

Lekarz Ewa Jaguszewska

Ocena wykorzystania molekularnej identyfikacji DNA HPV HR w profilaktyce wtórnej raka szyjki macicy w porównaniu do cytodiagnostyki i testu podwójnego.

Rozprawa na stopień naukowy doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne

Promotor: prof. dr hab. Witold Kędzia

Klinika Ginekologii

Katedra Perinatologii i Ginekologii

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu



Kolegium Nauk Medycznych
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań, 2021

Spis treści

Wykaz skrótów	3
1. WSTĘP	6
1.1 Profilaktyka onkologiczna – definicje i charakterystyka podstawowych pojęć.	6
1.1.1 Rak piersi.	9
1.1.2 Rak jelita grubego.	10
1.2 Profilaktyka raka szyjki macicy.	11
1.3 Epidemiologia raka szyjki macicy – stan obecny na świecie i w Europie.	15
1.4 Epidemiologia raka szyjki macicy w Polsce.	19
1.5 Aktualne programy profilaktyczne raka szyjki macicy w Polsce i na świecie.	27
1.6 Wirus brodawczaka ludzkiego - budowa, potencjał onkologiczny.	29
1.7 Testy diagnostyczne do identyfikacji zakażenia HPV.	31
1.8 Kierunki rozwoju profilaktyki raka szyjki macicy na świecie.	35
2. CELE PRACY	37
3. MATERIAŁ I METODY	38
3.1 Materiał i metody diagnostyczne.	38
3.2 Metody statystyczne.	41
4. WYNIKI	42
5. DYSKUSJA	67
6. WNIOSKI	81
7. STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM	82
8. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM	84
Spis wykresów	86
Spis tabel.	88
PIŚMIENNICTWO	91
Załącznik 1 – Zgoda Komisji Bioetycznej.	99

Wykaz skrótów

ACG – Amerykańskie Kolegium Gastroenterologów (ang. American College of Gastroenterology)

ACOG – Amerykańskie Kolegium Położników i Ginekologów (ang. American College of Obstetricians and Gynecologists)

ACR – Amerykańskie Kolegium Radiologów (ang. American College of Radiology)

ACS – Amerykańskie Towarzystwo do spraw Walki z Rakiem (ang. American Cancer Society)

AGA – Amerykańskie Towarzystwo Gastroenterologów (ang. American Gastroenterological Association)

AGC – atypowe zmiany w komórkach gruczołowych (ang. atypical glandular cells)

AMA – Amerykańskie Towarzystwo Medyczne (ang. American Medical Association)

ASC – nieprawidłowe komórki nabłonkowe (ang. atypical squamous cells)

ASC-H – nieprawidłowe komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego - nie można wykluczyć zmian śródnabłonkowych dużego stopnia (ang. atypical squamous cells – cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesions)

ASC-US – nieprawidłowe komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego o nieokreślonym znaczeniu (ang. atypical squamous cells - undetermined significance)

ASGE – Amerykańskie Towarzystwo Endoskopii Przewodu Pokarmowego (ang. American Society for Gastrointestinal Endoscopy)

ASIR – standaryzowany według wieku współczynnik zachorowalności (ang. age-standardised incidence rate)

ASMR – standaryzowany według wieku współczynnik umieralności (ang. age-standardised mortality rate)

AUC - pole powierzchni pod wykresem krzywej (ang. area under curve)

CI – przedział ufności (ang.confidence interval)

CIN – śródnabłonkowa neoplazja szyjki macicy (ang. cervical intraepithelial neoplasia)

DNA – kwas deoksyrybonukleinowy (ang. deoxyribonucleic acid)

ECAC – Europejski Kodeks Walki z Rakiem (ang. The European Code Against Cancer)

EPIC – Europejskie Prospektywne Badanie nad Rakiem i Odżywianiem (ang. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition)

FCR – fiński rejestr nowotworów (ang. Finnish Cancer Registry)

FDA – Agencja Żywności i Leków (ang. Food and Drug Administration)

FIT – badanie immunochemiczne kału na obecność krwi utajonej (ang. fecal immunochemical test)

GCO – interaktywna platforma internetowa prezentująca globalne statystyki raka (ang. Global Cancer Observatory)

HC – test oparty o użycie sond genetycznych (ang. Hybrid Capture)

HPV – wirus brodawczaka ludzkiego (ang. human papillomavirus)

HPV HR – wysokoonkogenne typy wirusa brodawczaka ludzkiego (ang. high risk types of human papillomavirus)

HSIL – zmiana śródnabłonkowa dużego stopnia (ang. high-grade squamous intraepithelial lesions)

HTZ – hormonalna terapia zastępcza

IARC – Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (ang. The International Agency for Research on Cancer)

IPVC – Międzynarodowa Konferencja na temat wirusa brodawczaka (ang. International Papillomavirus Conference)

KRN – Krajowy Rejestr Nowotworów

LBC – cytologia na podłożu płynnym (ang. liquid based cytology)

LSIL – zmiana śródnabłonkowa małego stopnia (ang. low-grade squamous intraepithelial lesions)

MSTF – Grupa Zadaniowa Towarzystwa do spraw Raka Jelita Grubego (ang. Multi-Society Task Force of Colorectal Cancer)

NASBA – test amplifikacji oparty na sekwencji kwasów nukleinowych (ang. Multiplex Nucleic Acid Sequence-Based Amplification Assay)

NILM – brak cech śródnabłonkowej neoplazji ani raka (ang. negative for intraepithelial lesions or malignancy)

NPV – negatywna wartość predykcyjna (ang. negative predictive value)

NSC – Krajowy Komitet Badań Przesiewowych (ang. National Screening Committee)

p – poziom istotności

PAHO – Międzynarodowa Publiczna Agencja Zdrowia (ang. The Pan American Health Organization)

PBP – Program Badań Przesiewowych

PPSM GPSK – Poradnia Patofizjologii Szyjki Macicy Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego w Poznaniu

PPV – pozytywna wartość predykcyjna (ang. positive predictive value)

RCI – Skala Reida (ang. Reid Colposcopic Index)

RT-PCR – reakcja łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (ang. real-time polymerase chain reaction)

SD – odchylenie standardowe (ang. standard deviation)

SIL – zmiany śródnabłonkowe (ang. squamous intraepithelial lesions)

TBS – klasyfikacja Bethesda (ang. The Bethesda System)

USPSTF – niezależny panel ekspertów w zakresie podstawowej opieki zdrowotnej i profilaktyki w Stanach Zjednoczonych (ang. United States Preventive Services Task Force)

WHO – Światowa Organizacja Zdrowia (ang. World Health Organization)

WOK – Wojewódzki Ośrodek Koordynujący

1. WSTĘP

1.1 Profilaktyka onkologiczna – definicje i charakterystyka podstawowych pojęć.

Profilaktyka w epidemiologii odnosi się do wszelkich działań mających na celu zapobieganie wystąpieniu choroby bądź minimalizowaniu jej skutków. Wyróżniamy trzy poziomy profilaktyki chorób: profilaktyka pierwotna (I faza) to zapobieganie chorobom poprzez kontrolę czynników ryzyka i przyczyn choroby, profilaktykę wtórną (II faza) stanowią badania przesiewowe oraz profilaktyka trzeciorzędowa (III faza) skupiająca się na zahamowaniu postępu i zapobieganiu konsekwencji choroby. Programy przesiewowe (II faza) to profilaktycznie przeprowadzone badania w wybranej populacji osób bez objawów chorobowych, mające na celu wykrywanie choroby w jej wczesnym, często bezobjawowym, stadium. Takie badania wykorzystuje się powszechnie w Polsce i na świecie zarówno w profilaktyce wtórnej wybranych chorób nienowotworowych jak i nowotworowych zmniejszając dzięki temu wskaźniki zachorowalności i umieralności.¹

Ponad 150 lat temu zwrócono uwagę na potrzebę profilaktyki i badań okresowych w populacji zdrowych osób. Filozofię badań okresowych celem prewencji i wykrycia choroby na wczesnym etapie wielu badaczy przypisuje brytyjskiemu lekarzowi Horacemu Dobell.² Rutynowe przeprowadzanie wywiadu chorobowego i badań fizykalnych oraz laboratoryjnych, aby odkryć najwcześniejsze odchylenia stanowią najlepszy sposób prewencji rozwoju choroby. Już w 1861 roku Dobell podkreślał w swoim wykładzie, że „niewątpliwie lepiej jest zapobiegać niż leczyć”.³ W Stanach Zjednoczonych George Gould był prekursorem hipotezy, iż choroby rozwijają się w sposób liniowy czyli poprzez stopniowe narastanie nieprawidłowości. Ten progresywny rozwój choroby może zostać zatrzymany bądź zmieniony jeśli zostanie zauważony odpowiednio wcześnie. Gould podobnie jak Dobell podkreślał, że okresowe badanie pozornie zdrowych osób może przynieść szerokie korzyści.⁴ Teorie te można uznać za podstawy rozwoju profilaktyki wtórnej w postaci badań przesiewowych prowadzonych w celu wykrycia wielu chorób. Odniesienie jej użyteczności bezpośrednio do chorób nowotworowych przypisuje się doktorowi Charles Childe.⁵

Do powszechnej praktyki medycznej stosowanie badań profilaktycznych wśród zdrowych osób weszło w latach 20tych XX wieku na podstawie wytycznych opublikowanych przez Amerykańskie Towarzystwo Medyczne (ang. American Medical Association, AMA).⁶ W latach 60tych XX wieku Wilson i Jungner opublikowali artykuł

opisujący kryteria jakie powinny zostać spełnione aby masowy skrining czyli populacyjne badania przesiewowe zostały wdrożone.⁷ Charakterystykę choroby, w której prewencja II fazy może zostać wykorzystana oraz wymagania stawiane badaniom przesiewowym obrazuje tabela 1.

Tabela 1. Kryteria dla wdrożenia programu skriningowego.⁷

CECHA	Choroba i jej leczenie	Narzędzie skriningowe
	Schorzenie stanowi istotny problem zdrowia publicznego	Istnieje test o odpowiednio wysokiej czułości i swoistości dla danego schorzenia
	Występuje przedkliniczna lub wczesna faza schorzenia	Metoda wykorzystana na szeroką skalę charakteryzuje się niską kosztochłonnością
	Okres bezobjawowy choroby jest stosunkowo długi	Test jest prosty w wykonaniu
	Rozwój naturalny schorzenia w poszczególnych etapach jest dobrze znany	Test jest akceptowalny dla badanego i badającego
	Istnieje skuteczny, akceptowalny, bezpieczny uznany standard leczenia danej choroby	Istnieje możliwość powtarzania badania, rozpoznawanie przypadków to proces ciągły
	Wdrożenie leczenia na wcześniejszym etapie niesie korzyści dla pacjenta	

Etiologia powstawania nowotworów jest procesem złożonym. Czynniki sprzyjające rozwojowi nowotworów można podzielić na czynniki środowiskowe takie jak fizyczne, chemiczne i biologiczne oraz predyspozycje genetyczne, wiek pacjenta i jego tryb życia. O ile na uwarunkowania genetyczne czy wiek nie mamy wpływu, tak styl życia jest czynnikiem modyfikowalnym. Skuteczne wdrożenie profilaktyki pierwotnej nowotworów to duża nadzieja na długie zdrowe życie. Uważa się, że czynniki związane ze stylem życia i środowiskiem mogą być odpowiedzialne za rozwój od 40% do 60% przypadków raka w krajach Europy zachodniej.⁸ Istnieją dowody na wpływ czynników stylu życia na występowanie nowotworów ginekologicznych.⁹ Wyniki analizy

prospektywnej obserwacji przeprowadzonej na międzynarodowej kohorcie Europejskiego Prospektywnego Badania nad Rakiem i Odżywianiem (ang. European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition, EPIC) sugerują, że proste modyfikacje zachowania mogą mieć znaczny wpływ na profilaktykę raka.¹⁰

Tabela 2. Dwanaście zaleceń zawartych w Europejskim Kodeksie Walki z Rakiem (Źródło Europejski Kodeks Walki z Rakiem (ang. The European Code Against Cancer, ECAC)).^{11 12}

Lp.	Zalecenie
1	Powstrzymaj się od palenia tytoniu w każdej postaci.
2	Zapobiegaj paleniu biernemu – nie pozwól na palenie w domu, w pracy twórz środowisko wolne od dymu tytoniowego.
3	Dbaj o utrzymanie należytej masy ciała.
4	Zachowaj aktywność fizyczną w codziennym życiu. Ogranicz siedzący tryb życia.
5	Stosuj się do zaleceń prawidłowego sposobu odżywiania.
6	Jeśli spożywasz dowolnego rodzaju alkohol, ogranicz jego ilość. Abstynencja wspiera zapobieganie nowotworom.
7	Wystrzegaj się nadmiernej ekspozycji na promieniowanie słoneczne (szczególnie dotyczy dzieci). Stosuj ochronę przeciwsłoneczną. Nie korzystaj z solarium.
8	W miejscu pracy chroń się przed substancjami rakotwórczymi, przestrzegając zasad bezpieczeństwa i higieny pracy.
9	Dowiedz się, czy jesteś narażony na promieniowanie z naturalnie wysokiego poziomu radonu w twoim domu. Podejmij działania w celu jego zmniejszenia.
10	Zadbaj o szczepienia ochronne swoich dzieci przeciwko: wirusowemu zapaleniu wątroby typu B – dla noworodków wirusowi brodawczaka ludzkiego (ang. human papillomavirus, HPV) – dla dziewcząt
11	Dotyczy zwłaszcza kobiet: Karmienie piersią zmniejsza ryzyko raka u matki. Jeśli to możliwe karm swoje dziecko piersią. Hormonalna terapia zastępcza (HTZ) podnosi ryzyko wystąpienia niektórych nowotworów. Ogranicz do niezbędnego minimum stosowanie HTZ.
12	Bierz udział w celu wczesnego wykrywania nowotworów w zorganizowanych programach badań przesiewowych dla raka jelita grubego (kobiety i mężczyźni), raka piersi (kobiety) oraz raka szyjki macicy (kobiety).

W ramach walki z rakiem w 1994 roku powstał specjalny kodeks składający się z punktów promujących zachowania prozdrowotne i prewencyjne. Treść zaleceń czwartej, uaktualnionej w Bratysławie 16 października 2014 roku na konferencji European Cancer Leagues, wersji Europejskiego Kodeksu Walki z Rakiem przedstawia tabela 2. W Polsce Kodeks Walki z Rakiem stanowi część kampanii „Planuję długie życie”. Ta społeczna kampania jest realizowana z funduszy Ministerstwa Zdrowia w ramach Narodowej Strategii Onkologicznej na lata 2020–2030.¹²

Niestety modyfikacja stylu życia jest procesem niebywale trudnym. Nie ma zatem możliwości polegania tylko na etapie prewencji I fazy. Prewencja wtórna to aktualnie wciąż rozwijająca się część ochrony zdrowia i życia. Najlepiej udokumentowane wieloma badaniami obok profilaktyki wtórnej raka szyjki macicy są programy skriningowe raka piersi i jelita grubego powszechnie stosowane w wielu krajach na świecie.¹³

1.1.1 Rak piersi.

W celu wczesnego wykrycia zmian, które mogą stanowić podejrzenie obecności procesu nowotworowego piersi stosuje się następujące rodzaje metod diagnostycznych. Samobadanie piersi przez kobietę wykonywane raz w miesiącu. U kobiet miesiączkujących badanie to wykonuje się zawsze w tym samym dniu cyklu menstruacyjnego w jego I fazie. Ponadto w celu wczesnego wykrycia zmian zaleca się badanie lekarskie piersi w trakcie kontroli u lekarza rodzinnego i/lub ginekologa oraz okresowo powtarzaną ultrasonografię piersi, mammografię. Rekomendacje wielu amerykańskich towarzystw podają, że korzyści z badania mammograficznego wykonywanego co dwa lata (wg niezależnego panelu ekspertów w zakresie podstawowej opieki zdrowotnej i profilaktyki w Stanach Zjednoczonych (ang. United States Preventive Services Task Force, USPSTF)¹⁴, Amerykańskiego Kolegium Położników i Ginekologów (ang. American College of Obstetricians and Gynecologists, ACOG)¹⁵) lub co roku (wg Amerykańskiego Kolegium Radiologów (ang. American College of Radiology, ACR)¹⁶) odnoszą kobiety w przedziale wiekowym 50 – 74 lata. W Wielkiej Brytanii Krajowy Komitet Badań Przesiewowych (ang. National Screening Committee, NSC) rekomenduje wykonywanie badania przesiewowego co 3 lata u kobiet w wieku od 50 do <71 lat.¹⁷

W Polsce istnieje powszechny Program Wczesnego Wykrywania Raka Piersi, gdzie pierwszorazowym narzędziem diagnostycznym jest mammografia. Program kierowany jest do kobiet w wieku 50-69 lat, które nie miały wykonywanej mammografii w ciągu ostatnich dwóch lat bądź otrzymały w ramach programu profilaktyki raka piersi pisemne zaproszenie do wykonania ponownej mammografii po 12 miesiącach od poprzedniego badania. Zgodnie z polskimi rekomendacjami sytuacja taka dotyczy kobiet, które mają obciążony wywiad rodzinny. Oznacza to, że rak piersi wystąpił wśród najbliższych członków rodziny pacjentki czyli matki, siostry i/lub córki. Dodatkowym wskazaniem do mammografii u kobiet zdrowych jest fakt stwierdzenia mutacji w obrębie genów BRCA1 lub BRCA2. Rozpoznanie kiedykolwiek w przeszłości u pacjentki zmiany złośliwej wyklucza ją z programu profilaktycznego (kryterium wyłączenia). Program badania przesiewowego raka piersi w Polsce składa się z dwóch etapów. I etap podstawowy to badanie mammograficzne, podczas którego kobieta ma wykonywane dwa zdjęcia radiologiczne każdej z piersi. Drugi etap, pogłębiony, dotyczy pacjentek, u których w mammogramach stwierdzono zmiany wymagające dalszej diagnostyki. Etap pogłębiony poza badaniem klinicznym piersi składa się z biopsji celowanej wykrytych zmian. Na badanie mammograficzne nie jest wymagane skierowanie, a badanie jest bezpłatne. W latach 2006-2015 Polkom były wysyłane spersonalizowane imienne zaproszenia na badanie mammograficzne oraz cytologiczne. Niestety zrezygnowano z tej formy promocji na szczeblu krajowym. Istnieją w Polsce gminy, które wysyłają zaproszenia we własnym zakresie. Niezależnie od posiadanego zaproszenia, aktualnie każda kobieta spełniająca kryteria włączenia do Programu może samodzielnie zgłosić się do wyznaczonych ośrodków w Polsce i wykonać badanie.¹⁸

1.1.2 Rak jelita grubego.

Podstawową obecnie strategią zmniejszania ryzyka raka jelita grubego jest wykrywanie polipów będących miejscem częstego wyjścia nowotworu. W tym celu przeprowadza się badanie kolonoskopii, a znalezione zmiany poddaje się całkowitemu usunięciu.¹⁹ W 2017 roku wydany został przez Grupę Zadaniową Towarzystwa do spraw Raka Jelita Grubego (ang. Multi-Society Task Force of Colorectal Cancer, MSTF), która reprezentuje Amerykańskie Kolegium Gastroenterologów (ang. American College of Gastroenterology, ACG), Amerykańskie Towarzystwo Gastroenterologów (ang. American Gastroenterological Association, AGA) oraz Amerykańskie Towarzystwo Endoskopii Przewodu Pokarmowego (ang. American Society for Gastrointestinal

Endoscopy, ASGE) dokument aktualizujący zalecenia dotyczące badań przesiewowych w kierunku raka jelita grubego. Testy przesiewowe w kierunku raka jelita grubego zostały w owych wytycznych zakwalifikowane na 3 poziomach w oparciu o cechy wydajności, koszty i względy praktyczne. Do testów pierwszego stopnia należy kolonoskopia co 10 lat i coroczne badanie immunochemiczne kału na obecność krwi utajonej (ang. fecal immunochemical test, FIT). Testy te są zalecane jako podstawa badań przesiewowych. W podejściu opartym na pierwszorazowej kolonoskopii, FIT należy zaproponować pacjentom, którzy odrzucili badanie endoskopowe. MSTF podaje za odpowiednie podejście oparte na szacowanym ryzyku raka jelita grubego w danej populacji. Wówczas w populacjach o szacowanej niskiej częstotliwości występowania zaawansowanej neoplazji jelita grubego przesiewowym narzędziem jest FIT. W populacjach o wysokiej częstotliwości występowania tej patologii podstawę skriningu stanowić powinna kolonoskopia. Testy drugiego stopnia obejmują kolonografię metodą tomografii komputerowej co 5 lat, test FIT-DNA czyli połączenia badania immunochemicznego oraz badania kału w kierunku zmienionego kwasu deoksyrybonukleinowego (ang. deoxyribonucleic acid, DNA) co 3 lata i elastyczną sigmoidoskopię co 5 do 10 lat. Wszystkie te testy ze względu na ograniczenia stanowią alternatywę dla metod pierwszego wyboru, ale nie są uznawane za złoty standard diagnostyki przesiewowej. Z powodu ograniczonej liczby dowodów skuteczności i obecności przeciwwskazań kolonoskopia kapsułkowa co 5 lat jest uznawana za test trzeciego rzutu.²⁰

W Polsce od 2012 roku w ramach Programu Badań Przesiewowych (PBP) raka jelita grubego wysyłane są imienne, jednokrotne zaproszenia na kolonoskopię zarówno do kobiet jak i mężczyzn w wieku 55-64 lat. Kolonoskopię w wyznaczonym przedziale wiekowym w ramach programu może wykonać każdy pacjent jeśli nie miał robionego tego badania w ciągu ostatnich 10 lat (kryterium wyłączenia).²¹ Spersonalizowane zaproszenia powodują, że ten rodzaj skriningu nazywamy aktywnym. Analogiczny system aktywnego zapraszania na okresowe badanie cytologiczne w ramach PBP obowiązywał w profilaktyce i wczesnym wykrywaniu raka szyjki macicy w Polsce do 2015 roku.

1.2 Profilaktyka raka szyjki macicy.

Pierwsze doniesienie o możliwości wykrycia komórek nowotworowych w płynie z tylnego sklepienia pochwy pochodzą z 1928 roku, kiedy to Papanicolaou zaprezentował

swoje wnioski z przeprowadzanych i ocenianych przez ponad 2 lata wymazów pobranych od kobiet z patologią układu rozrodczego oraz od zdrowych ochotniczek. Porównując wymazy ze sobą zwrócił uwagę na unikatowość morfologii komórek raka szyjki macicy. Dokładnie opisał ich kształt i najważniejsze cechy budowy pozwalające zróżnicować komórki atypowe od prawidłowych. Papanicolaou poświęcił prawie 25 lat na badania dotyczące wymazów z pochwy. Jako pierwszy wysunął też myśl o możliwościach wykorzystania badania cytologicznego jako narzędzia przesiewowego. Mianowicie podkreślił, że wymaz z pochwy nie jest narzędziem prowadzącym do ostatecznej diagnozy, ale powinien stać się badaniem pozwalającym ustalić, które kobiety wymagają biopsji celem potwierdzenia obecności choroby nowotworowej lub stanu przedrakowego. Już w pierwszym doniesieniu podkreślał, że jest to narzędzie nieperfekcyjne, ale za to badanie jest proste w wykonaniu i akceptowalne przez pacjentki, co stanowi jego niewątpliwe walory.^{22 23 24 25}

W latach dwudziestych XX wieku w tym samym czasie, gdy trwały badania Papanicolaou, Hinselmann prowadził intensywne próby oglądania szyjki macicy pod powiększeniem.²⁶ Dzięki jego badaniom w latach 1924/1925 do diagnostyki raka szyjki macicy obok wymazu cytologicznego dołączyła kolposkopia. Pierwsze badanie kolposkopowe Hinselmann przeprowadził za pomocą powiększających soczewek ułożonych na konstrukcji z książek. Jako źródło światła wykorzystał tradycyjną lampę, którą zapaloną umieszczał sobie nad głową. Swoje badania przeprowadzał z wykorzystaniem 5% kwasu octowego, którym przemywał szyjkę macicy ułatwiając identyfikację zmian patologicznych i miejsc do biopsji.²⁷ Technikę badania udoskonalił Schiller dzięki zaobserwowaniu, że komórki stanu przedrakowego i nowotworowe, ze względu na intensywne podziały, pozbawione są glikogenu i przez to nie łączą się w barwnej próbie z jodowym płynem Lugola. Wysunął wniosek, iż nabłonek złożony z komórek zmienionych patologicznie po przemyciu szyjki macicy roztworem jodowym pozostaje jaśniejszy od prawidłowej błony śluzowej.²⁸ Test ten nazywany jest próbą Schillera i do dziś obok próby octowej stanowi narzędzie pomocnicze w kolposkopii wykorzystywane do identyfikacji miejsc, które należy poddać biopsji ze względu na podejrzenie o nowotworzenie.

Już w latach 40-tych XX wieku Papanicolaou sugerował możliwość wykorzystania wymazu z pochwy jako narzędzia diagnostycznego populacyjnego programu wczesnego wykrywania nowotworów szyjki macicy. Rak szyjki macicy w latach 50-tych XX wieku

był jedną z wiodących przyczyn zgonów kobiet w Stanach Zjednoczonych. Po wprowadzeniu programów badań przesiewowych w latach 1955-1992 umieralność obniżyła się w tym kraju aż o 70%.²⁹ Pierwsze profesjonalnie zorganizowane krajowe programy profilaktyki wtórnej w Europie zostały wprowadzone w latach 50-tych i 60-tych XX wieku. Początkowo dotyczyły one Finlandii, Luksemburga i Szwecji.³⁰ Efekty pierwszych programów skринingowych opublikowano w latach 1960-1970. Początkowo w bardzo szybkim tempie zaobserwowano znaczny spadek zachorowalności na inwazyjnego raka szyjki macicy wśród kobiet poddanych regularnemu skринingowi cytologicznemu. W porównaniu do populacji kobiet nieobjętej badaniem profilaktyki wtórnej, spadek ten po kilkunastu latach prowadzenia sięgał nawet 90%.³¹

W swojej pracy Papanicolaou opisał sposób pobierania wymazów specjalną pipellą z tylnego zachyłka pochwy, które następnie oceniał i opisywał w kilkustopniowej skali. Pierwsza klasyfikacja do oceny wymazów cytologicznych została wprowadzona w 1954 roku. Aktualnie sporadycznie korzysta się jeszcze z klasyfikacji Papanicolaou. Dobrym przykładem jest jej zmodyfikowana wersja (Munich III) stosowana w Niemczech. Oceny cytologiczną wg Papanicolaou oraz jej modyfikację niemiecką z 2014 roku przedstawia Tabela 3.³²

Tabela 3. Porównanie klasyfikacji wymazów cytologicznych wg Papanicolaou oraz Munich III.³²

Klasyfikacja Papanicolaou		Munich III	
		0	Próbka materiału niezadowalająca
I	Brak komórek atypowych lub nieprawidłowych	I	Prawidłowy lub niepodważany wzór komórek
		IIa	Prawidłowy wzór komórek z podejrzaną historią pacjenta
II	Cytologia atypowa, ale brak oznak złośliwości	II	Wyniki podejrzone
		II-p	Nabłonek płaskonabłonkowy z niewielkimi zmianami jądra (mniej niż CIN1), również przy koilocytowej cytoplazmie/zmianach parakeratotycznych
		II-g	Nieprawidłowe komórki gruczołowe szyjki macicy; więcej niż zmiany reaktywne

		II-e	Komórki endometrium (kobiety >40 lat i druga połowa cyklu)
III	Cytologia sugerująca nowotwór złośliwy, ale nie rozstrzygający o nim (obecne komórki dysplastyczne)	III	Wyniki niejasne
		III-p	Nie można wykluczyć CIN 2/CIN 3/raka płaskonabłonkowego
		III-g	Charakterystyczna atypia komórek gruczołowych, nie można wykluczyć gruczolakoraka in situ/inwazyjnego gruczolakoraka
		III-e	Nieprawidłowe komórki endometrium
		III-x	Niejasne komórki gruczołowe niewiadomego pochodzenia
		IIID	Zmiany dysplastyczne z większą tendencją do regresji
		IIID1	Komórki łagodnej dysplazji (CIN 1)
		IIID2	Komórki o umiarkowanej dysplazji (CIN 2)
IV	Cytologia silnie sugeruje nowotwór złośliwy (obecne komórki dysplastyczne, pojedyncze nowotworowe)	IV	Bezpośrednie stadia przednowotworowe
		IVa-p	Komórki ciężkiej dysplazji lub raka in situ (CIN 3)
		IVa-g	Komórki gruczolakoraka in situ
		IVb-p	CIN 3, nie można wykluczyć inwazji
		IVb-g	Komórki gruczolakoraka in situ, nie można wykluczyć inwazji
V	Cytologia rozstrzygająca o nowotworze złośliwym (obecne liczne komórki nowotworowe)	V	Komórki inwazyjnego raka szyjki macicy lub innych nowotworów złośliwych
		V-p	Rak płaskonabłonkowy
		V-g	Gruczolakorak szyjki macicy
		V-e	Gruczolakorak endometrium
		V-x	Inne nowotwory złośliwe, również niejasnego pochodzenia

CIN - śródnabłonkowa neoplazja szyjki macicy, ang. cervical intraepithelial neoplasia

Współcześnie wymaz cytologiczny jest wykonywany z tarczy szyjki macicy za pomocą specjalnie wyprofilowanych szczoteczek i oceniany w nowoczesnej klasyfikacji

Bethesda (ang. The Bethesda System, TBS). Klasyfikacja ta opublikowana po raz pierwszy w 1988 roku przeszła trzykrotnie modyfikację i aktualna wersja pochodząca z 2014 roku została stworzona przez członków Bethesda 2014 Workshop. System klasyfikacji TBS dla dysplazji płaskonabłonkowej szyjki macicy przedstawia tabela 4.

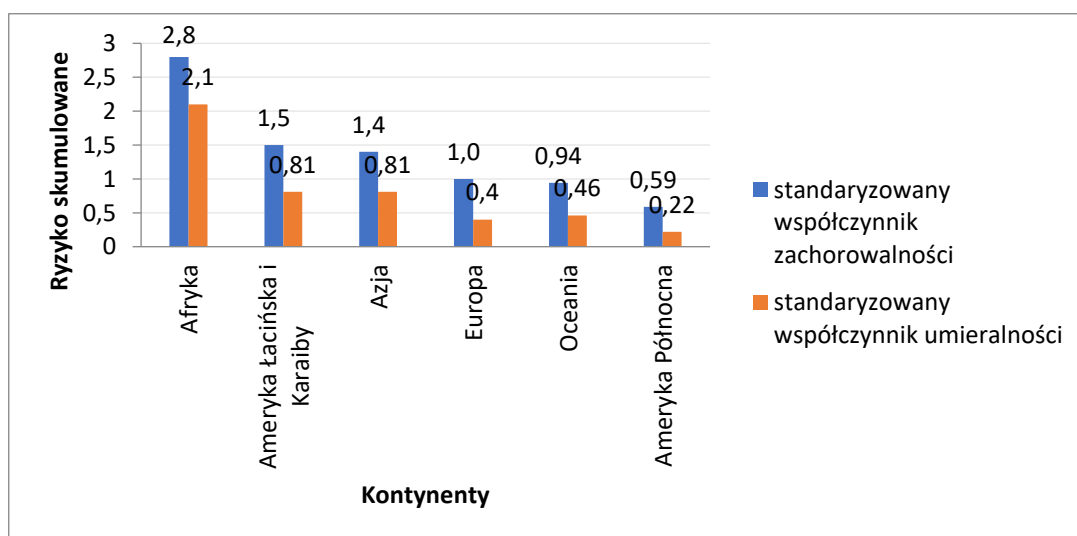
Tabela 4. System klasyfikacji TBS dla dysplazji płaskonabłonkowej szyjki macicy.³³

The Bethesda System 2014	Interpretacja
NILM (Negative for intraepithelial lesions or malignancy)	Nie stwierdza się cech śródnabłonkowej neoplazji ani raka
ASC (Atypical squamous cells)	Nieprawidłowe komórki nabłonkowe
ASC-US (Atypical squamous cells - undetermined significance)	Nieprawidłowe komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego o nieokreślonym znaczeniu
ASC-H (Atypical squamous cells – cannot exclude HSIL)	Nieprawidłowe komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego - nie można wykluczyć zmian śródnabłonkowych dużego stopnia
SIL (squamous intraepithelial lesions)	Zmiany śródnabłonkowe
LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesions)	Zmiana śródnabłonkowa małego stopnia
HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesions)	Zmiana śródnabłonkowa dużego stopnia
Squamous cell carcinoma	Komórki raka płaskonabłonkowego

1.3 Epidemiologia raka szyjki macicy – stan obecny na świecie i w Europie.

W 2018 roku na świecie raka szyjki macicy zdiagnozowano u 570 tysięcy kobiet, a zmarło z jego powodu około 311 tysięcy. Globalnie choroba ta jest czwartą najczęściej diagnozowaną chorobą nowotworową (6,6%) i czwartą najczęstszą przyczyną zgonów z powodu raka u kobiet (7,5%). Ponad 80% wszystkich zachorowań odnotowuje się w

krajach rozwijających się. Pierwsze miejsca zarówno jeśli mówimy o wskaźnikach zachorowalności jak i umieralności zajmują państwa afrykańskie. Najwyższy wskaźnik zachorowalności na świecie dotyczy Suazi w Afryce Południowej, natomiast najwyższy wskaźnik śmiertelności Malawi – Zimbabwe w Afryce Wschodniej. Na przeciwnym biegunie z relatywnie 7 do 10 razy niższymi współczynnikami epidemiologicznymi zachorowalności i umieralności znajdują się Azja Zachodnia, Australia z Nową Zelandią, Ameryka Północna oraz czwarta z kolei Europa Zachodnia.^{34,35} Na podstawie danych interaktywnej platformy internetowej prezentującej globalne statystyki raka (ang. Global Cancer Observatory, GCO) będącej częścią Międzynarodowej Agencji Badań nad Rakiem (ang. The International Agency for Research on Cancer, IARC) wykazano, że w roku 2020 zachorowalność na raka szyjki macicy wyniosła 13,3 na 100 tys. Liczba nowych przypadków raka szyjki macicy wzrosła do ponad 600 tysięcy i stanowiła około 6,5% wszystkich zdiagnozowanych u kobiet nowotworów na świecie. Wykres 1 przedstawia standaryzowane współczynniki zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy na świecie.³⁶



Wykres 1. Standaryzowane z wiekiem współczynniki zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy na świecie w 2020 roku (Źródło danych IARC/GCO).³⁶

Sytuacja w Europie jest znacznie zróżnicowana w zależności od części kontynentu. Niekorzystne trendy epidemiologiczne obserwuje się tu przede wszystkim we wschodniej części Europy, gdzie wskaźniki zachorowalności i umieralności są znacznie wyższe niż w pozostałych częściach kontynentu. Na uwagę zasługują standaryzowane według wieku współczynniki zachorowalności (ang. age-standardised incidence rate, ASIR) i umieralności (ang. age-standardised mortality rate, ASMR) przeliczane na 100 000

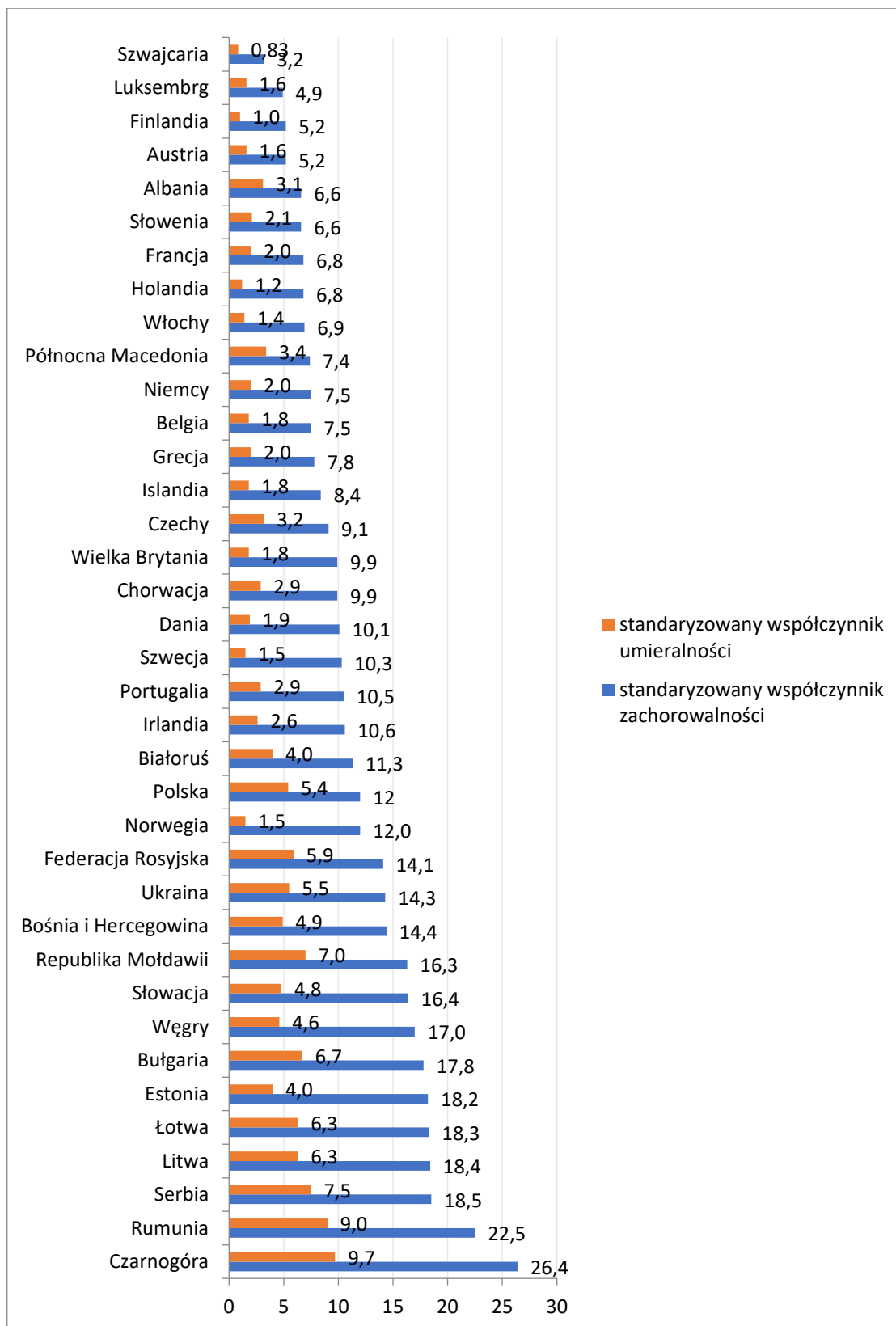
kobiet, które w Europie centralno-wschodniej są kilkukrotnie wyższe niż w pozostałych częściach kontynentu (tabela 5).³⁷

Tabela 5. Zachorowalność i umieralność na raka szyjki macicy w Europie w 2018 r z podziałem na cztery strony świata.³⁷

Część Europy	Środkowo-wschodnia	Północna	Południowa	Zachodnia
Populacja kobiet (mln)	154,6	53,1	78,3	98,4
Liczba przypadków	35940	6319	9155	9658
ASIR (na 100 000 kobiet)	16,0	9,5	7,8	6,8
% wszystkich nowotworów	5,9	2,1	2,3	1,7
Liczba zgonów	16011	2060	3512	4246
ASMR (na 100 000 kobiet)	6,1	2,1	2,2	2,1
% wszystkich nowotworów	5,2	1,6	2,0	1,8

Wyraźny dysonans pomiędzy Europą centralno-wschodnią (ASIR 16/100tys, ASMR 6/100tys) a resztą kontynentu (ASIR poniżej 10/100tys, ASMR poniżej 3/100tys) wiąże się z latami zaniedbań na polu profilaktyki w krajach Europy wschodniej.

W 2018 roku wśród 28 krajów członkowskich Unii Europejskiej (włączając wówczas jeszcze Wielką Brytanię jako członka) średnie standaryzowane współczynniki zachorowalności i umieralności wyniosły odpowiednio 10.0 i 3.1 na 100tys.³⁸ Wskaźniki zapadalności są bardzo zróżnicowane w Europie. Współczynniki zachorowalności standaryzowane z wiekiem wahają się od mniej niż 5/100tys w Szwajcarii (3,2), Luksemburgu (4,9) do powyżej 20/100tys w Czarnogórze (26,4), Rumunii (22,5). Wykres 2 pokazuje poszczególne kraje europejskie uszeregowane według rosnących wartości współczynnika zachorowalności na raka szyjki macicy. Najwyższa umieralność charakteryzuje Czarnogórę (9,7), Rumunię (9,0) oraz Serbię (7,5). W Szwajcarii (0,83), Finlandii (1,0) i Holandii (1,2) obserwuje się najniższe w Europie wskaźniki umieralności z powodu raka szyjki macicy.

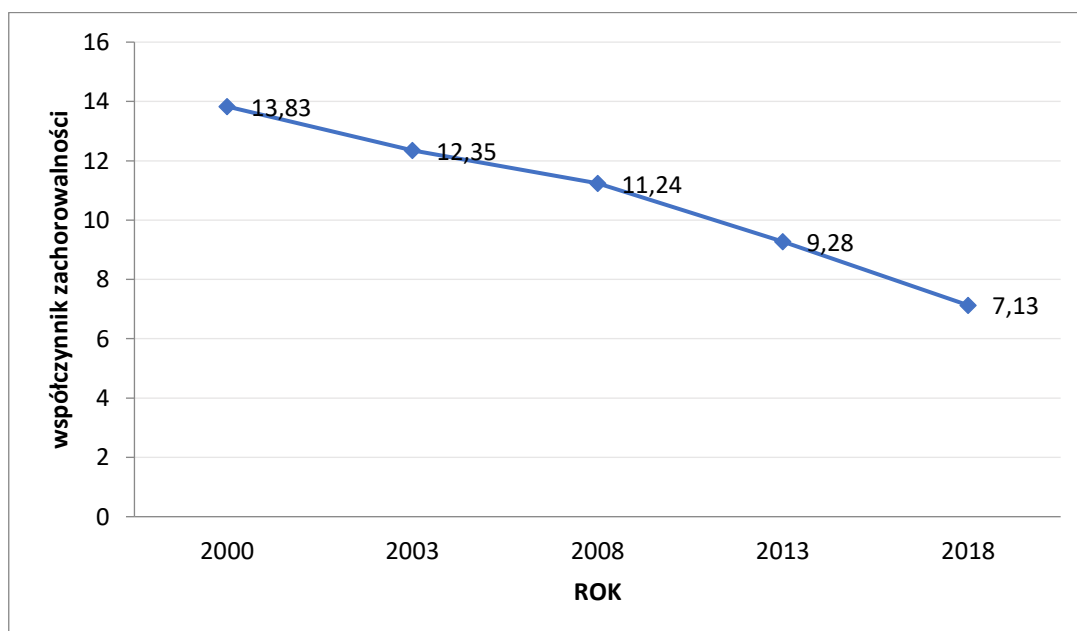


Wykres 2. Współczynniki zachorowalności i umieralności z powodu raka szyjki macicy w Europie w 2020 roku, standaryzowane według wieku (/ 100 000 kobiet-lat). (Źródło danych IARC/GCO).³⁶

1.4 Epidemiologia raka szyjki macicy w Polsce.

Polska na tle krajów europejskich plasuje się na środkowych pozycjach zarówno jeśli chodzi o zachorowalność jak i umieralność na raka szyjki macicy. Zgodnie z danymi Krajowego Rejestru Nowotworów (KRN), rak szyjki macicy rozpoznaje się w Polsce corocznie u ponad 3 tysięcy kobiet. Stanowi to 4% wszystkich zachorowań i 4% wszystkich zgonów z powodu chorób nowotworowych u kobiet w naszym kraju. Powoduje to, że rak szyjki macicy jest szóstą przyczyną zachorowalności oraz siódmą przyczyną umieralności na nowotwory złośliwe w populacji kobiet żyjących w Polsce.³⁹

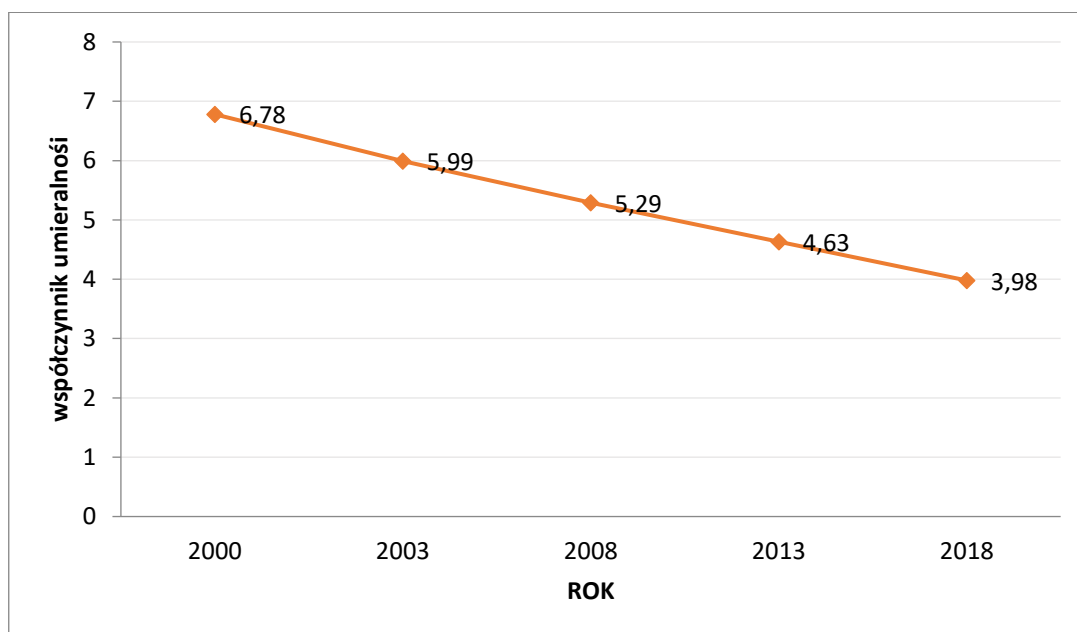
W ostatnich latach obserwuje się w Polsce sukcesywny spadek współczynników zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy. W 2000 roku współczynniki te wynosiły 13,83 dla zachorowalności i 6,78 dla umieralności, natomiast w 2018 roku uległy obniżeniu odpowiednio do 7,13 oraz 3,98 w skali kraju. Te korzystne tendencje epidemiologiczne są efektem konsekwentnej realizacji programu profilaktyki i wczesnego wykrywania raka szyjki macicy prowadzonego w Polsce w sposób aktywny w latach 2005-2015. Wartości aktualnych współczynników epidemiologicznych pokrywają się z prognozowanymi do 2025 roku. Co świadczy o poprawie sytuacji w naszym kraju.⁴⁰



Wykres 3. Trend zachorowalności na raka szyjki macicy w Polsce w latach 2000-2018 (Źródło danych KRN).⁴¹

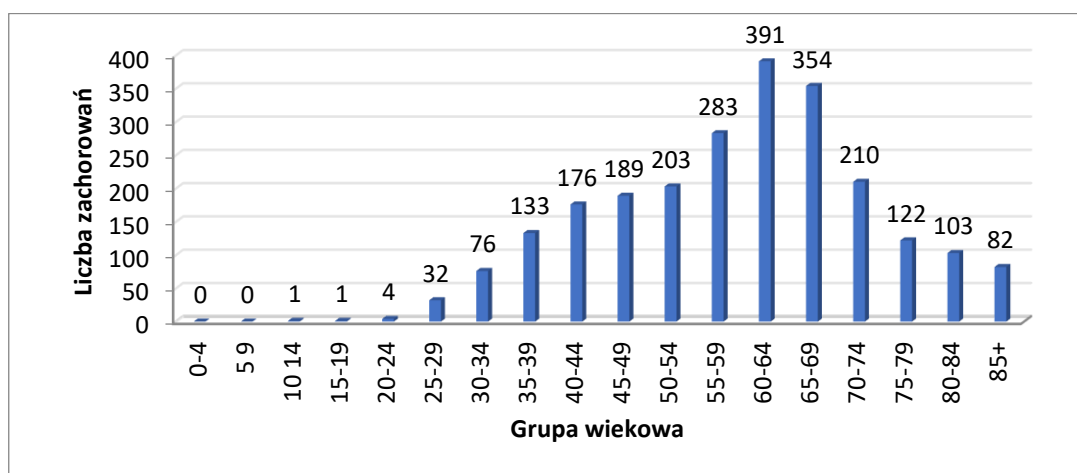
Trendy wskaźników epidemiologicznych standaryzowanych dla populacji światowej na podstawie danych z raportów KRN dostępnych z ostatnich 18 lat przedstawiono na

wykresach 3 i 4. Bezwzględna liczba zgonów spadła prawie o 20% z 1987 przypadków w 2000 roku do 1593 w 2018 roku. Liczba nowych rozpoznań raka szyjki macicy w 2000 roku wyniosła 3777, a w 2018 roku była o ponad 37% niższa, bowiem zdiagnozowano 2360 nowych przypadków raka szyjki macicy.

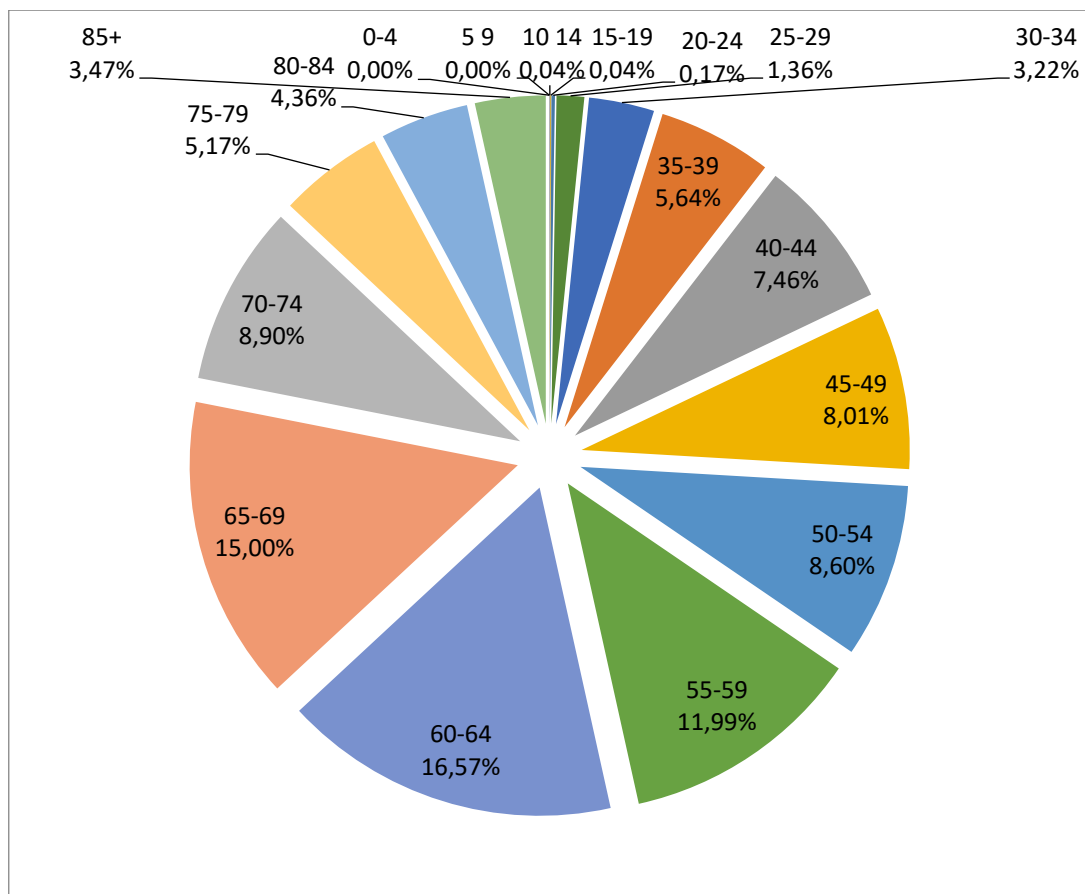


Wykres 4. Trend umieralności na raka szyjki macicy w Polsce w latach 2000-2018 (Źródło danych KRN).⁴¹

Rozkład zachorowań w poszczególnych grupach wiekowych przedstawia wykres 5. Wśród kobiet młodych poniżej 30 roku życia nowotwór szyjki macicy nie występuje często, ta grupa wiekowa to łącznie 1% wszystkich zdiagnozowanych raków. Od 30 roku życia liczba przypadków zaczyna wzrastać i osiąga szczyt w grupie wiekowej 60-64 lata.

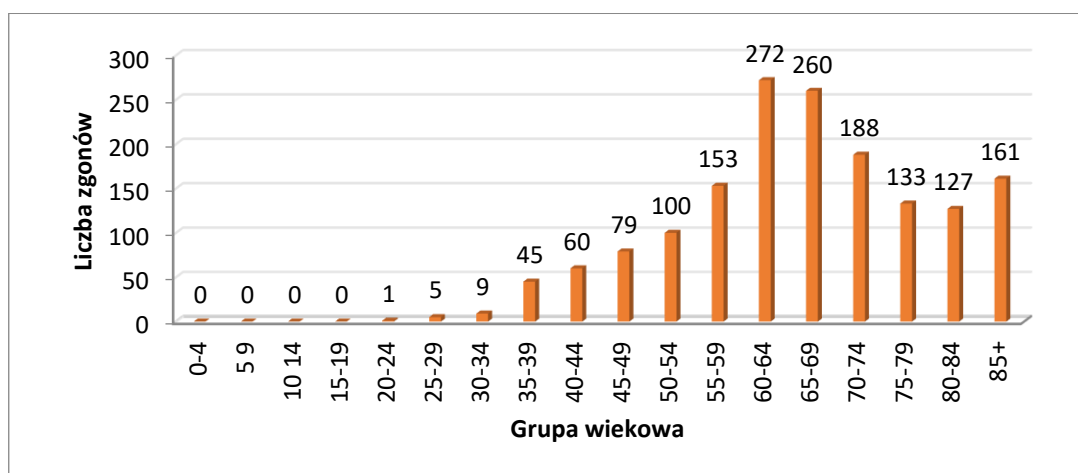


Wykres 5. Rozkład zachorowań na raka szyjki macicy w Polsce w 2018 roku w poszczególnych grupach wiekowych (Źródło danych KRN).⁴¹



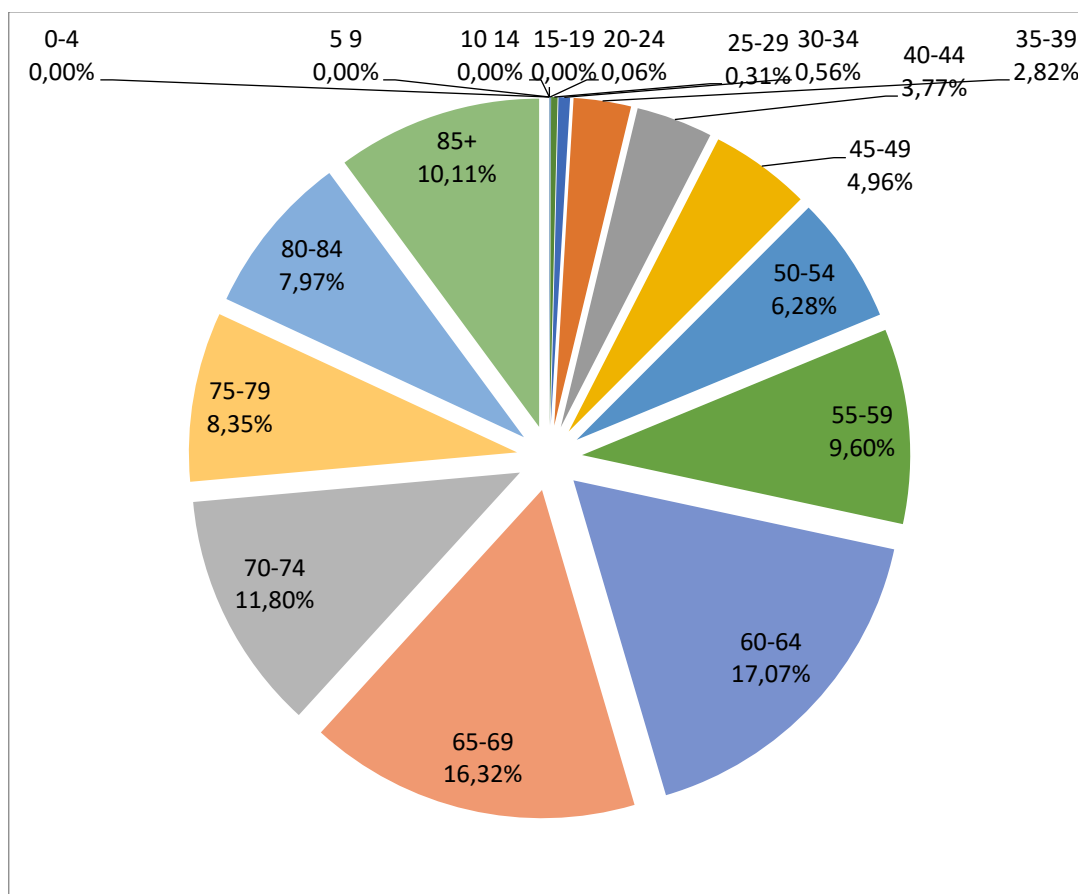
Wykres 6. Rozkład procentowy zachorowań na raka szyjki macicy w Polsce w 2018 roku w poszczególnych grupach wiekowych (Źródło danych KRN).⁴¹

Kobiety do 49 roku życia stanowią 25% wszystkich zdiagnozowanych. Ponad 50% chorych to pacjentki w wieku 50-69 lat (53%). Kobiety starsze, od 70 roku życia to około 22% wszystkich przypadków zachorowań na raka szyjki. Wykres 6 przedstawia rozkład procentowy zachorowań na raka szyjki macicy w poszczególnych grupach wiekowych.



Wykres 7. Rozkład zgonów na raka szyjki macicy w Polsce w 2018 roku w poszczególnych grupach wiekowych (Źródło danych KRN)⁴¹

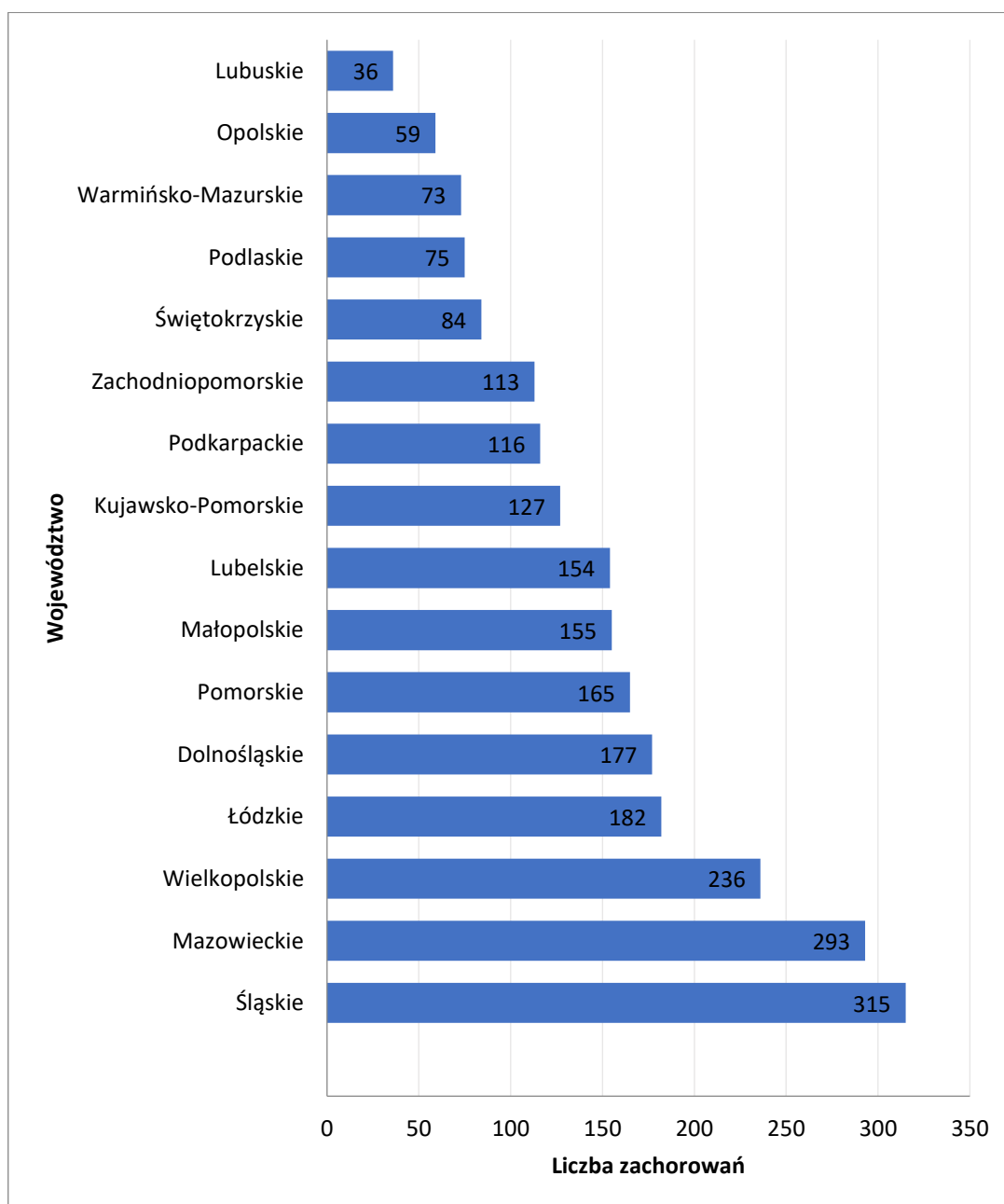
Liczba zgonów z powodu raka szyjki macicy w Polsce w 2018 roku wyniosła 1593. Wykres 7 przedstawia rozkład liczby zgonów w poszczególnych grupach wiekowych. Podobnie, jak szczyt zachorowań, szczyt zgonów również przypada na grupę wiekową 60-64 lata.



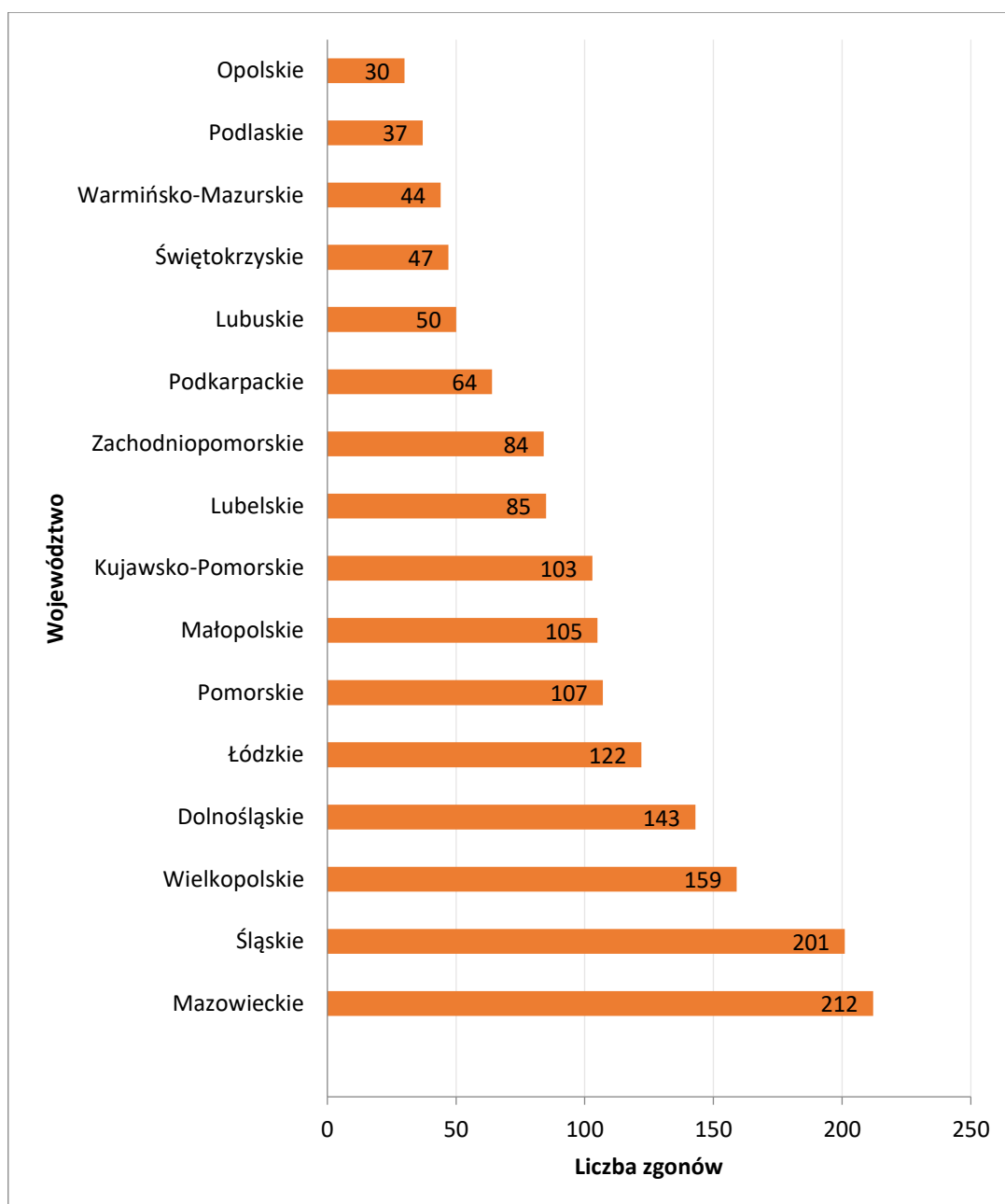
Wykres 8. Rozkład procentowy zgonów na raka szyjki macicy w Polsce w 2018 roku w poszczególnych grupach wiekowych (Źródło danych KRN)⁴¹

Inaczej natomiast rozkładają się udziały procentowe poszczególnych grup wiekowych. Zgony kobiet do 49 roku życia stanowią około 12% wszystkich zgonów z powodu raka szyjki macicy. Umieralność znacznie rośnie w starszych grupach wiekowych. Pacjentki w wieku 50-69 lat stanowią prawie 50% wszystkich zgonów, natomiast kobiety starsze, od 70 roku życia to ponad 38% zgonów.

Kształtowanie się sytuacji epidemiologicznej w poszczególnych województwach w 2018 roku przedstawiają wykresy 9 i 10. Zarówno najwięcej przypadków nowych zachorowań jak i zgonów przypada na trzy województwa – śląskie, mazowieckie i wielkopolskie. W 2018 roku najmniej, bo zaledwie 36 zachorowań, stwierdzono w województwie lubuskim. Najmniejsza ilość zgonów (30) z powodu raka szyjki macicy dotyczyła województwa opolskiego.



Wykres 9. Zachorowania na raka szyjki macicy w Polsce w 2018 roku z podziałem na województwa (Źródło danych KRN).⁴¹



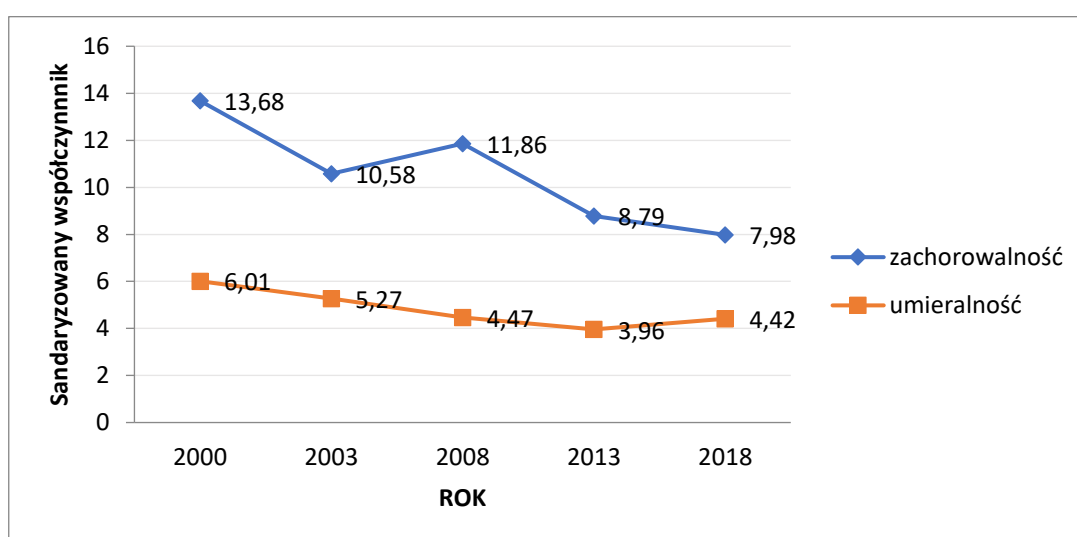
Wykres 10. Zgony na raka szyjki macicy w Polsce w 2018 roku z podziałem na województwa (Źródło danych KRN).⁴¹

Biorąc jednak pod uwagę standaryzowane według wieku dla populacji światowej współczynniki zachorowalności najwyższe są w województwach pomorskim (8,8), zachodniopomorskim (8,13) oraz lubelskim (8,06). Najwyższe współczynniki umieralności dotyczą województw pomorskiego (4,82), świętokrzyskiego (4,82) oraz łódzkiego (4,8) – tabela 6.

Tabela 6. Współczynniki zachorowalności i umieralności standaryzowane wg wieku dla populacji światowej w poszczególnych województwach w Polsce w 2018 roku (Źródło danych KRN)⁴¹

Województwo	standaryzowany współczynnik zachorowalności (dla populacji światowej)	standaryzowany współczynnik umieralności (dla populacji światowej)
Polska	7,13	3,98
Pomorskie	8,8	4,82
Zachodniopomorskie	8,13	3
Lubelskie	8,06	4,7
Łódzkie	8,04	4,8
Wielkopolskie	7,98	4,42
Świętokrzyskie	7,91	4,82
Śląskie	7,89	3,59
Podlaskie	7,6	3,6
Kujawsko-Pomorskie	7,04	3,8
Dolnośląskie	6,69	4,4
Mazowieckie	6,38	4,28
Opolskie	6,36	3,11
Warmińsko-Mazurskie	6,26	3,15
Podkarpackie	6,21	4,51
Małopolskie	5,55	3,11
Lubuskie	4,51	3,01

W Wielkopolsce w ostatnich latach obserwuje się spadek liczby zachorowań. W 2000 roku bezwzględna liczba zachorowań wyniosła 306, natomiast w roku 2018 nowych rozpoznanych raka szyjki macicy było 236. Obserwowany spadek zachorowalności to około 23% w ciągu 8 lat. W roku 2000 odnotowano 145 zgonów z powodu raka szyjki macicy, a w 2018 roku liczba ta wzrosła o 14, tym samym osiągając wartość 159. Patrząc na bezwzględne wartości liczby zgonów należałoby uznać, że w Wielkopolsce doszło do stabilizacji tych wartości na stałym poziomie. Oceniając jednak bardziej miarodajne współczynniki epidemiologiczne widać, że zarówno w kwestii zachorowalności jak i śmiertelności mamy do czynienia z tendencjami spadkowymi. Trendy zachorowalności i umieralności w Wielkopolsce przedstawiono na wykresie 11.



Wykres 11. Trendy zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy w Wielkopolsce w latach 2000 – 2018, współczynniki standaryzowane według wieku dla populacji światowej (Źródło danych KRN).⁴¹

Dane przytoczone ze świata i Polski pomimo tendencji spadkowych powinny nadal niepokoić. Według Światowej Organizacji Zdrowia (ang. World Health Organization, WHO) posiadamy skuteczne narzędzia do tego by wcześniej wykrywać zmiany przednowotworowe szyjki macicy. Zgodnie z prognozami WHO aktualnie jesteśmy w stanie zapobiegać powstawaniu raka szyjki macicy nawet do możliwości jego całkowitego wyeliminowania z biologii człowieka przy wykorzystaniu profilaktyki pierwotnej i wtórnej. Profilaktykę pierwotną reprezentują szczepienia przeciwko wirusowi brodawczaka ludzkiego. Natomiast pomimo wielu modyfikacji i nowych koncepcji diagnostycznych, najbardziej rozpowszechnionym narzędziem profilaktyki wtórnej aktualnie nadal jeszcze pozostaje cytodiagnostyka.⁴²

1.5 Aktualne programy profilaktyczne raka szyjki macicy w Polsce i na świecie.

Niewątpliwie skrining cytologiczny ma na swoim koncie niebywałe osiągnięcia. Świadczy o tym znaczny spadek zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy szczególnie widoczny w krajach rozwiniętych. Nie byłoby jednak sukcesu gdyby nie aktywna zgłaszalność kobiet do badania przesiewowego. W wielu krajach na przełomie minionych 20 lat w celu osiągnięcia pożądanej zgłaszalności powyżej 70% populacji kobiet, stworzono programy aktywnego zapraszania na badania cytologiczne.⁴³

W Polsce w latach od 2005 do 2015 roku również istniał program aktywnego skringu populacyjnego z wysyłaniem imiennych zaproszeń na badanie do populacji Polek w wieku 25 do 59 lat, które nie miały wykonywanego wymazu cytologicznego w ciągu 3 lat, a były ubezpieczone w Narodowym Funduszu Zdrowia.⁴⁴

W ostatnich latach w państwach europejskich o zaawansowanym skringu cytologicznym zaczęto obserwować, że pomimo dalszego zwiększania się zgłaszalności do badań profilaktycznych nie obserwuje się już tak spektakularnych spadków współczynników zachorowalności i umieralności. Profilaktykę wtórną z narzędziem w postaci cytodiagnostyki cechuje ograniczona wykrywalność. Ostatnie dane sugerują ograniczenia cytologii, w tym niską czułość, wysoki odsetek wyników fałszywie ujemnych i zmienność wiarygodności wyników w zależności od doświadczenia wykonującego badanie i dokonującego oceny cytologa.⁴⁵ W licznych badaniach czułość cytologii wynosi mniej niż 70% (wahała się od 53,4% do 94,0% w zależności od doniesienia).⁴⁶ Niemniej na ten moment wiele programów profilaktycznych nadal opiera się na cytodiagnostyce.

W Europie za modelowy przykład długoletnich działań profilaktycznych należy podać Finlandię. Skrining populacyjny w 2018 roku obchodził tam swoją 50tą rocznicę. W Finlandii mamy do czynienia z aktywnym badaniem przesiewowym. Oznacza to, że kobiety otrzymują indywidualne zaproszenie do badania. W większej części kraju dotyczy to kobiet w wieku 30-64 lata. Niektóre gminy zapraszają również kobiety w wieku od 25 i/lub do 69 lat na badania przesiewowe. Zgodnie z danymi fińskiego rejestru nowotworów (ang. Finnish Cancer Registry, FCR) w 2018 roku zaproszenie dotarło do ponad 99% zarejestrowanej populacji kobiet fińskich, co dało efekt zgłaszalności na poziomie ponad 70%.⁴⁷ Tak dobre pokrycie populacji badaniem przesiewowym w Finlandii dało spektakularne spadki współczynników zachorowalności i umieralności na

raka szyjki macicy.⁴⁸ W Finlandii podstawą profilaktyki jest badanie przesiewowe oparte na cytodiagnostyce z interwałem czasowym 5 lat, ale od 2012 w wybranych gminach ruszyły badania skринingowe stosujące jako narzędzie pierwszego wyboru test na obecność DNA HPV co 5 lat. Po dwóch rundach (2012 i 2017 rok) tego badania w ramach przesiewu oceniono, że jest ono czułym sposobem pozwalającym na wykrycie zmian przednowotworowych szyjki macicy. Jednocześnie już od 5 lat w Finlandii redukuje się liczbę wykonanych badań kolposkopowych.⁴⁹ Co świadczy o stałym obniżaniu się odestka wyników cytoonkologicznie nieprawidłowych.

W 2020 roku doszło do nowych modyfikacji amerykańskich wytycznych dotyczących rekomendacji dla badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy. Poprzednie zalecenia pochodziły z 2012 roku. Tabela 7 przedstawia w skrócie, porównawczo te zmiany. W najnowszych rekomendacjach zmienił się przedział wiekowy populacji objętej przesiewem, test identyfikujący DNA HPV zaczął stanowić podstawę badania, czyli narzędzie pierwotne, ale dopuszczalne są też rozwiązania wcześniej rekomendowane. Jednocześnie zaznaczono, że stosowanie testów podwójnych lub samej cytodiagnostyki do badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy nie zostanie uwzględnione w przyszłych wytycznych.⁵⁰

Tabela 7. Porównanie aktualnych i wcześniejszych wytycznych Amerykańskiego Towarzystwa do spraw Walki z Rakiem (ang. American Cancer Society, ACS) dotyczących badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy.⁵⁰

populacja	REKOMENDACJE American Cancer Society BADANIA PRZESIEWOWE RAKA SZYJKI MACICY	
	ACS 2020	ACS 2012
wiek <25 lat	Brak skринingu	Cytologia co 3 lata od 21 roku życia
wiek 25-65 lat	Od 25 roku życia rozpoczęcie pierwszorzutowo testu na obecność DNA HPV co 5 lat (preferowane)	Cytologia co 3 lata do 29 roku życia
	Test podwójny co 5 lat lub samo badanie cytologiczne co 3 lata są dopuszczalne, gdy dostęp do pierwszorzutowego badania DNA HPV jest ograniczony bądź niemożliwy	Od 30 -65 roku życia zmiana na test podwójny (preferowane) bądź cytologia co 3 lata (akceptowalne)

		Badania przesiewowe za pomocą samego testu DNA HPV nie są zalecane w większości warunków klinicznych
wiek >65 lat	Przerwać badania przesiewowe, jeśli wyniki wcześniejszych były negatywne Osoby w wieku > 65 lat bez dokumentacji wcześniejszych badań przesiewowych powinny kontynuować badania przesiewowe do momentu spełnienia kryteriów zaprzestania	Brak badań przesiewowych przy wcześniejszych negatywnych wynikach badań przesiewowych
	Aktualne kryteria zaprzestania: 2 kolejne negatywne testy DNA HPV lub 2 negatywne wyniki testu podwójnego lub 3 negatywne testy cytologiczne w ciągu ostatnich 10 lat, przy czym najnowszy test miał miejsce w ciągu ostatnich 3-5 lat, w zależności od zastosowanego narzędzia diagnostycznego	

Test podwójny to badanie na obecność DNA HPV w połączeniu z oceną wymazu cytologicznego.

1.6 Wirus brodawczaka ludzkiego - budowa, potencjał onkologiczny.

Wirus brodawczaka ludzkiego należy do rodziny Papillomaviridae (dawniej: Papovaviridae). Istnieje około 120 różnych typów HPV posiadających powinowactwo do nabłonków.⁵¹ Materiałem genetycznym tych wirusów jest dwuniciowy kolisty fragment DNA. Genom HPV stanowi 8 genów łącznie złożonych z 7800 par zasad otoczonych kapsydem zbudowanym z 72 kapsomerów. Genom HPV można podzielić na 3 regiony: region E (early), L (late) oraz LCR (long control region). LCR to odcinek niekodujący białek wirusa, natomiast region E koduje białka wczesne, a region L koduje białka późne. Białka wczesne odpowiedzialne są za procesy transkrypcyjne i regulacyjne, natomiast białka późne to białka kapsydu wirusa.⁵²

Wśród typów wirusa brodawczaka ludzkiego należy wyróżnić dwie grupy w zależności od potencjału nowotworzenia – onkogenne i nieonkogenne. Aktualnie badacze wyodrębniają również trzecią grupę o pośrednim i niepewnym wpływie na ryzyko kancerogenezy. Do typów o potwierdzonej wysoko-onkogeniczności należy 15 typów HPV: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82. Klinicznie zakażenie HPV obejmuje szerokie spektrum chorób. Infekcja może przebiegać całkowicie bezobjawowo

bądź też objawowo manifestować się od łagodnych zmian nabłonkowych, poprzez stany przedrakowe, na nowotworach złośliwych różnej lokalizacji kończąc. Przetrwiała infekcja wysokoonkogennymi typami wirusa (ang. high risk types of human papillomavirus, HPV HR) wiąże się etiologicznie ze stanami przedrakowymi i chorobami nowotworowymi okolicy anogenitalnej (rak szyjki macicy, rak pochwy, rak sromu, rak odbytu, rak prącia) oraz okolicy głowy i szyi (rak jamy ustnej, raki jamy nosowogardłowej). Najczęściej identyfikowanymi nieonkogennymi typami HPV są 6 i 11. Wśród łagodnych chorób wywołanych zakażeniem HPV do najczęstszych należą: kłykciny kończyste, nawracająca brodawczakowatość krtani i dróg oddechowych, brodawki skórne.⁵³

Po raz pierwszy związek zakażenia HPV z inicjacją w komórkach nabłonka procesu kancerogenezy opisał profesor Harald zur Hausen. Pierwszym opisanym przez niego typem wirusa brodawczaka ludzkiego wykazującym tropizm do komórek nabłonkowych i występujących w zmienionych nowotworowo tkankach był HPV 16. Aktualnie zidentyfikowano wiele typów HPV, a do wysokoonkogennych wykazujących powinowactwo do komórek nabłonkowych jamy ustnej, gardła, krtani, skóry oraz okolic anogenitalnych należą typy HPV 16, 18, 31, 45, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 66, 68, 70. Wymienione typy wirusów należą do podgrupy α i jak już wspomniano są odpowiedzialne za rozwój większości raków szyjki macicy. Do procesu kancerogenezy w komórkach przyczyniają się specyficzne białka wirusów. Geny HPV E6 i E7 kodują wielofunkcyjne onkoproteiny, które wiążą się głównie z komórkowymi białkami supresorowymi p53 i pRB, zakłócają ich funkcje, zmieniają szlaki regulacyjne cyklu komórkowego, prowadząc do transformacji nowotworowej.⁵⁴

Mikrourazy błony śluzowej są wrotami zakażenia dla HPV i umożliwiają mu dostanie się do głębokich warstw nabłonka. Warstwy te zbudowane są z komórek wyposażonych w integryny, które powszechnie uważa się za receptory dla HPV. Początkowo w komórkach nabłonka wirus brodawczaka ludzkiego dzięki białku E1 we współpracy z białkiem E2 pozostaje w formie episomalnej. Białko E2 odpowiada także za regulację transkrypcji i kontrolę aktywacji oraz ekspresji genów wczesnych, w tym onkogenów E6 i E7. Ważnym z punktu widzenia rozprzestrzeniania się wirusa jest białko E4. Opisano jego związek z destabilizacją włókien keratynowych w komórce, a co za tym idzie doprowadzenie do zapadania się cytoszkieletu komórkowego i przyczynianie się do uwalniania wirionów potomnych. Białka E6 i E7 wysokoonkogennych typów wirusów mogą destabilizować przebieg cyklu komórkowego oddziałując odpowiednio na białka p53 oraz pRB, p107 i

p130.⁵⁵ Białko E6 tworząc kompleks ze specyficzną ligazą ubikwitynową doprowadza do degradacji białka p53 w proteasomach. W sytuacji, gdy w komórce zabraknie białka p53 naprawa DNA staje się nie do przeprowadzenia. Regulacja cyklu komórkowego czy apoptoza są wówczas również niewykonalne. Białko E6 może prowadzić także do zwiększonej proliferacji komórek poprzez stymulację aktywności telomerazy. Wpływa ono na poziomie transkrypcji na indukcję ekspresji katalitycznej podjednostki telomerazy hTERT. Białko wirusowe E7 oddziałuje na cykl komórkowy gospodarza poprzez wiązanie się z białkiem pRB. Białko pRB w postaci nieufosforylowanej odpowiada za supresję transformacji nowotworowej. Jego fosforylacja, a także połączenie z onkoproteiną E7 powoduje przejście cyklu komórkowego do fazy syntezy DNA (faza S). Białko E7 oddziałuje także na inne regulatory cyklu, w tym białka pokrewne pRB jak p107 czy p130 oraz koaktywatory transkrypcji: CBP, p300 oraz pCAF.⁵⁶ Efektem działania białek onkogennych na pracę białek gospodarza jest destabilizacja genomu doprowadzająca do promocji kancerogenezy.

1.7 Testy diagnostyczne do identyfikacji zakażenia HPV.

Testy do diagnostyki zakażenia HPV można podzielić na dwa rodzaje metod: pośrednie i bezpośrednie. Wyniki tych pierwszych będą informować czy istnieją przesłanki na obecność wirusa w badanym materiale, te drugie służą do jego bezpośredniej identyfikacji.

Do metod pośrednich należy ocena mikroskopowa pobranego od pacjentki materiału złożonego z komórek (preparat cytologiczny) bądź tkanek (preparat histologiczny). W przypadku obecności wirusa brodawczaka ludzkiego w materiale cytologicznym i tkankowym można zaobserwować:

- koilocyty – czyli komórki o charakterystycznej budowie z acentrycznym, hiperchromatycznym powiększonym jądrem, przesuniętym przez dużą przyjądrową wakuolę,
- komórki atypowe,
- komórki wielojądrzaste,
- rogowacenie pojedynczych komórek,
- pogrubienie warstwy kolczystej nabłonka (akantoza),
- obecności jąder komórkowych w keratynocytach warstwy rogowej naskórka (parakeratoza).

Jako metoda pośrednia istnieje też możliwość wykonania odczynów immunocytochemicznych lub immunohistochemicznych odpowiednio w preparatach cytologicznych lub histologicznych w celu wykrycia w nich białka p16, którego nadekspresję obserwuje się w przypadku niekontrolowanej proliferacji zainfekowanych przez HPV komórek. W immunocytochemii/immunohistochemii wykorzystywane jest również białko Ki-67, będące antygenem jądrowym, którego ekspresja jest nasiloną w trakcie namnażania się i podziałów komórkowych. Białka p16/Ki-67 stanowią biomarkery wykrywane w komórkach, w których w wyniku przetrwałej infekcji HPV doszło do zaburzenia cyklu komórkowego. Test wykrywający p16/Ki-67 pozwala na doprecyzowanie wyników cytodiagnostyki i redukcję liczby nieuzasadnionych skierowań do poszerzonych badań. Daje to możliwość koncentracji na leczeniu pacjentek rzeczywiście tego wymagających.

Bezpośrednia identyfikacja wirusa może odbywać się w dwojaki sposób. Poprzez wykazanie w mikroskopie elektronowym obecności HPV w pobranym od pacjentki materiale np. w zeskrabinach z okolic anogenitalnych czy z brodawek skórnych. Rzadkie wykorzystanie niniejszej metody jest związane z ograniczoną liczbą cząstek wirusa. Bądź też na drodze diagnostyki molekularnej gdzie stosuje się hybrydyzację DNA HPV metodą reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (ang. real-time polymerase chain reaction, RT-PCR) lub wykorzystuje sondy genetyczne do oznaczania HPV. Testy molekularne pozwalają na nieograniczoną identyfikację poszczególnych typów HPV i ich genotypowanie. Metody molekularne analizują obecność wybranych wirusów zarówno nisko- jak i wysoko- onkogennych. Testy te są wysoko akceptowalne ze względu na nieinwazyjność z zachowaniem odpowiedniej czułości i wysokiego wskaźnika powtarzalności wyników.

Dostępne są liczne rodzaje badań jakościowych identyfikujące różną w zależności od testu liczbę genotypów wirusa brodawczaka ludzkiego. Testy HPV rekomendowane do wykorzystania w ramach badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy przez Międzynarodową Publiczną Agencję Zdrowia (ang. The Pan American Health Organization, PAHO)⁵⁷ to między innymi:

1. Testy oparte o amplifikację metodą PCR fragmentu DNA HPV z detekcją znakowanych sond molekularnych.

- Cobas HPV test – Wykorzystuje celowaną amplifikację metodą PCR z jednoczasowym użyciem sond DNA znakowanych fluorescencyjnie. Dzięki 3 kanałom osobno identyfikuje zakażenie typami 16 i/lub 18 HPV, a także daje informację o obecności HPV HR z grupy: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.⁵⁸
- AMPLICOR® Human Papilloma Virus (HPV) Test – test pozwalający na detekcję 13 najczęstszych typów wysokoonkogennych 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 – koktajl pozostałych 11 genotypów.
- Xpert HPV - Zoptymalizowane wykrywanie 14 wysokoonkogennych HPV z rozdzieleniem na: HPV16 i/lub HPV18/45 lub inne typy HPV HR: 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 łącznie.⁵⁹
- 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, CP6108 i daje informację o wykrytych typach HPV.

2. Test oparty o użycie sond genetycznych (ang. Hybrid Capture, HC):

- HC II – płynna hybrydyzacja pełnego genomu HPV przeznaczona do wykrywania 13 wysokoonkogennych typów HPV takich jak: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 66 i 68 oraz 5 typów HPV niskiego ryzyka: 6, 11, 42, 43 i 44. Pierwsza wersja czyli HC I podobnie pozwalała na identyfikację 5 typów HPV niskiego ryzyka, ale jedynie 9 typów HPV wysokiego ryzyka: 16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52 i 56.⁶⁰

3. Testy wykorzystujące wykrywanie transkryptów mRNA HPV HR:

- NucliSENS EasyQ™ HPV – w przeciwieństwie do powyższych testów identyfikujących DNA wirusa test ten wykrywa transkrypty mRNA onkogenów E6/E7. Wykazuje obecność infekcji przetrwałych, gdzie doszło do wbudowywania DNA wirusa w materiał genetyczny komórek nabłonka pacjentki.

Pozytywny wynik testu HPV mRNA potwierdza wykrycie wysokoonkogennych genotypów HPV: 16, 18, 31, 33 i 45. Wirusowe białka biorące udział w kancerogenezie są konieczne do inicjacji procesu transformacji nowotworowej komórki, zatem stwierdzenie ich ekspresji w badanym materiale pozwala wyodrębnić grupę kobiet mających najwyższe ryzyko rozwoju CIN i raka szyjki macicy.⁶¹

- APTIMA HPV – w teście wykorzystywane jest wychwytywanie wirusowego RNA i jego amplifikacja. Dzięki czemu możliwa jest identyfikacja HPV RNA 14 wysokoonkogennych typów: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68.⁶²
- PreTect HPV-Proofer - w teście wykorzystana została metoda Multiplex Nucleic Acid Sequence-Based Amplification Assay (NASBA) - czyli test amplifikacji oparty na sekwencji kwasów nukleinowych dla mRNA E6/E7 HPV 16, 18, 31, 33, 45.⁶³

4. Test wykorzystujący specyficzne przeciwciała:

- OncoE6 Cervical Test – wykorzystuje przeciwciało monoklonalne przeciw białku E6 HPV 16/18 i tym samym identyfikuje infekcję tymi dwoma najczęstszymi typami wysokoonkogennymi.⁶⁴

Najbardziej powszechna metoda molekularna RT-PCR polega na szybkiej amplifikacji poszukiwanego fragmentu DNA HPV przy użyciu swoistych primerów. Detekcja kopiowanego materiału odbywa się przy użyciu znakowanych fluorescencyjnie sond molekularnych DNA. Istnieje też metoda wykrywająca transkrypty mRNA wirusów HPV wysokiego ryzyka. Identyfikacja transkryptów czyli mRNA HPV jest mniej rozpowszechniona niż testy molekularne na DNA HPV. Z dwóch praktycznie dostępnych metod na wykrywanie transkryptów jeden identyfikuje pięć najczęstszych genotypów, drugi czternaście. Przewagą testów molekularnych wykrywających transkrypty jest to, że każdy wynik pozytywny jest dowodem na trwające zakażenie przetrwałe, w którym wirus jest w formie wbudowanej w DNA ludzkie. Z punktu widzenia prognostycznego testy molekularne identyfikujące transkrypty mają przewagę nad tymi wykrywającymi DNA HPV. Przewaga ta wynika z faktu, że część wyników pozytywnych testów na DNA HPV wykrywa tylko zakażenie incydentalne a nie przetrwałe. Znaczenie kliniczne zakażeń

incydentalnych jest mniejsze niż przetrwałych. Testy identyfikujące transkrypty są ukierunkowane na wykrywanie zakażeń przetrwałych.

1.8 Kierunki rozwoju profilaktyki raka szyjki macicy na świecie.

Przełomowym krokiem w profilaktyce wtórnej raka szyjki macicy było określenie głównego czynnika ryzyka, którym jest przetrwała infekcja wirusem brodawczaka ludzkiego. Za badania nad etiologią raka szyjki macicy Niemiec Harald zur Hausen otrzymał w 2008 roku nagrodę Nobla w dziedzinie medycyny i fizjologii.⁶⁵ Dowody na to, że zakażenia wysoko onkogennymi typami wirusa brodawczaka ludzkiego powodują raka szyjki macicy, doprowadziły do zmiany koncepcji profilaktyki wczesnego wykrywania tego nowotworu. Aktualnie prowadzone są liczne badania udowadniające, że test na obecność DNA HPV w wymazie pobranym z szyjki macicy może skutecznie zastąpić cytodiagnostykę jako pierwotne narzędzie w przesiewie populacyjnym.⁶⁶ Wiedza o biologii HPV pozwoliła na rozwój profilaktyki pierwotnej raka szyjki macicy czyli szczepień.⁶⁷ Historia szczepień sięga 2006 roku, kiedy to w Stanach Zjednoczonych została zarejestrowana pierwsza szczepionka przeciwko wirusowi brodawczaka ludzkiego. Aktualnie na rynku światowym istnieją trzy rodzaje szczepionek: dwuwalentna, czterowalentna oraz dziewięciowalentna. Zgodnie z przeglądem danych dotyczących skuteczności i bezpieczeństwa szczepionek zatwierdzonych przez Agencję Żywności i Leków (ang. Food and Drug Administration, FDA) od fazy klinicznej I do fazy klinicznej IV szczepienia przeciwko HPV dają obiecujące wyniki. Do sierpnia 2014 roku 58 krajów wprowadziło szczepienia przeciwko HPV w swoim krajowym programie szczepień. Uzyskałmy dzięki temu dostęp do licznych publikacji na temat bezpieczeństwa i rzeczywistej skuteczności szczepień z różnych stron świata. Aktualnie publikowane są długoterminowe dane dotyczące immunogenności i skuteczności poszczególnych szczepionek oraz dane dotyczące ochrony krzyżowej.⁶⁸

Cytodiagnostyka i testy na obecność wirusa brodawczaka ludzkiego nie odznaczają się 100% czułością i swoistością w identyfikowaniu zmian śródnabłonkowych. Przekłada się to na wykrycie tylko części zmian podejrzanych o wysoki potencjał nowotworzenia. Dlatego na przestrzeni ostatnich lat stworzono narzędzia doprecyzowujące wskazania do kolposkopii i wykonania biopsji. Pozwoliły na to doniesienia z dziedziny genetyki oraz immunodiagnostyki. Odkrycie białek onkogennych towarzyszących przetrwałemu zakażeniu HPV i SIL oraz związku metylacji genowej z powstawaniem raka dostarczyło

do diagnostyki SIL i raka szyjki macicy dwa najnowocześniejsze narzędzia – testy ekspresji białek p16 i Ki-67⁶⁹ oraz testy metylacyjne.⁷⁰

W prawie sto lat po pierwszych prezentacjach Papanicolaou dotyczących znaczenia wymazów z szyjki macicy aktualnie wiele obiecujących informacji ze świata powoduje, że możemy patrzeć z nadzieją w przyszłość dotyczącą prewencji i wczesnego wykrywania zmian przednowotworowych i nowotworowych szyjki macicy. Modelowe badania pokazują, że istnieją szanse na eliminację do końca XXI/ początków XXII wieku raka szyjki macicy jako problemu zdrowia publicznego na świecie.⁷¹ W tym celu WHO opracowało globalną strategię wdrożenia potrójnej interwencji. Działania te mają na celu zwiększenie skali szczepień przeciwko wirusowi brodawczaka ludzkiego, które mają objąć 90% populacji globalnej, a także wzrost badań przesiewowych szyjki macicy do 70% oraz osiągnięcie 90%-wej dostępności leczenia zmian przednowotworowych i raka inwazyjnego na całym świecie. Według modelowej oceny wpływu osiągnięcia celów potrójnej interwencji 90–70–90 pomyślne wdrożenie strategii eliminacji WHO zmniejszyłoby śmiertelność z powodu raka szyjki macicy o prawie 99% i uratowało życie ponad 62 milionów kobiet w następnym stuleciu.⁷²

2. CELE PRACY

1. Ocena wartości diagnostycznej cytodiagnostyki zastosowanej jako narzędzie skriningowe w wykrywaniu śródnabłonkowej neoplazji i raka szyjki macicy.
2. Ocena wartości diagnostycznej testu molekularnego identyfikującego typy wysokoonkogenne wirusów brodawczaka ludzkiego zastosowanego jako narzędzie skriningowe w wykrywaniu śródnabłonkowej neoplazji i raka szyjki macicy.
3. Ocena wartości diagnostycznej testu podwójnego zastosowanego jako narzędzie skriningowe w wykrywaniu śródnabłonkowej neoplazji i raka szyjki macicy.
4. Porównanie wykorzystania molekularnej identyfikacji wysokoonkogennych wirusów brodawczaka ludzkiego w profilaktyce wtórnej raka szyjki macicy do cytodiagnostyki i testu podwójnego.

3. MATERIAŁ I METODY

3.1 Materiał i metody diagnostyczne.

Przeprowadzono analizę danych 4875 pacjentek diagnozowanych w latach 2013-2017 w Poradni Patofizjologii Szyjki Macicy Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego w Poznaniu (PPSM GPSK). Do badania włączono 3134 pacjentki, u których wykonano biopsję tarczy szyjki macicy ze względu na nieprawidłowy wynik badania cytologicznego i/lub dodatni wynik testu na obecność DNA wirusa brodawczaka ludzkiego o wysokim potencjale onkogenym.

W PPSM GPSK przyjęto następujące schematy pobierania materiału i przygotowywania oraz oceny preparatów cytologicznych. Materiał do oceny cytodiagnostycznej pobierany jest przez lekarza szczoteczką cyto-brush, a po przeniesieniu na szkiełko podstawowe natychmiast utrwalany. Oceny mikroskopowej dokonuje w pierwszym etapie cytotechnik, a weryfikację wyników podejrzanych cytoonkologicznie przeprowadza lekarz patomorfolog. Wyniki cytologiczne analizowane są w aktualnie obowiązującym systemie Bethesda, gdzie za nieprawidłowe uznane są rozpoznania niskiego ryzyka: ASC-US, LSIL, wysokiego ryzyka: ASC-H, HSIL, AGC oraz podejrzenie raka, które określa się łącznie mianem ASC-US+.

Do analizy obecności HPV w PPSM GPSK wykorzystywany jest test molekularny oparty o celowaną amplifikację metodą PCR – Cobas ® 4800 HPV Test (Roche Diagnostics). Test ten służy do wykrywania in vitro w materiale ludzkim pobranym od pacjentek w trakcie badania lekarskiego obecności DNA co najmniej jednego z 14 wysokoonkogennych typów wirusa brodawczaka ludzkiego. Próbkę materiału od pacjentek pobierane są do płynu konserwującego SurePath™ (BD Diagnostics-TriPath). W ramach pojedynczej analizy Cobas ® 4800 HPV Test oparty jest o dwa główne procesy: przygotowanie próbek oraz amplifikację docelowych sekwencji DNA przez PCR i hybrydyzację kwasów nukleinowych. Przygotowanie próbek jest zautomatyzowane za pomocą aparatu cobas x 480. Materiał w warunkach denaturujących przy podwyższonej temperaturze jest poddawany trawieniu i podlega lizie. Dochodzi do uwolnienia ewentualnie obecnych w komórkach kwasów nukleinowych HPV razem z ludzkim DNA β -globiny służącym kontroli procesu. Tak przygotowany, oczyszczony automatycznie, materiał jest gotowy do etapu amplifikacji i detekcji. Przy wykorzystaniu par primerów komplementarnych swoistych dla HPV i β -globiny dochodzi do

amplifikacji metodą PCR. Detekcja amplikonu (DNA HPV i β -globiny) jest przeprowadzana podczas cyklu termicznego z zastosowaniem barwionych fluorescencyjnie sond oligonukleotydowych. Test Cobas wykorzystuje cztery różne barwniki fluorescencyjne. Dzięki temu każdy z sygnałów pochodzący odpowiednio od HPV 16, HPV 18 i β -globiny jest wykrywany oddzielnym kolorem, natomiast dla dwunastu typów HPV HR (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) jest wykrywany przy użyciu wspólnego przypisanego do nich jednego barwnika fluorescencyjnego. Ocena obecności DNA HPV stanowi próbę badaną, a jednoczesna ekstrakcja, amplifikacja i detekcja ludzkiej β -globiny w teście pozwala na kontrolowanie całego procesu oznaczania.⁷³ Wyniki testu na obecność DNA HPV HR uznawano za dodatnie w przypadku identyfikacji w badanym materiale DNA HPV 16 i/lub 18 i/lub jednego z koktajlu pozostałych dwunastu HPV HR (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68).

W przypadku testu podwójnego wyniki dodatnie dotyczyły sytuacji, gdy test DNA HPV 16 i/lub 18 był dodatni nawet przy prawidłowym wyniku oceny rozmazu cytologicznego, przy nieprawidłowościach w cytologii i dodatnim teście DNA HPV HR, a także w sytuacjach gdy przy ujemnym wyniku DNA HPV cytologia wykazała zmiany o typie wysokiego ryzyka (ASC-H, HSIL, AGC lub podejrzenie raka). Pozostałe wyniki zakwalifikowano jako ujemny test podwójny.

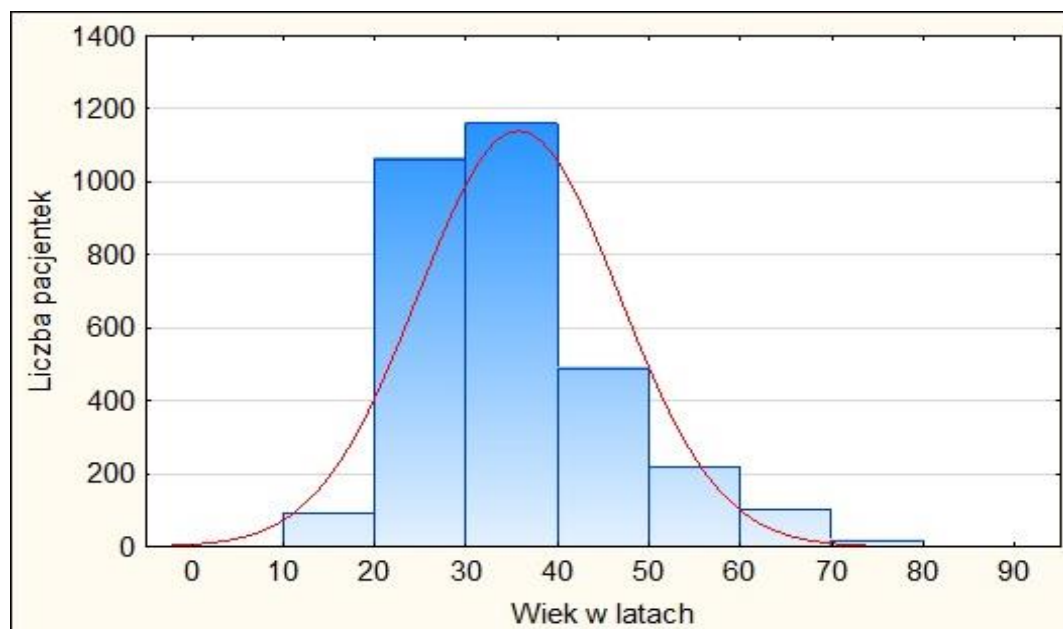
Weryfikację wiarygodności powyższych testów przeprowadzano konfrontując ich rezultaty z wynikiem wykonanych biopsji celowanych podczas przeprowadzanego w PPSM GPSK badania kolposkopowego. Diagnostykę kolposkopową przeprowadzono przy użyciu kolposkopu stereoskopowego (model OCS 500 marki Olympus). Każdorazowo badanie składało się z oceny zmian na sromie, w pochwie, na szyjce macicy oraz w okolicy okołodbytniczej. U każdej pacjentki identyfikowana była i oceniana strefa przekształceń. Oceny obrazów kolposkopowych dokonano przy wykorzystaniu Skali Reida (ang. Reid Colposcopic Index, RCI), gdzie weryfikacji podlegają cztery cechy kolposkopowe. W trakcie badania oceniane jest zbielenie oraz granica i ukształtowanie powierzchni zmiany na szyjce macicy po przemyciu jej 3-5% roztworem wodnym kwasu octowego. W skali Reida punktacji podlegają również jodonegatywność w teście Schillera oraz charakterystyka naczyń. Uzyskanie 3 lub więcej punktów w skali uznaje się za wynik nieprawidłowy.⁷⁴

Wiek pacjentek zamykał się w przedziale od 15 do 81 lat ze średnią 35,74 (SD=10,97; mediana=34 moda=31), dla celów pracy pacjentki podzielono na 2 grupy wiekowe: <30rż i 30+. Charakterystykę badanej populacji przedstawiono w tabeli 8 i na wykresie 12.

Tabela 8. Charakterystyka badanej populacji z podziałem na grupy wiekowe i wywiad położniczy.

GRUPA	PIERWIASTKI	WIELORÓDKI	SUMA
<30	715	300	1015
30+	464	1655	2119
SUMA	1179	1955	3134

Podział na dwie grupy wiekowe <30 rż i 30+ bazuje na wiedzy o biologii wirusa brodawczaka ludzkiego. Populacja kobiet poniżej 30rż jest w większości zakażona incydentalnie czyli bez znaczenia klinicznego. Kobiety 30+ mają większe statystycznie ryzyko rozwoju zakażenia przetrwałego i procesu karcinogenezy. Dodatkowo analizowano czy pacjentka rodziła i przyporządkowywano do grupy pierwsiastek bądź wieloródek. Ocenę rodności wprowadzono jako, że wielorództwo jest jednym z podstawowych czynników ryzyka rozwoju zakażenia HPV i procesu karcinogenezy.



Wykres 12. Rozkład ilości pacjentek a wiek.

3.2 Metody statystyczne.

Dla każdego z testów diagnostycznych obliczono czułość, swoistość, pozytywną wartość predykcyjną (ang. positive predictive value, PPV), negatywną wartość predykcyjną (ang. negative predictive value, NPV), wyznaczono moc testu obliczając pole powierzchni pod wykresem krzywej (ang. Area Under Curve, AUC) oraz dokładność metody z 95% przedziałami ufności (ang. confidence interval, CI). Dane miary metod diagnostycznych obliczono na podstawie zbudowanych tabel kontyngencji 2x2 z wykorzystaniem obserwowanych liczebności wyników prawdziwie dodatnich, fałszywie dodatnich, prawdziwie ujemnych oraz fałszywie ujemnych.

Wyznaczone wartości dla testu DNA HPV HR porównano z wynikami dla cytodiagnostyki oraz testu podwójnego – korzystając z porównania wartości pól powierzchni pod krzywymi i testu chi-kwadrat dla pozostałych miar.

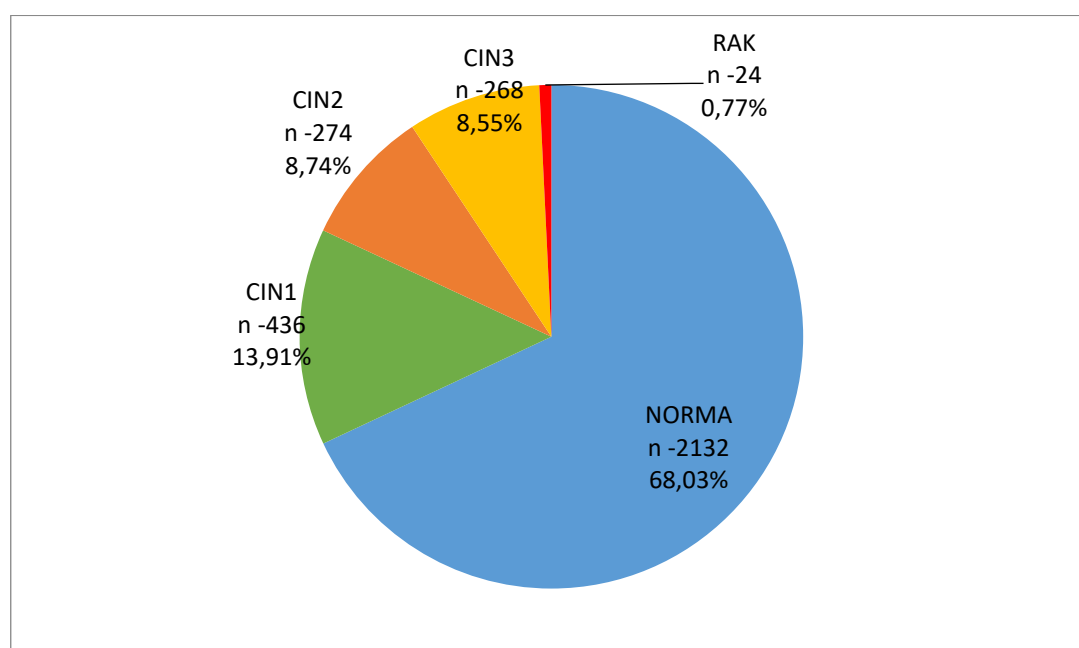
Czułość, swoistość, PPV oraz NPV poszczególnych narzędzi diagnostycznych obliczono również dla grup wiekowych oraz z podziałem na grupy ze względu na rodność.

Poziom istotności (p) dla weryfikacji stawianych hipotez statystycznych ustalono na $p=0,05$.

Na wykonanie niniejszego badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu – Uchwała nr 76/19.

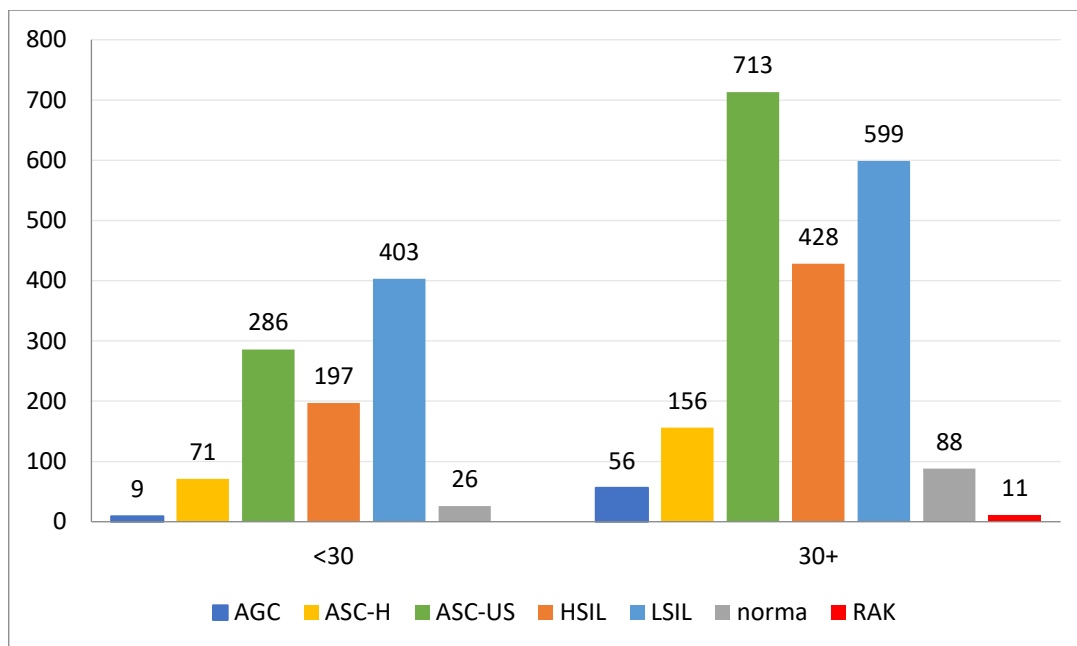
4. WYNIKI

Do badania włączono 3134 pacjentki po biopsji tarczy szyjki macicy z nieprawidłowym wynikiem cytologii i/ lub badania na obecność DNA HPV. Patologię wykryto u 1002 pacjentek (31,97%). Według najnowszych ustaleń zmiany przednowotworowe CIN 1 przemianowano jako LSIL, a CIN 2 i CIN 3 określa się łącznie mianem HSIL. Za patologiczne (choroba) uznano wyniki histopatologiczne LSIL/CIN 1 – 436 pacjentek; HSIL/CIN 2 – 274 pacjentek i HSIL/CIN 3 – 268 pacjentek (łącznie HSIL – 542 pacjentki) oraz rak – 24 pacjentki. Histopatologia nie potwierdziła patologii u 2132 pacjentek. Wyniki wykonanych biopsji u wszystkich pacjentek przedstawiono na wykresie – Wykres 13.



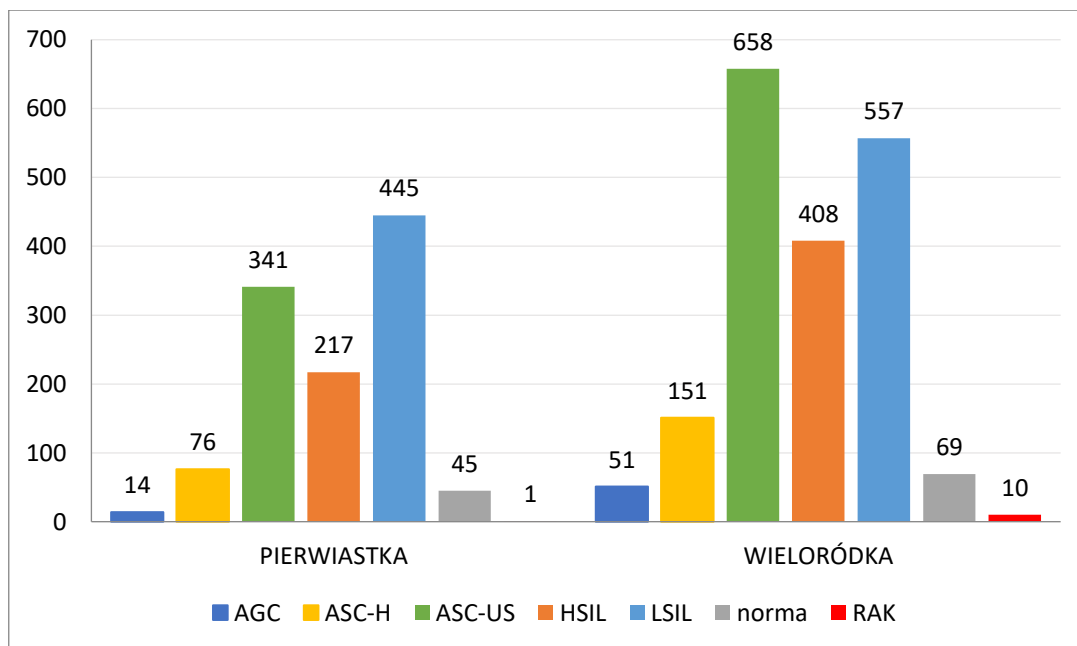
Wykres 13. Udział procentowy poszczególnych wyników histopatologicznych wszystkich pacjentek.

Wynik wymazu cytologicznego z szyjki macicy uzyskano od 3043 pacjentek, z czego odchylenia o różnym stopniu wg skali Bethesda łącznie uzyskano u 2929 pacjentek. Wyniki cytologii w grupach z podziałem ze względu na wiek oraz rodność przedstawiają wykresy – Wykres 14 i 15.



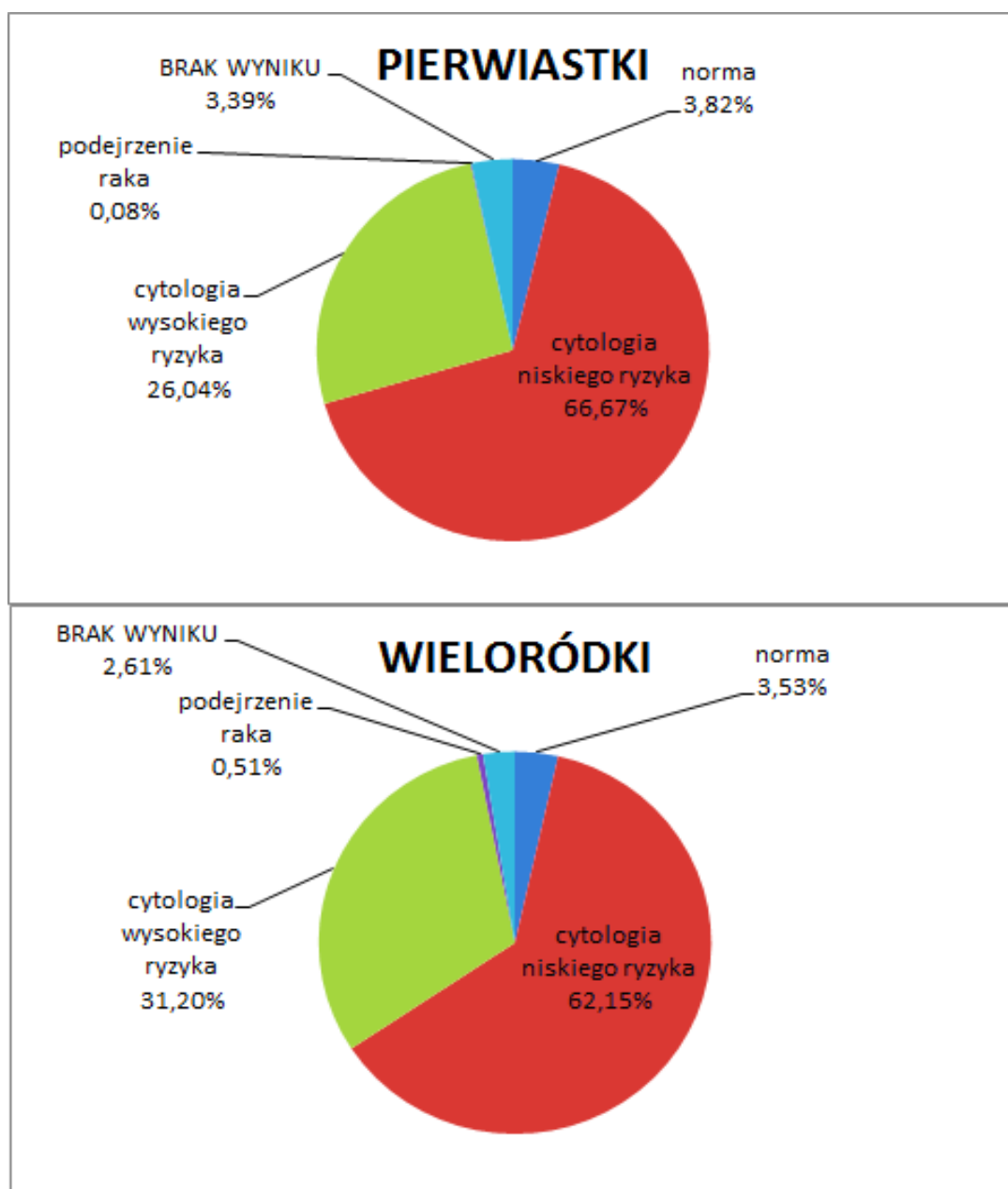
Wykres 14. Wyniki cytologii z podziałem pacjentek na grupy wiekowe.

Podejrzenie raka w cytodiagnostyce dotyczyło 11 kobiet w wieku 30+, wśród kobiet młodszych nie odnotowano wyniku podejrzanego o raka w cytologii. Wynik cytologiczny AGC częściej spotykano wśród pacjentek starszych (2,73% a 0,91%) niż poniżej 30 roku życia. Tylko 1 pierwsiastka w badanej populacji otrzymała wynik cytodiagnostyki z podejrzeniem raka, pozostałe 10 były wieloródkami.



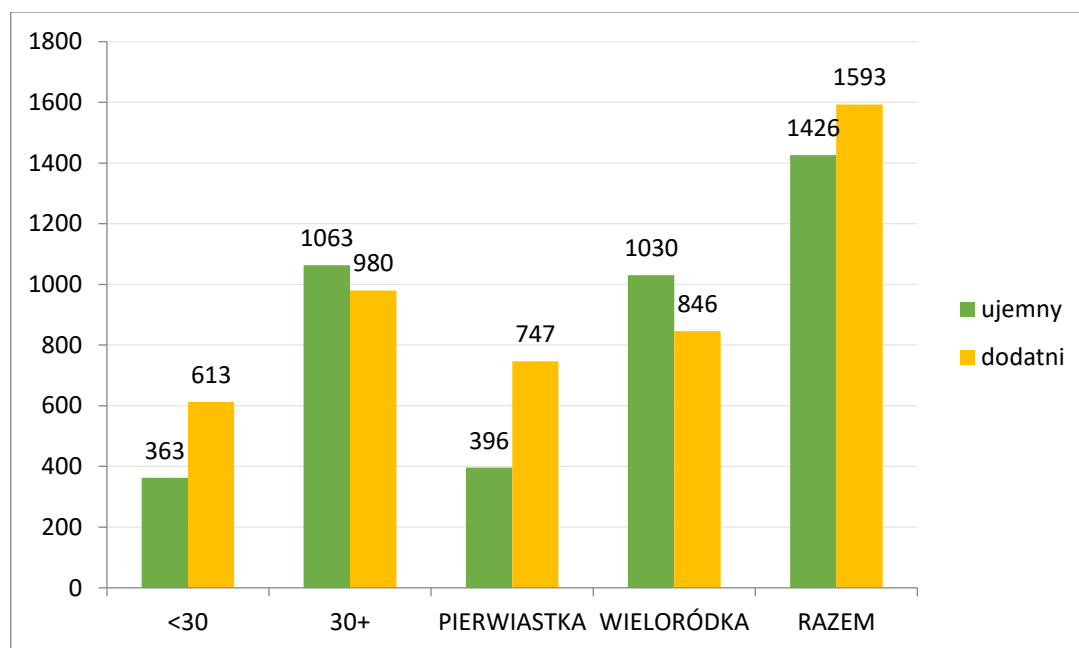
Wykres 15. Wyniki cytologii z podziałem ze względu na rodność.

Wyniki cytologii uporządkowano odpowiednio 1 – norma, 2 - niskiego ryzyka: ASC-US, LSIL, 3 -wysokiego ryzyka: ASC-H, HSIL, AGC oraz 4 - podejrzenie raka. Test Manna-Whitneya wykazał zależność pomiędzy wynikiem cytologii a rodnością pacjentki ($p=0,0016$). Nieprawidłowy wynik cytodiagnostyki wysokiego stopnia (31,20% a 26,04%) i podejrzenie raka (0,51% a 0,08%) w większym odsetku dotyczyły wieloródek niż pierwiastek. Udział poszczególnych typów wyników cytologicznych z uwzględnieniem rodności przedstawiono na wykresie – Wykres 16. Nie wykazano zależności pomiędzy wynikiem cytologii a wiekiem pacjentki ($p=0,15$).



Wykres 16. Udział procentowy wyników cytologii z uwzględnieniem rodności.

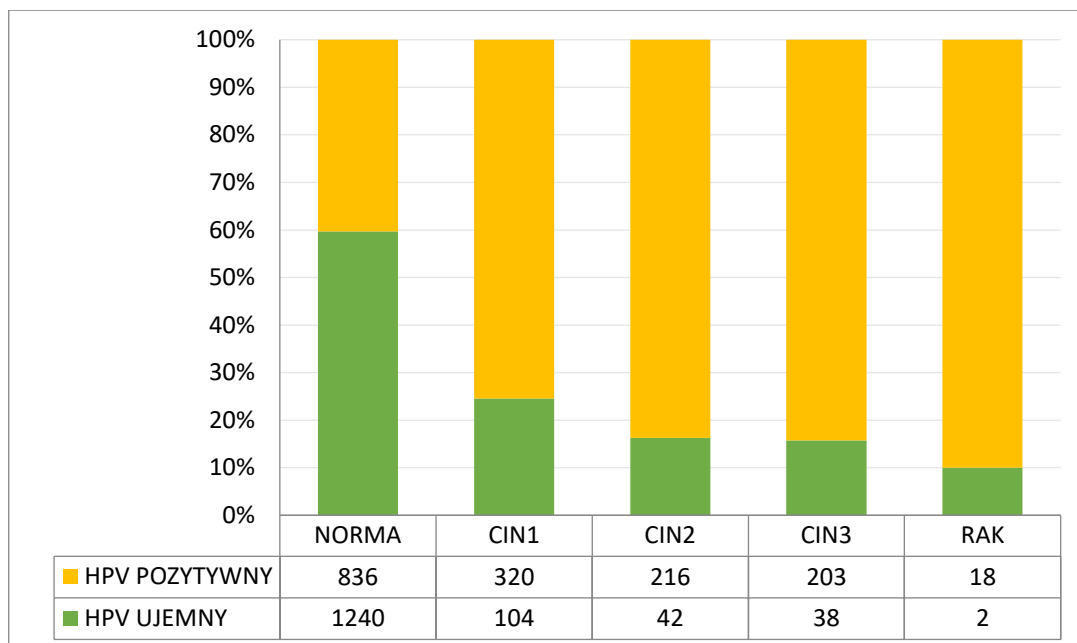
Test na obecność DNA HPV przeprowadzono u 3019 pacjentek, uzyskując wynik dodatni przynajmniej jednego z typów wysokoonkogennych wirusów brodawczaka ludzkiego u 1593 pacjentek (52,77%). Przeliczono wyniki testu DNA HPV z i bez podziału na grupy wiekowe i względem rodności – Wykres 17. Wynik dodatni molekularnego testu DNA HPV otrzymało 62,81% kobiet <30 roku życia, a jedynie 363 z 976 uzyskały negatywny rezultat na obecność DNA wszystkich badanych wysokoonkogennych typów HPV. W grupie kobiet 30+ wyniki dodatnie i ujemne rozłożyły się proporcjonalnie.



Wykres 17. Wyniki testu DNA HPV bez i z podziałem na grupy.

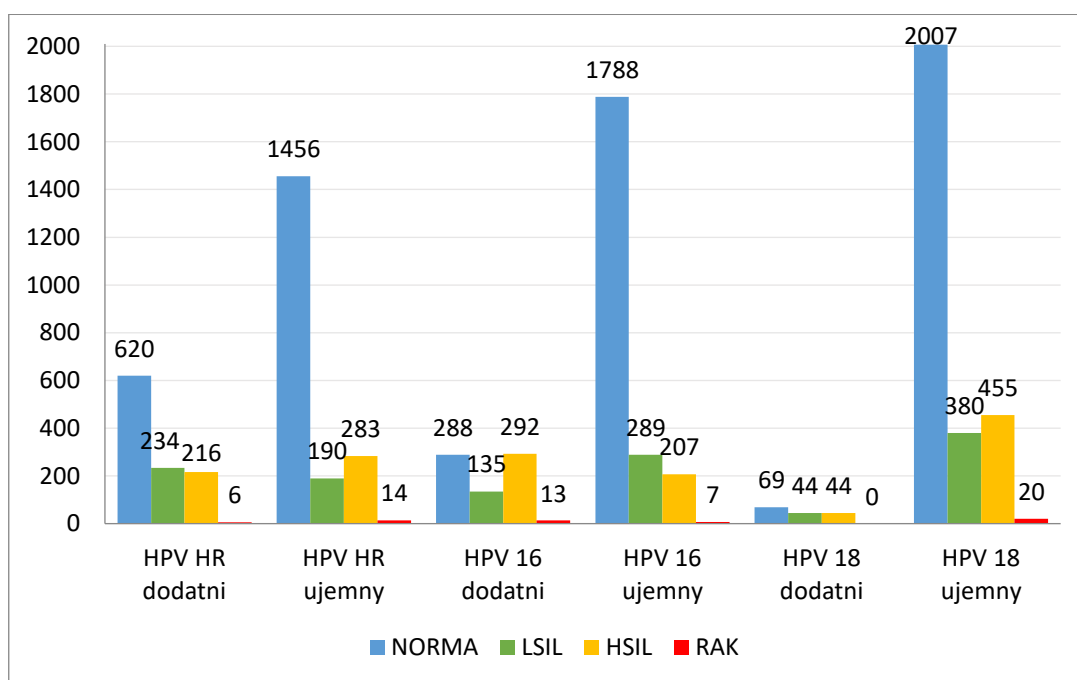
Aż 65,35% (747 spośród 1143) pierwsiastek otrzymało wynik dodatni na obecność DNA HPV w materiale pobranym z szyjki macicy. Test DNA HPV pozytywny uzyskało 45,10% (846 z 1876) wieloródek.

Zestawiając rozpoznanie histopatologiczne z wynikiem testu w kierunku DNA HPV zauważono, że im bardziej zaawansowany proces przednowotworowy tym większy był odsetek dodatnich wyników w kierunku HPV. Wśród rozpoznań histopatologicznych LSIL/CIN 1 HPV dodatnich było 75,47%, HSIL/CIN 2 – 83,72%, HSIL/CIN 3 – 84,23%. Test na obecność DNA HPV dwa razy okazał się być ujemny pomimo potwierdzenia raka w histopatologii, pozostałe 90% raków było HPV dodatnich - Wykres 18.



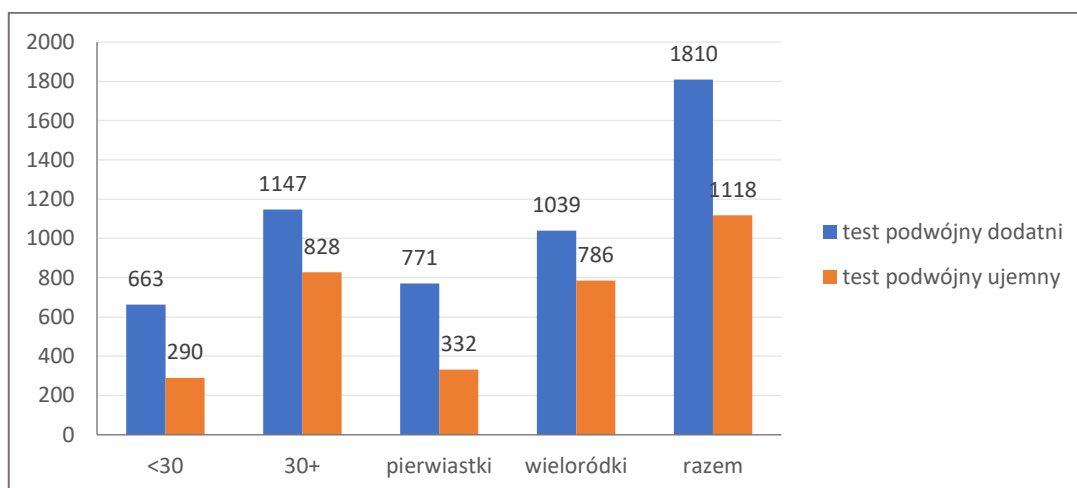
Wykres 18. Rozkład dodatnich i ujemnych wyników HPV w zestawieniu z poszczególnymi wynikami histopatologicznymi.

Dodatni wynik na obecność HPV 16 uzyskano 728 razy, HPV 18 157 razy oraz na obecność jednego z pozostałych wysokoonkogennych HPV 1076 razy. Analizując korelację pomiędzy typem HPV a wynikiem histopatologicznym należy zauważyć, że w przypadku zaawansowanych rozpoznań (HSIL, rak) najczęstszym dodatnim typem HPV był typ 16 (w przypadku HSIL 64,18%, raka 65%) – Wykres 19.



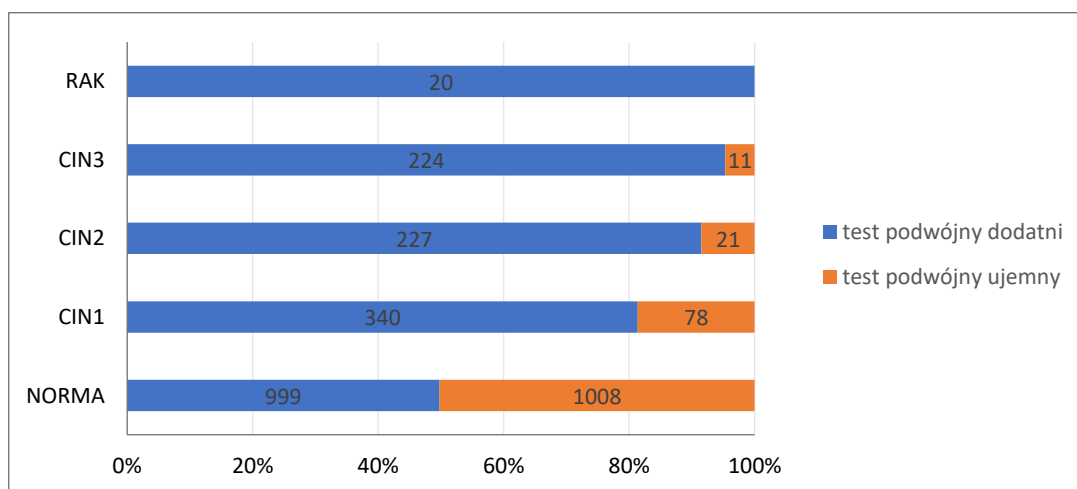
Wykres 19. Typy HPV a wyniki histopatologiczne.

Analizując zebrane dane stwierdzono, że dodatni test podwójny miało 61,82% pacjentek. Tylko 30,43% kobiet poniżej 30 roku życia otrzymało ujemny wynik testu podwójnego. Bardziej zrównoważone proporcje uzyskano w grupie kobiet 30+, gdzie wynik dodatni dotyczył 58,08% spośród 1197 pacjentek tej grupy. 69,9% (771 z 1103) pierwsiastek uzyskało dodatni wynik testu podwójnego. Również większość, bo 56,93% wieloródek było dodatnich – Wykres 20.



Wykres 20. Wyniki testu podwójnego z i bez podziału na grupy.

Zgodnie z rozpoznaniem histopatologicznym im bardziej zaawansowany proces przednowotworowy tym wyższy odsetek wyników dodatnich w teście podwójnym. Dla LSIL/CIN 1 wyniki dodatnie stanowiły 81,34% dla HSIL/CIN 2 – 91,53%, dla HSIL/CIN 3 – 95,32%. W przypadku rozpoznania w histopatologii raka każda pacjentka, która miała wykonany test podwójny uzyskała wynik dodatni – Wykres 21.



Wykres 21. Rozkład dodatnich i ujemnych wyników testu podwójnego w zestawieniu z poszczególnymi wynikami histopatologicznymi.

Wiarygodność testów badano weryfikując ich rezultaty z wynikiem wykonanych biopsji celowanych. Zestawienie wyników histopatologicznych w odniesieniu do badania cytologicznego, testu DNA HPV oraz testu podwójnego bez podziału na grupy oraz z podziałem ze względu na wiek bądź rodność pacjentki zebrano w tabelach – Tabele 9-11. Nieprawidłowości w cytologii wykryto u 2929 pacjentek, ale tylko 32,50% z nich miało rzeczywistą patologię w obrębie szyjki macicy potwierdzoną badaniem histopatologicznym. Wynik ujemny na obecność DNA HPV uzyskało 1426 kobiet, wśród nich ponad 86% faktycznie nie miało zmian patologicznych – brak choroby. Również wśród ujemnych wyników testu podwójnego wysoki odsetek, 90,16%, stanowiły wyniki prawdziwie ujemne.

Tabela 9. Zestawienie wyników cytodiagnostyki, testu DNA HPV oraz testu podwójnego z badaniem histopatologicznym, w badanej populacji, bez podziału na grupy.

liczności obserwowane		rzeczywistość (badanie histopatologiczne)		
rodzaj testu diagnostycznego		choroba (CIN 1+)	brak choroby	suma
cytodiagnostyka	wynik +	952 32,50%	1977 67,50%	2929
	wynik -	28 24,56%	86 75,44%	114
	suma	980	2063	
test DNA HPV	wynik +	757 47,52%	836 52,48%	1593
	wynik -	186 13,04%	1240 86,86%	1426
	suma	943	2076	
test podwójny	wynik +	811 44,81%	999 55,19%	1810
	wynik -	110 9,84%	1008 90,16%	1118
	suma	921	2007	

Za wynik dodatni dla cytodiagnostyki uznano rozpoznania ASC-US, LSIL, ASC-H, HSIL, AGC, podejrzenie raka. Za wynik dodatni testu molekularnego na obecność DNA HPV uznano sytuację, gdy w badanym materiale potwierdzono obecność przynajmniej jednego z wysokoonkogennych typów HPV. Za wynik dodatni testu podwójnego uznano 4 scenariusze: wynik cytodiagnostyki dodatni oraz potwierdzona obecność HPV 16 i/lub 18, wynik cytodiagnostyki ujemny przy obecności DNA HPV 16 i/lub 18, wynik cytodiagnostyki dodatni oraz potwierdzona obecność DNA HPV HR, wynik

cytodiagnostyki HSIL, ASC-H, AGC, podejrzenie raka również przy ujemnym wyniku testu molekularnego. Za rzeczywistą patologię (choroba) uznano wyniki histopatologiczne LSIL, HSIL, rak (określane łącznie jako CIN 1+).

Tabela 10. Zestawienie wyników cytodiagnostyki, testu DNA HPV oraz testu podwójnego z badaniem histopatologicznym, w badanej populacji, z podziałem na grupy wiekowe.

liczności obserwowane z podziałem na grupy wiekowe		rzeczywistość (badanie histopatologiczne)			
rodzaj testu diagnostycznego		choroba (CIN 1+)		brak choroby	
		<30	30+	<30	30+
cytodiagnostyka	wynik +	375 38,82%	577 29,39%	591 61,18%	1386 70,61%
	wynik -	10 38,46%	18 20,45%	16 61,54%	70 79,55%
test DNA HPV	wynik +	300 48,94%	457 46,63%	313 51,06%	523 53,37%
	wynik -	72 19,83%	114 10,72%	291 80,17%	949 89,28%
test podwójny	wynik +	325 49,02%	486 42,37%	338 50,98%	661 57,63%
	wynik -	41 14,14%	69 8,33%	249 85,86%	759 91,67%

Wyniki fałszywie ujemne cytodiagnostyki uzyskano w 38,82% wśród kobiet <30 roku życia, a jedynie 20,39% wśród kobiet 30+. Inaczej sytuacja kształtuje się oceniając molekularny test DNA HPV i test podwójny, gdzie młode kobiety <30 roku życia z wynikami fałszywie ujemnymi to odpowiednio 19,83% oraz 14,14%, a 10,72% i 8,33% w grupie wiekowej 30+. Wyniki prawdziwie ujemne niezależnie od testu w większym odsetku uzyskiwane były wśród grupy wiekowej kobiet 30+. Dla cytologii 79,55%, dla molekularnego testu DNA HPV 89,28%, a dla testu podwójnego 91,67% - Tabela 10.

W grupie pierwiastek wyniki prawdziwie dodatnie w cytodiagnostyce stanowiły 35,92%, a wśród wieloródek odsetek ten był niższy i wyniósł 30,46%. Odwrotnie sytuacja kształtowała się w rezultatach uzyskanych w teście molekularnym na DNA HPV, gdzie

aż w 49,63% wyniki prawdziwie dodatnie dotyczyły wieloródek, natomiast wśród pierwiastek stanowiły 45,25% wszystkich dodatnich rezultatów. W teście podwójnym nie obserwowano różnic powyżej 1 punktu procentowego porównując wyniki między grupami ze względu na rodność – Tabela 11.

Tabela 11. Zestawienie wyników cytodiagnostyki, testu DNA HPV oraz testu podwójnego z badaniem histopatologicznym, w badanej populacji, z podziałem na grupy ze względu na rodność pacjentek.

liczności obserwowane z podziałem na grupy wiekowe		rzeczywistość (badanie histopatologiczne)			
rodzaj testu diagnostycznego		choroba (CIN 1+)		brak choroby	
		pierwiastki	wieloródki	pierwiastki	wieloródki
cytodiagnostyka	wynik +	393 35,92%	559 30,46%	701 64,08%	1276 69,54%
	wynik -	8 17,78%	20 28,99%	37 82,22%	49 71,01%
test DNA HPV	wynik +	338 45,25%	419 49,53%	409 54,75%	427 50,47%
	wynik -	54 13,64%	132 12,82%	342 86,36%	898 87,18%
test podwójny	wynik +	350 45,40%	461 44,37%	421 54,60%	578 55,63%
	wynik -	34 10,24%	76 9,67%	298 89,76%	710 90,33%

Wyznaczone miary wiarygodności narzędzi diagnostycznych dla całej populacji badanych kobiet zebrano razem – Tabela 12. Najwyższą czułość uzyskała cytodiagnostyka (97,143%), jednak wówczas swoistość testu była bardzo niska (zaledwie 4,169%). Poprawę swoistości (44,450%) kosztem czułości (80,00%) oceniono, że można osiągnąć w sytuacji wyłączenia rozpoznania ASC-US z wyników nieprawidłowych. Pozostałe rezultaty (LSIL, HSIL, ASC-H, AGC, podejrzenie raka) określono łącznym mianem LSIL+. Najwyższa swoistość (59,630%) i PPV (47,520%) dotyczyły testu molekularnego DNA HPV. Najmniejsze prawdopodobieństwo, że badana pacjentka faktycznie miała patologię szyjki macicy mając pozytywny wynik testu uzyskano w cytodiagnostyce (PPV – 32,503%). Najbardziej pewny wynik ujemny dotyczył testu podwójnego (NPV 90,161%). Oceniając moc testu wykorzystując pole powierzchni pod

krzywą najwyższą wartość uzyskał test DNA HPV (0,700). Również prawdopodobieństwo prawidłowej diagnozy przy wykorzystaniu testu DNA HPV jako narzędzia diagnostycznego w poszukiwaniu patologii szyjki macicy okazało się być najwyższe (dokładność 66,148%).

Tabela 12. Weryfikacja wiarygodności cytodiagnostyki, testu DNA HPV i testu podwójnego dla badanej populacji przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.

	Cytodiagnostyka ASC-US+	Cytodiagnostyka LSIL+	Test DNA HPV	Test podwójny
Czułość	97,143% 95,897% 98,093%	80,000% 77,356% 82,462%	80,276% 77,590% 82,771%	88,056% 85,785% 90,081%
Swoistość	4,169% 3,348% 5,123%	44,450% 42,291% 46,625%	59,730% 57,584% 61,849%	50,224% 48,013% 52,435%
PPV	32,503% 32,196% 32,811%	40,622% 39,429% 41,826%	47,520% 45,997% 49,049%	44,807% 43,574% 46,045%
NPV	75,439% 66,875% 82,372%	82,390% 80,358% 84,253%	86,957% 85,366% 88,398%	90,161% 88,438% 91,652%
AUC	0,507 0,489 – 0,524	0,622 0,605 – 0,640	0,700 0,683 – 0,716	0,691 0,674 – 0,708
Dokładność	34,111% 32,426% 35,827%	55,899% 54,113% 57,673%	66,148% 64,428% 67,836%	62,124% 60,339% 63,886%

Test na obecność DNA HPV w porównaniu z cytodiagnostyką okazał się być statystycznie mniej czułym ($p < 0,001$), ale znamienne statystycznie bardziej swoistym ($p < 0,001$) narzędziem w wykrywaniu patologii szyjki macicy. Wartości predykcyjne oceniające prawdopodobieństwo prawidłowości uzyskanego wyniku statystycznie

wyższe były w przypadku testu DNA HPV niż cytodiagnostyki ($p < 0.001$ dla PPV i $p < 0,001$ dla NPV) – Tabela 13.

Tabela 13. Porównanie czułości, swoistości, PPV i NPV cytodiagnostyki (ASC-US+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.

Czułość cytodiagnostyki(%)	97,143	Swoistość cytodiagnostyki(%)	4,169
Czułość testu DNA HPV(%)	80,276	Swoistość testu DNA HPV(%)	59,730
Różnica (%)	16,8670	Różnica (%)	55,5610
Chi-kwadrat	431,512	Chi-kwadrat	2155,353
95% CI (%)	15,3394 - 18,4196	95% CI (%)	53,6393 - 57,4162
Poziom istotności	$p < 0,001$	Poziom istotności	$p < 0,001$
PPV cytodiagnostyki(%)	32,503	NPV cytodiagnostyki(%)	75,439
PPV testu DNA HPV(%)	47,520	NPV testu DNA HPV(%)	86,957
Różnica (%)	15,0170	Różnica (%)	11,5180
Chi-kwadrat	142,396	Chi-kwadrat	131,546
95% CI (%)	12,5678 - 17,4406	95% CI (%)	9,569 - 13,4594
Poziom istotności	$p < 0,0001$	Poziom istotności	$p < 0,0001$

Obliczono wartości powierzchni pod wykresem krzywej wyznaczając moc każdego z testów. Również ten parametr cytodiagnostyka uzyskała znamienne niższy niż test molekularny. AUC dla cytodiagnostyki (0,507) porównano z AUC dla testu DNA HPV (0,700) uzyskując znamienne istotną statystycznie różnicę $p = 0,0063$ – Tabela 14.

Tabela 14. Porównanie AUC cytodiagnostyki (ASC-US+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.

AUC cytodiagnostyki	0,507
AUC testu DNA HPV	0,700
Różnica	-0,193
Błąd standardowy	0,0707
Z-score	-2,729
Poziom istotności	p = 0,0063

Czułością i swoistością test podwójny przewyższał test molekularny ($p < 0.001$, $p = 0,0001$ odpowiednio). Natomiast statystycznie znacząco wyższe dla testu HPV okazały się być swoistość i PPV – Tabela 15. Ostatecznie wyznaczone moce obu tych testów są porównywalne, $p = 0,8987$ – Tabela 16.

Tabela 15. Porównanie czułości, swoistości, PPV i NPV testu podwójnego i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.

Czułość testu podwójnego (%)	88,056	Swoistość testu podwójnego (%)	50,224
Czułość testu DNA HPV (%)	80,276	Swoistość testu DNA HPV (%)	59,730
Różnica (%)	7,7800	Różnica (%)	9,5060
Chi-kwadrat	67,293	Chi-kwadrat	54,271
95% CI (%)	5,9344 – 9,6212	95% CI (%)	6,9812 – 12,0141
Poziom istotności	p < 0,001	Poziom istotności	p < 0,0001
PPV testu podwójnego (%)	44,807	NPV testu podwójnego (%)	90,161
PPV testu DNA HPV (%)	47,520	NPV testu DNA HPV (%)	86,957
Różnica (%)	2,7130	Różnica (%)	3,2040
Chi-kwadrat	4,401	Chi-kwadrat	15,029
95% CI (%)	0,1278 – 5,2421	95% CI (%)	1,5871 – 4,8204
Poziom istotności	p = 0,0359	Poziom istotności	p = 0,0001

Tabela 16. Porównanie AUC testu podwójnego i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznań histopatologicznych CIN 1+.

AUC testu podwójnego	0,691
AUC testu DNA HPV	0,700
Różnica	-0,009
Błąd standardowy	0,0707
Z-score	-0.127
Poziom istotności	p = 0,8987

Poprawę wiarygodności testu cytodiagnostycznego uzyskano przy uznaniu za patologiczne wyniki cytologii LSIL+. Obliczone miary dla takich parametrów cytodiagnostyki powtórnie porównano z wynikami dla testu HPV DNA. Wówczas czułości tych testów zrównywały się do różnicy nieistotnej statystycznie ($p = 0,7877$). Pozostałe miary znamienne wyższe pozostawały ($p < 0,0001$) dla testu DNA HPV – Tabela 17. Również AUC cytodiagnostyki (0,622) i testu DNA HPV (0,700) nie były istotne statystycznie różne ($p = 0,2700$) w takiej sytuacji – Tabela 18.

Tabela 17. Porównanie czułości, swoistości, PPV i NPV cytodiagnostyki (LSIL+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznań histopatologicznych CIN 1+.

Czułość cytodiagnostyki(%)	80,00	Swoistość cytodiagnostyki(%)	44,450
Czułość testu DNA HPV(%)	80,276	Swoistość testu DNA HPV(%)	59,730
Różnica (%)	0,28	Różnica (%)	15,28
95% CI (%)	-1,7332 - 2,2844	95% CI (%)	12,7824 - 17,7503
Chi-kwadrat	0,0725	Chi-kwadrat	141,75
poziom istotności	p = 0,7877	poziom istotności	p < 0,0001
PPV cytodiagnostyki(%)	40,622	NPV cytodiagnostyki(%)	82,390
PPV testu DNA HPV(%)	47,520	NPV testu DNA HPV(%)	86,957
Różnica (%)	6,90	Różnica (%)	4,57
95% CI (%)	4,3999 - 9,3841	95% CI (%)	2,7557 - 6,377
Chi-kwadrat	29,252	Chi-kwadrat	24,341
poziom istotności	p < 0,0001	poziom istotności	p < 0,0001

Tabela 18. Porównanie AUC cytodiagnostyki (LSIL+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznaw histopatologicznych CIN 1+.

AUC cytodiagnostyki	0,622
AUC testu DNA HPV	0,7
Różnica	-0,078
Błąd standardowy	0,0707
Z-score	-1,103
poziom istotności	p = 0,2700

Dokonano obliczeń czułości, swoistości oraz PPV i NPV dla każdej z metod diagnostycznych z podziałem na grupy wiekowe oraz ze względu na rodność – Tabela 19 i 20. Czułość cytodiagnostyki w obu grupach wiekowych i grupach ze względu na rodność przekraczała 96%, jednak swoistość tego narzędzia diagnostycznego to zaledwie 2-5% w zależności od badanej grupy. Podobnie jak w całej populacji, również w analizowanych grupach poprawę swoistości można uzyskać kosztem czułości, gdyby za patologiczne w cytodiagnostyce uznać rezultaty nie ASC-US+ lecz LSIL+.

Tabela 19. Weryfikacja wiarygodności cytodiagnostyki, testu DNA HPV i testu podwójnego dla badanej populacji z podziałem na grupy wiekowe przy uznaniu za chorobę rozpoznaw histopatologicznych CIN 1+.

WIEK <30	czułość	swoistość	PPV	NPV
Cytodiagnostyka ASC-US+	97,403%	2,636%	38,820	61,538
Cytodiagnostyka LSIL+	78,701%	33,479%	39,868%	73,718%
Test DNA HPV	80,645%	48,179%	48,940%	80,165%
Test podwójny	88,798%	42,419%	49,020%	85,862%
WIEK 30+	czułość	swoistość	PPV	NPV
Cytodiagnostyka ASC-US+	96,975%	4,808%	29,394%	79,545%
Cytodiagnostyka LSIL+	80,840%	47,184%	38,480%	85,768%
Test DNA HPV	80,035%	64,470%	46,633%	89,276%
Test podwójny	87,568%	53,451%	42,371%	91,667%

Wysoką czułość w obu grupach wiekowych osiągnął test podwójny. Niezależnie od wieku jego wartość wyniosła ponad 87%. Najwyższą swoistością wykazał się test molekularny na obecność DNA HPV w wymazie z szyjki macicy zarówno u kobiet <30 roku życia jak i kobiet 30+, osiągając odpowiednio wartości 48,179% oraz 64,470%. Przy czym w grupie kobiet starszych swoistość była istotnie statystycznie wyższa ($p < 0,0001$) – Tabela 21. W grupie kobiet <30 roku życia najwyższymi wartościami PPV wykazały się test DNA HPV i test podwójny, oba osiągając wartości powyżej 48%. Cytologia niezależnie od grupy wiekowej i poziomu odcięcia dla wyników patologicznych (zarówno ASC-US+ jak i LSIL+) nie osiągnęła PPV powyżej 40%. Każde z ocenianych narzędzi diagnostycznych osiągnęło istotnie wyższe ($p < 0,0001$) wartości NPV w grupie kobiet 30+ niż młodszych – Tabela 21. Wśród kobiet poniżej 30 roku życia najpewniejszym narzędziem do wykluczenia patologii był test podwójny – NPV 85,862%. Otrzymując negatywny wynik testu DNA HPV kobieta od 30 roku życia może być pewna w prawie 90%, że nie ma patologii szyjki macicy. Podobna sytuacja dotyczy testu podwójnego, gdzie NPV w tej grupie wiekowej wyniosło 91,667% - Tabela 19.

Tabela 20. Weryfikacja wiarygodności cytodiagnostyki, testu DNA HPV i testu podwójnego dla badanej populacji z podziałem na grupy ze względu na rodność pacjentek przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.

PIERWIASTKI	czułość	swoistość	PPV	NPV
Cytodiagnostyka ASC-US+	98,005%	5,014%	35,923%	82,222%
Cytodiagnostyka LSIL+	78,304%	40,515%	41,700%	77,461%
Test DNA HPV	86,224%	45,539%	45,248%	86,364%
Test podwójny	91,146%	41,446%	45,396%	89,759%
WIELORÓDKI	czułość	swoistość	PPV	NPV
Cytodiagnostyka ASC-US+	96,546%	3,698%	30,463%	71,014%
Cytodiagnostyka LSIL+	81,174%	46,642%	39,932%	85,007%
Test DNA HPV	76,044%	67,774%	49,527%	87,184%
Test podwójny	85,847%	55,124%	44,370%	90,331%

Tabela 21. Porównanie miar testów diagnostycznych grupami przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.

	grupy wiekowe <30 a 30+	pierwiastki a wieloródki
czułość cytodiagnostyki ASC-US+	p=0,5086	p=0,0205
czułość cytodiagnostyki LSIL+	p=0,1657	p=0,0550
czułość testu DNA HPV	p=0,6939	p<0,0001
czułość test podwójnego	p=0,3379	p<0,0001
swoistość cytodiagnostyki ASC-US+	p=0,0046	p=0,0796
swoistość cytodiagnostyki LSIL+	p<0,0001	p=0,0010
swoistość testu DNA HPV	p<0,0001	p<0,0001
swoistość test podwójnego	p<0,0001	p<0,0001
PPV cytodiagnostyki ASC-US+	p<0,0001	p=0,0019
PPV cytodiagnostyki LSIL+	p=0,4300	p=0,3366
PPV testu DNA HPV	p=0,2351	p=0,0225
PPV test podwójnego	p=0,0007	p=0,5886
NPV cytodiagnostyki ASC-US+	p<0,0001	p<0,0001
NPV cytodiagnostyki LSIL+	p<0,0001	p<0,0001
NPV testu DNA HPV	p<0,0001	p=0,5176
NPV test podwójnego	p<0,0001	p=0,6154

Wykorzystano test chi-kwadrat. Poziom istotności (p) dla weryfikacji stawianych hipotez statystycznych ustalono na 0,05.

Porównując miary diagnostyczne poszczególnych narzędzi diagnostycznych wyznaczone dla grup ze względu na rodność stwierdzono, że najwyższą swoistością niezależnie od

grupy odznacza się test DNA HPV. Dla pierwiastek wyniosła ona 45,539%, a dla wieloródek aż 67,774% ($p < 0,001$). Pierwiastki otrzymując dodatni wynik testu DNA HPV mogą być pewne patologii w 45%, natomiast wieloródki w ponad 49% ($p = 0,0225$) – Tabela 21. Najwyższe prawdopodobieństwo, że pacjentka nie miała patologii szyjki macicy przy ujemnym wyniku uzyskano w teście podwójnym, gdzie NPV dla obu grup podzielonych pod kątem rodności wyniosła powyżej 89%. Test podwójny uzyskał istotnie statycznie ($p < 0,0001$) wyższe wartości swoistości w grupach 30+ i wśród wieloródek – Tabela 20,21. Na uwagę zasługuje fakt, że test DNA HPV odznaczał się istotnie statystycznie wyższymi wartościami swoistości i PPV dla grupy wieloródek niż pierwiastek, NPV pozostawało w obu tych grupach na podobnie wysokim poziomie ($p = 0,5176$) – Tabela 21.

Ze względu na fakt możliwości samoistnej regresji zmian niskiego stopnia na szyjce macicy. Przeprowadzono również analizę zebranych danych w celu wyznaczenia wartości diagnostycznych badanych narzędzi dla zmian histopatologicznych w przypadku rozpoznania zaawansowanych (CIN 2+). U 566 pacjentek spośród wszystkich badanych rozpoznano patologię o typie CIN 2+ - wykres 13. Pomiędzy grupami wiekowymi różnica wyników pozytywnych była niewielka. W grupie młodszych kobiet te z patologią CIN 2+ stanowiły 19,1%, natomiast wśród pacjentek 30+ 17,6%. Spośród wszystkich pierwiastek u 16,4% uzyskano wynik histopatologiczny o zaawansowaniu co najmniej HSIL, wśród wieloródek odsetek ten był wyższy i wynosił 19,1%.

Najwyższą swoistością dla wykrywania zmian o typie CIN 2+ wykazał się test DNA HPV, również PPV najwyższe było dla testu DNA HPV. Dokładność testu czyli prawdopodobieństwo otrzymania prawidłowej diagnozy na podstawie uzyskanego rezultatu w przypadku testu DNA HPV wyniosła 58,993%, nieco niższy czyli 53,176% wynik dotyczył testu podwójnego. Test podwójny wykazał się najwyższą NPV spośród ocenianych narzędzi diagnostycznych. W przypadku otrzymania ujemnego wyniku testu podwójnego prawdopodobieństwo braku patologii typu CIN 2+ wyniosło ponad 97%. AUC dla testu DNA HPV i testu podwójnego okazały się być porównywalne – 0,690 i 0,692 odpowiednio. Dla zmian histopatologicznych CIN 2+ każde z narzędzi diagnostycznych okazało się być czułą metodą. Najniższa czułość 84,200% dotyczyła testu DNA HPV. Podobnie jak w przypadku uznania za chorobę zmian histopatologicznych CIN 1+, przy zmianach CIN 2+ cytodiagnostyka wykazała się małą

dokładnością. Poprawa miar wiarygodności cytodiagnostyki ma miejsce w sytuacji uznania za nieprawidłowe cytologicznych wyników LSIL+ - Tabela 22.

Tabela 22. Weryfikacja wiarygodności cytodiagnostyki, testu DNA HPV i testu podwójnego dla badanej populacji przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.

	Cytodiagnostyka ASC-US+	Cytodiagnostyka LSIL+	Test DNA HPV	Test podwójny
Czułość	98,000% 96,450% - 98,997%	85,273% 82,031% - 88,129%	84,200% 80,773% - 87,232%	93,68% 91,137% - 95,608%
Swoistość	4,132% 3,385% - 4,989%	41,396% 39,453% - 43,359%	53,750% 51,782% - 55,729%	44,784% 42,791% - 46,789%
PPV	18,402% 18,186% - 18,620%	24,301% 23,430% - 25,193%	27,433% 26,325% - 28,568%	26,022% 25,213% - 26,848%
NPV	90,351% 83,507% - 94,540%	92,722% 91,200% - 93,998%	94,250% 93,052% - 95,251%	97,138% 96,032% - 97,942%
AUC	0,511 0,493 – 0,529	0,633 0,616 – 0,650	0,690 0,673 – 0,706	0,692 0,675 – 0,709
Dokładność	21,098% 19,660% - 22,591%	49,326% 47,535% - 51,119%	58,993% 57,214% - 60,755%	53,176% 51,349% - 54,997%

Oceniając miary wiarygodności badanych narzędzi diagnostycznych dla wykrywania zmian histopatologicznych CIN 2+ z podziałem na grupy wiekowe test DNA HPV wykazał się czułością ok 84% w obu badanych grupach ($p = 0,8096$). W obu grupach porównywalnym poziomem czułości wykazał się również test podwójny ($p = 0,2782$). Zarówno dla kobiet młodszych jak i w grupie 30+ narzędzie to wykazało wysoką wartość czułości 93-94%. Zdecydowanie statystycznie istotnie ($p < 0,0001$) wyższa swoistość testu DNA HPV dotyczyła grupy kobiet w wieku 30+ (59,238%) niż kobiet młodszych (42,013%). Niezależnie od rodzaju narzędzia diagnostycznego w grupie wiekowej 30+ NPV była wyższa niż dla kobiet młodszych. – Tabela 23.

Tabela 23. Weryfikacja wiarygodności cytodiagnostyki, testu DNA HPV i testu podwójnego dla badanej populacji z podziałem na grupy wiekowe przy uznaniu za chorobę rozpoznań histopatologicznych CIN 2+.

WIEK <30	czułość	swoistość	PPV	NPV
Cytodiagnostyka ASC-US+	97,354%	2,615%	19,048%	80,769%
Cytodiagnostyka LSIL+	81,481%	34,496%	22,647%	88,782%
Test DNA HPV	83,978%	42,013%	24,796%	92,011%
Test podwójny	94,318%	36,036%	25,038%	96,552%
WIEK 30+	czułość	swoistość	PPV	NPV
Cytodiagnostyka ASC-US+	98,338%	4,852%	18,085%	93,182%
Cytodiagnostyka LSIL+	87,258%	44,675%	25,200%	94,257%
Test DNA HPV	84,320%	59,238%	29,082%	95,014%
Test podwójny	93,272%	48,908%	26,591%	97,343%

Dla wykrywania zmian CIN 2+ test DNA HPV wykazał się czułością 91,620% i swoistością 39,523% dla pierwiastek, natomiast dla wieloródek odpowiednio 80,294% i 62,695%. Co stanowiło najwyższy wynik swoistości wśród danych narzędzi w badanej grupie. Najwyższe wartości NPV dla identyfikacji zmian CIN 2+ uzyskał test podwójny. Dla pierwiastek NPV testu podwójnego osiągnęło wartość ponad 98%, a dla wieloródek prawie 97%. Pierwiastki uzyskując wynik negatywny testu DNA HPV mogły być pewne braku patologii o typie CIN 2+ w ponad 96%. Niezależnie od metody diagnostycznej za każdym razem uzyskane wartości PPV były wyższe w grupie wieloródek. PPV żadnego z narzędzi diagnostycznych nie uzyskało wartości powyżej 33%. Najwyższe zarówno dla pierwiastek jak i wieloródek prawdopodobieństwo patologii przy dodatnim wyniku testu diagnostycznego dotyczyło testu DNA HPV (21,954% i 32,270% odpowiednio). Dla pierwiastek PPV testu podwójnego osiągnęło wynik porównywalny z testem DNA HPV (21,790%) – Tabela 24.

Tabela 24. Weryfikacja wiarygodności cytodiagnostyki, testu DNA HPV i testu podwójnego dla badanej populacji z podziałem na grupy ze względu na rodność pacjentek przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.

PIERWIASTKI	czułość	swoistość	PPV	NPV
Cytodiagnostyka ASC-US+	97,872%	4,311%	16,819%	91,111%
Cytodiagnostyka LSIL+	82,979%	37,224%	20,717%	91,710%
Test DNA HPV	91,620%	39,523%	21,954%	96,212%
Test podwójny	96,552%	35,091%	21,790%	98,193%
WIELORÓDKI	czułość	swoistość	PPV	NPV
Cytodiagnostyka ASC-US+	98,066%	4,021%	19,346%	89,855%
Cytodiagnostyka LSIL+	86,464%	43,969%	26,593%	93,260%
Test DNA HPV	80,294%	62,695%	32,270%	93,495%
Test podwójny	92,097%	50,802%	29,163%	96,692%

Zestawiono wyniki analizy statystycznej porównującej miary testów diagnostycznych grupami. Istotnie wyższe wartości swoistości dla wykrywania zmian CIN 2+ dla każdego narzędzia diagnostycznego dotyczyły grupy kobiet 30+. W przypadku cytodiagnostyki (nieprawidłowe LSIL+) narzędzie to okazało się być statystycznie istotnie czulszym w wykrywaniu zmian u kobiet 30+ ($p < 0,0001$) i wieloródek ($p = 0,0089$). Na uwagę zasługują uzyskane wyniki dla testu DNA HPV z podziałem na grupy względem rodności. W przypadku tego narzędzia diagnostycznego zarówno czułość, swoistość jak również PPV (dla każdej z tych miar $p < 0,0001$) i NPV ($p = 0,0015$) były istotnie statystycznie wyższe w grupie wieloródek. Analizując wyniki dla testu podwójnego w grupach wiekowych należy zwrócić uwagę, że nie ma różnic statystycznie istotnych w czułości ($p = 0,2782$), PPV ($p = 0,3700$) i NPV ($p = 0,2332$) przy wykrywaniu patologii o zaawansowaniu CIN 2+. Jedynie z wiekiem istotnie wzrasta jego swoistość ($p < 0,0001$) – Tabela 25.

Tabela 25. Porównanie miar testów diagnostycznych grupami przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.

	grupy wiekowe <30 a 30+	pierwiastki a wieloródki
czułość cytodiagnostyki ASC-US+	p = 0,0680	p = 0,7119
czułość cytodiagnostyki LSIL +	p < 0,0001	p = 0,0089
czułość test DNA HPV	p = 0,8096	p < 0,0001
czułość test podwójny	p = 0,2782	p < 0,0001
swoistość cytodiagnostyki ASC-US+	p = 0,0036	p = 0,6973
swoistość cytodiagnostyki LSIL +	p < 0,0001	p = 0,0003
swoistość test DNA HPV	p < 0,0001	p < 0,0001
swoistość test podwójny	p < 0,0001	p < 0,0001
PPV cytodiagnostyki ASC-US+	p = 0,5205	p = 0,0817
PPV cytodiagnostyki LSIL +	p = 0,1242	p = 0,0003
PPV test DNA HPV	p = 0,0139	p < 0,0001
PPV test podwójny	p = 0,3700	p < 0,0001
NPV cytodiagnostyki ASC-US+	p < 0,0001	p = 0,2568
NPV cytodiagnostyki LSIL +	p < 0,0001	p = 0,1122
NPV test DNA HPV	p = 0,0011	p = 0,0015
NPV test podwójny	p = 0,2332	p = 0,0160

Wykorzystano test chi-kwadrat. Poziom istotności (p) dla weryfikacji stawianych hipotez statystycznych ustalono na 0,05.

Porównując cytodiagnostykę i test DNA HPV dla wykrywania zmian CIN 2+ istotnie statystycznie wyższe wartości swoistości, PPV i NPV uzyskuje badanie molekularne – Tabela 26 i Tabela 27.

Tabela 26. Porównanie czułości, swoistości, PPV i NPV cytodiagnostyki (ASC-US+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.

Czułość cytodiagnostyki ASC-US+	98,000%	Swoistość cytodiagnostyki ASC-US+	4,132%
Czułość testu DNA HPV	84,200%	Swoistość testu DNA HPV	53,750%
Różnica	13,80%	Różnica	49,62%
95% CI	12,4229% - 15,2147%	95% CI	47,6778% - 51,5065%
Chi-kwadrat	356,888	Chi-kwadrat	1817,607
poziom istotności	p < 0,0001	poziom istotności	p < 0,0001
PPV cytodiagnostyki ASC-US+	18,402%	NPV cytodiagnostyki ASC-US+	90,351%
PPV testu DNA HPV	27,433%	NPV testu DNA HPV	94,250%
Różnica	9,03%	Różnica	3,90%
95% CI	6,9224% - 11,1309%	95% CI	2,5625% - 5,2453%
Chi-kwadrat	69,995	Chi-kwadrat	32,383
poziom istotności	p < 0,0001	poziom istotności	p < 0,0001

Jedynie czułość cytodiagnostyki przy dodatnich wynikach cytologii ASC-US+ jest istotnie wyższa niż testu DNA HPV ($p < 0,0001$). Przy wynikach cytodiagnostyki LSIL+ czułość testu staje się porównywalna ($p = 0,2455$) z rezultatem osiąganym przez test DNA HPV. W danej sytuacji poprawia się swoistość cytodiagnostyki, ale nadal pozostaje ona statystycznie istotnie niższa niż w przypadku wykorzystania testu DNA HPV do wykrywania patologii CIN 2+. Moc testu dla cytodiagnostyki pozostaje zdecydowanie niższa w sytuacji podejrzenia patologii już przy wynikach cytologicznych ASC-US+ (0,511). – Tabela 27 i 28.

Tabela 27. Porównanie czułości, swoistości, PPV i NPV cytodiagnostyki (LSIL+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.

Czułość cytodiagnostyki LSIL+	85,273%	Swoistość cytodiagnostyki LSIL+	41,396%
Czułość testu DNA HPV	84,200%	Swoistość testu DNA HPV	53,750%
Różnica	1,07%	Różnica	12,35%
95% CI	-0,7382% 2,8848%	95% CI	9,8494% 14,8366%
Chi-kwadrat	1,349	Chi-kwadrat	92,725
poziom istotności	p = 0,2455	poziom istotności	p < 0,0001
PPV cytodiagnostyki LSIL+	24,301%	NPV cytodiagnostyki LSIL+	92,722%
PPV testu DNA HPV	27,433%	NPV testu DNA HPV	94,250%
Różnica	3,13%	Różnica	1,53%
95% CI	0,9274% 5,3332%	95% CI	0,2848% 2,7761%
Chi-kwadrat	7,752	Chi-kwadrat	5,807
poziom istotności	p = 0,0054	poziom istotności	p = 0,0160

Przyjęcie za podejrzanę o patologię wyniki cytodiagnostyki z pominięciem diagnozy ASC-US (cytologia wynik LSIL+) powoduje znaczną poprawę mocy testu i osiągnięcie AUC (0,633) na poziomie porównywalnym statystycznie ($p = 0,4202$) z testem DNA HPV (0,69) – Tabela 28 i 29.

Tabela 28. Porównanie AUC cytodiagnostyki (ASC-US+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.

AUC cytodiagnostyki (ASC-US+)	0,511
AUC testu DNA HPV	0,69
Różnica	-0,179
Błąd standardowy	0,0707
Z-score	-2,531
poziom istotności	p = 0,0114

Tabela 29. Porównanie AUC cytodiagnostyki (LSIL+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.

AUC cytodiagnostyki (LSIL+)	0,633
AUC testu DNA HPV	0,69
Różnica	-0,057
Błąd standardowy	0,0707
Z-score	-0,806
poziom istotności	p = 0,4202

W niniejszym badaniu test DNA HPV dla wykrywania patologii szyjki macicy jest istotnie precyzyjniejszym narzędziem niż cytodiagnostyka. Porównując miary testu podwójnego i testu DNA HPV otrzymujemy bardziej zróżnicowane wyniki. Przy wykrywaniu patologii CIN 2+ moce obu testów oceniane na podstawie wartości AUC pozostają tak samo wysokie ($p = 0,9774$) – Tabela 30.

Tabela 30. Porównanie AUC testu podwójnego i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.

AUC testu podwójnego	0,692
AUC testu DNA HPV	0,69
Różnica	0,002
Błąd standardowy	0,0707
Z-score	0,0283
poziom istotności	p = 0,9774

Czułość (93,69%) i NPV (97,138%) testu podwójnego okazały się być statystycznie istotnie wyższe ($p < 0,0001$ dla obu wartości) niż samego testu molekularnego. Jego swoistość (44,784%) natomiast osiągnęła istotnie niższą statystycznie wartość niż testu DNA HPV (53,750%). PPV obu testów osiągnęło zbliżone wartości i porównanie ich nie wykazało istotnej statystycznie różnicy ($p = 0,2191$). Zestawienie pozostałych miar diagnostycznych testu DNA HPV z testem podwójnym w wykrywaniu patologii CIN 2+ przedstawia tabela – Tabela 31.

Tabela 31. Porównanie czułości, swoistości, PPV i NPV testu podwójnego i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.

Czułość testu podwójnego	93,69%	Swoistość testu podwójnego	44,784%
Czułość testu DNA HPV	84,200%	Swoistość testu DNA HPV	53,750%
Różnica	9,48%	Różnica	8,97%
95% CI	7,9101% - 11,0576%	95% CI	6,4281% - 11,4875%
Chi-kwadrat	135,003	Chi-kwadrat	47,797
poziom istotności	$p < 0,0001$	poziom istotności	$p < 0,0001$
PPV testu podwójnego	26,022%	NPV testu podwójnego	97,138%
PPV testu DNA HPV	27,433%	NPV testu DNA HPV	94,250%
Różnica	1,41%	Różnica	2,89%
95% CI	-0,8394% - 3,6576%	95% CI	1,8641% - 3,9299%
Chi-kwadrat	1,51	Chi-kwadrat	29,935
poziom istotności	$p = 0,2191$	poziom istotności	$p < 0,0001$

5. DYSKUSJA

Badanie wymazu cytologicznego jako narzędzie skriningowe od dziesiątek lat stanowi podstawę wielu programów przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy na świecie. Dane z dużych badań prospektywnych sugerują jednak, że narzędzie to staje się niewystarczającym. Odkrycie zakażenia HPV jako niezbędnego kroku w rozwoju raka szyjki macicy doprowadziło do opracowania testów identyfikujących DNA HPV jako uzupełnienia badań cytologicznych. Od tego czasu liczne doniesienia naukowe porównały oba te narzędzia w pierwotnym badaniu przesiewowym wykrywającym stany przednowotworowe i raka szyjki macicy. Wiele badań wykazało, że testy DNA HPV mają wyższą wartość diagnostyczną niż cytologia w wykrywaniu patologii śródnabłonkowych.

W niniejszym badaniu największą czułością wykazała się cytologia (97,143%), przy uznaniu wyników ASC-US+ za patologiczne w porównaniu do testu DNA HPV (80,276%) czy testu podwójnego (88,056%) dla wykrycia zmian CIN 1+. Należy jednak zaznaczyć, że narzędzie to choć najczulsze okazało się mieć przy tych parametrach dramatycznie niską specyficzność (4,169%), podczas gdy test na obecność DNA HPV (59,730%) oraz test podwójny (50,224%) utrzymały wartości akceptowalne dla narzędzia skriningowego, choć nieco niższe niż można odnaleźć w literaturze. Metaanaliza przeprowadzona przez Arbyn i wsp. wykazała czułość testu HPV na poziomie wahającym się od 100% do 26,7% oraz specyficzności w przedziale od 97,1% do 48,4%. Dla cytologii ASC-US+ czułość i swoistość wahały się w przedziale 85,0% – 60,0% oraz 71,7% – 44,7% odpowiednio. Wynik czułości i swoistości zbiorczo to dla HPV 84,4% (z 95% CI 77,6% - 91,1%) i 72,9% (95% CI 62,5% - 83,3%), oraz dla cytodiagnostyki 81,8% (95% CI 73,5% - 84,3%) i 57,6% (95% CI 49,5% - 65,7%) odpowiednio.⁷⁵

Czułość cytodiagnostyki dla wyników ASC-US+ uzyskana w wyniku badań przeprowadzonych na potrzeby niniejszej pracy jest nadspodziewanie wysoka. Pomimo tego, że większość autorów podaje niższe wartości czułości cytodiagnostyki w skriningu to uzyskane wskaźniki należy uznać za wiarygodne. Na wysoką czułość przekładają się nadzwyczajne warunki prowadzenia badań przez ośrodki współpracujące od lat z PPSM GPSK, jak również poziom diagnostyki świadczonej w Poradni. Kooperatory kierujący do PPSM GPSK pacjentki z nieprawidłowymi wynikami oceny rozmazu cytodiagnostyki pozostają w ścisłej współpracy z Poradnią w zakresie szkoleń i doskonalenia warsztatu

diagnostycznego. Sama Poradnia była przez 10 lat ośrodkiem wzorcowym dla województwa wielkopolskiego działającym przy Wojewódzkim Ośrodku Koordynującym (WOK) program profilaktyki i wczesnego wykrywania raka szyjki macicy. W toku wieloletniej współpracy wypracowano wysokie standardy diagnostyki cytologicznej, które prawdopodobnie odbiegają znacznie od realiów panujących w Polsce. Ze względu na brak krajowej ogólnodostępnej platformy z obowiązkiem przekazywania przez wszystkich pracowników ochrony zdrowia rezultatów swoich badań do audytu niemożliwa jest ocena ich doświadczenia oraz wiarygodność wyników cytodiagnostycznych otrzymywanych przez pacjentki z innych ośrodków badawczych i gabinetów prywatnych w Polsce. Niska specyficzność cytodiagnostyki uzyskana z przeprowadzonych analiz wynika z faktu specyficznego doboru pacjentek. Należy pamiętać że były to głównie kobiety kierowane do PPSM GPSK z nieprawidłowym wynikiem oceny rozmazu cytologicznego. Pacjentki z prawidłowym wynikiem cytodiagnostyki (NILM) były w zdecydowanej mniejszości, a i tak istniały dla nich uzasadnione kliniczne podejrzenia patologii szyjki macicy. Stąd też grupa kobiet potencjalnie zdrowych nie wyczerpywała swoją liczebnością wartości typowych dla wyników „surowego” skriningu cytologicznego, gdzie typowe wartości wyników nieprawidłowych zamykają się w 7%, a reszta to wyniki bez odchyleń. Ten fakt sugeruje, że ze względu na specyfikę grupy badanej, niską wartość swoistości należy uznać za mało wiarygodną i obarczoną błędem metodologicznym. Mówiąc językiem praktycznym do oszacowania swoistości cytodiagnostyki nie dysponowano satysfakcjonującą liczbą pacjentek z prawidłowym wynikiem oceny rozmazu cytologicznego.

Dla wykrywania zmian histologicznych o zaawansowaniu CIN 2+ w niniejszym badaniu cytodiagnostyka uzyskała czułość na poziomie 98% (wyniki dodatnie ASC-US+) i 85,273% (wyniki dodatnie LSIL+), nieco niższa czułość 84,2% dotyczyła testów DNA HPV. Bardzo wysoką czułością w identyfikacji zmian CIN 2+ odznaczył się test podwójny – 93,68%. Swoistości tychże narzędzi diagnostycznych wyniosły odpowiednio 4,132% , 41,396%, 53,750% oraz 44,784%. Podobne wyniki pojawiły się również w niedawno opublikowanej przez Cochrane metaanalizie Koliopoulos i wsp., gdzie czułość konwencjonalnej cytologii wahała się od 43% do 96% (zbiorczo 65,9% (95% CI 54,9 - 75,3)) dla wyniku CIN 2+ i od 39% do 85% (zbiorczo 70,3% (95% CI 57,9 - 80,3)) dla wyniku CIN 3+. Specyficzność wahała się od 86% do 98% (zbiorczo 96,3% (95% CI 94,7 - 97,4)) dla CIN 2+ i 85% do 98% (zbiorczo 96,7% (95% CI 94,6 - 98,0)) dla CIN

3+. Koliopoulos i wsp. przeanalizowali również doniesienia na temat czułości i swoistości dla testu DNA HPV z podziałem w zależności od rodzaju zastosowanego testu. Najwięcej doniesień dotyczyło testu Hybrid capture II na progu 1 pg/mL dla wykrywania zmian CIN 2+ i CIN 3+. Czułości testów wahały się odpowiednio dla CIN 2+ i CIN 3+ od 61% do 100% (zbiorczo 92,6%, (95% CI 89,6% - 95,3%)) i 81% do 100% (zbiorczo 96,5%, (95% CI 94% - 97,9%)). Swoistości zawierały się w przedziale od 64% do 95% (zbiorczo 89,3%, (95% CI 87% - 91,2%)) i 69% do 95% (zbiorczo 89,2%, (95% CI 86,7% - 91,3%)) dla wykrywania CIN 2+ i CIN 3+ odpowiednio. Innym rodzajem testu diagnostycznego, który podlegał analizie były badania oparte o PCR z wykryciem 13 wysokoonkogennych typów HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) również dla wykrycia zmian CIN 2+ i CIN 3+. Czułości testów PCR z doniesień podlegających metaanalizie wahały się od 75% do 100% i 88% do 100%, a swoistości od 85% do 97% i od 79% do 94% dla wykrywania odpowiednio CIN 2+ i CIN 3+. Porównanie tych zbiorczych wyników czułości i swoistości dla danych narzędzi diagnostycznych pozwala stwierdzić, że w wykrywaniu zmian patologicznych na szyjce macicy testy wykrywające obecność HPV przewyższają konwencjonalną cytologię.⁷⁶ Z danych uzyskanych w niniejszym badaniu można wyciągnąć równoznaczne wnioski. Porównując moc testów nie uzyskano różnicy istotnej statystycznie w przypadku zarówno cytodiagnostyki z podejrzeniem o patologię w przypadku wyników LSIL+, testów DNA HPV jak i testu podwójnego w wykrywaniu patologii CIN 2+. Jednakże prawdopodobieństwo prawidłowej diagnozy czyli najwyższą dokładność przy wykorzystaniu danego testu diagnostycznego uzyskał test DNA HPV.

Porównując omówione wyżej dane ze świata z otrzymanymi w badaniu wynikami jak już wspomniano zauważalna jest dysproporcja pomiędzy uzyskanymi rezultatami swoistości a tymi przytaczanymi w literaturze światowej. Na wartość swoistości testu wpływa obserwowana liczebność wyników prawdziwie ujemnych. Im więcej zdrowych osób przy wykorzystaniu danego narzędzia diagnostycznego otrzyma wynik wykluczający chorobę tym ten wskaźnik testu będzie wyższy. Ze względu na brak typowej grupy kontrolnej w niniejszym badaniu, gdyż nie wykonywano biopsji pacjentkom, u których wszystkie wykorzystywane narzędzia diagnostyczne dały wynik ujemny, parametr swoistości w danej pracy jest zapewne zaniżony względem możliwego do uzyskania w skriningu populacji ogólnej.

Konwencjonalna cytologia w porównaniu do testów na obecność DNA HPV obarczona jest czynnikami pogłębiającymi niedokładność badania związanymi z jakością preparatu. Najczęstszymi powodami niezadowolających interpretacji w badaniach cytologicznych są zanieczyszczenia krwią, niewielka ilość komórek płaskonabłonkowych czy pochodzących ze strefy przejściowej T – znikoma komórkowość pobranego materiału, nadmierna grubość czy uszkodzenia komórek w materiale związane z techniką pobrania i zabezpieczenia wymazu – uszkodzenie mechaniczne, cytoliza, słaba fiksacja, jak również zacienienie obrazu przez komórki zapalne.^{77 78} Przy czym należy zaznaczyć, że statystycznie istotne są przede wszystkim zacienienie obrazu krwią i uboga komórkowość preparatów.⁷⁹ Większość mankamentów, poza skąpą ilością komórek w materiale, konwencjonalnej cytologii jest w stanie wyeliminować użycie cytologii płynnej (ang. liquid based cytology, LBC). Koreańska grupa badaczy dokonała przeglądu literatury na temat precyzji wymazów cytologicznych. Przeprowadzona przez nich analiza ponad 20 doniesień wykazała relatywnie znacznie wyższą czułość i swoistość LBC niż w przypadku konwencjonalnej cytologii. Czułość rozmazu cytologicznego wahała się od 53,4% do 94,0%, a swoistość od 43,6% do 97,0%, natomiast w przypadku LBC czułości wynosiły od 76,4% do 94,9% i swoistości od 66,0% do 98,3%. Kryteria metaanalizy spełniło 15 doniesień koreańskich, a obliczona na ich podstawie zbiorcza czułość i swoistość w wykrywaniu CIN 2+ wynosiły odpowiednio 76% (95% CI=75%-78%) i 76% (95% CI=75%-77%) dla konwencjonalnej cytologii oraz 92% (95% CI=90%-94%) i 79% (95% CI=76%-81%) dla LBC. Jednak w badaniach zaobserwowano znaczną niejednorodność wyników ($p < 0,0001$).⁴⁶ W przeciwieństwie do danych koreańskich systematyczny przegląd literatury światowej opublikowany w oficjalnym czasopiśmie ACOG wykazał, że LBC nie jest ani bardziej czuła, ani bardziej specyficzna w wykrywaniu śródnabłonkowej neoplazji szyjki macicy wysokiego stopnia w porównaniu z konwencjonalnym badaniem. Zbiorcza czułość wymazu cytologicznego i LBC na progu ASC-US dla CIN 2+ wynosiła 88,2% (95% CI=80,2%-93,2%) oraz 90,4% (95% CI=82,5%-95,0%). Zbiorcza swoistość konwencjonalnej cytologii i LBC na progu ASC-US dla CIN 2+ wynosiła 71,3% (95% CI= 58,3%-81,6%) i 64,6% (95% CI= 50,1%-76,8%) odpowiednio.⁸⁰ W niniejszej pracy analizowane dane pochodziły z rezultatów uzyskanych na drodze cytodiagnostyki konwencjonalnej.

Ważnymi miarami dla testów diagnostycznych są PPV oceniająca prawdopodobieństwo, że badany miał chorobę mając pozytywny wynik testu oraz NPV oceniająca

prawdopodobieństwo, że badany nie miał choroby mając negatywny wynik testu. PPV i NPV cytodiagnostyki w wykrywaniu zmian CIN 1+ w badaniu przeprowadzonym na potrzeby niniejszej pracy wyniosły odpowiednio 32,503% i 75,439% (dla wyników ASC-US+) oraz 40,622% i 82,39% (dla cytodiagnostyki LSIL+) dla porównania z doniesieniami ze świata u Baruta i wsp. wartości te odpowiednio wynoszą 26%, i 92%.⁸¹ Tożsame do tych danych rezultaty uzyskano przy wykorzystaniu cytodiagnostyki do wykrywania zmian CIN 2+ z podejrzeniem o patologię wyników cytologicznych LSIL+, PPV 24,301% i NPV 92,722%. Miary te mogą sugerować, że otrzymanie wyniku negatywnego cytologii wiąże się z dużym prawdopodobieństwem braku choroby co jest korzystnym zjawiskiem. Niestety w wyniku przeprowadzonych badań wykazano, że pozytywny rezultat cytodiagnostyki nie pokrywa się w wysokim procencie z chorobą, dlatego wymaga weryfikacji u wielu pacjentek. Wiąże się to z niepotrzebnym stresem dla badanych, a także generuje wysokie koszty. Wśród ponad 3 tysięcy pacjentek kierowanych z powodu odchyleń do PPSM GPSK jedynie 31,97% miało rzeczywistą patologię w obrębie szyjki macicy, a tylko u 18,06% wśród wszystkich badanych zdiagnozowano zaawansowanie zmian przynajmniej na poziomie CIN 2. Idealny test przesiewowy powinien pełnić rolę gęstego sita, tak by tylko nieliczna grupa przebadanych wymagała pogłębionej diagnostyki. W niniejszym badaniu zarówno test podwójny jak i test na obecność HPV okazały się mieć wyższe wartości PPV (44,807% i 47,520% odpowiednio) i NPV (90,161% i 86,957% odpowiednio) niż cytologia. Podobne wyniki możemy odnaleźć w literaturze światowej. U De Francesco i wsp. PPV cytologii to 56%, natomiast testów HPV w zależności od rodzaju użytego narzędzia 60-61%, a NPV 63% w porównaniu do 75% przy testach HPV.⁸² Mayrand i wsp. przeprowadzili randomizowane badanie na 10 tysiącach kanadyjskich kobiet potwierdzając znacznie wyższą czułość i NPV testu DNA HPV bądź testu podwójnego w porównaniu z cytodiagnostyką w wykrywaniu SIL wysokiego stopnia. W przytoczonej publikacji czułość i NPV metody połączonej wyniosły 100%, swoistość sięgała 92,5%, ale PPV to jedynie 5,5%.⁸³ Na podstawie tych rezultatów można wyciągnąć wniosek, że wykonanie testu podwójnego wiąże się z dużym odsetkiem wyników fałszywie dodatnich. Należy zaznaczyć, że badacze za dodatni test podwójny przyjęli każdą sytuację w której test DNA HPV był dodatni i/lub cytodiagnostyka wykazała jakiekolwiek odchylenie (ASC-US+).

Nie bez wpływu na kształt badania przesiewowego i przyszły jego kierunek pozostaje wprowadzenie szczepionki przeciwko HPV. W obliczu zmieniającej się struktury społeczeństwa w skład, którego będzie wchodzić coraz większa populacja kobiet zaszczepionych, cytodiagnostyka stanie się narzędziem przestarzałym. Świat stoi u progu ery szczepionkowej. Aktualne obliczenia szacują, że na rok 2018 globalna wyszczepialność wyniosła 12,2% populacji docelowej.⁸⁴ Modelowe analizy wpływu szczepień przeciwko HPV na kształt zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy sugerują możliwość osiągnięcia progu eliminacji tej choroby jako problemu zdrowia publicznego w ciągu najbliższych stu lat przy utrzymaniu odpowiedniego poziomu profilaktyki pierwotnej i wtórnej.^{42 85} Sytuacja zwiększającego się udziału w populacji globalnej kobiet szczepionych przeciwko HPV wymusza modyfikację programów skriningowych. Następne lata przyniosą zwiększenie liczby genotypów szczepionkowych oraz zdecydowane obniżenie kosztów szczepień, co da w efekcie wprowadzanie szczepień powszechnych w coraz większej liczbie krajów świata oraz ułatwi dostęp do szczepienia nawet dla kobiet i mężczyzn nieobjętych programami publicznymi. Upowszechnienie szczepień spowoduje obniżenie się odsetka kobiet wymagających okresowej kontroli cytologicznej. Wymazy cytologiczne w zdecydowanej większości staną się prawidłowymi, co spowoduje dużą monotonię w odczytach wyników. Ta sytuacja może przyczynić się do podwyższenia ryzyka błędu ludzkiego i zwiększonego odsetka wyników fałszywie ujemnych wynikającego z przeoczenia, jak i fałszywie dodatnich wynikających z obawy przed niewykryciem patologii. Spadek liczby cytoonkologicznie nieprawidłowych wymazów realnie wpłynie na obniżenie PPV i przyniesie ostatecznie spadek efektywności wykrywania rzeczywistych patologii.^{45 86}

W związku z przemianami struktury społeczeństwa i poszerzeniem wiedzy o patofizjologii procesu nowotworzenia zmian na szyjce macicy programy skriningowe wielu krajów w ostatnich latach ewoluowały bądź są w fazie przemian z toczącymi się badaniami.

Ferreccio i wsp. przeanalizowali podstawowe techniki jak LBC, cytologia konwencjonalna, test HPV oraz cervicografię jako narzędzia do wykrywania raka i zmian CIN 3+. Analiza statystyczna oceniła istotność różnic między strategiami analizując wykorzystanie każdej techniki osobno jak i w parach (co łącznie dało 112 możliwych strategii). Jako pojedynczy test cytologia płynna lub badanie DNA HPV były znacznie dokładniejsze niż konwencjonalna cytologia. Czulość i swoistość testu HPV wyniosły

85.3%, 88.2%, LBC (ASC-US+) 85.7%, 87.8%, a konwencjonalnej cytologii (ASC-US+) 63.0%, 93.7% odpowiednio. Dodanie któregośkolwiek z trzech pozostałych testów zwiększyło dokładność samego badania cytologicznego. Miary testu podwójnego, złożonego z wymazu cytologicznego (ASC-US+) i testu HPV (+), wyniosły 57.41% czułości, 97.74% swoistości, PPV 24.70% oraz NPV 99.44%.⁸⁷ W porównaniu do wyników uzyskanych przez Ferreccio i wsp. w niniejszym badaniu czułość i PPV w wykrywaniu zmian CIN 1+ dla testu podwójnego były wyższe, wynosiły odpowiednio 88,056% i 44,807%. Test podwójny uzyskał najwyższą NPV wśród ocenianych narzędzi diagnostycznych, bowiem 90,161%, a jego swoistość wyniosła 50,224%. Również w wychwyceniu zmian CIN 2+ test podwójny w badaniu wykazał się najwyższą wartością NPV na poziomie 97,138% co daje wynik równy z przytoczoną wyżej publikacją. Analiza statystyczna porównująca NPV testu podwójnego i testu DNA HPV potwierdziła jego wyższość na poziomie istotności $p < 0,0001$.

Przegląd retrospektywny ponad 20 tys przypadków kobiet chińskich opublikowany w Journal of Laboratory Medicine ocenił czułość, swoistość, PPV oraz NPV dla LBC, testu HPV i testu podwójnego dla 3 grup wiekowych w wykrywaniu zmian histopatologicznych LSIL, HSIL, rak (CIN 1+). Badacze podzielili pacjentki na te <30 roku życia, w przedziale wiekowym 30-50 oraz najstarsze od ukończonego 50 roku życia. Połączona metoda w każdej grupie uzyskała najlepszą czułość (odpowiednio dla grupy 92,28%, 92,17%, 92,30%) i NPV (odpowiednio dla grupy 88,97%, 94,46%, 92,60%).⁸⁸ Podobne rezultaty test podwójny uzyskał w tymże badaniu. Zarówno dla grupy wiekowej kobiet młodszych <30 roku życia jak i w grupie kobiet 30+ test podwójny uzyskał najwyższą wartość NPV wśród analizowanych narzędzi diagnostycznych dla wychwytu zmian CIN 1+ (odpowiednio grupami 85,862% i 91,667%), jak również CIN 2+ (96,552% i 97,343%). Czułość testu podwójnego wyniosła natomiast odpowiednio grupami 88,798% i 87,568% dla wykrycia zmian CIN 1+ oraz 94,318% i 93,272% przy identyfikacji zmian CIN 2+.

Innymi propozycjami nowoczesnej formy screeningu jest wykonywanie badań nie jednocześnie jako testu podwójnego, ale w dwóch etapach. Propozycja pierwsza sugeruje, że pobrany materiał byłby oceniany jako preparat LBC, a w przypadku wyników niepewnych dokonana zostaje wtórna analiza obecności DNA HPV wykonana z tego samego materiału komórkowego. W konsensusie zawartym w Journal of the National Cancer Institute Schiffman i wsp. przedstawili analizę możliwości wykorzystania testu

DNA HPV jako formy selekcji spośród pacjentek, które otrzymały wynik cytologii ASC-US, w kierunku tych wymagających faktycznie pogłębienia diagnostyki o kolposkopię. Wyciągnięto wniosek, że działania takie przyczyniłyby się do powstania typu przesiewu o bardzo wysokiej NPV. Jednocześnie badacze zwrócili uwagę, że dodanie większej liczby niż 13 najczęstszych typów onkogennych HPV do testu zarówno w formie narzędzia pierwotnego skrinigu czy jako badania doprecyzowującego wskazania do kolposkopii spowoduje wytworzenie narzędzia niespecyficznego.⁸⁹ Niniejsze badanie jak już wspomniano potwierdza, że wyniki cytologii ASC-US pozostają najbardziej niepewnym co do rokowania rozpoznaniem cytologicznym. Wymagają dlatego uwierzytelnienia testami doprecyzowującymi jak test DNA HPV. W badaniu najczęściej występującym typem HPV wśród pacjentek z diagnozą po biopsji HSIL bądź rak był typ 16. Wirus ten wystąpił w ponad 64% przypadków HSIL i w 65% raków. Weryfikacja obecności DNA wysokoonkogennych wirusów w limitowanej liczbie wiąże się z ich procentowym skojarzeniem z diagnozą raka szyjki macicy. Choć identyfikuje się wiele onkogennych typów wirusa rozpowszechnienie ich na świecie jest aktualnie znikome. Podobnie jak w owym badaniu, ogóln światowa przekrojowa retrospektywna analiza wykazała na wszystkich kontynentach najczęstszą asocjację pomiędzy rakiem szyjki macicy a infekcją wirusem HPV 16 (61%). Dwa kolejne typy często identyfikowane w przypadku diagnozy raka na świecie to typ 18 i 45.⁹⁰ W doniesieniu z Polski u kobiet z rozpoznaniem SIL wysokiego stopnia (CIN 2, CIN 3) najczęściej występującymi typami są HPV 16, 33, 18, 31 i 56.⁹¹ Omawiane wyniki sugerują, że protokoły prewencyjne powinny koncentrować się na ograniczonej ilości typów wirusów wysokoonkogennych, by testy takowe pozostały wysoce specyficznymi narzędziami w diagnostyce profilaktycznej.

Omawiając drugą formę dwuetapowej diagnostyki przesiewowej za modelowy może posłużyć schemat aktualnie stosowany w Australii, będącej przykładowym krajem populacji w fazie wyszczepiania.⁹² Na szczególną uwagę zasługuje sytuacja epidemiologiczna w Australii. W 2007 roku Australia była jednym z pierwszych krajów, które wprowadziły krajowy program szczepień przeciwko wirusowi brodawczaka ludzkiego.⁹³ Od tego czasu osiągnęła wysoki poziom wyszczepialności u obu płci. W 2017 roku wskaźniki wyszczepialności u osób po 15 roku życia sięgały około 80,2% wśród kobiet oraz 75,9% wśród mężczyzn.⁹⁴ Po badaniu przeprowadzonym przez Cancer Council NSW, którego wyniki zaprezentowano w 2018 roku na Międzynarodowej

Konferencji na temat wirusa brodawczaka (ang. International Papillomavirus Conference, IPVC) wprowadzono nową strategię badań przesiewowych. Wykazano, że jeśli zakres szczepień i badań przesiewowych utrzyma się tam na obecnym poziomie, rak szyjki macicy jest prawdopodobnie do wyeliminowania jako problem zdrowia publicznego. Za próg eliminacji WHO przyjmuje poziom zachorowalności cztery przypadki na 100 000 kobiet na rok. Australia jako jeden z pierwszych krajów na świecie może osiągnąć ten poziom.⁹⁵ Aktualnie w Australii wszystkie kobiety w przedziale wiekowym 25-74, które ostatni wymaz cytologiczny miały wykonany ponad 2 lata temu są zapraszane do nowego programu profilaktyki wtórnej. Nowe badanie przesiewowe wykonywane jest raz na 5 lat, opiera się na pierwszorzutowym badaniu na obecność DNA HPV HR w pobranym z szyjki macicy na płynne podłoże materiale komórkowym. W przypadku dodatniego wyniku testu dokonuje się jego oceny cytologicznej. Kobiety z pozytywnymi wynikami testów przesiewowych są kierowane do dalszej diagnostyki pogłębionej czyli kolposkopii.⁹⁶ W najnowszych doniesieniach potwierdza się, że najbardziej obiecującą formą skriningu jest oparcie modelu przesiewowego narzędzia o testowanie na obecność DNA HPV jako postępowania pierwszorzutowego.

Opublikowane w 2021 roku wyniki badania Zhao i wsp. oceniające skuteczność testów DNA HPV w krajowym programie badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy w latach 2015-2017 w Chinach wykazały wyższość tychże nad konwencjonalną cytologią. Testy DNA HPV wykryły więcej zmian o charakterze patologii CIN2+ niż cytologia (5,5 na 1000 w stosunku do 4,4 na 1000). Wynik PPV dla testów HPV (13,8%) niż dla cytologii (10,9%) był istotnie wyższy ($p < 0,001$).⁹⁷ W niniejszej pracy poziom istotności statystycznej dla PPV również przemawiał na korzyść testów DNA HPV ($p < 0,0001$).

Infekcja HPV jest prawie nieodzownym elementem rozwoju raka szyjki macicy, jednak nie u każdej kobiety zainfekowanej tym wirusem dojdzie do rozwoju patologii w obrębie szyjki macicy. Przeprowadzono wiele badań mających na celu identyfikację kofaktorów sprzyjających przejściu zakażenia typem onkogennym HPV w formę infekcji przetrwałej predysponującej do progresji zmian patologicznych i ostatecznie postępu przemian do raka szyjki macicy. Muñoz i wsp. dokonali dla IRAC wielośrodkowej oceny powiązania między rodnością u kobiet HPV pozytywnych a ryzykiem raka szyjki macicy. Ich analizy wykazały istotną różnicę wystąpienia raka pomiędzy nieródkami a wieloródkami. W grupie wieloródek potwierdził się trend wzrostowy ryzyka rozwoju raka wraz ze

wzrostem liczby ciąż zakończonych porodem po 28 tygodniu ciąży.⁹⁸ Analizowane dane z niniejszego badania wykazały, że wśród wieloródek odsetek nieprawidłowych wyników histopatologicznych na poziomie CIN 2+ był wyższy niż wśród pierwiastek (19,1% w stosunku do 16,4%). Dane pochodzące z FCR potwierdzają również nieco wyższe występowanie raka płaskonabłonkowego bądź zmian CIN 3 wśród fińskich wieloródek – standaryzowany współczynnik zachorowalności odpowiednio wyższy 1,2x i 1,4x względem średniej krajowej.⁹⁹ Doniesienia światowe i wyniki owej pracy potwierdzają korelację pomiędzy wystąpieniem zmian patologicznych na szyjce macicy a rodnością. Na podstawie uzyskanych wyników w tym badaniu wybór testu diagnostycznego nie różni się jednak w grupach ze względu na rodność. W obu grupach wysoką wartością diagnostyczną odznaczają się zarówno test podwójny jak i test DNA HPV, a cytodiagnostyka pozostaje narzędziem najmniej precyzyjnym w wykrywaniu patologii. Dla wykrywania zmian CIN 2+ w grupie wieloródek zarówno test DNA HPV jak i test podwójny wykazały się istotnie wyższą wartością swoistości (62,695% oraz 50,802% odpowiednio) i PPV (32,270% i 29,163%) niż wśród pierwiastek (39,523%, 35,091% oraz 21,956% i 21,790%). Natomiast czułość i NPV przeważały na korzyść tych testów w grupie kobiet, które nigdy nie rodziły. Dla ewentualnego rozstrzygnięcia, które z badań byłoby bardziej adekwatnym wyborem jako narzędzie przesiewowe w zależności od rodności pacjentki dalsze badania są niezbędne.

Nowoczesne trendy badania przesiewowego w celu zwiększenia zasięgu badania i dotarcia dzięki temu do kobiet zamieszkujących tereny oddalone od dostępu do podstawowej opieki medycznej dążą do promowania self-samplingu czyli samodzielnego pobierania materiału do badania przez kobiety. Dwie duże niezależne metaanalizy wykazały, że stosowanie samodzielnego pobierania próbek w kierunku obecności DNA HPV w pochwie może być efektywniejszą propozycją w dotarciu do kobiet dotychczas nieobjętych skринingiem przy jednoczesnym zachowaniu podobnej dokładności badania jak dotychczas.^{100 101} Porównanie wartości predykcyjnych genotypowania HPV w przypadku próbek pobranych samodzielnie przez pacjentki i przez lekarza oraz cytologii wykonanej przez lekarza w badaniu El-Zein i wsp. wykazało przewagę tych pierwszych nad wymazem cytologicznym. Wartość PPV dla zmian CIN 2+ wyniosła odpowiednio 28.0%, 29.7% (dla dowolnie dodatniego typu HPV wysokoonkogennych) oraz 26.6% (dla zmian ASC-US+ w cytologii). Natomiast NPV obliczone dla tych samych zmiennych wyniosły 96.4%, 97.8% oraz 94.7%. Analiza

przytoczonych wyników jednocześnie potwierdza o zbliżonej wydajności self-samplingu i badania z próbek klinicznych w wykrywaniu zmian szyjki macicy.¹⁰² Podobne rezultaty z różnicą istotną statycznie pomiędzy cytologią i testami HPV uzyskano w szwedzkim badaniu populacyjnym. PPV do wykrywania zmian CIN 2+ wyniosła 46% (95% CI: 41-51%) dla testu HPV i 37% (95% CI: 30-44%) dla wymazu cytologicznego.¹⁰³ W niniejszej pracy dla wykrycia tego samego poziomu patologii (CIN 2+) uzyskano podobne do El-Zein i wsp. wartości PPV i NPV dla testu DNA HPV, 27,433% oraz 94,250% odpowiednio. Miary te dla cytodiagnostyki osiągnęły niższe wartości niż w przytaczanej publikacji, dla zmian ASC-US+ PPV cytodiagnostyki wyniosła 18,402%, a NPV 90,351%. Biorąc pod uwagę wyniki uzyskane w niniejszej pracy dla testu DNA HPV i ich porównanie z doniesieniem światowym metoda self-samplingu wydaje się być ciekawą i obiecującą propozycją narzędzia przesiewowego.

Aktualnie dostępnymi metodami self-samplingu są testy wykorzystujące materiał pobierany samodzielnie z pochwy bądź próbki moczu zebrane przez kobiety. W świetle najnowszych doniesień oba sposoby uzyskania materiału od pacjentek mogą być użyteczną alternatywą dla przesiewowych badań populacyjnych z wykorzystaniem próbek pobranych z szyjki macicy przez pracownika medycznego. Ørnskov i wsp. w swoim badaniu opublikowanym w 2021 roku porównali czułość i swoistość testów DNA HPV z materiałów uzyskanych od pacjentek z moczu, wymazu z pochwy oraz próbek pobranych przez lekarza. W wykrywaniu zmian CIN 2+ czułość poszczególnych metod wyniosła 93%, 96%, 96%, natomiast swoistość osiągnęła wartości 46%, 43%, 45%. Analiza statystyczna uzyskanych wyników pozwoliła stwierdzić badaczom, że obie formy self-samplingu są porównywalnie precyzyjne co badanie kliniczne. Przeprowadzili oni również kwestionariusz wśród badanych oceniając akceptowalność takiej formy skriningu. W rezultacie otrzymali potwierdzenie, że pacjentki chętnie skorzystałyby z możliwości samobadania jako metody diagnostycznej w badaniu populacyjnym preferując badanie próbki moczu jako pierwszego wyboru.¹⁰⁴

Zważywszy na fakt, że wiarygodność testów HPV w samobadaniu i w badaniu przez klinicystę pokrywa się wydaje się być uzasadnione wprowadzenie podejścia przesiewowego, w którym kobieta ma prawo wyboru formy pobrania materiału do badania. Przeprowadzone analizy na temat preferencji kobiet uczestniczących w badaniach przesiewowych w Holandii w 2015 i 2016 roku wykazały, że wśród pacjentek, które doświadczyły i badania przez klinicystę, i samodzielnej możliwości pobrania próbki

w kolejnym podejściu do rutynowego skriningu wybrałyby self-sampling (76,5%). Kobiety te w badaniu ankietowym uznały samodzielne pobieranie próbek za bardziej komfortowe ze względu na wyższy poziom prywatności, co za tym idzie mniejsze odczucie wstydu i zdenerwowania podczas badania. Istotnie statystycznie okazało się również odczucie bólu oceniane w 5 stopniowej skali, gdzie 1 oznaczał jego brak. Ponad 80% kobiet uznało samobadanie za bezbolesne, podczas gdy tylko 33% zaraportowała nieodczuwanie bólu w trakcie badania przez klinicystę, średni wynik na skali wyniósł 1,3 oraz 2,4 odpowiednio. Dodatkowo 73,3% spośród omawianej grupy ankietowanych zadeklarowała, że w pełni ufa prawidłowemu wykonaniu procedury pobierania próbek przez lekarza, natomiast tylko 53,7% z nich tak samo wysoko oceniło wiarygodność przeprowadzonej procedury przy samobadaniu.¹⁰⁵ Najnowsze z 2021 roku doniesienia z Belgii potwierdzają również preferowanie przez kobiety jako przyszłej metody skriningowej samobadania (57% ankietowanych). Preferencje wyboru narzędzia przesiewowego nie były zależne od wieku. Podobnie jak we wcześniej cytowanej pracy Ørnskov i wsp. wśród belgijskich pacjentek potwierdziła się przewaga wybierania badania moczu (53%) względem samodzielnego wymazu pochwowego (38%).¹⁰⁶

Wprowadzenie samobadania jako możliwej opcji w narodowych programach badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy wydaje się być też obiecującą alternatywą w dobie aktualnej pandemii COVID-19. W 2020 roku z powodu obaw przed zakażeniem wirusem wywołującym chorobę SARS-CoV-2 doszło do dramatycznego spadku w zgłaszalności pacjentek do badania. Działania profilaktyczne w wielu krajach europejskich zostały zakłócone przez ograniczony dostęp do świadczeń zdrowotnych.¹⁰⁷

Istotną kwestią przy wyborze narzędzia diagnostycznego do badań przesiewowych jest też ocena kosztochłonności wykorzystania danego testu. Idealna metoda powinna charakteryzować się przy wykorzystaniu na szeroką skalę niską ceną nie tylko samego testu, ale również niedużym kosztem związanym z uruchomieniem i obsługą zorganizowanego programu. W 2015 roku Elfstrom i wsp. dokonali ogólnoeuropejskiej analizy przeprowadzania skriningu w poszczególnych krajach. Badacze rozesłali kwestionariusz z prośbą o informację zwrotną na temat faktycznego stanu organizacji i kontroli jakości programów skriningowych. W Europie podstawowe narzędzie stanowi wymaz cytologiczny (cytodiagnostyka konwencjonalna lub LBC) wykonywany co 1-5 lat. Niestety analiza kosztochłonności tychże programów populacyjnych w większości krajów okazała się być niemożliwa. Monitorowanie i ocena zorganizowania skriningów

nie były bowiem odpowiednio standaryzowane.¹⁰⁸ W 2020 roku ukazała się Szwedzka analiza kosztochłonności skriningu opartego na badaniu DNA HPV w self-samplingu w porównaniu do cytologii konwencjonalnej. Dokonano przeglądu danych pochodzących z wcześniej opublikowanego randomizowanego badania klinicznego. Wykazano, że oferowanie samodzielnego pobierania próbek do testów na obecność DNA HPV stanowi bardziej opłacalną alternatywę od tradycyjnego badania klinicznego opartego na wymazie cytologicznym z szyjki macicy. Test DNA HPV zidentyfikował większą ilość pacjentek ze zmianami patologicznymi CIN 2+. Wykorzystanie self-samplingu zwiększyło uczestnictwo w przesiewie. A ogólne koszty badania pozostały niższe niż wydatek na badanie cytologiczne.¹⁰⁹ Badacze brazylijscy na podstawie danych epidemiologicznych i wykorzystaniu lokalnych informacji o kosztach opieki zdrowotnej stworzyli modelową analizę oceny kosztochłonności skriningu raka szyjki macicy. Przetestowano trzy strategie przesiewowe. Wykonywanie badania cytodiagnostycznego u kobiet w wieku od 25 do 64 lat co trzy lata, test identyfikujący HPV HR u kobiet w wieku 25–64 lat co pięć lat lub model hybrydowy z wykorzystaniem cytologii u kobiet w wieku 25–29 lat co trzy lata i badanie HPV HR u kobiet w wieku 30–64 lata co pięć lat. Zdecydowana przewaga została wykazana dla modeli opartych o testowanie molekularne.¹¹⁰

Na koszty wynikające z badania przesiewowego wpływ ma interwał czasowy pomiędzy kolejnymi kontrolami. W perspektywie wielu lat wykonanie jednostkowo tańszego badania z dużą częstotliwością okazuje się być droższym niż wykonanie jedynie kilkukrotnie badania o jednostkowym wyższym koszcie. Na podstawie wartości NPV danego narzędzia możemy ocenić ryzyko rozwoju u pacjentki z ujemnym wynikiem badania w najbliższych latach patologii szyjki macicy. Im NPV wyższe tym większa możliwość wydłużenia odstępu pomiędzy kolejnymi badaniami. Dillner i wsp. obliczyli ryzyko rozwoju CIN 3+ przy prawidłowym wyniku cytodiagnostyki i/lub testu DNA HPV w perspektywie czasu. Dla interwału czasowego 3 lat, będącego najczęstszym odstępem pomiędzy zalecanymi kolejnymi badaniami przesiewowymi w Europie, ryzyko rozwoju CIN 3+ dla kobiet z ujemnym wynikiem cytologii było zdecydowanie wyższe niż dla kobiet z ujemnym wynikiem testu HPV (0,51% a 0,12%). Badacze zaznaczyli, że istniała jedynie niewielka różnica w częstości występowania zmian CIN 3+ między kobietami z ujemnymi wynikami obu testów (ujemny test podwójny) a kobietami z ujemnym wynikiem HPV.¹¹¹ Test podwójny choć stanowi narzędzie precyzyjne w

wykrywaniu patologii szyjki macicy wiąże się z generacją wyższych kosztów niż test DNA HPV przy porównywalnej skuteczności. Stąd decyzja o wyborze do przesiewu populacyjnego metody tańszej a równie skutecznej wydaje się być oczywista.

Dostępne dane stanowią aktualnie przekonujący dowód na zastosowanie testu DNA HPV jako narzędzia skринingowego. Związane jest to ze skuteczniejszym od tradycyjnych wymazów cytologicznych wykrywaniem zmian szyjki macicy wysokiego stopnia co sugerują wielokrotnie przytoczone powyżej dane z literatury światowej i wyniki uzyskane w niniejszym badaniu. Cytodiagnostyka jako narzędzie skринingowe w wykrywaniu śródnabłonkowej neoplazji szyjki macicy okazała się być narzędziem niedokładnym. Analiza zebranych danych pozwoliła obliczyć, iż jedynie 34,111% pacjentek po uzyskaniu wyniku cytodiagnostycznego może być pewna postawionej diagnozy. Porównanie testu DNA HPV do cytodiagnostyki wykazało, że jest to narzędzie o znacznej przewadze precyzji. W stosunku do testu podwójnego wykorzystanie molekularnej identyfikacji wysokoonkogennych typów wirusa brodawczaka ludzkiego w profilaktyce wtórnej raka szyjki macicy ma podobną wartość diagnostyczną, ale niesie za sobą niższe koszty, co przemawia na jego korzyść. W celu poprawy precyzji testów DNA HPV kolejne badania powinny koncentrować się na zwiększeniu wartości odcięcia dla pozytywnego wyniku, co może zmniejszyć liczbę wyników fałszywie dodatnich, a pozostawać bez istotnego wpływu na pogorszenie czułości. Dążenie do poprawy czułości metody wykrywającej DNA HPV można uzyskać poprzez wybranie grup pacjentek, w których oczekuje się, że test DNA HPV będą miały wyższą wartość PPV.¹¹² Dalsze badania w tym kierunku są niezbędne i mogą prowadzić do szybszej globalnej eliminacji raka szyjki macicy jako problemu zdrowia publicznego. Zgodnie ze strategią WHO 90-70-90 przynajmniej 70% kobiet powinno być poddanych testowi przesiewowemu o wysokiej wydajności. WHO zwraca uwagę, że testy DNA HPV jako reprezentujące wysoki poziom skuteczności powinny stać się podstawową metodą badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy. A ze względu na większe możliwości dostępu do usług i wysoką akceptowalność przy wykorzystaniu samodzielnego pobrania próbek do badania ta forma skринingu powinna zostać uwzględniona jako możliwa do wyboru przez kobiety.¹¹³

6. WNIOSKI

1. Wartość diagnostyczna cytodiagnostyki wykorzystanej jako narzędzie skriningowe w procesie wykrywania śródnabłonkowej neoplazji i raka szyjki macicy jest niewystarczająca i nie spełnia kryteriów nowoczesnego i efektywnego narzędzia badania przesiewowego.

2. Test molekularny identyfikujący typy wysokoonkogenne wirusów brodawczaka ludzkiego cechuje wysoka wartość diagnostyczna typowa dla efektywnego narzędzia skriningowego, które powinno być wykorzystane w pierwszorzutowym badaniu wykrywającym śródnabłonkową neoplazję i raka szyjki macicy.

3. Test podwójny cechuje wysoka wartość diagnostyczna, porównywalna z identyfikacją molekularną typów wysokoonkogennych wirusów brodawczaka ludzkiego, dla wykrywania zmian śródnabłonkowej neoplazji i raka szyjki macicy.

4. Porównanie testu molekularnego identyfikującego wysokoonkogenne typy wirusa brodawczaka ludzkiego z cytodiagnostyką i z testem podwójnym w profilaktyce wtórnej raka szyjki macicy wskazuje na jego wyższą przydatność od tych metod.

7. STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Wstęp: Rak szyjki macicy pozostaje poważnym problemem globalnym. Schorzenie to jest czwartą najczęściej diagnozowaną chorobą nowotworową i czwartą najczęstszą przyczyną zgonów z powodu raka u kobiet. W 2020 roku odnotowano na świecie ponad 600 tysięcy nowych przypadków raka szyjki macicy. Już ponad sto lat temu ukazały się publikacje mówiące o możliwościach wykrywania zmian patologicznych na szyjce macicy we wczesnym stadium. Od tego czasu doszło do wprowadzenia i wielu modyfikacji programów przesiewowych w kierunku stanów przednowotworowych i raka szyjki macicy. Zgodnie z prognozami Światowej Organizacji Zdrowia aktualnie jesteśmy w stanie zapobiegać powstawaniu tej patologii na szeroką skalę przy jednoczesowym zastosowaniu profilaktyki pierwotnej i wtórnej. Szczepienia przeciwko wirusowi brodawczaka ludzkiego, będącego głównym czynnikiem rozwoju kancerogenezy, stanowią profilaktykę pierwotną. Najbardziej rozpowszechnionym narzędziem profilaktyki wtórnej aktualnie jest cytodiagnostyka. Poszerzająca się w zakresie rozwoju patologii szyjki macicy wiedza oraz zmieniająca się struktura społeczeństwa wymuszają poszukiwania nowych, bardziej efektywnych możliwości diagnostycznych śródnabłonkowej neoplazji i raka szyjki macicy. Podstawową metodą badań przesiewowych w tym kierunku w wielu krajach staje się test molekularny identyfikujący typy wysokoonkogenne wirusów brodawczaka ludzkiego.

Cele pracy: Zastosowanie molekularnej identyfikacji wysokoonkogennych wirusów brodawczaka ludzkiego, cytodiagnostyki i testu podwójnego jako narzędzia przesiewowego w wykrywaniu śródnabłonkowej neoplazji i raka szyjki macicy. Porównanie wykorzystania molekularnej identyfikacji wysokoonkogennych wirusów brodawczaka ludzkiego w profilaktyce wtórnej raka szyjki macicy do cytodiagnostyki i testu podwójnego.

Material i metody: Retrospektywna analiza danych pacjentek diagnozowanych w latach 2013-2017 w PPSM GPSK. Do badania włączono 3134 pacjentki z nieprawidłowym wynikiem badania cytologicznego i/lub dodatnim wynikiem testu na obecność DNA wirusa brodawczaka ludzkiego o wysokim potencjale onkogenym. Dla każdego z testów diagnostycznych obliczono czułość, swoistość, pozytywną wartość predykcyjną, negatywną wartość predykcyjną, wyznaczono moc testu obliczając pole powierzchni pod

wykresem krzywej oraz dokładność metody. Dane miary metod diagnostycznych porównano.

Wyniki: Dla identyfikacji zmian o zaawansowaniu CIN 2+ cytodiagnostyka (ASC-US+ / LSIL+) uzyskała czułość odpowiednio na poziomie 98% i 85,273%. Czułość testu DNA HPV wyniosła 84,2%. Bardzo wysoka czułość dotyczyła testu podwójnego – 93,68%. Swoistości tychże narzędzi diagnostycznych wyniosły odpowiednio 4,132%, 41,396%, 53,750% oraz 44,784%. Wiarygodność wyników pozytywnych przy wykorzystaniu PPV dla danych narzędzi diagnostycznych wykazała najniższą wartość 18,402% dla cytodiagnostyki. PPV dla testu molekularnego i podwójnego nie różniły się istotnie statystycznie ($p = 0,2191$). Najwyższe wartości NPV dla wykrywania zmian CIN 2+ uzyskał test podwójny 97,138%. Miary te dla cytodiagnostyki (ASC-US+ / LSIL+) oraz testu DNA HPV wyniosły odpowiednio 90,351%, 92,722% oraz 94,250%.

Wnioski: Wartość diagnostyczna cytodiagnostyki wykorzystanej jako narzędzie skринingowe w procesie wykrywania śródnabłonkowej neoplazji i raka szyjki macicy nie spełnia kryteriów efektywnego narzędzia badania przesiewowego. Test podwójny oraz test molekularny identyfikujący typy wysokoonkogenne wirusów brodawczaka ludzkiego cechuje wysoka wartość diagnostyczna. Porównanie danych narzędzi diagnostycznych w profilaktyce wtórnej raka szyjki macicy wskazuje, że test molekularny powinien być wykorzystany w pierwszorazowym badaniu wykrywającym śródnabłonkową neoplazję i raka szyjki macicy.

8. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM

An evaluation of using molecular identification of hr-HPV DNA in secondary prevention of cervical carcinoma compared to cytology and co-testing.

ABSTRACT

Background: Cervical carcinoma is a serious global problem, being the fourth most common cancer and the fourth most common cause of cancer-related deaths in women. In 2020, more than 600 thousand new cases of cervical carcinoma were recorded worldwide. The first publications that mention the possibility of detecting cervical pathologies at their early stages date back to more than one hundred years ago. Many screening programmes for precancerous cervical lesions and cervical cancer have been introduced since those times, with multiple subsequent modifications. According to the World Health Organization's forecasts, we are currently able to prevent these pathologies on a large scale with the simultaneous use of primary and secondary prevention measures. Primary prevention consists in the immunisation against the human papillomavirus (HPV), which is the main carcinogenetic factor in cervical carcinoma, while currently the most commonly used tool for secondary prevention is cervical cytology. The increasing understanding of cervical pathologies and the changing structure of the society force researchers to look for new, more effective diagnostic tools for identifying cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and cervical carcinoma. Molecular assays identifying high-risk HPV types (hr-HPVs) have become the basic screening tool for these pathologies in many countries.

Aims: To evaluate the diagnostic value of the molecular identification of hr-HPVs, cytology and co-testing when used as screening tools for the detection of CIN and cervical carcinoma. To evaluate the use of molecular identification of hr-HPVs versus cytology and co-testing in secondary prevention of cervical carcinoma.

Material and methods: The data of patients undergoing evaluation at the Cervical Pathophysiology Clinic, Gynaecological and Obstetrical Teaching Hospital in Poznan, Poland, were analysed retrospectively. 3134 patients with an abnormal cytology result and/or a positive test for hr-HPV were included. For each of the diagnostic tests, the sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV),

power (based on the calculation of the area under the curve) were determined, along with the accuracy of the method. The parameters of the diagnostic methods were compared.

Results: The sensitivities of cytology (ASC-US+/LSIL+) for identifying CIN2+ lesions were 98% and 85.273%, respectively. The sensitivity of the HPV DNA test was 84.2%. Co-testing was found to be characterised by a very high sensitivity of 93.68%. The specificities of these tools were, respectively: 4.132%, 41.396%, 53.750% and 44.784%. The reliability of positive results based on PPV values for the diagnostic tools under investigation was the lowest for cytology: 18.402%. The PPV values for the molecular test and co-testing did not differ significantly ($p = 0.2191$). The highest NPV for detecting CIN2+ lesions was found for co-testing: 97.138%. The NPV values for cytology (ASC-US+/LSIL+) and the HPV DNA test were, respectively: 90.351%, 92.722% and 94.250%.

Conclusions: The diagnostic value of cervical cytology used as a screening tool for detecting CIN and cervical carcinoma does not meet the criteria of an effective screening tool. Co-testing and the molecular test identifying hr-HPVs are characterised by high diagnostic values. The comparison of the diagnostic tools for the secondary prevention of cervical carcinoma that were investigated demonstrated that the molecular test should be used as the first-line screening tool for CIN and cervical carcinoma.

Spis wykresów

Wykres 1. Standaryzowane z wiekiem współczynniki zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy na świecie w 2020 roku (Źródło danych IARC/GCO). ³⁶	16
Wykres 2. Współczynniki zachorowalności i umieralności z powodu raka szyjki macicy w Europie w 2020 roku, standaryzowane według wieku (/ 100 000 kobiet-lat). (Źródło danych IARC/GCO). ³⁶	18
Wykres 3. Trend zachorowalności na raka szyjki macicy w Polsce w latach 2000-2018 (Źródło danych KRN).	19
Wykres 4. Trend umieralności na raka szyjki macicy w Polsce w latach 2000-2018 (Źródło danych KRN). ⁴¹	20
Wykres 5. Rozkład zachorowań na raka szyjki macicy w Polsce w 2018 roku w poszczególnych grupach wiekowych (Źródło danych KRN). ⁴¹	20
Wykres 6. Rozkład procentowy zachorowań na raka szyjki macicy w Polsce w 2018 roku w poszczególnych grupach wiekowych (Źródło danych KRN). ⁴¹	21
Wykres 7. Rozkład zgonów na raka szyjki macicy w Polsce w 2018 roku w poszczególnych grupach wiekowych (Źródło danych KRN). ⁴¹	21
Wykres 8. Rozkład procentowy zgonów na raka szyjki macicy w Polsce w 2018 roku w poszczególnych grupach wiekowych (Źródło danych KRN). ⁴¹	22
Wykres 9. Zachorowania na raka szyjki macicy w Polsce w 2018 roku z podziałem na województwa (Źródło danych KRN). ⁴¹	23
Wykres 10. Zgony na raka szyjki macicy w Polsce w 2018 roku z podziałem na województwa (Źródło danych KRN). ⁴¹	24
Wykres 11. Trendy zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy w Wielkopolsce w latach 2000 – 2018, współczynniki standaryzowane według wieku dla populacji światowej (Źródło danych KRN). ⁴¹	26
Wykres 12. Rozkład ilości pacjentek a wiek.	40
Wykres 13. Udział procentowy poszczególnych wyników histopatologicznych wszystkich pacjentek.	42
Wykres 14. Wyniki cytologii z podziałem pacjentek na grupy wiekowe.	43
Wykres 15. Wyniki cytologii z podziałem ze względu na rodność.	43
Wykres 16. Udział procentowy wyników cytologii z uwzględnieniem rodności.	44
Wykres 17. Wyniki testu DNA HPV bez i z podziałem na grupy.	45
Wykres 18. Rozkład dodatnich i ujemnych wyników HPV w zestawieniu z poszczególnymi wynikami histopatologicznymi.	46

Wykres 19. Typy HPV a wyniki histopatologiczne.	46
Wykres 20. Wyniki testu podwójnego z i bez podziału na grupy.	47
Wykres 21. Rozkład dodatnich i ujemnych wyników testu podwójnego w zestawieniu z poszczególnymi wynikami histopatologicznymi.....	47

Spis tabel

Tabela 1. Kryteria dla wdrożenia programu skriningowego. ⁷	7
Tabela 2. Dwanaście zaleceń zawartych w Europejskim Kodeksie Walki z Rakiem (Źródło Europejski Kodeks Walki z Rakiem (ang. The European Code Against Cancer, ECAC)).	8
Tabela 3. Porównanie klasyfikacji wymazów cytologicznych wg Papanicolaou oraz Munich III. ³²	13
Tabela 4. System klasyfikacji TBS dla dysplazji płaskonabłonkowej szyjki macicy. ...	15
Tabela 5. Zachorowalność i umieralność na raka szyjki macicy w Europie w 2018 r z podziałem na cztery strony świata. ³⁷	17
Tabela 6. Współczynniki zachorowalności i umieralności standaryzowane wg wieku dla populacji światowej w poszczególnych województwach w Polsce w 2018 roku (Źródło danych KRN) ⁴¹	25
Tabela 7. Porównanie aktualnych i wcześniejszych wytycznych Amerykańskiego Towarzystwa do spraw Walki z Rakiem (ang. American Cancer Society, ACS) dotyczących badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy. ⁵⁰	28
Tabela 8. Charakterystyka badanej populacji z podziałem na grupy wiekowe i wywiad położniczy.	40
Tabela 9. Zestawienie wyników cytodiagnostyki, testu DNA HPV oraz testu podwójnego z badaniem histopatologicznym, w badanej populacji, bez podziału na grupy.	48
Tabela 10. Zestawienie wyników cytodiagnostyki, testu DNA HPV oraz testu podwójnego z badaniem histopatologicznym, w badanej populacji, z podziałem na grupy wiekowe.	49
Tabela 11. Zestawienie wyników cytodiagnostyki, testu DNA HPV oraz testu podwójnego z badaniem histopatologicznym, w badanej populacji, z podziałem na grupy ze względu na rodność pacjentek.	50
Tabela 12. Weryfikacja wiarygodności cytodiagnostyki, testu DNA HPV i testu podwójnego dla badanej populacji przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.	51
Tabela 13. Porównanie czułości, swoistości, PPV i NPV cytodiagnostyki (ASC-US+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.	52
Tabela 14. Porównanie AUC cytodiagnostyki (ASC-US+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.	53

Tabela 15. Porównanie czułości, swoistości, PPV i NPV testu podwójnego i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.	53
Tabela 16. Porównanie AUC testu podwójnego i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.	54
Tabela 17. Porównanie czułości, swoistości, PPV i NPV cytodiagnostyki (LSIL+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.	54
Tabela 18. Porównanie AUC cytodiagnostyki (LSIL+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.	55
Tabela 19. Weryfikacja wiarygodności cytodiagnostyki, testu DNA HPV i testu podwójnego dla badanej populacji z podziałem na grupy wiekowe przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.	55
Tabela 20. Weryfikacja wiarygodności cytodiagnostyki, testu DNA HPV i testu podwójnego dla badanej populacji z podziałem na grupy ze względu na rodność pacjentek przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.	56
Tabela 21. Porównanie miar testów diagnostycznych grupami przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 1+.	57
Tabela 22. Weryfikacja wiarygodności cytodiagnostyki, testu DNA HPV i testu podwójnego dla badanej populacji przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.	59
Tabela 23. Weryfikacja wiarygodności cytodiagnostyki, testu DNA HPV i testu podwójnego dla badanej populacji z podziałem na grupy wiekowe przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.	60
Tabela 24. Weryfikacja wiarygodności cytodiagnostyki, testu DNA HPV i testu podwójnego dla badanej populacji z podziałem na grupy ze względu na rodność pacjentek przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.	61
Tabela 25. Porównanie miar testów diagnostycznych grupami przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.	62
Tabela 26. Porównanie czułości, swoistości, PPV i NPV cytodiagnostyki (ASC-US+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.	63
Tabela 27. Porównanie czułości, swoistości, PPV i NPV cytodiagnostyki (LSIL+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.	64
Tabela 28. Porównanie AUC cytodiagnostyki (ASC-US+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.	64

Tabela 29. Porównanie AUC cytodiagnostyki (LSIL+) i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.....	65
Tabela 30. Porównanie AUC testu podwójnego i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.....	65
Tabela 31. Porównanie czułości, swoistości, PPV i NPV testu podwójnego i testu DNA HPV przy uznaniu za chorobę rozpoznanych histopatologicznych CIN 2+.	66

PIŚMIENNICTWO

- ¹Beaglehole R., Bonita R., Kjellstrom T., Rozdział 6. Epidemiologia i profilaktyka W: Podstawy epidemiologii. Pod redakcją: Starzyńska T, Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, Łódź 2002, 104-110
- ²Croswell J. M., Ransohoff D. F., Kramer B. S., Principles of Cancer Screening: Lessons From History and Study Design Issues, Seminars in Oncology, 2010, 37(3), 202–215
- ³Dobell, H. Lectures on the Germs and Vestiges of Disease, and on the Prevention of the Invasion and Fatality of Disease by Periodical Examinations. The British and Foreign Medico-Chirurgical Review, 1862, 30(60), 451–453
- ⁴Gould GM., A system of personal biologic examinations the condition of adequate medical and scientific conduct of life, Journal of the American Medical Association, JAMA 1900, 35 (3), 134–138
- ⁵Childe CP., The control of a scourge, or, How cancer is curable. New York: E.P. Dutton & Company, 1907
- ⁶Emerson H., Periodic medical examinations of apparently healthy persons, Journal of the American Medical Association, JAMA 1923, 80, 1376–1381
- ⁷Wilson JMG., Jungner G., Principles and Practice of Screening for Disease. Geneva: World Health Organization; 1968
- ⁸Katzke V. A., Kaaks R., Kühn T., Lifestyle and Cancer Risk. The Cancer Journal, 2015, 21(2), 104-110
- ⁹Rieck G., Fiander A., The effect of lifestyle factors on gynaecological cancer. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology, 2006, 20(2), 227–251
- ¹⁰McKenzie F., Biessy C., Ferrari P. i wsp., Healthy Lifestyle and Risk of Cancer in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition Cohort Study. Medicine (Baltimore) 2016, 95(16), 2850
- ¹¹<https://www.europeancancerleagues.org/cancer-prevention-the-european-code-against-cancer/> dostęp 11.2020
- ¹²Uchwała nr 10 Rady Ministrów z dnia 4 lutego 2020 r. w sprawie przyjęcia programu wieloletniego pn. Narodowa Strategia Onkologiczna na lata 2020-2030, MONITOR POLSKI DZIENNIK URZĘDOWY RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ , Warszawa, dnia 18 lutego 2020 r. Poz. 189
- ¹³<https://www.cdc.gov/cancer/dcpc/prevention/screening.htm> dostęp 11.2020
- ¹⁴Siu AL., U.S. Preventive Services Task Force. Screening for breast cancer: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement, Annals of Internal Medicine, 2016, 164(4), 279–296
- ¹⁵Committee on Practice Bulletins–Gynecology. Practice bulletin number 179: Breast cancer risk assessment and screening in average-risk women, Obstetrics and Gynecology, 2017, 130(1), e1–e16

-
- ¹⁶Monticciolo DL., Newell MS., Hendrick RE. i wsp., Breast cancer screening for average-risk women: Recommendations from the ACR commission on breast imaging, *Journal of the American College of Radiology*, 2017, 14(9), 1137–1143
- ¹⁷Public Health England Guidance. Breast screening supporting information, Dostępne na stronie: <https://www.gov.uk/government/publications/breast-screening-consolidated-programme-standards/breast-screening-supporting-information>, dostęp z 01.2021
- ¹⁸Narodowy Fundusz Zdrowia, Dostępne na stronie: <https://www.nfz.gov.pl/>, dostęp z 11.2020
- ¹⁹Rashtak S., Rego R., Sweetser SR., Sinicrope FA., Sessile Serrated Polyps and Colon Cancer Prevention, *Cancer Prevention Research*, 2017, 10(5), 270-278
- ²⁰Rex DK., Boland R., Dominitz JA. i wsp., Colorectal cancer screening: Recommendations for physicians and patients from the U.S. Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, *Gastrointestinal Endoscopy*, 2017, 86(1), 18-33
- ²¹Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy, Dostępne na stronie: <http://pbp.org.pl/program/>, dostęp z 11.2020
- ²²Papanicolaou GN., New Cancer Diagnosis. Proceedings of the Third Race Betterment Conference, 1928, 528-534
- ²³Papanicolaou GN., Traut HT, The Diagnostic Value of Vaginal Smears in Carcinoma of the Uterus, *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, 1941, 42, 193
- ²⁴Papanicolaou GN., Traut HT, New Procedure for Staining Vaginal Smears, *Science*, 1942, 95, 438
- ²⁵Traut HT., Papanicolaou GN., Diagnosis of Uterine Cancer by the Vaginal Smear, *California and western medicine*, 1943, 59(2), 121–122
- ²⁶Hinselmann H., Verbesserung der Inspektionsmöglichkeit von Vulva, Vagina und Portio, *Münchener Medizinische Wochenschrift*, 1925, 77, 1733
- ²⁷Burghardt E., Pickel H., Girardi F., Colposcopy – Cervical Pathology: Textbook and Atlas 3rd edition, Theime New York 1998
- ²⁸Fusco E., Padula F., Mancini E. i wsp., History of colposcopy: a brief biography of Hinselmann, *Journal of Prenatal Medicine*, 2008, 2(2), 19–23
- ²⁹Horner MJ., Altekruse SF., Zou Z., Wideroff L., Katki HA., Stinchcomb DG., U.S. geographic distribution of prevaccine era cervical cancer screening, incidence, stage, and mortality, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 2011, 20(4), 591-599
- ³⁰Linós A., Riza E., Comparisons of cervical cancer screening programmes in the European Union, *European Journal of Cancer*, 2000, 36(17), 2260-2265
- ³¹IARC Working Group on Cervical Cancer Screening, Screening for cancer of the uterine cervix, IARC Scientific Publication, 1986, 76, 15-24
- ³²Cirkeş Ch., Barop C., Beyer DA., Method comparison between Munich II and III nomenclature for Pap smear samples, *Journal of the Turkish-German Gynecological Association*, 2015, 16, 203-207

-
- ³³Nayar R., Wilbur D., The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology, Definitions, Criteria, and Explanatory Notes, Springer, 2015, 125-126
- ³⁴Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R. L., Torre L.A., Jemal A., Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries, CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2018, 68, 394–424
- ³⁵Latest global cancer data: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018, International Agency for Research on Cancer, WHO 2018
- ³⁶Ferlay J., Ervik M., Lam F. i wsp., Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2020, Dostępne na stronie: <https://gco.iarc.fr/today>, dostęp z 01.2021
- ³⁷Arbyn M., Weiderpass E., Bruni L. i wsp., Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: a worldwide analysis, Lancet Glob Health, 2020, 8, 191–203
- ³⁸Arbyn M., Gultekin M., Morice P. i wsp., The European response to the WHO call to eliminate cervical cancer as a public health problem, International Journal of Cancer, 2021, 148(2), 277-284
- ³⁹Didkowska Joanna, Wojciechowska Urszula. Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce. Krajowy Rejestr Nowotworów, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy. Dostępne na stronie: <http://onkologia.org.pl/k/epidemiologia/>, dostęp z 01.2021
- ⁴⁰Zatoński W., Didkowska J., Wojciechowska U., Prognozy zachorowalności i umieralności na nowotwory złośliwe w Polsce do 2025 roku, Warszawa 2009, 51-55
- ⁴¹Wojciechowska Urszula, Didkowska Joanna. Zachorowania i zgony na nowotwory złośliwe w Polsce. Krajowy Rejestr Nowotworów, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy. Dostępne na stronie: <http://onkologia.org.pl/raporty/>, dostęp z 01.2021
- ⁴²Simms K.T., Steinberg J., Caruana, M. i wsp., Impact of scaled up human papillomavirus vaccination and cervical screening and the potential for global elimination of cervical cancer in 181 countries, 2020–99: a modelling study, The Lancet Oncology, 2019, 20(3), 394-407
- ⁴³Anttila A., Ronco G., Description of the national situation of cervical cancer screening in the member states of the European Union, European Journal of Cancer, 2009, 45(15), 2685-708
- ⁴⁴Załącznik nr 3 do zarządzenia Nr 86/2005 Prezesa Narodowego Funduszu Zdrowia
- ⁴⁵Boone J.D., Erickson B.K., Huh W.K., New insights into cervical cancer screening, Journal of Gynecologic Oncology, 2012, 23(4), 282-287
- ⁴⁶Oh JK., Shin HR., Gong G., Sohn JH., Khang SK., Diagnostic accuracy of conventional Pap test, liquid-based cytology and human papillomavirus DNA testing in cervical cancer screening in Korea: a meta-analysis, Korean Journal of Epidemiology, 2008, 30(2), 178-187
- ⁴⁷Finnish Cancer Registry, <https://tilastot.syoparekisteri.fi/seulonta>, updated 2020-05-12, dostęp z 02.2021

-
- ⁴⁸Hristova L., Hakama M., Effect of screening for cancer in the Nordic countries on deaths, costs and quality of life up to the year 2017, *Acta Oncologica* 1997, 36 (Suppl 9), 1–60
- ⁴⁹Veijalainen O., Kares S., Kotaniemi-Talonen L. i wsp., Primary HPV screening for cervical cancer: results after two screening rounds in a regional screening program in Finland, *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, 2021, 100(3), 403-409
- ⁵⁰Fontham ETH., Wolf A., Church TR. i wsp., Cervical cancer screening for individuals at average risk: 2020 guideline update from the American Cancer Society, CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2020, 70(5), 321-346
- ⁵¹de Villiers E., Fauquet C., Broker T., Bernard HU., zur Hausen H., Classification of papillomaviruses, *Virology*, 2004, 324(1), 17-27
- ⁵²Bernard HU., Taxonomy and phylogeny of papillomaviruses: An overview and recent developments, *Infection, Genetics and Evolution*, 2013, 18: 357-361
- ⁵³Nowakowski A., Kotarski J., Kliniczne postacie zakażeń HPV. Clinical manifestations of HPV infections, *Ginekologia Polska*, 2007, 78, 709-714
- ⁵⁴Burd EM., Human Papillomavirus and Cervical Cancer, *Clinical Microbiology Reviews*, 2003, 16(1), 1–17
- ⁵⁵Kędzia W., Goździcka – Józefiak A., Mechanizm kancerogenezy zachodzący w komórkach nabłonka paraepidermalnego szyjki macicy zakażonych przewlekłe onkogennymi typami wirusa brodawczaka ludzkiego, *Ginekologia Polska*, 2007, 78, 701-708
- ⁵⁶Broniarczyk J., Koczorowska MM., Durzyńska J., Warowicka A., Goździcka-Józefiak A., Struktura i właściwości wirusa brodawczaka ludzkiego, *Biotechnologia* 2010, 3(90), 126-145
- ⁵⁷The Pan American Health Organization (PAHO). Dostępne na stronie: <https://www.paho.org/en>, dostęp z 02.2021
- ⁵⁸Martínez SB., Palomares JC., Artura A. i wsp., Comparison of the Cobas 4800 Human Papillomavirus test against a combination of the Amplicor Human Papillomavirus and the Linear Array tests for detection of HPV types 16 and 18 in cervical samples, *Journal of Virological Methods*, 2012, 180(1-2), 7–10
- ⁵⁹Sabour S., Assessing the diagnostic value of Xpert HPV, *The Lancet Global Health*, 2020, 8(8), 997
- ⁶⁰Clavel C., Masure M., Putaud I. i wsp., Hybrid capture II, a new sensitive test for human papillomavirus detection. Comparison with hybrid capture I and PCR results in cervical lesions. *Journal of Clinical Pathology*, 1998, 51(10), 737–740
- ⁶¹Jeantet D., Schwarzmam F., Tromp J. i wsp., NucliSENS® EasyQ® HPV v1 test – Testing for oncogenic activity of human papillomaviruses, *Journal of Clinical Virology*, 2009, 45, 29-37
- ⁶²Weston G., Dombrowski C., Harvey MJ. i wsp., Use of the Aptima mRNA high- risk human papillomavirus (HR- HPV) assay compared to a DNA HR- HPV assay in the English cervical screening programme: a decision tree model based economic evaluation, *BMJ Open*, 2020, 10(3), e031303

-
- ⁶³Kraus I., Molden T., Holm R. i wsp., Presence of E6 and E7 mRNA from Human Papillomavirus Types 16, 18, 31, 33, and 45 in the Majority of Cervical Carcinomas, *Journal of Clinical Microbiology*, 2006, 44(4), 1310–1317
- ⁶⁴Krings A., Dückelmann AM., Moser L. i wsp., Performance of OncoE6 cervical test with collection methods enabling self-sampling, *BMC Womens Health*, 2018, 18, 68
- ⁶⁵The Nobel Assembly at Karolinska Institutet, The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2008
- ⁶⁶Ronco G., Dillner J., Elfstrom KM. i wsp., Efficacy of HPV-based screening for prevention of invasive cervical cancer: follow-up of four European randomised controlled trials, *Lancet*, 2014, 383, 524-532
- ⁶⁷Sankaranarayanan R., HPV vaccination: the most pragmatic cervical cancer primary prevention strategy, *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 2015; 131, 33-35
- ⁶⁸Sangar VC., Ghongane B., Mathur G., Development of Human Papillomavirus (HPV) Vaccines: A Review of Literature and Clinical Update, *Reviews on Recent Clinical Trials*, 2016, 11(4), 284-289
- ⁶⁹Hebbar A., Murthy VS., Role of p16/INK4a and Ki-67 as specific biomarkers for cervical intraepithelial neoplasia: An institutional study, *Journal of laboratory physicians*, 2017, 9(2), 104-110
- ⁷⁰Clarke MA., Gradissimo A., Schiffman M. i wsp., Papillomavirus DNA Methylation as a Biomarker for Cervical Precancer: Consistency across 12 Genotypes and Potential Impact on Management of HPV-Positive Women, *Clinical Cancer Research*, 2018, 24(9), 2194–2202
- ⁷¹Simms KT., Steinberg J., Caruana M. i wsp., Towards global elimination of cervical cancer in all groups of women – Authors' reply, *Lancet Oncology*, 2019, 20(5), 239
- ⁷²Canfell K., Kim JJ., Brisson M. i wsp., Mortality impact of achieving WHO cervical cancer elimination targets: a comparative modelling analysis in 78 low-income and lower-middle-income countries, *Lancet*, 2020, 22:395(10224), 591-603
- ⁷³Cobas® 4800 HPV Test do stosowania w diagnostyce in vitro. – informacja o produkcji firmy Roche Diagnostics GmbH. Roche Molecular Systems, Inc. 08/2015, Doc Rev. 12.0 05990335001-11PL
- ⁷⁴Basta A, Jach R., Kolposkopia w diagnostyce CIN i raka szyjki macicy. Całości w: Profilaktyka pierwotna i wtórna raka szyjki macicy, diagnostyka i leczenie : książka dla lekarzy, położnych i studentów : praca zbiorowa / pod red. Marka Spaczyńskiego, Witolda Kędzi, Ewy Nowak-Markwitz, 2008, 58-68.
- ⁷⁵Arbyn M., Buntinx F., Van Ranst M., Paraskevaidis E., Martin-Hirsch M., Joakim Dillner J., Virologic versus cytologic triage of women with equivocal pap smears: a meta-analysis of the accuracy to detect high-grade intraepithelial neoplasia. *Journal of the National Cancer Institute*, 2004, 96(4), 280–293
- ⁷⁶Koliopoulos G., Nyaga VN., Santesso N. i wsp., Cytology versus HPV testing for cervical cancer screening in the general population, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2017 doi:10.1002/14651858.cd008587.pub2

-
- ⁷⁷Zhao L., Wentzensen, N., Zhang RR. i wsp., Factors associated with reduced accuracy in Papanicolaou tests for patients with invasive cervical cancer, *Cancer Cytopathology*, 2014, 122(9), 694–701
- ⁷⁸Rosa M., Pragasam P., Saremian J., Aoalin A., Graf W., Mohammadi A., The unsatisfactory ThinPrepVR Pap Test: analysis of technical aspects, most common causes, and recommendations for improvement, *Diagnostic Cytopathology*, 2013, 41(7), 588-594
- ⁷⁹Siebers AG., Klinkhamer PJ., Vedder JE., Arbyn M., Bulten J., Causes and relevance of unsatisfactory and satisfactory but limited smears of liquid-based compared with conventional cervical cytology, *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 2012, 136, 76-83
- ⁸⁰Arbyn M., Bergeron C., Klinkhamer P., Martin-Hirsch P., Siebers AG., Bulten J., Liquid Compared With Conventional Cervical Cytology, *Obstetrics & Gynecology*, 2008, 111(1), 167–177
- ⁸¹Barut MU., Kale A., Kuyumcuoğlu U. i wsp., Analysis of Sensitivity, Specificity, and Positive and Negative Predictive Values of Smear and Colposcopy in Diagnosis of Premalignant and Malignant Cervical Lesions, *Medical Science Monitor*, 2015, 21, 3860–3867
- ⁸²De Francesco MA., Gargiulo F., Schreiber C., Ciravolo G., Salinaro F., Manca N., Comparison of the AMPLICOR Human Papillomavirus Test and the Hybrid Capture 2 Assay for detection of high-risk human papillomavirus in women with abnormal PAP smear, *Journal of Virological Methods*, 2008, 147(1), 10–17
- ⁸³Mayrand MH., Duarte-Franco E., Rodrigues I. i wsp., Canadian Cervical Cancer Screening Trial Study Group : HPV DNA testing vs Papanicolaou screening tests for cervical cancer, *The New England Journal of Medicine*, 2007, 357(16), 1579-1588
- ⁸⁴Spayne J., Hesketh T., Estimate of global human papillomavirus vaccination coverage: analysis of country-level indicators, *BMJ Open*, 2021, 11(9):e052016
- ⁸⁵Brisson M., Kim J.J., Canfell K. i wsp., Impact of HPV vaccination and cervical screening on cervical cancer elimination: a comparative modelling analysis in 78 low-income and lower-middle-income countries, *The Lancet*, 2020, 22,395(10224), 575-590
- ⁸⁶Franco EL., Cuzick J., Hildesheim A, de Sanjose S., Chapter 20: issues in planning cervical cancer screening in the era of HPV vaccination, *Vaccine*, 2006, 24, 171-177
- ⁸⁷Ferreccio C., Bratti MC., Sherman ME. i wsp., A comparison of single and combined visual, cytologic, and virologic tests as screening strategies in a region at high risk of cervical cancer, *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 2003, 12(9), 815-823
- ⁸⁸Jin J., Yue CY., Analysis of the efficacy of liquid-based cytology combined with HPV genotypes in screening cervical lesions in women of different ages, *Journal of Laboratory Medicine*, 2020, 44(3), 151–156
- ⁸⁹Schiffman M., Khan MJ., Solomon D. i wsp., A Study of the Impact of Adding HPV Types to Cervical Cancer Screening and Triage Tests. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, 2005, 97(2), 147–150
- ⁹⁰De Sanjose S., Quint WG., Alemany L. i wsp., Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study, *The Lancet Oncology*, 2010, 11(11), 1048–1056

-
- ⁹¹Kędzia W., Pruski D., Józefiak A., Rokita W., Spaczyński M., Genotypowanie onkogennych wirusów brodawczaka ludzkiego u kobiet z rozpoznaniem HG SIL, *Ginekologia Polska*, 2010, 81, 740-744
- ⁹²Brotherton JM., Gertig DM., May C., Chappell G., Saville M., HPV vaccine impact in Australian women: ready for an HPV-based screening program, *The Medical Journal of Australia*, 2016, 204(5), 184
- ⁹³Canfell K., Chesson H., Kulasingam SL., Berkhof J., Diaz M., Kim JJ., Modeling preventative strategies against human papillomavirus-related disease in developed countries, *Vaccine*, 2012, 30, 157-167
- ⁹⁴National Immunisation Strategy for Australia 2019–2024, Dostępne na stronie: www.health.gov.au, dostęp z 02.2021
- ⁹⁵Hall MT., Simms KT., Lew JB. i wsp., The projected timeframe until cervical cancer elimination in Australia: a modelling study. *Lancet Public Health*, 2019, 4(1), 19-27
- ⁹⁶National cervical screening program: guidelines for the management of screen-detected abnormalities, screening in specific populations and investigation of abnormal vaginal bleeding. Dostępne na stronie: http://wiki.cancer.org.au/australia/Guidelines:Cervical_cancer/Screening, dostęp: 06.10.2020
- ⁹⁷Zhao Y., Bao H., Ma L. i wsp., Real-world effectiveness of primary screening with high-risk human papillomavirus testing in the cervical cancer screening programme in China: a nationwide, population-based study, *BMC Medicine* 2021, 19(1), 164
- ⁹⁸Muñoz N., Franceschi S., Bosetti C. i wsp., Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study, *The Lancet*, 2002, 359(9312), 1093–1101
- ⁹⁹Hinkula M., Pukkala E., Kyyrönen P. i wsp., A population-based study on the risk of cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia among grand multiparous women in Finland, *British Journal of Cancer*, 2004, 90(5), 1025–1029
- ¹⁰⁰Arbyn M., Smith SB., Temin S., Sultana F., Castle P., Detecting cervical precancer and reaching underscreened women by using HPV testing on self samples: updated metaanalyses. *BMJ Open*, 2018, 363:k4823
- ¹⁰¹Yeh PT., Kennedy CE., de Vuyst H., Narasimhan M., Self-sampling for human papillomavirus (HPV) testing: a systematic review and meta-analysis, *BMJ Global Health*, 2019, 4(3), e001351
- ¹⁰²El-Zein M., Bouten S., Louvanto K. i wsp., Predictive value of HPV testing in self-collected and clinician-collected samples compared with cytology in detecting high-grade cervical lesions, *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 2019, 28(7), 1134-1140
- ¹⁰³Gustavsson I., Aarnio R., Berggrund M. i wsp., Randomised study shows that repeated self-sampling and HPV test has more than two-fold higher detection rate of women with CIN2+ histology than Pap smear cytology, *British Journal of Cancer*, 2018, 118(6), 896–904
- ¹⁰⁴Ørnskov D., Jochumsen K., Steiner PH. i wsp., Clinical performance and acceptability of self- collected vaginal and urine samples compared with clinician-taken cervical

samples for HPV testing among women referred for colposcopy. A cross-sectional study, *BMJ Open*, 2021, 11:e041512

¹⁰⁵Polman NJ., de Haan Y., Veldhuijzen NJ. i wsp., Experience with HPV self-sampling and clinician-based sampling in women attending routine cervical screening in the Netherlands, *Preventive Medicine*, 2019, 125, 5–11

¹⁰⁶De Pauw H., Donders G., Weyers S. i wsp., Cervical cancer screening using HPV tests on self-samples: attitudes and preferences of women participating in the VALHUDES study. *Archives of Public Health*. 2021; 79, 155

¹⁰⁷Arbyn M., Bruni L., Kelly D. i wsp., Tackling cervical cancer in Europe amidst the COVID-19 pandemic, *The Lancet Public Health*, 2020, 5(8), e425

¹⁰⁸Elfström KM., Arnheim-Dahlström L., von Karsa L., Dillner J., Cervical cancer screening in Europe: Quality assurance and organisation of programmes, *European Journal of Cancer*, 2015, 51(8), 950–968

¹⁰⁹Aarnio R., Östensson E., Olovsson M., Gustavsson I., Gyllensten U., Cost-effectiveness analysis of repeated self-sampling for HPV testing in primary cervical screening: a randomized study, *BMC Cancer*, 2020, 20(1), 645

¹¹⁰Vale DB., Silva MT., Discacciati MG., Polegatto I., Teixeira JC., Zeferino LC., Is the HPV-test more cost-effective than cytology in cervical cancer screening? An economic analysis from a middle-income country, *PLoS ONE*, 2021, 16(5):e0251688 <https://doi.org/10.1371/journal>

¹¹¹Dillner J., Rebolj M., Birembaut P. i wsp., 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 doi:10.1136/bmj.a1754

¹¹²Agorastos T., Sotiriadis A., Chatzigeorgiou K., Can HPV testing replace the pap smear?, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2010, 1205(1), 51–56

¹¹³WHO. Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem. Geneva: WHO, 2020

Załącznik 1 – Zgoda Komisji Bioetycznej



UNIwersytet Medyczny Im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Komisja Bioetyczna przy Uniwersytecie Medycznym
Im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Collegium Stomatologicum
ul. Bukowska 70
60-812 Poznań

tel. (+48 61) 854 73 36
www.bioetyka.ump.edu.pl

Uchwała nr 76/19

Ustawa z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty (t.j. Dz. U. z 2018 r., poz. 617 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. z 1999 r., Nr 47, poz. 480); Ustawa z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 2211 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. z 2004 r. Nr 101, poz. 1034 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Finansów z dnia 18 maja 2003 r. zmieniającego rozporządzenie w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej badacza i sponsora (Dz. U. z 2003 r. Nr 101, poz. 845); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie sposobu prowadzenia badań klinicznych z udziałem małoletnich (Dz. U. z 2004 r. Nr 104, poz. 1108); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 30 kwietnia 2004 r. w sprawie zgłaszania niespodziewanego ciężkiego niepożądanego działania produktu leczniczego (Dz. U. z 2004 r. Nr 104, poz. 1107); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 17 lutego 2016 r. w sprawie wzorów wniosków związanych z badaniem klinicznym wyrobu medycznego lub aktywnego wyrobu medycznego do implantacji oraz wysokości opłat za złożenie tych wniosków (Dz. U. z 2016 r., poz. 200); Ustawa z dnia 20 maja 2010 r. o wyrobach medycznych (t.j. Dz. U. z 2017 r., poz. 211, z późn. zm.); Rozporządzenie Ministra Finansów z dnia 6 października 2010 r. w sprawie obowiązkowego ubezpieczenia odpowiedzialności cywilnej sponsora i badacza klinicznego w związku z prowadzeniem badania klinicznego wyrobów (Dz. U. z 2010 r. Nr 194, poz. 1290); Ustawa z dnia 18 marca 2011 r. o Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych (t.j. Dz. U. z 2016 r., poz. 1718 z późn. zm.); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 2 maja 2012 r. w sprawie Dobrej Praktyki Klinicznej (Dz. U. z 2012 r., poz. 489); Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 12 października 2018 r. w sprawie wzorów dokumentów przedkładanych w związku z badaniem klinicznym produktu leczniczego oraz opłat za złożenie wniosku o rozpoczęcie badania klinicznego (Dz. U. z 2018 r., poz. 1994); w oparciu o Deklarację Helsińską - Zasady Etycznego Postępowania w Eksperymentach Medycznych z Udziałem Ludzi oraz przepisy ICH GCP.

Komisja Bioetyczna, na posiedzeniu w dniu 10 stycznia 2019 r.

rozpatrzyła wniosek dotyczący prowadzenia badań naukowych.

Kierownik projektu:

prof. dr hab. n. med. Witold Kędzia

Miejsce prowadzenia badań:

**Klinika Ginekologii Katedry Perinatologii i Ginekologii
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu**

Główny badacz:

lek. Ewa Szłyk

Temat badań:

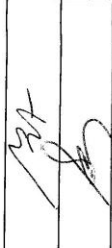
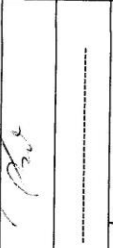
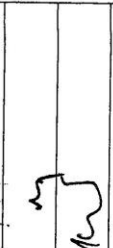
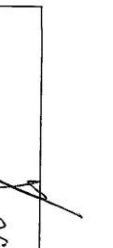
„Ocena wykorzystania molekularnej identyfikacji DNA HPV HR w profilaktyce wtórnej raka szyjki macicy w porównaniu do cytodiagnostyki i testu podwójnego”.

Komisja wydała uchwałę o pozytywnym zaopiniowaniu tego wniosku

Przewodniczący Komisji

prof. zw. dr hab. med. Paweł Chęciński

Podpisy członków Komisji Bioetycznej podejmujących Uchwałę nr 46/19 z dnia 10.01.2019r.

Lp.	Imię i Nazwisko	Specjalność	Miejsce Pracy	Podpis
1.	Przewodniczący Komisji prof. dr hab. Paweł Chęciński	chirurgia ogólna, naczyniowa i angiologia	Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej oraz Angiologii UMP, ZOZ MSWiA, ul. Dojazd 34, 60-631 Poznań.	
2.	Z-ca Przewodniczącego Komisji prof. dr hab. Janusz Wiśniewski	filozof	Wydział Nauk Politycznych i Dziennikarstwa UAM, ul. Umultowska 89A, 61-614 Poznań.	
3.	prof. dr hab. Zygmunt Adamski	dermatologia i wenerologia	Katedra i Klinika Dermatologii UMP, ul. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań	
4.	dr Krystyna Babiak	prawnik	Kancelaria Radcy Prawnego, dr Krystyna Babiak, ul. Czartoria 1/2, 61-102 Poznań.	
5.	ks. prof. UAM dr hab. Andrzej Bohdanowicz	teologia	Wydział Teologiczny Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu, ul. Wieszowa 2/4, Poznań	
6.	prof. dr hab. Maciej Krawczyński	genetyka kliniczna, okulistyka	Katedra i Zakład Genetyki Medycznej UMP, ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań.	
7.	mgr Jolanta Łojko-Kolodziejczak	pielęgniarka	Pielęgniarka Oddziałowa Izby Przyjęć Pediatrii Szpitala Klinicznego im. Karola Jonschera UMP, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań.	
8.	mgr Krystyna Malinger	farmaceuta	Apteka Ginekologiczno-Położniczego Szpitala Klinicznego UMP, ul. Polna 33, 60-535 Poznań.	
9.	prof. dr hab. Andrzej Marszałek	patomorfologia	Katedra i Zakład Patologii i Profilaktyki Nowotworów UMP, ul. Garbary 15, 61-866 Poznań.	
10.	prof. dr hab. Maciej Owecki	choroby wewnętrzne, endokrynologia	Zakład Zdrowia Publicznego UMP, ul. Dąbrowskiego 79, 60-529 Poznań.	
11.	prof. dr hab. Wojciech Służewski	pediatria, neurologia dziecięca, choroby zakaźne	Klinika Chorób Zakaźnych i Neurologii Dziecięcej UMP, ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań.	
12.	prof. dr hab. Robert Spaczyński	ginekologia i położnictwo	Klinika Niepłodności i Endokrynologii Rozrodu UMP, ul. Polna 33, 60-535 Poznań.	
13.	dr med. Piotr Tomczak	onkologia kliniczna, radioterapia	Klinika Onkologii UMP, ul. Szamarzewskiego 82/84, 60-569 Poznań.	
14.	prof. dr hab. Joanna Twarowska- Hauser	psychiatria	Klinika Psychiatrii Dorosłych, Zakład Genetyki w Psychiatrii UMP, ul. Rokietnicka 8, 60-806 Poznań.	
15.	prof. dr hab. Henryk Wysocki	choroby wewnętrzne, kardiologia	Wyższa Szkoła Pedagogiki i Administracji im. Mieszka I w Poznaniu, ul. Bułgarska 55, 60-320 Poznań.	