

MOŻLIWOŚCI DIAGNOSTYCZNE I DIAGNOSTYCZNO-TERAPEUTYCZNE W PROFILAKTYCE RAKA SZYJKI MACICY

DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC POSSIBILITIES IN THE PROPHYLAXIS OF CERVICAL CANCER

Marzena Wrześniewska¹, Olga Adamczyk-Gruszka¹, Jakub Gruszka², Beata Bąk³

¹ Zakład Położnictwa Ginekologii i Pielęgniarstwa Położniczo-Ginekologicznego
Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa

Wydział Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach
Dyrektor Instytutu: prof. zw. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska

² II Wydział Lekarski Warszawski Uniwersytet Medyczny
Dziekan Wydziału: prof. dr hab. n. med. Jerzy A. Polański

³ Zakład Perinatologii i Pielęgniarstwa Ginekologiczno-Położniczego
Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa
Wydział Nauk o Zdrowiu Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach
Kierownik Zakładu: dr hab. n. med. Marek Sikorski, prof. UJK

STRESZCZENIE

Polska należy do krajów o wysokiej zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy. Głównym sposobem zmiany tej sytuacji jest prowadzenie aktywnego i nowoczesnego programu profilaktyki i diagnostyki. W dużej mierze o skuteczności programu decyduje dostępność nowoczesnych badań diagnostycznych.

W artykule omówiono konwencjonalne badanie cytologiczne i nowoczesne techniki cytologiczne LBC, uwzględniono diagnostykę HPV w postępowaniu dla ściśle wybranych rozpoznań cytologicznych, w tzw. etapie pogłębionym profilaktycznych badań skryningowych oraz rolę biomarkera p16 w przewidywaniu rozwoju wyższego stopnia patologii komórek nabłonka szyjki macicy. Kolposkopia jako metoda diagnostyczna weryfikująca nieprawidłowe wyniki badań cytologicznych i wirusologicznych.

LEEP/LLETZ nowoczesna procedura stosowana w diagnozowaniu i leczeniu zmian na szyjce macicy służy do realizacji etapu pogłębionego programów profilaktycznych raka szyjki macicy.

Słowa kluczowe: profilaktyka, rak szyjki macicy, cytologia, testy HPV, kolposkopia, LEEP/LLETZ.

SUMMARY

Poland is one of the countries with high cervical cancer morbidity and mortality. The main means to change this situation is to manage an active and modern programme of cervical cancer prophylaxis and diagnostics. To a large extent, the effectiveness of a cervical cancer prophylaxis programme is decided by the availability of modern diagnostic research.

The conventional Papanicolaou test and modern LBC cytology techniques were discussed in the article, taking into consideration HPV diagnostics in the procedures for carefully selected cytological diagnosis, in the so called in-depth stage of preventive screening tests and the role of the p16 biomarker in predicting the development of a higher degree of epithelial-cell pathologies of the cervix. Colposcopy as a diagnostic method for the verification of cytological and virological abnormalities.

The modern LEEP/LLETZ procedure used in diagnosis and treatment of cervical changes is used to realise the in-depth stage of cervical cancer prophylaxis programmes.

Key words: prophylaxis, cervical cancer, cytology, HPV tests, colposcopy, LEEP/LLETZ.

WSTĘP

Polska zajmuje jedną z czołowych pozycji jeśli chodzi o zachorowalność i umieralność na raka szyjki macicy wśród wszystkich krajów Unii Europejskiej. Na początku lat osiemdziesiątych XX wieku liczba zachorowań przekroczyła 3500, by w 2008 roku

zmniejszyć się do 3270. Liczba zgonów w 2008 roku wynosiła 1745 i zmniejszyła się o 300 zgonów w stosunku do 1980 roku [1].

Zarówno zachorowalność, jak i umieralność od trzech dekad charakteryzuje tendencja malejąca. Pomimo istotnego postępu w ograniczaniu umieralności z powodu raka szyjki macicy na świecie, w Polsce war-

tość współczynnika umieralności wynosi 5,3/100 000 kobiet w 2008 roku i znacznie odbiega od średniej dla „starej” Unii Europejskiej 1,6/100 000. Współczynnik zachorowalności na raka szyjki macicy w Polsce za rok 2008 wynosi 11,2/100 000 [1]. Wyższą zachorowalność obserwuje się na Litwie, Białorusi, Ukrainie, Rumunii, Bułgarii, Serbii, Rosji.

Miarą wyleczalności raka szyjki macicy jest odsetek pięcioletnich przeżyć kobiet chorych na raka. Polska należy do krajów o najniższym wskaźniku przeżyć, który wynosi 48,2% [2]. Sytuacja epidemiologiczna spowodowała wprowadzenie w 2007 roku w Polsce Populacyjnego Programu Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy [3, 4]. Założeniem programu był aktywny skrining, stosowany od lat w wielu krajach, który miał przynieść pożądaną efekt w postaci obniżenia liczby zachorowań i zgonów z powodu raka szyjki macicy [5]. Regularne wizyty u ginekologa i pozyskiwane informacje o konieczności wykonywania badań cytologicznych są ważnym elementem szeroko rozwiniętej profilaktyki [5]. Największą przeszkodą w Polsce na tej drodze jest niska zgłaszalność kobiet na badanie cytologiczne spowodowana niedoinformowaniem i niską świadomością społeczną.

Aktualne zalecenia Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego (PTG) wskazują na potrzebę wykonywania corocznej kontroli cytologicznej u kobiet po 25 roku życia. W momencie wczesnego podjęcia współżycia płciowego należy wykonać badanie cytologiczne nie później niż trzy lata po inicjacji seksualnej. Jeśli wyniki wymazów cytologicznych są prawidłowe i nie ma czynników ryzyka zachorowania na raka szyjki macicy, to badanie przesiewowe może być prowadzone co trzy lata [6]. Eksperti PTG zalecają objęcie skryningiem cytologicznym populację kobiet w wieku 25–59 lat [6]. Badanie cytologiczne nie zapobiega zakażeniu wirusem brodawczaka ludzkiego HPV (Human papillomavirus), który wywołuje raka szyjki macicy. Pomaga jedynie w identyfikacji wczesnych oznak choroby mogących sugerować zakażenie (obecność koilocytów w rozmazie). Czasem są to zmiany spowodowane przez wirusy o małym potencjale onkogennym, co nie ma znaczenia klinicznego w rozwoju raka szyjki macicy. Istotne znaczenie ma jednak czas trwania zakażenia. Jeżeli trwa krótko, to wynik badania cytologicznego najczęściej jest prawidłowy, natomiast jeżeli trwa dłużej, będąc jednocześnie procesem przewlekłym, test cytologiczny może wskazywać na istnienie infekcji HPV poprzez wskazanie komórek dysplastycznych. Wynik taki pozwala na zastosowanie dalszej diagnostyki i wdrożenie odpowiedniej terapii [7].

Jednym z osiągnięć onkologii ginekologicznej XX wieku była klasyfikacja wymazów cytologicznych

stworzona w 1954 roku przez Papanicolau. System ten stał się podstawowym narzędziem diagnostycznym stosowanym na szeroką skalę w programach badań przesiewowych realizowanych w ramach profilaktyki raka szyjki macicy. Jego wprowadzenie spowodowało obniżenie zachorowalności i umieralności na ten nowotwór. Mimo niewątpliwych korzyści systemu obecnie uważa się go za niedoskonały, ponieważ nie uwzględnia aktualnej wiedzy na temat karcinogenezy. W swojej klasyfikacji nie bierze pod uwagę znaczenia infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV), zmian morfologicznych związanych z tym zakażeniem, zmian dotyczących nabłonka gruczołowego i subtelnych zmian dotyczących nabłonka płaskiego i gruczołowego, których nie można zakwalifikować do grupy III. Włączenie ich do grupy II jest niebezpieczne, gdyż w pewnym odsetku przypadków zmiany te ulegają progresji do raka inwazyjnego [8]. Należy zauważyć, że ten system klasyfikacji jest nadal stosowany w niektórych krajach, tj. w Austrii i Niemczech.

Na świecie klasyfikacja Papanicolau uważana jest za niewystarczającą w przekazywaniu istotnych informacji z klinicznego punktu widzenia pomiędzy cytologiem a ginekologiem. Dzieje się tak dlatego, że nie odzwierciedla ona współczesnych poglądów na nowotwory szyjki macicy i na nienowotworowe zmiany tego narządu [8]. W Polsce zalecanym i rekomendowanym przez PTG systemem klasyfikacji wymazów cytologicznych jest system Bethesda 2001 (TBS), który został opracowany po raz pierwszy w 1988 roku, a następnie zmodyfikowany w 1991 i 2001 roku [6]. Modyfikacja systemu miała na celu zawężenie grupy najwyższego ryzyka progresji i jest odzwierciedleniem zmian, jakie zachodzą we współczesnym rozumieniu profilaktyki raka szyjki macicy. Ważne jest nie tylko wykrycie i rozpoznanie śród nabłonkowej neoplazji, lecz także możliwość prognozowania (predykcji) wystąpienia zmian tego typu na etapie wczesnych zmian morfologii komórki lub zaburzeń molekularnych [8]. Główne punkty klasyfikacji w wersji z 2001 roku obejmują [9]:

- jakość preparatu – preparat cytologiczny jest klasyfikowany jako „odpowiedni” lub „nieodpowiedni” do oceny. Ocenia się tu obecność lub brak komórek endocerykalnych bądź pochodzących ze sfery przejściowej, a także inne zmiany, które mogą wpływać na jakość ocenianego materiału (zmiany zapalne, komórki krwi) i utrudniają interpretację obrazu;
- „brak podejrzenia neoplazji śród nabłonkowej oraz raka” – rozpoznanie to dotyczy prawidłowego wyniku cytologicznego (brak wykładników procesu nowotworowego). W tej grupie mogą być zamieszczane inne zmiany nienowotworowe np. odczyn związany z zapaleniem;

- „obecność atypowych komórek nabłonka płaskiego” – ASC (atypical squamous cell). Ten typ zmian dzieli się na dwie podkategorie: „ASC-US (atypical squamous cell of undetermined significance)” – atypowe komórki nabłonka płaskiego o nieokreślonym znaczeniu, oraz „ASC-H (atypical squamous cell cannot be excluded)” – w których przypadku nie można wykluczyć obecności zmian HSIL (high grade squamous intraepithelial lesion). Rozpoznanie ASC-H ustala się w przypadku obecności zmian cytologicznych budzących podejrzenie HSIL niespełniających wszystkich kryteriów tej nieprawidłowości. Dane naukowe wskazują, że ASC-H charakteryzują się większą wartością prognostyczną zdiagnozowania śród nabłonkowej neoplazji szyjki macicy średniego stopnia (CIN 2) lub dużego stopnia (CIN 3) w porównaniu z ASC-US [10]. CIN jest to śród nabłonkowa neoplazja szyjki macicy. Określenie to zawiera w sobie dotychczasowe pojęcia dysplazji oraz *ca in situ* i uwzględnia ewolucyjność rozwoju śród nabłonkowej neoplazji szyjki macicy i raka. W zależności od stopnia zaawansowania dzieli się na trzy stopnie [7];
 - „obecność atypowych komórek gruczołowych” – AGC. Rozpoznanie to wiąże się z większym prawdopodobieństwem zmian w nabłonku gruczołowym. System Bethesda 2001 zawiera kilka kategorii zależnych od typu komórek gruczołowych: atypowe komórki endocerykwalne, atypowe komórki endometrium lub AGC niesklasyfikowane. Określenie AGC kryje wiele rozpoznań patomorfologicznych obejmujących łagodne, przednowotworowe oraz złośliwe zmiany zarówno nabłonka gruczołowego, jak i płaskiego [11];
 - „zmiany śród nabłonkowe małego stopnia w nabłonku płaskim” – LSIL (low grade squamous intraepithelial lesion). Grupa ta łączy cechy cytologiczne zmiany typu CIN 1 (lekka dysplazja) i właściwości odpowiadające zakażeniu HPV;
 - „zmiany śród nabłonkowe dużego stopnia” w nabłonku płaskim – HSIL. Grupa ta łączy cechy cytologiczne zmian typu CIN 2 i CIN 3 (umiarkowana i ciężka dysplazja, rak *in situ*);
 - „rak płaskonabłonkowy” lub „rak gruczołowy”;
 - brak w preparacie komórek z kanału szyjki macicy lub sfery przejściowej może świadczyć o niepobraniu materiału z tej okolicy [10].
- Wprowadzenie systemu Bethesda miało trzy cele:
- 1) zawarcie w ocenie cytologicznej jakości technicznej pobranego rozmazu;
 - 2) wprowadzenie kategorii ASC-US z późniejszym rozdzieleniem jej na ASC-US i ASC-H, co ma wpływ na poprawę czułości testu;
 - 3) wprowadzenie podziału zmian płaskonabłonkowych na zmiany niskiego (LSIL) i wysokiego (HSIL)

stopnia, z którym koresponduje histologiczna klasyfikacja neoplazji śród nabłonkowej (CIN).

W ostatnich latach wzrasta rola nowych technik cytologicznych, które mogą być zastosowane w populacyjnych badaniach przesiewowych raka szyjki macicy. Zalicza się do nich cytologię cienkowarstwową zwaną także cytologią płynną (liquid-based cytology, LBC), która stanowi modyfikację tradycyjnej metody badania cytologicznego. Złuszczone komórki nabłonkowe uzyskane z tarczy i kanału szyjki macicy przenosi się do próbki z płynem utrwalającym (płynne medium transportowe). Podczas obróbki laboratoryjnej pobrany materiał jest filtrowany i w automatyczny sposób rozprowadzany na powierzchni szkiełka mikroskopowego, a następnie barwiony. Technika ta pozwala na przefiltrowanie i oddzielenie z zawiesiny większości zanieczyszczeń (krew, komórki zapalne), zmniejszając błąd pobrania materiału i odczytu [10]. Oceniając efektywność LBC, należy zwrócić uwagę na następujące zalety nowej metody:

- zmniejszenie odsetka preparatów nienadających się do oceny,
- krótszy czas przygotowania i analizy pojedynczego preparatu,
- możliwość wykorzystania pozostałości komórkowych do oceny DNA HPV, zakażenia dwoinką rzeźączki lub chlamydia,
- poddanie ocenie rozmazów LBC w systemie cyfrowej analizy obrazu,
- wyższa swoistość rozpoznań patologii komórek nabłonka gruczołowego (potwierdzone w jednych badaniach, a zanegowane w innych).

Doniesienia naukowe wskazują na wyższą czułość LBC, co powoduje obniżenie swoistości testu i generuje dalsze koszty związane z opracowaniem wyników fałszywie pozytywnych [10].

W USA większość badań cytologicznych szyjki macicy wykonuje się metodą cienkowarstwową. Przeprowadzone w 2003 roku badanie wykazało, że prawie 90% ginekologów pobiera materiał w ten właśnie sposób [12]. Wytyczne ASC (American Cancer Society) z 2002 roku rekomendują wykonywanie cytologii płynnej w grupie kobiet poniżej 30 roku życia w odstępach dwuletnich lub cytologii konwencjonalnej corocznie. W populacji kobiet trzydziestoletnich i starszych, u których trzy kolejne wyniki badania cytologicznego były ujemne, badania te mogą być przeprowadzone raz na trzy lata [13].

Eksperti PTG zalecają w skryningu obie metody cytologii jako obowiązujące. Ważne jest, aby rozmaz z szyjki macicy pobrany został za pomocą szczoteczki typu cyto-brush, która umożliwia pobranie komórek ze sfery przekształceń międz nabłonkowych [6].

Polskie Towarzystwo Ginekologiczne rekomenduje, aby w diagnostyce raka szyjki macicy wyko-

rzystywać badanie cytologiczne i test DNA HPV jako dwa uzupełniające się elementy wieloetapowego programu profilaktyki raka szyjki macicy [6].

Zakażenie onkogennymi typami HPV jest głównym czynnikiem etiologicznym w rozwoju raka szyjki macicy. Istnieją dane epidemiologiczne i molekularne świadczące o przyczynowym związku pomiędzy przetrwałym zakażeniem HPV a rakiem szyjki macicy. Rozległe badania prowadzone przez IARC (International Agency For Research on Cancer) wykazały, że do wirusów związanych z karcinogenezą u kobiet można zliczyć wirusa HPV 16 i HPV 18. W obrębie szyjki macicy raki płaskonabłonkowe wiążą się częściej z zakażeniem HPV 16, natomiast raki gruczołowe z HPV 18 [10]. Badania naukowe potwierdzają, że przewlekłe zakażenie HPV poprzedza rozwój zmian w obrębie szyjki macicy [10].

Największa liczba zakażeń wirusem HPV występuje u młodych kobiet (do 30 roku życia). W 80% zakażenia te ustępują samoistnie, a u co piątej kobiety przechodzą w zakażenie przetrwałe. U kobiet starszych po 50 roku życia stwierdzenie zakażenia HPV wskazuje na przetrwałą infekcję i stanowi o wysokim ryzyku zmian przednowotworowych i nowotworowych szyjki macicy [14].

W ostatnich latach wiedza o biologii wirusa HPV, jego molekularnym mechanizmie prowadzącym do rozwoju neoplazji śródnabłonkowej została praktycznie wykorzystana. Diagnostyka molekularna HPV znalazła swoje miejsce w algorytmie postępowania dotyczącym wykrywania, a następnie rozpoznawania neoplazji śródnabłonkowej u kobiet z nieprawidłowym wynikiem wymazu cytologicznego [15].

Diagnostyka wirusologiczna została ujęta w etap pogłębionego programu profilaktycznych badań skriningowych. Zostaje on wdrożony w momencie, gdy kobieta otrzymuje wynik badania z rozpoznaniem ASC-US. Wiarygodność takiego badania jest wątpliwa do czasu uzyskania pozytywnego wyniku na obecność DNA HPV [16].

U pacjentek z rozpoznaniem ASC-US dalsze rozpoznania mogą się różnić. U większości z nich patologia kliniczna nie będzie obecna, a u niektórych mogą istnieć nawet znacznego stopnia zmiany śród-płaskonabłonkowe wykrywane zazwyczaj w toku dalszych badań. Takie kobiety kieruje się na badanie kolposkopowe wraz z biopsją, które pełnią w tym układzie funkcję weryfikującą. W innej sytuacji zaleca się powtórne badanie cytologiczne po upływie 6 i 12 miesięcy. Ze względu na koszty dalszych badań i lęk pacjentek zasadne jest wykonanie badania selekcyjnego u kobiet z ASC-US przed ewentualnym skierowaniem ich na badanie kolposkopowe [17].

Badania kliniczne wykazały, że w przypadku ASC-US segregacja za pomocą testu DNA HPV jest

bardziej czuła i równie swoista jak ponowna ocena cytologiczna [17].

Na podstawie przeprowadzonych badań naukowych o przydatności testów DNA HPV w porównaniu z powtórными badaniami cytologicznymi w selekcji pacjentek z ASC-US przed badaniem kolposkopowym stwierdzono, że trzy seryjne badania cytologiczne wykonywane co sześć miesięcy u pacjentek z ASC-US mają taką samą czułość do wykrycia CIN 2, jak i pojedyncze badanie testem DNA HPV (HC II) wykonane bezpośrednio po pierwotnym wyniku ASC-US [16]. Kobiety, u których test na HPV wysokiego ryzyka jest negatywny, są wykluczane z dalszych badań, a kobiety z wynikiem pozytywnym są kierowane bezpośrednio na kolposkopię lub w razie konieczności na biopsję. Alternatywą dla testu HPV jest badanie cytologiczne co sześć miesięcy przez dwa lata lub bezpośrednia kolposkopia.

Wszystkie trzy metody mają taką samą wartość w prowadzeniu pacjentek, natomiast test HPV przeprowadzany przy użyciu Hybryd Capture II jest zalecany w przypadku, gdy zastosowano płynną cytologię [10].

Zastosowanie testów molekularnych w pierwotnym skriningu jako jedynej metody lub w połączeniu z badaniem cytologicznym dałoby możliwość zwiększenia odstępów czasowych między poszczególnymi badaniami kontrolnymi u kobiet z prawidłowym wynikiem wymazu cytologicznego i ujemnym wynikiem testu na obecność onkogennych typów HPV w wymazie pobranym z szyjki macicy. W takiej sytuacji przy prawidłowym wyniku cytologicznym, ujemnym teście na obecność DNA HPV proponuje się, aby kontrole cytologiczne wykonywać raz na trzy lata u regularnie badanych pacjentek [6, 10].

Wyniki badań wskazują, że diagnostyka molekularna HPV może być wykonywana jako test wstępny, którego wynik będzie stanowił podstawę kwalifikacji do pobrania wymazu cytologicznego. W takim układzie wysoka czułość testu DNA HPV pozwoli wyodrębnić spośród badanych kobiet znacznie większą grupę z wynikiem pozytywnym. Będą tu zarówno przypadki ze zmianami nabłonkowymi, jak i te, w których zakażeniu HPV nie towarzyszy patologia morfologiczna (wyniki prawdziwie pozytywne i fałszywie pozytywne). Dopiero badanie cytologiczne jako badanie uzupełniające w przypadkach DNA HPV+ pozwoli wyeliminować z dalszej diagnostyki względnie dużą liczbę przypadków z wynikiem fałszywie pozytywnym [9].

Jednym z testów na obecność DNA HPV jest test HC II (Hybryde Capture II) używany do wykrywania 13 typów HPV wysokiego ryzyka (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68). Materiał z szyjki macicy do badania HC II może być pobierany:

- po typowym pobraniu materiału do konwencjonalnego badania cytologicznego z użyciem kolejnej specjalnej stożkowej szczoteczki, która po pobraniu materiału z kanału szyjki macicy jest umieszczona w medium transportowym;
- w czasie cytologii metodą LBC [10].

Obecność wysoce onkogennych typów DNA HPV można wykryć za pomocą testów immunoenzymatycznych opartych na reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR). Pozwalają one na wykrycie wymienionych typów HPV oraz dodatkowo typu 66 [17].

Badania, w których porównywano czułość i swoistość testu HC II, PCR oraz cytologii w wykrywaniu CIN 2, wykazały, że HC II jest najczulszy, lecz najmniej swoisty. W wykrywaniu LSIL (jako zmiany granicznej) najmniej czułe, ale najbardziej swoiste okazało się badanie cytologiczne [17].

Testem pozwalającym na różnicowanie zakażenia HPV zarówno przygodnego, jak i przewlekłego jest test mRNA. Umożliwia on wykrycie mRNA białka E6 wirusa z typu 16 i/lub mRNA białka E7 z typu 18, 31, 33, 45 wirusa, wskazując, czy zakażenie ma charakter przetrwały i czy rozpoczął się już proces karcinogenezy. Znane są dwa testy HPV mRNA: Pre Test HPV Proofer i APTIMA. Pierwszy z nich jest testem jakościowym na podstawie amplifikacji RNA NASBA (pełnej długości transkryptu E6/E7) przed wykryciem amplifikowanych RNA z Molecular Beacon odpowiadających typom HPV 16, 18, 31, 33 i 45 HPV Proofer. Drugi test jest również testem jakościowym i opiera się na wykonywaniu 14 typów HR [10].

Testy HPV służą do wykrywania obecności DNA lub mRNA wysokoonkogennych wirusów brodawczaka ludzkiego. Testy nie wykrywają zmian CIN i raka. Ich rola polega na weryfikacji nieprawidłowych wyników badania cytologicznego, a przez to określeniu ryzyka rozwoju zmian przednowotworowych i raka szyjki macicy. Ujemny wynik testu DNA HR HPV oceniający znane wysokoonkogenne typy wirusa brodawczaka wyklucza obecność CIN 3 oraz raka szyjki macicy i wskazuje, że u badanej kobiety rak szyjki macicy nie rozwinie się w ciągu sześciu lat. Ujemny wynik testu nie wyklucza jednak CIN 1 i CIN 2, ponieważ zmiany te mogą być spowodowane wirusami o małym potencjale onkogennym. Jednokrotny dodatni wynik testu świadczy o obecności DNA wirusów w pobranej próbce, ale nie pozwala na ocenę czasu trwania zakażenia [15].

Do wykrywania neoplazji śródnabłonkowej zalecane jest zestawienie ze sobą dwóch metod, tj. badania cytologicznego i molekularnego (DNA/mRNA), co pozwala osiągnąć blisko 100% pewności, że w najbliższych latach rozwój nowotworu jest u takiej pacjentki mało prawdopodobny [16].

W ostatnich latach prowadzone są próby identyfikacji nowych biomarkerów o znaczeniu prognostycznym, których oznaczenie byłoby przydatne do wczesnego przewidywania progresji komórek nabłonka wielowarstwowego płaskiego szyjki macicy u kobiet zakażonych onkogennymi typami HPV [16]. Takie postępowanie mogłoby stać się elementem algorytmu diagnostycznego u kobiet ze stwierdzonym HPV. Bardzo obiecujące są doniesienia o roli biomarkera p16, którego nadekspresję stwierdza się w CIN dużego stopnia. Biomarkerowi p16 towarzyszy zwiększona ekspresja onkogenów mRNA E6/E7. Głównymi działaniami onkogenów HPV są degradacja p53, a tym samym przez E6 zahamowanie apoptozy i uwalnianie z pRb E2F, prowadzące do aktywacji ciągłego cyklu komórkowego. W fizjologicznej aktywacji E2F pośredniczy fosforylacja białka Rb. Szlak ten jest regulowany przez zbiór zależnych od cytokin inhibitorów kinaz, wśród nich p16, które blokują enzym fosforylujący PRB. W komórkach zainfekowanych wirusem HPV regulacja Rb-E2F jest zakłócana przez E7 i aktywacja p16 nie ma dalszego wpływu. Barwienie umożliwiające wykrycie p16 stosuje się w ramach badań histologicznych w celu polepszenia diagnostyki CIN 3. Doniesienia naukowe wskazują na większe możliwości badania cytologicznego barwieniem pozwalającym na wykrycie p16 w ramach algorytmu diagnostycznego u pacjentek, u których stwierdzono ASC-US HPV pozytywnych niż samego badania cytologicznego z barwieniem metodą Papanicolaou. Przypuszcza się, że zwiększona obecność p16 w komórkach nabłonka wielowarstwowego płaskiego związana jest z zakażeniem HPV typem onkogennym [16, 18]. W celu wykrycia CIN dużego stopnia wykonuje się badania na obecność RNA onkogenów wirusowych, markery MCM2/Topo2a, 3q oraz panele metylacji genów, o których jest niewiele doniesień [18].

Celem dalszej diagnostyki etapu pogłębionego jest potwierdzenie lub wykluczenie śródnabłonkowej neoplazji (CIN) lub raka. Zastosowanie odpowiednich metod diagnostyki etapu pogłębionego umożliwia wczesne uzyskanie ostatecznego rozpoznania histologicznego i szybkie wdrożenie postępowania terapeutycznego, a także weryfikację fałszywie dodatnich wyników cytologicznych. Wykorzystuje się następujące metody w celu weryfikacji nieprawidłowych wyników cytologicznych:

- powtórne badanie cytologiczne;
- test HPV (test DNA HR HPV, test mRNA HR HPV);
- badanie kolposkopowe z wykonaniem biopsji;
- diagnostyczno terapeutyczne wycięcie zmiany na szyjce macicy z oceną histologiczną pobranego materiału [15].

Według wytycznych ASCCP (American Society for Colposcopy and Cervical Pathology) z 2006 oraz PTG z 2009 roku wykonanie badania kolposkopowego zaleca się w przypadku dodatniego wyniku testu w kierunku DNA HPV albo wykrycia w powtórnym badaniu cytologicznym ASC-US lub zmian bardziej zaawansowanych [18, 19].

Kolposkopia jest badaniem, które pozwala na ocenę nabłonka szyjki macicy, pochwy i sromu za pomocą urządzenia zwanego kolposkopem [6, 20].

Kolposkopia składa się z kilku etapów:

- 1) oceny szyjki macicy bezpośrednio po założeniu wziernika (oceny koloru, przejrzystości wydzieliny – pozwala wnioskować o biologii pochwy);
- 2) oceny nabłonka pokrywającego część pochwową szyjki macicy oraz podnabłonkowego łożyska naczyniowego. Uwidocznienie całej sfery przekształceń klasyfikuje obraz kolposkopowy jako satysfakcjonujący. Brak widoczności sfery przekształceń pomiędzy nabłonkami klasyfikuje obraz kolposkopowy jako niesatysfakcjonujący i wymaga dalszej diagnostyki;
- 3) ocena powierzchni nabłonka po przemyciu powierzchni części pochwowej 3% roztworem kwasu octowego („próba octowa”). Nabłonek patologiczny po próbie z kwasem octowym traci przejrzystość (ulega zbieleniu). Zjawisko to jest dobrze widoczne, gdy na szyjce macicy istnieją zmiany o charakterze CIN i raka szyjki macicy;
- 4) wykonania próby Schillera – przemycia ocenianej powierzchni szyjki macicy płynem Lugola (roztwór jodowy). Prawidłowy nabłonek płaski, który jest bogaty w glikogen wybarwia się na ciemnobrązowo (próba ujemna). Tkanki nowotworowe są pozbawione glikogenu, wskutek czego nabłonek jest w tych obszarach jodonegatywny, ma kolor jasnożółty lub niewybarwiony (próba dodatnia) [20].

Kolposkopia jest metodą weryfikującą nieprawidłowe wyniki badań cytologicznych i wirusologicznych (HPV). Badanie to pozwala na wykrycie zmian o charakterze CIN i raka szyjki macicy niewidocznych jeszcze makroskopowo, potrafi zlokalizować te zmiany i ich stosunek do szyjki macicy, umożliwia precyzyjną diagnostykę zmian neoplastycznych na szyjce macicy, a także pozwala na zaplanowanie leczenia, co przyczynia się do poprawy skuteczności profilaktyki raka szyjki macicy [20].

Rozpoznanie kolposkopowe formowane jest na podstawie obowiązującego międzynarodowego mianownictwa wg klasyfikacji International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy z 2003 roku. Klasyfikacja ta opisuje cechy obrazów kolposkopowych, które mogą sugerować zmiany CIN o niskim lub wysokim stopniu zaawansowania oraz charak-

teryzuje obrazy w zakażeniu HPV [20]. Jeśli wynik badania kolposkopowego jest nieprawidłowy, to konieczna jest histologiczna weryfikacja zmian na szyjce macicy. Wykonuje się biopsję celowaną pod kontrolą kolposkopu po próbie octowej lub teście Schillera. Wycinki pobiera się z miejsc o największym nasileniu zmiany. Rozpoznanie CIN jest możliwe wyłącznie na podstawie oceny materiału tkankowego przeprowadzonej przez histopatologa [21]. Nie można rozpocząć leczenia tylko na podstawie wyniku badania cytologicznego [22].

Na podstawie rekomendacji PTG z 2009 roku CIN (cervical intraepithelial neoplasia – śródnabłonkowa neoplazja szyjki macicy) można podzielić w zależności od stopnia zaawansowania na CIN 1 – zmiany małego stopnia, CIN 2 – zmiany średniego stopnia, CIN 3 – zmiany dużego stopnia [22].

Według opinii różnych autorów wycinek celowany nie zawsze pozwala na ustalenie ostatecznego rozpoznania, dlatego też coraz większą popularność zyskuje pobieranie materiału do oceny histologicznej z szyjki macicy za pomocą procedury LEEP/LLETZ [21].

Zabieg LEEP został wprowadzony do praktyki klinicznej w 1989 roku w Wielkiej Brytanii i nazwany zabiegiem szerokiego wycięcia zmiany pętłą elektryczną LEEP (large electrosurgical excision procedure). W Stanach Zjednoczonych nazwano go LLETZ (large loop excision of the transformation zone), co oznacza zabieg szerokiego wycięcia sfery przekształceń nabłonkowych pętłą elektryczną. Obydwie te nazwy są używane w literaturze wymiennie i dotyczą tej samej procedury [23].

Zabieg LEEP/LLETZ polega na elektrochirurgicznej resekcji całej uwidocznionej zmiany w obrębie szyjki macicy przy użyciu pętli diatermicznej wykorzystującej prąd o wysokiej częstotliwości. Jest to procedura diagnostyczno-terapeutyczna związana z następowym badaniem histopatologicznym wyciętej tkanki oraz uszkodzeniem podścieliska i powstaniem blizny [24]. Należy podkreślić, że LEEP/LLETZ wykonuje się pod kontrolą kolposkopu po uwidocznieniu (próba octowa) podejrzanej zmiany w obrębie strefy nietypowej regeneracji lub poza tą strefą [24].

Wskazaniami do tego zabiegu są:

- wynik badania cytologicznego wskazujący na stan przedrakowy;
- zmiana wykryta w kolposkopii budząca podejrzenie stanu przedrakowego;
- śródnabłonkowa neoplazja szyjki macicy [24].

Procedura LEEP/LLETZ znalazła swoje miejsce w algorytmach diagnostyczno-terapeutycznych dotyczących szyjki macicy. Zgodnie z wytycznymi Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego, Polskiego

Towarzystwa Patologów i Centralnego Ośrodka Koordynującego Populacyjny Program Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy z 17 września 2009 roku zaleca się stosowanie LEEP/LLETZ w przypadku:

- CIN 1 poprzedzonego stwierdzeniem w badaniu cytologicznym ASC-US lub LSIL utrzymującego się ponad 24 miesiące u kobiety, u której uzyskuje się niesatysfakcjonujący obraz kolposkopowy;
- CIN 1 poprzedzonego stwierdzeniem w badaniu cytologicznym HSIL lub AGC u kobiety, u której uzyskuje się niesatysfakcjonujący obraz kolposkopowy;
- CIN 1 poprzedzonego w badaniu cytologicznym HSIL lub AGC utrzymującego się ponad 24 miesiące u kobiety, u której uzyskuje się satysfakcjonujący obraz kolposkopowy;
- CIN 2/CIN 3, z wyjątkiem nastolatek i ciężarnych [22].

Nie należy przeprowadzać LEEP/LLETZ w następujących przypadkach:

- podejrzenia procesu inwazyjnego (cytologia, kolposkopia, wycinek celowany);
- stwierdzenia w kanale szyjki macicy CIN dużego stopnia (CIN 3);
- podejrzenia na podstawie cytologii i obrazów kolposkopowych HSIL u młodocianych i nieródek planujących ciążę;
- stwierdzenia CIN 2/CIN 3 u młodocianych i nieródek planujących ciążę;
- zaburzenia biocenozy pochwy;
- ciąży, porodu (można wykonać 3–4 miesiące po porodzie);
- schorzenia przebiegającego z zaburzeniami krzepnięcia (przeciwwskazanie względne);
- nieleczonej choroby nadciśnieniowej;
- stanu po leczeniu destrukcyjnym zmian o charakterze GIN (glandular intraepithelial neoplasia) [23]. LEEP/LLETZ można wykonać w warunkach ambulatoryjnych. Jest procedurą trwającą wraz z kolposkopią jedynie kilka minut, przeprowadzaną w zabiegowych gabinetach ginekologicznych. Zabieg nie wymaga znieczulenia ogólnego, chociaż może być ono konieczne w wybranych przypadkach. Najlepsze efekty przynosi podanie doustnych leków przeciwbólowych i rozkurczowych przed zabiegiem.

PODSUMOWANIE

Na podstawie przedstawionych danych w przyszłości wykrywanie raka szyjki macicy może być o wiele skuteczniejsze ze względu na wykorzystanie

nowoczesnych metod diagnostycznych. Nowoczesna diagnostyka pozwoli na wykrywanie wczesnych zmian przedrakowych, które łatwo poddają się leczeniu. Najważniejszym elementem w osiągnięciu sukcesu jest wczesne zgłaszanie się kobiet na badanie cytologiczne i ich udział w Programach Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Wojciechowska U, Didkowska J, Zatoński W. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2008 roku. Krajowy Rejestr Nowotworów. Warszawa 2010; 36–37.
- [2] Michalska M. Epidemiologia raka szyjki macicy. W: Rak szyjki macicy. Profilaktyka, diagnostyka i leczenie. Red. M Spaczyński, W Kędzia, E Nowak-Markwitz. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2009; 1–13.
- [3] Chil A. Sprawozdanie z Konferencji EUNICE 2006 dotyczącej prowadzenia rejestracji wyników skryningu raka szyjki macicy. Nowotwory 2006; (2)56: 216–217.
- [4] Spaczyński M, Michalska M, Januszek-Michalecka L. Centralny Ośrodek Koordynujący. Raport z realizacji Populacyjnego Programu Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy za okres 1.01.2008 do 31.12.2008. *Gin Pol* 2009; 80: 220–226.
- [5] Spaczyński M, Nowak-Markwitz E, Januszek-Michalecka L i wsp. Profil socjalny kobiet a ich udział w Programie Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy w Polsce. *Gin Pol* 2009; 80: 833–838.
- [6] Polskie Towarzystwo Ginekologiczne: Rekomendacje PTG dotyczące diagnostyki, profilaktyki i wczesnego wykrywania raka szyjki macicy. *Gin Pol* 2006; 77: 655–659.
- [7] Spaczyński M, Kędzia W, Nowak-Markwitz E. Rak szyjki macicy. Profilaktyka, diagnostyka i leczenie. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2009; 187–192.
- [8] Majewski S, Sikorski M. Szczepienie przeciw HPV jako pierwotna profilaktyka raka szyjki macicy oraz innych zmian związanych z zakażeniami HPV. *Przew Lek* 2008; 1: 228–233.
- [9] Przesiewowe badania cytologiczne w kierunku raka szyjki macicy. Wytyczne postępowania klinicznego The American College of Obstetricians and Gynecologists nr 109, grudzień 2009. *Medycyna Praktyczna Ginekologia i Położnictwo* 2010; 2: 12–13.
- [10] Sikorski M. Zakażenia HPV – współczesne poglądy i praktyka. Termedia, Poznań 2008.
- [11] Stanowisko zespołu ekspertów Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego na temat profilaktyki

raka gruczołowego szyjki macicy. *Gin Pol* 2008; 79: 710–714.

[12] Łoś J. Skryning cytologiczny raka szyjki macicy. *Gin Prakt* 2006; 88(1): 10–14.

[13] Wytyczne postępowania klinicznego ACOG 2009 r. *Medycyna Praktyczna – Ginekologia i położnictwo* 2010; 2: 11–12.

[14] Bieber EJ, Sanfilippo JS, Horowitz IR. *Ginekologia kliniczna*. Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2006; 127–164.

[15] 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. Warszawa 2008.

[16] Kędzia W, Spaczyński M. Nowe metody wykrywania śródnowłkowej neoplazji szyjki macicy. W: *Profilaktyka pierwotna i wtórna raka szyjki macicy, diagnostyka i leczenie*. Książka dla lekarzy, położnych i studentów. Red. M Spaczyński, W Kędzia, E Nowak-Markwitz. Poznań: PTG-WTGO, 2008; 46–52.

[17] Lynge E, Antilla A, Arbyn M et al. Wath's next? Perspectives and future of cervical screening in Europe in the era of molecular testing and vaccination. *European Journal of Cancer* 2009; 45: 2714–2721.

[18] Schiffman M, Wentzensen N. From human papillomavirus to Cervical Cancer. *Obstetrics & Gynecology* 2010; 116(1): 177–185.

[19] Wright TC Jr, Massad S, Dunton CJ et al. 2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197: 340–345.

[20] Basta A, Jach R. Kolposkopia w diagnostyce neoplazji śródnowłkowej (CIN) i raka szyjki macicy. W: *Rak szyjki macicy profilaktyka, diagnostyka i leczenie*. Red. M Spaczyński, W Kędzia, E Nowak-Markwitz. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2009; 107–126.

[21] Rokita W. Obrazy kolposkopowe w zakażeniu wirusem brodawczaka ludzkiego. W: *Rak szyjki macicy. Profilaktyka, diagnostyka i leczenie*. Red. M Spaczyński, W Kędzia, E Nowak-Markwitz. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2009; 127–152.

[22] Postępowanie w przypadku stwierdzenia śródnowłkowej neoplazji i raka gruczołowego in situ szyjki macicy. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego, Polskiego Towarzystwa Patologów i Centralnego Ośrodka Koordynującego Populacyjny Program Profilaktyki i Wczesnego Wykrywania Raka Szyjki Macicy. Lublin 2009.

[23] Rokita W, Stanisławska M, Spaczyński M i wsp. Elektrochirurgia zmian szyjki macicy i jej miejsce w profilaktyce raka szyjki macicy. *Gin Pol* 2009; 80: 856–860.

[24] Florczak K, Sikorski M. *Vademecum kolposkopii*. Subkliniczne wytwórcze zakażenia szyjki macicy ludzkim wirusem brodawczaka – część III. *Med Prakt Gin i Poł* 2010; 1: 82–86.

Adres do korespondencji:

Marzena Wrzeźniewska
25-640 Kielce, ul. Tektoniczna 10/28
e-mail: marzena64-46@02.pl
tel. 662 047 484