



Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Kazimierz Hercuń

**Porównanie dwóch systemów
oceny cytologicznej
rozmazów z szyjki macicy
w badaniach przesiewowych**

ROZPRAWA DOKTORSKA

**wykonana pod kierunkiem
dr hab. Jerzego Heimratha**

SPIS TREŚCI

1.WSTĘP

1.1. Epidemiologia raka szyjki macicy

Rak szyjki macicy jest drugim po raku sutka najczęściej występującym nowotworem złośliwym u kobiet. Jak podają statystyki, rocznie rozpoznaje się 430-500 tysięcy nowych zachorowań na raka szyjki macicy, a liczba zgonów wywołanych tym nowotworem sięga 200 tysięcy kobiet rocznie. Szacunkowe obliczenia dowodzą, że co minutę wykrywa się na świecie nowe zachorowanie na raka szyjki macicy, a co dwie minuty umiera z tego powodu jedna kobieta. Zachorowalność na ten nowotwór znacznie różni się dla poszczególnych państw, miast czy rejonów geograficznych. Duże rozbieżności we współczynnikach epidemiologicznych charakteryzujących zachorowalność i umieralność na raka dotyczą również przynależności rasowej i etnicznej. Najwyższą zachorowalność na raka szyjki macicy odnotowano w krajach Ameryki Południowej - Peru i Brazylii oraz w Afryce - w Zimbabwie i Ugandzie, a najniższą w Izraelu. W peruwiańskim mieście Trujillo współczynnik zachorowalności na raka szyjki macicy wynosi 54.6 na 100 tysięcy kobiet, w Izraelu natomiast 3 na 100 tysięcy kobiet [1].

Polska pod względem zachorowalności na raka szyjki macicy zajmuje średnią pozycję wśród krajów świata – 12.4 na 100 tysięcy kobiet w 2003 roku. Należy dodać, że w chińskiej prowincji Qidong współczynnik ten wynosił 2.2 na 100 tysięcy kobiet, a w Brazylii 38.2 na 100 tysięcy kobiet. Współczynnik umieralności w Polsce wynosi 6.0 na 100 tysięcy kobiet, przy czym dla porównania w Finlandii wynosi on 1.8, a w Meksyku 14.7 na 100 tysięcy kobiet [1].

Analizując wyniki badań epidemiologicznych dotyczących Polski obserwujemy od lat 80-tych XX wieku bardzo nieznaczny spadek zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy. Krzywa zachorowalności na raka szyjki macicy wykazuje bardzo szybką tendencję wzrostową począwszy od grupy wiekowej 30-35 lat, aż do osiągnięcia najwyższego poziomu w przedziale wiekowym 45-59 lat. W grupie pacjentek powyżej 59 lat zachorowalność stopniowo obniża się. Krzywa umieralności również wykazuje silny wzrost wraz z wiekiem, poczynając od grupy wiekowej 35-40 lat, a kończąc w przedziale wiekowym 80-84 lata, w którym krzywa umieralności osiąga swoje maksimum [1].

Niezwykle ważnym parametrem w ocenie epidemiologicznej raka szyjki macicy jest odsetek pięcioletnich względnych przeżyć kobiet chorujących na ten nowotwór z uwagi na to, iż jest to dobry i miarodajny wskaźnik wyleczalności. Niestety statystyki są dla Polski alarmujące. Według badania EURO CARE-3 Polska należy do krajów o najniższym odsetku

5-letnich przeżyć względnych kobiet chorych na raka szyjki macicy w konfrontacji z 16 pozostałymi krajami uczestniczącymi w tym badaniu [2]. Polskę w statystykach epidemiologicznych przedstawia się jako kraj o podwyższonym ryzyku zachorowań na raka szyjki macicy, gdzie współczynnik zachorowalności i umieralności jest najwyższy spośród wszystkich państw Unii Europejskiej.

Niewątpliwie bardzo interesującym faktem w epidemiologii raka szyjki macicy jest związek między zachorowalnością a rozwojem cywilizacyjnym. Szacuje się, że 80% nowych zachorowań przypada na państwa rozwijające się. Spadek zachorowalności i umieralności w krajach rozwiniętych wynika między innymi ze wzrostu nakładów finansowych na służbę zdrowia jak również ze wzrostu świadomości pacjentów. Aktywna, powszechna i ciągła profilaktyka w onkologii ginekologicznej ma zasadnicze znaczenie i dlatego jej wdrożenie w krajach rozwiniętych przyniosło doskonałe rezultaty. Najlepszym przykładem takich efektywnych działań jest Finlandia, gdzie w latach 60-tych XX wieku wprowadzono program aktywnej profilaktyki raka szyjki macicy. Warty podkreślenia jest fakt, że powodem takich działań była niepokojąca sytuacja epidemiologiczna zbliżona do tej, którą mamy obecnie w Polsce. Wówczas w Finlandii współczynnik zachorowalności na raka szyjki macicy oscylował wokół 15.0 na 100 tysięcy kobiet. Po wprowadzeniu przesiewowych badań cytologicznych, początkowo z wykorzystaniem oceny rozmazów według Papanicolaou, współczynnik zachorowalności obniżył się do 5.0 na 100 000 kobiet w 1985 roku. Podobne rezultaty uzyskiwane były w innych państwach skandynawskich - w Szwecji współczynnik zachorowalności w okresie analogicznym do reformy fińskiej obniżył się z 20.0 do 10.0 na 100 tysięcy kobiet, a w Danii z 35 do 15 na 100 tysięcy kobiet [3].

Podobnie spektakularne efekty uzyskano w USA w ramach realizowanego od 1973 roku przez NCI (*National Cancer Institute*) programu SEER (*Surveillance, Epidemiology, End Results*). Po 24-letniej obserwacji populacji Amerykanek aktywnie uczestniczących w programie okresowych badań przesiewowych w latach 1973-1996 uzyskano bardzo obiecujące wyniki. Na przełomie tych lat zaobserwowano znaczny spadek zachorowalności na wszystkie inwazyjne typy raka szyjki macicy z 36.9% do 7.9%. Bardzo duży spadek zachorowalności, bo aż o 41.9% wystąpił w przypadku płaskonabłonkowego raka szyjki macicy. Niepokojącym zjawiskiem podczas badania SEER był wzrost o 29.1% zachorowalności na raka gruczołowego szyjki macicy [4].

Kolejnym niezwykle ważnym wnioskiem dotyczącym skuteczności populacyjnych badań profilaktycznych jest frekwencja pacjentek. Liczne badania ukazują dobitnie znaczenie

frekwencji jako głównego czynnika warunkującego skuteczność i powodzenie badań skriningowych, co przejawia się w obniżeniu współczynników zachorowalności i umieralności. Doskonałym przykładem obrazującym znaczenie wysokiej frekwencji jest Islandia, w której populacyjne badania przesiewowe rozpoczęto już w 1959 roku i co najistotniejsze, objęto nimi docelowo 100% populacji kobiet pomiędzy 25 a 69 rokiem życia. W ciągu 27 lat uzyskano obniżenie zachorowalności o 70%, a umieralności o 62% [5]. Objęcie badaniami przesiewowymi możliwie jak największej populacji kobiet jest bardzo ważne dla ich powodzenia, co świetnie zostało zilustrowane na przykładzie Norwegii, gdzie realizację skriningu rozpoczęto w tym samym roku co w Islandii, lecz badaniami cytologicznymi objęto tylko 5% populacji kobiet między 25 a 59 rokiem życia. Po 27 latach realizacji programu uzyskano obniżenie współczynnika zachorowalności tylko o 26% i umieralności tylko o 18% [3].

Następnym interesującym aspektem epidemiologii raka szyjki macicy jest ryzyko jego rozwoju a czynnik rasowy. Jak się przypuszcza ma to związek z nie do końca poznanymi czynnikami genetycznymi. Znamiennej różnicy w częstości występowania raka szyjki macicy u białych Amerykanek i Afroamerykanek upatruje się w dyskretnych zmianach haplotypów w układzie HLA. Istnieją antygeny klasy I HLA związane z podwyższonym ryzykiem rozwoju raka szyjki macicy i są to: DRB1 1001, DRB1 1101, DQB1 0301, jak również związane z obniżonym ryzykiem rozwoju raka szyjki macicy: DRB1 0301, DRB1 13 [6, 7, 8]. Sugeruje się, że podatność na wystąpienie śródnabłonkowej neoplazji szyjki macicy i raka jest również związana z układem HLA klasy II. Wyniki badań przeprowadzonych w USA i Kostaryce dowodzą związku między HLA CW 0202 a zwiększonym ryzykiem neoplazji w obrębie szyjki macicy [8]. Badanie układów HLA wydaje się mieć duże znaczenie, ponieważ genetyczna podatność na rozwój raka szyjki macicy przekłada się na dynamikę rozwoju choroby oraz, co najistotniejsze, na skuteczność leczenia.

Podsumowując zagadnienia wpływu skriningu na epidemiologię raka szyjki macicy należy stwierdzić, iż racjonalnie zaplanowane i obejmujące całą populację kobiet badania są w stanie obniżyć współczynnik zachorowalności o 70%, co widoczne jest na przykładzie Finlandii.

1.2. Czynniki ryzyka i etiopatogeneza raka szyjki macicy

Wyniki większości badań klinicznych i epidemiologicznych potwierdzają nadrzędną rolę, jaką odgrywa zakażenie wirusem brodawczaka ludzkiego w etiopatogenezie raka szyjki macicy [9,10]. Do chwili obecnej wyróżniono ponad 100 różnych typów HPV (*human papillomavirus*), które ze względu na potencjał onkogenny można podzielić na dwie grupy. W grupie o wysokiej onkogenności (tzw. typy wysookongennośne) znajdują się typy HPV: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82 [11]. Grupa o niskiej onkogenności zawiera następujące typy HPV: 6, 11, 42, 43, 44. W wielu badaniach [12, 13] wykazano, że zakażenie HPV 16 i 18 wiąże się dużo częściej z bardziej zaawansowanymi i poważnymi stanami śródnaślennkowej neoplazji szyjki macicy w porównaniu z zakażeniem HPV 6 i 11.

Oprócz zakażenia HPV typem o wysokiej onkogenności, do czynników ryzyka rozwoju raka szyjki macicy możemy zaliczyć szereg innych parametrów, które można podzielić na dwie grupy, a mianowicie: czynniki główne oraz prawdopodobne. Do czynników głównych zaliczamy wspomniane wyżej zakażenie onkogennymi typami wirusa HPV, wiek, wczesne rozpoczęcie współżycia płciowego, dużą liczbę partnerów seksualnych, dużą liczbę porodów, palenie papierosów, niski status socjoekonomiczny oraz CIN 2 i CIN 3 (*cervical intraepithelial neoplasia*) w wywiadzie. Czynniki prawdopodobne to wieloletnie stosowanie hormonalnych środków antykoncepcyjnych, dieta uboga w antyoksydanty oraz częste stany zapalne pochwy wywołane przez: *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, HSV-2 (*Herpes simplex virus*), CMV (wirus cytomegalii) oraz EBV (wirus Epsteina-Barr) [14]. Zasadniczy podział tych czynników na główne i prawdopodobne wynika z faktu, iż zakażenie HPV ma udokumentowany, bezpośredni związek z neoplazją szyjki macicy, natomiast związek czynników prawdopodobnych z rozwojem raka szyjki macicy jest mniej uwidoczny w badaniach klinicznych.

Warto zastanowić się, jakie są czynniki ryzyka rozwoju zakażenia HPV. Jak się okazuje są one niezwykle podobne do czynników ryzyka rozwoju raka szyjki macicy. Należą do nich wiek, częste kontakty płciowe, wczesne rozpoczęcie współżycia płciowego, duża liczba partnerów seksualnych oraz nieprawidłowe wyniki rozmazów cytologicznych w wywiadzie [15]. Mniejsze znaczenie mają palenie papierosów, liczba przebytych ciąż czy stosowanie doustnych środków antykoncepcyjnych.

Analizując krzywe zachorowalności na zakażenie HPV w poszczególnych grupach wiekowych warto posłużyć się wynikami badań, jakie uzyskał Syrjanen i wsp. [16]. Przedstawiają się one następująco: 43% zakażeń HPV występuje u kobiet poniżej 25 roku życia, 32% zakażeń HPV występuje u kobiet pomiędzy 26 a 35 rokiem życia, 21% zakażeń

HPV występuje u kobiet powyżej 35 roku życia, a tylko 10% występuje u kobiet powyżej 45 roku życia. Przesiewowe badania populacyjne wyraźnie pokazują tendencję spadkową ryzyka wystąpienia zakażenia HPV wraz z wiekiem. Wiąże się to niewątpliwie ze spadkiem aktywności seksualnej oraz być może ze zmianami gospodarki hormonalnej.

Drugim obok wieku najistotniejszym czynnikiem ryzyka zakażenia HPV jest aktywność seksualna. Ryzyko rozwoju zakażenia HPV wzrasta wraz z liczbą partnerów seksualnych. Jak pokazują badania z wykorzystaniem techniki PCR (*polymerase chain reaction*) [17], u 21% kobiet spośród 90, u których nie występowały żadne objawy i które miały w swoim życiu jednego partnera płciowego wykryto DNA wirusa HPV, natomiast DNA wirusa wykryto u 69% kobiet w grupie 102 zgłaszających w wywiadzie kontakty płciowe z ponad 10 partnerami. Niepokojące są informacje, że związek między dużą aktywnością płciową oraz dużą liczbą partnerów seksualnych zachodzi tylko dla onkogennych typów wirusa HPV.

Bardzo interesujący jest ewentualny wpływ palenia tytoniu na rozwój zakażenia HPV i rozwój w późniejszym czasie ewentualnego raka szyjki macicy. W tej materii zdania naukowców są podzielone, jednakże bezsprzecznie u kobiet palących papierosy w błonie śluzowej szyjki macicy wykryto nikotynę, kotyninę oraz inne substancje o właściwościach mutagennych [18]. Istnieje teoria, która próbuje wytłumaczyć związek palenia papierosów z ryzykiem zakażenia HPV oraz ryzykiem wystąpienia raka szyjki macicy [19]. Obecność nikotyny i kotyniny oraz innych karcynogennych substancji wywołuje stan miejscowej immunosupresji, która ułatwia powstanie zakażenia pierwotnego i ewentualną dalszą promocję w kierunku śródnabłonkowej neoplazji szyjki macicy. Należy dodać, że istnieją również doniesienia wykluczające jakikolwiek wpływ palenia papierosów na ryzyko zakażenia wirusem HPV [14].

Stosowanie doustnej antykoncepcji a ryzyko zakażenia HPV to niezwykle istotny problem medyczny, który może dotyczyć blisko 150 milionów kobiet w wieku rozrodczym na całym świecie. Endogenne estrogeny powodują dojrzewanie fizjologicznego nabłonka wielowarstwowego szyjki macicy. Doustne środki antykoncepcyjne, które posiadają efekt gestagenny, mogą opóźniać to dojrzewanie, co w konsekwencji może prowadzić do powstania nabłonka mniej zróżnicowanego, co za tym idzie bardziej podatnego na niekorzystne działanie czynników onkogennych. Wiele dowodów wskazuje na to, że długotrwałe stosowanie hormonalnej antykoncepcji w znacznym stopniu promuje rozwój zakażenia wirusem HPV. Pięcioletnia obserwacja 2436 mieszkanek Brukseli wykazała, że

częstość występowania HPV jest dwukrotnie wyższa u kobiet zażywających hormonalne środki antykoncepcyjne dłużej niż 6 miesięcy [15].

Badania Kesslera [20] ujawniły nowy aspekt w ocenie ryzyka zakażenia HPV. Na podstawie uzyskanych wyników badań wysnuł on hipotezę, że drugie żony mężczyzn, których pierwsze zmarły na raka szyjki macicy mają statystycznie wyższe ryzyko rozwoju tego nowotworu. Potwierdzeniem hipotezy Kesslera są prace Boscha [21], według którego obecność przetrwałego zakażenia onkogennym typem HPV u mężczyzn oznacza pięciokrotny wzrost ryzyka rozwoju raka szyjki macicy u jego partnerki seksualnej. Czynniki ryzyka zakażeniem wirusem HPV u mężczyzn są następujące: inicjacja seksualna przed 17 rokiem życia, ponad 6 partnerów seksualnych w wywiadzie, promiskuityzm, niski poziom higieny osobistej oraz brak obrzezania [22]. Szczególnie ostatni punkt upatrywany jest przez niektórych autorów jako nadrzędny w ryzyku zakażenia HPV u mężczyzn. Badania przeprowadzone przez Castellsague wykazały, że zakażenie wśród nieobrzezanych mężczyzn dotyczyło aż 19.8% badanych, a w grupie mężczyzn obrzezanych odsetek ten wynosił tylko 5.5% [22].

Status socjoekonomiczny również nie pozostaje bez wpływu na ryzyko zakażenia HPV. Dotyczy to głównie niedoborów wybranych mikroelementów, szczególnie witamin A, B6, B12, C oraz kwasu foliowego. Od wielu lat znana jest dobroczynna rola antyoksydantów w procesie karcynogenezy. Badania obecności HPV oraz stężenia kwasu askorbinowego, retinolu, karotenoidów, kwasu foliowego i witaminy B12 w surowicy 294 kobiet wykazały, że ryzyko zakażenia onkogennym typem HPV 16 wynosi 1.1 przy stężeniu kwasu foliowego powyżej 660 nmol/l, podczas gdy, przy stężeniu poniżej tej wartości ryzyko zakażenia HPV 16 znamienne wzrosło, osiągając wartość 5.1 [23]. Ponadto istnieją liczne dowody eksperymentalne potwierdzające wpływ witaminy A i C na proces replikacji wirusa brodawczaka ludzkiego [23].

Ostatnim problemem, który należy poruszyć w omawianiu etiopatogenezy raka szyjki macicy jest wpływ zakażenia *Chlamydia trachomatis* na rozwój tego nowotworu. Nie jest do końca sprecyzowane czy *C. trachomatis* spełnia rolę głównego czynnika promującego rozwój nowotworu czy tylko rolę kofaktora podczas zakażenia wirusem brodawczaka ludzkiego. Galijow i wsp. [24] stosując metodę PCR do wykrywania *C. trachomatis* i HPV, wykazali związek *C. trachomatis* z LSIL (*low grade squamous intraepithelial lesion*) jak i HSIL (*high grade squamous intraepithelial lesion*), ale nie z ICC (*invasive cervical cancer*). Wyniki tych badań sugerują, że *C. trachomatis* jest tylko kofaktorem podczas zakażenia HPV, poprzez

proces indukcji przewlekłej reakcji zapalnej w komórkach nabłonka szyjki macicy, co stanowi doskonałe wrota zakażenia dla HPV. Należy również dodać, że przewlekłe zmiany zapalne wywołane przez *C. trachomatis* powodują znaczną redukcję liczby komórek Langerhansa, które należą do komórek prezentujących antygen APC (*antigen presenting cells*), co znacznie ułatwia proces zakażenia HPV oraz promuje rozwój nowotworu na podłożu przetrwałego zakażenia tym wirusem [25, 26].

1.3. Objawy kliniczne i rozpoznanie raka szyjki macicy

Rak szyjki macicy, podobnie jak większość chorób nowotworowych, rozwija się podstępnie i we wczesnych postaciach nie daje żadnych objawów klinicznych. Dlatego tak ważny jest systematyczny udział jak największej liczby kobiet w cytologicznych badaniach przesiewowych z uwagi na to, że cytodiagnostyka jest metodą wykrywczą i pozwala na wczesne wychwycenie nieprawidłowości komórkowych i szybką ich weryfikację za pomocą kolposkopii. W razie niepewności z miejsc podejrzanych o śródnabłonkową neoplazję lub obecność raka inwazyjnego wykonywana jest biopsja, która ostatecznie jest procedurą rozstrzygającą. Proces onkogenezy zaczyna się najczęściej w miejscu przejścia nabłonka gruczołowego w wielowarstwowy płaski w okolicy ujścia zewnętrznego szyjki macicy (strefa przejściowa), poprzez poszczególne etapy rozwoju, czyli sekwencję: stan przedrakowy - rak przedinwazyjny - rak inwazyjny. Czas trwania przejścia z drugiego do trzeciego etapu może trwać kilka lat i to jest bardzo cenny czas, aby drogą badań cytologicznych wychwycić te pacjentki i poddać je leczeniu onkologicznemu.

Dla zrozumienia charakteru objawów raka szyjki macicy warto przybliżyć drogi jego szerzenia. Wzrost nowotworu poprzez ciągłość na sąsiednie tkanki i narządy może przebiegać w trzech postaciach: endofitycznej, powodującej zgrubienie szyjki oraz tarczy części pochwowej; egzofitycznej, rozwijającej się jako kalafiorowaty naciek do światła pochwy, który obficie krwawi nawet przy dotyku oraz najgorzej rokującej i najbardziej podstępnej postaci śródszyjkowej, która skrycie penetruje w głąb przymacicz. Przerzuty innymi drogami dotyczą naczyń chłonnych i krwionośnych. Grupa węzłów chłonnych pierwszego etapu przerzutów to węzły przyszyjkowe, moczowodowe i przymaciczne, natomiast grupa węzłów chłonnych drugiego etapu przerzutowania obejmuje węzły biodrowe wspólne, przyaortalne i pachwinowe. Przerzutowanie drogą naczyń krwionośnych dotyczy przypadków bardzo zaawansowanych i odbywa się głównie do wątroby i płuc.

Rak szyjki macicy nie daje swoistych objawów, szczególnie w początkowej fazie rozwoju. Najczęstszym objawem są tzw. krwawienia kontaktowe występujące w sytuacjach mechanicznego urazu, np. po stosunku, یرgacji pochwy czy po badaniu ginekologicznym. Omawiane krwawienia występują niezależnie od cyklu miesięczkowego i w początkowym okresie przybierają formę uporczywych plamień. Są one bardzo często kojarzone przez pacjentki z zaburzeniami miesiączki, jednakże te przypuszczenia są błędne i skutkują tylko uśpieniem czujności kobiety oraz czasowym oddaleniem wizyty u ginekologa. Kolejnym, niezwykle ważnym objawem są wodniste, szarawe upławy, często o przykrym zapachu, podbarwione krwią. Niestety, należy podkreślić, że takie objawy towarzyszą zwykle klinicznie zaawansowanym postaciom choroby nowotworowej. Bóle w podbrzuszu z towarzyszącymi, zwykle niesymetrycznymi obrzękami kończyn dolnych, są często następstwem rozległego nacieku w obrębie przymacicz i zajęcia węzłów chłonnych, utrudniającego krążenie chłonki w kończynach dolnych. Dramatyczny przebieg ma naciekanie przez proces nowotworowy przegrody pęcherzowo-pochwowej i pochwowo-odbytniczej. Niesie to za sobą poważne implikacje kliniczne, a mianowicie: bolesne parcie na stolec i mocz oraz krwawienia z cewki moczowej i odbytu. W najcięższych przypadkach możemy obserwować masy kałowe w pochwie wskutek powstałej przetoki odbytniczopochwowej oraz odpływanie moczu przez przetokę pęcherzowo-pochwową [1]. Proces nowotworowy zajmujący przymacicz może powodować stopniowe zwężanie moczowodu, co skutkować może całkowitą jego niedrożnością i powstaniem wodonercza. Stąd główną przyczyną śmierci chorych nieleczonych na raka szyjki macicy są najczęściej trudne do opanowania krwawienia oraz mocznica wskutek zamknięcia światła moczowodów przez nacieki nowotworowe.

Rozpoznanie raka szyjki macicy zasadniczo składa się z dwóch elementów: rozpoznania histopatologicznego procesu nowotworowego i ustalenia stopnia klinicznego jego zaawansowania. Materiał do badań mikroskopowych pobierany jest z tarczy części pochwowej, kanału szyjki macicy, sklepienia pochwy i ewentualnie drogą cysto- i rektoskopii pęcherza moczowego i odbytnicy. Konieczne jest bezwzględne wykonanie pełnego badania lekarskiego (podmiotowego i przedmiotowego), badania ginekologicznego (*per vaginam* i *per rectum*), rentgenografii (RTG) klatki piersiowej oraz podstawowych badań krwi i moczu. Uzupełniające badania dodatkowe obejmują: ultrasonografię przezpochwową i jamy brzusznej, RTG kości, a w przypadkach zaawansowanych cystoskopię oraz rektosigmoidoskopię [28].

Do oceny stopnia zaawansowania klinicznego raka szyjki macicy, która *de facto* jest podstawą decyzji terapeutycznych i oceny rokowania, stosuje się kryteria klasyfikacyjne opracowane przez Międzynarodową Federację Ginekologów i Położników FIGO (fr. *Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique*, ang. *International Federation of Gynecology and Obstetrics*) w Montrealu w 1994 roku (Tabela I).

W celu określenia stopnia zaawansowania klinicznego raka szyjki macicy możemy oprócz klasyfikacji zaproponowanej przez FIGO, posłużyć się klasyfikacją kliniczną TNM, której główne elementy zostały przedstawione w Tabeli II.

Stopień zaawansowania	Charakterystyka
Stopień 0	Rak przedinwazyjny (<i>carcinoma in situ</i> , CIN III)
Stopień I	Rak ograniczony ściśle do szyjki macicy

Stopień IA	Rak mikroinwazyjny, rozpoznawany wyłącznie mikroskopowo na podstawie materiału obejmującego całą zmianę nowotworową
Stopień IA1	Inwazja podścieliska o głębokości mniejszej lub równej 3 mm i średnicy powierzchni nacieku do 7 mm
Stopień IA2	Inwazja podścieliska przekracza głębokość 3 mm i dochodzi maksymalnie do 5 mm, średnica zmiany nie przekracza 7 mm
Stopień IB	Wszystkie przypadki zmian większych niż określone w stopniu IA2, widocznych klinicznie lub nie
Stopień IB1	Średnica nacieku do 4 cm
Stopień IB2	Średnica nacieku powyżej 4 cm
Stopień II	Rak przechodzi poza szyjkę macicy, nie dochodzi do ścian miednicy mniejszej i nie dochodzi do 1/3 dolnej części pochwy
Stopień IIA	Rak nacieka pochwę, nie przekraczając 2/3 górnej części jej ścian bez zajęcia przymacicz
Stopień IIB	Nacieki przymacicz niedochodzące do kości miednicy (z naciekiem pochwy lub bez niego)
Stopień III	Naciek nowotworowy zajmuje 1/3 dolną część pochwy lub przymacicza, dochodząc do ścian miednicy mniejszej. Do stopnia III zalicza się wszystkie przypadki wodonercza lub nieczynnej nerki z wykluczeniem innej niż nowotworowa przyczyna ich powstania
Stopień IIIA	Naciek nowotworowy zajmuje 1/3 dolną część pochwy, guz w przymaciczach nie dochodzi do ścian miednicy mniejszej
Stopień IIIB	Naciek nowotworowy w przymaciczach dochodzi do ścian miednicy mniejszej, wszystkie przypadki wodonercza i nieczynnej nerki powstałe na skutek procesu nowotworowego
Stopień IV	Rak przekracza granice miednicy mniejszej lub naciek nowotworowy zajmuje śluzówkę pęcherza moczowego, odbytnicy (rozpoznanie wymaga potwierdzenia badaniem histopatologicznym)
Stopień IVA	Naciek nowotworowy śluzówki pęcherza moczowego lub odbytnicy
Stopień IVB	Przerzuty odległe, rak przechodzi poza obręb miednicy mniejszej

Tabela I. Stopnie klinicznego zaawansowania raka szyjki macicy według FIGO [wg 29]

T	Guz pierwotny
TX	Nie można ocenić guza pierwotnego
T0	Nie stwierdza się obecności guza pierwotnego
Tis	Rak przedinwazyjny (<i>carcinoma in situ</i>)
T1	Rak ograniczony do szyjki macicy (należy wykluczyć naciekanie trzonu macicy)
T1a	Rak inwazyjny, przedkliniczny, rozpoznany wyłącznie mikroskopowo
T1a1	Minimalne, mikroskopowe naciekanie podścieliska
T1a2	Naciek podścieliska 5 mm od błony podstawnej i średnicy 7 mm
T1b	Guz większy niż T1a2

T2	Rak nacieka poza szyjkę macicy, nie dochodzi do ścian miednicy i nie nacieka 1/3 dolnej części pochwy
T2a	Bez naciekania przymacicz
T2b	Z naciekaniem przymacicz
T3	Rak szyjki macicy dochodzi do ściany miednicy i/lub obejmuje dolną 1/3 część pochwy, i/lub powoduje wodonercze lub unieczynnienie nerki
T3a	Guz nacieka dolną 1/3 część pochwy, ale nie stwierdza się nacieku ściany miednicy
T3b	Guz nacieka ścianę miednicy i/lub powoduje wodonercze lub unieczynnienie nerki
T4	Guz nacieka śluzówkę pęcherza moczowego lub odbytnicy i/lub przechodzi poza miednicę mniejszą
N	Regionalne węzły chłonne (<i>noduli</i>)
NX	Niespełnione są minimalne kryteria rozpoznania zajęcia regionalnych węzłów chłonnych
N0	Nie stwierdza się zajęcia regionalnych węzłów chłonnych
N1,2,3	Określenie coraz większego zajęcia przez przerzuty regionalnych węzłów chłonnych
N4	Stwierdzenie zajęcia węzłów chłonnych grup dalszych niż regionalne
M	Przerzuty (<i>metastases</i>)
MX	Nie są spełnione podstawowe kryteria konieczne do potwierdzenia odległych przerzutów nowotworu
M0	Nie stwierdza się odległych przerzutów
M1	Potwierdzone odległe przerzuty

Tabela II. Klasyfikacja kliniczna TNM raka szyjki macicy [wg 30].

1.4. Histopatologia nowotworów szyjki macicy

1.4.1. Klasyfikacja nowotworów szyjki macicy i informacje ogólne

W 2003 roku pojawiła się przygotowana przez specjalistów z WHO (*World Health Organization*) zbiorcza histopatologiczna klasyfikacja wszystkich nowotworów szyjki macicy [31] [Patrz: ZAŁĄCZNIK 1].

Najczęstszym typem histologicznym raka szyjki macicy jest rak płaskonabłonkowy, który stanowi około 85-90% przypadków. Drugim co do częstości występowania jest gruczolakorak (5 -10%). Na dalszych miejscach znajdują się nowotwory neuroendokrynne oraz inne nowotwory złośliwe pochodzenia nienabłonkowego. Ponadto, szyjka macicy jest częstym miejscem występowania przerzutów nowotworowych. Najczęściej są to przerzuty pochodzące z raka sutka oraz nacieki chłoniakowe lub białaczkowe.

1.4.2. Histopatologia zmian płaskonabłonkowych

Wiele z wymienionych w klasyfikacji WHO jednostek należy do bardzo rzadkich rozpoznań. W szyjce macicy występują dwie najczęstsze postaci inwazyjnego raka płaskonabłonkowego, tj. rak wielkomórkowy rogowaciejący (*carcinoma macrocellulare keratodes*) oraz rak wielkomórkowy nierogowaciejący (*carcinoma macrocellulare akeratodes*). Najczęstszą postacią jest rak płaskonabłonkowy nierogowaciejący, którego komórki rakowe posiadają wieloboczny kształt, obfitą różową cytoplazmę oraz wyraźne granice międzykomórkowe [31, 32]. Rak wielkomórkowy rogowaciejący również zbudowany jest z wielobocznych komórek o obfitej, różowej cytoplazmie z widocznymi mostkami międzykomórkowymi, ale jego charakterystyczną, patognomoniczną cechą są perły rogowate (perły rakowe, perły Waldeyera) utworzone z koncentrycznie układających się, rogowaciejących komórek rakowych i złogów keratyny. Obydwa typy raków naciekają podścielisko nieregularnymi gniazdami lub sznurami komórek. Należy tutaj zaznaczyć, że o przebiegu klinicznym decyduje nie wielkość ani też kształt komórek, lecz stopień złośliwości G (*Grading*) określany jako: G1 - rak dobrze zróżnicowany, G2 - rak średnio zróżnicowany oraz G3 - rak nisko zróżnicowany.

Inną postacią histologiczną jest rak płaskonabłonkowy przypominający *lymphoepithelioma* nosogardła zbudowany z dużych komórek o skąpej cytoplazmie. Nowotwór ten ma odznaczać się lepszym rokowaniem niż typowy wielkomórkowy rak płaskonabłonkowy szyjki macicy [1].

Szczególnością postacią raka płaskonabłonkowego jest *carcinoma verrucosum*. Jest to wysoko dojrzały rak częściej występujący na sromie niż szyjce macicy, który ma utkanie brodawkowate lub przypominające układ łusek cebuli. Jego cechą charakterystyczną jest to, iż daje często nawroty, ale w zasadzie nie przerzuca. Wznova najczęściej występuje po niedostatecznie rozległej operacji. Ciekawe jest wykrycie w komórkach tego raka wirusa HPV typu 6 [27]. Leczeniem z wyboru jest usunięcie macicy z uwagi na to, że po ewentualnej radioterapii rak ten mógłby ulec transformacji do postaci o niższym stopniu złośliwości, a nawet do raka anaplastycznego.

1.4.3. Histopatologia zmian gruczolowych

Zgodnie z klasyfikacją WHO wyróżniamy 9 różnych typów gruczolakoraka szyjki macicy. Najczęściej występującym jest wysoko dojrzały gruczolakorak śluzowy (*adenocarcinoma endocervicale mucinosum*). Rak ten tworzy cewki gruczolowe podobne do tych, jakie występują normalnie w kanale szyjki macicy, ale zbudowane z komórek rakowych.

Cechą charakterystyczną jest produkcja śluzu, który występuje najczęściej wewnątrzkomórkowo, ale może również znajdować się w podścielisku guza (rak galaretowaty). Gruczolakoraki szyjki macicy cechują się bardzo różnym stopniem zróżnicowania: od wysoko zróżnicowanych, do złudzenia przypominających rozrost gruczołowy (*minimal deviation adenocarcinoma*, *adenoma malignum*), do bardzo nisko zróżnicowanych zawierających pojedyncze cewki gruczołowe i/lub śladową produkcję śluzu. Warto dodać, że niektóre gruczolakoraki mogą przypominać swoją budową histologiczną gruczoły endometrium (*adenocarcinoma endometrioides*).

Inną postacią histopatologiczną pierwotnego raka gruczołowego szyjki macicy jest gruczolakorak jasnokomórkowy (*adenocarcinoma clarocellulare*). Komórki rakowe mają jasną, "pustą" cytoplazmę z uwagi na wypłukanie podczas preparatyki i procedury barwienia zawartego w cytoplazmie glikogenu. Tworzy lite pola lub struktury cewkowe. Duże, hiperchromatyczne jądra uwypuklają do światła cewek szczytową część cytoplazmy tworząc tzw. *hobnail cells*. Do szeroko opisanych i poznanych czynników powstawania jasnokomórkowego gruczołowego raka szyjki macicy u młodych kobiet należy ekspozycja *in utero* na DES (dwuetylostylbestrol). Ten syntetyczny estrogen był bardzo często stosowany w USA w latach 1948 - 1971 w celu profilaktyki niepowodzeń położniczych. Szacuje się, że ekspozycja na DES dotyczyła około 4 milionów kobiet w ciąży [33]. Do chwili obecnej prowadzona jest dyskusja o związku między DES a występowaniem jasnokomórkowego gruczołowego raka szyjki macicy z uwagi na to, że w krajach, w których lek ten nie był stosowany odnotowuje się podobną częstość występowania tego nowotworu.

Do innych rzadkich raków gruczołowych szyjki macicy należą raki surowicze i mezonefroidalne. Swoją budową histologiczną przypominają analogi występujące w jajniku i jamie macicy. W klasyfikacji WHO znalazł się również opisywany bardzo rzadko, nawet sporadycznie, wysoko dojrzały rak gruczołowy typu brodawkowego (*VGA - villoglandular adenocarcinoma*). Występuje on u młodych kobiet i cechuje się złośliwością miejscową, nie przekraczającą macicy i dobrym rokowaniem, w związku z czym może być z powodzeniem leczony przez konizację chirurgiczną.

1.4.4. Inne nowotwory nabłonkowe

Rak drobnokomórkowy (*carcinoma microcellulare, small cell carcinoma*) był poprzednio klasyfikowany jako jedna z postaci raka płaskonabłonkowego. Nowotwór ten jest

obecnie wyróżniony jako odrębna jednostka kliniczna i patologiczna [31]. Swoją budową histologiczną przypomina raka anaplastycznego oskrzeli i odznacza się niekorzystnym rokowaniem. Podobnie jak rak anaplastyczny oskrzeli, ta postać raka szyjki macicy współistnieje z licznymi zespołami paraneoplazmatycznymi, zwłaszcza endokrynnymi, co znacznie ułatwia jego identyfikację za pomocą metod immunohistochemicznych.

Kolejnym nowotworem z tej grupy jest rak gruczołowo-płaskonabłonkowy (*adenocarcinoma adenosquamosum*), który wykazuje obecność zarówno struktur gruczołowych, jak i płaskonabłonkowych. Obydwa komponenty mają morfologiczne cechy złośliwości.

Do rzadkich nowotworów należy również rak szkliskomórkowy (*glassy cell carcinoma*). Jest to nisko zróżnicowany rak, którego nazwa pochodzi od komórek, w których opisano obecność substancji szklistych w cytoplazmie. Rośnie najczęściej w postaci egzofitycznych mas, ale przypadki głębokiego naciekania szyjki macicy nie są odosobnione. Rokowanie w tym nowotworze jest niepomyślne.

Pomimo wyróżnienia tak licznych postaci raka szyjki macicy, klasyfikacja WHO zaleca rozpoznanie raka niezróżnicowanego (*undifferentiated carcinoma*) w każdym przypadku, w którym nowotwór nabłonkowy nie spełnia kryteriów histopatologicznych znanych postaci.

1.4.5. Nowotwory mezenchymalne i nabłonkowo-mezenchymalne

Nowotwory złośliwe pochodzenia nienabłonkowego są niezwykle rzadkie i stanowią zaledwie około 1% przypadków. Do najczęściej spotykanych należą: mięśniakomięsak prążkowanokomórkowy zarodkowy (*rhabdomyosarcoma embryonale, sarcoma botryoides*), guz mieszany złośliwy (*tumor mixtus malignus*), występujący u starszych kobiet oraz chłoniak złośliwy (*lymphoma malignum*), najczęściej są to agresywne chłoniaki z dużych komórek B (DLBCL - *diffuse large B-cell lymphoma*).

1.5. Rola, udział i szczególne znaczenie infekcji HPV w etiopatogenezie raka szyjki macicy

Wirusy brodawczaka ludzkiego (HPV) należące do rodziny *Papovaviridae* są DNA-wirusami, których cząsteczka wirionu zbudowana jest z 72 kapsomerów o budowie

pentamerycznej i ma średnicę 40-55 nm [1]. Genom wirusa tworzy kolistą, dwuniciową cząsteczkę DNA, zbudowaną z około 8000 par zasad, zorganizowana analogicznie we wszystkich typach HPV. W jej skład wchodzi kilka genów określanych jako wczesne (E, early) oraz późne (L, late) [34]. Te dwa regiony kodujące, określane jako wczesne i późne, są oddzielone od siebie poprzez sekwencję nukleotydów nazywaną długim regionem kontrolnym (LCR, *long control region*). Kapsyd wirusa HPV budują dwa białka strukturalne kodowane przez region późny: L1 i L2. Natomiast region kodujący wczesny koduje białka odpowiedzialne za replikację wirusa oraz transformację nowotworową. Wymienić należy tutaj kilka niezwykle istotnych białek. Białka E1 i E2 odgrywają zasadniczą rolę w inicjacji replikacji DNA wirusa HPV poprzez wiązanie komórkowych czynników transkrypcyjnych. Z punktu widzenia histopatologa najważniejsze znaczenie ma gen E4, gdyż to jego białkowy produkt łączy się z tonofilamentami komórki, prowadząc do uszkodzenia cytoszkieletu, a morfologicznym skutkiem tego procesu są zmiany koilocytarne, które są cytologicznym objawem i wykładnikiem morfologicznym zakażenia HPV. W białkach E5, E6, E7 upatruje się główną rolę w transformacji nowotworowej komórek zakażonych onkogennymi typami wysokiego ryzyka. Natomiast w przypadku HPV niskiego ryzyka – jedynie za zwiększenie proliferacji zakażonych komórek [35].

Produktami genów E6 i E7 są dwa najważniejsze z punktu widzenia onkologii białka, nazywane ze względu na swój wysoki potencjał onkogenny onkoproteinami E6 i E7. Mają one zdolność łączenia się i degradacji produktów genów supresorowych, odpowiednio p53 i RB [35]. W początkowej fazie zakażenia DNA wirusa występuje w komórce w formie episomalnej (tzn. niezwiązanej z DNA komórki). Zwykle dochodzi do proliferacji komórek nabłonka oraz do replikacji HPV i powstania licznych kopii wirusa. Należy zaznaczyć, że tego typu zmiany są wysoce zakaźne. Genom wirusa brodawczaka ludzkiego może replikować się bardzo powoli, synchronicznie z DNA zainfekowanej komórki. Ekspresja genów wirusa jest w tym czasie bardzo niska, wręcz niewykrywalna. Ten wyrafinowany mechanizm, który wykształcił wirus HPV, pozwala mu zostać niezauważonym przez układ immunologiczny gospodarza. Dopiero w strefie, w której system odpornościowy nie przejawia w wysokim stopniu swojej naturalnej aktywności, czyli w górnych warstwach nabłonka, synteza białek wirusowych zostaje zwiększona, co może skutkować wytworzeniem brodawek płciowych. W miarę progresji nowotworowej następuje integracja wirusowego DNA z DNA komórki, a najczęściej dotyczy to genów kodujących onkoproteiny E6 i E7.

W komórkach stransformowanych liczba wirusowego DNA jest niewielka, a ekspresji ulegają jedynie geny E6 i/lub E7. Nie stwierdza się natomiast białek kapsydu L1 i L2 [34].

Białko E6 o masie 16-18 kDa (około 150 aminokwasów) charakteryzuje się zdolnością do tworzenia kompleksów z białkiem supresorowym p53. Wytworzenie takowego kompleksu jest możliwe tylko i wyłącznie wtedy, gdy onkoproteina E6 występuje razem z komórkowym białkiem E6AP. Kompleks E6-E6AP przejmuje funkcję regulatorową białka mdm-2, które w niezakażonym keratynocycie kieruje szybkością degradacji p53. Jak pokazują badania, obecność kompleksu E6-E6AP powoduje, że okres półtrwania białka p53 ulega w komórce znacznemu skróceniu, z około 3 godzin do 20 minut [27].

Druga onkoproteina, E7 o masie 10 kDa (około 100 aminokwasów), ma zdolność do wiązania się z supresorowym białkiem RB, co prowadzi do jego funkcjonalnej inaktywacji. Białko RB w formie nieufosforylowanej tworzy kompleks z czynnikiem transkrypcyjnym E2F, który w formie wolnej powoduje przejście komórki do fazy S cyklu komórkowego. Jest to spowodowane tym, że E2F działa jako aktywator transkrypcji genów zaangażowanych w syntezę DNA. E7 wiążąc się i inaktywując białko RB powoduje uwolnienie E2F i przejście do fazy S cyklu komórkowego [36].

Wiadomo, że onkoproteina E6 HPV LR (*human papillomavirus low risk*), czyli wirusów o niskim potencjale onkogennym, nie tworzy kompleksów z białkiem p53. Konsekwencją tego jest zatrzymanie procesu degradacji p53. Co ciekawe, onkoproteina E7 zachowuje się w keratynocycie analogicznie do typów wysoko onkogennych, czyli łączy się z białkiem supresorowym RB [27].

Warto wspomnieć, że infekcja HPV powoduje istotny wzrost aktywności ważnego dla prawidłowego przebiegu cyklu komórkowego białka regulatorowego D1, którego gen zlokalizowany jest na chromosomie 11 [36]. Białko D1 odpowiada za przejście komórki z fazy G1 do fazy S i jednocześnie hamuje supresorową funkcję białka RB. Konsekwencją tego jest nieograniczone działanie czynnika transkrypcyjnego E2F.

Zależne od cyklin hamujące kinazy (*CDKI - cyclin dependent kinase inhibitors*) to grupa czynników, które są odpowiedzialne za supresorową funkcję dla wzrostu guza. Najlepiej poznanym białkiem tego typu jest p21, zwane również WAF1 (*wild type p53-activated fragment 1*). Ekspresja p21 jest aktywowana przez produkt dzikiego typu genu p53 w odpowiedzi na uszkodzenie DNA komórki. Indukcja ekspresji p21 powoduje zahamowanie cyklu komórkowego w fazie G1. Dzięki temu dziki typ p53 i proteina p21 hamują proliferację komórek rakowych. W wyniku wiązania onkoproteiny E6 z białkiem p53 zmniejsza się jego

aktywność, co zaobserwowano także dla p21. Jego aktywność jest istotnie niższa u chorych z rakiem szyjki macicy. Wykazano związek pomiędzy ekspresją białka p21 a stopniem dysplazji i inwazyjnością raka szyjki macicy [36].

Zakażenie wirusem HPV, który wykazuje silny tropizm nabłonkowy rozpoczyna się w momencie, kiedy wirus wnika do komórek warstwy podstawnej nabłonka. Drobne urazy mechaniczne umożliwiają wirusowi wtargnięcie do komórek docelowych. HPV jest tzw. wirusem proliferacyjnym, tzn. namnaża się tylko w komórkach proliferujących. Dlatego też wszelkie stany zapalne i czynniki drażniące, które nasilają proliferację nabłonka ułatwiają również zakażenie i namnażanie się HPV [37].

W obrębie szyjki macicy wyróżnia się trzy postacie zakażenia HPV: (1) postać klinicznie jawną, (2) postać subkliniczną i (3) postać utajoną (latentną). Niektórzy autorzy [1] za odrębną postać zakażenia HPV uważają obecność wirusa HPV towarzyszącą śródnabłonkowej neoplazji i rakowi inwazyjnemu szyjki macicy.

W postaci klinicznie jawnej występują zmiany brodawczakowate obejmujące brodawczaki i występujące bardzo rzadko w obrębie szyjki macicy kłykciny kończyste. Najczęstszą zmianą brodawczakową jest brodawczak płaskonabłonkowy. Papanicolaou [38], oceniając rozmazy cytologiczne pochodzące ze zmian brodawczakowatych określił je jako wysoko dysplastyczne. Stwierdzenie postaci klinicznie jawnej może nastąpić już po obserwacji nieuzbrojonym okiem, ale powinno być uzupełnione o badanie kolposkopowo-cytologiczne oraz ewentualne badania molekularne wykrywające DNA wirusa.

Postać subkliniczna charakteryzuje się brakiem makroskopowych cech zakażenia HPV. Rozstrzygający jest obraz uzyskiwany w badaniu kolposkopowym i cytologicznym. Zmienienną cechą uzyskiwaną w rozmazie cytologicznym jest obecność koilocytów, czyli komórek nabłonka wielowarstwowego płaskiego szyjki macicy pochodzących z warstwy powierzchniowej lub pośredniej. Zawierają one jedno lub więcej hiperchromatycznych jąder o nieregularnym kształcie, otoczonych przejrzystą strefą okołojądrową (tzw. halo okołojądrowe). Jak wspomniano wyżej, czynnikiem powodującym koilocytozę jest gen E4 wirusa HPV, którego produkt białkowy łączy się z tonofilamentami cytoszkieletu i powoduje powstanie strefy przejaśnienia wokół jądra. Cytologicznym skutkiem infekcji HPV może być również obecność dyskeratocytów. Są to komórki dojrzałego nabłonka wielowarstwowego płaskiego, które są mniejsze od koilocytów i zawierają pojedyncze, hiperchromatyczne o nieregularnych obrysach jądro komórkowe.

Oprócz wyżej wymienionych typowych wykładników zakażenia HPV wyróżnia się tzw. zmiany dyskretne [39], do których należą: komórki wielojądrzaste, komórki powierzchniowe z przejaśnieniami okołojądrowymi bez zmian w samym jądrze, komórki z keratohialinowymi ziarnistościami, komórki bezjądrzaste, komórki z pęknięciami cytoplazmy (tzw. *cracked cells*) i nisko zróżnicowane komórki metaplastyczne. Obecność co najmniej dwóch lub trzech cech dyskretnych w rozmazie cytologicznym może przemawiać za zakażeniem wirusem brodawczaka ludzkiego.

Należy również zaznaczyć, że oprócz czystej, subklinicznej postaci zakażenia HPV, może ona współwystępować ze śródnabłonkową neoplazją i rakiem inwazyjnym. Im bardziej zaawansowana jest CIN, tym mniej obserwujemy w obrazie cytologicznym cech znamiennych dla infekcji subklinicznej [1].

Utajona postać infekcji HPV naraża wiele problemów diagnostycznych. Nie obserwuje się bowiem żadnych morfologicznych wykładników infekcji. Jedynym badaniem, które może potwierdzić obecność wirusa HPV jest badanie molekularne z wykorzystaniem PCR lub technika hybrydyzacji DNA. Szacuje się, że latentna infekcja HPV dotyczy od 2 do 20% kobiet. Należy z całą mocą podkreślić, że przetrwanie zakażenia stanowi jeden z najistotniejszych czynników determinujących rozwój CIN 2/3 oraz inwazyjnego raka szyjki macicy.

1.6. Szczepionka przeciwko wirusom brodawczaka ludzkiego

Ogromnym krokiem w dążeniach do zapobiegania zachorowaniom na raka szyjki macicy było odkrycie w latach 80-tych XX wieku związku tego nowotworu z zakażeniem HPV [40]. W toku dalszych badań odkryto, że rak szyjki macicy występuje tylko u kobiet zakażonych niektórymi, onkogennymi typami HPV. Na tej właśnie podstawie zrodziła się strategia profilaktyki pierwotnej raka szyjki macicy z wykorzystaniem szczepień. Zwieńczeniem tych prac była rejestracja w 2006 roku przez amerykański Urząd ds. Żywności i Leków (*FDA - Food and Drug Administration*) czterowalentnej szczepionki przeciwko wirusom brodawczaka ludzkiego. Jest ona skuteczna w zapobieganiu zmianom chorobowym zarówno w obrębie szyjki macicy jak i zewnętrznych narządów płciowych wywołanych przez HPV typu 6, 11, 16 i 18 [41]. Szczepionka ta jest dostępna również w Polsce.

Zakażenie HPV wywołuje miejscową odpowiedź immunologiczną typu komórkowego, dzięki czemu zmiany chorobowe u większości kobiet ustępują. Jednakże w pewnym odsetku przypadków zakażenie przechodzi w fazę latentną, której zgubny wpływ

został już omówiony. Większość osób zakażonych HPV wytwarza także swoiste przeciwciała skierowane przeciwko białku kapsydowemu wirusa – L1. Produkcja przeciwciał anti-L1 po naturalnym zakażeniu jest opóźniona, a poziom przeciwciał bardzo niski [42]. Jest to spowodowane tym, że produkcja białek kapsydowych zachodzi w powierzchniowych warstwach nabłonka, co znacznie utrudnia prezentację antygenów wirusowych komórkom układu immunologicznego. Warto zaznaczyć, że w doświadczalnych modelach *in vitro* oraz *in vivo* obserwowano znaczną skuteczność przeciwciał anti-L1 w neutralizacji wirusa [43].

Zarówno zarejestrowana czterowalentna szczepionka o nazwie *Gardasil* (w Polsce sprzedawana pod nazwą *Silgard*), jak i szczepionka dwuwalentna *Cervarix* przeciwko typom 16 i 18 HPV są szczepionkami rekombinowanymi i zawierają cząsteczki wirusopodobne (*viral-like particles, VLPs*). VLPs powstają przez klonowanie genów kodujących białko kapsydowe L1, pochodzących od odpowiednich typów wirusa HPV. Obie szczepionki są bardzo immunogenne. Miano przeciwciał po podaniu pozajelitowym jest znacznie większe niż po zakażeniu naturalnym. W badaniach klinicznych obserwowano serokonwersję u prawie 100% zaszczepionych [44, 45].

Przeprowadzono trzy zakrojone na szeroką skalę badania kliniczne, w których oceniano czterowalentną szczepionkę: 007, FUTURE I oraz FUTURE II [44]. We wszystkich trzech badaniach częstość występowania CIN 2/3 i raka gruczołowego *in situ* (AIS, *adenocarcinoma in situ*) związanych z zakażeniem HPV 16 i 18 zmniejszyła się u kobiet zaszczepionych o 100% w konfrontacji z grupą placebo. Również doskonałą skuteczność obserwowano w przypadku zapobiegania kłykcinom kończystym związanych z infekcją HPV 6, 11, 16, 18. W badaniu 007 i FUTURE I wykazano zmniejszenie o 100% występowania kłykcini kończystych, a w FUTURE II redukcja ta wynosiła 98% w porównaniu z grupą placebo [46].

Wyniki badań są bardzo zachęcające i w pełni uzasadniają entuzjazm onkologów. Jednakże są pewne nierozwiązane problemy. Bardzo trudny jest dobór optymalnych grup wiekowych, które miałyby być objęte programem szczepień. Wyniki badań immunologicznych wykazały lepszą odpowiedź serologiczną na szczepionkę czterowalentną u dziewczynek w wieku 9-15 lat niż u starszych nastolatek i dojrzałych kobiet [47]. Reasumując, szczepienie powinno odbyć się przed inicjacją seksualną, gdyż wtedy rezultaty będą najlepsze. Może to trafić na opór społeczny w wielu krajach. Dużym problemem może być także wysoki koszt szczepienia – w USA cena trzech dawek szczepionki czterowalentnej bez kosztów wykonania iniekcji wynosi 360 dolarów [41].

Nierozwiązany pozostaje również aspekt szczepienia kobiet aktywnych seksualnie. Chociaż szczepionki przeciwko HPV są aktywne w grupie kobiet 15-26 lat, to korzystny efekt udokumentowano jedynie wśród kobiet DNA-negatywnych wobec typów HPV uwzględnionych w szczepionkach. Dlatego też dyskusyjne i otwarte pozostaje zagadnienie szczepienia starszych, aktywnych seksualnie kobiet, z uwagi na to, że mogą nie odnieść spodziewanych korzyści.

Po rozważeniu wszystkich powyższych problemów amerykański Komitet Doradczy ds. Szczepień Ochronnych (ACIP, Advisory Committee on Immunization Practices) zdecydował, że główną grupą docelową szczepienia przeciwko HPV pozostają dziewczynki w wieku 11-12 lat, jednakże należy szczepić również aktywne seksualnie kobiety w wieku 13-26 lat [47].

1.7. Czynniki prognostyczne w raku szyjki macicy

Rokowanie w przebiegu raka szyjki macicy zależy od bardzo wielu czynników, które można zaklasyfikować do trzech grup [48]. W grupie I znalazły się: wiek, rasa, stan ogólny, otyłość, stan morfologii krwi, status socjoekonomiczny, stan hormonalny i immunologiczny. Do grupy II należą: stopień klinicznego zaawansowania, typ histologiczny nowotworu oraz stopień jego dojrzałości, wielkość guza i głębokość naciekania, stan regionalnych węzłów chłonnych, zajęcie przymiacz, inwazja naczyń oraz stężenie markerów nowotworowych i obecność DNA wirusa brodawczaka ludzkiego. Grupa III obejmuje sposób leczenia i doświadczenie zespołu, który je przeprowadza.

Z punktu widzenia terapeutycznego najistotniejsza jest grupa II czynników rokowniczych, wśród której w pierwszej kolejności należy wymienić stopień klinicznego zaawansowania. O olbrzymiej randze tego czynnika świadczą różnice w pięcioletnich przeżyciach kobiet w zależności od kwalifikacji do danego stopnia klinicznego. Wskaźniki te przedstawiają się następująco: stopień IA 95 – 100%, IB 75 – 90%, II 50 – 60%, III 30 – 35%. IV poniżej 5% pięcioletnich przeżyć [48]. Powyższe dane są doskonałym potwierdzeniem poglądu, że nowotwór wcześnie wykryty jest w zupełności wyleczalny.

Typ histologiczny raka szyjki macicy jest również jednym z najważniejszych czynników prognostycznych. Powszechnie uważa się, że lepsze rokowanie dotyczy chorych na raka płaskonabłonkowego niż gruczołowego szyjki macicy. Analizując wskaźniki pięcioletnich przeżyć najgorzej wypadają one dla raka płaskonabłonkowo – gruczołowego (*carcinoma adenosquamosum*) i wynoszą 50%. Nieco lepsze pod względem prognostycznym jest rozpoznanie raka gruczołowego, gdzie 5-letnie przeżycie ocenia się na 76%, natomiast dla raka płaskonabłonkowego wskaźnik ten wynosi 84% [49]. Szczególnie złym rokowaniem cechuje się drobnokomórkowy rak szyjki macicy. Z uwagi na bardzo dużą agresywność z szybką tendencją do przerzutowania, 5-letnie przeżycia oscylują w granicach 10-15%.

Dla rokowania co do przebiegu choroby niezbędne jest także określenie stopnia dojrzałości histologicznej. Inwazyjne raki szyjki macicy w zależności od stopnia zróżnicowania dzielimy na: raki wysoko zróżnicowane - G1, raki średniozróżnicowane - G2 oraz raki nisko zróżnicowane - G3. W klasyfikacji tej im niższy stopień zróżnicowania nowotworu, tym gorsze rokowanie. Wielu autorów [50, 51] uwypukla interesującą zależność wzrostu ryzyka powstawania przerzutów wraz z obniżającą się histologiczną dojrzałością nowotworów. Dla raków wysoko zróżnicowanych ryzyko wystąpienia przerzutów dotyczy 15% chorych, dla średnio zróżnicowanych ryzyko to wzrasta do 21%, a dla nisko zróżnicowanych wynosi aż 30% [50,51].

Warta podkreślenia jest korelacja między wielkością guza i głębokością naciekania a ryzykiem obecności przerzutów w węzłach chłonnych i odsetkiem pięcioletnich przeżyć [52]. Powyższy fakt odnajduje swoje odzwierciedlenie w klasyfikacji według FIGO, gdzie stopień klinicznego zaawansowania IB podzielony jest na IB1, w którym średnica guza jest poniżej 4 cm i na IB2, gdzie guz przekracza 4 cm. Według niektórych autorów [53] wielkość pierwotnego nacieku ma decydujące znaczenie prognostyczne. Wzrost wielkości pierwotnego guza szyjki macicy jest związany z wyraźnym spadkiem odsetka przeżyć pięcioletnich. Nacieki nowotworowe o średnicy do 4 cm koreluje z 60 - 90% przeżyciami 5-letnimi leczonych pacjentek, natomiast średnica guza powyżej 4 cm oznacza spadek 5-letnich przeżyć do 40% [1].

Nie bez znaczenia pozostaje również głębokość naciekania podścieliska. Jak pokazują badania Delgado i wsp. [50] istnieje korelacja pomiędzy głębokością naciekania podścieliska a pięcioletnimi przeżyciami pacjentek. Nacieki poniżej 10 mm oznaczał 90% przeżyć pięcioletnich, nacieki mieszczący się w granicach 10-20 mm wiązały się z obniżeniem

tego odsetka do 75%, natomiast naciek powyżej 20 mm powodował dalszą redukcję wskaźnika do 60%.

Dla opracowania prognozy terapeutycznej ważna jest znajomość stanu regionalnych węzłów chłonnych. Należy podkreślić z całą mocą, że już na etapie zaawansowania klinicznego IA, czyli raka mikroinwazyjnego w regionalnych węzłach chłonnych mogą pojawić się przerzuty nowotworowe. Jak szacuje Bidziński [54], ryzyko pojawienia się przerzutów w węzłach chłonnych w stopniu IA2 wynosi 1.2%. Znamienny wzrost tego ryzyka obserwujemy dla stopnia zaawansowania IB, gdzie dla węzłów chłonnych biodrowo-zaślonowych wynosi ono aż 15%. Reasumując: stwierdzenie przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych uważa się za niekorzystny czynnik prognostyczny. Warto wspomnieć, że na podstawie wieloletnich obserwacji stwierdzono, że gorsze rokowanie dotyczy chorych z przerzutami w węzłach chłonnych okołoaortalnych i wzdłuż naczyń biodrowych wspólnych w porównaniu z lokalizacją przerzutów ograniczoną do węzłów chłonnych przymacic.

Zajęcie przymacic przez proces nowotworowy stanowi bezspornie niekorzystny czynnik rokowniczy. Wciągnięcie przymacic w rozrost nowotworowy może przybierać charakter ciągły, czyli pozostawać w łączności z guzem pierwotnym w obrębie szyjki macicy lub przebiegać drogą naczyń. Zajęcie przymacic przez ciągłość jest konsekwencją powiększającego się guza pierwotnego, co doskonale tłumaczy uznanie go za negatywny czynnik prognostyczny.

Kolejnym czynnikiem, który należy omówić jest zajęcie przez proces nowotworowy przestrzeni naczyniowej, określane terminem CLS (*capillary-like space involvement*). Jest to niezwykle ważne zagadnienie, które może prowadzić do przeddiagnozowania. Należy podkreślić, iż występujące nawet w stopniu zaawansowania klinicznego IA CLS nie wpływa w żaden sposób na zmianę klasyfikacji. Według danych z literatury [55], wciągnięcie w proces nowotworowy CLS oznacza gorsze rokowanie niż zajęcie naczyń chłonnych. Analizując dane dotyczące chorych w tym samym stopniu zaawansowania klinicznego daje się zauważyć, że odsetek pięcioletnich przeżyć dla chorych z zajęciem CLS jest znacznie gorszy (70% zgonów w ciągu 5 lat obserwacji) w konfrontacji z zajęciem naczyń chłonnych (31% zgonów w ciągu 5 lat obserwacji) [55].

Znaczenie aneuploidii jako czynnika prognostycznego dla raka szyjki macicy zyskuje na znaczeniu. Zjawisko to jest bardzo często obserwowane w komórkach nowotworów złośliwych, gdzie dochodzi do nieprawidłowej syntezy, replikacji oraz rozdziału

materiału genetycznego do komórek potomnych. Aneuploidia to zaburzenie ilości materiału genetycznego, które polega na tym, że ilość DNA w komórkach nie jest wielokrotnością zawartości DNA w jednym garniturze chromosomów typowym dla danego gatunku, lecz ma wartość pośrednią. Pomiar ploidii uważa się za jeden z obiektywnych sposobów pomiaru złośliwości guza, z uwagi na to, iż wyraźna aneuploidia komórek nowotworowych wiąże się z dużą agresywnością rozrostu nowotworowego. Ponadto może także świadczyć o istniejącym, bardzo głębokim zaburzeniu cyklu komórkowego. Prowadzone badania cytofotometryczne ujawniły niezwykle interesujące fakty. Zaobserwowano, że dynamika postępu śródnabłonkowej neoplazji szyjki macicy w dużej mierze zależy od zmian w materiale genetycznym komórek nabłonkowych. Samoistna regresja w różnych stopniach zaawansowania CIN zachodziła znacznie częściej, jeśli jądra komórek nabłonkowych cechowały się poliploidią euploidalną [56]. Przewaga jąder aneuploidalnych prowadziła do progresji zmian i rozwoju nowotworu. Dlatego też tak istotna może być ocena ploidii DNA, ponieważ wzrost liczby komórek aneuploidalnych niesie za sobą ważną informację o dużej agresywności raka i ewentualnej skłonności do szybkiego przerzutowania.

1.8. Leczenie raka szyjki macicy

W raku szyjki macicy stosuje się leczenie chirurgiczne, radioterapię i chemioterapię oraz kombinacje tych metod. Głównym kryterium, od którego zależy dobór metody leczenia jest stopień zaawansowania nowotworu. Na dalszych miejscach plasują się wiek chorej, jej stan ogólny oraz ewentualne plany rozrodcze.

W raku w stopniu zaawansowania 0 (*carcinoma praeinvasivum*, *carcinoma in situ*) postępowaniem z wyboru jest oszczędzające leczenie chirurgiczne, które jeśli dotyczy kobiet w wieku reprodukcyjnym umożliwi im posiadanie potomstwa. Jednakże istnieją pewne przeciwwskazania do leczenia oszczędzającego, obejmującego konizację lub amputację szyjki macicy. Są to: guzy i stany zapalne przydatków, mięśniaki macicy, zniekształcenia poporodowe części pochwowej, lokalizacja raka w kanale szyjki macicy [28]. W przypadku obecności wyżej wymienionych przeciwwskazań zalecane jest usunięcie macicy ze sklepieniami pochwy bez przydatków, jeżeli są one niezmienione. U kobiet będących w wieku pomenopauzalnym, u których rozpoznano raka przedinwazyjnego metodą proponowaną jest usunięcie macicy wraz z przydatkami i sklepieniami pochwy. Duży zakres tej operacji tłumaczy się zasadami aseptyki onkologicznej oraz tym, że usunięcie sklepień

pochwy, jako głównego rezerwuaru onkogennych typów wirusa HPV, pozwoli na wyeliminowanie zakażonych nimi tkanek. W szczególnych przypadkach, m.in. braku zgody na operację alternatywnym leczeniem może być brachyterapia dopochwowa i domaciczna. W raku mikroinwazyjnym w stopniu zaawansowania IA1 postępowanie jest analogiczne do przedstawionego dla raka przedinwazyjnego.

W planowanej terapii raka mikroinwazyjnego w stopniu zaawansowania IA2 bierze się pod uwagę leczenie chirurgiczne z radioterapią uzupełniającą lub bez niej. Warto w tym miejscu przypomnieć fakt, iż dla raka w stopniu IA2 ryzyko obecności przerzutów w węzłach chłonnych wynosi 1.2%. Stąd zaleca się usunięcie macicy ze sklepieniami pochwy z przydatkami lub bez (w zależności od wieku pacjentek). Leczenie oszczędzające dotyczy pacjentek, którym z uwagi na wiek zależy na utrzymaniu płodności.

Rozważając schemat leczenia dla raka szyjki macicy w stopniu zaawansowania IB1, IB2 oraz IIA należy przypomnieć, że dla stopnia IB ryzyko przerzutów do węzłów chłonnych biodrowych i zasłonowych wynosi około 15%, a do węzłów okołoaortalnych 6%. Metodą z wyboru jest leczenie chirurgiczne polegające na rozszerzonym wycięciu macicy z przydatkami oraz obustronnym usunięciu węzłów chłonnych miednicy mniejszej. Jest to tzw. operacja Meigsa – Wertheima. Leczenie uzupełniające zależy od stanu węzłów chłonnych, głębokości naciekania oraz zróżnicowania histopatologicznego i polega na zastosowaniu radioterapii bądź radiochemioterapii opartej na cisplatynie [28].

W rakach w stopniach zaawansowania IIB, IIIA, IIIB i IVA stosuje się wyłącznie radiochemioterapię, która obejmuje teleterapię miednicy z chemioterapią jednoczesną opartą na cisplatynie z dodatkową brachyterapią. W stopniu IVB brak jest obowiązującego standardu leczenia. Chore w tym stopniu zaawansowania są kandydatkami do leczenia paliatywnego [28].

Niezmierne istotne stało się wprowadzenie radiochemioterapii jako standardu postępowania w stopniach IB, II, III oraz IVA. Jak pokazują wyniki badań dzięki takiemu postępowaniu udało się zmniejszyć ryzyko zgonu o 30-50% w porównaniu z wyłączną radioterapią. Kwestią otwartą pozostaje nadal dobór optymalnego rodzaju chemioterapii w skojarzeniu. Rozważane są monoterapia cisplatyną i schematy wielolekowe, także z zastosowaniem cis platyny [28].

Leczenie nawrotów zależy od rodzaju leczenia pierwotnego. W przypadku zastosowania leczenia chirurgicznego należy wziąć pod uwagę radioterapię. Sytuacja odwrotna jest niezwykle kłopotliwa, gdyż możliwości skutecznej chirurgii po uprzedniej

radioterapii są bardzo ograniczone, a uzyskiwane wyniki są znacznie gorsze z uwagi na większe ryzyko poważnych powikłań. Najtrudniejszy problem terapeutyczny sprawia wznowa w obrębie miednicy, gdzie nie ma możliwości zastosowania leczenia chirurgicznego lub radioterapii. Chemioterapia przynosi w takiej sytuacji bardzo nikłe rezultaty.

Badania kontrolne po zakończeniu leczenia powinno się przeprowadzać co 3 miesiące w pierwszych 2 latach obserwacji, następnie co 6 miesięcy do piątego roku po zakończonej terapii. Po tym czasie wskazane są wizyty u onkologa-ginekologa co rok. Badanie kontrolne musi bezapelacyjnie zawierać pełne badanie przedmiotowe i podmiotowe, pełne badanie ginekologiczne oraz badanie cytologiczne.

1.9. Markery nowotworowe w diagnostyce i monitorowaniu leczenia raka szyjki macicy

Markerami nowotworowymi, które odgrywają ważną rolę w diagnostyce oraz monitorowaniu efektów leczenia w raku szyjki macicy są SCC-Ag (*squamous cell carcinoma antigen*), czyli antygen raka płaskonabłonkowego oraz antygen karcynoembrionalny (*CEA – carcinoembryonic antigen*). Badano przydatność także wielu innych markerów u chorych na raka szyjki macicy. Wymienić tutaj należy: antygen CA 125, tkankowy antygen polipeptydowy (*TPA – Tissue polypeptide antigen*), swoisty polipeptydowy antygen tkankowy (*TPS – Tissue polypeptide specific antigen*), fragment cytokeratyny 19 (Cyfra 21-1), α -fetoproteinę (AFP), gonadotropinę kosmówkową (*hCG – human Chorionic Gonadotropin*) oraz antygen CA 19.9. Nie wszystkie z wyżej wymienionych markerów stały się przydatne w ocenie zaawansowania nowotworu, jak również skuteczności leczenia raka szyjki macicy.

Antygen raka płaskonabłonkowego (SCC-Ag) jest glikoproteiną, której obecność stwierdza się w cytozolu zarówno prawidłowych jak i zmienionych nowotworowo komórek nabłonka wielowarstwowego płaskiego szyjki macicy. Co niezmiennie istotne, jego zawartość w komórkach raka płaskonabłonkowego jest wielokrotnie wyższa w porównaniu z prawidłowymi komórkami gruczołowymi oraz komórkami gruczolakoraka. Nasilenie ekspresji SCC-Ag zależy od stopnia zróżnicowania i najniższa jego ekspresja występuje w przypadku raków nisko zróżnicowanych [57]. Antygen ten w surowicy ludzi zdrowych występuje w bardzo niskim stężeniu. Wysokie stężenia tego markera obserwuje się u chorych na raka szyjki macicy, płaskonabłonkowego raka płuca oraz w przypadku płaskonabłonkowych nowotworów w obrębie głowy i szyi. Nieznacznie podwyższone

stężenie SCC-Ag stwierdza się w zakaźnych i niezakaźnych chorobach płuc, chorobach nerek oraz niezłośliwych nowotworach w obrębie głowy i szyi. Niezwykle interesującym faktem jest wysokie stężenie tego antygenu u pewnego odsetka chorych na łuszczycę [58, 59].

SCC-Ag jest szeroko uznawany za marker raka szyjki macicy, a poziom jego stężenia zależy od stopnia zróżnicowania nowotworu. W raku nieinwazyjnym podwyższone stężenia markera są stwierdzane u 5-10% chorych, w stadium IA u około 30%, w stadium III u około 70% a w stadium IV zaawansowania nawet u ponad 88% chorych [58]. Ważnym aspektem dotyczącym SCC-Ag jest zależność częstości występowania podwyższonego stężenia SCC-Ag w stosunku do stanu węzłów chłonnych. Jak pokazują badania, u chorych w stopniach zaawansowania I i II w zależności od stwierdzanych histopatologicznie lub nie przerzutów w węzłach chłonnych obserwowano istotne różnice w odsetku podwyższonego stężenia SCC-Ag [58, 60].

Zdania naukowców co do rzeczywistej wartości prognostycznej wyjściowego stężenia SCC-Ag są podzielone, lecz dominuje pogląd, iż podwyższone stężenie tego antygenu to niekorzystny wskaźnik rokowniczy. Dowiedziono, że znacząco niższy odsetek chorych z wyjściowym stężeniem markera powyżej 10 ng/ml przeżywa 5 lat [61, 62].

Jedną z cech, dzięki której SCC-Ag stał się markerem wiodącym w raku szyjki macicy był fakt, że po chirurgicznym usunięciu nowotworu stężenie SCC-Ag w okresie do 7 dni po zabiegu obniża się do wartości referencyjnych. Normalizacja stężenia SCC-Ag stała się wykładnikiem radykalności zabiegu. Wzrost stężenia SCC-Ag w trakcie badań kontrolnych może świadczyć o nawrocie choroby, wyprzedzając o 2-5 miesięcy kliniczne i radiologiczne objawy. Warto zasygnalizować, że utrzymujące się niskie stężenie markera nie wyklucza obecności aktywnego procesu nowotworowego [63, 64]

Reasumując, SCC-Ag nie może być wykorzystany do realizacji badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy, jednakże może doskonale spełniać swoją funkcję w kontroli chorych po leczeniu pierwotnym w celu wczesnego wykrycia wznowy lokoregionalnej i/lub odległych przerzutów, jak również do monitorowania skuteczności ewentualnie prowadzonej chemioterapii.

Antygen karcynoembrionalny (CEA) jest glikoproteiną, której dużą zawartość wykazywano metodami immunohistochemicznymi w komórkach przewodu pokarmowego i trzustki płodu, a także w gruczolakoraku jelita grubego. Nieznacznie podwyższone stężenie CEA występuje w czasie ciąży, w stanach zapalnych wątroby, jelit oraz płuc. Stężenie u ludzi

zdrowych jest małe i wynosi 3-5 ng/ml u osób niepalących tytoniu, natomiast u palaczy obserwuje się wzrost do wartości 10 ng/ml [65].

W komórkach raka szyjki macicy obecność CEA stwierdzano u 60-70% chorych, przy czym zależy ona od typu histologicznego nowotworu. W gruczolakorakach jest to około 36% przypadków, a w rakach płaskonabłonkowych już około 70% przypadków, w których wykryto obecność CEA. Antygen karcynoembrionalny cechuje się niewielką czułością i swoistością diagnostyczną w stosunku do raka szyjki macicy, jednakże można go wykorzystać do wykrywania przerzutów nowotworowych.

Na uwagę zasługują również rozpuszczalne fragmenty cytokeratyny 19, tzw. Cyfra 21-1. Wzrost stężenia tego markera obserwowano u 34-70% chorych na raka szyjki macicy. Bardzo istotny jest fakt, że wzrost jego stężenia silnie koreluje ze wzrostem zaawansowania choroby [66, 67, 68]. Uwypuklana jest rola wyjściowego stężenia markera, jako czynnika rokowniczego. Jednakże większość autorów podkreśla wyższość oznaczeń SCC-Ag w porównaniu z Cyfrą 21-1.

Inne markery wymienione na początku podrozdziału, które mogą być potencjalnie użyte do oceny rokowania i monitorowania leczenia mają mniejsze znaczenie w praktyce klinicznej. Ponadto należy podkreślić, że zwiększanie liczby oznaczanych jednocześnie markerów nie jest słuszne ze względu na drastyczny spadek swoistości diagnostycznej takiego panelu badań.

1.10. Cytodiagnostyka stanów patologicznych w obrębie szyjki macicy

1.10.1. Składniki komórkowe prawidłowych rozmazów cytologicznych z szyjki macicy

Zapoczątkowana w latach 40-tych XX wieku przez Papanicolaou technika wykonywania rozmazów cytologicznych bezspornie zainicjowała nowy rozdział w szeroko pojętej walce z rakiem szyjki macicy. Dzięki niej stało się możliwe przeprowadzanie badań przesiewowych, które znacznie obniżyły umieralność z powodu tego nowotworu. Głównymi zaletami cytodiagnostyki są wysoka dokładność wykrywczą podejrzanych zmian, możliwość pobierania rozmazów w małych ośrodkach o niskim budżecie a także możliwość objęcia badaniami wszystkich kobiet, które są w grupie osób zagrożonych rozwinięciem nowotworu.

W celu odpowiedniej interpretacji uzyskiwanych obrazów cytologicznych należy przybliżyć budowę histologiczną nabłonka szyjki macicy i pochwy. Część pochwowa szyjki

macicy, podobnie jak sklepienia pochwy są wyścielone nabłonkiem wielowarstwowym płaskim. Czasami nazywa się go nabłonkiem paraepidermoidalnym w celu odróżnienia od nabłonka wielowarstwowego płaskiego występującego w innych miejscach. Zasadniczo jest zbudowany z czterech warstw komórkowych, leżącej najgłębiej warstwy podstawnej, warstwy przypodstawnej, warstwy pośredniej oraz leżącej najbardziej zewnętrznie warstwy powierzchniowej. Przejście jednej warstwy w drugą jest stopniowe i nie są obserwowane ścisłe granice. Warty podkreślenia jest fakt, że obecność poszczególnych warstw, jak też ich rozwój jest związany ze stanem hormonalnym organizmu kobiety.

Kanał szyjki macicy wyścielony jest nabłonkiem jednowarstwowym walcowatym, zbudowanym z wysokich komórek, wśród których wyróżnia się komórki wytwarzające śluz, komórki urzęsione i rezerwowe. Na szczególną uwagę zasługują komórki rezerwowe. Morfologicznie przypominają komórki warstwy podstawnej nabłonka wielowarstwowego płaskiego. Są to nisko zróżnicowane komórki walcowate o dużym potencjale proliferacyjnym, które posiadają zdolność różnicowania się zarówno w kierunku dojrzałych komórek walcowatych, jak też w kierunku komórek nabłonka wielowarstwowego płaskiego. Różnicowanie się komórek rezerwowych odbywa się przez tzw. metaplastję pośrednią, głównie w okolicy ujścia zewnętrznego kanału szyjki macicy w tzw. strefie przejściowej. Strefa ta jest odcinkiem o długości od 1 do 10 mm, której obszar jest ściśle związany z wiekiem i sytuacją hormonalną kobiety. Zetknięcie się nabłonka wielowarstwowego płaskiego pokrywającego tarczę części pochwowej z nabłonkiem jednowarstwowym walcowatym kanału szyjki macicy następuje bądź wewnątrz kanału szyjki, jak ma to miejsce u dzieci i kobiet w podeszłym wieku, bądź na powierzchni tarczy. Nabłonek walcowaty kanału styka się w pobliżu ujścia wewnętrznego z nabłonkiem walcowatym wyścielającym jamę macicy (nabłonek endometrium). Jest to tzw. histologiczne ujście wewnętrzne kanału szyjki macicy.

Rozmazy, które zostały pobrane z szyjki macicy zawierają dużą liczbę komórek pochodzenia nabłonkowego i pozanabłonkowego. Jeśli chodzi o komórki nabłonkowe to mogą one pochodzić z nabłonka wielowarstwowego płaskiego tarczy części pochwowej, nabłonka walcowatego kanału szyjki macicy (komórki endocerykalne) oraz nabłonka endometrium (komórki endometrialne). Duże spektrum komórkowe, które możemy obserwować pod mikroskopem wymaga dużego doświadczenia cytologa oglądającego preparaty.

Szczególnym rodzajem komórek stwierdzanych w rozmazach są komórki metaplastyczne. Jak wspomniano powyżej powstają one na drodze metaplastji, czyli różnicowania się komórek rezerwowych nabłonka gruczołowego w komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego. Komórki metaplastyczne obejmują wszystkie przejściowe formy komórkowe, które towarzyszą temu procesowi. Bardzo często współistnieją ze zmianami odczynowymi i naprawczymi. Z uwagi na swoją dużą różnorodność morfologiczną, komórki metaplastyczne mogą nastręczać poważne trudności diagnostyczne.

Oprócz komórek nabłonkowych można zaobserwować szereg innych, które są pochodzenia pozanabłonkowego. W pierwszej kolejności należy wymienić erytrocyty, które w warunkach prawidłowych są nieobecne w rozmazie, chyba że materiał był pobierany w okresie miesiączki lub tuż po niej. Ponadto można stwierdzić pełen wachlarz leukocytów, których obecność może sygnalizować toczący się stan zapalny. Wprawne oko cytologa może zaobserwować także obecne w rozmazie patogeny, takie jak *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis*, *Actinomyces sp*, *Chlamydia trachomatis*, CMV, HSV, HPV lub morfologiczne, cytologiczne wykładniki infekcji tymi drobnoustrojami.

Na zakończenie tego tematu trzeba wspomnieć, że w oglądanych rozmazach oprócz komórek nabłonkowych i nienabłonkowych mogą być obecne rozmaite artefakty wynikające ze złej techniki przygotowywania preparatów. Są to między innymi pęcherzyki powietrza oraz wszelkiego pochodzenia pyły, które mogą zaburzać proces diagnostyczny.

1.10.2. Podstawowe definicje i terminy stosowane w cytodiagnostyce i histopatologii ginekologicznej

Niezwykle ważną dla zrozumienia wszelkich procesów toczących się w obrębie szyjki macicy jest znajomość pojęć stosowanych w cytodiagnostyce i histopatologii ginekologicznej, takich jak: *ectocervix*, *endocervix* oraz *zona transitionalis*. Pierwsze z nich oznacza zewnętrzną część szyjki macicy, która pokryta jest nabłonkiem wielowarstwowym płaskim nierogowaciejącym. Jest to tzw. nabłonek paraepidermoidalny. *Endocervix* oznacza nic innego jak kanał szyjki macicy wyścielony nabłonkiem jednowarstwowym walcowatym, produkującym śluz i tworzącym zagłębienia w ścianie kanału szyjki, tzw. gruczoły *endocervix* [69]. Z punktu widzenia badań przesiewowych najważniejszym terminem jest *zona transitionalis*, czyli strefa przejściowa. Jest to strefa pogranicza między nabłonkiem gruczołowym i paraepidermoidalnym, istotna z uwagi na to, że to w tej okolicy najczęściej

rozpoczyna się atypowy rozrost nabłonka. Dlatego też pobranie rozmazu z tej strefy ma zasadnicze znaczenie w profilaktyce raka szyjki macicy.

Ektropion to kolejny termin, który bardzo często towarzyszy rozpoznaniom ginekologicznym. Oznacza ono przechodzenie nabłonka walcowatego z kanału szyjki macicy na tarczę szyjki. Wtedy w rozmazach cytologicznych obserwuje się zwiększoną liczbę komórek gruczołowych oraz komórek metaplastycznych nabłonka płaskiego. Zwykle rozmaz taki ma również komponent zapalny. Stan ten określa się mianem nadżerki gruczołowej (*erosio glandularis*), która w badaniu ginekologicznym przejawia się zaczerwienieniem wokół ujścia kanału szyjki macicy [69]. Nadżerka gruczołowa bardzo często występuje u młodych kobiet lub po przebytej ciąży. Należy odróżnić nadżerkę gruczołową od nadżerki prawdziwej (*erosio vera*), która polega na występowaniu ubytku nabłonka tarczy szyjki macicy. Stan ten może występować w przebiegu reakcji zapalnych o różnorodnej etiologii.

Zjawisko metaplastacji płaskonabłonkowej polega na różnicowaniu się komórek rezerwowych nabłonka gruczołowego w komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego. Jak już wspomniano w poprzednim podrozdziale, komórki metaplastyczne z uwagi na swoją dużą różnorodność morfologiczną mogą nastręczać poważne trudności diagnostyczne.

Następnym pojęciem, które wymaga bezwzględnego omówienia jest dysplazja. Jest to nieprawidłowe dojrzewanie komórek, które w obrazie mikroskopowym przejawia się zaburzonym kształtem komórek oraz powiększeniem i nieprawidłową budową jąder komórkowych. W zależności od stopnia nasilenia zmian, wyróżnia się dysplazję małego, średniego i dużego stopnia – CIN 1, CIN 2, CIN 3. Jak się powszechnie uważa, dysplastyczne zmiany są punktem wyjścia dla rozwoju inwazyjnego raka szyjki macicy.

1.10.3. Klasyfikacje zmian w zakresie cytologii szyjki macicy i kryteria diagnostyczne

Najstarszą i do dzisiaj stosowaną klasyfikacją służącą do oceny rozmazów cytologicznych jest pięciostopniowa klasyfikacja Papanicolaou. Jej autorem i twórcą cytodiagnostyki ginekologicznej jest amerykański ginekolog greckiego pochodzenia Georgios Papanikolaou, który już w 1928 roku na konferencji w Battle Creek w Michigan ogłosił, że można stwierdzić komórki nowotworu w wymazie cytologicznym z pochwy. Jego odkrycie pozostało niedocenione do 1943 roku, gdy wraz z Herbertem Trautem opublikował klasyczną monografię "Diagnosis of uterine cancer by the vaginal smear". Klasyfikacja ta doskonale

sprawdza się we wczesnym wykrywaniu wielu nieprawidłowości w obrębie nabłonka szyjki macicy. Jej dokładne omówienie znajduje się w następnym rozdziale. Należy zaznaczyć, że oprócz bezapelacyjnych pozytywów wynikających z jej stosowania, wielu autorów [70] zarzuca tej klasyfikacji dość znaczną wadliwość, która wynika m. in. z tego, że nie odzwierciedla etapów karcynogenezy oraz nie uwzględnia występowania zmian nienowotworowych.

Niezwykle popularnym systemem obejmującym i klasyfikującym zmiany z szyjki macicy obserwowane w preparatach histopatologicznych jest klasyfikacja Światowej Organizacji Zdrowia (WHO). Wyróżniono w niej w zależności od nasilenia następujące kategorie zmian: dysplazję lekką, średnią oraz ciężką, raka przedinwazyjnego, a także raka płaskonabłonkowego inwazyjnego [71].

Krokiem milowym zarówno w cytodiagnostyce jak i histopatologii raka szyjki macicy było wprowadzenie przez Richarta i Barrona [72] pojęcia CIN (cervical intraepithelial neoplasia), obejmującego zmiany zaliczane do dysplazji oraz raka przedinwazyjnego. Określono nasilenie tych zmian wprowadzając trzystopniową skalę, gdzie CIN 1 odpowiada dysplazji małego stopnia, CIN 2 dysplazji średniego stopnia oraz CIN 3, która oznacza dysplazję znacznego stopnia i raka przedinwazyjnego. Jest ona stosowana głównie w histopatologii, lecz bywa też używana w cytodiagnostyce, gdzie doskonale spełnia swoją rolę, ponieważ umożliwia względnie łatwe porównywanie wyników badań cytologicznych i histopatologicznych.

W obecnej chwili istotną rolę w diagnostyce cytologicznej odgrywa opracowany w Stanach Zjednoczonych System Bethesda [73, 74]. Wprowadzono w nim uproszczoną, dwustopniową klasyfikację zmian śródnabłonkowych, tj. LSIL oraz HSIL. W skład LSIL, czyli zmian małego stopnia wchodzi CIN 1 oraz koilocytoza, będąca morfologicznym wykładnikiem infekcji HPV. HSIL obejmuje zmiany dużego stopnia, a więc CIN 2, CIN 3 oraz raka przedinwazyjnego. Olbrzymią innowacją w tym Systemie było dodanie nowej kategorii zmian patologicznych, a mianowicie ASC-US oraz ASC-H do określenia komórek nieprawidłowych, lecz niedających się jednoznacznie zidentyfikować i niewykazujących wyraźnych cech dysplazji. Co niezwykle istotne, poszerzono zakres oceny preparatów o ocenę jakości technicznej i przydatności materiału dostarczonego do badania cytologicznego, a także wprowadzono kategorie dotyczące zmian zapalnych i odczynowych.

Porównanie wszystkich najważniejszych klasyfikacji zmian w obrębie nabłonka szyjki macicy przedstawia Tabela III [za 69] .

Klasyfikacja		Zmiany łagodne	Nieprawidłowości komórek nabłonkowych				
Papanicolaou	I	II		III		IV	V
WHO				dysplazja małego stopnia	dysplazja średniego stopnia	dysplazja dużego stopnia – rak przedinwazyjny	rak inwazyjny
CIN				CIN 1	CIN 2	CIN 3	
Bethesda		zmiany zapalne i odczynowe	ASC-US ASC-H	LSIL HPV	HSIL		

Tabela III. Porównanie różnych klasyfikacji zmian nabłonka szyjki macicy.

1.10.4. Klasyfikacja obrazów cytologicznych według Papanicolaou

Stosowana od ponad 60 lat skala wg Papanicolaou nadal doskonale spełnia swoją rolę w wykrywaniu zarówno zmian przednowotworowych, jak i raków szyjki macicy. Główne zarzuty, co do zasadności jej stosowania dotyczą tego, iż nie odzwierciedla ona współczesnej wiedzy na temat karcynogenezy oraz tego, że nie uwzględnia licznych zmian nienowotworowych występujących w obrębie szyjki macicy [1, 70, 86].

Klasyfikacja stworzona przez Papanicolaou obejmuje pięć grup cytologicznych. W grupie I w rozmazie obecne są prawidłowe komórki warstwy powierzchniowej i pośredniej nabłonka wielowarstwowego płaskiego tarczy szyjki macicy. Widać również komórki gruczołowe pochodzące z kanału szyjki macicy oraz pojedyncze leukocyty. Grupa II obejmuje rozmazy, w których stwierdza się prawidłowe komórki warstwy powierzchniowej i pośredniej nabłonka tarczy szyjki, jak również prawidłowe komórki gruczołowe. Z racji tego, że grupa ta obejmuje procesy regeneracyjne i naprawcze, w rozmazach mogą być obecne komórki metaplastyczne. Obserwowane mogą być także liczne komórki zapalne a doświadczony cytolog potrafi rozpoznać czynnik inicjujący zapalenie np. bakterie czy pierwotniaki. Po przeprowadzonym leczeniu przeciwzapalnym trzeba bezwzględnie przeprowadzić kontrolne badanie cytologiczne. W grupie II nie stwierdza się komórek dysplastycznych ani nowotworowych. Zaklasyfikowanie do grupy III jest sygnałem alarmowym dla lekarza, ponieważ oznacza ona obecność komórek dysplastycznych. Niezwykle istotne jest określenie stopnia dysplazji, gdyż zmiany o charakterze dysplazji małego stopnia są niekiedy rezultatem silnego odczynu zapalnego i mogą ulec regresji po zastosowanym leczeniu przeciwzapalnym. Grupa IV zawiera obrazy cytologiczne o charakterze granicznym. Obecne są liczne komórki dysplastyczne a ponadto stwierdza się nieliczne komórki nowotworowe. W grupie V w rozmazie obserwuje się liczne komórki nowotworowe. Tło preparatu odznacza się obecnością licznych leukocytów oraz erytrocytów. Dwie ostatnie grupy wymagają natychmiastowej dalszej diagnostyki i wdrożenia szybkiego leczenia [70].

Należy pamiętać, że cytologia eksfoliatywna daje informacje jedynie o stanie morfologicznym złuszczonych komórek nabłonkowych natomiast nic nam nie mówi o stosunku tkanki nabłonkowej do podścieliska. Stąd rozpoznanie raka inwazyjnego można postawić dopiero po badaniu histopatologicznym.

1.10.5. Ocena cytologiczna rozmazów według Systemu Bethesda

Stworzona w latach 40-tych XX wieku klasyfikacja Papanicolaou nadal jest dość precyzyjna i skuteczna we wczesnym wykrywaniu raka szyjki macicy. Jak wspominałem wyżej, głównymi mankamentami zarzucanymi jej są brak uwzględnienia licznych zmian nienowotworowych występujących w obrębie szyjki macicy oraz brak odniesień do obecnej wiedzy na temat karcynogenezy. W związku z tym Narodowy Instytut Raka w Bethesda zaproponował w 1988 roku z późniejszą modyfikacją w 2001 roku nową klasyfikację zwaną TBS (*the Bethesda System*) [73, 74]. System Bethesda nie deprecjonuje klasyfikacji stworzonej przez Papanicolaou, lecz wychodzi naprzeciw nowym informacjom, które zostały uzyskane na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat. Pełny schemat formularza oceny cytologicznej według TBS znajduje się w ZAŁĄCZNIKU 2.

Innowacyjnym rozwiązaniem zastosowanym w TBS był podział nieprawidłowości komórek nabłonka płaskiego. Wyróżniono: atypowe komórki płaskonabłonkowe o nieokreślonym znaczeniu (*ASC-US – atypical squamous cell of undetermined significance*) oraz atypowe komórki płaskonabłonkowe, w których nie można wykluczyć HSIL (*ASC-H – atypical squamous cell cannot exclud HSIL*). Dalszą częścią tego podziału było wprowadzenie dwustopniowej klasyfikacji zmian śródnabłonkowych tj. zmiany śródnabłonkowe małego stopnia (*LSIL – low grade squamous intraepithelial lesion*) oraz dużego stopnia (*HSIL – high grade squamous intraepithelial lesion*).

Niezwykle ważne stało się wprowadzenie kategorii ASC-US i ASC-H, które obejmują komórki nieprawidłowe, w których obserwowane przez cytologa zmiany nie dają możliwości zaklasyfikowania ich, jako komórek dysplastycznych, jednakże nasuwają pewne podejrzenia, co do ich wysoce patologicznego charakteru. W tym miejscu należy zwrócić szczególną uwagę na atypowe komórki płaskonabłonkowe, w których nie można wykluczyć zmian śródnabłonkowych dużego stopnia (ASC-H). Takie rozpoznanie daje sygnał alarmowy dla klinicysty, ażeby objąć taką kobietę ścisłą obserwacją i dalszą, pogłębioną diagnostyką. Według klasyfikacji Papanicolaou, komórki nieprawidłowe, które nie spełniają cytologicznych cech dysplazji są umieszczane w II grupie, niepodjęrzaney o proces neoplazji. Powoduje to uśpienie czujności ginekologa, co może skutkować dalszą progresją choroby. LSIL to zmiany śródnabłonkowe małego stopnia, które odpowiadają lekkiej dysplazji oraz CIN 1. Obejmuje ona część grupy III według klasyfikacji Papanicolaou. Warto dodać, że w LSIL zostały umieszczone również zmiany morfologiczne spowodowane zakażeniem HPV. Bardzo obszerną z punktu widzenia terapeutyczno-diagnostycznego jest grupa HSIL, która

zawiera zmiany dysplastyczne średniego i dużego stopnia oraz raka *in situ*. Wzbudza to wiele kontrowersji, gdyż dysplazja średniego stopnia w około 30% przypadków [1] może ulec samoistnej regresji, natomiast dysplazja dużego stopnia i rak *in situ* w większości przypadków ulegają stopniowej progresji w proces inwazyjny. Stwierdzenie HSIL w obrazie cytologicznym obliguje lekarza do wykonania badania histopatologicznego, które ostatecznie rozstrzygnie charakter zmiany.

Kolejnym istotnym zagadnieniem umieszczonym w schemacie formularza TBS są nieprawidłowości komórek gruczołowych. TBS uwzględnia ich punkt wyjścia, tj. endocervikalny lub endometrialny, co ma nadrzędny wpływ na dalsze postępowanie terapeutyczne. Wyróżnia się trzy zasadnicze grupy: atypowe komórki gruczołowe, atypowe komórki endocervikalne oraz atypowe komórki endometrialne. Ideą twórców Systemu Bethesda było, ażeby w przypadku rozpoznania nieprawidłowych komórek gruczołowych określić ich pochodzenie, lecz gdy okaże się to niemożliwe użyć sformułowania atypowe komórki gruczołowe. Należy zaznaczyć, iż rozpoznawanie nieprawidłowości gruczołowych w rozmazach pochwowym jest znacznie mniej czułe i przynosi gorsze rezultaty niż w przypadku zmian płaskonabłonkowych.

Oprócz komórek nabłonkowych obecnych w rozmazie cytolog dostrzega także mikroorganizmy zasiedlające pochwę i szyjkę macicy. System Bethesda, który stanowi swoisty raport diagnostyczny, jaki składa patomorfolog na ręce ginekologa zawiera dokładne wyszczególnienie ewentualnych drobnoustrojów mogących występować w rozmazie. W tej grupie znalazły się bakterie tworzące naturalną florę fizjologiczną pochwy, jak również flora zewnątrzpochodna obejmująca m. in. promieniowce, ziarenkowce, pierwotniaki, grzyby oraz wirusy.

1.11. Profilaktyczne i przesiewowe badania cytologiczne w praktyce lekarza ginekologa - położnika

Rak szyjki macicy stanowi bardzo duży problem w skali światowej, ponieważ jest drugim po raku sutka najczęściej występującym nowotworem u kobiet i stanowi pierwszą przyczynę zgonów [75]. Niezwykle ważne dla poprawienia tych zatrważających statystyk jest stosowanie odpowiedniej profilaktyki pierwotnej i wtórnej. Głównym zadaniem pierwszej jest zapobieganie rozwojowi nowotworu m. in. poprzez informowanie o czynnikach ryzyka zachorowania. W przypadku większości nowotworów nie zidentyfikowano głównego

czynnika sprawczego, dlatego też w ramach profilaktyki pierwotnej można stosować jedynie określone zachowania prozdrowotne, czyli takie, które mogą odsunąć w czasie ryzyko zachorowania. Rak szyjki macicy jest w tym aspekcie wyjątkiem z racji tego, że poznany został główny czynnik etiologiczny, czyli wysokoonkogenne typy wirusa HPV, m.in. 16 i 18. Stąd też zarejestrowana w Polsce czterowalentna szczepionka przeciwko HPV stanowi doskonały element szeroko pojętej profilaktyki pierwotnej.

Profilaktyka wtórna ma na celu wykrywanie stanów przednowotworowych i wczesnych postaci raka w momencie, gdy nie występują jeszcze żadne objawy podmiotowe ani przedmiotowe. Do realizacji tego celu służą populacyjne badania przesiewowe. W Polsce wprowadza się obecnie Narodowy Program Aktywnej Profilaktyki Raka Szyjki Macicy. Jednym z jego elementów jest wysyłanie imiennych zaproszeń do każdej kobiety w wieku 25-59 lat, która nie miała badania cytologicznego przez ostatnie 3 lata [28]. Rozmazy cytologiczne są oceniane według Systemu Bethesda oraz Papanicolaou lub w niektórych ośrodkach (Bydgoszcz) wyłącznie według systemu Papanicolaou [76]. Utworzono Centralny Ośrodek Koordynacji (COK) i Wojewódzkie Ośrodki Koordynacji (WOK), co w założeniu autorów tego projektu, ma ułatwić wdrożenie systemu zaproszeń na badania cytologiczne [28].

Ideą przyświecającą wykonywaniu populacyjnych badań przesiewowych jest wykrycie choroby we wczesnym jej stadium, najlepiej na etapie zmian przednowotworowych u osób pozornie zdrowych, u których nie występują objawy choroby. Zgodnie z zaleceniami WHO skuteczne przesiewowe badania populacyjne to takie, które przynoszą korzyści ekonomiczne i społeczne oraz spełniają wszystkie poniższe kryteria [77, 78]: choroba musi stanowić ważny problem zdrowotny w populacji; powinny być znane przedrakowe oraz przedkliniczne stany choroby, a także sposoby ich leczenia; musi istnieć test o dużej czułości i swoistości wykrywający stany przedrakowe i wczesne postaci choroby nowotworowej; stosowanie testu powinno być powszechnie akceptowane przez osoby badające i poddawane badaniu; muszą istnieć możliwości leczenia wykrytego nowotworu oraz zastosowanie badań przesiewowych i wczesne wykrycie choroby musi istotnie zmniejszać śmiertelność chorych.

Odpowiedni wybór testu diagnostycznego jest kluczem do osiągnięcia sukcesu w prowadzonych badaniach przesiewowych. Za idealny uważa się test przesiewowy, który cechuje się 100% czułością, swoistością oraz odpowiednią wartością predykcyjną wyników dodatnich (*PPV - positive predictive value*) i ujemnych (*NPV - negative predictive value*) [75]. Czułość testu informuje nas o jego zdolności do potwierdzania występowania choroby.

Test o czułości 100% wykrywa wszystkie przypadki choroby w badanej populacji. Swoistość testu definiuje się jako zdolność do identyfikacji osób zdrowych w badanej populacji [75]. PPV odzwierciedla odsetek osób chorych, u których uzyskuje się dodatni wynik testu, natomiast NPV określa odsetek osób z ujemnym wynikiem testu, które są rzeczywiście zdrowe. Dla organizatorów badań przesiewowych niezwykle ważna jest odpowiedź na pytanie, jakie jest prawdopodobieństwo występowania choroby u osób z dodatnim wynikiem testu. Uzyskiwanie wyników fałszywie dodatnich pociąga za sobą olbrzymie koszty ekonomiczne i społeczne. Wyniki fałszywie ujemne wprowadzają zarówno u lekarza jak i u pacjentki nieuzasadniony spokój i poczucie bezpieczeństwa, co może skutkować rozwinięciem pełnoobjawowej choroby.

Reasumując należy stwierdzić, że w medycynie nie ma idealnego testu przesiewowego, gdyż każdy z nich obarczony jest pewnym ryzykiem, a lekarz powinien znać zalety i ograniczenia testu, który planuje stosować.

Jak już wspomniano wyżej, rak szyjki macicy jest nowotworem, który spełnia warunki skutecznych przesiewowych badań populacyjnych. W jego przebiegu występują dobrze opisane zmiany przedrakowe, które wyprzedzają rozwój raka inwazyjnego o wiele lat. Stany te można z powodzeniem leczyć nawet w warunkach ambulatoryjnych. Co ważne, wyleczenie stanów przedrakowych w prawie wszystkich przypadkach zapobiega rozwojowi postaci inwazyjnej [75]. W krajach Unii Europejskiej badania przesiewowe rozpoczęto w latach 70. ubiegłego wieku i doprowadziły one do zmniejszenia zachorowalności i śmiertelności do nawet 80%. W krajach rozwijających się, gdzie nie wykonuje się badań przesiewowych, śmiertelność z powodu raka szyjki macicy jest bardzo wysoka. Polska należy do krajów o dużej zachorowalności i śmiertelności z powodu raka szyjki macicy. W 2002 roku odnotowano 3500 nowych zachorowań i 1800 zgonów [79].

Z punktu widzenia praktycznego ważnym problemem jest optymalny wybór wieku pacjentek, u których rozpoczniemy wykonywanie badań przesiewowych oraz wiek, w którym zakończymy prowadzenie takich badań. Rekomenduje się rozpoczęcie badań przesiewowych raka szyjki macicy maksymalnie 3 lata po rozpoczęciu współżycia, jednak nie później niż w 21 roku życia [80, 81]. W Polsce badaniami profilaktycznymi, które polegają na corocznej kontroli cytologicznej, powinny być objęte kobiety, które ukończyły 25 rok życia (najpóźniej w wieku 30 lat). W razie wczesnego rozpoczęcia współżycia badania cytologiczne należy podjąć nie później niż 3 lata po inicjacji seksualnej [80].

Dyskutowanym zagadnieniem jest także wiek pacjentek, w którym należy zakończyć badania przesiewowe. Cytując piśmiennictwo [75], zakończenie badań przesiewowych może nastąpić u kobiet 65 – 70-letnich, które mają 3 lub więcej kolejne, udokumentowane wyniki badania cytologicznego oraz u których w ciągu 10 lat poprzedzających zakończenie skринingu nie uzyskano nieprawidłowego wyniku testu. Ma to swoje uzasadnienie w obserwacjach epidemiologicznych, ponieważ jak zauważono, rak szyjki macicy rzadko występuje u kobiet po 50 r.ż., które regularnie poddawane były badaniom cytologicznym [82, 83].

Na zakończenie warto poruszyć jeszcze jeden istotny problem, który dotyczy częstości wykonywania badań przesiewowych. Polskie Towarzystwo Ginekologiczne zaleca wykonywanie badań cytologicznych co 3 lata, pod warunkiem, że w poprzednie wyniki badań były prawidłowe i nie stwierdzono czynników ryzyka zachorowania na raka szyjki macicy [75]. Zupełnie inaczej przedstawiają się powyższe zalecenia w przypadkach, gdy kobieta jest zakażona onkogennym typem wirusa HPV, wirusem HIV, przyjmuje leki immunosupresyjne lub gdy była w przeszłości leczona z powodu CIN 2, CIN 3 lub bądź raka szyjki macicy. Wtedy kontrola cytologiczna powinna odbywać się co 12 miesięcy [80].

Najważniejszym czynnikiem, który decyduje o skuteczności profilaktycznych badań przesiewowych jest frekwencja pacjentek uczestniczących w nich. Doskonałym przykładem ilustrującym to zagadnienie są kraje skandynawskie, ze szczególnym uwzględnieniem Islandii oraz Finlandii. Ryzyko zachorowania na raka szyjki macicy jest w nich najniższe w całej Europie [86]. Fenomen tych dwóch krajów polega na tym, że już na początku lat 60-tych XX wieku wprowadzono w nich aktywne badania profilaktyczne w kierunku raka szyjki macicy, które co najistotniejsze, obejmowały 100% populacji kobiet. Po 27 latach prowadzonych testów przesiewowych uzyskano wybitną poprawę wskaźników epidemiologicznych dotyczących tego nowotworu. W Islandii, w populacji kobiet w wieku 25-69 lat osiągnięto obniżenie zachorowalności o 70%, a umieralności o 62% [5]. Bardzo podobne rezultaty uzyskano także w Finlandii. W innych krajach skandynawskich, w których badania przesiewowe nie objęły 100% populacji kobiet rezultaty testów były znacząco gorsze niż te, które uzyskano w Finlandii i Islandii [3]. Przykładem, który uwypukla rolę frekwencji pacjentek w powodzeniu profilaktycznych badań przesiewowych jest Norwegia, gdzie skринing rozpoczęto w tym samym roku co w Finlandii, jednakże tutaj badaniami objęto tylko 5% populacji kobiet w wieku 25-59 lat. Współczynnik zachorowalności po 27 latach skринingu został obniżony o 26%, a wskaźnik umieralności tylko o 18%. Podobne, relatywnie niekorzystne w porównaniu z Islandią wyniki uzyskano w Danii, gdzie testy objęły 40%

populacji kobiet w wieku 30-50 lat. Zachorowalność została zmniejszona o 45% natomiast umieralność o 35%

Podsumowując, na przykładzie powyższych państw bez żadnych wątpliwości mogę stwierdzić, iż frekwencja kobiet w testach skriningowych to główny warunek, który decyduje o sukcesie prowadzonych badań.

2. CEL I ZAŁOŻENIA PRACY

Założeniem pracy jest ustalenie i wybór najwłaściwszej metody klasyfikacji oceny materiału cytologicznego z szyjki macicy, która stanowić będzie najprostszą, rzetelną, powtarzalną i optymalną ocenę rozmazów ginekologicznych zalecaną do stosowania w lecnictwie ambulatoryjnym.

Cele pracy są następujące:

1. Ocena cytologiczna rozmazów z tarczy części pochwowej szyjki macicy od 1220 pacjentek dwoma powszechnie stosowanymi systemami: metodą Papanicolaou i systemem Bethesda.
2. Ustalenie częstości poszczególnych typów rozpoznań cytologicznych według poszczególnych stosowanych klasyfikacji.
3. Porównanie odsetka nieprawidłowych wyników cytologicznych wymazów z szyjki macicy ocenionych według metody Papanicolaou i systemu Bethesda.
4. Porównanie systemów oceny cytologicznej oraz zestawienie ich z parametrami klinicznymi pacjentek w kontekście możliwości ich praktycznego zastosowania w rutynowej diagnostyce ginekologicznej.
5. Porównanie wydolności obu systemów oceny cytologicznej w wyłonieniu grupy pacjentek z patologiami szyjki wymagającymi leczenia lub działań profilaktycznych i ścisłej obserwacji onkologicznej.

3. MATERIAŁ I METODY

3.1. Materiał - charakterystyka pacjentek i procedura badania

Analizą objęto 1220 pacjentek odbywających rutynowe wizyty u ginekologa w przedziale czasowym styczeń 2004 - grudzień 2006. Wszystkie badania cytodiagnostyczne wykonano w Indywidualnej Specjalistycznej Praktyce Lekarskiej lekarza specjalisty ginekologa-położnika Kazimierza Hercunia przy ulicy Tatrzańskiej 2 w Legnicy. W roku 2004 przebadano 289 pacjentek (23.7% ogółu badanych), w roku 2005 – 358 (29.3% badanych), a w roku 2006 - 573 kobiety (47.0%). Pacjentki zgłaszające się na wizytę reprezentowały szerokie spektrum wiekowe: od 18 do 81 roku życia (średnia wieku: 41 lat). 116 kobiet (13.36%) zgłosiło się na wizyty kontrolne w czasie ciąży.

3.2. Badanie cytologiczne – metodyka i wykonanie

Materiał do badania cytologicznego stanowiły wymazy szyjkowe. Rozmazy z tarczy części pochwowej i kanału szyjki pobierano w sposób typowy, z użyciem szczoteczki "Cervex – Brush". Następnie materiał był przenoszony na odtłuszczone szkiełko podstawowe, oznaczone numerem zgodnym z danymi klinicznymi dotyczącymi pacjentki. Bezpośrednio po pobraniu preparat był umieszczony w 96% alkoholu etylowym skażonym eterem, co najmniej przez 10 minut. Następnie szkiełka podstawowe płukano wodą destylowaną, osuszano i przenoszono do roztworu hematoksyliny Mayera na 10 minut. Po wyjęciu preparaty były ponownie płukane wodą destylowaną w celu usunięcia nadmiaru barwnika. Jakość barwienia była kontrolowana metodą mikroskopową. Wybarwione rozmazy przenoszono do 1% roztworu alkoholowego eozyny. Po około dwóch minutach płukano rozmazy pod bieżącą wodą i przenoszono do roztworu 96% alkoholu. Po tej procedurze szkiełka zanurzano kilkakrotnie w ksylenie, po czym tak wybarwiony i utrwalony rozmaz pokrywany był rozcieńczonym ksylenem i balsamem kanadyjskim, a następnie przykrywany szkiełkiem nakrywkowym.

3.3. Cytologiczna ocena i klasyfikacje rozmazów

Preparaty według klasyfikacji Papanicolaou przygotowane według powyższej procedury były oceniane przy użyciu mikroskopu optycznego Axiolab w powiększeniu 100-krotnym, 200-krotnym i 400-krotnym przez lekarza specjalistę ginekologa - położnika Kazimierza Hercunia w Indywidualnej Specjalistycznej Praktyce Lekarskiej przy ulicy Tatrzańskiej 2 w Legnicy.

Ocena preparatów według Systemu Bethesda została przeprowadzona przez specjalistę patomorfologa dr n. med. Agnieszkę Hałoń w Katedrze Patomorfologii Akademii Medycznej we Wrocławiu kierowanej przez prof. dr hab. Jerzego Rabczyńskiego. Oceny cytologiczne preparatów dokonano w mikroskopie świetlnym OLYMPUS BX41 z torem wizyjnym, przy powiększeniu okular 10x, obiektywach 20x i 40x.

Za wyniki nieprawidłowe uznano w metodzie Papanicolaou: III, IV i V, a w systemie Bethesda: ASCUS, AGUS, LSIL, HSIL oraz rak.

3.4. Analiza statystyczna

Wyniki uzyskanych badań poddano opracowaniu statystycznemu. Wszystkich obliczeń dokonywano przy użyciu arkusza kalkulacyjnego w programie Microsoft Office Excel (Microsoft Corporation, USA), do którego przeniesiono uzyskane dane i wyniki. Analizę statystyczną przeprowadzono wykorzystując komputerowe pakiety programów statystycznych Excel i STATISTICA Ver. 5 (StatSoft Polska).

Do opracowania materiału zastosowano następujące testy: test korelacji Pearsona, test korelacji rangowej Spearmana oraz testy do analiz funkcji dyskryminacyjnych.

Wyniki podano w postaci takich parametrów jak: średnia arytmetyczna ($\bar{x}$), odchylenie standardowe (SD), zakres obejmujący wartość minimalną i maksymalną, współczynnik korelacji (r), określający zależność pomiędzy dwiema cechami oraz stopień prawdopodobieństwa (p), określający różnice.

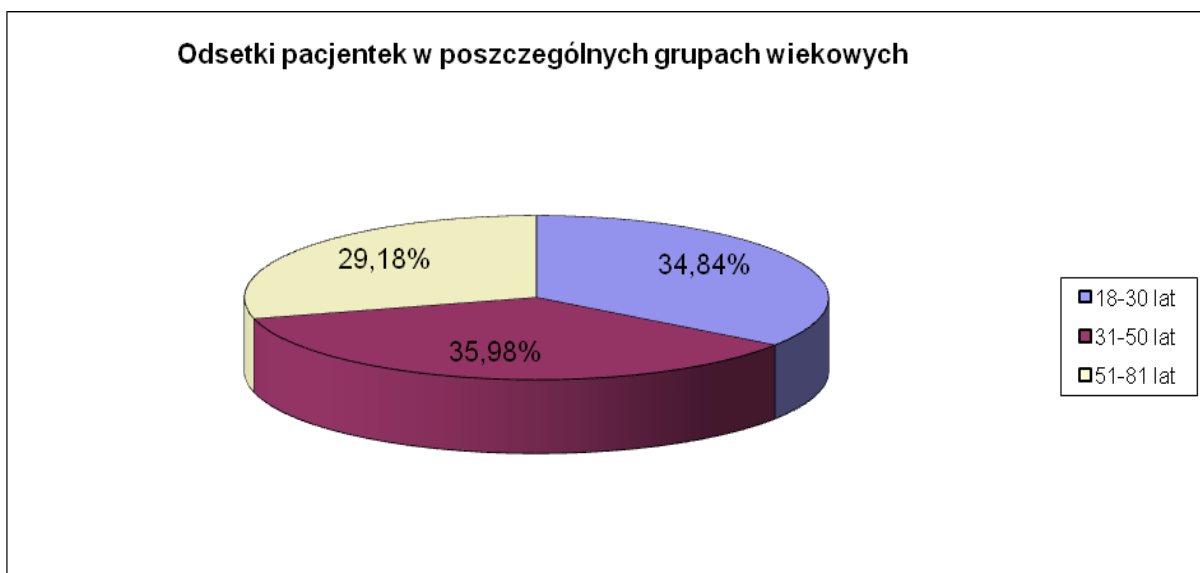
We wszystkich testach poziom istotności mniejszy/równy wartości 0.05 ($p \leq 0.05$) uznawano za znaczący statystycznie. Odrzucano wówczas hipotezę zerową o nieistotnej różnicy pomiędzy porównywanymi grupami, bądź nieistotnej zależności między analizowanymi cechami.

Autor składa podziękowania dr inż. Andrzejowi Żołnierkowi z Katedry Sieci i Systemów Komputerowych Instytutu Elektroniki Politechniki Wrocławskiej za pomoc przy doborze metod i narzędzi statystycznych oraz za nadzór nad prawidłową interpretacją wyników testów statystycznych.

4. WYNIKI

4.1. Szczegółowa charakterystyka pacjentek

Przebadano 1220 kobiet w wieku od 18 do 81 lat. Pacjentki podzielono na trzy grupy wiekowe: pierwsza od 18 do 30 lat zawierająca 425 osób (35,84%), druga od 31 do 50 lat zawierająca 439 osób (35,98%) a trzecia od 51 do 81 lat z liczebnością równą 356 osób (29,18%).



Ryc. 1. Odsetki pacjentek w poszczególnych grupach wiekowych.

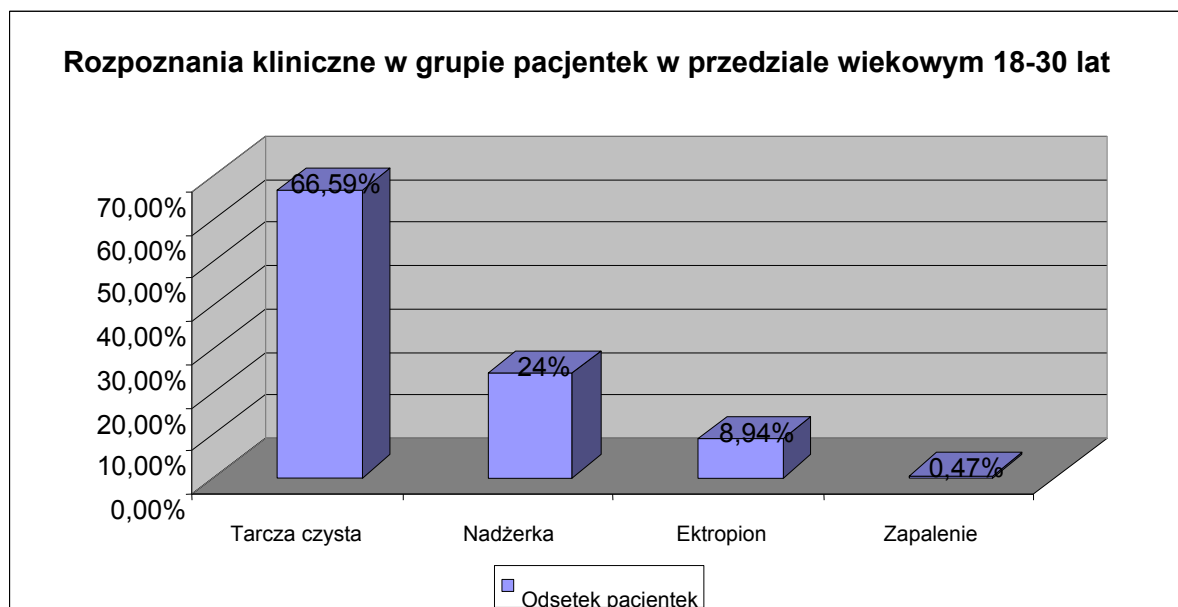
Rozpoznanie kliniczne uzyskane w wyniku badania ginekologicznego pacjentek objęły następujące kategorie zmian: tarcza szyjki macicy bez zmian-1036 kobiet (84,92%), nadżerka szyjki macicy-119 kobiet (9,75%), ektropion (przemieszczenie nabłonka gruczołowego na tarczę szyjki macicy)-41 kobiet (3,36%), zapalenie szyjki macicy-14 kobiet (1,15%), torbiele Nabotha-7 pacjentek (0,57%), atrofia-1pacjentka (0,08%), polip szyjki macicy-1pacjentka (0,08%), stan po amputacji szyjki macicy - 1pacjentka (0,08%)



Ryc. 2. Rozpoznania kliniczne u pacjentek w wieku 18-81 lat.

Rozpoznania kliniczne w poszczególnych grupach wiekowych zostały przedstawione na poniższych wykresach.

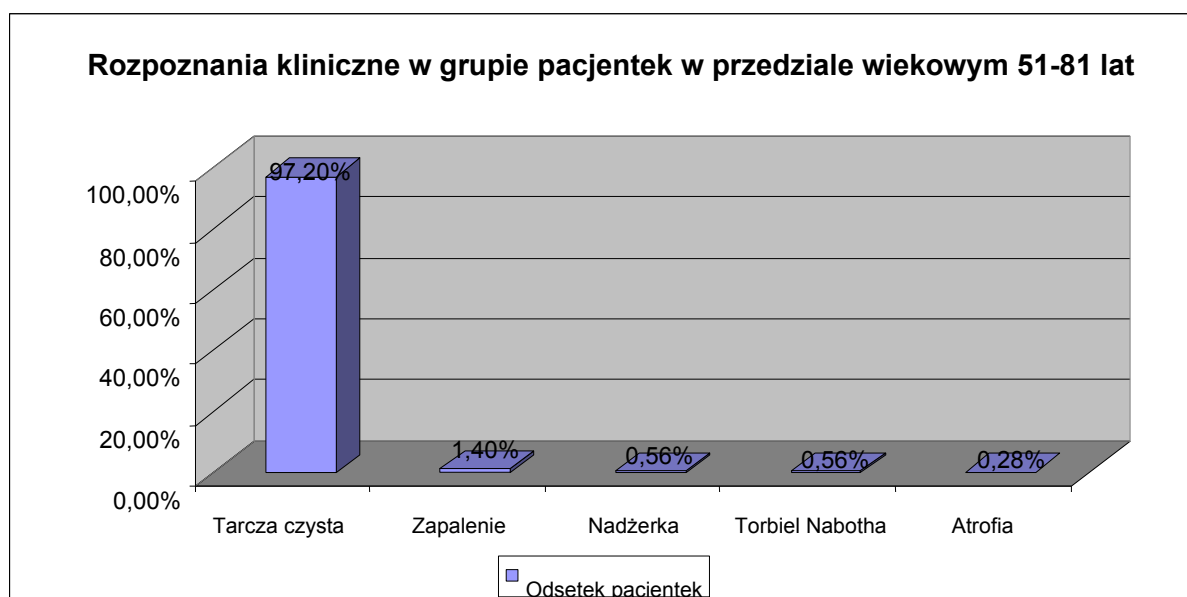
Tarcza szyjki macicy bez zmian makroskopowych („tarcza czysta” w badaniu ginekologicznym) była dominującym rozpoznaniem klinicznym we wszystkich grupach wiekowych. W grupie wiekowej I stanowiło jednak zaledwie 66,59% wszystkich rozpoznań, podczas gdy w grupie wiekowej II i III było znacznie częstsze, odpowiednio 92,71% i 97,2%. Nadżerka prawdziwa dominowała zdecydowanie w grupie pacjentek młodych i stanowiła aż 24% rozpoznań w grupie wiekowej I. W grupie wiekowej II nadżerkę rozpoznano u 3,42%, natomiast w grupie III u zaledwie 0,56% pacjentek.



Ryc. 3. Rozpoznania kliniczne u pacjentek w przedziale wiekowym 18-30 lat.

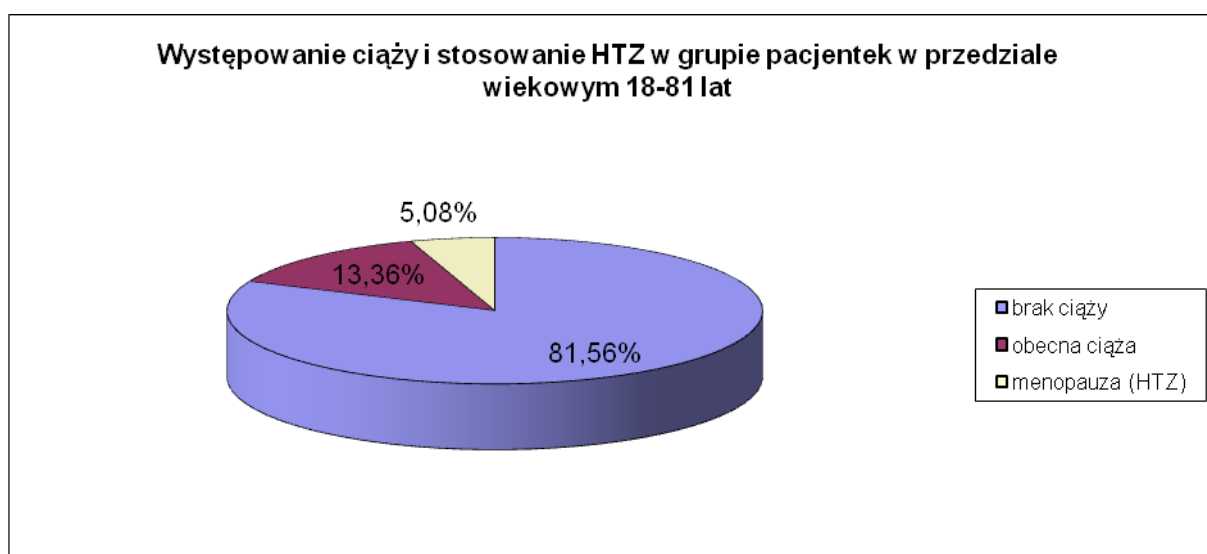


Ryc. 4. Rozpoznania kliniczne u pacjentek w przedziale wiekowym 31-50 lat.



Ryc. 5. Rozpoznania kliniczne u pacjentek w przedziale wiekowym 51-81 lat.

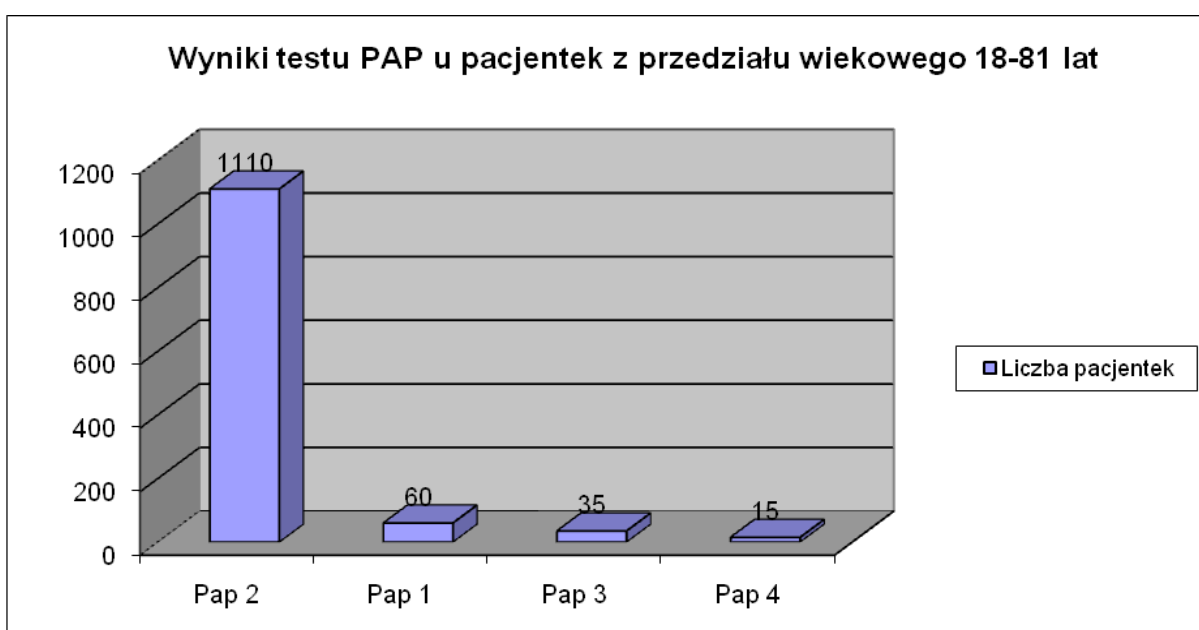
Po wykonanym badaniu ginekologicznym ciążę stwierdzono u 163 osób, co stanowi 13,36% wszystkich pacjentek. W grupie wiekowej I ciężarne pacjentki stanowiły 24,0% badanych, w grupie II – 12,9%. U 62 pacjentek (5,08%) w okresie menopauzalnym stosowano HTZ (hormonalną terapię zastępczą).



Ryc. 6. Występowanie ciąży i stosowanie HTZ u badanych pacjentek.

4.2. Wyniki rutynowych badań cytologicznych rozmazów w klasyfikacji Papanicolaou

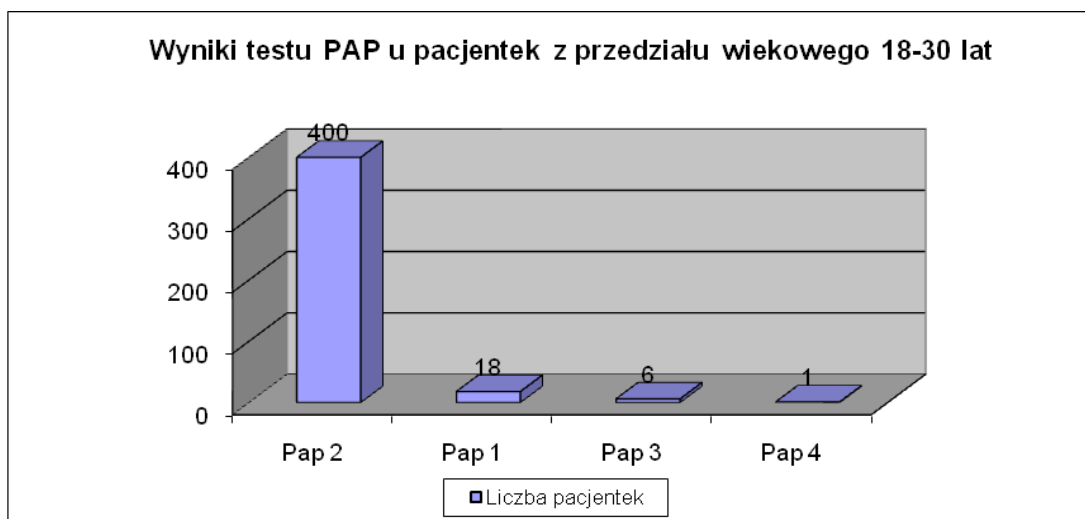
Stosując klasyfikację Papanicolaou w ocenie rozmazów cytologicznych pobranych z szyjki macicy u wszystkich badanych kobiet najczęstszym rozpoznaniem była grupa cytologiczna Pap II – stwierdzono ją u 1110 pacjentek, co stanowi 90,98%. Grupa cytologiczna Pap I wystąpiła u 60 pacjentek (4,92%), Pap III u 35 pacjentek (2,87%) i Pap IV u 15 kobiet (1,23%). U żadnej z przebadanych kobiet nie zaobserwowano patologii mieszczącej się w grupie cytologicznej Pap V. (Ryc.7.)



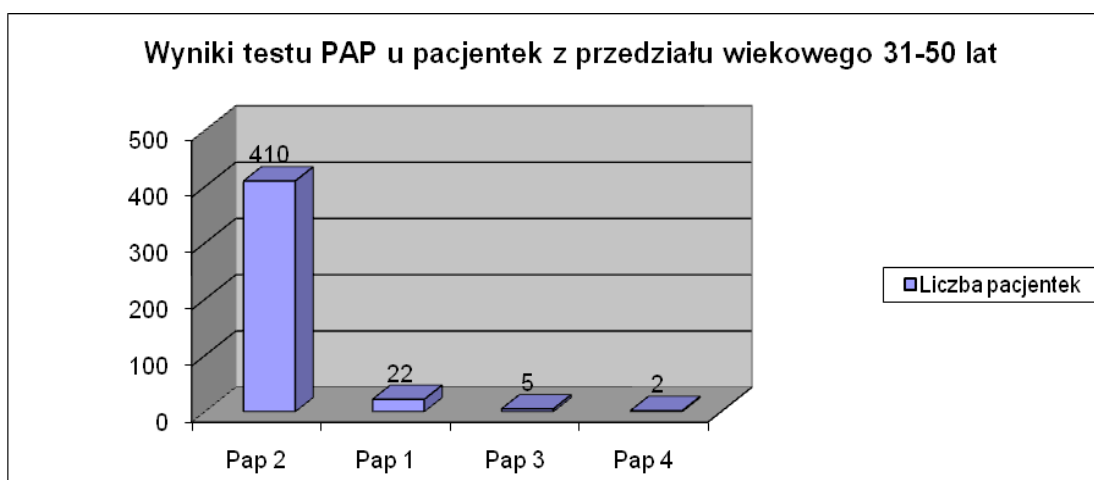
Ryc. 7. Wyniki testu Pap u pacjentek z przedziału wiekowego 18-81 lat.

Analizując poszczególne grupy wiekowe stwierdzono, że najczęściej rozpoznawaną grupą cytologiczną była Pap II. W grupie wiekowej I rozpoznano ją u 400 pacjentek (94,12%), w grupie wiekowej II u 410 (93,39%), a w grupie wiekowej III u wyraźnie mniejszej liczby pacjentek – 300 kobiet (84,27%). Drugą co do częstości rozpoznawaną była grupa Pap I i dla kolejnych przedziałów wiekowych I, II, III stanowiła odpowiednio 4,24%, 5,01% i 5,62%. Grupa cytologiczna Pap III spośród wszystkich grup wiekowych najczęściej występowała w grupie wiekowej III obejmującej najstarsze pacjentki – dotyczyła 24 kobiet (6,74%). Dla

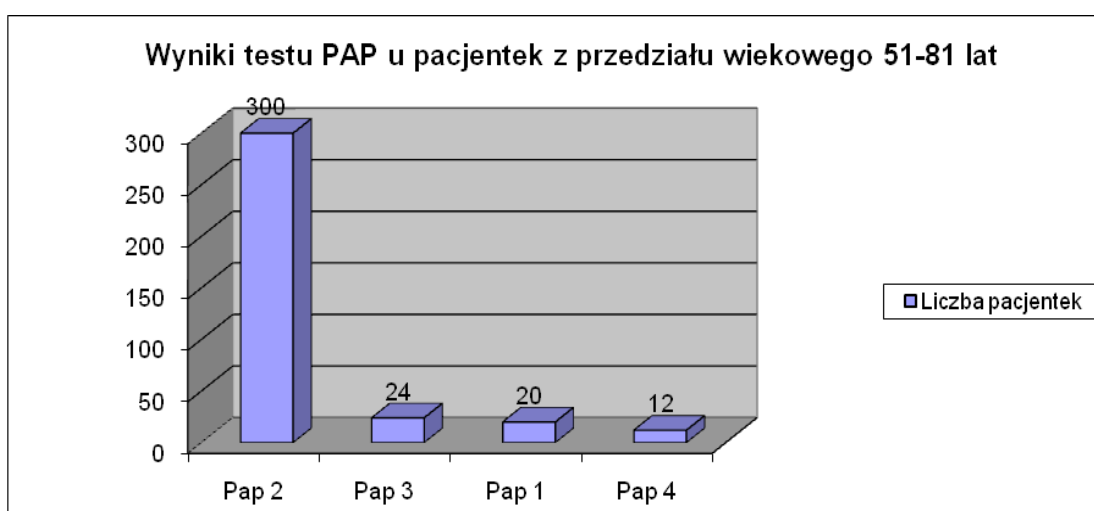
porównania u pacjentek najmłodszych (grupa wiekowa I) wystąpiła u 6 pacjentek (1,41%), natomiast w grupie wiekowej II u zaledwie 5 kobiet (1,14%). Najistotniejsza z punktu widzenia klinicznego grupa Pap IV stanowiła zaledwie pojedyncze przypadki w grupie wiekowej I i II (odpowiednio 1 pacjentka – 0,24% oraz 2 pacjentki – 0,46%) oraz niewielką liczebnie grupę pacjentek najstarszych (grupa wiekowa III) – 12 osób (3,37%).



Ryc. 8. Wyniki testu Pap u pacjentek z przedziału wiekowego 18-30 lat.



Ryc. 9. Wyniki testu Pap u pacjentek z przedziału wiekowego 31-50 lat



Ryc. 10. Wyniki testu Pap u pacjentek z przedziału wiekowego 51-81 lat

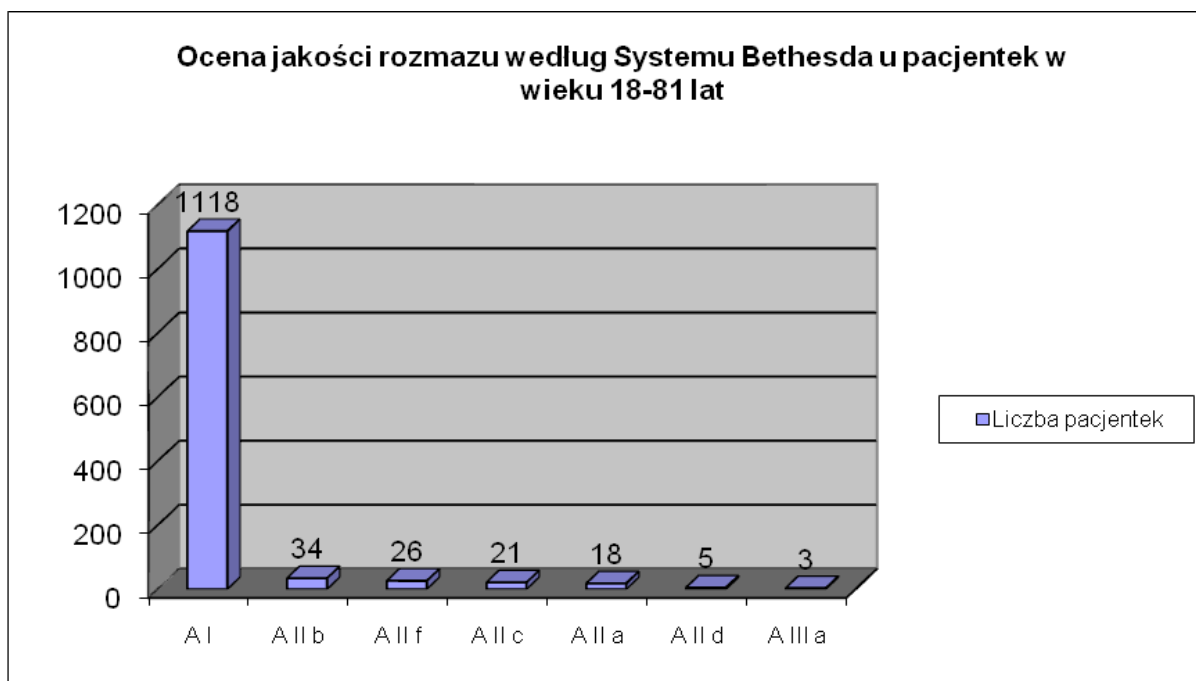
4.3. Szczegółowa charakterystyka rozmazów cytologicznych wg systemu Bethesda

4.3.1. Ocena jakości, diagnostyczności i reprezentatywności rozmazów

Analiza jakości rozmazów cytologicznych dokonana w oparciu o system Bethesda (kategoria A w systemie Bethesda) wykazała, że na 1220 wszystkich pobranych rozmazów aż 1118 (91,64%) mieści się w kategorii A I – rozmaz nadaje się do oceny. Kategoria A II systemu Bethesda obejmująca rozmazy nadające się do oceny pod pewnymi zastrzeżeniami

z powodu uchybień i niedostatków ich jakości została podzielona szczegółowo zależnie od przyczyn. Najczęstszą przyczyną obniżenia jakości okazało się być podsuszenie rozmazu (kategoria AIIb wg Bethesda) – 34 pacjentki (2,79%). Następną w kolejności przyczyną było występowanie znacznej cytolizy lub autolizy materiału komórkowego (kategoria AIIIf) – 26 pacjentek (2,13%). Kategoria AIIc, która obejmuje rozmazy niezbyt czytelne z powodu licznych komórek zapalnych została stwierdzona u 21 pacjentek (1,72%). Rozmaz ubogokomórkowy (kategoria AIIa) stwierdzono u 18 pacjentek (1,48%). Rzadką przyczyną obniżenia jakości była obecność licznych erytrocytów w rozmazie (kategoria AIIId) – zaledwie 5 kobiet (0,41%). Kategoria AIII systemu Bethesda definiująca rozmazy nie nadające się do oceny cytologicznej dotyczyła zaledwie 3 pacjentek (0,25%).

W kategorii AI (rozmaz nadaje się do oceny) w poszczególnych grupach wiekowych stwierdzo wartości analogiczne do uzyskanych dla całościowej grupy pacjentek: w grupie wiekowej I 91,76% rozmazów spełniało kryteria dobrej jakości, w grupie wiekowej II - 92,25%, a w grupie III – 90,73%. Analizując rozkład przyczyn obniżonej jakości rozmazu (kategoria AII systemu Bethesda - rozmaz nadający się do oceny pod pewnymi zastrzeżeniami) w poszczególnych grupach wiekowych stwierdzono różnice w częstości ich występowania względem grupy wszystkich pacjentek. W grupie wiekowej I najczęstszą przyczyną gorszej jakości rozmazu było obniżenie jego czytelności z powodu licznych komórek zapalnych (kategoria AIIc) – 13 kobiet (3,06%). Drugą co do częstości przyczyną było wystąpienie cytolizy lub autolizy (kategoria AIIIf) – 10 pacjentek (2,35%). Ta cecha okazała się być z kolei najczęstszą przyczyną w grupie wiekowej II – 11 pacjentek (2,51%). Odmienne, u pacjentek starszych – grupa wiekowa III - najczęściej jako przyczynę obniżonej jakości rozmazu rozpoznawano kategorie AIIb czyli podsuszenie rozmazu – 19 kobiet (5,34%).

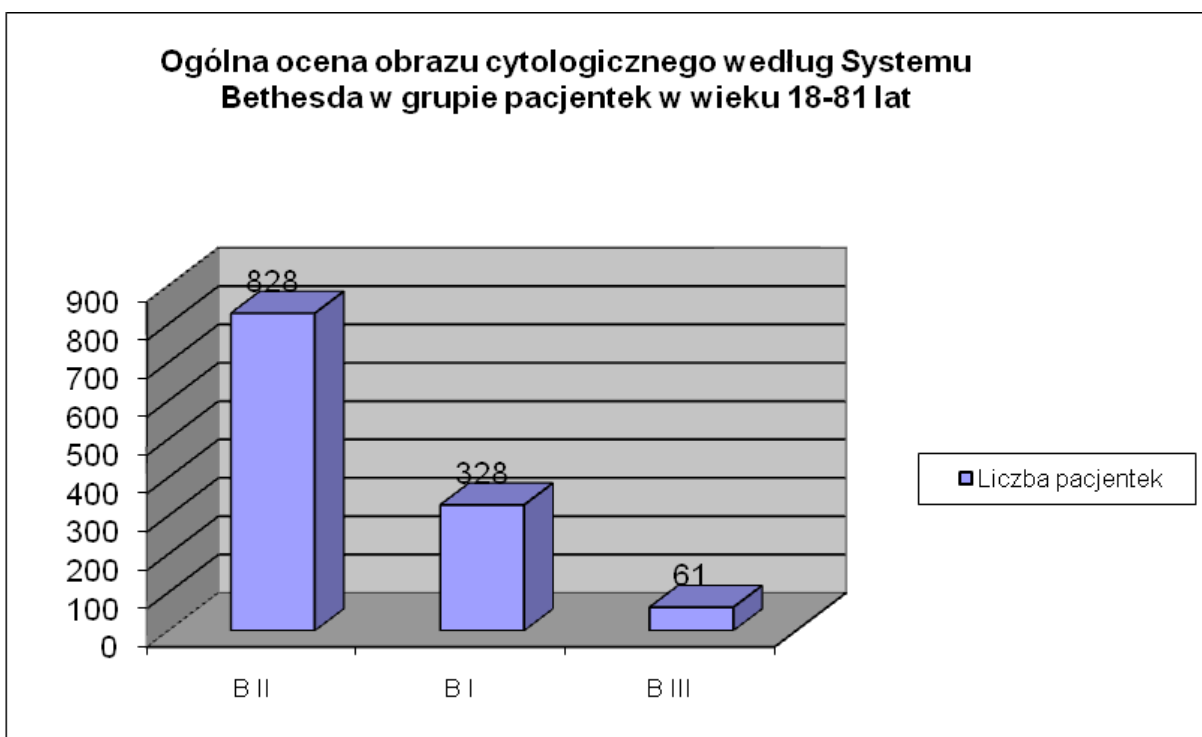


Ryc. 11. Ocena jakości rozmazu według Systemu Bethesda u pacjentek w przedziale wiekowym 18-81 lat.

4.3.2. Udział czynników infekcyjnych w rozmazach

Kategoria B systemu Bethesda opisująca ogólną charakterystykę rozmazu podzielona jest na trzy grupy i implikuje dalsze kategorie opisowe. Kategoria BI – obraz cytologiczny w granicach normy – stwierdzono u 328 kobiet spośród wszystkich przebadanych (26,98%). Analogiczną wartość uzyskano podczas analizy grup wiekowych w grupie II (31-50 lat) i było to 118 pacjentek czyli 26,88%. Wyraźnie mniej rozmazów w granicach normy stwierdzono u pacjentek młodych (grupa wiekowa I) – 71 osób (16,7%). Zaskakująco duży odsetek rozmazów prawidłowych stwierdzono w grupie wiekowej III pacjentek starszych – 139 badań (39,37%). Kategoria BII obejmująca obraz cytologiczny nieprawidłowy jednak bez stwierdzenia cech śródnamionkowej neoplazji i raka była najczęściej rozpoznawaną kategorią wśród ogólnej populacji badanych kobiet oraz w poszczególnych grupach wiekowych. Ogółem stwierdzono 828 rozmazów zaliczanych do kategorii BII (68,04%). W grupie wiekowej I wartość ta była znacząco większa i wynosiła 81,88% (348 pacjentek). Grupa wiekowa II prezentowała wartości zbliżone do występujących w grupie całościowej pacjentek –

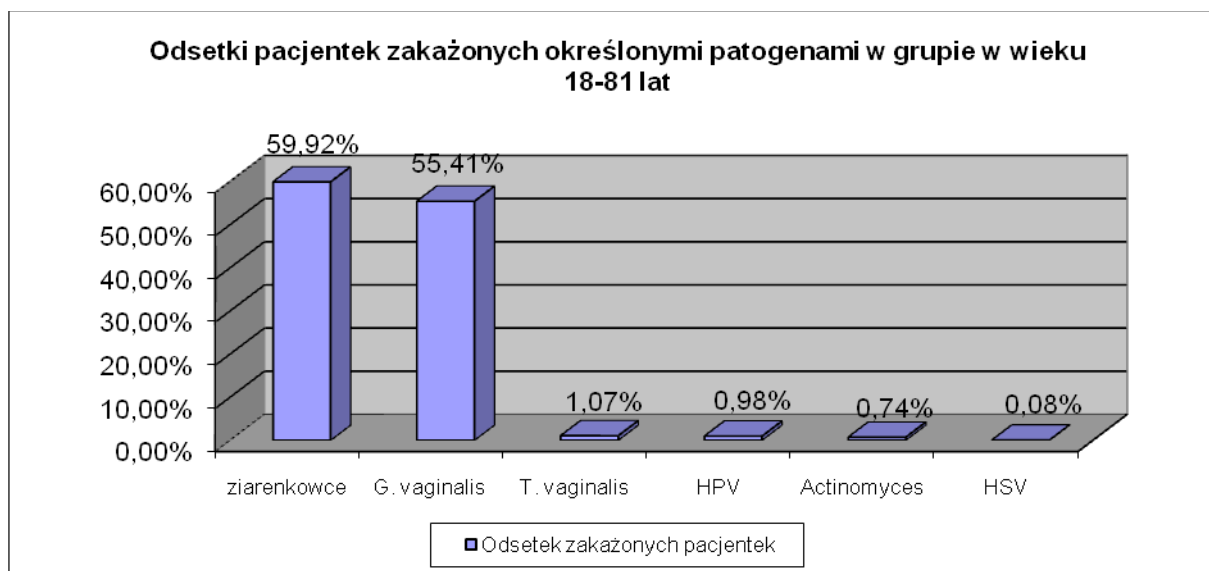
307 kobiet (69,93%). Wśród pacjentek starszych z grupy wiekowej III kategorię Bethesda BII rozpoznano w 173 przypadkach co stanowiło wyraźnie mniejszy odsetek badań (49,0%). Kategoria BIII – obraz cytologiczny nieprawidłowy z obecnością nieprawidłowych komórek nabłonkowych – stanowiła zaledwie 5,01% (61 kobiet). Kategoria ta była najliczniej reprezentowana w grupie wiekowej III – 41 pacjentek (11,61%). Zdecydowanie mniej kobiet z grupy wiekowej II ujawniło obraz BIII – 14 pacjentek (3,19%), a wśród kobiet najmłodszych (grupa wiekowa I) - zaledwie 6 (1,41%).



Ryc. 12. Ogólna ocena obrazu cytologicznego według Systemu Bethesda w grupie pacjentek w przedziale wiekowym 18-81 lat.

Kategoria C systemu Bethesda opisuje detalicznie rozmaz w odniesieniu do istniejących zmian infekcyjnych, odczynowych oraz różnego stopnia nieprawidłowości dotyczących komórek nabłonka. Pierwszą, najmniej poważną z punktu widzenia klinicznego jest podkategoria CI, obejmująca zmiany zapalne, uwzględniająca szczegółowo czynniki etiologiczne rozpoznawanej infekcji. W większości przypadków rozpoznanych infekcji stwierdzano współistnienie kilku patogenów wymienianych w klasyfikacji CI. Kategoria ta rozpoznana została u 798 kobiet – 65,41%. Oceniając poszczególne przedziały wiekowe w grupie wiekowej I stanowiła 27,95% wszystkich pacjentek z rozpoznaną infekcją, grupa

wiekowa II – 24,92% i grupa wiekowa III – 12,54%. Analiza obecności infekcji w poszczególnych grupach wiekowych wykazała malejący odsetek zakażeń w kolejnych grupach wiekowych. Spośród 425 pacjentek grupy wiekowej I czynniki infekcyjne stwierdzono u 341 pacjentek co stanowi aż 80,23%. Na 439 pacjentek grupy II infekcje stwierdzono w 304 przypadkach – 69,25%. U pacjentek starszych – grupa III - na 356 kobiet kategorię CI rozpoznano w 153 przypadkach – 42,98%.

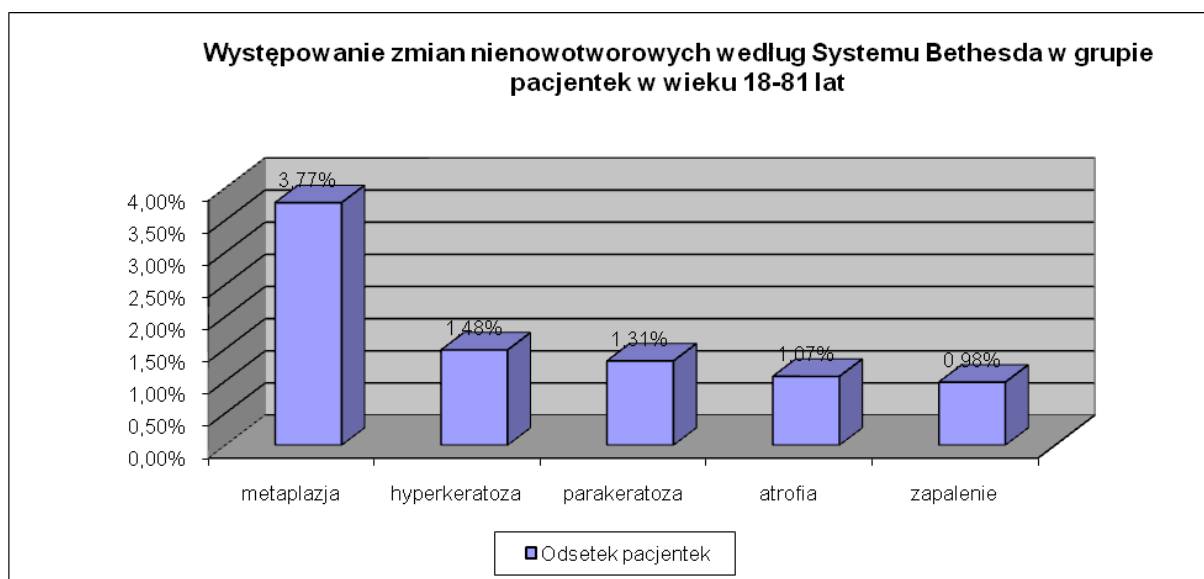


Ryc. 13. Odsetki pacjentek zakażonych określonymi patogenami w grupie pacjentek w przedziale wiekowym 18-81 lat.

4.3.3. Zmiany odczynowe, reaktywne i po leczeniu

Kolejną podkategorią, która obejmuje zmiany odczynowe, reaktywne i po leczeniu jest podkategoria CII systemu Bethesda. Analizując rozpoznania pacjentek z przedziału wiekowego 18-81 lat uzyskano następujące rezultaty: metaplaszja została rozpoznana u 46 kobiet – 3,77%, hyperkeratoza u 18 kobiet – 1,48%, parakeratoza u 16 pacjentek – 1,31%, atrofia u 13 kobiet – 1,07% oraz zapalenie u 12 pacjentek – 0,98%. W grupie wiekowej I (18-30 lat) metaplaszję rozpoznano u 8 kobiet – 1,90%, hyperkeratozę u 6 pacjentek – 1,40%, parakeratozę u 3 chorych – 0,70%, podobny rezultat uzyskano dla zapalenia, natomiast atrofia wystąpiła tylko u 1 pacjentki – 0,24%. W grupie wiekowej II (31-50 lat) dominującym rozpoznaniem była metaplaszja, która wystąpiła u 11 kobiet – 2,51%, następnie parakeratoza stwierdzona u 9 pacjentek – 2,05% oraz hyperkeratoza u 7 chorych – 1,60%. Analiza grupy wiekowej III (51-81 lat) dostarczyła interesujących informacji, które dotyczyły wysokiego

odsetka rozpoznań metaplazji. Stwierdzono ją u 27 kobiet, co stanowiło 7,58% rozpoznań, u 12 kobiet wystąpiła atrofia – 3,37%, natomiast zapalenie rozpoznano u 9 chorych – 2,53%, hyperkeratozę u 5 kobiet – 1,40%, parakeratozę u 4 pacjentek – 1,12%.

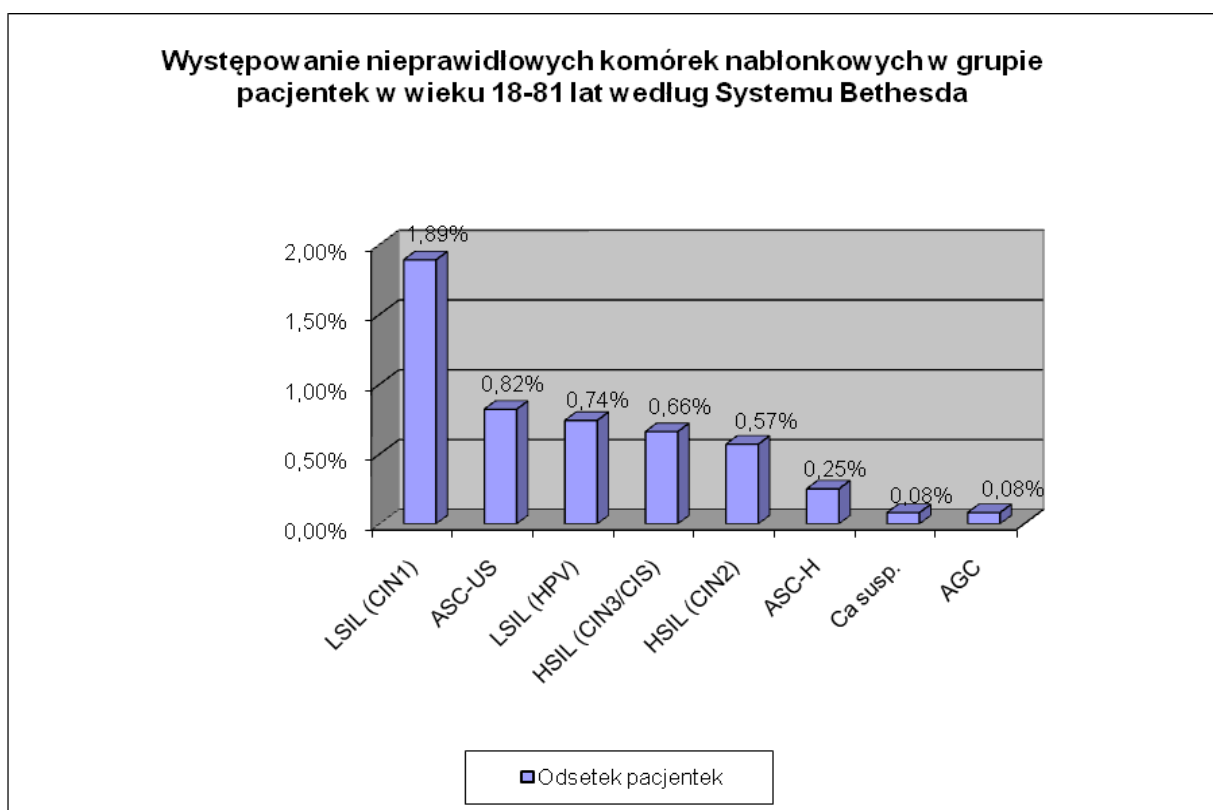


Ryc. 14. Zmiany nienowotworowe wg systemu Bethesda występujące u kobiet z przedziału wiekowego 18-81 lat.

4.3.4. Nieprawidłowości komórek nabłonkowych.

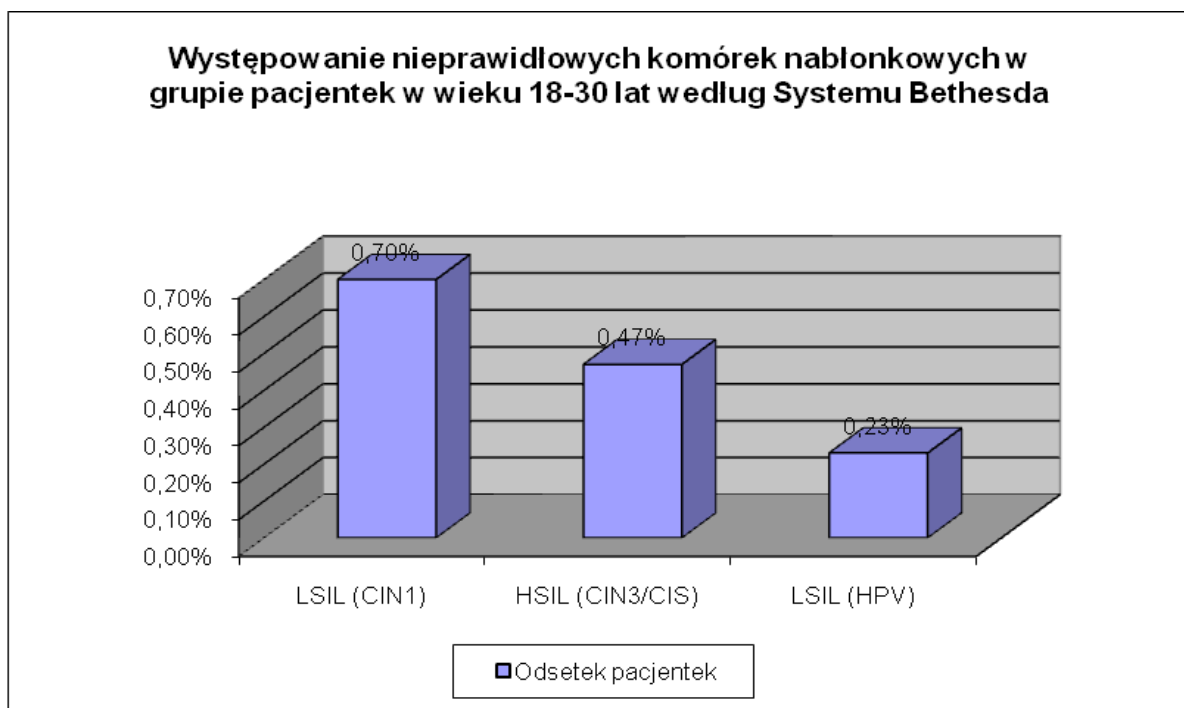
Niezwykle szczegółowe kryteria systemu Bethesda dotyczące nieprawidłowości komórek nabłonkowych, które mieszczą się w zbiorczej kategorii CIII, rozpoznanej u 62 pacjentek – 5,1% pozwoliły na podzielenie tej olbrzymiej grupy na trzy zasadnicze podkategorie. CIII1 obejmuje nieprawidłowe komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego o nieokreślonym znaczeniu (ASC-US) oraz komórki nieprawidłowe, w których nie można wykluczyć HSIL (ASC-H). ASC-US zostało rozpoznane u 10 kobiet spośród wszystkich badanych pacjentek, co stanowiło 0,82% rozpoznań, natomiast ASC-H stwierdzono tylko u 3 kobiet – 0,25%. Warty podkreślenia jest fakt, iż wszystkie rozpoznania ASC-H pochodziły z grupy wiekowej III (51-81 lat). Podkategoria CIII 2, która zawiera rozmazy ze stwierdzonymi zmianami śródpłaskonabłonkowymi małego stopnia (LSIL) została podzielona na dwie grupy. Grupa CIII 2a obejmująca nieprawidłowe komórki nabłonkowe ze zmianami związanymi z infekcją HPV została stwierdzona u 9 kobiet spośród wszystkich przebadanych pacjentek – 0,74%. Grupa CIII 2b charakteryzująca się nieprawidłowymi komórkami nabłonkowymi z cechami dysplazji małego stopnia CIN1 była rozpoznana u 23 chorych –

1,89%. Analizując podkategorię CIII 3 (HSIL) dokonano jej podziału na trzy grupy: CIII 3a, 3b, 4. Grupa CIII 3a obejmująca nieprawidłowe komórki nabłonkowe z cechami dysplazji średniego stopnia CIN2 została rozpoznana u 7 kobiet spośród wszystkich przebadanych pacjentek, co stanowiło 0,57% rozpoznań. Grupa CIII 3b zawierająca rozmazy z nieprawidłowymi komórkami nabłonkowymi o cechach dysplazji dużego stopnia CIN3/CIS została stwierdzona u 8 chorych – 0,66% wszystkich rozpoznań. Grupa CIII 4, w której obserwuje się nieprawidłowe komórki nabłonkowe ze zmianami sugerującymi raka płaskonabłonkowego inwazyjnego została stwierdzona zaledwie u 1 pacjentki – 0,08%, przy czym była to kobieta z grupy wiekowej III (51-81 lat). Osobną kategorię w systemie Bethesda stanowią nieprawidłowe komórki endocerykalne, jednakże spośród wszystkich rozmazów poddanych ocenie patomorfologicznej tylko u jednej kobiety stwierdzono taką nieprawidłowość (0,08%).



Ryc. 15. Nieprawidłowości komórek nabłonkowych wg systemu Bethesda w całościowej grupie pacjentek - przedział wiekowy 18-81 lat.

W grupie wiekowej I (18-30 lat) zostało zdiagnozowanych jedynie 6 kobiet (1,41% rozpoznaw w tej grupie) z nieprawidłowościami komórek nabłonkowych, z czego 1 pacjentka była w grupie CIII 2a (LSIL z podejrzeniem infekcji HPV) – 0,23% rozpoznaw w tej grupie wiekowej, 3 kobiety z grupy CIII 2b (LSIL z cechami dysplazji CIN1) – 0,70% oraz 2 kobiety – 0,47%, które zostały zaklasyfikowane do kategorii CIII 3b (HSIL z cechami dysplazji

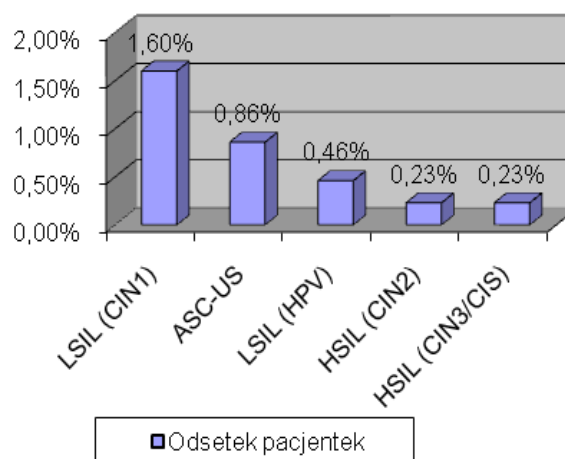


CIN3/CIS).

Ryc. 16. Nieprawidłowości komórek nabłonkowych wg systemu Bethesda w grupie pacjentek z przedziału wiekowego 18-30 lat.

W grupie wiekowej II (31-50 lat) wykryto 14 rozmazów (3,2%) z obecnymi nieprawidłowymi komórkami nabłonkowymi, z czego dominującym rozpoznaniem było LSIL z cechami dysplazji małego stopnia CIN1 – 7 kobiet (1,60%). Na dalszych miejscach znalazły się ASC-US – 3 pacjentki (0,86%), LSIL z cechami infekcji HPV – 2 pacjentki (0,46%), HSIL z cechami dysplazji CIN2 – 1 pacjentka (0,23%) oraz HSIL z cechami dysplazji CIN3/CIS – 1 pacjentka (0,23%).

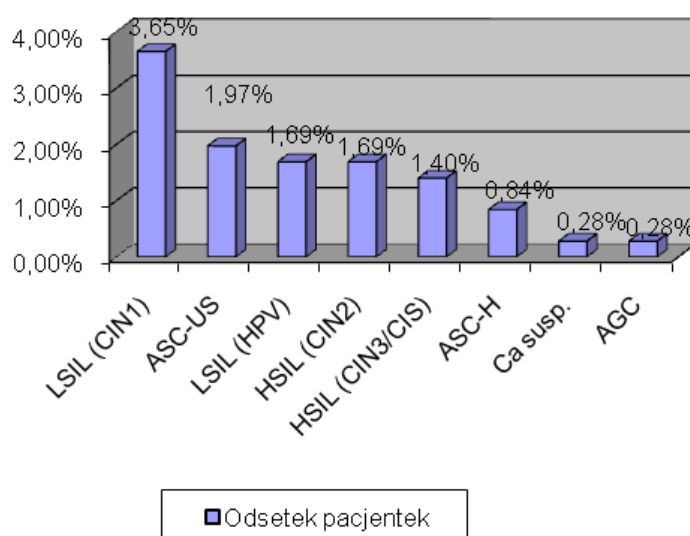
Występowanie nieprawidłowych komórek nabłonkowych w grupie pacjentek w wieku 31-50 lat według Systemu Bethesda



Ryc. 17. Nieprawidłowości komórek nabłonkowych wg systemu Bethesda w grupie pacjentek z przedziału wiekowego 31-50 lat.

Grupa wiekowa III (51-81 lat) odznacza się relatywnie większym odsetkiem rozpoznawanych nieprawidłowości komórek nabłonkowych (42 kobiety – 11,80% rozpoznań w tej grupie wiekowej). Najczęściej stwierdzanym rozpoznaniem było LSIL z cechami dysplazji CIN1 – 13 kobiet (3,65%), następnie ASC-US – 7 kobiet (1,97%), LSIL z cechami infekcji HPV – 6 kobiet (1,69%), HSIL z cechami dysplazji CIN2 – 6 pacjentek (1,69%), HSIL z cechami dysplazji CIN3/CIS – 5 chorych (1,40%), ASC-H – 3 kobiety (0,84%). Jak już wspomniano wyżej, tylko w tej grupie wiekowej zaobserwowano nieprawidłowe komórki nabłonkowe ze zmianami sugerującymi raka płaskonabłonkowego inwazyjnego – 1 pacjentka (0,28%) oraz nieprawidłowe komórki endocerykalne – 1 pacjentka (0,28%).

Występowanie nieprawidłowych komórek nabłonkowych w grupie pacjentek w wieku 51-81 lat



Ryc. 18. Nieprawidłowości komórek nabłonkowych wg systemu Bethesda w grupie pacjentek z przedziału wiekowego 51-81 lat.

Traktując 62 pacjentki ze stwierdzonymi nieprawidłowościami komórek nabłonkowych jako 100% i analizując udział poszczególnych rozpoznań wyłącznie w odniesieniu do tej badanej grupy uzyskano czytelniejszy obraz rozkładu poszczególnych rozpoznań. Analiza nieprawidłowych wyników cytologicznych ocenianych według systemu Bethesda wykazuje, że w ogólnej badanej grupie pacjentek największy odsetek rozpoznań stanowi kategoria Bethesda CIII2 – LSIL – 51,61%. Drugim co do częstości rozpoznaniem jest kategoria CIII3 – HSIL – 25,81%, zaś trzecim jest ASC-US i stanowi 16,13%. Nieco inaczej przedstawia się rozkład rozpoznań w poszczególnych grupach wiekowych, choć we wszystkich na pierwszym miejscu plasuje się kategoria LSIL (kategoria CIII2):

- grupa wiekowa I (18-30 lat) - 66,7% rozpoznań
- grupa wiekowa II (31-50) – 64,28% rozpoznań
- grupa wiekowa III (51-81) – 31% rozpoznań.

Udział procentowy i dystrybucja pozostałych rozpoznań cytologicznych przedstawiona jest w poniższej tabeli.

		WSZYSTKIE PACJENTKI		G I (18-30 LAT)		G II (31-50 LAT)		G III (51-81 LAT)	
		LICZBA	%	LICZBA	%	LICZBA	%	LICZBA	%
ASC-US		10	16,1	-	-	3	21,4	7	16,7
ASC-H		3	4,8	-	-	-	-	3	7,10
LSIL	HPV	9	14,5	1	16,7	2	14,3	6	14,3
	CIN1	23	37,1	3	50,0	7	50	13	31,0
HSIL	CIN2	7	11,3	-	-	1	7,15	6	14,3
	CIN3/CIS	8	13,0	2	33,3	1	7,15	5	12,0
	SUSP.CA	1	1,6	-	-	-	-	1	2,4
AGUS		1	1,6	-	-	-	-	1	2,4

Tabela IV. Udział procentowy rozpoznań cytologicznych o charakterze nieprawidłowości komórek nabłonkowych (CIII wg klasyfikacji Bethesda).

4.4. Analiza statystyczna korelacji parametrów cytologicznych i klinicznych

4.4.1. Tablice korelacji Pearsona

Analiza statystyczna przy zastosowaniu tablic korelacji Pearsona jest właściwym narzędziem statystycznym do opracowywania danych liczbowych i sprawdza się lepiej niż w analizie danych jakościowych. Przy założeniu, że parametrom „jakościowym” przyporządkowano liczby w porządku od najgorszej do najlepszej „jakości” lub w odwrotnej kolejności obliczono współczynniki korelacji Pearsona. Zaznaczone na czerwono współczynniki są znamienne statystycznie dla wartości $p < 0.05$.

Silna korelacja występuje wówczas, gdy współczynniki korelacji mają wartość $> 0,6$ lub $< -0,6$, natomiast słabe korelacje charakteryzują współczynniki o wartościach od $0,3$ do $0,6$ oraz od $-0,3$ do $-0,6$.

Ujemne wartości współczynnika korelacji oznaczają, że wzrostowi jednej analizowanej wartości (liczby) odpowiada spadek drugiej. Dodatnie wartości oznaczają, że wzrostowi jednej wartości odpowiada wzrost drugiej.

Dla celów analizy statystycznej badanego materiału uzyskane w ocenie według klasyfikacji Bethesda wyniki w oparciu o system uporządkowania według gradacji jakościowej i zaawansowania klinicznego zostały podzielone na 6 kategorii:

1. Kategoria 1 (K1) – obraz cytologiczny w normie (Bethesda: BI)
2. Kategoria 2 (K2) – obraz zmian zapalnych o różnej etiologii (Bethesda: CI)
3. Kategoria 3 (K3) – obraz zmian odczynowych (Bethesda: CII)
4. Kategoria 4 (K4) – obraz ASC-US i ASC-H (Bethesda: CIII1a i 1b)
5. Kategoria 5 (K5) – obraz LSIL obejmujący infekcję HPV i CIN1 (Bethesda: CIII2a i 2b).
6. Kategoria 6 (K6) – obraz HSIL obejmujący CIN2, CIN3/CIS i raka (Bethesda: CIII3a, 3b i 4).

Tabela V zawiera korelacje pomiędzy wszystkimi danymi z bazy danych do analiz statystycznych uzyskanymi w wyniku badań. Test przy użyciu tablic korelacji Pearsona ujawnił istnienie silnych korelacji pomiędzy intensywnością zapalenia a następującymi parametrami: kategorią BII – obraz cytologiczny nieprawidłowy, ale nie stwierdza się cech

środnabłonkowej neoplazji ani raka, a także kategorią CIba oraz CIbb – obejmującą zmiany zapalne o etiologii bakteryjnej (ziarenkowce i *Gardnerella vaginalis*). Następną niezwykle silną korelacją okazała się być zależność pomiędzy szeroką kategorią BIII – obraz cytologiczny nieprawidłowy z obecnością nieprawidłowych komórek nabłonkowych a zestawem następujących kategorii:

- CIII 1a – ASC-US
- CIII 2a i 2b – LSIL obejmujący infekcję HPV i CIN1
- CIII 3a i 3b – HSIL obejmujący CIN2 i CIN3/CIS
- K4 - ASC-US i ASC-H (Bethesda: CIII1a i 1b)
- K5 - LSIL obejmujący infekcję HPV i CIN1 (Bethesda:CIII2a i 2b).

[illegible]

4.4.2. Korelacja rangowa R Spearmana

Analiza statystyczna z zastosowaniem korelacji rangowej R Spearmana jest właściwsza w przypadku danych jakościowych czy opisowych, którymi są dane pochodzące z obecnej pracy. Rangowanie jest metodą statystyczną polegającą na przypisywaniu cechom kolejności – zakładamy, że badane cechy mają charakter uporządkowany w stosunku do np. intensywności objawów. Korelacja mówi czy uporządkowanie jednej cechy jest zgodne z uporządkowaniem drugiej cechy, w przeciwieństwie do powyżej zastosowanej korelacji Pearsona, gdzie analizuje się wzrost lub zmniejszanie się wartości. Istnienie korelacji oznacza, że wzrostowi jednej cechy odpowiada wzrost drugiej cechy. Ujemna korelacja oznacza, iż wzrostowi jednej cechy odpowiada zmniejszanie się drugiej. Same wartości liczbowe korelacji są podobne jak przy korelacji Pearsona.

Podstawowe wartości rozpatrywane w korelacji rangowej R Spearmana mieszczą się w zakresie 0 (oznacza chaos) oraz 1 (oznacza ścisły porządek). Wartości 0,3-0,6 wskazują na istnienie porządku, a powyżej 0,6 – silnego związku analizowanych cech.

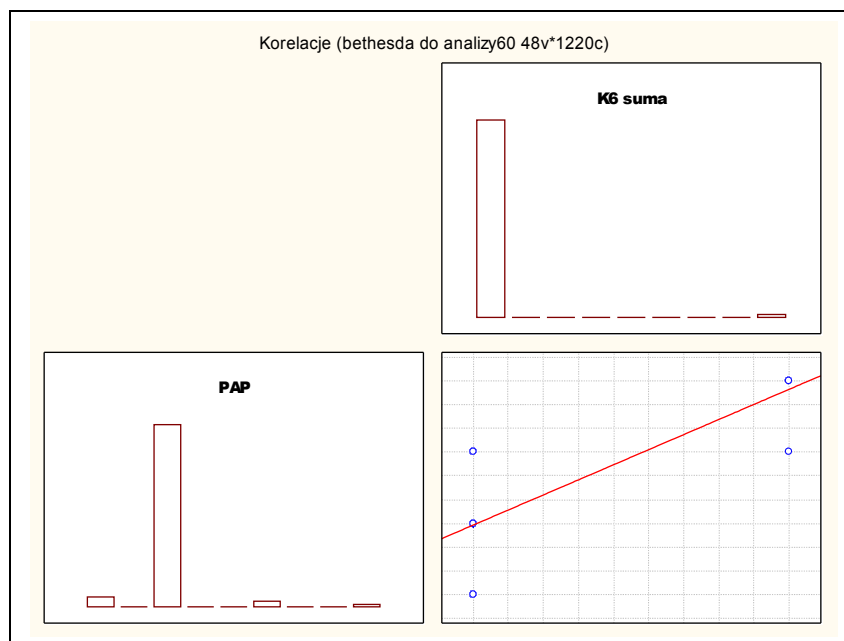
Analizie poddano wyłącznie cechy opisane w pierwszej kolumnie tabel 7 i 8. Na czerwono oznaczono te wartości, które są znamienne statystyczne $p < 0,05$. Widać wyraźnie, że najsilniejsza korelacja istnieje pomiędzy kategorią K6 (K6 suma) a PAP, czyli w naszym zestawieniu najwyższą obserwowaną i zbadaną kategorią PAP – PAP IV (Tabela VII i Rycina 19).

	N	R	T (N-2)	poziom p
Rozpoznanie & K1 suma	1220	-0,182955	-6,49471	0,000000
Rozpoznanie & K2 suma	1220	0,219061	7,83552	0,000000
Rozpoznanie & K3 suma	1220	-0,037690	-1,31632	0,188313
Rozpoznanie & K4 suma	1220	-0,043597	-1,52299	0,128021
Rozpoznanie & K5 suma	1220	-0,052740	-1,84318	0,065546
Rozpoznanie & K6 suma	1220	0,009723	0,33933	0,734416
Rozpoznanie & Intensywność zapalenia	1220	0,216171	7,72703	0,000000
PAP & K1 suma	1220	-0,230774	-8,27742	0,000000
PAP & K2 suma	1220	0,060266	2,10709	0,035314
PAP & K3 suma	1220	0,101513	3,56120	0,000383
PAP & K4 suma	1220	0,107478	3,77282	0,000169
PAP & K5 suma	1220	0,021111	0,73692	0,461310
PAP & K6 suma	1220	0,407452	15,57120	0,000000
PAP & Intensywność zapalenia	1220	0,075830	2,65411	0,008055

Tabela VII. Korelacja porządku rang Spearmana. Korelacje istotne statystycznie ($p < 0,05$) zaznaczono na czerwono.

	N	R	T (N-2)	poziom p
Wiek & PAP	1220	0,086173	3,018640	0,002592
Wiek & K6 suma	1220	0,093005	3,259978	0,001145
Rozpoznanie & PAP	1220	0,056421	1,972243	0,048808
Rozpoznanie & K6 suma	1220	0,009723	0,339334	0,734416

Tabela VIII. Korelacja porządku rang Spearmana. Korelacje istotne statystycznie ($p < 0,05$) zaznaczono na czerwono.



Ryc. 19. Macierzowy wykres rozrzutu w analizie R Spearmana obrazujący silną korelację pomiędzy PAP a kategorią K6 (K6 suma).

4.4.3. Analiza funkcji dyskryminacyjnej

Analiza funkcji dyskryminacyjnej jest jedną z najistotniejszych funkcji testujących czy dana cecha (narzędzie, test diagnostyczny – w naszym przypadku badana metoda PAP oraz kategorie K wg Bethesda) ma właściwości dyskryminacyjne względem drugiej cechy, czyli czy wartość jakiegoś testu (w naszym przypadku PAP) może być użyta do diagnozy. Założono, że cechą będącą punktem odniesienia w analizie obecności nieprawidłowości w rozmazach jest kategoria K6 (HSIL obejmująca CIN2, CIN3/CIS oraz raka; Bethesda kategorie CIII 3a, 3b i 4) i została ona włączona do analizy funkcji dyskryminującej jako zmienna grupująca.

Do analizy wybrano następujące badane parametry: wiek, kategorię PAP oraz intensywność zapalenia i testowano, czy są one przydatne w wyłonieniu grup pacjentek z zaawansowanymi patologiami nabłonkowymi w cytologii. Zatem w naszym przypadku pytanie do analizy brzmiało: czy kategoria K6 (K6 suma) przyjmuje wartość 1 czy 0, a przez to - czy PAP lub wiek pacjentek wskazuje na obecność patologii opisanej tą cechą.

Interpretacja testu przedstawia się następująco:

Wartość F jest wysoka dla parametru PAP, co oznacza, że wartość statystyki testującej jest duża, a tym samym zmienna PAP ma własności dyskryminacyjne dla kategorii K6 (K6 suma)

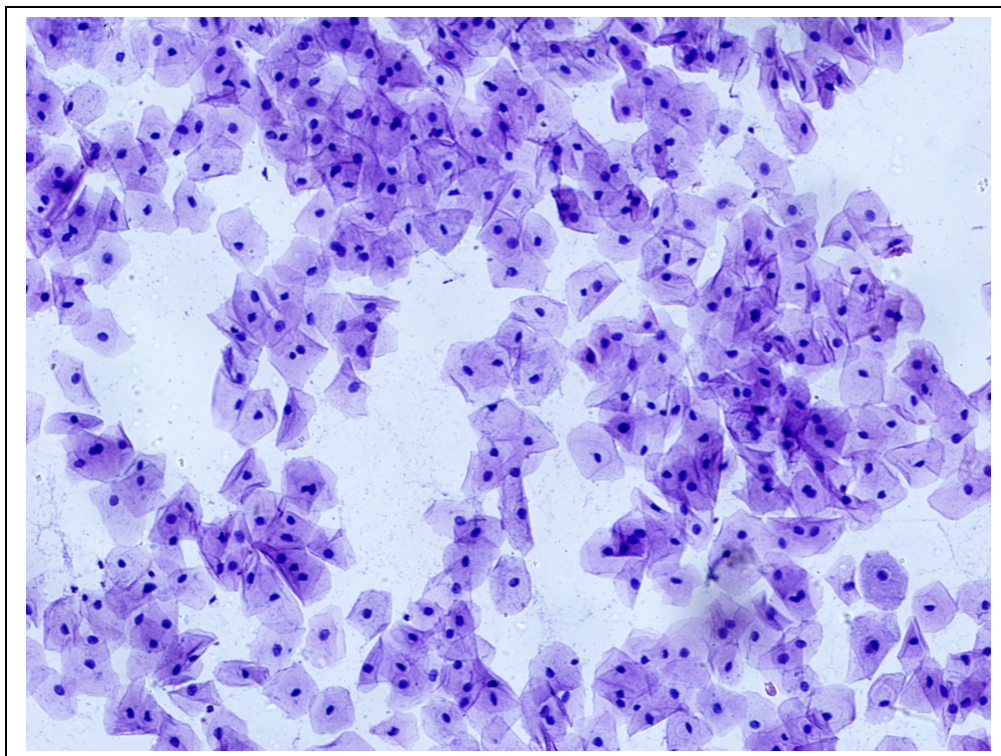
przy wartości $p < 0,000000$. A zatem kategoria PAP może służyć do wyodrębnienia grupy kobiet z poważnymi nieprawidłowościami nabłonkowymi.

Analiza funkcji dyskryminacyjnej pokazała natomiast, że pozostałe badane parametry, zarówno wiek, jak i intensywność zapalenia - pomimo $p < 0,000000$ - nie mają własności dyskryminacyjnej czyli nie mogą być użyte do diagnozy kategorii K6 (K6 suma) czyli do wyłonienia grupy pacjentek z zaawansowanymi patologiami nabłonkowymi wg Bethesda.

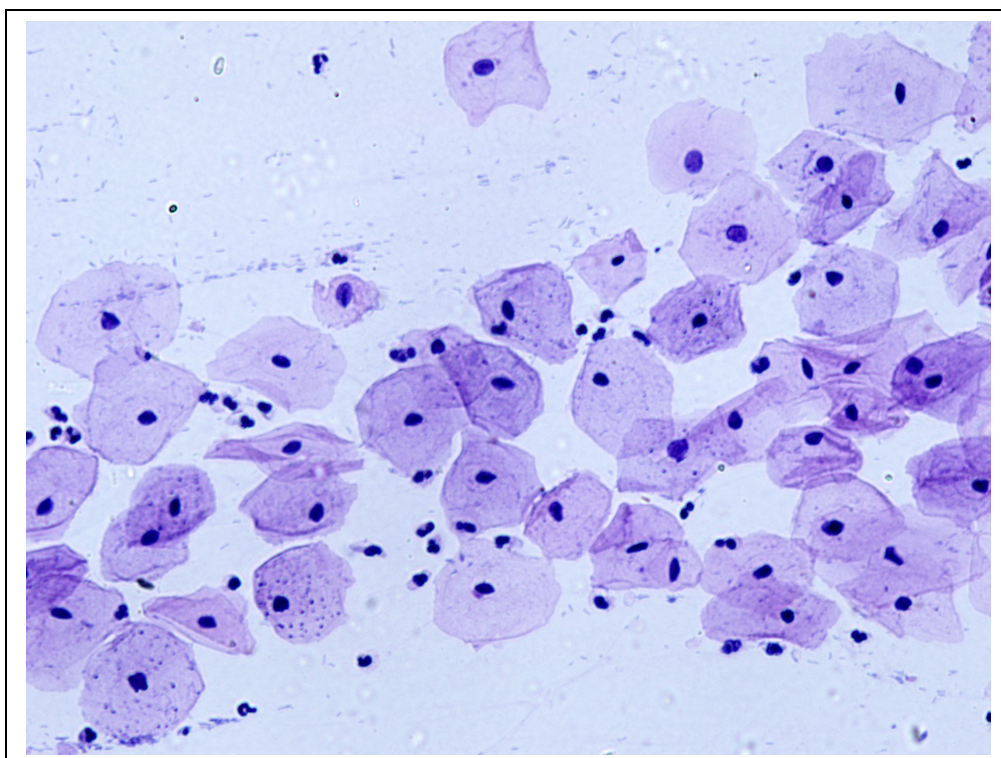
	Lambda	Cząstk.	F usun.	poziom p	Toler.	1-Toler.
Wiek	0,590273	0,999514	0,5910	0,442184	0,913025	0,086975
PAP	0,984169	0,599476	812,4367	0,000000	0,970962	0,029038
Intensywność zapalenia	0,607085	0,971834	35,2426	0,000000	0,901044	0,098956
Zmienna grupująca: K6 suma. Lambda Wilksa: ,58999; przybl. F (3,1216)=281,69; p<0,0000.						

Tabela IX. Podsumowanie analizy funkcji dyskryminacyjnej dla trzech badanych zmiennych w modelu.

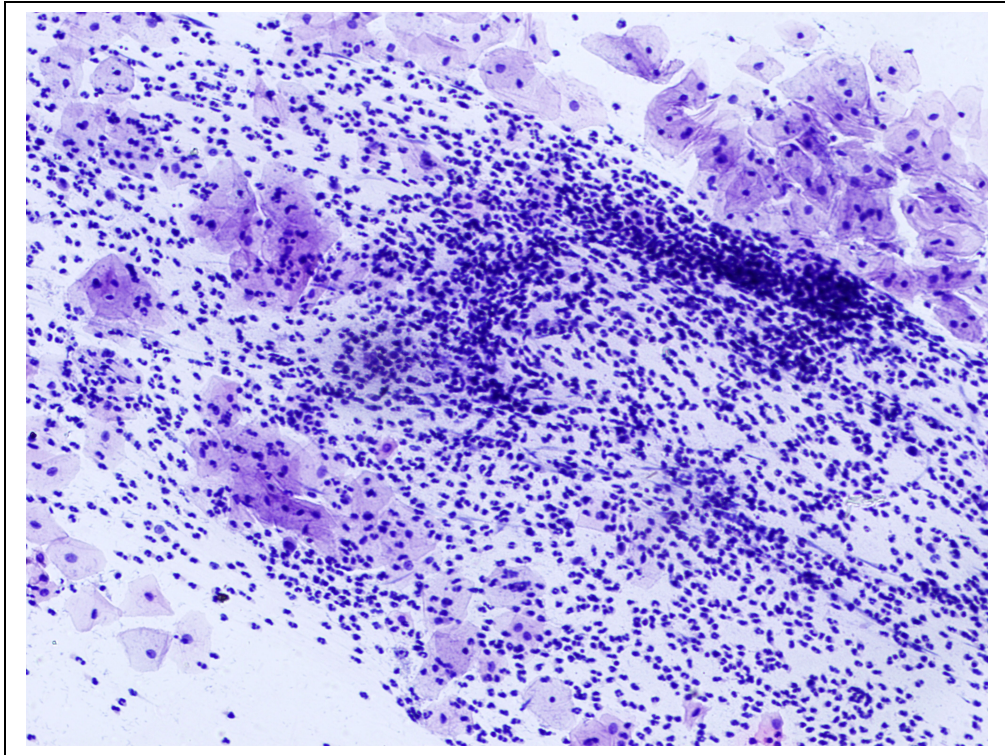
Analiza wzajemnych zależności pomiędzy oceną cytologiczną rozmazów wg Papanicolau i w systemie Bethesda przeprowadzona wszystkimi zastosowanymi testami wskazuje jednoznacznie, że istnieje istotna statystycznie korelacja pomiędzy wynikami uzyskanymi w ocenie metodą PAP i systemie Bethesda w zakresie wyrywania istotnych nieprawidłowości nabłonkowych ujętych w pracy jako kategoria K6 i obejmujących CIN2, CIN3/CIS oraz raka, wg Bethesda kategorie CIII 3a, 3b i 4.



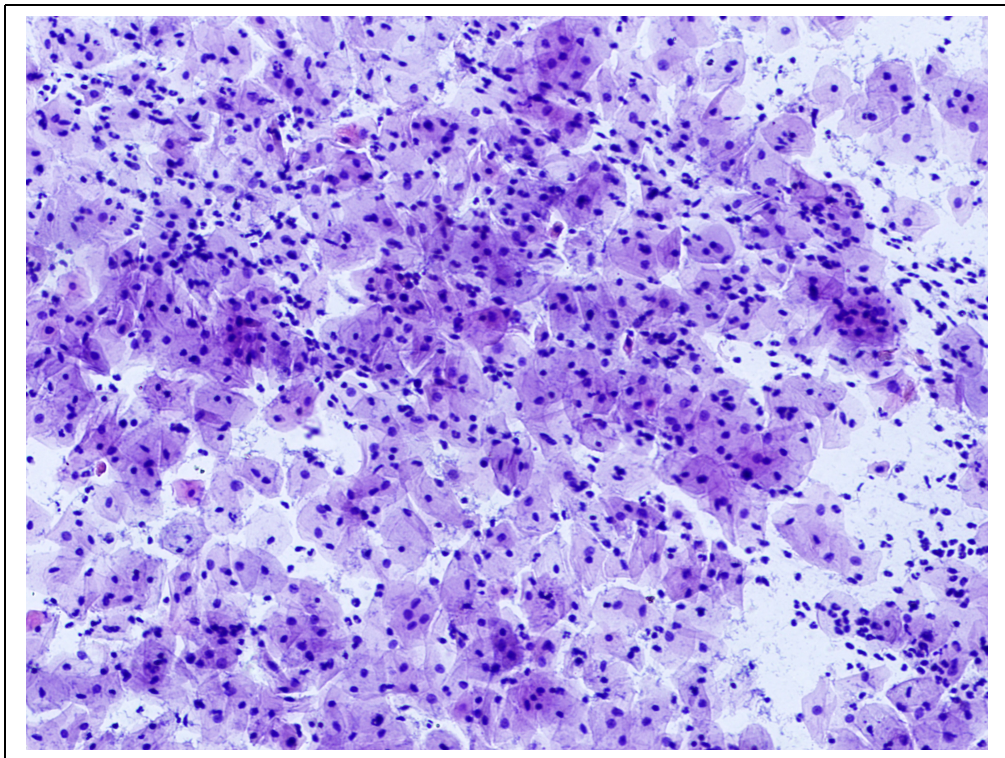
Mikrofotografia 1. PAP I. Bethesda AI BI. Obraz w granicach normy cytologicznej



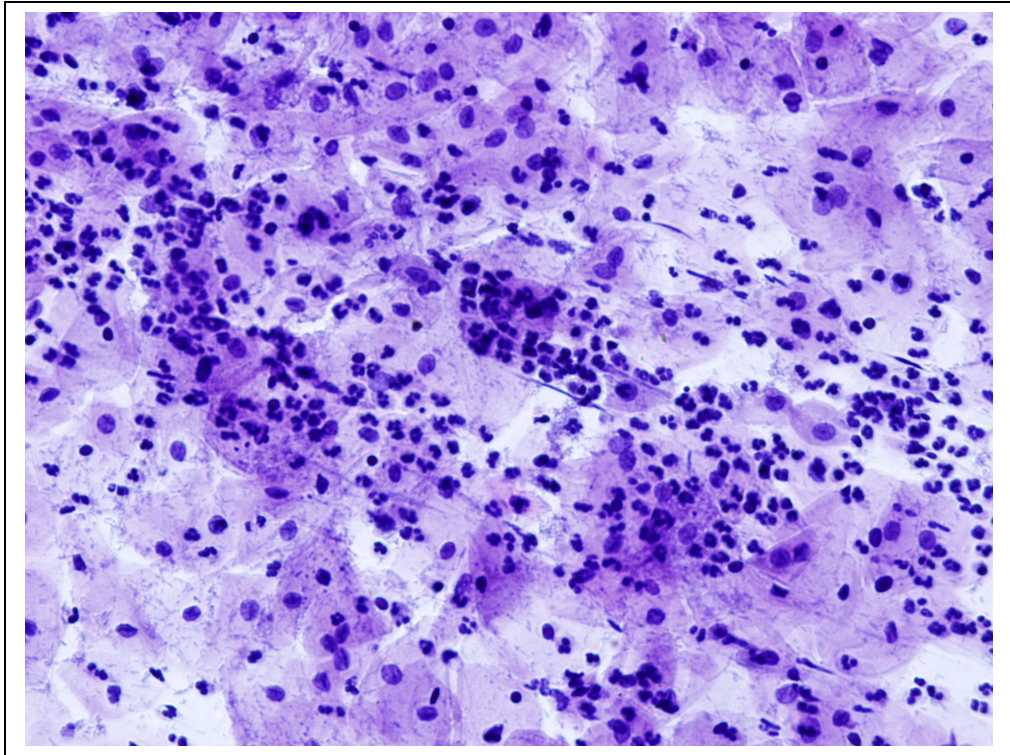
Mikrofotografia 2. PAP I. Bethesda AI BI. Obraz w granicach normy cytologicznej



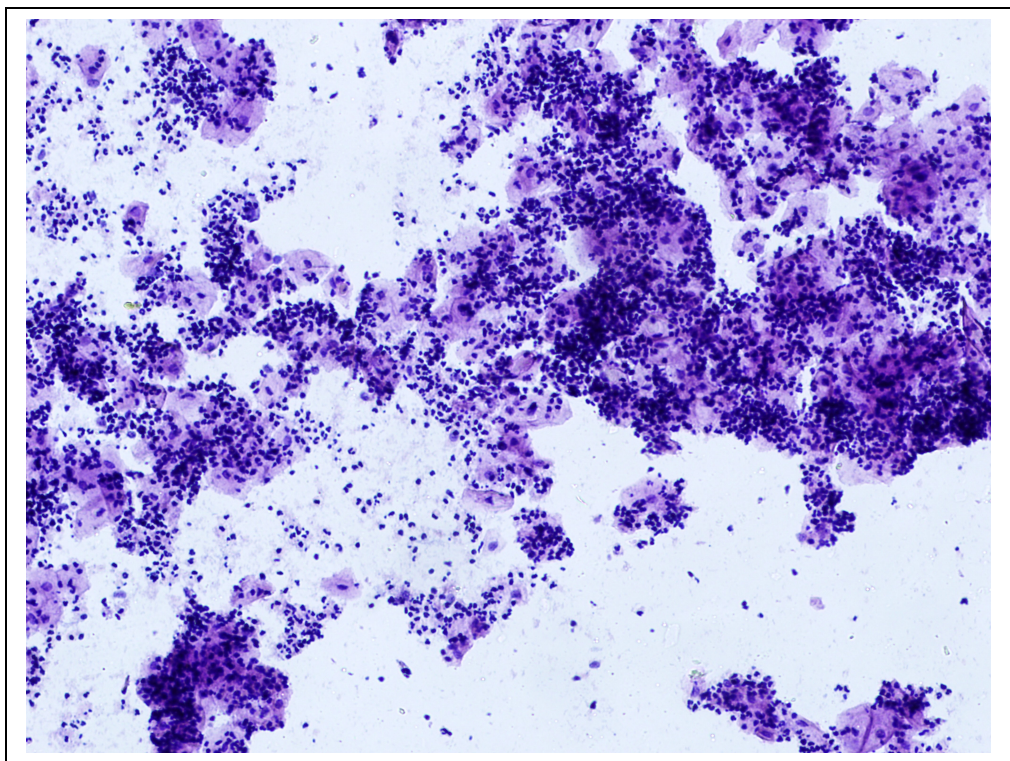
Mikrofotografia 3. PAP II. Bethesda AI BII Clb. Zapalenie. Bez cech neoplazji.



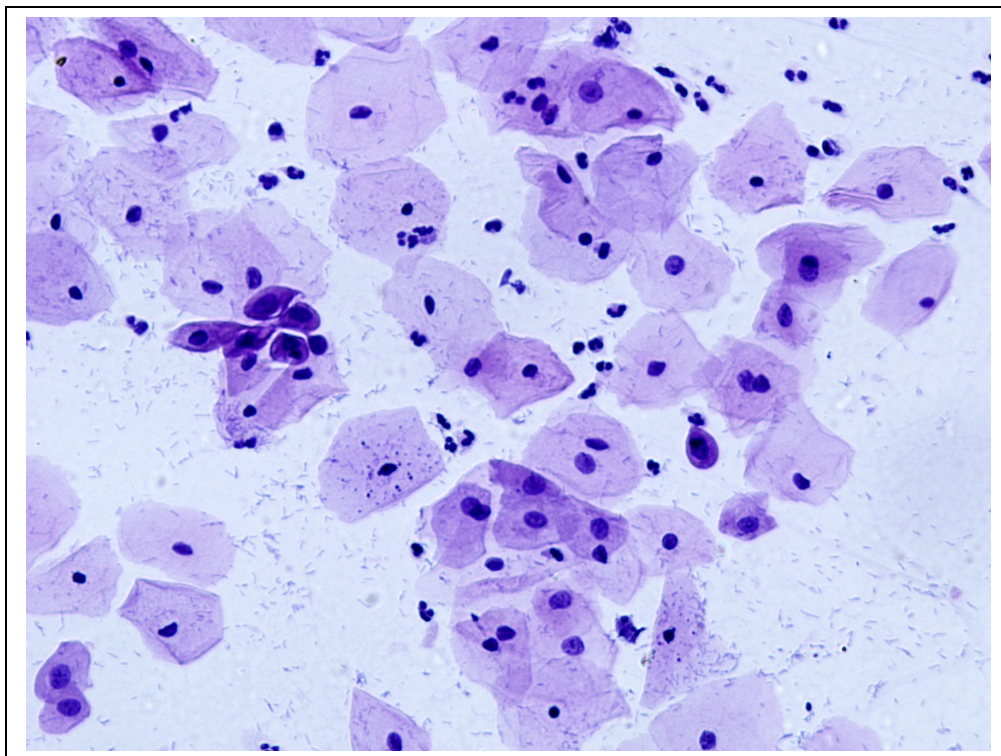
Mikrofotografia 4. PAP II. Bethesda AI BII Clb. Zapalenie. Bez cech neoplazji.



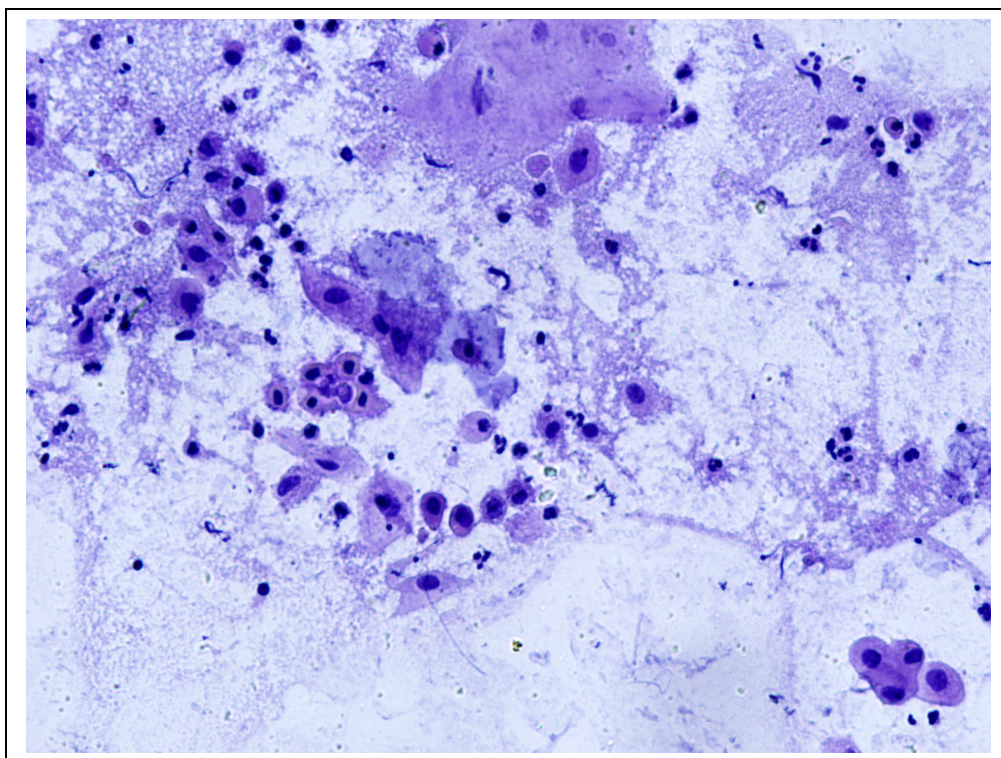
Mikrofotografia 5. PAP II. Bethesda AI BII Clb. Zapalenie. Bez cech neoplazji.



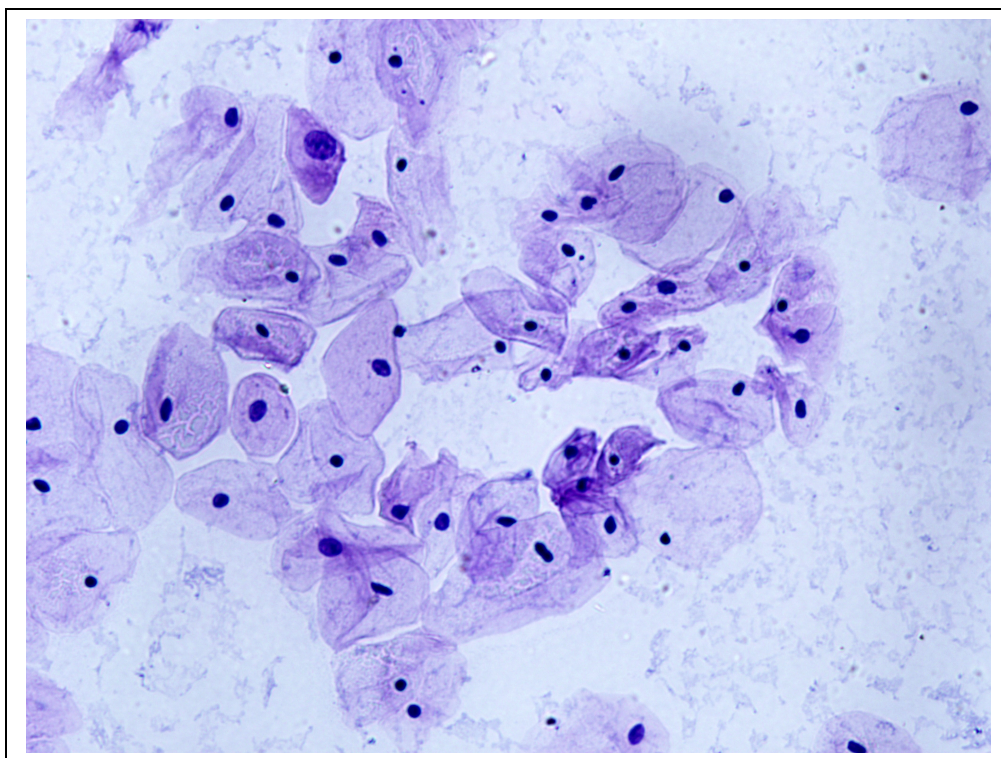
Mikrofotografia 6. PAP III. Bethesda AIIC BII Clb. Masywne zapalenie. Bez neoplazji.



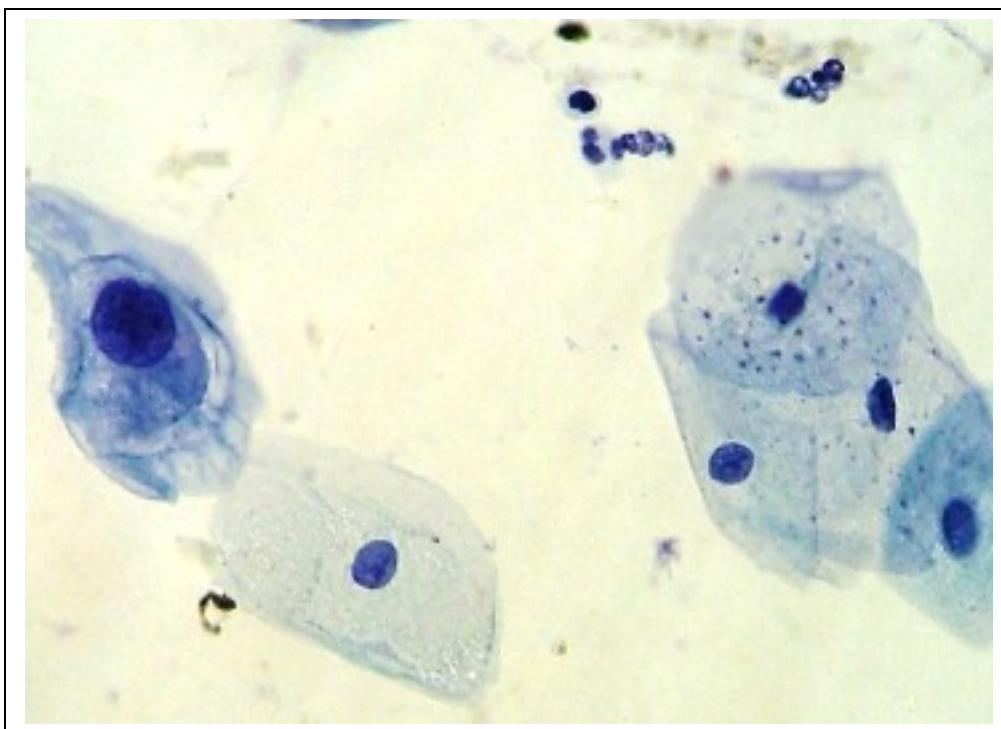
Mikrofotografia 7. PAP I. Bethesda AI BI CII2. Metaplazja. Obraz w granicach normy.



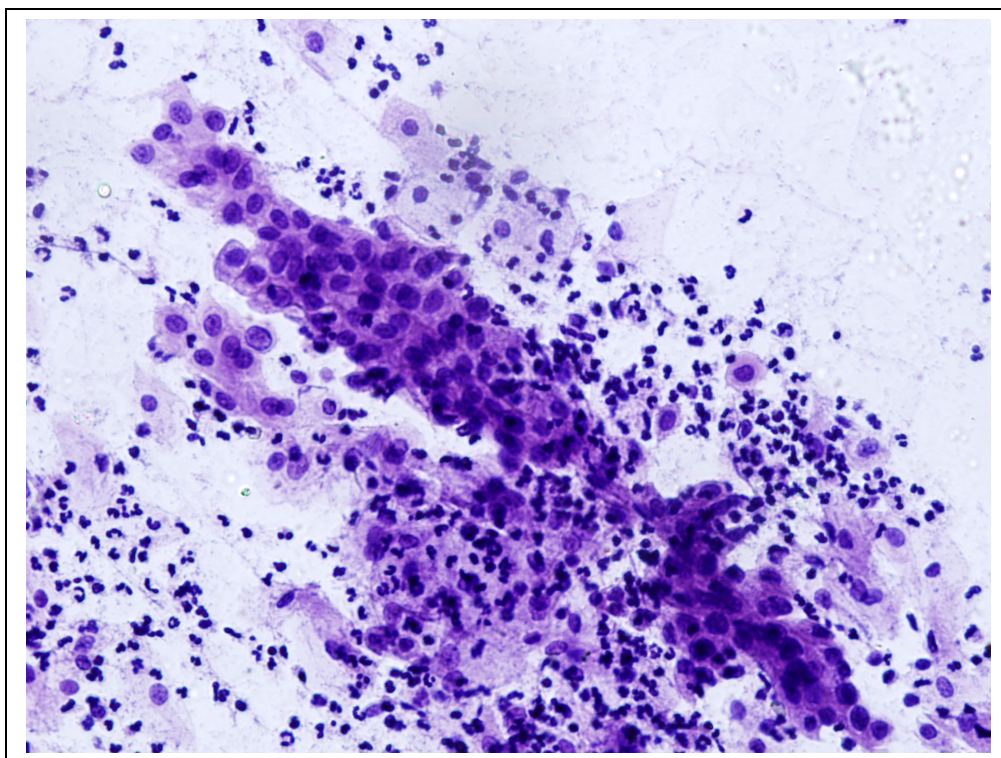
Mikrofotografia 8. PAP III. Bethesda AI BIII CIII1a. Obraz nieprawidłowy. ASC-US.



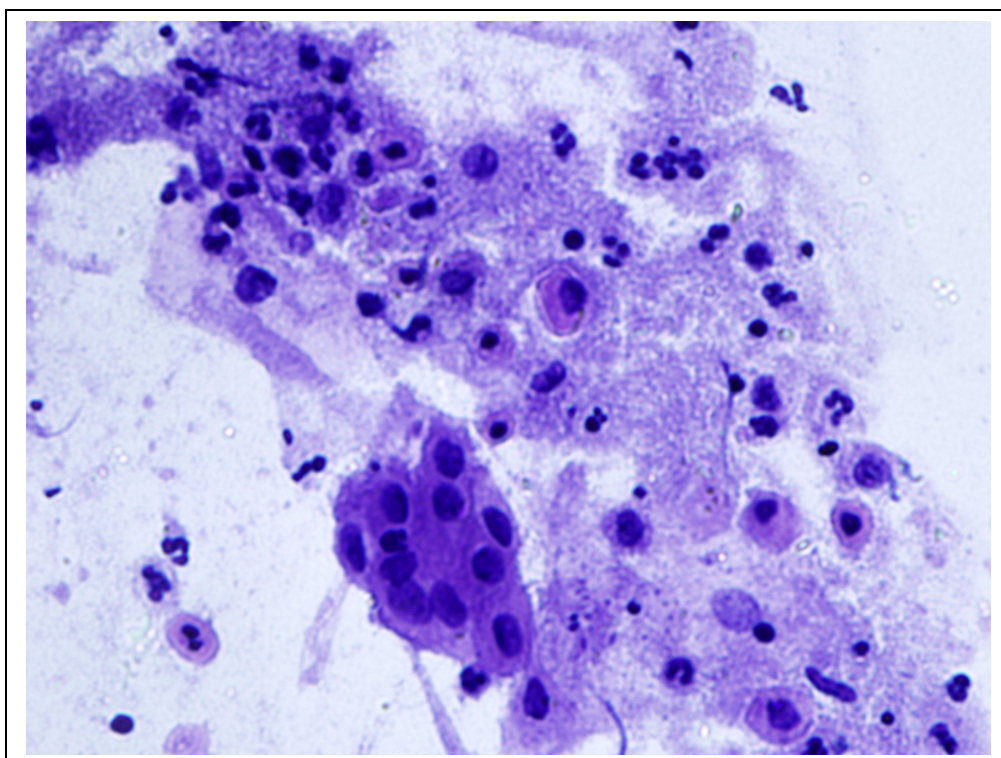
Mikrofotografia 9. PAP III. Bethesda AI BIII CIII2b. Obraz nieprawidłowy. LSIL.



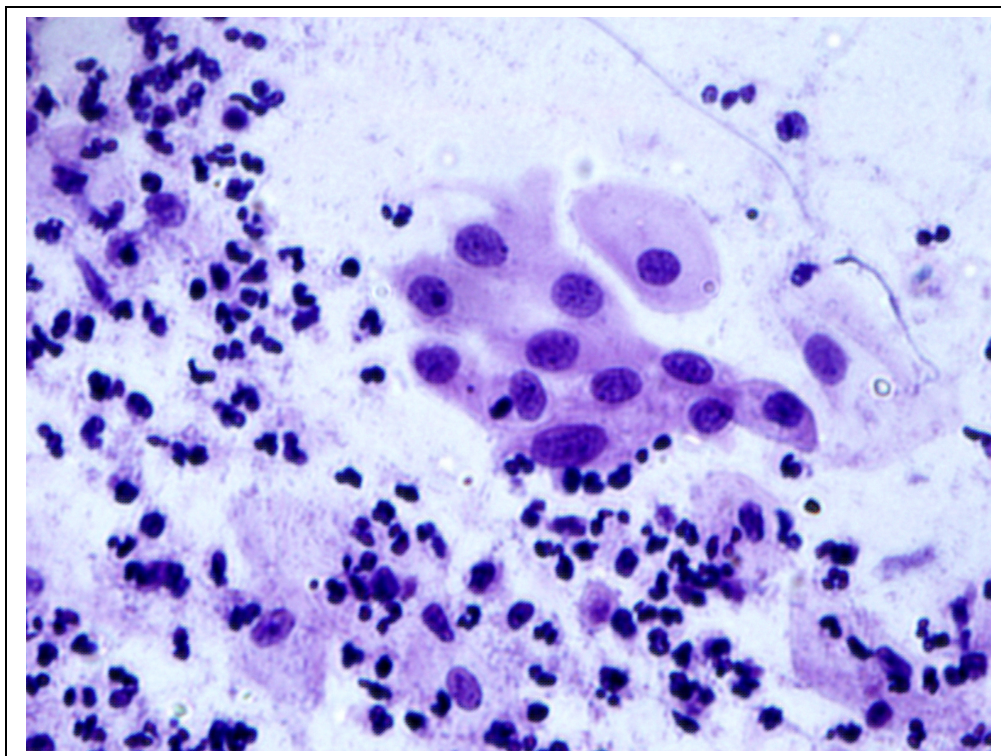
Mikrofotografia 10. PAP III. Bethesda AI BIII CIII2a. Obraz nieprawidłowy. LSIL.



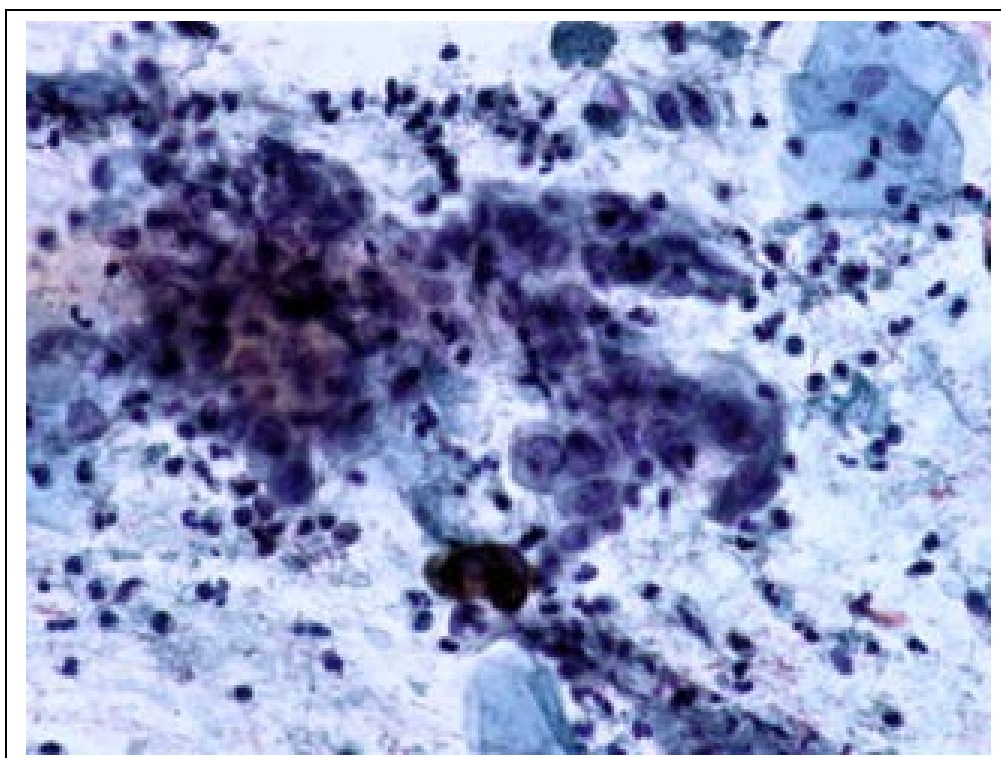
Mikrofotografia 11. PAP IV. Bethesda AI BIII CIII3a. Obraz nieprawidłowy. HSIL.



Mikrofotografia 12. PAP IV. Bethesda AI BIII CIII3a. Obraz nieprawidłowy. HSIL.



Mikrofotografia 13. PAP III. Bethesda AI BIII CIII2b. Obraz nieprawidłowy. LSIL.



Mikrofotografia 14. PAP IV. Bethesda AI BIII CIII3b. Obraz nieprawidłowy. HSIL.

5. DYSKUSJA

5.1. Rak szyjki macicy jako problem medyczny, społeczny i ekonomiczny.

Rak szyjki macicy jest drugim po raku gruczołu sutkowego najczęściej występującym nowotworem u kobiet [84]. Każdego roku rozpoznaje się prawie 500 tys. nowych przypadków, a około 275 tys. kobiet rocznie umiera z powodu tej choroby [85]. Najwyższą zachorowalność na raka szyjki macicy obserwuje się w krajach afrykańskich, w Ameryce Łacińskiej oraz w niektórych rejonach Azji, takich jak: Indie, Kambodża, Tajlandia [86]. Jest to najprawdopodobniej związane ze złym stanem opieki zdrowotnej, niskimi nakładami finansowymi na służbę zdrowia oraz niską świadomością zdrowotną pacjentek. Najniższe współczynniki zachorowalności notuje się w krajach skandynawskich, Izraelu, południowo-wschodniej Azji oraz Australii i Nowej Zelandii [1].

W krajach Unii Europejskiej, biorąc pod uwagę środki finansowe ponoszone przez kraje wysoko rozwinięte na profilaktykę pierwotną i wtórną, sytuacja epidemiologiczna dotycząca raka szyjki macicy jest zatrważająca. W obrębie UE rocznie stwierdza się 34 tysiące nowych zachorowań i ponad 16 tysięcy zgonów z powodu raka szyjki macicy [87]. Szczególnie widoczna dysproporcja zaznacza się między 15 krajami „starymi” a 10 „nowymi” członkami UE. Jak pokazują statystyki, najwyższe ryzyko zgonu na raka szyjki macicy odnotowano w Rumunii i na Litwie, natomiast najniższe w Finlandii.

Polska należy do krajów o średniej zachorowalności na nowotwory złośliwe. Jednakże olbrzymie dysproporcje pojawiają się wtedy, gdy poddamy analizie współczynniki 5-letnich przeżyć pacjentek chorych na raka szyjki macicy. Polska, według wyników badania EURO CARE – 4 [88], uzyskała 56% 5-letnich przeżyć, co plasuje nas na jednym z ostatnich miejsc wśród krajów europejskich biorących udział w tym badaniu. Wskaźnik ten jest niezwykle użyteczny z punktu widzenia praktycznego, ponieważ stanowi doskonałą miarę wyleczalności raka szyjki macicy. Wielce niekorzystny wynik dotyczący wskaźnika 5-letnich przeżyć może wskazywać na nieprawidłową organizację populacyjnych badań przesiewowych w kierunku tego nowotworu, złą jakość wykonywanych badań cytologicznych lub, co wydaje się być najgorsze, brak zainteresowania kobiet w Polsce badaniami skriningowymi. W tym miejscu należy uwypuklić nadrzędną rolę lekarza ginekologa-położnika w procesie edukacji pacjentek w zakresie prewencji raka szyjki macicy.

Polska należy do krajów o dużej zachorowalności i śmiertelności z powodu raka szyjki macicy, co stanowi ogromny dysonans pomiędzy pozycją naszego kraju w Europie i jego

aspiracjami dotyczącymi rozwoju cywilizacyjnego i społecznego. W celu poprawy tej niekorzystnej sytuacji epidemiologicznej niezbędny jest sprawnie działający system badań przesiewowych oraz jednocześnie propagowanie zasad profilaktyki pierwotnej raka szyjki macicy.

Według danych GUS oraz innych analiz [89], w Polsce ok. 30% kobiet nigdy w życiu nie miało wykonanego badania cytologicznego. Jak podają statystyki, stosunkowo najwyższe odsetki przeprowadzonych badań notuje się w grupie kobiet pomiędzy 30. a 50. rokiem życia, jednakże nawet w tym przedziale wiekowym co 7. kobieta nigdy nie miała wykonanej cytologii. Alarmujące dane płyną z analizy statystycznej populacji Polek w wieku 18-24 lata, w której ponad 20% badanych nigdy w życiu nie była u ginekologa [89]. Świadczy to o niezwykle niskiej świadomości zdrowotnej polskiego społeczeństwa, która w istocie ma decydujący wpływ na niską realizowalność badań profilaktycznych w zakresie raka szyjki macicy. Jak podaje Kotarski [90], prawie połowa kobiet, które zgłosiły się na badanie nie wiedziała w jakim celu wykonuje się cytologię, 65% kobiet nie znało przyczyn powstawania raka szyjki macicy i tylko 6% słyszało o HPV. W kontekście powyższych, zatrważających danych należy wspomnieć o roli, jaką powinien spełniać zarówno lekarz pierwszego kontaktu jak i lekarz ginekolog w propagowaniu podstawowej wiedzy medycznej i kreowaniu świadomości prozdrowotnej pacjentów.

5.2. Postępowanie w przypadku nieprawidłowego wyniku badania cytologicznego

Najważniejszym celem populacyjnych cytodiagnostycznych badań przesiewowych jest wykrywanie zmian, które mają charakter bezpośrednich prekursorów raka. Zaliczamy do nich następujące spektrum rozpoznań: CIN2, CIN3, AIS (adenocarcinoma *in situ*, rak gruczołowy *in situ*) i wczesne postaci raka inwazyjnego szyjki macicy. Zastosowanie odpowiednich metod pogłębionej diagnostyki pozwala na wczesne uzyskanie ostatecznego rozpoznania histopatologicznego i zastosowanie adekwatnego i skutecznego leczenia.

System Bethesda bardzo dokładnie klasyfikuje wszelkie nieprawidłowe zmiany cytologiczne. Według systemu Bethesda 2001 prawidłowy wynik cytologiczny określany jest jako brak podejrzenia neoplazji śródnabłonkowej i raka (NILM – No Intraepithelial Lesion Or Malignancy).

Jako wyniki nieprawidłowe w systemie Bethesda 2001 uznaje się następujące kategorie:

- 1) ASC – atypowe komórki nabłonka płaskiego, które ze względu na nasilenie zmian zostały podzielone na dwie podgrupy: ASC-US – atypowe komórki nabłonkowe o nieokreślonym znaczeniu oraz ASC-H – atypowe komórki nabłonkowe, w przypadku których nie można wykluczyć obecności zmian dużego stopnia HSIL;
- 2) LSIL - zmiany małego stopnia w komórkach nabłonka płaskiego;
- 3) HSIL - zmiany dużego stopnia w komórkach nabłonka płaskiego;
- 4) AGC - atypowe zmiany w komórkach gruczołowych.

Wyniki rozmazów cytologicznych w systemie TBS mogą także zawierać bezpośrednią indykację obecności komórek raka płaskonabłonkowego bądź gruczołowego.

Na przełomie roku 2008 i 2009 grupa ekspertów z Centralnego Ośrodka Koordynującego Populacyjny Program Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy, Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego, Polskiego Towarzystwa Patologów i Polskiego Towarzystwa Kolposkopii i Patofizjologii Szyjki Macicy, w oparciu o światowe piśmiennictwo, rekomendacje zagranicznych towarzystw naukowych oraz na podstawie własnych doświadczeń, wypracowała rekomendacje w kwestii algorytmu postępowania w przypadku uzyskania nieprawidłowego wyniku przesiewowego badania cytologicznego [91]. W opracowaniu zaleceń i rekomendacji uwzględniono wskaźniki epidemiologiczne dotyczące patologii szyjki macicy w Polsce oraz specyficzne krajowe warunki socjoekonomiczne związane z możliwościami, dostępnością i kosztami cytologicznych badań podstawowych i procedur dodatkowych, takich jak kolposkopia, biopsja, badanie histopatologiczne, testy molekularne w kierunku wykrycia obecności HPV i wreszcie zabiegi chirurgiczne (konizacja).

Rozpoznanie ASC niesie za sobą małe ryzyko obecności raka szyjki macicy i szacowane jest na 0,1 do 0,2% [91]. Jednak jak już podkreślono wyżej, kategoria ta mieści w sobie dwie różne pod względem prognostycznym grupy pacjentek. W przypadku ASC-H ryzyko CIN 2 i 3 jest znamienne wyższe w porównaniu z ASC-US. Znajduje to swoje odzwierciedlenie w obowiązującym algorytmie postępowania, który zaleca w razie rozpoznania ASC-H drogę diagnostyczną taką, jak w przypadku stwierdzenia HSIL [91]. Wykrywając ASC-US dalsze postępowanie diagnostyczne powinno obejmować następujące czynności: wykonanie dwóch badań cytologicznych w odstępach sześciomiesięcznych lub wykonanie testu molekularnego na obecność materiału genetycznego wysokoonkogennych

serotypów HPV (test DNA High Risk HPV i test mRNA High Risk HPV). Dwukrotny prawidłowy wynik cytologiczny lub negatywny wynik badania HR HPV pozwalają skierować pacjentkę na tor rutynowych badań przesiewowych [91, 92]. Jeśli wynik powtórnego badania cytologicznego jest nieprawidłowy lub test HR HPV jest dodatni istnieje wskazanie do weryfikacji kolposkopowej. W przypadku, gdy badanie kolposkopowe u pacjentki z ujemnym testem HR HPV uznano za satysfakcjonujące, wykonanie cytologii zaleca się po upływie 12 miesięcy. U pacjentki z prawidłową kolposkopią i dodatnim wynikiem HR HPV zaleca się powtórne wykonanie testu HR HPV za rok lub dwukrotne wykonanie cytologii w odstępie 6-miesięcznym [91, 93, 94]. Warto zaznaczyć, że test na obecność DNA wirusa HPV należy wykonać w odstępie co najmniej rocznym, z uwagi na to, iż w krótszym okresie nie dojdzie do ewentualnego samowyleczenia zakażenia, a na chwilę obecną leczenie przeciwwirusowe nie jest znane. Należy w tym miejscu zasignalizować, że dodatni wynik tego testu w grupie młodych kobiet do 26. roku życia charakteryzuje się małą swoistością, gdyż w tej grupie bardzo często dochodzi do zakażenia, które jest eliminowane przez własny układ immunologiczny i nie przechodzi w fazę przewlekłą, która stanowi najważniejszy czynnik predysponujący do rozwoju raka szyjki macicy. Dopiero u kobiet po 30. roku życia występują najczęściej zakażenia przetrwałe mogące stanowić początek procesu karcinogenezy.

Postępowanie w przypadku stwierdzenia LSIL obejmuje wykonanie dwóch badań cytologicznych w odstępach sześciomiesięcznych lub kolposkopii z zamiarem ewentualnego przeprowadzenia biopsji lub testu molekularnego HR HPV. Należy podkreślić, że ryzyko CIN2 i raka u kobiet z rozpoznaniem LSIL jest analogiczne do rozpoznania ASC-US i tym samym postępowanie w obu grupach niewiele się różni. Jedynie u kobiet po menopauzie postępowaniem z wyboru powinno być wykonanie testu HR HPV z uwagi na większe ryzyko istnienia zakażenia przetrwałego. Zarówno w przypadku ASC-US jak i LSIL nie należy wykonywać konizacji szyjki macicy jako postępowania diagnostyczno-terapeutycznego [91].

Cytologiczne rozpoznanie HSIL jest związane z dużym ryzykiem występowania zmian CIN w obrębie szyjki macicy [95]. U około 2% pacjentek z HSIL stwierdza się raka inwazyjnego [96]. Nie należy zapominać, że zmiany HSIL oraz CIN 2 i 3 u młodych kobiet mogą ulec samoistnej regresji, co warunkuje odmienny sposób postępowania w tej grupie [97, 98]. Znamienne wyższe ryzyko występowania w grupie kobiet z rozpoznaniem HSIL lub ASC-H zmian o charakterze nowotworowym implikuje odmienną strategię diagnostyczną. Obejmuje ona badanie kolposkopowe z biopsją zmian podejrzanych o CIN lub diagnostyczno-terapeutyczne wycięcie zmiany w obrębie szyjki macicy wraz z biopsją kanału

szyjki [88, 91]. Wykonywanie w tych przypadkach testu na obecność HR HPV z uwagi na to, że u większości kobiet z HSIL występuje zakażenie HPV, badanie to nie ma wartości diagnostycznej i prognostycznej. Jeżeli wyniki histopatologiczne po wycięciu zmiany lub biopsji są prawidłowe u chorej zalecamy kontrolną kolposkopię i cytologię co 6 miesięcy. Dwukrotne uzyskanie ujemnych wyników pozwala na powrót kobiety do schematu rutynowego badania przesiewowego. W przypadku nieprawidłowego wyniku badania kolposkopowego należy pacjentce zaproponować zabieg wycięcia zmiany z szyjki macicy. U młodych kobiet ze stwierdzonym HSIL rekomendowanym badaniem jest kolposkopia, która jeśli jest prawidłowa upoważnia lekarza do obserwacji chorej polegającej na pobieraniu rozmazów i wykonywaniu kolposkopii co 6 miesięcy przez 2 lata [91, 93].

Rozważając zagadnienie postępowania z pacjentkami, u których w badaniu cytologicznym stwierdzono atypowe komórki gruczolowe (AGC) należy pamiętać, iż u 9-38% kobiet z AGC występują zmiany typu CIN2 lub przedinwazyjny rak gruczolowy (AIS), a u 3-17% rak inwazyjny nie tylko szyjki macicy, lecz także endometrium, jajnika lub jajowodu [91, 99]. Ze względu na różne pochodzenie komórek atypowych należy zastosować szereg badań diagnostycznych, który obejmuje kolposkopię, biopsję kanału szyjki macicy, biopsję endometrium, test HR HPV i USG przezpochwowe [91, 93]. Ograniczenie się tylko do powtórnego badania cytologicznego lub testu HR HPV u kobiet z AGC uważa się za niewystarczające. W przypadku uzyskania ujemnego wyniku kolposkopii należy wykonać test HR HPV. Ujemny jego wynik wskazuje na konieczność wykonania badań cytologicznych po upływie 12 miesięcy. Dodatni wynik testu HPV obliguje do ponownego pobrania rozmazu lub wykonania kolposkopii po 6 miesiącach. Ujemne wyniki tych badań pozwalają lekarzowi skierować pacjentkę na tor rutynowego badania przesiewowego [91].

Stosunkowo nowy narzędziem wprowadzonym do praktyki codziennej ginekologa i onkologa są testy molekularne służące do wykrywania obecności DNA lub mRNA wysokoonkogennych serotypów wirusa HPV. Należy pamiętać, że testy nie wykrywają zmian CIN, AIS i raka, a ich wartość w weryfikacji nieprawidłowych wyników badania cytologicznego polega na określeniu ryzyka rozwoju zmian przednowotworowych i raka szyjki macicy. Jednokrotny dodatni wynik testu świadczy wyłącznie o obecności DNA wirusów wysokoonkogennych w badanej próbce i nie niesie bezpośrednich informacji o stanie nabłonka szyjki i zmianach morfologicznych. Test DNA HPV nie pozwala określić czasu trwania zakażenia, a więc nie różnicuje kobiet z infekcją przygodną i przetrwałą. Taka dyskryminacja jest możliwa wyłącznie przy użyciu testu mRNA, który wykrywając

transkrypty E6 i E7 genów wirusa brodawczaka (typy wysokoonkogenne 16, 18, 31, 33, 45) wskazuje jednoznacznie na przetrwałość zakażenia i początek procesu wirusowej karcinogenezy [91].

Wykorzystywane w toku powyższego algorytmu postępowania metody diagnostyczne mają różną czułość i swoistość. Ponadto mają istotnie różną ujemną i dodatnią wartość predykcyjną w wykrywaniu neoplazji śródnabłonkowej i raka. Jedyną metodą, która w pełni potwierdza lub jednoznacznie wyklucza CIN lub raka jest badanie histopatologiczne. Badanie cytologiczne jest wyłącznie badaniem przesiewowym i nie może być traktowane jako źródło ostatecznej diagnozy zmian w obrębie szyjki macicy.

5.3. Porównanie i omówienie zależności pomiędzy systemami oceny cytologicznej oraz zestawienie ich z parametrami klinicznymi pacjentek w aspekcie ich praktycznego zastosowania w rutynowej diagnostyce ginekologicznej i badaniach przesiewowych

Do niedawna powszechnie obowiązującym w Polsce systemem oceny rozmazów cytologicznych była wprowadzona w latach 40. ubiegłego wieku klasyfikacja wg Papanicolaou. Wprowadzenie tej klasyfikacji do ginekologicznej diagnostyki onkologicznej było jednym z najefektywniejszych i innowacyjnych wdrożeń we współczesnej medycynie. Istotny postęp w wiedzy dotyczący karcinogenezy w szyjce macicy, udowodniony, manifestujący się wykładnikami morfologicznymi udział infekcji HPV oraz obecność innych niż komórki nabłonka płaskiego struktur histologicznych (komórki gruczołowe kanału szyjki i komórki endometrium) nie uwzględnionych w pierwotnej klasyfikacji PAP, obnażył niedoskonałość klasyfikacji Papanicolaou i wymusił konieczność jej ewolucji w kierunku systemu bardziej opisowego i kompleksowo oceniającego wszystkie obszary wymagające ewaluacji. W ten sposób powstał konkurencyjny wobec PAP system Bethesda, którego kolejne modyfikacje ogniskowały się na stworzeniu takiego modelu oceny, który najprecyzyjniej rozgraniczyłby zmiany patologiczne od fizjologicznych niosąc tym samym najwięcej o nich informacji.

Od lat 90. większość krajów Unii Europejskiej i USA posługuje się klasyfikacją Bethesda (TBS). Główna jej cecha czyli opisowy charakter przybliża system wyników

cytologicznych do odpowiadających im rozpoznań patomorfologicznych. Także w Polsce, zgodnie z decyzją Ministra Zdrowia wprowadzono obligatoryjnie klasyfikację TBS jako obowiązującą, mimo tego jednak zdecydowana większość aktualnie przeprowadzanych badań cytodiagnostycznych wciąż jest oceniana wg klasyfikacji Papnicolaou [76, 100-102]. Jak do tej pory jednak, w nielicznych badaniach porównujących korzyści z oceny dwoma systemami, nie zaobserwowano zdecydowanej przewagi systemu TBS, a zarazem klasyfikacja Papanicolaou nie została jednoznacznie zdyskredytowana i odrzucona [100].

System Bethesda, który charakteryzuje się niezwykle detalicznym opisem analizowanych rozmazów stwarza bardzo duże możliwości wykrycia wszelkich, nawet najmniejszych nieprawidłowości w obrazie cytologicznym. Niesie to za sobą niebagatelne implikacje kliniczne, które pozwalają na przeprowadzenie wnikliwej kontroli diagnostycznej kobiet ze zmianami w obrębie szyjki macicy podejrzanymi o neoplazję. Jednakże należy z całą mocą podkreślić, iż stworzona w latach 40. XX wieku klasyfikacja Papanicolaou, dużo prostsza w opisie zmian oraz w interpretacji przez lekarza ginekologa, odgrywa podobną rolę jako doskonałe narzędzie służące do prostego i podstawowego opisu obrazu cytologicznego.

Jednym z podstawowych kryteriów klasyfikacyjnych systemu Bethesda, które odróżnia go od klasyfikacji Papanicolaou jest konieczność ewaluacji jakości samego rozmazu. W badanym materiale własnym aż 99,76% rozmazów była odpowiednia do oceny. Warunkowo do oceny nadawało się 104 (8,52%) badań. Gorsza jakość rozmazów wynikała z następujących czynników:

1. Kategoria AIIa – rozmaz ubogokomórkowy – 18
2. Kategoria AIIb – rozmaz podsuszony - 34
3. Kategoria AIIc - rozmaz niezbyt czytelny z powodu licznych komórek zapalnych – 21
4. Kategoria AIId - rozmaz niezbyt czytelny z powodu licznych erytrocytów – 5
5. Kategoria AIIf - znaczna cytoliza lub autoliza – 26

Do oceny nie nadawały się zaledwie 3 badania (0,24%). Dyskwalifikacja tych nastąpiła z powodu materiału zbyt ubogokomórkowego i nie uwzględniono ich w ostatecznej analizie jakościowej całości materiału. Jest to rezultat bardzo dobry i spełnia jakościowe wymogi stawiane ośrodkom zajmującym się rutynowo cytologicznymi badaniami przesiewowymi. Dane z piśmiennictwa podają średnio 0,5% (mediana 0,95%) rozmazów,

które nie nadawały się do oceny oraz średnio 5,8% (mediana 9,3%) badań nadających się do oceny warunkowo [103, 104].

System Bethesda 2001 jest powszechnie akceptowaną i obecnie już zalecaną klasyfikacją służącą do opisu rozmazów cytologicznych. Pomimo szerokiego stosowania przez cytodiagnostów tego systemu wciąż niedostateczna jest liczba wyczerpujących i pełnych analiz potwierdzających jej skuteczność jako idealnego i najlepszego narzędzia w masowych, rutynowych badaniach cytologicznych. Prandi i Beccati w artykule oceniającym przydatność systemu Bethesda 2001, w badaniach obejmujących 85012 kobiet regionu północnych Włoch badanych w latach 2003-2004 w niewyselekcjonowanych (losowo wybranych) różnej wielkości laboratoriach cytodiagnostycznych potwierdzają przydatność tego systemu, jednak zwracają szczególną uwagę i udowadniają, że stopień skomplikowania i zawiłości kryteriów diagnostycznych w znacznym stopniu utrudnia, a nawet uniemożliwia szeroką aplikację tego systemu w mniejszych, regionalnych placówkach [105]. Wnioski te znajdują potwierdzenie w pracy Shermana i Dasgupty, którzy potwierdzają złożoność i trudności w stosowaniu systemu Bethesda w codziennej praktyce diagnosty na przykładach różnic w podstawowych rozpoznaniach cytologicznych stawianych przez doświadczonych patologów [106]. Badanie amerykańskie BIRST (*The Bethesda Interobserver Reproducibility Study*) polegające na ocenie powtarzalności i zgodności rozpoznań pomiędzy 402 doświadczonymi cytodiagnostami (patologami i cytotechnikami) udowodniło, że parametry te pomimo kwalifikacji zawodowych i dużego doświadczenia (71,2% cytotechników i 53% patologów z doświadczeniem cytodiagnostycznym > 10 lat) oceniających charakteryzują się niskimi wartościami. Zgodność rozpoznań w poszczególnych kategoriach klasyfikacyjnych systemu Bethesda była stosunkowo niska. Analizowane przez specjalistów wzorcowe, typowe preparaty z poszczególnych kategorii Bethesdy charakteryzowały się szerokim spektrum zróżnicowania rozpoznań stawianych przez oglądających. Najniższą zgodność rozpoznań zaobserwowano w kategorii ASC-H, która została trafnie rozpoznana zaledwie przez 22,4% specjalistów. Podobnie niska zgodność wystąpiła w kategorii ASC-US, której nie rozpoznało 60,1% oceniających. Najistotniejsze z punktu widzenia klinicznego kategorie rozpoznań LSIL i HSIL także stanowiły dla części diagnostów problem: powyższe kategorie prawidłowo rozpoznano odpowiednio w 51,4% oraz 69,9% przypadków. Najbardziej zastanawiającą niezgodność w diagnozach zaobserwowano w kategorii rozmazów prawidłowych oraz Bethesda CI i CII (zmiany bez nieprawidłowości komórek nabłonkowych i raka). W tej grupie rozpoznań aż 2,2% stanowiło rozpoznanie raka płaskonabłonkowego. Co ciekawe,

w kategorii raka płaskonabłonkowego znalazły się rozpoznania opisane przez diagnostów jako norma cytologiczna. Powyższe zestawienia wskazują dobitnie, że złożoność kategoryzacji i duże wymagania merytoryczne i praktyczne (długi okres doświadczenia w oglądaniu materiału cytologicznego), jakie stawia przed oglądającym klasyfikacja Bethesda stanowią wyzwanie nawet dla sporej części doświadczonych cytodiagnostów, a co dopiero dla sporej grupy oceniających samodzielnie rozmazy ginekologów. Wyniki badania BIRST i obecnej pracy wskazują na sposób funkcjonowania małych samodzielnych pracowni cytodiagnostyki ginekologicznej, w których metodą z wyboru w ocenie rozmazów cytologicznych z szyjki macicy wydaje się być klasyfikacja Papanicolaou.

W obecnej pracy za wyniki nieprawidłowe uznano w metodzie Papanicolaou grupę III, IV oraz V, a w TBS: ASC-US, ASC-H, AGUS, LSIL oraz HSIL. W przeprowadzonej analizie odsetek wyników nieprawidłowych wg klasyfikacji PAP wyniósł 4,1%, natomiast wg TBS 5,1%. Uzyskane odsetki nieprawidłowych wyników rozmazów są spójne z wynikami innych analiz, bowiem w programach przesiewowych nieprawidłowe wyniki badania cytologicznego stanowią od 1% do 8% wszystkich ocenionych rozmazów [91]. W Polsce w ramach Programu Profilaktyki Raka Szyjki Macicy w roku 2008 wykonano 795 288 badań i stwierdzono 19 296 czyli 2,43% nieprawidłowych wyników [91]. W ramach Zachodniopomorskiego Programu Profilaktyki Raka Szyjki Macicy od 2001 roku przeprowadzono w województwie zachodniopomorskim badania cytologiczne u 105 750 kobiet [107]. Rozmazy oceniano wyłącznie systemem Bethesda i wykryto łącznie 735 zmian patologicznych (0,7%), a więc wyraźnie mniej niż w badanej grupie własnej (5,1%).

Niedoszacowanie i niedodiagnozowanie w niniejszej ocenie metodą PAP dotyczyło wyłącznie kategorii K5 rozpoznanych cytologicznych czyli grupy zawierającej CIN1 i infekcje HPV. A zatem zakres rozbieżności diagnostycznych objął jedynie te pacjentki, które nie wymagały dalszej bezwzględnej diagnostyki i leczenia, a jedynie kontroli. Powyższe zestawienie uzyskanych wyników świadczy w sposób niepodważalny o podobnej roli w kwalifikacji kobiet do grup ryzyka rozwoju patologii szyjki macicy jaką spełnia klasyfikacja PAP i TBS. Niewielkie różnice w odsetku obserwowanych zmian patologicznych pozwalają z dobrym efektem diagnostycznym – terapeutycznym uznać metodę PAP za bardziej użyteczną w codziennej praktyce lekarza ginekologa – położnika.

Teza ta znajduje swoje odzwierciedlenie w kolejnych rezultatach badań. Według TBS, grupa rozpoznanych obarczona największym ryzykiem rozwoju raka szyjki macicy to grupa HSIL. Z 16 rozpoznanych HSIL 14 znalazło się w grupie IV wg PAP oraz 2 w grupie III

PAP. Rozpoznania o mniejszym ryzyku progresji w kierunku zmian neoplastycznych, czyli grupa ASC-US wg TBS, których w materiale badawczym było rozpoznanych 10 przypadków w metodzie PAP zostały zaklasyfikowane w 8 przypadkach do grupy II a w 2 do grupy III PAP. Niezwykle newralgiczna z uwagi na niemożność wykluczenia HSIL jest grupa ASC-H wg TBS, która jeśli zostanie stwierdzona powinna zostać objęta wnikliwą obserwacją kliniczną. ASC-H zostało rozpoznane u 3 kobiet, które w metodzie PAP zostały zaklasyfikowane w dwóch przypadkach do grupy PAP III, a w jednym do grupy PAP II.

Najczęściej występującym nieprawidłowym rozpoznaniem cytologicznym u wszystkich przebadanych w niniejszej pracy pacjentek w grupie wiekowej 18-81 lat jest kategoria Bethesda CIII2 – LSIL – 51,61%. Drugim co do częstości rozpoznaniem jest kategoria CIII3 – HSIL – 25,81%, zaś trzecim jest ASC-US i stanowi 16,13%. Odmienne rezultaty uzyskali Piskorz i Pruski analizując grupę 4905 kobiet biorących udział w programie profilaktyki raka szyjki macicy w okresie od lipca do listopada 2004 przeprowadzanym przez Klinikę Onkologii Ginekologicznej AM w Poznaniu [100]. Według cytowanych autorów we wszystkich analizowanych grupach wiekowych (30-39, 40-49 oraz 50-59 lat) największy odsetek nieprawidłowych rozpoznań cytologicznych stanowi ASC-US (odpowiednio 33%, 41% i 29% dla powyższych przedziałów wiekowych). Drugie w kolejności najczęstsze rozpoznanie cytologiczne występujące we wszystkich trzech analizowanych grupach wiekowych to LSIL (29%, 31% i 21% odpowiednio).

Klasyfikacja Papanicolaou jest wciąż bardzo chętnie stosowna do oceny rozmazów cytologicznych zarówno przez duże laboratoria cytologii klinicznej jak również przez małe gabinety ginekologiczne. Prostota i łatwość wykonania są jej atutami, które w konfrontacji z systemem Bethesda są nie do przecenienia. W obecnej pracy najczęściej stwierdzano grupę II według Papanicolaou (1110 pacjentek – 90.9%) oraz grupę I (60 pacjentek – 4.9%). Uzyskane wyniki badań cytologicznych nie znajdują odzwierciedlenia w analizowanym piśmiennictwie polskim. Obserwuje się znacznie większą liczbę pacjentek, które zostały zaklasyfikowane do grupy I wg Pap. Jak podaje Mierzwa i Grabiec, w badaniach z lat 2001-2003 obejmujących 28372 pacjentki dominowała grupa I wg PAP stanowiąc 50.4% rozpoznań, natomiast do grupy II wg PAP zaliczono 49.3% pacjentek [101]. Podobne rezultaty cytowani powyżej autorzy obserwowali w 2004 roku na większej grupie pacjentek (33415 osób), jednakże tutaj na pierwszy plan nieznacznie wysunęła się grupa II wg PAP - 51.4% rozpoznań a grupa I stanowiła 48.3% [76]. Porównując wyniki własne i powyższych autorów, zastanawiająca jest tak duża dysproporcja pomiędzy wynikami obejmującymi

pacjentki z I grupą wg PAP w obu badaniach (50.4% versus 4.9%), tym bardziej, że badania przeprowadzone w województwie śląskim i świętokrzyskim przez Kazimierczak i Sipińskiego prezentują się zbieżnie do badań własnych: grupa Pap I stanowiła tu 19,9%, a Pap II 65% [102].

Klasyfikacja TBS stwarza znacząco większe możliwości praktyczne wykazania nawet niedużych odchyleń w obrazie cytologicznym, które mogą mieć istotne znaczenie prognostyczne w kwalifikowaniu kobiet uczestniczących w badaniach profilaktycznych raka szyjki macicy do grupy podwyższonego ryzyka rozwoju nowotworu. Jednak zestawienie liczby wyników nieprawidłowych uzyskanych w klasyfikowaniu wymazów: według Papanicolaou - 50 pacjentek (4,1%) i według TBS – 62 pacjentki (5,1%) ilustruje analogiczne i równorzędne możliwości diagnostyczne i nie wykazuje jednoznacznej przewagi żadnej z metod oceny w kwalifikowaniu kobiet do grup ryzyka. Porównując w niniejszej pracy dwa systemy klasyfikacji Pap i Bethesda nie stwierdza się istotnych statystycznie zależności pomiędzy analogicznymi kategoriami obu klasyfikacji z wyjątkiem najistotniejszej kategorii: kategorii K6 obejmującej nieprawidłowości komórek nabłonkowych z cechami dysplazji dużego stopnia (HSIL obejmujący CIN2, CIN3/CIS i raka; kategorie Bethesda: CIII3a,3b i 4) oraz stopień Pap IV. Relacja ta pokazuje, że systemy są tożsame w wykrywaniu najistotniejszych diagnostycznie nieprawidłowych kategorii.

W dużej analizie populacji 4780 kobiet województwa podlaskiego w przedziale wiekowym 30-59 lat Zbroch i wsp., podobnie jak w niniejszej pracy, wykazali porównywalną trafność diagnostyczną obu zastosowanych do oceny klasyfikacji: PAP i TBS [108]. Oceniając rozmazy w klasyfikacji PAP odsetek wyników nieprawidłowych wynosił 4%, natomiast w klasyfikacji TBS – 6%. Dane te są niemal analogiczne do wyników uzyskanych w badaniu własnym (odpowiednio 4,1% i 5,1%). Autorzy ci zauważyli jednak, że dwa systemy oceny, choć porównywalne, wskazują na większe możliwości diagnostyki opisowej oraz precyzyjniejsze ustalenie źródeł nieprawidłowości, zarówno o charakterze nowotworowym, jak i nienowotworowym, a tym samym na trafne zastosowanie leczenia przyczynowego [108].

Wyniki powyższych badań znajdują odzwierciedlenie w zaleceniach i rekomendacjach prestiżowych i uznawanych powszechnie w świecie towarzystw naukowych i grup eksperckich, opracowujących dane na bazie dużych badań populacyjnych. Zalecenia dotyczące strategii i wykonywania badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy U.S. Preventive Services Task Force wskazują, że nie ma jednoznacznej przewagi nowych technik

diagnostycznych w badaniu przesiewowym w porównaniu z dotychczas stosowanymi, a korzyści diagnostyczne z ich stosowania w porównaniu z tradycyjnymi wymazami cytologicznymi są niewspółmierne do ponoszonych kosztów i nakładów czasowych [109]. Ponadto przeprowadzone przez USPSTF analizy wykazały, że nie jest możliwa bezpośrednia ocena ani porównanie czułości, swoistości oraz wartości predykcji nowych i tradycyjnych badań cytologicznych w tej samej populacji. Ponieważ nie przeprowadzono także, podobnie jak w niniejszej pracy, badań uwzględniających częstość raka szyjki macicy, dostępne dane dotyczące nowych metod diagnostycznych nie pozwalają na stwierdzenie czy skuteczność tych metod w zapobieganiu inwazyjnemu rakowi szyjki macicy jest większa .

Pożądane efekty badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy można uzyskać jedynie wtedy, gdy spełnione są wszystkie elementy prawidłowej organizacji tego typu akcji profilaktycznych, takie jak: odpowiedni wybór metody diagnostycznej oraz grupy wiekowej osób poddanych badaniu. Niezwykle istotne jest posiadanie możliwości dalszego, bardziej zaawansowanego diagnozowania i leczenia chorych z rozpoznaną patologią w obrębie szyjki macicy oraz odpowiednie pobranie materiału do badania cytologicznego wraz z jego prawidłowym utwaleniem. Z punktu widzenia diagnostyczno – terapeutycznego najbardziej newralgicznym momentem badania przesiewowego, w realizacji którego występuje największe ryzyko popełnienia błędu w przypadku niedostatecznego doświadczenia klinicznego osoby wykonującej badanie jest ocena cytologiczna pobranych rozmazów. Wykonane rozmazy, zgodnie z obowiązującymi zaleceniami muszą najpierw podlegać ocenie jakościowej, a następnie ocenie pod kątem ewentualnych zmian patologicznych. Wymogi te, szczególnie dotyczące oceny jakości, doskonale spełnia System Bethesda 2001, który w chwili obecnej jest podstawową klasyfikacją oceniającą rozmazy z szyjki macicy. Należy zwrócić uwagę na problem stosowania systemu Bethesda w codziennej praktyce lekarza ginekologa. Wprowadzenie tej klasyfikacji do rutynowej działalności diagnostycznej może nastroczać problemy natury organizacyjnej, ponieważ pociąga to za sobą konieczność stałej współpracy z doświadczonym patologiem biegłym w złożonym systemie oceny cytologicznej Bethesda, co jak wiadomo w obliczu niezwykle małej liczby specjalistów z tej dziedziny znacznie opóźnia lub wręcz uniemożliwia proces diagnostyczny.

6. WNIOSKI

1. Najczęściej występującym nieprawidłowym rozpoznaniem cytologicznym u wszystkich przebadanych pacjentek w grupie wiekowej 18-81 lat jest kategoria Bethesda CIII2 – LSIL (51,61%), drugim co do częstości rozpoznaniem jest kategoria CIII3 – HSIL (25,81%), zaś trzecim jest ASC-US (16,13%).
2. W przeprowadzonej analizie odsetek wyników nieprawidłowych wg klasyfikacji PAP (grupa III, IV i V) wyniósł 4,1%, natomiast wg systemu Bethesda (ASC-US, ASC-H, AGUS, LSIL oraz HSIL) - 5,1%. Powyższe zestawienie uzyskanych wyników świadczy w sposób niepodważalny o podobnej roli w kwalifikacji kobiet do grup ryzyka rozwoju patologii szyjki macicy jaką spełnia klasyfikacja PAP i TBS. Niewielkie różnice w odsetku obserwowanych zmian patologicznych pozwalają z dobrym efektem diagnostyczno – terapeutycznym uznać metodę PAP za bardziej użyteczną w codziennej praktyce lekarza ginekologa – położnika.
3. Analiza statystyczna wzajemnych zależności pomiędzy oceną cytologiczną rozmazów wg Papanicolaou i w systemie Bethesda przeprowadzona wszystkimi zastosowanymi testami wskazuje jednoznacznie, że istnieje istotna statystycznie korelacja pomiędzy wynikami uzyskanymi w ocenie metodą PAP i systemie Bethesda w zakresie wyrywania istotnych nieprawidłowości nabłonkowych ujętych w pracy jako kategoria K6 i obejmujących CIN2, CIN3/CIS oraz raka, wg Bethesda kategorie CIII 3a, 3b i 4.

7. PIŚMIENNICTWO

1. **Kędzia W, Zwierko M.** Szyjka macicy. W: Markowska J (red.). Ginekologia onkologiczna. Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław 2006, 501.
2. **Berrino F, Capocaccia R, Coleman MP** et al. Survival of Cancer Patients in Europe, The EUROCare-3 Study. Oxford University Press. *Annals of Oncology* 2003, 14, Suppl. 5.
3. **Griffiths CT, Silverstone A, Tobias J, Benjamin E.** Gynecologic Oncology, Ed 1, Mosby-Wolf, Times International Publishers Limited 1997; 1.
4. **Smith HO, Tiffany MF, Quallas CR** et al. The rising incidence of adenocarcinoma reive to squamous cell carcinoma of the uterine cervix in the United States-a-24-year population-based study. *Gynecol Oncol* 2000, 78: 105.
5. **Johannesson G, Gerisson G, Day N** et al. Screening for cancers of the uterine cervix in Iceland, 1965-1978. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1982, 61: 203.
6. **Ferris DG, Cox T, O Connor** et al.: Modern Colposcopy, textbook and atlas, Ed. 2, ASCCP, Kendall/Hunt Publishing Company 2004, 68.
7. **Madeleine MM, Brumback B, Cushing-Haugen KL** et al. Human leukocyte antigen class II and cervical cancer risk, a population-based study. *J Infect Dis* 2002, 186: 1565.
8. **Wang SS, Hildesheim A, Gao X** et al. Comprehensive analysis of human leukocyte antigen class I alleles and cevical neoplasia in 3 epidemiologic studies. *J Infect Dis* 2002, 186: 598.
9. **Schiffman MH, Bauer HMM, Hoover RN** et al. Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1993, 85: 958.
10. **Bosch FX, Munoz N, Shah KV** et al. Second international workshop on the epidemiology of cervical cancer and human papillomavirus. *Int J Cancer*, 1992, 52: 171.
11. **Scheuer MF, Tortolero-Luna G, Adler-Storthz K:** Human papillomavirus infection: biology, epidemiology and prevention. *Int J Gynecol Cancer* 2005, 15: 727.
12. **Schneider A, Sawada E, Gissman L** et al. Human papillomaviruses in women with a history of abnormal Papanicolaou smears and their male partners. *Obstet Gynecol* 1987, 69: 554.
13. **van den Brule AJC, Walboomers JMM, Du Maine M** et al. Differences in prevalence of human papillomavirus genotypes in cytomorphological normal cervical smears is associated with a history of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 1991, 48: 404.

- 14. Kędzia W:** Analiza czynników komórkowych i ustrojowych w procesie kancerogenezy komórek nabłonka paraepidermalnego szyjki macicy zakażonych wirusem brodawczaka ludzkiego. W: Czynniki ryzyka zakażenia HPV i rozwoju raka szyjki macicy, Wyd. 1, Wydawnictwo Naukowe UAM 2003, 1.
- 15. Syrjanen K:** Papillomavirus reviews, current research on papillomaviruses. W: Natural history of genital human papillomavirus infections. C Lacey. (ed.) Leeds University Press, Leeds 1996, 189.
- 16. Syrjanen K:** Human papillomavirus infection of the female genital tract. *Cytopathology* 1991, 2: 225.
- 17. Nakagawa S, Yoshikawa H, Onda T et al.** Type of human papillomavirus is related to clinical features of cervical carcinoma. *Cancer* 1996, 78: 1935.
- 18. Hellberg D, Nilsson S, Haley N et al:** Smoking and cervical intraepithelial neoplasia: nicotine and cotinine in serum and cervical mucus in smokers and nonsmokers. *Am J Obstet Gynecol* 1988, 158: 910.
- 19. Barton S, Maddox P, Jenkins D et al.** Effect of cigarette smoking on cervical epithelial immunity: a mechanism for neoplastic change? *Lancet* 1988, 2: 652.
- 20. Kessler H:** Veneral factors in human cervical cancer, evidence from material cluster. *Cancer* 1977, Suppl., 39: 1912.
- 21. Bosch FX, Castellsagué X, Muñoz N et al.** Male sexual behavior and human papillomavirus DNA: key risk factors for cervical cancer in Spain. *J Natl Cancer Inst* 1996, 88, 1060.
- 22. Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N et al.** Male circumcision penile human papillomavirus infection and cervical cancer in female partners. *N Engl J Med* 2002, 346, 15.
- 23. Castle PE, Giuliano AR:** Cervical inflammation and antioxidant nutrients-assessing their roles as human papillomavirus cofactors. *J Natl Cancer Ins* 2003, 29, 34.
- 24. Golijow CD, Abba MC, Mouron S et al.** Chlamydia trachomatis and human papillomavirus infection in cervical disease in Argentine women. *Gynecol Oncol* 2005, 96: 181.
- 25. de Villiers E, Wagner D, Schneider A et al.** Human papillomavirus infections in women with and without abnormal cervical cytology. *Lancet* 1987, 2, 703.
- 26. de Villiers E, Wagner D, Schneider A et al.** Human papillomavirus DNA in women without and with cytological abnormalities, results of 5-year follow-up study. *Gynecol Oncol* 1992, 44: 33.

27. **DeVita V, Hellman S, Rosenberg S.** Cancer: Principles & Practice of Oncology. Seventh Edition. Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia 2005, 1295.
28. **Urbański K, Kornafel J.** Ginekologia onkologiczna. Polska Unia Onkologii 2006, 229.
29. **Creasman WT.** New gynecologic cancer staging. *Gynecol Oncol* 1995, 58, 2157.
30. **Beahrs OH, Henson RVT.** Manual for staging of cancer, Lippincott, Philadelphia 1988, 151.
31. **Tavasolli EA, Deville P.** Pathology and Genetics. Tumours of the breast and female genital organs. World Health Organization classification of tumours. IARC Press, Lyon 2003.
32. **Chosia M, Domagała W.** Choroby narządu płciowego żeńskiego. W: Domagała W (red.) Patologia, znaczy słowo o chorobie. 2005, 985.
33. **Herbst AL, Ulfelder H, Poskanzer DC.** Adenocarcinoma of vagina. Association of maternal stilboestrol therapy with tumour appearance in young women. *N Engl J Med* 1971, 284, 878.
34. **zur Hausen H.** Immortalization of human cells and their malignant conversion by high risk human papillomavirus genotypes. *Semin Cancer Biol* 1999, 9: 405.
35. **Majewski S, Pniewski T, Goyal-Stec M.** Rola wirusów brodawczaka w rozwoju zmian łagodnych i złośliwych okolicy narządów płciowych. *Zakażenia wirusowe* 2005, 6: 58.
36. **Bauer M, Pick H, Winter R.** Tumour suppressor genes and oncogenes in cervical cancer. 10 Congress of Cervical Pathology and Colposcopy. Buenos Aires 7-11 Nov, 1999, 159.
37. **Majewski S:** Zakażenia ludzkim wirusem brodawczaka okolic zewnętrznych narządów płciowych i odbytu u kobiet. *Med Prakt Ginekol Pol* 2006, 6: 44.
38. **Papanicolaou GN.** Atlas of Exfoliative Cytology. Harvard University Press, Cambridge 1960.
39. **Schneider A, Sterzik K, Buck G et al.** Colposcopy is superior to cytology for the detection of early genital human papillomavirus infection. *Obstet Gynecol* 1988, 71, 236.
40. **zur Hausen H.** Viruses in human cancers. *Science* 1991, 254: 1176.
41. **Wright TC, Bosch FX, Franco EL et al.** HPV vaccines and screening in the prevention of cervical cancer; conclusions from a 2006 workshop of international experts. *Vaccine* 2006, 24S3: 251.
42. **Dillner J.** The serological response to papillomaviruses. *Semin Cancer Biol* 1999, 9: 423.
43. **Villa LL, Ault KA, Giuliano AR et al.** Immunologic responses following administration of a vaccine targeting human papillomavirus Types 6, 11, 16 and 18. *Vaccine* 2006, 24: 5571.

- 44. Harper DM, Franco EL, Wheeler CM et al.** Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. *Lancet* 2006, 367: 1247.
- 45. Mao C, Koutsky LA, Ault KA et al.** Efficacy of human papillomavirus-16 vaccine to prevent cervical intraepithelial neoplasia: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2006, 107: 18.
- 46. Villa LL, Costa RL, Petta CA et al.** Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16 and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomised double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol* 2005, 6: 271.
- 47.** Gardasil package insert. Accessed at: <http://www.fda.gov/cber/review/hpvmer060806.pdf>
- 48. Zieliński J, Krzakowski M.** Nowotwory złośliwe narządu płciowego kobiety. W: Krzakowski M (red.) Onkologia kliniczna. Wydawnictwo Medyczne Borgis. Warszawa 2006, 967.
- 49. Crissman JD, Makuch R, Budhreja H.** Histopathologic grading of squamous cell carcinoma of the uterine cervix: an evaluation of 70 stage IB patients. *Cancer* 1985, 55: 1950.
- 50. Delgado G, Bundy BN, Fowler WC et al.** A prospective surgical pathological study of stage I squamous carcinoma of the cervix: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 1989, 32: 4.
- 51. Davis JR, Aristizabal S, Way DL et al.** DNA ploidy, grade and stage in prognosis of uterine cervical cancer. *Gynecol Oncol* 1989, 32: 4.
- 52. Pickel H, Haas J, Lahousen M.** Prognostic factors in cervical cancer. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1997, 71: 109.
- 53. Urbański K:** Nowotwory narządu płciowego kobiety. Radioterapia i radiochemioterapia raka szyjki macicy. XV Polska Szkoła Onkologii, 21-25 listopada 2001, materiały szkoleniowe.
- 54. Bidziński M, Sobiczewski P:** Laparoscopia w leczeniu wczesnie zaawansowanego raka szyjki macicy. *Ginekologia* 2003, 1: 16.
- 55. Baltzer J, Lohe KJ, Koepcke W et al.** Histological criteria for the prognosis in patients with operated squamous cell carcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1982, 13: 184.
- 56. Kędzia H:** Nowotwory narządów płciowych kobiety. W: Rak szyjki macicy. Kędzia H (red.). Ośrodek Wydawnictw Naukowych, Poznań 1997, 173.
- 57. Tamini HK, Gown AM, Kim-Doebold J et al.** The utility of immunocytochemistry in invasive adenocarcinoma of the cervix. *Am J Obstet Gynecol* 1992, 166: 1655.

- 58. Kornafel J.** Antygen raka płaskonabłonkowego (SCC) w nowotworach narządów płciowych kobiet. *Nowotwory* 1994, 44: 44.
- 59. Molina R, Filella X, Torres MD et al.** SCC antigen measured in malignant and nonmalignant diseases. *Clin Chem* 1990, 36: 251.
- 60. Duk JM, De Bruijn HWA, Groenier KH et al.** Cancer of the uterine cervix: sensitivity and specificity of serum squamous cell carcinoma antigen determinations. *Gynecol Oncol* 1990, 39: 186.
- 61. Bae SN, Namkoong SE, Jung JK et al.:** Prognostic significance of pretreatment squamous cell carcinoma antigen and carcinoembryonic antigen in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 1997, 64: 418.
- 62. Bolli JAN, Doering DL, Bosscher JR et al.** Squamous cell carcinoma antigen: Clinical utility in squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 1994, 55: 169.
- 63. Pectasides D, Economides N, Bourazanis J et al.** Squamous cell carcinoma antigen, tumour-associated trypsin inhibitor, and carcinoembryonic antigen for monitoring cervical cancer. *Am J Clin Oncol* 1994, 17: 307.
- 64. Yazigi R, Munoz AK, Richardson B et al.** Correlation of squamous cell carcinoma antigen levels and treatment response in cervical cancer. *Gynecol Oncol* 1991, 41: 135.
- 65. Alexander JC, Silverman NA, Chretien PB:** Effect of age and cigarette smoking on carcinoembryonic antigen levels. *JAMA* 1976, 235: 1975.
- 66. Bonfrer JM, Gaarenstroom KN, Korse CM et al.** Cyfra 21-1 in monitoring cervical cancer: a comparison with tissue polypeptide antigen and squamous cell carcinoma antigen. *Anticancer Res* 1997, 17: 2329.
- 67. Ferdeghini M, Gadducci A, Annicchiarico O et al.:** Serum Cyfra 21-1 assay in squamous cell carcinoma of the cervix. *Anticancer Res* 1993, 13: 1841.
- 68. Tsai SC, Kao CH, Wang SJ.** Study of a new tumour marker, Cyfra 21-1, in squamous cell carcinoma of the cervix, and comparison with squamous cell carcinoma antigen. *Neoplasma* 1996, 43: 27.
- 69. Majak B.** Podręczny atlas cytologii ginekologicznej. Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław 2002, 23-27.
- 70. Olszewski WT:** Terminologia zmian przednowotworowych szyjki macicy – od Papanicolaou do systemu Bethesda. *Zwalczanie Nowotworów* 2001, 1: 4.
- 71. Scully R, Bonfiglio TA, Kurman RJ.** Histologic Typing of Female Genital Tract Tumors. WHO, Springer-Verlag, 1994.

- 72. Richart RM, Barron BA.** A follow-up study of patients with cervical dysplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1969, 105: 386.
- 73. National Cancer Institute Workshop.** The 1988 Bethesda System for reporting cervical/vaginal cytological diagnoses. *JAMA*, 1989, 262: 931.
- 74. The Bethesda System** for reporting cervical/vaginal cytologic diagnoses. Raport of the 1991 Bethesda Workshop. *JAMA*, 1992, 267: 1892.
- 75. Nowak-Markwitz E.** Przydatność badań przesiewowych w onkologii ginekologicznej. *Medycyna Praktyczna – Ginekologia i Położnictwo* 2006, 6: 57.
- 76. Mierzwa T, Grabiec M.** Ocena wyników profilaktycznych badań przesiewowych raka szyjki macicy w Centrum Onkologii w Bydgoszczy w latach 2001-2004. *Przegl Gin Pol* 2005, 5: 137.
- 77. Miller A.** Fundamental issues in screening for cancer. W: Schottenfeld D, Fraumeni J (red): Cancer epidemiology and prevention. Second edition. New York, Oxford University Press, 1996.
- 78. Wilson J, Jungner G.** Principles and practices of screening for disease. Geneva 1968, World Health Organization.
- 79. Wojciechowska U, Didkowska J, Tarnowski W i wsp.** Nowotwory złośliwe w Polsce w 2002 roku. Warszawa, Centrum Onkologii, 2004.
- 80. Rekomendacje PTG** dotyczące diagnostyki, profilaktyki i wczesnego wykrywania raka szyjki macicy. *Ginekol Pol* 2006, 77: 655.
- 81. Garib S, Feldman S, Hellerstein S et al.** Women Health Guideline: Cervical cancer screening recommendations. Harvard Medical School 2002.
- 82. Sigurdsson K:** Trends in cervical intraepithelial neoplasia in Iceland through 1995: Evaluation of targeted age groups and screening intervals. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999, 78: 486.
- 83. Sawaya G, Grady D, Kerlikowske K et al.** The positive predictive value of cervical smears in previously screened postmenopausal women. The Heart and Estrogen/pregestin Replacement Study (HERS). *Ann Inter Med* 2000, 133: 942.
- 84. Bińkowska M, Dębiec R:** Profilaktyka raka szyjki macicy w populacji kobiet polskich w wieku od 45 do 54 lat. *Ginekol Pol* 2005, 76: 11.
- 85. Parkin D.** The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer* 2006, 118: 3030.

- 86. Spaczyński M** (red). Profilaktyka pierwotna i wtórna raka szyjki macicy, diagnostyka i leczenie. Polskie Towarzystwo Ginekologiczne 2008, 11.
- 87. Arbyn M, Raifu A, Autier P** et al.: Burden of cervical cancer in Europe: estimates for 2004. *Ann of Oncol* 2007, 18: 1708.
- 88. Verdecchia A, Francisci S, Brenner H**, Gatta G, Micheli A, Mangone L, Kunkler I, and the EURO CARE-4 Working Group. Recent cancer survival in Europe: a 2000–02 period analysis of EURO CARE-4 data. *Lancet Oncol* 2007, 8: 784.
- 89. Stan zdrowia ludności Polski** w przekroju terytorialnym w 2004 roku. GUS 2007.
- 90. Ostrowska A, Gujski M.** Walka z rakiem szyjki macicy w Polsce. Perspektywy, szanse i rekomendacje dla polityki państwa. Raport z sesji naukowej zorganizowanej przez Szkołę Nauk Społecznych IFiS PAN i Dziennik Służba Zdrowia. Warszawa 2007.
- 91. Postępowanie w przypadku nieprawidłowego wyniku przesiewowego badania cytologicznego.** Rekomendacje Centralnego Ośrodka Koordynującego Populacyjny Program Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy, Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego, Polskiego Towarzystwa Patologów i Polskiego Towarzystwa Kolposkopii i Patofizjologii Szyjki Macicy. *Ginekol Pol* 2009, 80: 129..
- 92. Dalla Palma P, Pojer A, Girlando S.** HPV triage of women with atypical squamous cells of undetermined significance: a 3-year experience in an Italian organized programme. *Cytopathology* 2005, 16: 22.
- 93. Guido R, Schiffman M, Solomon D** et al. Postcolposcopy management strategies for women referred with low-grade squamous intraepithelial lesions or human papillomavirus DNA-positive atypical squamous cells of undetermined significance: a two-year prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 2003, 188: 1401.
- 94. Alvarez R, Wright T:** Effective cervical neoplasia detection with a novel optical detection system: a randomized trial. *Gynecol Oncol* 2007, 104: 281.
- 95. Jones A, Davey D.** Quality management in gynecologic cytology using interlaboratory comparison. *Arch Pathol Lab Med* 2000, 124: 672..
- 96. Melnikow J, Nuovo J, Willan A** et al. Natural history of cervical squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 1998, 92: 727.
- 97. Peto J, Gilham C, Deacon J** et al. Cervical HPV infection and neoplasia in a large population-based prospective study: the Manchester cohort. *Br J Cancer* 2004, 91: 942.
- 98. Sharpless K, Schnatz P, Mandavilli S** et al. Dysplasia associated with atypical glandular cells on cervical cytology. *Obstet Gynecol* 2005, 105: 494.

- 99. DeSimone C, Day M, Tovar M et al.** Rate of pathology from atypical glandular cell Pap tests classified by the Bethesda 2001 nomenclature. *Obstet Gynecol* 2006, 107: 1285.
- 100. Piskorz M, Pruski D, Przybylski M et al.** Porównanie dwóch systemów klasyfikacji wymazów cytologicznych wykorzystywanych w programie profilaktyki raka szyjki macicy w Polsce. *Przegl Gin Pol* 2005, 5: 145.
- 101. Mierzwa T, Grabiec M, Walentowicz M.** Ocena wyników badań profilaktycznych w kierunku raka szyjki macicy w Centrum Onkologii w Bydgoszczy w latach 2001-2003. *Ginek Pol* 2005, 76: 693.
- 102. Kazimierzczak M, Sipiński A, Stępień K i wsp.** Profilaktyczne badanie cytologiczne w opinii kobiet z województw śląskiego i świętokrzyskiego. *Ann Acad Med Siles* 2005, 29: 367.
- 103. Davey DD, Woodhouse S, Styer P et al.** Atypical epithelial cells and specimen adequacy: current laboratory practices of participants in the college of American pathologists interlaboratory comparison program in cervicovaginal cytology. *Arch Pathol Lab Med* 2000, 124: 203.
- 104. Davey DD, Neal MH, Wilbur DC et al.** Bethesda 2001 implementation and reporting rates: 2003 practices of participants in the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Cervicovaginal Cytology. *Arch Pathol Lab Med* 2004, 128: 1224.
- 105. Prandi S, Beccati D, De Aloysio G et al.** Applicability of the Bethesda System 2001 to a Public Health Setting. *Cancer Cytopathol* 2006, 108: 271.
- 106. Sherman ME, Dasgupta A, Schiffman M, et al.** The Bethesda Intraobserver Reproducibility Study (BIRST). *Cancer Cytopathol* 2007, 111: 15.
- 107. Chosia M, Domagała W.** West-Pomeranian program of cervical cancer prevention. Results of phase one study. *Nowotwory J Oncol* 2003, 53: 409.
- 108. Zbroch T, Knapp PG, Knapp PA.** Ocena efektów wdrożenia klasyfikacji obrazów cytologicznych wg systemu Bethesda 2001 w populacji kobiet województwa podlaskiego poddanych badaniom profilaktycznym. *Ginek Pol* 2007, 78: 685.
- 109. Badania przesiewowe w kierunku raka szyjki macicy. Zalecenia U.S. Preventive Task Force.** *Med Prakt Gin Pol* 2003, 3: 9.

8. WYKAZ SKRÓTÓW

ACIP	Advisory Committee on Immunization Practices
AFP	alpha fetoprotein
AIS	adenocarcinoma in situ
APC	antigen presenting cells
ASC	atypical squamous cells
ASC-H	atypical squamous cell cannot excluded HSIL
ASC-US	atypical squamous cell of undetermined significance
CDKI	cyclin dependent kinase inhibitors
CEA	carcinoembryonic antigen
CIN	cervical intraepithelial neoplasia
CLS	capillary-like space
CMV	Cytomegalovirus
DES	diethylstilbestrol
DLBCL	diffuse large B-cell lymphoma
EBV	Epstein-Barr virus
FDA	Food and Drug Administration
FIGO	International Federation of Gynecology and Obstetrics
hCG	human chorionic gonadotropin
HLA	Human Leucocyte Antigen
HPV	human papillomavirus
HR HPV	High Risk HPV
HSIL	high grade squamous intraepithelial lesion
HSV	Herpes simplex virus
ICC	invasive cervical cancer
LCR	long control region
LSIL	low grade squamous intraepithelial lesion
NCI	National Cancer Institute

NILM	No Intraepithelial Lesion Or Malignancy
NPV	negative predictive value
PCR	polymerase chain reaction
PPV	positive predictive value
SCC-Ag	squamous cell carcinoma antigen
SEER	Surveillance, Epidemiology, End Results
TBS	The Bethesda System
TNM	Tumor, Nodulus, Metastases Classification
TPA	Tissue polypeptide antigen
TPS	Tissue polypeptide specific antigen
USPSTF	U.S. Preventive Services Task Force
WAF1	wild type p53-activated fragment 1
WHO	World Health Organization

9. SPIS RYCIN I TABEL

SPIS RYCIN

Ryc. 1. Odsetki pacjentek w poszczególnych grupach wiekowych.....	45
Ryc. 2. Rozpoznania kliniczne u pacjentek w wieku 18-81 lat.....	46
Ryc. 3. Rozpoznania kliniczne u pacjentek w przedziale wiekowym 18-30 lat.....	47
Ryc. 4. Rozpoznania kliniczne u pacjentek w przedziale wiekowym 31-50 lat.....	47
Ryc. 5. Rozpoznania kliniczne u pacjentek w przedziale wiekowym 51-81 lat.....	48
Ryc. 6. Występowanie ciąży i stosowanie HTZ u badanych pacjentek.....	48
Ryc. 7. Wyniki testu Pap u pacjentek z przedziału wiekowego 18-81 lat.....	49
Ryc. 8. Wyniki testu Pap u pacjentek z przedziału wiekowego 18-30 lat.....	50
Ryc. 9. Wyniki testu Pap u pacjentek z przedziału wiekowego 31-50 lat.....	50
Ryc. 10. Wyniki testu Pap u pacjentek z przedziału wiekowego 51-81 lat.....	51
Ryc. 11. Ocena jakości rozmazu według Sysyemu Bethesda u pacjentek w przedziale wiekowym 18-81 lat.....	52
Ryc. 12. Ogólna ocena obrazu cytologicznego według Systemu Bethesda w grupie pacjentek w przedziale wiekowym 18-81 lat.....	54
Ryc. 13. Odsetki pacjentek zakażonych określonymi patogenami w grupie pacjentek w przedziale wiekowym 18-81 lat.....	55
Ryc. 14. Zmiany nienowotworowe wg systemu Bethesda występujące u kobiet z przedziału wiekowego 18-81 lat.....	56
Ryc. 15. Nieprawidłowości komórek nabłonkowych wg systemu Bethesda w całościowej grupie pacjentek - przedział wiekowy 18-81 lat.....	57
Ryc. 16. Nieprawidłowości komórek nabłonkowych wg systemu Bethesda w grupie pacjentek z przedziału wiekowego 18-30 lat.....	58
Ryc. 17. Nieprawidłowości komórek nabłonkowych wg systemu Bethesda w grupie pacjentek z przedziału wiekowego 31-50 lat.....	59
Ryc. 18. Nieprawidłowości komórek nabłonkowych wg systemu Bethesda w grupie pacjentek z przedziału wiekowego 51-81 lat.....	60

Ryc. 19. Macierzowy wykres rozrzutu w analizie R Spearmana obrazujący silną korelację pomiędzy PAP a kategorią K6 (K6 suma).....	71
--	----

SPIS TABEL

Tabela I. Stopnie klinicznego zaawansowania raka szyjki macicy według FIGO [wg 29].....	11
Tabela II. Klasyfikacja kliniczna TNM raka szyjki macicy [wg 30].....	12
Tabela III. Porównanie różnych klasyfikacji zmian nabłonka szyjki macicy.....	33
Tabela IV. Udział procentowy rozpoznań cytologicznych o charakterze nieprawidłowości komórek nabłonkowych (CIII wg klasyfikacji Bethesda).....	61
Tabela V. Tablice korelacji Pearsona. Korelacje pomiędzy wszystkimi danymi z bazy danych (N=1220). Współczynniki korelacji z wartością $p < 0,05$ są istotne statystycznie.....	68
Tabela VI. Tablice korelacji Pearsona. Korelacje pomiędzy wybranymi danymi z bazy danych (N=1220). Współczynniki korelacji z wartością $p < 0,05$ są istotne statystycznie.....	68
Tabela VII. Korelacja porządku rang Spearmana. Korelacje istotne statystycznie ($p < 0,05$) zaznaczono na czerwono.....	70
Tabela VIII. Korelacja porządku rang Spearmana. Korelacje istotne statystycznie ($p < 0,05$) zaznaczono na czerwono.....	70
Tabela IX. Podsumowanie analizy funkcji dyskryminacyjnej dla trzech badanych zmiennych w modelu.	72