Mortality, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011 Apr;20(4):591-9.

³¹ Fahey M, Irwig L, Macaskill P : Meta-analysis of Pap test accuracy, *Am J Epidemiol* 1995 1;141(7):680-9.

³² Rokita W, Kędzia W, Pruski D, Friebe Z, Nowak-Markwitz E, Spaczyński R, Karowicz-Bilińska A, Spaczyński M. : Comparison of the effectiveness of cytodiagnosics, molecular identification of HPV HR and CINtecPLUS™ test to identify LG SIL and HG SIL, *Ginekol Pol*, 2012, 83, 894-898.

³³ Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJLM, Hoyer H, Ratnam S, Szarewski A, Birembaut P, Kulasingam S, Sasieni P, Iftner T.: Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 2006;119:1095–101.

³⁴ Cuzick J, Szarewski A, Cubie H, Hulman G, Kitchener H, Luesley D, McGoogan E, Menon U, Terry G, Edwards R, Brooks C, Desai M, Gie C, Ho L, Jacobs I, Pickles C, Sasieni P : Management of women who test positive for high-risk types of human papillomavirus: the HART study. *Lancet* 2003;362:1871–6.

³⁵ Abulafia O, Pezzullo JC, Sherer DM : Performance of ThinPrep liquid-based cervical cytology in comparison with conventionally prepared Papanicolaou smears: a quantitative survey, *Gyn Oncology* 2003 Jul;90(1):137-44.

³⁶ Renshaw A : Rescreening in cervical cytology for quality control: When bad data is

worse than no data or what works, what doesn't, and why, *Clin Lab Med.* 2003 Sep;23(3):695-708.

³⁷ Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A, Ratnam S, Coutlée F, Franco EL; Canadian Cervical Cancer Screening Trial Study Group : HPV DNA testing vs Papanicolaou screening tests for cervical cancer *NE J Med.* 2007 Oct 357:1579-88.

³⁸ Dillner J, Rebolj M, Birembaut P, Petry KU, Szarewski A, Munk C, de Sanjose S, Naucler P, Lloveras B, Kjaer S, Cuzick J, van Ballegooijen M, Clavel C, Iftner T; Joint European Cohort Study : Long-term predictive values of cytology and HPV testing in cervical cancer screening : Joint European Cohort Study, *BMJ* 2008; 377:a1754.

³⁹ Katki HA, Kinney WK, Fetterman B, Lorey T, Poitras NE, Cheung L, Demuth F, Schiffman M, Wacholder S, Castle PE : Cervical cancer risk for women undergoing concurrent testing for human papillomavirus and cervical cytology: a population-based study in routine clinical practice. *Lancet Oncol.* 2011 Jul;12(7):663-72.

⁴⁰ Anttila A, Kotaniemi-Talonen L, Leinonen M, Hakama M, Laurila P, Tarkkanen J, Malila N, Nieminen P : Rate of cervical cancer, severe intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma in situ in primary HPV DNA screening with cytology triage: randomised study within organised screening programme. *BMJ.* 2010 Apr 27;340:c1804.

⁴¹ Kędzia W, Pruski D, Józefiak A, Rokita W, Spaczyński M : Genotypowanie onkogennych wirusów brodawczaka ludzkiego u kobiet z rozpoznaniem HG SIL. *Ginekol Pol,* 2010, 81, 740-744.

⁴² Załącznik nr 3 do zarządzenia Nr 86/2005 Prezesa Narodowego Funduszu Zdrowia

⁴³ Spaczyński M, Kędzia W, Diagnostyka, profilaktyka i wczesne wykrywanie raka szyjki macicy – rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego, 2006.

⁴⁴ Spaczyński M i wsp. : Podsumowanie realizacji Populacyjnego Programu Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy w ramach Narodowego Programu Zwalczania Chorób Nowotworowych, lata 2007-2010 (wrzesień).

⁴⁵ Nelson K, Geiger AM, Mangione CM : Effect of Health Beliefs on Delays in Care for Abnormal Cervical Cytology in a Multiethnic Population, *J Gen Intern Med.* Sep 2002; 17(9): 709–716.

- ⁵⁰ Główny Urząd Statystyczny : Kobiety w Polsce, Warszawa 2007.
- ⁵¹ Crosbie E, Einstein MH, Franceschi S, Kitchener HC : Human papillomavirus and cervical cancer, *Lancet* 2013, 382, 889-99.
- ⁵² Spaczyński M : Rekomendacje PTG dotyczące szczepienia przeciwko zakażeniom HPV, 2007.
- ⁵³ Longworth MS, Laimins LA : Pathogenesis of human papillomaviruses. *Microbiol Molec Biol Rev* 2004 Jun;68(2):362-72.
- ⁵⁴ Doorbar J : The papillomavirus life cycle, *J Clin Virol* 2005; 32 (supl 1) : 7-15.
- ⁵⁵ Woodman CB, Collins SI, Young LS : The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nat Rev Cancer* 2007; 7 : 11-22.
- ⁵⁶ Klingelhutz AJ, Foster SA, McDougall JK : Telomerase activation by the E6 gene product of human papillomavirus type 16. *Nature*. 1996 Mar 7;380(6569):79-82.
- ⁵⁶ Winer RL, Lee SK, Hughes JP, Adam DE, Kiviat NB, Koutsky LA : Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol*. 2003 Feb 1;157(3):218-26.
- ⁵⁸ Basta A, Szczudrawa A : Kolposkopia, Położnictwo i ginekologia, red. G.Bręborowicz, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005.
- ⁵⁹ Basta A : Rola infekcji wirusowych w etiopatogenezie raka szyjki macicy, Rak szyjki macicy, red. J. Markowska. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1999.
- ⁶⁰ Malarewicz A, Florczak K : Cytologia fazowo-kontrastowa w diagnostyce ginekologicznej, Lublin 2006.
- ⁶¹ Broders AC : Carcinoma in situ contrasted with benign penetrating epithelium. *J Am Med Assoc*. 1932; 99: 1670-1674.
- ⁶² Shingleton HM, Richart RM, Wiener J, Spiro D : Human cervical intraepithelial neoplasia: fine structure of dysplasia and carcinoma in situ. *Cancer Res*. 1968 Apr;28(4):695-706.
- ⁶³ Kędzia H, Kędzia W : Nowotwory narządów płciowych kobiety. Diagnostyka patomorfologiczna. Postępowanie kliniczne. Poznań, Med. Pharm, 2010.
- ⁶⁴ Massad S, Cejtin H : Cervical Intraepithelial Neoplasia: History and Detection, Lippincott Williams & Wilkins, 2010.

⁶⁵ Kędzia W, Karowicz-Bilińska A, Spaczyński M : Nowotwory szyjki macicy, Praktyczna Ginekologia Onkologiczna, Poznań 2012.

⁶⁶ Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S : Human papillomavirus and cervical cancer, *Lancet* 2007 Sep 8;370(9590):890-907.

⁶⁷ Castle PE, Rodríguez AC, Burk RD, Herrero R, Wacholder S, Alfaro M, Morales J, Guillen D, Sherman ME, Solomon D, Schiffman M; Proyecto Epidemiológico Guanacaste (PEG) Group : Short term persistence of human papillomavirus and risk of cervical precancer and cancer: population based cohort study. *BMJ* 2009 Jul 28;339:b2569.doi:10.1136/bmj.b2569.

⁶⁸ Rodriguez AC, Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Solomon D, Guillén D, Alfaro M, Morales J, Hutchinson M, Katki H, Cheung L, Wacholder S, Burk RD :Longitudinal study of human papillomavirus persistence and cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3: critical role of duration of infection. *J Natl Cancer Inst.* 2010 Mar 3;102(5):315-24. doi: 10.1093/jnci/djq001. Epub 2010 Feb 15.

⁶⁹ Crosbie E, Einstein MH, Franceschi S, Kitchener HC : Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 2013 Sep 7;382(9895):889-99. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60022-7. Epub 2013 Apr 23.

⁷⁰ IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Human Papillomaviruses vol 90. International Agency for Research on Cancer, Lyon 2007.

⁷¹ Appleby P, Beral V, Berrington de González A, Colin D, Franceschi S, Goodill A, Green J, Peto J, Plummer M, Sweetland S : Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: collaborative reanalysis of individual data on 13,541 women with carcinoma of the cervix and 23,017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. *Int J Cancer.* 2006 Mar 15;118(6):1481-95.

⁷² Schiffman M, Herrero R, Desalle R, Hildesheim A, Wacholder S, Rodriguez AC, Bratti MC, Sherman ME, Morales J, Guillen D, Alfaro M, Hutchinson M, Wright TC, Solomon D, Chen Z, Schussler J, Castle PE, Burk RD : The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution, *Virology* 2005; 337: 76-84.

- ⁷³ Guan P, Howell-Jones R, Li N, Bruni L, de Sanjosé S, Franceschi S, Clifford GM : Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: a meta-analysis from cervical infection to cancer. *Int J Cancer* 2012 Nov 15;131(10):2349-59. doi: 10.1002/ijc.27485. Epub 2012 Mar 20.
- ⁷⁴ Bray F, Carstensen B, Møller H, Zappa M, Zakelj MP, Lawrence G, Hakama M, Weiderpass E : Incidence trends of adenocarcinoma of the cervix in 13 European countries. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005 Sep;14(9):2191-9.
- ⁷⁵ Andersson S, Rylander E, Larson B, Sigurdardottir S, Backlund I, Sällström J, Wilander E : Types of human papillomavirus revealed in cervical adenocarcinomas after DNA sequencing. *Oncol Rep* 2003 Jan-Feb;10(1):175-9.
- ⁷⁶ Jin XW : Cervical cancer screening : What's new and what's coming? Review. *Cleveland Clinic J Med.*, 2013, 80,3.
- ⁷⁷ Burghardt E : Special colposcopic techniques in Colposcopy Cervical Pathology Textbook and Atlas. Thieme, Stuttgart – New York 1998.
- ⁷⁸ Malarewicz A, Rokita W : Kolposkopia praktyczna. Blackhorse Scientific Publishers, Warszawa 2005.
- ⁷⁹ Kłosiński W, Jędrzejczyk S, Guzowski G, Klimek H, Sieroszewski P : Przydatność skali Reid Colposcopic Index (RCI) w analizie obrazów kolposkopowych. *Przegląd Menopauzalny* 2012; 4: 324-328.
- ⁸⁰ Subramaniam A, Fauci JM, Schneider KE : Invasive cervical cancer and screening : what are the rates of unscreened and underscreened women in the modern era? *J Low Genit Tract Dis* 2011; 15;110-3.
- ⁸¹ Leyden WA, Manos MM, Geiger AM, Weinmann S, Mouchawar J, Bischoff K, Yood MU, Gilbert J, Taplin SH : Cervical cancer in women with comprehensive health care access: attributable factors in the screening proces. *J Natl Cancer Inst* 2005; 95:675-83.
- ⁸³ Islam S, West AM, Saboorian MH, Ashfaq R : Reprocessing unsatisfactory ThinPrep Papanicolaou test specimens increases sample adequacy and detection of significant cervicovaginal lesions. *Cancer* 2004; 102:67-73.
- ⁸⁵ Anttila A, Kotaniemi-Talonen L, Leinonen M, Hakama M, Laurila P, Tarkkanen J, Malila N, Nieminen P : Rate of cervical cancer, severe intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma in situ in primary HPV DNA screening with cytology triage:

randomised study within organised screening programme, *BMJ* 2010;340:c1804.

⁸⁶ Andersson S, Mints M, Wilander E : Results of cytology and high-risk human papillomavirus testing in females with cervical adenocarcinoma in situ. *Oncol Lett.* 2013 Jul;6(1):215-219.

⁸⁷ Boone J, Erickson BK, Huh WK : New insights into cervical cancer screening, *J Gynecol Oncol*, 4; 282-287.

⁸⁸ Nieh S, Chen SF, Chu TY, Lai HC, Fu E : Expression of p16^{INK4a} in Papanicolaou smears containing atypical squamous cells of undetermined significance from the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 2003, 91, 201-208.

⁸⁹ Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, Szarewski A, Birembaut P, Kulasingam S, Sasieni P, Iftner T : Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer* 2006; 119:1095-101.

⁹⁰ Nanda K, McCrory DC, Myers ER, Bastian LA, Hasselblad V, Hickey JD, Matchar DB : Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med.* 2000; 132:810-9.

⁹² Solomon D, Schiffman M, Tarone R, ALTS study group : Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93:292-9.

⁹³ Markowitz LE, Hariri S, Lin C, Dunne EF, Steinau M, McQuillan G, Unger ER : Reduction in Human Papillomavirus (HPV) Prevalence Among Young Women Following HPV Vaccine Introduction in the United States, National Health and Nutrition Examination Surveys, 2003–2010 *J Infect Dis* 2013 Aug 1;208(3):385-93.

⁹⁴ Bosch FX, Qiao YL, Castellsagué X : The epidemiology of human papillomavirus infection and its association with cervical cancer, *International Journal of Gynecology and Obstetrics* (2006) 94 (Supplement 1), S8---S21.

⁹⁵ Benard VB, Watson M, Castle PE, Saraiya M : Cervical carcinoma rates among young females in the United States. *Obstetrics and Gynecology* 2012;120(5):1117–1123.

⁹⁶ Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I, Walter SD, Hanley J, Ferenczy A, Ratnam S, Coutlée F, Franco EL; Canadian Cervical Cancer Screening Trial Study Group : Human

Papillomavirus DNA versus Papanicolaou Screening Tests for Cervical Cancer, N Engl J Med 2007; 357:1579-1588.