МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ

КАТЕДРА ПО АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

СБАЛАГ „МАЙЧИН ДОМ“

д-р Диляна Валентинова Герова

ПРОУЧВАНЕ ДИАГНОСТИЧНАТА СТОЙНОСТ НА НОВИ СЪВРЕМЕННИ МЕТОДИ ЗА ОТКРИВАНЕ НА ПРЕДРАКОВИТЕ ИЗМЕНЕНИЯ НА МАТОЧНАТА ШИЙКА

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА ОБРАЗОВАТЕЛНА И НАУЧНА СТЕПЕН „ДОКТОР“

Научен ръководител: проф. д-р Виктор Златков, дм

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

I. ВЪВЕДЕНИЕ

II. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

II.1 Предрак и рак на маточната шийка

II.1.1. Епидемиология

II.1.2. Морфологични основи и онкологична значимост на епителните промени на маточната шийка

II.1.3. Профилактика на предрака и РМШ и състояние на проблема в България

II.2. Диагностични методи за изследване на маточната шийка

II.2.1. ***Цитологично изследване.***

II.2.1.1. Същност и развитие на методиката:

- Pap тест
- Автоматизиран цитоанализ
- Техника на еднослойните намазки *(Liquid Based Cytology, LBC)*

II.2.1.2. Място, възможности и граници на цитологичния метод

II.2.2. ***Образни методи на диагностика***

II.2.2.1. Същност и видове

- Визуална инспекция *с оцетна киселина (VIA)*
- Визуална инспекция след приложение на Лугол *(VILI)*
- Колпоскопия
- Дигитална цервикография

II.2.2.2. Място, възможности и граници на образните методи на диагностика

II.2.3. ***Други съвременн методи на диагностика***

II.2.3.1. Същност и видове

- Биомаркери: ДНК/РНК тестуване за HPV
- Други биомаркери – ИХХ тест за откриване хиперсекреция на супресорния ген p16ink4a и Ki-67; HPV L1 капсиден протеин; и E6 онкопротеин; топоизомераза IIA; минихромозомен поддържащ протеин 2
- Оптико-електронен анализ (TruScreen®)

II.2.3.2. Място, възможности и граници на новите технологии

II.3. Възможности на различните схеми/протоколи за ранна диагностика на предрака и рака на маточната шийка

III. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

IV. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

IV.1. Клиничен материал и основания за разпределението на отделните групи

IV.2. Описание на използваните методи, апарати и класификации

IV.2.1. Гинекологична анамнеза и статус

IV.2.2. Специализирани акушеро-гинекологични изследвания

IV.2.2.1. Цитологичен метод

IV.2.2.2. Методи за визуална инспекция на маточната шийка

- Визуална инспекция с оцетна киселина (VIA)
- Визуална инспекция с Луголов разтвор (VILI)

IV.2.2.3. Спектрофотометричен анализ на МШ с TruScreen®

IV.2.2.4. Колпоскопия и прицелна биопсия

IV.3. Статистически методи

V. СОБСТВЕНИ РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

V.1. Възрастово разпределение на пациентките в отделните групи

V.2. Резултати от диагностичните изследвания

V.2.1. Резултати от хистологичното изследване на материалите от извършените прицелни биопсии и анализ на състоянието на епитела на маточната шийка в изследваните пациентки

V.2.2.Резултати от приложението на класическата цитонамазка (конвенционална цитонамазка, PAP-тест) и обсъждане

V.2.3. Предимства и недостатъци на визуалната инспекция на маточната шийка с оцетна киселина и Луголов разтвор (VIA и VILI)

V.2.3.1. Резултати от VIA и обсъждане

V.2.3.2. Резултати от VILI и обсъждане

V.2.4. Резултати от приложението на спектрофотометричен анализ за откриване изменения на МШ (TruScreen®) и обсъждане

V.2.5. Резултати от комбинираното приложение на различни диагностични методи за оценка на цервикалния епител и обсъждане

V.2.5.1. Резултати от комбинирането на VIA и PAP-тест

V.2.5.2. Резултати от комбинирането на TruScreen® и PAP-тест

VI. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

VII. ИЗВОДИ

VIII. КНИГОПИС

IX. ПРИЛОЖЕНИЕ

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

AUC – area under curve, площ под кривата при ROC-анализ
CIN – cervical intraepithelial neoplasia, цервикална интраепителиална неоплазия
CIS – Carcinoma in situ
EFC – Европейска федерация по колпоскопия
FN – false negative, фалшиво-негативни
FP – false positive, фалшиво-позитивни
HCII – Hybrid capture II
HPV – human papilloma virus, човешки папиломен вирус
IARC – Международна агенция за изследване на рака
IFCPC – Международна федерация по колпоскопия и цервикална патология
LAMS – Latin American Screening study
LBC – течно-базирана цитонамазка
LLETZ – large loop excision of transformation zone
PAP – класическа цитонамазка
ROC – Receiver Operating Characteristic
SUS – single use sensor, индивидуален накрайник
TN – true negative, истински-негативни
TP – true positive, истински-позитивни
VIA – visual inspection with acetic acid, визуална инспекция с оцетна киселина
VILI – visual inspection with Lugol’s iodine, визуална инспекция с Луголов разтвор
ДТК – диатермокоагулация
Зб – заболеваемост
ИХХ – имунохистохимичен тест
МШ – маточна шийка
НПС – негативна предиктивна (предсказваща) стойност
ППС – позитивна предиктивна (предсказваща) стойност
РМШ – рак на маточната шийка
См – смъртност
СНВ – съотношение на негативна вероятност
СПВ – съотношение на позитивна вероятност
СТЗ – сексуално-трансмисивни заболявания

I. ВЪВЕДЕНИЕ

В световен мащаб, ракът на маточната шийка (РМШ) е третият по честота рак при жените и седмият по честота при цялото население, с около 530 000 нови случаи за 2008 г. РМШ засяга предимно млади жени (Arbyn M. et al., 2011) като болшинството от случаите са на възраст между 35 и 50 години (1). Изследвания, публикувани от Международната агенция за изследване на рака (IARC), показват огромни регионални вариации в световен мащаб по отношение заболяемостта от РМШ. Честотата на скрининговите прегледи за РМШ и human papilloma virus (HPV) инфекциите са сред най-важните фактори, определящи различията в разпространението на РМШ в различните региони по света (World Health Organization, 2010) (2). Има съществена разлика по отношение на заболяемостта и смъртността от РМШ между развитите и развиващите се страни, главно дължаща се на съществуването на ефективни програми за превенция и контрол на РМШ в развитите страни (2). Освен това, при всяко население, в това число и при това за което не съществуват скринингови програми, рискът от РМШ е около два пъти по-голям при по-бедните в сравнение с по-заможните жени (2).

Отдавна е доказана вирусната етиология на РМШ: човешкия папиломен вирус (HPV, human papilloma virus). Въвеждането на ваксините срещу РМШ (първична профилактика) вероятно ще промени статистическите данни, но това не отменя необходимостта от ранно диагностициране (вторична профилактика) на това заболяване и най-вече неговите прекурсори (В. Златков, 2007; Костова, П, 2007) (3,4). Инвазивният цервикален рак е резултат от прогресия на прекурсорни лезии – преканцерози, наречени цервикална интраепителиална неоплазия (CIN). Не всички преканцерози прогресират до инвазивен рак. Освен това е установено (Holowaty P., 1999), че процесът на развитие на инвазивен рак от CIN е бавен (5-10 години) (5). Това дава възможност за диагностициране на процеса на канцерогенеза в преинвазивна фаза, което позволява ранно и ефикасно третиране, което води до пълно излекуване, т.е. прекратяване на еволюцията им към инвазивен процес. По този начин своевременното откриване на РМШ и неговите прекурсори е свързано с по-голяма преживяемост, по-добро качество на живот и в социално-икономически план с по-малко разходи.

II. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

II.1 ПРЕДРАК И РАК НА МАТОЧНАТА ШИЙКА

II.1.1 ЕПИДЕМИОЛОГИЯ НА РАКА НА МАТОЧНАТА ШИЙКА

Регистрацията на злокачествените заболявания в България е задължителна от 1952 г. Осъществява се чрез Националния раков регистър, който покрива цялата територия на страната. Съгласно Националния Раков Регистър (6) в България ракът на маточната шийка е на четвърто място по честота при жените и представлява 7,2% от всички злокачествени заболявания при тях. През 2012 г. са регистрирани 1068 нови случаи. Фактическата заболяемост е 28,5 на 100 000. През 2012 г. от рак на маточната шийка са починали 382 жени. Фактическата смъртност е 10,2 на 100 000. Заболяемостта (Зб) и смъртността (См) от рак на маточната шийка се увеличават с 2,6% и с 1,7% средногодишно, съответно. Заболяемостта от рак на маточната шийка се увеличава с напредване на възрастта след 25 години и достига своя пик при 50-54 годишните (60,2 на 100 000 жени). Заболяемостта от рак на маточната шийка е най-висока в областите Монтана, Враца, Велико Търново и Силистра (над 25 на 100 000). Смъртността от рак на маточната шийка е най-висока в областите Сливен, Кюстендил и Враца (над 10 на 100 000). Морфологично доказани са 97,8% от случаите и при мнозинството от тях е диагностициран плоскоклетъчен карцином (84,4%). Около 2/3 от пациентите (62,5%) са диагностицирани в начален (първи и втори стадий) на заболяването. При 29,3% то е в трети и четвърти стадий, при останалите – стадият е неуточнен. Заболяемостта от рак на маточната шийка в България е два пъти по-висока от средната за Европа. Смъртността от рак на маточната шийка в България е по-висока от средната за Европа – 8,8 и 4,9 на 100 000 жени, съответно. Пет-годишната

релативна преживяемост от рак на маточната шийка в България е 5,8%. Тя е по-ниска от средната за Европа – 65,4%. Прогнозните данни за 2015 г. сочат 1 105 (95% доверителен интервал: от 964 до 1247) новодиагностицирани случаи с рак на маточната шийка.

II.1.2. МОРФОЛОГИЧНИ ОСНОВИ И ОНКОЛОГИЧНА ЗНАЧИМОСТ НА ЕПИТЕЛНИТЕ ПРОМЕНИ НА МАТОЧНАТА ШИЙКА.

Инвазивният РМШ се предшества от дълга фаза на предракови състояния на епитела (средно 10 години). На клетъчно ниво това се характеризира с широк спектър от изменения, вариращи от клетъчна атипия до различни степени на т.нар. цервикална интраепителиална неоплазия (cervical intraepithelial neoplasia, CIN). Концепцията за наличието на прекурсори на РМШ датира от XIX в. (William, J., 1888), когато е установено наличието на атипични епителни промени в тъканни проби от участъци в непосредствена близост с инвазивен карцином (7). Терминът Carcinoma in situ (CIS) е въведен от Broders, A.C., 1932, за да отграничи тези лезии, при които атипичните клетки обхващат цялата дебелина на епитела, без да нарушават базалната мембрана (8). Установена е връзката между CIS и инвазивния РМШ. Терминът „дисплазия“ е въведен след 1950г. (Reagan, J.W. et al.) за означаване на цервикална епителна атипия, която като находка е междинна между нормален епител и CIS (9). След това дисплазията е категоризирана в три групи – лека, умерена и тежка – в зависимост от степента на засягане на дебелината на многослойния плосък епител от атипични клетки. Установено било, че някои случаи на дисплазия регресират, други персистират, а трети прогресират до CIS.

Наблюдава се директна връзка между прогресията и хистологичната тежест на дисплазията. Тези наблюдения довеждат до концепцията на един продължителен болестен процес, при който нормален епител преминава през прекурсорни лезии до инвазивен РМШ. На база на гореспоменатите наблюдения през 1968г. (Richart, R.M.) е въведен терминът цервикална интраепителиална неоплазия (CIN), който обхваща целия спектър клетъчна атипия на цервикалния епител (10). CIN се дели на три степени 1, 2 и 3. Тъй като в редица страни все още се използват термините дисплазия и CIS, CIN 1 съответства на лека дисплазия, CIN 2 – на умерена дисплазия, а CIN 3 – на тежка дисплазия и CIS.

Към края на XXв. са описани типични промени в цервикалния епител, включително и от наши автори (Карагьозов И., Макавеева В., 1984), свързани с инфекция с човешкия папиломен вирус (human papillomavirus, HPV): *койлоцити* – атипични клетки с перинуклеарно хало, и койлоцитна атипия (11,12,13,14). Това води през 1990г. до предложение за опростена двустепенна хистологична система: нискостепенна CIN (low-grade CIN), включваща койлоцитна дисплазия и CIN1 и високостепенна CIN (high-grade CIN), включваща CIN 2 и CIN 3. Високостепенните лезии се считат за истинските прекурсори на инвазивния РМШ (15). Различни проучвания разглеждат тенденцията на отделните степени CIN за регресия, персистиране, или прогресия (4,15,16,17,18,19). Те установяват, че повечето ниско-степенни лезии са преходни; повечето от тях регресират до нормален епител, или не прогресират към тежки такива. Високостепенните CIN от друга страна са свързани със значително по-висока вероятност за прогресия към инвазивен РМШ, въпреки че част от тези лезии също могат да регресират, или персистират (табл. 1).

Табл. 1

Тенденция за регресия, персистиране или прогресия на различните степени на цервикална интраепителиална неоплазия (по Ostor et al., 1993)

CIN	Регресия	Персистиране	Прогресия до CIN 3	Прогресия до инвазивен РМШ
CIN 1	57%	32%	11%	1%
CIN 2	43%	35%	22%	1,5%
CIN 3	32%	56%	-	12%

II.1.3. ПРОФИЛАКТИКА НА ПРЕДРАКА И РАКА НА МАТЧОНАТА ШИЙКА. СЪСТОЯНИЕ НА ПРОБЛЕМА В БЪЛГАРИЯ

Първичната профилактика е предклинична, етиологична. Тя има за цел да не допусне възникването на заболяване. Свързана е с прилагане на мерки, които изключват влиянието на канцерогенните фактори и тези, предразполагащи към развитието на съответното заболяване. В последните 25 години етиопатогенезата на предрака и рака на маточната шийка се свързва основно с човешкия папиломен вирус (Human Papilloma Virus – HPV) (20,21,22,23,24,25,26,27). Вирусната етиология на цервикалния рак бе предпоставка да бъдат разработени ваксини срещу папиломните вирусни инфекции като част от първичната профилактика на това заболяване (28,29,30,31).

Вторичната профилактика е клинична, стадийна. Нейна цел е откриване на злокачествените тумори в ранен стадий, или стадий предшестващ развитието на рак (предракови изменения). В основата на вторичната профилактика е механизмът на канцерогенезата: ракът не се появява изведнъж, а е резултат от различни предшестващи изменения – биохимични, патофизиологични, морфологични и клинични, водещи до

малигнената трансформация на нормалната тъкан (Валерианова Здр., 2001) (32). Необходимо условие за осъществяване на вторичната профилактика е наличието на високочувствителни методи за ранна диагностика и достатъчно ефективни методи за лечение. Най-ефективна форма на вторичната профилактика са скрининговите изследвания. Онкологичният скрининг има за задача да се търсят активно сред здравите индивиди лицата, които вероятно имат заболяване или са с висок риск да го развият. Ефикасен скринингов метод за РМШ, доказал се в практиката е цитологичното изследване (33). В зависимост от начина на провеждане и контингета, който се обхваща, различаваме организиран популационен скрининг и опортюнистичен скрининг. Към настоящия момент организираният популационен скрининг остава най-широко разпространен и най-ефективен метод за превенция на РМШ (34,35,36).

К. Цанев и Д. Николова въвеждат през 1970г. в България цервикална скринингова програма. До 1989г. вкл. са отчитани ежегодно около 1 500 000 обхванати с цервикален скрининг жени. След 1989г. отпада организирания характер на програмата и е налице тенденция ежегодно да намалява броят на регистрираните профилактични прегледи, като за 1996г. се отчитат само 205 081 скринингови изследвания за РМШ (Златков, В., 2006) (37). Към настоящия момент в България се провежда опортюнистичен скрининг. Ниският обхват на подлежащия контингент е основна причина за недостатъчна ефективност на скрининга в национален мащаб, което е причина за влошаване на епидемиологичните показатели за РМШ. Очертава се тенденция за непрекъснато праволинейно нарастване, както на Зб, така и на См.

II.2. ДИАГНОСТИЧНИ МЕТОДИ ЗА ИЗСЛЕДВАНЕ НА МАТОЧНАТА ШИЙКА

II.2.1. *ЦИТОЛОГИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ*

II.2.1.1. Същност и развитие на методиката

- Цитологичен (Pap) тест

През 1928 г. Georgios Papanicolaou установява, че абнормни клетки от РМШ могат да се наблюдават лесно под микроскоп от вагинална натривка върху предметно стъкло (38). По-късно през 1941 г. Papanicolaou заедно с гинеколога Herbert Traut създават класификационна система и публикуват материал за диагностичната стойност на влагалищните намазки при карцином на матката (39). През 1954 г. публикува Атлас по ексфолиативна цитология, полагайки основите на съвременната цитопатология.

При конвенционалното цитологично изследване (Pap–тест) се взима материал с помощта на шпатула, или друго средство (понастоящем специална четка), от повърхността на маточната шийка (portio vaginalis colli uteri, PVCU) и от цервикалния канал (canalis cervicalis, CC), като материалите се нанасят на две отделни предметни стъкла, фиксират се с 95% етилов алкохол, оцветяват се (оригинално по метода на Папаниколау или по-рядко с други, като хемалаун-еозин, Hematoxylin-Eosin, HE) и се оценяват от цитопатолог.

- Автоматизиран цитоанализ

Основен недостатък на цитонамазката като скринингов метод са фалшиво-отрицателните резултати. За качествен контрол на метода повторно трябва

да се оценят около 10 % от отрицателните намазки. Ефикасността на такъв малък процент на рескриниране се поставя под въпрос. В идеалния вариант всички отрицателни цитонамазки би следвало да се оценят наново, за да се отсеят фалшиво отрицателните. Това би отнело много време и средства. Създадени са автоматични и полуавтоматични системи (Willis BH, 2005), които са в помощ на процеса на рескрининг (40). Такива са компютъризирания микроскоп Ac Cell Series 2000 Pathfinder System, полуавтоматични или интерактивни системи (PAPNET, CytoRich or AutoCyte, ACCESS), автоматични системи (AutoPap 300). Тези апарати, с изключение на компютъризираните микроскопи, използват алгоритмичен анализ на образи, който оценява единични клетки, използвайки специфични морфологични характеристики.

- PAPNET (Neuromedical Systems Inc., Suffern, New York): автоматизирана интеракитвна система за анализ на конвенционални цервикални намазки (41). PAPNET позволява гъвкавост и прецизност в разпознаването на абнормни клетъчни образи. Апаратът не поставя диагноза „абнормни клетки", а е интерактивен и оценката се прави от обучени специалисти на монитор с висока резолюция. Стъклата, които съдържат абнормни клетки, или са неадекватни, се оценяват повторно на микроскоп. Началният опит с PAPNET показва, че устройството е подходящо за качествен контрол (Koss LG, 1994) и може да допринесе за намаляване на фалшиво негативните резултати. (42).
- *AUTOcyte* (Roche Image Analysis Systems, Elon College, North Carolina) - системата приготвя автоматично хомогенен тънък слой оцветени клетки от течна суспензия на материал от цервикса (43).
- *AutoPap300* (Neopath Inc., Redmond, Washington). The AutoPap 300 е автоматизирано устройство за анализ на изготвени по

конвенционалния метод стъкла за цитонамазка. Устройството генерира скор, базиран на вероятността намазката да е абнормна. Случаите със скор, надвишаващ съответния зададен праг се селектират за повторен скрининг за качествен контрол (44).

Друго възможно приложение на автоматизирания цитологичен анализ, освен качествен контрол, е първичен скрининг на намазки от маточната шийка, въпреки, че е важно да се отбележи, че тези устройства не са одобрени от FDA за първичен скрининг (45).

- Техника на еднослойните намазки (Liquid Based Cytology, LBC)

Конвенционалната цитонамазка (Pap – тест) е успешен и утвърден скринингов метод. Съществуват обаче ограничения, които понижават чувствителността на този тест, което дава възможност за въвеждане на подобрения (46). При техниката на течно-базираните цитонамазки (еднослойни намазки; Liquid Based Cytology, LBC) се подобрява адекватността и значително се повишава чувствителността на теста. Първият такъв тест е ThinPrep Pap Test. Тази технология елиминира грешките, свързани с процеса на изготвяне на препарата при конвенционалната цитонамазка: намалена видимост, поради наличие на кръв, или мукус; артефакти при изсъхване на намазката, ако не се фиксира своевременно; около 80% от материала остава по четката/шпатулата и се изхвърля.

При ThinPrep материалът от маточната шийка не се разстила директно върху предметно стъкло, а четката/шпатулата се „изплаква” в специални контейнери със среда, улавяйки на практика всички клетки; следва автоматизиран процес, при който се отстраняват кръв, слуз, клетъчен детрит, след което се разстила равномерно един слой клетки

върху предметно стъкло, като в стандартизиран кръг от 2см се постига наличие на 40-80 хиляди годни за оценка клетки. Hutchinson ML et al. (1994) доказват, че ThinPrep подобрява качеството на пробата и по този начин полученият материал е по-ясен и лесен, както за мануален, така и за компютъризиран анализ (47).

Независимо какъв цитологичен метод е използван, резултатът от изследването трябва да бъде акуратно документиран. Съществуват няколко терминологични класификации, създадени след оригиналната класификация на Papanicolaou (1941/43г.), в опит за преодоляване на недостатъците на чисто цифровата оценка, стандартизиране, създаване на единни критерии за диагностичните термини и адекватна интерпретация на резултатите. На табл. 2 е представено сравнение между най-използваните цитологични класификационни системи.

Таблица 2

Сравнение между основните цитологични класификации

<table>
<tr><th>PAP</th><th>Bethesda</th><th>CIN (Richart)</th><th>СЗО (WHO, 1976)</th></tr>
<tr><td>I</td><td>Норма</td><td>Норма</td><td>Норма</td></tr>
<tr><td rowspan="2">II</td><td>Възпаление, реактивни промени</td><td></td><td>Възпаление</td></tr>
<tr><td>ASC-US</td><td>Атипизъм</td><td>Атипизъм</td></tr>
<tr><td rowspan="3">III</td><td rowspan="2">LSIL</td><td>Кондиломи, папиломи</td><td rowspan="2">Лека дисплазия</td></tr>
<tr><td>CIN 1</td></tr>
<tr><td rowspan="3">HSIL</td><td>CIN 2</td><td>Умерена дисплазия</td></tr>
<tr><td rowspan="2">IV</td><td rowspan="2">CIN 3</td><td>Тежка дисплазия</td></tr>
<tr><td>Ca in situ</td></tr>
<tr><td>V</td><td colspan="3">Инвазивен карцином</td></tr>
</table>

Класификационните системи на СЗО (дисплазия) и Richart (CIN) използват хистологични термини, а не описание на находките в отделните клетки от намазките. Бетезда Терминологичната Система (БТС, Bethesda) към момента е най-използвана в света. Тя е създадена 1998г. и претърпява няколко ревизии, целящи да дефинират по-ясно отделните категории за улесняване на диагностичното и терапевтично поведение, както и проследяването. БТС има по-разширен и описателен характер и прави паралел между цитологичната находка и хистологичното състояние на епитела. Често обаче клиницистите са затруднени, тъй като граничните и неясни резултати са проблем за интерпратация от тяхна страна. В България БТС е залегнала в стандартите по клинична патология (МЗ. Наредба №18 за утвърждаване на медицински стандарт: Клинична патология, ДВ, 2002, 82, 11-19). Въпреки това не съществува единен за страната протокол за документиране на резултатите и на повечето места резултатът се докладва по цифровата оценъчна система по Pap и едновременно с това по Bethesda.

II.2.1.2. Място, възможности и граници на цитологичния метод

Към момента в световен мащаб цитологичното изследване на маточната шийка продължава да е най-успешния скринингов метод в превенцията на цервикалния рак. От друга страна ефективността на метода зависи от много фактори, вкл. техниката на вземане на материала от цервикса, нанасянето на взетия материал на предметни стъкла, фиксиране и транспортиране до съответната лаборатория за интерпретация (48). Липсата на достатъчно цитологични (хистологични) лаборатории и съответните специалисти, както и на качествен контрол, също повлиява ефективността на метода. Диагностицирането на предраковите лезии на маточната шийка позволява осъществяване на подходящо лечение, водещо

до сигнификантно намаляване на честотата и смъртността от инвазивен цервикален рак в скринираната популация. Многобройните проучвания показват различни стойности за чувствителност и специфичност на конвенционалната цитонамазка (табл.3), а систематичният анализ на Nanda K. et al. (2000) показва, че средно чувствителността е 56,05%, а специфичността 91,3% (49).

Таблица 3

Чувствителност и специфичност на Pap теста от различни проучвания

Автор	**Чувствителност**	**Специфичност**
Duggan (Eur J Gynaecol Oncol 1998;19(3):209-214)	63.7%	не е определяна
Bishop (Acta Cytol 1997 Jan;41(1):15-23)	63.6%	99.7%
Matsuura (Acta Cytol 1996 Mar;40(2):241-246)	51.0%	95.0%
Mayeux (J Fam Pract 1995 Jan;40(1):57-61)	45.0%	80.0%
Reid (Am J Obstet Gynecol 1991 Jun;164:1461-1469)	52.0%	92.0%
Schneider (Am J Obstet Gynecol 1996;174(5):1534-1541)	29.0%	96.0%
Soost (Acta Cytol 1991 Jan;35(1):8-13)	80.0% (78.1)	94.4%
Tabbara (Obstet Gynecol 1992 Mar;79(3):338-346)	79.0% (66.0%)	82.0%

Ефективността на цитологичното изследване на МШ е проучено и в България от различни колективи (Замфирова К, 1986г., Касабова М, 1990г., Цветански Хр. 1990г., Костова П., 2001г.).

Недостатък на метода са фалшиво-отрицателните резултати (false negative, FN): между 15% и 63% (средно 20-25%) в различните проучвания, което означава потенциално различна значимост, както и затруднения при ретроспективната оценка на намазките. Ejersbo D et al. (2003) докладват 22% фалшиво-отрицателни цитонамазки, в проучването на Koss LG et al. (1997) те са 31,6%, a van der Graaf Y et. al. (1987) установяват различни преканцерози в 29,8% от биопсичните материали при жени, които са имали негативни цитонамазки (50,51,52,53,54,55). Тази разлика в стойностите на фалшиво-отрицателните резултати може да се дължи на различния дизайн на проучванията и различните методи за статистическа обработка, както и зададения праг на референтното изследване, ако е включено такова (хистологично потвърдени лезии). Фалшиво-отрицателните цитонамазки могат да са резултат от самата техника на взимане на материала, или от интерпретацията на цитолога. Проблем при взимане на материала може да са лезии, от които не се отделят клетки, или такива, които са пропуснати от специалиста (циточетката не е минала през тях), също така може да има патологични клетки по четката, които не са трансферирани върху предметното стъкло. По-рядко обработката на предметните стъкла и оцветяването не са адекватни. В други случаи проблемите с интерпретацията включват невъзможност да се установят анормални клетки, или неправилно класифициране на клетки като такива с реактивни промени, или метаплазия, когато всъщност има диспластична лезия. Значим *недостатък* на конвенционалната цитонамазка е *ограничения трансфер на ексфолирани клетки* от четката/шпатулата върху стъклото, както и *затруднена интерпретация* на тези намазки при припокриване на клетките, или наличие на кръв и клетки на възпалението. При течно-базираните цитонамазки не само е по-голям броя на клетките, (стандартно между 40 - 80 хил. клетки на стъкло), но метаанализ на проспективни проучвания, сравняващи адекватността на пробите (Sara J. Bernstein et al.,

2001) показва, че и автоматичното им еднослойно разстилане върху стъклото води до по-адекватна интерпретация. (56). При техниката на течно-базираните цитонамазки получените проби са значително по-лесни за оценка. Moss et al. (2003) в пилотното си проучване, сравняващо класическа и течно-базирана цитонамазка, показват намаляване на неадекватните за оценка намазки от 10% при класическата до 2% при еднослойната цитонамазка. (57). Систематичният анализ на проучванията във Великобритания, касаещи LBC до 1999г., проведен от Payne N. et al. (2000) показва, че този метод намалява фалшиво-отрицателните резултати, броя на неадекватните намазки, както и времето за оценка от цитолог (58). Akamatsu S. et al. (2012) установяват в проучването си, че конвенционалната цитонамазка е незадоволителна в 11,45 % от случаите, докато при LBC само 1,38% са незадоволителни (59). Подобни резултати получават и C. Sherlaw-Johnson et al. (2004), а именно намаляване с 80% на неадекватните за оценка намазки при течно-базирания метод, без това да оказва влияние върху чувствителността му (60). Чувствителността на LBC за откриване на високостепенни CIN е по-висока (86%) от тази на PAP теста (82%), за сметка на специфичността (43% за LBC) (59,61). При това честотата на докладване на ASCUS е значително по-ниска при LBC – 4.3%, в сравнение с 8% при конвенционалните цитонамазки. Причината е по-лесната и точна оценка на клетъчния материал. Поради това и FN случаи дирекно намаляват при LBC. В мета-анализ на 16 проучвания (J Karnon, 2004г.) чувствителността на конвенционалната цитонамазка варира между 35,4% и 93,6%, а тази на течно-базираната между 53% и 95,7%, като в повечето от тях не се съобщава статистически значима разлика между чувствителността на двата метода (62). В България А. Цонев и сътр. (2012г.) правят сравнителен анализ на конвенционалната и течнобазирана цитология и потвърждават предимствата на LBC, главно за сметка на намаления брой незадоволителни за оценка резултати и по-

високата чувствителност относно нискостепенните лезии (63). Допълнително предимство на LBC е възможността пробите да бъдат използвани за изследване на HPV, гонорея и хламидия (64,65). Ограничение за приложението на LBC е цената: апаратура, консумативи и реактиви. Не е маловажен и фактът, че е необходимо специално обучение за микроскопиране и оценка на изготвени по този метод намазки. Въпреки по-високата цена на самото изследване, съотношението цена-ефективност на LBC е по-добро в сравнение с това при класическата цитонамазка, което е резултат от по-малкия брой незадоволителни цитонамазки, както и по-лесната и точна интерпретация (59). Недостатък на тази техника е използването на общ контейнер за пробите от екзо- и ендоцервикса. Ако има наличие на атипични клетки е трудно определянето на техния произход. Възможно е да се използват отделни контейнери за двете проби, но това неминуемо оскъпява метода. Към момента цената на LBC и недостигът на обучени за интерпретация на тези намазки специалисти ограничава масовото приложение на метода и най-разпространена си остава класическата цитонамазка. Липсата на убедителна статистически значима разлика между стойностите на чувствителност и специфичност на течно-базираната цитонамазка и тези на конвенционалната, както и по-високата цена на еднослойните намазки, правят трудно налагането на този нов метод в нашата страна. Необходими са допълнителни проучвания, които недвусмислено да покажат предимствата му, както и икономическата целесъобразност, особено по отношение на интервалите за проследяване.

II.2.2. ОБРАЗНИ МЕТОДИ НА ДИАГНОСТИКА

II.2.2.1. Същност и видове

Въпреки ефикасността на конвенционалната цитонамазка като скринингов метод, при липса на стандартизиран качествен контрол, непокриване на всички, подлежащи на скрининг жени, недостиг на цитолози/патолози и съответните лаборатории, както и неадекватно проследяване и лечение на сигнализираните случаи, близо 80% от случаите на инвазивен РМШ са в развиващите се страни и на места, където няма организирани скринингови програми. Това налага да се търсят други алтернативни методи, които са ефикасни и едновременно с това достъпни като себестойност и техника. Такива са двете модификации на директната визуална инспекция на маточната шийка с невъоръжено око (цервикоскопия) (66,67,68,69):

- **VIA** – **V**isual **I**nspection with **A**cetic Acid визуална инспекция с оцетна киселина
- **VILI** – **V**isual **I**nspection with **L**ugol's **I**odine визуална инспекция с луголов разтвор

- **<u>Визуална инспекция с оцетна киселина (VIA)</u>**

Аплицирането на 3-5% оцетна киселина върху маточната шийка води до обратима хистохимична реакция – коагулация/преципитация на клетъчните протеини на (70). Освен това улеснява отстраняването на цервикалната слуз. Ако епителът съдържа много клетъчни протеини, оцетната киселина води до тяхната преципитация, което намалява количеството отразена светлина от стромата. Това предизвиква „побеляване" на съответната област, което е лесно разграничимо в

сравнение с розовия цвят на околния нормален сквамозен епител. Този ефект обичайно е видим с невъоръжено око. Ефектът на оцетната киселина върху цервикалния епител зависи от количеството на клетъчните протеини. Участъци с повишена ядрена активност и ДНК (каквито са участъците с CIN и инвазивен рак) показват най-изразените промени в цвета и изглеждат плътно бели. Все пак трябва да се има предвид, че появата на оцетно-бели участъци не е присъщо единствено при наличие на дисплазия (CIN) и рак. Те се наблюдават и при други състояния, свързани с повишено количество ядрени протеини:

- Незрял метапластичен епител
- Епител в процес на оздравяване и регенерация (свързано с възпаление)
- Левкоплакия (хиперкератоза)
- Папилом

Трябва да се има предвид скоростта им на поява, тяхната изразеност (плътни, или леко прозиращи), големина, повърхност (гладка, или грапава; равна с околния епител, или повдигната), граници, разположение (особено внимание зона на трансформация ЗТ в близост до ГЦПЕ), навлизат или не в цервикалния канал.

Резултатите се документират (табл. 4) в следните категории (71):

- Тест негативен
- Тест позитивен
- Суспектен за карцином

Таблица 4

Класификация на находките при VIA теста (по R.Sankaranarayanan et al., 2003, A Practical Manual on Visual Screening for Cervical Neoplasia)

VIA резултат	**Находка**
Тест – негативен	- Липса на оцетнобели лезии - Бледи оцетнобели участъци с неясни граници; далеч от ГЦПЕ или извън ЗТ (сателитни лезии) - Полип; ov. Nabothi - Възпалителни промени
Тест – позитивен	- оцетнобели лезии с ясни граници; плътни; неравна повърхност; надигнати ръбове; ангажиращи ГЦПЕ - левкоплакия; папилом
Суспектен за карцином	- екзофит - улцерация

- **<u>Визуална инспекция след приложение на Луголов разтвор (VILI)</u>**

Сквамозният епител е богат на гликоген, докато клетките при CIN и инвазивен рак не съдържат гликоген, или той е оскъден. Цилиндричният епител не съдържа гликоген. Незрелият метапластичен сквамозен епител обикновено няма гликоген, или в някои случаи е частично гликогениран. Луголовият разтвор съдържа йод, който е гликофилен. Поради това аплицирането на Луголов разтвор води до поемане на йода в епителa, съдържащ гликоген. Това е причината нормалният гликоген - съдържащ

сквамозен епител да се оцветява махагоново-кафяв след приложение на Луголов разтвор. Цилиндричният епител не поема йода и остава неоцветен, но може да излежда с леко променен цвят, поради наличие на тънък филм от разтвора по повърхността му. Участъците с незрял метапластичен епител се оцветяват частично. Ако има ерозия на повърхностните или интермедиерни клетъчни слоеве в резултат на някакъв възпалителен процес, тези области не се оцветяват от Луголовия разтвор и се открояват от околния тъмно кафяв епител. Участъци с CIN и инвазивен рак не поемат йод (тъй като не съдържат гликоген) и изглеждат жълтеникави. Участъците с левкоплакия (хиперкератоза) и папиломите не се оцветяват от Луголовия разтвор (70,72).

При техниката VILI след поставяне на подходящия спекулум и нативния оглед на маточната шийка следва аплициране на Луголов разтвор. Оценява се наличието на неоцветени участъци и по-специално тяхната големина, изразеност и цвят, повърхност, граници, разположение (особено внимание зона на трансформация ЗТ в близост до ГЦПЕ), както и дали навлизат в цервикалния канал.

Резултатите при VILI (табл. 5), подобно на VIA, се документират в следните категории (73):

- Тест негативен
- Тест позитивен
- Суспектен за карцином

Таблица 5

Класификация на находките при VILI теста (по R.Sankaranarayanan et al., 2003, A Practical Manual on Visual Screening for Cervical Neoplasia)

VILI резултат	**Находка**
Тест – негативен	- сквамозният епител е тъмно кафяв/черен; цилиндричният не се оцветява - Участъци с неясни граници, частично оцветени - Вид на "леопардова кожа" (T. vaginalis) - Сателитни бледи участъци извън ЗТ далеч от ГЦПЕ
Тест – позитивен	- Жълтеникави лезии с ясни граници в ЗТ, достигащи ГЦПЕ
Суспектен за карцином	- екзофит - улцерация

Поведението при резултат "тест-позитивен" от техниките за визуална инспекция на маточната шийка е назначаване на допълнителна консултация, колпоскопия и прицелна биопсия за уточняване състоянието на цервикса и провеждане на съответното лечение/терапия.

- **<u>Колпоскопия</u>**

Основоположник на съвременната колпоскопия е Hans Hinselmann. През 1925г. той създава колпоскопа: уред, с помощта на който маточната шийка, влагалището и вулвата могат да бъдат огледани под увеличение и външен („студен") източник на светлина. Първоначално фокусното разстояние е било 80 мм, но това налагало издърпването на порциото на

маточната шийка (манипулация, свързана често с болка и анемизиране на шийката, което променя находката). По-късно Hans Hinselmann създава колпоскоп с фокусни разстояния 150 мм (Leitz) и 190 мм (Zeiss). Първите 3-4 години след създаването на колпоскопа той оценява маточната шийка само нативно, без апликация на оцетна киселина и Луголов разтвор. През 1928 г. Walter Schiller (хистолог) установява, че диспластичните и ракови тъкани не съдържат гликоген. Той предлага използването на разтвор, съдържащ йод (Луголов разтвор), като тест за детекция на ранен РМШ (Jean Guillaume Auguste Lugol 1788-1851, лекар в Saint Louis Hospital, Париж; проучвал различни йодови разтвори за лечение на туберкулозен шиен лимфаденит, вкл. разтвор на калиев йодид, оттогава известен като Луголов разтвор). През 1939г. Helmut Kraatz от Гинекологичната клиника в Берлин, под ръководството на проф. W.Stoeckel, въвежда използването на зелен филтър за прецизна оценка на съдовата морфология (74).

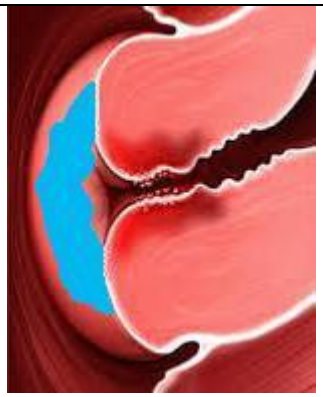
Технически колпоскопията включва следните стъпки:

- Нативен оглед на маточната шийка след отстраняване на секрета с памучен тупфер
- Оценка на шийката със зелен филтър
- Аплициране на 3-5% оцетна киселина
- Аплициране на Луголов разтвор

След апликацията на оцетна киселина и съответно Луголов разтвор се следи за поява на участъци с атипизъм. Атипичните участъци могат да имат различна характеристика. От въвеждането на колпоскопията като диагностичен метод за предрака и рака на маточната шийка (1925 г.) за описание и интерпретиране на находките, гинеколозите най-често използват терминологията на International Federation of Cervical Pathology

and Colposcopy (IFCPC), която претърпява няколко ревизии: 1975г. (75), 1990г. (76), 2002г. (77) и 2008 г. Последната ревизия от 2011г. включва в допълнение и класификация на типа ексцизия на маточната шийка и описание на размерите на ексцизирания материал (78).

Всяко описание на колпоскопски преглед трябва да започва с „адекватна/неадекватна поради". Най-честите причини за неадекватна колпоскопия са възпаление, кървене, или цикатрикс. Следва дефиниране на възможността за визуализиране на ГЦПЕ. Възможността за визуализиране на ГЦПЕ определя и типа зона на трансформация (фиг.1).

Тип I	Тип II	Тип III
		
Изцяло ектоцервикално разположена Напълно видима	Има ендоцервикален компонент Напълно видима	Ендоцервикално разположена Непълно видима

Фиг.1 Трите типа зона на трансформация, съгласно класификацията на IFCPC

- **Дигитална цервикография**

Цервикографията е въведена като метод от Stafl през 1981 г. (79). Той създава цервикоскопа в опит да автоматизира колпоскопията. Цервикографската техника се състои в придобиването на статичен фотографски образ (цервикограма) на ектоцервикса след аплициране на 5% оцетна киселина, съгласно изискванията на National Testing Laboratories Worldwide (NTL Worldwide, Inc, Fenton, MO). За целта се използва 35 мм камера с фиксирани 100мм макролещи и мощен светлинен източник. Образът на така третираната шийка се прехвърля върху лентата и се прожектира на бял екран за анализ. Техниката позволява образите да се получават от лица, без специална квалификация. Оценката се прави от съответния специалист (колпоскопист), а образите по този начин могат да бъдат съхранявани, което позволява повторна оценка при необходимост. Така получените цервикограми са фокусиран неувеличен образ на МШ и горната част на влагалището. Анализирането на цервикограмите трябва да се извършва при определени условия: тъмна стая, гладък бял екран, ширина на образа 150-300 см (това води до x8 – x16 увеличение на образа, подобно на колпоскопията), оценка от разстояние 90см. Терминологията, описваща цервикографската находка, води началото си от колпоскопската, а находките се разделят в следните категории: технически дефектни, негативни, атипични (суспектни) и позитивни за РМШ (80,81). Многобройни проучвания оценяват ефикасността на цервикографията както като диагностичен тест, така и като скринингов метод или допълнение към конвенционалния цитологичен скрининг (33,82,83,84,85). Schneider DL et al. (1999) установяват обща чувствителност на метода 49,3%, но при жени под 50г. тя е 54,6%, а при тези над 50г. – едва 26,9%. Те заключават, че методът не е подходящ при жени в менопауза (83). Колективът на Ferris DG (2001) също намира различно клинично

представяне на цервикографията при жени под и над 35г. В тяхното проучване техниката показва по-висока чувствителност (80,8% към 57,1%), но по-ниска специфичност (55,7% към 81,8%) при жени под 35г (84). Различните статистически показатели в отделните възрастови групи ограничават приложението на метода.

Друга техника, целяща автоматизиране на колпоскопията е дигиталната колпоскопия (мултиспектрален дигитален колпоскоп) (SY Park et al., 2008) (86). При нея се извършва автоматичен анализ на дигитални образи от МШ след апликация на оцетна киселина. Използват се класификационни алгоритми, които определят вероятността участъци от МШ с определен оптичен модел да съдържат неопластична тъкан.

II.2.2.2. Място, възможности и граници на образните методи на диагностика

Образните методи за оценка на състоянието на маточната шийка могат да се използват в практиката като диагностичен метод, или като скрининг за РМШ, като показват различни стойности на чувствителност и специфичност. Това определя възможностите за употреба и ефикасността на всеки един от методите.

Двете техники на визуална инспекция на маточната шийка VIA и VILI имат по-висока чувствителност и по-ниска специфичност (табл 6) от цитонамазките.

Таблица 6

Сравнение между чувствителността и специфичността на методите за визуална инспекция на маточната шийка и конвенционалната цитонамазка

Методика	ЧУВСТВИТЕЛНОСТ	СПЕЦИФИЧНОСТ
Цитонамазка	57,4% – 74,3%	93,7% - 98,6%
VIA	58,1% – 81,8%	92,5% - 94%
VILI	63,3% - 85,8%	89,7% - 91,4%

Цитонамазката като диагностичен тест има по-ниска чувствителност от VIA и VILI поради по-високия брой фалшиво-негативни резултати, което е познат нестостатък на PAP-теста. В метаанализ 26 проучвания, оценяващи ефикасността на VIA за изследване на МШ при асимптоматични жени при праг от хистологичното изследване CIN2+, Sauvaget C. et al. (2011) докладват чувствителност на VIA 80% и специфичност 92%. Колективът заключава, че методът е възможна алтернатива на цитологичния скрининг и може да се използва като такъв в страни със слаба икономика (87). VILI от своя страна има малко по-висока чувствителност и по-ниска специфичност от VIA във връзка с по-големия брой фалшиво-позитивни резултати (88). Това води до допълнително насочване на тези случаи за уточняваща колпоскопия и съответно извършване на прицелни биопсии.

От техническа гледна точка VIA и VILI са изключително лесни за приложение в ежедневната практика, тъй като изискват минимална инфраструктура и кратък обучителен период за здравните специалисти. Основно предимство е високата негативна предиктивна стойност – около

90-99% според различните автори, и поради това са подходящ отсяващ тест на места, където няма добре организирани скринингови програми, или има недостиг на персонал и оборудване за оценка на цитологичните препарати. Saxena U. et al. (2012) прилагат примери за алтернативни скринингови методи и алгоритми за поведение, подходящи за страни със слаба икономика (преглед – лечение с криотерапия в рамките на същото посещение при наличие на отклонения от нормата) (89). Техният анализ показва по-висока от тази на цитонамазката чувствителност и на двете техники за визуална инспекция на МШ, което ги прави удачни за приложение в тези страни. Sankaranarayanan R. at al. (2012) заключават, че въпреки ограниченията си ниската възпроизводимост на резултатите, дори еднократното изследване на цервикалния епител с VIA е свързано с намаляване 25%-30% на честотата на РМШ и CIN2+, което прави метода ефикасна алтернатива за цервикален скрининг (90).

Установено е (Jeronimo J. et al., 2005), че визуалната инспекция с оцетна киселина е удачен метод за диагностициране на прекурсори на цервикален рак не само в страни със слаба икономика, но и в условия на добре оборудвани центрове и добре организирани скринингови програми (91).

VIA има позитивна предиктивна стойност близка до тази на цитологичното изследване, но за разлика от него диагнозата се поставя по-рано и е лесно проследяването. Jeronimo J. et al. (2005) докладват, че по-голям брой пациенти продължават последващо уточняване и адекватно лечение при позитивен резултат от VIA (само 2,3% от пациентките с тест-позитивен от VIA не са се явили повторно за уточняваща колпоскопия и биопсия) в сравнение с тези, които имат абнормна цитонамазка (тези, с позитивен резултат от PAP-теста, които са били загубени за проследяване са 26,3%) (91).

Двата метода на визуална инспекция на маточната шийка са технически лесни и икономически целесъобразни и като такива са подходяща алтернатива за цервикален скрининг не само в страни със слаба икономика.

Колпоскопското изследване на МШ е основен метод за диагностициране на предрака и рака на маточната шийка (92,93,94,95,96,97,98,99,100,101). При наличие на колпоскопски атипизъм следва прицелна биопсия и хистологична оценка на съответния участък. Massad LS et al. (2009) установяват, че чувствителността на колпоскопията при праг CIN2+ е 93%, но уточняването на различните по тежест колпоскопски находки не допринася за по-добри статистически показатели на метода (98). Проучването на колектива на S.B. Cantor (2008) намира чувствителност на колпоскопията 98,3% при праг LSIL от хистологичния резултат, и специфичност 45,1%. Когато прагът е HSIL, чувствителността и специфичността съответно са 71,4% и 81,3%. (102). Неуспехът за диагностициране на CIN3 от колпоскопията, който намират Petry KU et al. (2013) е 4,7%, като в 1/3 от случаите причината е фалшиво-отрицателен резултат от прицелната биопсия, а в останалите случаи – трети тип зона на трансформация (100).

Колпоскопията има висока чувствителност и средна по стойност специфичност, което я прави подходяща за диагностика. Неин недостатък е високата честота на фалшиво-позитивните резултати, която води до излишни биопсии.

За да е наистина приложим в практиката един метод трябва да е лесен за изпълнение. За точната интерпретация при цервикографията обаче има твърде много технически изисквания. В допълнение основен недостатък на цервикографията са фалшиво-позитивните резултати и

ниската чувствителност – 28,6% (Longatto-Filho A . et al., 2012) (103). В проучването си Baldauf JJ et al. (1995) изчисляват чувствителност на цервикографията 53% и заключават, че тази техника не бива да се счита за алтернатива на цитонамазката, защото не показва статистически значима разлика в посока по-добра диагностика, а освен това неинформативните цервикограми са повече от неадекватните цитонамазки (104). Cronje´ HS et al. (2001) установяват по-добри показатели на цервикографията в сравнение с цитонамазката в развиващите се страни: чувствителност на PAP-теста едва 19,3%, а на цервикографията - 41,8%; специфичност на PAP-теста – 99,3%, а на цервикографията – 78,8% (105). Друго проучване обаче, проведено в Африка (De Vuyst H. et al., 2005), докладва сходни показатели за цитонамазката и цервикографията: чувствителност съответно 95% и 95%, специфичност съответно 94,6% и 93,2% (106). Стойностите на чувствителност и специфичност за цервикографския метод, които получават N. Khodakarami et al. (2011) са 46,7% и 89,8% (107). Разнопосочните резултати от отделните проучвания и анализи ограничават използването на цервикографията за вторична профилактика на РМШ. Освен това ефикасността на цервикографията зависи от опита на специалистите, които оценяват находките (83,107).

Чувствителността и специфичността на дигиталната колпоскопия са съответно 79% и 88% (86). Както при цервикографията, така и при дигиталната колпоскопия, основни ограничения са статичния образ, който освен това е двуизмерен, и различната интерпретация на отделните специалисти, т.е. ниска възпроизводимост на резултатите (109).

II.2.3. ДРУГИ СЪВРЕМЕННИ МЕТОДИ НА ДИАГНОСТИКА

II.2.3.1. Същност и видове

- Биомаркери

Връзката между предраковите и раковите епителни лезии на маточната шийка и HPV е отдавна установена (110,111). Различните HPV типове се разделят на високорискови (high-risk HR-HPV) и нискорискови (low-risk LR-HPV) въз основа на асоциирането им с РМШ (112,113).

Въпреки, че болшинството от HR-HPV инфекциите са транзиторни и не водят до малигнена трансформация на цервикалната мукоза, HR-HPV са вероятния етиологичен агент при всеки вид РМШ. Огромна част (около 90%) регресират спонтанно без лечение. Ако вирусната инфекция персистира, нараства рискът за развитие на предракови лезии и инвазивен карцином (114,115). Това подчертава важността на поставяне на диагноза, както и идентифициране на тези лезии, които са с най-висок риск за прогресия. Хистологичното изследване на материал от прицелна биопсия при колпоскопски атипизъм се смята за златен стандарт в оценката на лезиите. Въпреки това хистологичната оценка на тези лезии е ограничена от интерпретацията на морфологията, при което липсва информация по отношение риска за персистиране, прогресия или регресия (116). Основно разграничаване трябва да се направи между нормален епител и такъв с дисплазия (CIN), независимо каква степен; от друга страна да се разграничат нискостепенни (CIN 1) от високостепенни (CIN 2/3) лезии. Грешките в хистологичната диагноза водят или до излишно лечение на пациентки, които няма да имат полза от интервенцията, или обратното – забавяне на лечението на пациентки с високостепенни лезии при фалшиво-негативна диагноза. Жизненият цикъл на HPV и молекулярните промени, водещи до клетъчна трансформация, са основата на разработването на

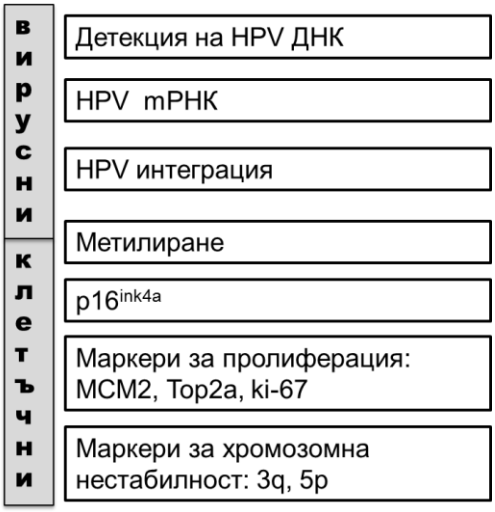
биомаркери, които биха могли да се използват като допълнение за подобряване диагностичната стойност на скрининговите методи, а също и да идентифицират пациентите с риск за прогресия към инвазивен РМШ (117,118,119).

Геномът на HPV се състои от циркулярна двойно-верижна ДНК, разделена на три региона:

- регулаторен регион, който контролира транскрипцията и репликацията
- „ранен" регион, кодиращ протеините E1, E2, E3, E4, E5, E6, и E7 (отговарят за репликацията, регулацията и модификацията на клетката-гостоприемник)
- „късен" регион, кодиращ капсидните протеини L1 и L2

Филогенетичната таксономия и класификация на папиломавирусите непрекъснато се допълва, но от високорисковите, 13 HPV генотипа (HPV тип 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) се смятат за карциногенни, докато други (HPV тип 26, 53, 66, 67, 70, 73, 82) – за потенциално канцерогенни при човека (28). Два вирусни онкопротеина, E6 и E7, повлияват ключови клетъчни вериги, които контролират пролиферацията и апоптозата. E7 възпрепятства свързването на тумор-супресорния ген pRb с E2F и така отключва неконтролирано клетъчно делене. E6 повлиява тумор-супресорния ген p53 и нарушава процесите на апоптоза, които нормално се включват при неконтролирана клетъчна пролиферация. E6 и E7 индуцират значителна хромозомна нестабилност в трансформираната клетка, дори в стадий на преканцероза (28,120).

Биомаркерите могат да се разделят на две основни групи (Vikrant VS et al., 2011): вирусни и клетъчни (фиг. 2) (121):



Фиг. 2 Биомаркери. Източник: Future Microbiol ©2011 Future Medicine Ltd

Тестуването за HPV ДНК е утвърден подход за скрининг на РМШ (122,123). Откриването на HPV в цервикални проби е една от първите и най-широко проучени алтернативи на цитологичния скрининг (124,125). Съвременните HPV тестове се базират на хибридизация със сигнална амплификация на HPV ДНК (Digene Hybrid Capture® 2 (hc2) (126) и Cervista® HPV HR (127), или на геномна амплификация с помощта на PCR (Amplicor® HPV Test и Cobas® HPV Test) (128,129). При ДНК тестовете резултатът отчита присъствие (позитивен тест), или липса (отрицателен тест) на високорискови HPV. Предимството на HPV тестовете са високата чувствителност и високата негативна предиктивна стойност (negative predictive value, NPV), тъй като липсата на карциногенни HPV показва изключително нисък риск за CIN 3/инвазивен карцином на МШ за следващите 5 – 10 години, позволявайки удължаване на скрининговите интервали (130,131). Приложението на HPV тестуването като самостоятелен първичен скрининг, или като допълнителен тест към

цитологичния скрининг е широко проучено (132,133,134,135,136,137,138). Резултатите от редица проучвания показват, че HPV ДНК тестовете имат по-висока чувствителност в сравнение с цитологията за откриване на CIN2. Koliopoulos G et al. (2007) правят мета-анализ на 25 проучвания и установяват чувствителност на HC2 – 90%, на PCR – 80,9%, а тази на цитологичния метод – 72,7% при праг ASCUS, и 61,6% при праг LSIL (139). Същият колектив докладва, че HPV тестовете имат по-ниска специфичност (86,5%) от тази на цитологичния метод (96%). Lynge E. et al. (2009) правят анализ на шест европейски рандомизирани проучвания, които сравняват цитонамазката с HPV тестуване и установяват твърде разнопосочни резултати, които не показват убедителни данни за преминаване към първичен скрининг само с HPV тест (140).

Ограничението на HPV тестовете е по-ниската им специфичност в сравнение с цитологичния метод. Болшинството HPV инфекции са транзиторни и не биха прогресирали до дисплазия или инвазивен РМШ (141,142). Преобладаването на доброкачествените и транзиторните HPV инфекции, както и ниската честота на преканцерозите на МШ, през втората и третата декада от живота, ограничават използването на ДНК HPV тестуването в тези възрастови групи. Ето защо този метод като първичен скрининг е подходящ единствено за жени над 30 години (143). Възможността за установяване на специфичния генотип на HPV осигурява допълнителна оценка на риска за HPV-позитивните жени, тъй като HPV 16 се свързва с лезии, които имат по-голяма вероятност да персистират и имат по-висок канцерогенен потенциал (144,145), а HPV 18 по-често се свързва с лезии в цервикалния канал, които биха могли да бъдат пропуснати от цитологията (146). Някои по-нови китове за HPV ДНК дават типово-специфична информация за HPV 16/18 (129,147,148,149).

Недостатъците на цитологичния и HPV-ДНК базирания метод за скрининг на РМШ са в основата на разработването на нови специфични биомаркери, базирани на HPV асоциирана трансформация в клетките (150,151). Прогресията от транзиторна към трансформираща HPV инфекция се характеризира с рязко увеличаване на HPV E6/E7 mPHK и съответната експресия на протеини. (152,153). Много проучвания оценяват ефективността на детекцията на mPHK транскрипти в цервикални проби за установяване на преканцерози на МШ (154,155,156,157,158,159,160,161). mRNA тестовете за високорисковите типове HPV корелират по-добре с тежестта на лезиите в сравнение с HPV ДНК тестовете, а детекцията на E6/E7 би могла да се използва като предсказващ маркер за идентификация на жени с риск за развитие на РМШ (162).

Последните години фокусът в превенцията на рак се измества към биомаркери, които са индикатор за начало на процеса на неопластична трансформация в HPV-инфектирани епителни клетки, в това число и РМШ (163). Търсенето на съответните маркери в инфектираните с HPV клетки е базирано на молекулните процеси, водещи до неопластична трансформация. Такъв биомаркер е $p16^{ink4a}$ – циклин-зависим киназа инхибитор, който има свръхекспресия в предракова и ракова цервикална тъкан. $p16^{ink4a}$ е клетъчния аналог на увеличената експресия на вирусния онкопротеин E7, който нарушава функцията на pRb, регулатора на клетъчния цикъл, при трансформиращите HPV инфекции. Нарушението във веригата на Rb води до компенсаторна свръхекспресия на $p16^{ink4a}$ по механизмана отрицателна обратна връзка (150,164). Акумулирането на $p16^{ink4a}$ в клетката е специфичен маркер за цервикални преканцерози и може да бъде установено чрез имунохистохимично оцветяване на цитологични или хистологини проби, както и с ELISA китове (165). Ефективността на маркера $p16^{ink4a}$ е проучена, както като самостоятелен

тест, така и като допълнение към цитологичния скрининг (166,167,168,169,170), или HPV тестуването (167,171,172). Чувствителността на $p16^{ink4a}$ за детекция на CIN2+ според различните проучвания е между 59% и 96%, а специфичността между 41% and 96%, като големите различия се обясняват с интерпретацията на теста и проучваната популация. Последните години е въведено двойно имунохистохимично оцветяване: $p16^{ink4a}$ и Ki-67 (CINtec® PLUS), което би трябвало да опрости и стандартизира оценката на оцветените предметни стъкла (167,170). Ограничението на метода е резултат от свръхекспресията на p16 и при физиологични процеси като сквамозна метаплазия, както и наличието му в ендоцервикални клетки. В тези случаи се разчита на интерпретация на морфологичната характеристика на пробата, а тя е твърде субективна и може негативно да повлияе чувствителността и специфичността на метода. Съществува и кръстосана ИХХ реакция, която води до фалшво-положителни резултати. Освен това използването на имунохистохимичните методи изисква специализирана апаратура и китове, като крайната цена на теста е висока и това ограничава приложението му.

Активацията на клетъчния цикъл, медиирана от HPV онкогените, при трансформиращите инфекции се характеризира с аберантна индукция на S-фазата. Разработени са устройства, които улавят два протеина, които са индикатори за тази аберантна индукция: топоизомераза IIA (TOP2A) и минихромозомен поддържащ протеин 2 (MCM2) (173). Проучванията показват чувствителност на този метод между 67% и 99% и специфичност между 61% и 85% (174,175,176).

Други вирусни маркери като HPV L1 капсиден протеин (177,178) и E6 онкопротеин (179,180) са оценени в малък брой проучвания и е необходим още опит с тях, за да се установи тяхната ефективност. В процес на проучване са и епигенетични маркери (ДНК метилиране)

(181,182,183,184); хромозомни амплификации и делеции (185,186,187,188,189); miРНК (190,191); също и различна експресия на определени протеини (192,193).

HPV тестовете биха могли да се използват за първичен скрининг и да са икономически целесъобразни, тъй като позволяват удължаване на скрининговите интервали след негативен резултат. Все още не са широко разпространени в страни със слаба икономика, заради цената. Специфични биомаркери като $p16^{ink4a}$, HPV E6/E7, mRNA, или китовете за метилиране, могат да се използват като допълнителен тест след позитивен HPV ДНК тест, за да установят кои от съответните жени имат по-висок риск за прогресия към инвазивен карцином на МШ. Необходими са още проучвания за да се определи комбинацията от тестове, която дава оптимална стратификация на риска за РМШ.

- **Оптико-електронен анализ (TruScreen®)**

Както честотата, така и смъртността от цервикален рак са рязко намалели в редица страни, благодарение на въвеждането на добре организирани скринингови програми. В Исландия смъртността от рак на маточната шийка за 20 годишен период на действаща скринингова програма е с 80% по-ниска в сравнение с тази преди това, а във Финландия и Швеция съответно с 50 % и 34% (194). Анализът на цервикалния скрининг в Исландия за периода 1964-1991г. от екипа на Sigurdsson K (1993) показва, че освен намаляване на заболеваемостта и смъртността от РМШ, тази стриктна вторична профилактика повлиява и честотата на микроинвазивния карцином и диагнозата на инвазивен РМШ се поставя в ранни стадии (195). Редица проучвания показват, че рискът за развитие на инвазивен цервикален рак е три до десет пъти по-висок при жени, които не

са скринирани (196,197,198,199). Липсата на организирана скринингова програма и достатъчно ресурси в някои страни (вкл. България) е причина за „изпускане" на голяма част от случаите с цервикален рак и късно поставяне на диагнозата. Това налага търсене на алтернативни методи за ориентировъчна оценка на състоянието на маточната шийка, които не изискват специални умения, имат разумна себестойност и са лесно приложими в ежедневната практика на гинеколога.

Real-time устройствата използват in vivo техники за измерване, компютъризиран анализ и класифициране на различни типове цервикалната тъкан. TruScreen® (Singer A. et al., 2003) представлява електро-оптична система за изследване на маточната шийка в реално време (200,201,202,203,204,205). TruScreen® едновременно отчита реакцията на светлина на цервикалната тъкан (коефициент на отражение и пречупване) с оптични сензори за дължина на вълната във видимия и инфрачервения спектър и прави оценка на електрическите свойства и реакция на цервикалната тъкан. Системата автоматично категоризира тъканта след комбиниране на спектроскопичната информация и електрическото затихване. Всеки преглед започва с калибриране. Следва поставяне на стерилен индивидуален накрайник – SUS (single use sensor). Процесът на изследване протича чрез допир на накрайника до 16 – 32 точки (полета) от маточната шийка, като операторът се насочва през цялото време от различните цветове светодиоди на накрайника. Получената информация се филтрира и обработва от микропроцесор и параметрите се сравняват с вградена база данни. В края на изследването резултатът се принтира, като той може да бъде следните варианти: Нормален (Normal); Атипичен (Abnormal); Незадоволителен (Inadequate), или Липсват данни (No data).

Редица проучвания разглеждат ефикасността на TruScreen® като метод за установяване на преканцерозите на МШ (205,206,207).

Мултицентровото проучване на Singer A. et al. (2003) намира чувствителност на метода при праг от хистологичното изследване CIN2+ – 70%, а при праг CIN1 – 67% (200). Pruski D. et al. (2008) установяват специфичност на спектрофотометричния анализ на МШ 84%. Чувствителността, която намира същия колектив се различава за отделните лезии: 53% за CIN1,2 и 80% за CIN3 (205). **Резултатите от проучването на S.Long и сътр. показват** чувствителност на **TruScreen® като самостоятелен** метод за първичен скрининг 67,4%, и специфичност съответно 68,1% (208). **На места, където липсва организирана скринингова програма е възможно използването на TruScreen® за първичен скрининг за РМШ.** Според други автори комбинирането на TruScreen® и PAP-тест в сравнение с PAP-тест като самостоятелен скринингов метод, повишава чувствителността (93,8%) и специфичността (79,5%), като намалява фалшиво-отрицателните резултати до 6,3%. Тази комбинация обаче увеличава фалшиво-положителните резултати – 82,2% (209). Това неминуемо е свързано с излишно насочване на пациентите за колпоскопия и извършване на излишни биопсии. В нашето пилотно проучване статистическата обработка на данните показа чувствителност на TruScreen® – 53,85%; специфичност – 78,79%; позитивна предиктивна стойност – 75,00%; негативна предиктивна стойност – 59,09% и ефикасност на метода – 65,28%.

II.2.3.2. Място, възможности и граници на новите технологии

От разгледаните нови технологии за диагностика и скрининг на РМШ най-голям опит има с HPV-ДНК тестовете. Тяхно предимство са високата чувствителност и високата NPV. Липсата на карциногенни HPV показва изключително нисък риск за инвазивен РМШ за следващите 5 – 10 години, което позволява удължаване на наблюдаваните интервали. Така например в кохортно проучване в Европа върху повече от 24 хиляди жени (Dillner J. et al., 2008) е установено, че кумулативната честота на CIN3+ е значително по-ниска след негативен HPV тест (0,27%) отколкото след негативна цитонамазка (0,97%). За сравнение тези автори дават кумулативната честота за CIN3+ при най-често срещания в Европа интервал за проследяване, а именно 3 години, която е 0,51% (130). Мащабно проспективно проучване в Калифорния, включващо 331 818 пациентки (Katki HA et al., 2011) докладва за 5-годишна кумулативна честота на РМШ 3,8 на 100 000 жени при негативен HPV тест в сравнение с 7,5 на 100 000 жени при негативна цитонамазка (131). R. Litjens et al. (2013) правят критична оценка по отношение въвеждането в практиката на биомаркери за РМШ (210). Авторите показват, че те са обещаващи, но все още няма достатъчно проучвания по отношение на тяхната ефикасност и възможност за прогнозиране вероятността към прогресия към инвазивен РМШ, освен това цената им е относително висока.

Спектрофотометричния анализ на МШ (TruScreen®) представлява алтернатива за оценка на цервикалния епител. Лесното му приложение, липсата на субективен елемент и получаването на резултат в рамките на прегледа го прави удачен за ежедневната практика на гинеколога. В проспективно проучване колективът на Pruski D. намира специфичност на този метод 84% (205). He XK et al. сравняват диагностичната стойност на

TruScreen® и цитонамазката и установяват високи стойности за специфичността и при двете техники, съответно 96,7% и 93,7% (207). Високата специфичност на даден диагностичен тест позволява той да бъде използван като скринингов такъв. В отделните проучвания чувствителността на спектрофотометричния анализ варират от 53% до 80% (200,205). Различните резултати, които съобщават отделните колективи правят наложително провеждане на още проучвания за установяване на приложимостта на спектрофотометричния анализ, самостоятелно или в комбинация, за оценка състоянието на цервикалния епител. Това ще покаже има ли място този метод в практиката на гинеколога.

II.3. ВЪЗМОЖНОСТИ НА РАЗЛИЧНИТЕ СХЕМИ/ПРОТОКОЛИ ЗА СКРИНИНГ И РАННА ДИАГНОСТИКА НА ПРЕДРАКА И РМШ

РМШ може да бъде профилактиран. Страните с действащи скринингови програми имат най-ниски заболеваемост и смъртност (194,195). Остава въпросът какво би могло да се направи на места, където няма организиран цервикален скрининг, особено в условията на слаба икономика. Удачно е да се провери съществуват ли алтернативни на цитологичния скрининг методи, които лесно биха могли да се използват за вторична профилактика на РМШ и да са с разумна себестойност.

Проучването LAMS (Latin American Screening study) (Arbyn M. et al., 2008) е едно от най-мащабните кохортни проучвания (над 12000 жени), като целта му да сравни различни скринингови методи за ранна диагноза на РМШ (цитонамазка, HPV-ДНК тест, цервикография, методи за визуална

инспекция: VIA и VILI) (211). Резултатите от проучването показват сходни стойности за чувствителност (57%) и специфичност (93%) на цитонамазката като скринингов тест с тези на предходни проучвания (49,139,211,212). Ниските стойности на чувствителността на цитонамазката налагат редовното повтаряне на този тест през малък интервал от време (1 година). Методите на визуална инспекция VIA и VILI, като самостоятелни скринингови методи, имат ниска специфичност – и при двете техники 84%. От всички алтернативни методи за скрининг на РМШ, HPV тестовете (HC II) са сред най-интензивно проучваните тестове и обект на непрекъснати мета-анализи (136,139,211,213,214). В кохортното проучване LAMS, HCII (Hybrid capture II) има висока чувствителност (80%), но важен да се отбележи е фактът, че при 15% от тези пациенти е била извършена ненужна колпоскопия. Причината за това е, че има голям процент фалшиво положителни резултати при прилагане на теста при жени под 30 години. В проучването си Syrjänen K. et al. (2008) намират, че както конвенционалната цитонамазка, така и HPV тестовете (HC II) имат по-добро клинично представяне при жени над 35 години (215). Техният анализ установява, че само LBC и VIA имат еднакви статистически показатели при жени под и над 35г.

Резултатите от цервикографско изследване на МШ са различни при отделните проучвания. Costa S. et al. сравняват самостоятелното изследване на МШ с цитонамазка и цервикография, както и при комбиниране на двата метода. Техните резултати показват, че тази комбинация повишава чувствителността на 95%, но води до значително понижение на специфичността (44%) (216). Schneider DL et al. (1999) намират 49,3% чувствителност на цервикографията (83). Освен това успоредното използване на двете техники не е довело до разлика в позитивната предиктивна стойност (43%). За разнопосочните резултати на

метода и ниската възпроизводимост имат значение наличната апаратура, качеството на цервикограмите и квалификацията на съответните специалисти, които ги разчитат. В мултицентровото проучване на De Sutter P et al. (1998) авторите установяват, че квалифицираните специалисти, разчитащи церикограмите имат успеваемост 80,6%, в сравнение със специалистите без достатъчно опит – 56,6% (217). Тези недостатъци и ограничения на метода са причината, поради която цервикографията вече не се смята за алтернатива на Pap-теста, или HPV ДНК теста за скрининг на РМШ.

Всички гореспоменати методи и техники могат да бъдат използвани като самостоятелен скринингов и диагностичен тест за РМШ. Логична изглежда възможността за комбиниране на тест с висока чувствителност с такъв, който има висока специфичност (218). В проучването LAMS (Latin American Screening study), комбинирането на конвенционална цитонамазка с VIA показва оптимален баланс между чувствителност, специфичност и ненужно насочване към колпоскопия. Чувствителността на тази комбинация от методи е 87,1 % (103). Комбинацията между конвенционална цитонамазка и VILI има дори по-висока чувствителност (95%), но за сметка на почти двойно по-голям брой ненужни колпоскопии.

Съществуват различни протоколи за вторична профилактика на РМШ. Най-често се използва един единствен метод: конвенционалната или течно-базирана цитонамазка, или HPV-тест. В други случаи се използва комбинация от два метода (ко-тестуване): цитология и HPV-тест. Необходимо е да се уточни следното:

- какъв метод е удачно да се използва, особено в зависимост от възрастовата група

- дали да е моно-тест, или да се използва и допълнителен тест, в една или две фази на прилагане
- какъв да е оптималния интервал за проследяване
- как да се осъществява проследяването в зависимост от това дали последващият тест е позитивен, или негативен
- от каква възраст подлежи една пациентка на профилактичен преглед и кога се прекратява той
- как да се проследяват жени, които имат HPV ваксинация

Съгласно препоръките на Комитета по цервикален рак (Cervical Cancer Guidelines Committee) (219):

1. Възрастта, от която жената подлежи на цервикален скининг е 21 години, независимо от началото на половия живот.
2. Скрининговият интервал зависи от възрастта на жената и клиничната история:
    a) 21 до 29 години:
        – само цитологичен скрининг на всеки 3 години (при негативни резултати)

    ! HPV-тестуване не е удачно в тази възрастова група, нито като самостоятелен тест, нито като ко-тест

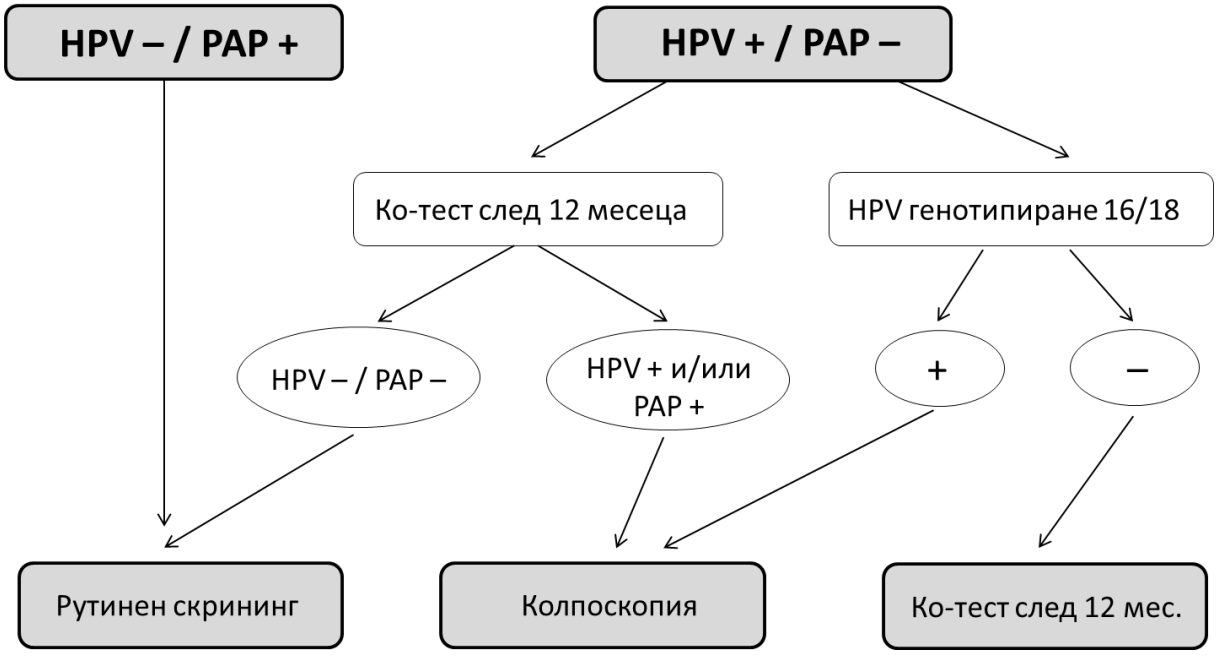
    b) 30 до 65 години:
        – ко-тест цитология + HPV на всеки 5 години (желателно)
        – само цитология на всеки 3 години (допустимо)

    ! Не се препоръчва използването на HPV-тест за самостоятелен скрининг (изключение е Норвегия, където се използва самостоятелно HPV-тест)

    c) над 65 години:

- при адекватни негативни резултати от скрининга (3 последователни негативни цитонамазки, или 2 последователни негативни ко-теста в рамките на 10 години преди прекратяване на скрининга и последен резултат преди по-малко от 5години) и отсъствие на CIN 2+ последните 20 години не подлежат повече на скрининг
- при анамнеза за CIN 2, CIN3, или AIS, рутинният скрининг продължава поне 20 години след регресията, или адекватното лечение на съответната неоплазия (независимо от възрастта)
- жени с тотална хистеректомия без история за CIN 2+ не подлежат на скрининг

3. Поведение и проследяване в зависимост от резултатите от PAP – теста и HPV – теста (фиг.3):



Фиг. 3 Препоръки за вторична профилактика на РМШ (Cervical Cancer Guidelines Committee. Ann Intern Med., 2015 Jun 16;162(12):851-9)

4. Към момента при жени с HPV ваксинация не съществува различен протокол за цервикален скрининг.

Ползи от прилагане на горепосочените препоръки:

- Намаляване на заболяемостта и смъртността от РМШ
- Диагностициране на прекурсорите на РМШ, които са с по-голям риск за прогресия към инвазивен процес
- Избягване на ненужно лечение на транзиторните HPV инфекции и асоциираните с HPV бенигнени лезии

Потенциални вреди:

- Тревожност при фалшиво позитивен резултат от скрининговите тестове
- Дискомфорт при допълнителните диагностични и лечебни процедури
- Кървене при различните процедури
- Повишен риск за усложнение при бременност (напр. преждевременно раждане след диатермокоагулация (ДТК), електроконизация – Large Loop Excision of Transformation Zone (LLETZ), конизация)
- Потенциално „набеждаване“ за наличие на сексуално-трансмисивно заболяване (СТЗ)

Препоръките за поведение при абнормни резултати от цервикалния скрининг на Европейската федерация по колпоскопия (EFC) (220) са основани на мета-анализ за вероятността за регресия, или прогресия на всяка една от категориите от Bethesda системата (19). При резултат ASCUS рискът за наличие на подлежаща CIN 2+ е 10%, а за CIN 3+ е 6% (221,222). Тези данни показват, че пациентка с резултат ASCUS от цитологичния

скрининг подлежи на по-нататъшно уточняване. Според EFC има три възможности:

- ДНК тест за високорискови HPV (при отрицателен тест – повторна цитонамазка след 1 година; при положителен тест – колпоскопия)
- Повторна цитонамазка след 6 – 12 месеца (нормален резултат – връщане към рутинния скрининг; ASCUS – нова цитонамазка в рамките на 6 – 12 мес., ако персистира този резултат – колпоскопия; резултат по-тежък от ASCUS – колпоскопия)
- Колпоскопия – удачна, само при невъзможност за адекватно проследяване на съответната пациентка. Според много експерти незабавно насочване към колпоскопия в тези случаи е хипердиагностика (223). При жени с резултат ASCUS и клинични, или цитологични данни за атрофия се препоръчва повторна цитонамазка след вагинално приложение на естрогени. Ако такъв резултат е получен при пациентка с данни за възпалителен процес, повторната цитонамазка се прави след адекватно антимикробно лечение.

При резултат LSIL от цитологичния скрининг честотата на CIN 3 варира между 14 и 18% (224). Тъй като в повечето случаи ДНК тест за високорискови HPV като първи избор не е достатъчно селективен, за тези пациентки съществуват две възможности:

- Повторна цитонамазка (особено при млади нераждали жени): извършва се през 6 месечни интервали до два последователни нормални резултата; при резултат ≥ASCUS се насочва към колпоскопия
- Колпоскопия

Ако цитологичният тест показва HSIL, пациентката се насочва директно за колпоскопия и прицелна биопсия.

Скрининговата политика за РМШ се различава значително в отделните страни най-вече по отношение на таргетната възрастова група, скрининговия интервал, самата организация на скринига, качествения контрол на лабораториите, броя на прегледите и последващото поведение. Здравните програми зависят от икономическата целесъобразност на методите, използвани за цервикален скрининг. Икономическите анализи „цена-ефективност“ най-общо оценяват цената (себестойността) на метода, евентуалното намаляване на разходи за лечение на инвазивен процес и потенциалните здравни ефекти, като години съхранен живот и съхранените години с добро качество на живот. Когато се сравняват различни методи за цервикален скрининг, и особено когато се въвежда нов метод, трябва да се вземат под внимание следните подробности:

- Методът да е с по-ниска цена при същите години съхранен живот
- Алтернативният метод да е поне толкова ефективен, колкото утвърдения действащ такъв
- Ако методът е по-скъп, трябва да е по-ефективен (намаляване на разходите за лечение на напредналите стадии, увеличаване на съхранените години с добро качество на живот)

Сравнението „цена-ефективност“ между две скринингови стратегии зависи от съотношението между разликата в цената им и разликата в годините съхранен живот. В повечето развити страни действа стратегията „три посещения“ – първо посещение за скринингов тест, второ посещение за диагностично уточняване (колпоскопия и прицелна биопсия) при жени с позитивен резултат от теста и трето посещение за лечение в случаите с хистологично потвърдена цервикална неоплазия.

В страни със слаба икономика са по-разпространени стратегиите „две посещения“ – първо за скринингов тест и второ за лечение при

положителен резултат от теста (без уточняваща диагностика); и „едно посещение“ – скрининг и лечение в рамките на същото посещение при позитивен тест. В последния случай скринингът за РМШ се провежда с методи за визуална инспекция (с оцетна киселина, VIA, и с Луголов разтвор, VILI). Мащабното проучване на Sue J. Goldie et al. (2001) установява, че в условията на слаба икономика и липса на действаща програма за цервикален скрининг стратегиите с едно, или две посещения са по ефективни и с по-ниска цена (визуална инспекция вместо цитологично изследване), най-вече поради липсата на разходи за последваща уточняваща диагностика и по-важно, заради елиминирането на факта, че повечето жени отпадат от проследяване (не се явяват повторно) (225). В същото проучване е сравнена и цената (себестойността) на конвенционалната цитонамазка – 9,30$ (7,00-12,00), и тази на визуалната инспекция – 1,61$ (0,50-3,00). У нас цената на конвенционалната цитонамазка е около 10лв (48). (цервикални четки/шпатули, 95^{o} етилов алкохол за фиксиране, предметни стъкла с матиран край за нанасяне на пробите, багрила за оцветяване по Hemalaun-Eosin, оценка от цитопатолог). За визуалната инспекция с оцетна киселина (Visual inspection with acetic acid, VIA) са необходими единствено ледена оцетна киселина (1000мл. – 14лв.) и дестилирана вода (1000мл. – 1,70лв.). Дори при необходимост от повторно нанасяне на напоен с 5% оцетна киселина тупфер, цената на прегледа (без труда на гинеколога) е 1,50лв. Луголовият разтвор се приготвя от калиев йодид, йодни кристали и дестилирана вода. Цената на 1000 мл. готов разтвор е около 20лв. Цената на визулната инспекция с Луголов разтвор (Visual inspection with Lugol’s iodine, VILI) е около 2,00лв. Консумативите, необходими за спектрофотометричния анализ на маточната шийка с TruScreen®, са еднократен стерилен накрайник и термо-хартия за отпечатване на резултата – около 16,00лв. (без инвестицията за самия апарат).

По отношение на страните със слаба икономика сравнението между различните методи за цервикален скрининг се прави и спрямо липсата на какъвто и да било скрининг за РМШ през живота на жената. При използване на визуална инспекция като метод за цервикален скрининг се намалява риска за развитие на инвазивен РМШ от 25% до 31%, ако такъв преглед се извърши еднократно на 35 годишна възраст. При провеждане на цервикален скрининг с визуална инспекция на МШ три пъти (на 35, 40 и 45 годишна възраст) се наблюдава допълнително намаляване на риска за инвазивен РМШ с още 15% (Sue J. Goldie et al., 2005) (226). Ефективността на една скринингова програма зависи до голяма степен и от организационни фактори. От една страна е необходимо адекватно финансиране. От друга страна е нужно подсигуряване на максимален популационен обхват (>75-80% от жените, според анализи на СЗО) за постигане на ефективно повлияване на епидемиологичните показатели за РМШ. Не трябва да се забравят регистрацията и проследяването на отделните случаи, както и качествения контрол на всяко от нивата (252).

Актуален е въпросът за първичната профилактика на РМШ, а именно ваксинацията срещу HPV. Към момента в световен мащаб ваксинираните жени подлежат на рутинен цервикален скрининг, който не се различава по начин на провеждане и интервали на проследяване от този при неваксинираните жени.

Националните препоръки за цервикален скрининг и проследяване на пациентките в отделните страни се различават и съответните специалисти се ръководят от тях. Във всеки случай поведението на гинеколога трябва да е съобразено с конкретната находка.

У нас последните години се провежда само опортюнистичен (спонтанен и неорганизиран) скрининг, при който на изследване се явяват

малък брой жени по собствена инициатива, или при наличие на оплаквания. Друга възможност е НРД със специалисти от доболничната помощ. От 2013г по Оперативна програма „Развитие на човешките ресурси”, съфинансирана от Европейския социален фонд на Европейския съюз се осъществява проект „СПРИ и се прегледай“ (Проект BG051PO001-5.3.02-0001-C0001**; http://www.nsr.mh.government.bg)**. Проект „СПРИ и се прегледай“ не замества една програма за скрининг, а е пилотен проект, който цели въвеждане на модел за организиран скрининг на ракови заболявания, съгласно препоръката на Съвета на Министрите на ЕС. Стартирането на модела през 2013 година показва, че той се възприема и че работи на национално ниво, благодарение на създадената мрежа от регионални координатори на скрининга (в Регионалните здравни инспекции) и благодарение на създадената информационна система: Национален скринингов регистър и система за известяване. В скрининговия регистър се съхранява информация за всички, проведени по определена скринингова програма, скринингови тестове. Тази информационна система дава възможност за сравняване на резултатите на лицата за определен период от време, анализ на резултатите и оценка на ефективността на скрининговите програми. В регистъра се съхранява информация за поканените за преглед и прегледаните лица. Тъй като е пилотен проект, не могат да бъдат обхванати всички жени, подлежащи на скрининг. Тъй като ефикасността на цитонамазката като скринингов метод зависи от редица логистични и социо-икономически фактори, би било удачно, особено на места, където липсват цитологични лаборатории, специалистите да разчитат на алтернативни методи за точна оценка на състоянието на МШ. Разгледаните резултати от проучването LAMS ясно показват, че освен цитонамазка за скрининг на РМШ могат да се използват in vivo методи като TruScreen®, както и методите за визуална инспекция на МШ: VIA и VILI. In vivo методите са бързи, резултатът се получава в

рамките на прегледа, технически лесни за изпълнение, не изискват специална квалификация и сложна инфраструктура. Освен тези предимства, двата вида визуална инспекция на МШ са и евтини като крайна цена на изследването, което ги прави удачна алтернатива за ежедневната практика на гинеколозите в България. VIA и VILI не трябва да бъдат подценявани като техники за оценка на цервикалния епител, тъй като са доказали своята ефективност за откриване на прекурсори на РМШ, не само в страни със слаба икономика (91). В България до момента не е проведено проучване, целящо да анализира клиничното представяне на методите за визуална инспекция на МШ. От другите in vivo методи, които съществуват на българския пазар, TruScreen® също не е детайлно проучен като ефективност за диагностика на рака и предрака на МШ. Всеки специалист разполага с достатъчно разични методи за установяване на промените на цервикалния епител. По този начин акушер-гинеколога има избор в зависимост от наличните условия, а проучвания ще покажат кой метод, или комбинация от такива са лесно приложими в практиката и също така удачни за икономическата ситуация в България.

III. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

ЦЕЛ: Да проучим възможностите на различни методи за ранна диагностика на предрака на маточната шийка, като на основание на получените резултати да оптимизираме приложението им в схемата на цервикалния онкологичен скрининг

ЗАДАЧИ:

1. Да анализираме състоянието на епитела на маточната шийка в изследваните пациентки, на база хистологичните находки от биопсични материали
2. Да проучим резултатите от приложението на класическата цитонамазка на маточната шийка
3. Да оценим предимствата и недостатъците на визуалните методи на диагностика на маточната шийка (VIA и VILI)
4. Да проучим възможностите на спектрофотометричния метод за откриване изменения на маточната шийка
5. Да сравним диагностичната сигурност на проучваните методи, самостоятелно или в комбинация
6. На основание получените резултати да оптимизираме приложението на различните диагностични методи в схемата на цервикалния онкологичен скрининг

IV. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

IV.1. КЛИНИЧЕН МАТЕРИАЛ И ОСНОВАНИЯ ЗА РАЗПРЕДЕЛЕНИЕТО НА ОТДЕЛНИТЕ ГРУПИ

Касае се за проспективно проучване, проведено от октомври 2011г. до януари 2015г. в Онкопрофилактичния кабинет на ДКБ на СБАЛАГ „Майчин дом“ – София. Обхванатa беше случайно подбрана група от 532 жени, поредни по съгласие, за участие в диагностично изследване за оценка здравното състояние на маточната им шийка. Първоначално от м. октомври 2011г. до м. ноември 2012г. пилотно бяха изследвани 263 пациентки, а по-късно и останалите 269 за периода от м. януари 2013г. до м. януари 2015г.

Критерии за включване:

- Небременни жени
- Възраст между 18 и 65 години

Критерии за изключване:

- Virgo intacta
- Предхождаща терапия на маточната шийка по повод CIN
- Хистологично доказан инвазивен карцином на МШ
- Наличие на активен колпит

В крайната разработка на дисертационния труд изключихме група от 90 жени от пилотното проучване, чиято маточна шийка бе изследвана единствено с колпоскопия. Основание за това беше решението във всяка една група от проучването да провеждаме колпоскопия и прицелна

биопсия след съответния диагностичен тест, тъй като хистологичният резултат е златен стандарт за верифициране реалното състояние на цервикалния епител. 18 случая бяха изключени поради наличие на инвазивен РМШ, 29 случая отпаднаха поради активен възпалителен процес, засягащ цервикалния епител, а 14 пациентки отказаха извършването на прицелна биосия. От групата пациентки, при които изследвахме цервикалния епител със спектрофотометрия, 2 случая бяха с резултат Inadequate, а 1 – с резултат No data, които също не бяха включени в обработката на резултатите, поради липса на информаци за клиничното представяне на метода.

Във връзка с целта на дисертационния труд и поставените задачи, останалите 378 пациентки бяха разделени в следните клинични групи:

I (първа група) – жени, при които беше извършено цитологично изследване на МШ (**класическа цитонамазка, PAP-тест**): 99 случая

II (втора група) – жени, при които беше извършена визуална инспекция на МШ с оцетна киселина (Visual inspection with acetic acid, **VIA**): 95 случая

III (трета група) – жени, при които беше извършена визуална инспекция на МШ с Луголов разтвор (Visual inspection with Lugol's iodine, **VILI):** 92 случая

IV (четвърта група) – жени, при които беше проведена спектрофотометрия на МШ с помощта на **TruScreen®**: 92 случая

Подобно на проучването LAMS (Latin American Screening study) (Arbyn M. et al., 2008) (211) бяха сформирани и две подгрупи, при които

оценката на МШ бе извършена с помощта на комбинация от два метода, а именно:

I-ва подгрупа – жени, при които бяха извършени **VIA и цитонамазка (PAP-тест)**

II-ра подгрупа – жени, при които бяха извършени спектрофотометричен анализ **TruScreen® и цитонамазка (PAP-тест)**

IV.2. ОПИСАНИЕ НА ИЗПОЛЗВАНИТЕ МЕТОДИ, АПАРАТИ И КЛАСИФИКАЦИИ

IV.2.1. ГИНЕКОЛОГИЧНА АНАМНЕЗА И СТАТУС:

- Възраст
- Паритет (брой раждания и аборти)
- Менструален цикъл (интервали, продължителност, интензитет, интерменструални прокървявания)
- Антиконцепция
- Субективни оплаквания (флуор, контактно кървене, неправилни маточни кръвотечения)
- Предходна терапия на МШ

IV.2.2 СПЕЦИАЛИЗИРАНИ АКУШЕРО-ГИНЕКОЛОГИЧНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ

IV.2.2.1. ЦИТОЛОГИЧЕН МЕТОД

В рамките на проучването беше извършвана конвенционална цитонамазка. Цитологичният материал от МШ се взимаше по класическия способ с помощта на цервикални четки - една за PVCU (материал от екзоцервикса) и втора за цервикален канал (материал от ендоцервикса). При наличие на голяма по площ ектопия, за цитологичен материал от PVCU бе използван стерилен памучен тампон с оглед избягване на излишно кървене. Цитологичният материал се нанасяше на две отделни предметни стъкла с матиран край, съответно надписани за PVCU и CC, както и обозначение за конкретната пациентка. Стъклата с цитологичния материал се фиксираха с 95^{o} етилов алкохол. По нататъшната обработка на така подготвените препарати се осъществяваше в лаборатория по обща и клинична патология към СБАЛАГ „Майчин дом“, като за оцветяването на пробите беше използван Hemalaun-Eosin. Оценката на цитонамазките бе извършвана от един патолог и резултатите бяха представяни по класическите критерии на на Papanikolaou-Koss в модификация на К. Цанев (1989) на съответен фиш (Приложение-фиг.1). За улеснение и съответно адекватно групиране на пациентките, за ***негативен тест*** от цитологичния скрининг приехме резултат ***I-ва и II-ра група*** по **Papanicolaou**, а за ***позитивен*** - **≥** ***III-та група*** по **Papanicolaou.**

IV.2.2.2. МЕТОДИ ЗА ВИЗУАЛНА ИНСПЕКЦИЯ НА МАТОЧНАТА ШИЙКА

В настоящото проучване оценихме ефикасността на двата метода за визуална инспекция на МШ: визуална инспекция с оцетна киселина (Visual inspection with acetic acid, VIA) и визуална инспекция с Луголов разтвор (Visual inspection with Lugol's iodine, VILI). И в двата случая огледът на маточната шийка се извършва с невъоръжено око, като необходимо условие бе наличие на външен източник на светлина.

ВИЗУАЛНА ИНСПЕКЦИЯ С ОЦЕТНА КИСЕЛИНА (Visual Inspection with Acetic acid, VIA)

VIA започвахме с поставяне на стерилен спекулум и визуализиране на маточната шийка и нейния нативен оглед. Отбелязва се големината и формата на МШ, разположението на външния отвор на цервикалния канал (orificium externum canalis cervicalis, OECC), наличие или отсъствие на ектопия, многослоен плосък епител, границата между цилиндричен и плосък епител (ГЦПЕ), зона на трансформация (ZT). Последната е особено важна, тъй като в тази област стартират неоплазиите, най-вече в близост до ГЦПЕ. Описват се находки като ектропион, цервикални полипи, ov. Nabothi, лацерации, атрофия при постменопаузални жени, левкоплакия, папиломи и признаци за наличие на активен колпит. След нативния оглед на МШ аплицирахме 5% оцетна киселина с помощта на добре напоен памучен тупфер. Със сух стерилен тупфер се попиваше останалото количество от разтвора в задния влагалищен свод. Следеше се за поява на оцетно-бели лезии 30 – 60 секунди след аплицирането на оцетната киселина. Подробности, които също бяха взимани под внимание, бяха

интензитета на побеляване на лезиите (плътни, лъскави, бели, прозрачни), техните граници (ясни, дифузни, плоски, надигнати спрямо околния епител, правилни, неправилни), хомогенност на побеляването в рамките на лезията, разположение на лезията (спрямо ГЦПЕ, площ, дали навлиза в цервикалния канал), брой на лезиите. При наличие на съмнение и липса на сигурност повтаряхме аплицирането на 5% разтвор на оцетна киселина.

Резултатът от VIA се класифицираше в една от следните три категории (Обзор, табл.4):

1. тест – негативен
2. тест – позитивен
3. суспектен за карцином

Тест-негативен:

- Липса на оцетно-бели участъци по PVCU
- Цервикален полип
- Ov. Nabothi
- Розово-бели, синкаво-бели, бледи прозиращи участъци, с неясни граници, сливащи се с околния епител
- Оцетно-бели лезии с неправилни граници като географска карта, отдалечени от ГЦПЕ (сателитни лезии)
- Бледи, подобни на линия слабо отграничени участъци на ГЦПЕ
- Побеляване на цилиндричния епител
- Слабо отграничени бледи пръснати по цялата МШ оцетно-бели лезии

Тест-позитивен:

- Ясно отграничени, плътни (непрозрачни, матови, или сивкави) оцетно-бели участъци близо до, или ангажиращи ГЦПЕ в ЗТ, както и навлизащи в СС, ако ГЦПЕ е непълно видима
- Плътни оцетно-бели участъци в цилиндричния епител
- Плътно побеляване на цялото PVCU след апликация на оцетна киселина
- Интензивно побеляване на папилом, или левкоплакия в близост до ГЦПЕ

Тест-позитивен, инвазивен карцином:

- Клинично видим улцеро-пролиферативен растеж в областта на МШ, който става плътно бял при аплициране на оцетна киселина, или кърви лесно при допир

На фиг. 4 са онагледени примерни находки на случаи от нашето проучване при негативен и позитивен тест от VIA.

VIA резултат	**Примерни находки**
Негативен	
Позитивен	

Фиг. 4 Различни находки при VIA на пациентки от проучването

След края на визуалната инспекция резултатът бе съобщаван на пациентката, като й се разясняваше и последващото поведение (при наличие на суспектна находка – насочване за колпоскопия и прицелна биопсия). Резултатът се нанасяше и на работен фиш за съответната пациентка (Приложение-фиг. 2).

ВИЗУАЛНА ИНСПЕКЦИЯ С ЛУГОЛОВ РАЗТВОР (Visual Inspection with Lugol's Iodine, VILI)

След поставяне на подходящ за пациентката стерилен спекулум и визуализиране на МШ, се прави нативен оглед на последната (големина, форма). Следваше идентифициране на ОЕСС, цилиндричния епител (червеникав на цвят), сквамозния епител (бледо розов) и ГЦПЕ. Огледът продължаваше с определяне на зоната на трансформация, горната граница на която се формира от ГЦПЕ. Отбелязвахме наличие на ектропион, цервикални полипи, ov. Nabothi, лацерации, атрофия, левкоплакия, папиломи и признаци за цервицит.

VILI продължаваше с аплициране на Луголов разтвор върху МШ с помощта на стерилен памучен тупфер. Излишното количество Луголов разтвор в задния влагалищен свод се попиваше със сух памучен тупфер. От значение за този тест бе появата на участъци, които не поемат Луголовия разтвор (бледи, жълтеникави), особено в областта на ЗТ в близост до ГЦПЕ. В работния фиш за съответната пациентка се отбелязваше

резултатът от визуалната инспекция, като той се класифицира в три категории (подобно на VIA) (Обзор, табл. 5):

1. тест – негативен
2. тест – позитивен
3. суспектен за карцином

Тест-негативен:

- Сквамозният епител се оцветява махагоново-кафяво, или почти черно, а цилиндричният епител не си променя цвета
- Неясни, слабо отграничини, неоцветени, или частично поемащи Луголовия разтвор участъци
- Бледи, или слабо оцветени лезии по повърхността на цервикални полипи
- Вид на „леопардова кожа“ – асоциира се с инфекция с T. vaginalis
- Пръснати точковидни лезии, непоемащи Луголовия разтвор далеч от ГЦПЕ
- Тесни ленти, или сателитни лезии с граници, подобни на географска карта далеч от ГЦПЕ

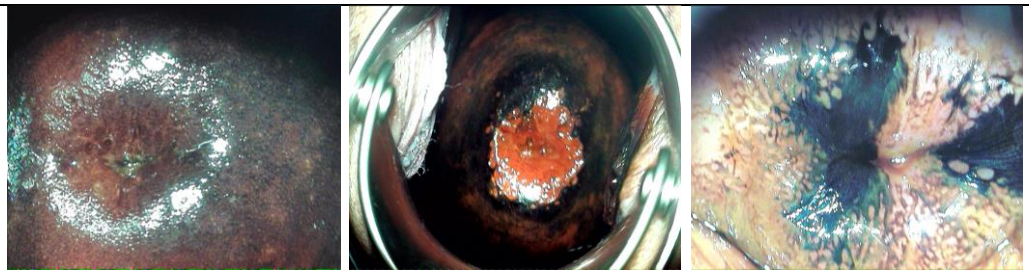
Тест – позитивен:

- Наличие на плътни, светли с жълтеникав цвят (като горчица, или шафран) лезии, непоемащи Луголовия разтвор в ЗТ в близост, или ангажиращи ГЦПЕ, или навлизащи в СС, ако ГЦПЕ е невидима.
- Цялата МШ е плътно жълтеникаво оцветена

Тест – позитивен, инвазивен карцином:

- Наличие на нодуларна маса, неправилна форма, или улцеро-пролиферативен растеж, оцветяващи се плътно жълтеникаво след аплициране на Луголовия разтвор

На фиг. 5 са онагледени различни находки на случаи от нашето проучване при визуална инспекция на МШ с Луголов разтвор.

VILI резултат	**Примерни находки**
Негативен	
Позитивен	

Фиг. 5 Различни находки при VILI

Резултатът от VILI бе съобщаван на пациентката като допълнително се разясняваше последващото поведение. Резултатът се нанасяше на работен фиш за съответната пациентка (Приложение-фиг. 2).

IV.2.2.3. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕН АНАЛИЗ НА ЕПИТЕЛА НА МАТОЧНАТА ШИЙКА С TruScreen®

Спектрофотометричното изследване на МШ беше извършвано с помощта на апарат TruScreen® (Polartechnics LTD, Australia). TruScreen® (фиг.6) представлява електро-оптична система за изследване на маточната шийка в реално време.

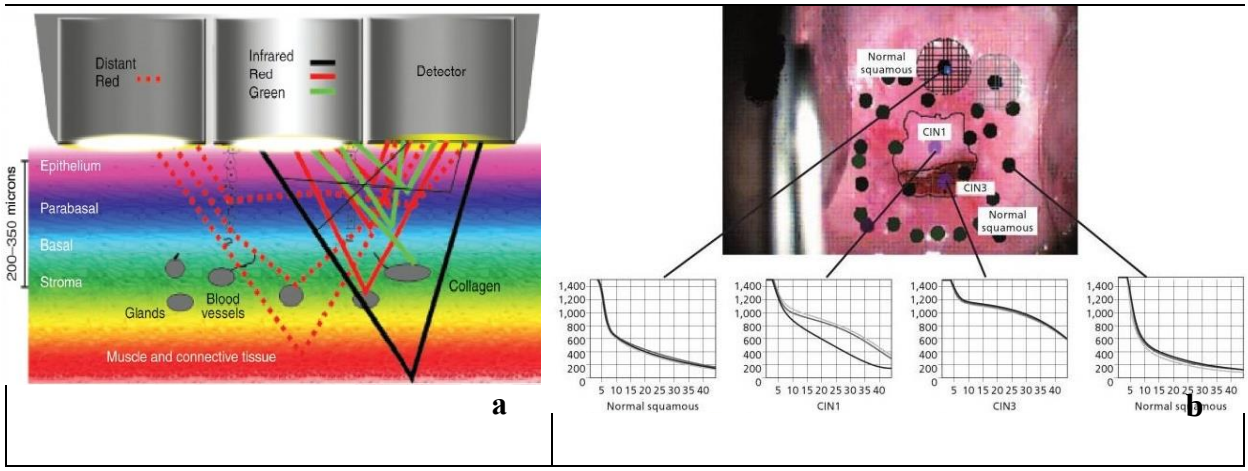


Фиг. 6 TruScreen® – конзола и накрайник с бутон за оперираne и светодиодни лампи, показващи процеса на работа

TruScreen® използва комбинация от биосензори, с помощта на които едновременно отчита реакцията на светлина на цервикалната тъкан и

прави оценка на електрическите свойства и реакция на цервикалната тъкан. МШ се осветява с четири различни дължина на вълната във видимия и инфрачервения спектър и се оценява директно отразената, както и обратно разсеяната светлина (фиг. 7a). В допълнение системата осъществява измерване на кривите на електрическо затихване. Кривата на получения отговор варира в съответствие с капацитивното съпротивление на тъканта – измерване на възможността на дадена тъкан да задържа, или да разсейва електрически заряд, където честотата на затихване е обратно пропорционална на степента на абнормност на тъканта. Апаратът изпраща импулси от 0,8V за 100 микросекунди, а кривата на електрическо затихване се оценява чрез измерване на величината ѝ в различни точки и обединяване на стойността на AUC (площта под кривата) (фиг. 7b). Оптическите и електрическите измервания се повтарят с честота 14 пъти в секунда и отделните параметри от биосензорните сигнали се филтрират и обработват от вградения в конзолата микрокомпютър. TruScreen® може да класифицира 16 различни основни типа цервикална тъкан, вкл. преходни такива. Системата е разработена така, че да разпознава нормални и абнормни видове цервикален епител, използвайки база данни от 2000 пациента с различни хистологични резултати. TruScreen® не класифицира атипичните клетъчни промени, резултат от действието на HPV, като абнормни, освен ако това не е асоциирано и с пренеопластични промени на епителa. Това дава на метода потенциала да разграничава латентната HPV инфекция от промените, свързани с продуктивна инфекция. Системата автоматично категоризира тъканта след комбиниране на спектроскопичната информация и тази от електрическото затихване. Информацията от отделните полета се групира така, че най-абнормният участък определя крайния резултат, който се принтира от апарата. Има два възможни резултата, които се получават: нормален (нормален сквамозен

епител, цилиндричен епител, метаплазия, латентна HPV-инфекция) и абнормен (CIN 1-3, инвазивен карцином).



Фиг. 7 Принцип на действие на TruScreen: отчитане реакцията на светлина с различна дължина на вълната във видимия и инфрачервения спектър (a) на МШ и криви на електрическо затихване при различно състояние на цервикалния епител (b)

Всеки преглед започва с калибриране (фиг.8).



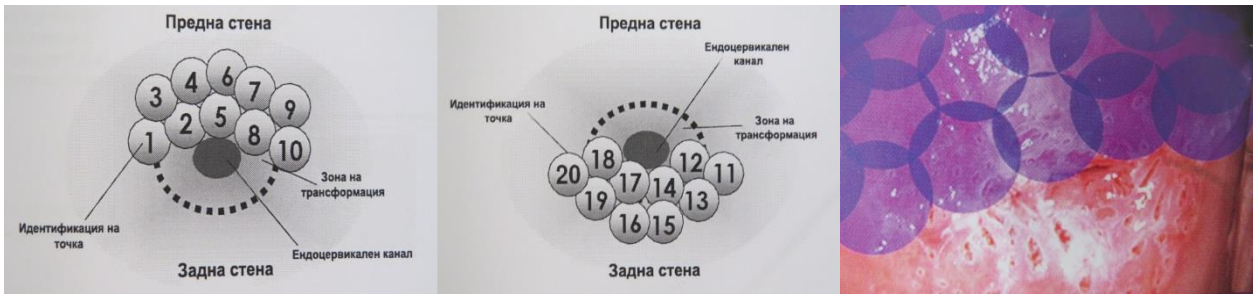
Фиг. 8 Калибриране

Следва поставяне на стерилен индивидуален накрайник – SUS (single use sensor) (фиг. 9).



Фиг.9 Индивидуален накрайник (SUS)

Процесът на изследване протича чрез допир на накрайника до 16 – 32 точки (полета) от маточната шийка (фиг. 10), като операторът се насочва през цялото време от различните цветове светодиоди на накрайника (фиг. 11).



Фиг. 10 Отчитане на 16 – 32 полета от маточната шийка (зона на трансформация)



Фиг. 11 Насочване на оператора от светодиодите

Получената информация се филтрира и обработва от микропроцесор и параметрите се сравняват с вградена база данни. В края на изследването резултатът се принтира (фиг. 12), като той може да бъде следните варианти: Нормален (Normal); Атипичен (Abnormal); Незадоволителен (Inadequate), или Липсват данни (No data).



Фиг. 12 – Разпечатване на резултата в края на прегледа

Разпечатваха се два резултата: един за пациентката и един за работния фиш.

IV.2.2.4. КОЛПОСКОПИЯ И ПРИЦЕЛНА БИОПСИЯ

Златен стандарт за верифициране състоянието на тъканите е хистологичното изследване. Това бе причината при всяка от пациентките в четирите групи след приключване на съответното скринингово изследване да се провеждат колпоскопия и прицелна биопсия от участък с колпоскопски атипизъм, или от предварително избрано място (1-2ч, от зоната на трансформация, в близост до ГЦПЕ, или в близост до цервикалния канал ако ГЦПЕ не е видима). Колпоскопиите се провеждаха с помощта на бинокулярен стереоколпоскоп Leisegang, Germany с тристепенно увеличение (7,5x; 15x и 30x). Апаратът разполага с USB камера и преносим компютър със софтуер Leisecap с възможност за запаметяване на образите и данните за пациента. В групите с конвенционална цитонамазка и TruScreen® след приключване на съответния метод следваше аплициране на 4% оцетна киселина, при необходимост в съчетание с употребата на зелен филтър, или пробата на Schiller. В групите с VIA и VILI след визуалната инспекция на МШ с невъоръжено око се правеше подробен оглед на PVCU с помощта на колпоскопа. Находките се класифицираха съобразно номенклатурата, приета на конгреса на IFCPC в Рио де Жанейро – 2011г. и се отбелязваха на работния фиш. При всяка пациентка се отбелязваше типа зона на трансформация (ЗТ 1,2, или 3) в зависимост от разположението и видимостта на ГЦПЕ. Като нормални колпоскопски находки определяхме оригиналния сквамозен епител (зрял, атрофичен), цилиндричния епител (отбелязваше се големината на ектопията) и метапластичния сквамозен епител (вкл. Ovulae Nabothi, устия на жлези). При наличие на колпоскопски атипизъм, на работния фиш се маркираше *локализацията и големината* на лезията, а *степента на измененията* се класифицираше

като *лека* (фина мозайка, фина пунктирана зона/база, тънък оцетно-бял епител, бавна поява на измененията), или *тежка* (груба мозайка, груба пунктирана зона/база, плътен оцетно-бял епител, бърза поява на измененията, устия на жлези с маншети, наличие на вътрешна граница). Тъканния материал се взимаше с биопсична щипка. Хистологичните материали се поставяха в контейнер с 10% разтвор на формалин. Оценката на тъканните частици се правеше в лаборатория по обща и клинична патология към СБАЛАГ „Майчин дом“. Резултатът се записваше в работния фиш на всяка от пациентките.

Във връзка с целта и задачите на проучването, резултатите от хистологичното изследване на биопсичните материали разделихме в две групи:

Цервикален епител ***без преканцероза (негативен хистологичен резултат)***

- Покривен сквамозен епител
- Цилиндричен епител
- Метапластичен епител
- Цервикален полип
- Хроничен/обострен цервицит
- Пара-/хиперкератоза
- Данни за изменения, предизвикани от HPV (папилом, койлоцити)

Цервикален епител ***с преканцероза (позитивен хистологичен резултат)***

- Койлоцитна дисплазия
- CIN 1
- CIN 2
- CIN 3
- Ca in situ

IV.3. СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ

За обработка на данните от проучването е използван специализирания статистически пакет SPSS версии 13.0 и 19.0. Избраното ниво на значимост за проверка на статистическите хипотези се прие да бъде при $p \leq 0,05$. По отношение на дескриптивната статистика бе използван вариационен анализ (за количествените променливи) и бяха изчислени средна стойност, стандартно отклонение, минимум, максимум. Беше използван и честотен анализ (за номиналните рангови променливи) за определяне на абсолютни и относителни честоти. От дескриптивната статистика използвахме и графичен анализ.

От методите за проверка на хипотези във връзка с нашето проучване използвахме следните:

1.Непараметричен тест на Колмогоров-Смирнов (One-Sample Kolmogorov-Smirnov test) за проверка на формата на честотните разпределения. Проверката е спрямо формата на нормалното разпределение.

2. T-тест (Independent sample T-test) при сравняване на две независими групи.

3. Методи за оценка на съгласуваността на диагностичните тестове:

- Тест на McNemar – тест при две зависими категорийни променливи, за оценка на съгласуваността на диагностичните методи с хистологията;
- Коефициент на съгласие – kappa (k) - оценка на степента на съгласуваност на изследваните методи с хистологията.

5. Методи за оценка на диагностичната способност на изследваните методи.

За изчисляване на статистическа зависимост между използваните категорийни признаци прилагахме метода на “ Хи-квадрат“ и екзактния тест на Fisher. С помощта на 2 х 2 таблици определихме (табл. 7):

- истински позитивните (true positive, TP) случаи: болните, коректно открити от теста
- фалшиво позитивните (false positive, FP) случаи: здравите, погрешно посочени за болни от теста
- истински негативните (true negative, TN) случаи: здравите, открити коректно от теста
- фалшиво негативните (false negative, FN) случаи: болните, погрешно посочени за здрави от теста

Табл. 7

2 х 2 таблица

	„Златен стандарт“ + (Хистология – позитивна)	„Златен стандарт“ – (Хистология – негативна)
Тест-позитивен +	Истински позитивни True positive **(TP)**	Фалшиво позитивни False positive **(FP)**
Тест-негативен –	Фалшиво негативни False negative **(FN)**	Истински негативни True negative **(TN)**

Използвахме съответните формули (табл. 8) за да изчислим:

- **Чувствителност, Ч (Sensitivity)** – показва способността на теста да идентифицира лицата със заболяване;
- **Специфичност, С (Specificity)** – способността на теста да идентифицира здравите лица;

- **Положителна предиктивна (предсказваща) стойност, ППС** - (Positive predictive value – **PPV**) – свързана е с вероятността за наличие на болест в групата идентифицирана от теста с позитивен резултат;
- **Негативна предиктивна (предсказваща) стойност, НПВ** - (Negative predictive value – **NPV**) – свързана е с вероятността за отсъствие на болест в групата идентифицирана от теста с негативен резултат;

Табл. 8

Формули за изчисляване на статистическите показатели чувствителност, специфичност, позитивна предиктивна стойност (PPV) и негативна предиктивна стойност (NPV)

Чувствителност = $\frac{TP}{TP + FN}$	PPV = $\frac{TP}{TP + FP}$
Специфичност = $\frac{TN}{TN + FP}$	NPV = $\frac{TN}{TN + FN}$

- Съотношения на вероятностите (likelihood ratios, LR):
    - **Съотношение на позитивна вероятност, СПВ** (Positive Likelihood Ratio, **PLR**) – показва вероятността за вярна диагноза при използване на даден тест

PLR = Sensitivity/(100 – Specificity)

- **Съотношение на негативна вероятност, СНВ** (Negative Likelihood Ratio, **NLR**) – показва вероятността за грешна диагноза при употреба на съответния тест

NLR = (100 – Sensitivity)/Specificity

PLR и NLR са свързани с потенциалната полезност на дадения диагностичен тест. При стойности близки до 1, тестът не показва достатъчна практическа значимост.

- **ROC** (Receiver Operating Characteristic) анализ – обща оценка на диагностичната способност на изследваните методи
- **Ефективност (E)**: показва възможностите на теста да посочва истинските болни и здрави

  E = (TP + TN) x 100 / (TP + FP + FN + TN)

Използваното критично ниво на значимост е $\alpha = 0{,}05$. Съответната нулева хипотеза се отхвърля, когато P стойността (P-value) е по-малка от α. При всички сравнения $p \leq 0.05$ се приема за статистически достоверно.

V. СОБСТВЕНИ РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

V.1. ВЪЗРАСТОВО РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА ПАЦИЕНТКИТЕ В ОТДЕЛНИТЕ ГРУПИ

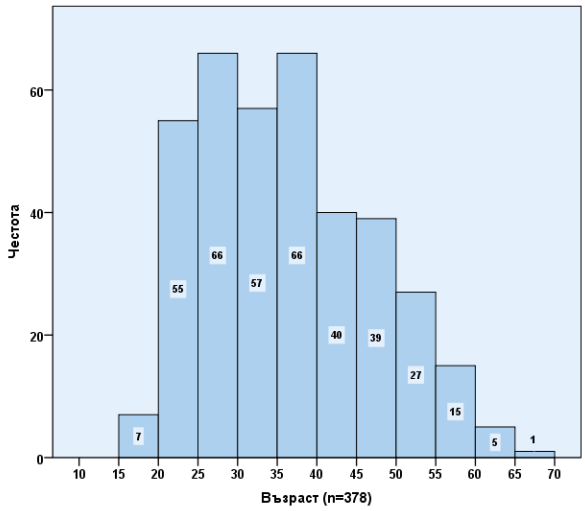
В рамките на нашето проучване на критериите за включване отговаряха 378 жени на възраст между 18 г. и 65 г. Средната възраст на прегледаните е 35,9 години, като няма статистически значима разлика между възрастта на жените в отделните групи ($p>0,05$). Обобщаващи статистически характеристики на възрастта в отделните групи са дадени в табл. 9.

Табл. 9

Обобщаващи статистически характеристики на възрастта по групи

Група	**N (брой)**	**Възраст**			
		Mean Средна възраст	**SD (Стандартно отклонение)**	**Min (Минимум)**	**Max (Максимум)**
PAP	99	36,2	11,4	18,0	63,0
VIA	95	36,5	11,5	18,0	65,0
VILI	92	36,6	9,8	20,0	62,0
TruScreen®	92	34,5	10,1	19,0	64,0
Общо	378	35,9	10,7	18,0	65,0

От честотното разпределение на изследваните жени по възраст (фиг. 13) е видно, че най-голям дял имат жените на възраст между 20 и 40 години: 244 от пациентките (64,55%).



Фиг. 13 Честотно разпределение на изследваните жени по възраст.

В хода на проучването възникна въпросът дали има разлика в средната възраст на жените с данни за наличие на преканцероза на МШ от хистологичнто изследване (хистология „+“) и средната възраст на жени с нормален хистологичен резултат (хистология „–“). Сравнителният анализ на възрастта не показа статистически значима разлика между пациентките с *нормална* (средна възраст **35,3 г.**) и тези с *абнормна* (средна възраст **36,8 г.**) хистология (p=0,188) (табл. 10).

Табл. 10

Сравнителен анализ на средната възраст на жените с нормален хистологичен резултат (хистология -) и жените с абнормна хистология (хистология +)

Хистология	**N (брой случаи)**	**Възраст**		**p**
		Mean (Средно)	**SD (Стандартно отклонение)**	
Хистология (–)	218	35,3 г.	10,9	0,188
Хистология (+)	160	36,8 г.	10,5	

Във връзка с проучването бяха прегледани общо 532 жени. Групата от 90 пациентки от пилотното проучване, чиято маточна шийка беше оценена единствено с колпоскопия не беше включена в крайната разработка на дисертационния труд, тъй като колпоскопията е специализирано диагностично изследване и този метод не се използва в схемата на цервикалния скрининг, а като уточняваща диагностика. 3 пациентки от проучените с TruScreen® отпаднаха, тъй като резултатът от изследването беше неинформативен (2 – Inadequate, 1 - No data). 29 случая бяха изключени поради активен възпалителен процес, засягащ цервикалния епител (табл.11), тъй като това би могло да се отрази на резултатите от проучваните методи. Активното възпаление бе установено чрез микробиологично изследване на вагинален/цервикален секрет (нативен препарат и посявка с антибиограма).

Табл. 11

Изключени от проучването случаи с данни за активен възпалителен процес, засягащ цервикалната мукоза

Резултат от микробиологичното изследване на влагалищен секрет	**Брой случаи**
Бактериална вагиноза	9
Кандида албиканс	7
Ентерококи	5
Микоплазма/уреаплазма	4
Трихомонас вагиналис	2
Ешерихия коли	1
β-хемолитични Стрептококи	1
общо	29

Други 18 пациентки бяха изключени поради наличие на инвазивен РМШ, доказан хистологично от биопсичните материали от МШ, взети амбулаторно при прегледа в рамките на проучването в

Онкопрофилактичния кабинет на СБАЛАГ „Майчин дом“. 6 случая бяха с умеренодиференциран сквамозен карцином, 5 – нискодиференциран сквамозен карцином, 2 – умеренодиференциран аденокарцином, 1 – умеренодиференциран папиларен сквамозен карцином, 1 – умерено- до високодиференциран муцинозен аденокарцином, 1 – лейомиосарком, 1 – светлоклетъчен карцином и 1 – високодиференциран аденокарцином.

Средната възраст на жените с установен инвазивен цервикален рак беше **44,78 г**. Средната възраст на жените при поставяне на диагноза “инвазивен рак на маточната шийка” за Западна Европа и Америка е 46 – 48 години (American Cancer Society (ACS) *Cancer facts & figures 2012*.). Тези данни са поредното доказателство, че е необходимо стриктно провеждане на профилактика на РМШ, тъй като заболяването засяга жени в активна възраст и представлява значим медико-социален проблем.

ОБСЪЖДАНЕ

Анализът на възрастовото разпределение на пациентките в отделните групи от нашето проучване не показа статистически значима разлика ($p>0,05$). От честотното разпределение е видно, че най-голям е делът на жените в активна възраст (20 – 40 години), което е резултат от факта, че най-често именно те активно търсят консултация и посещават съответните специалисти, загрижени за здравето си, или поради наличие на някакви конкретни оплаквания.

Резултатите от настоящото проучване не показват статистически значима разлика между възрастта на пациентките с нормален хистологичен резултат от биопсиите и тази на жените с патологични хистологични находки ($p=0,188$), което е в подкрепа на факта, че всички жени на възраст между 21 г. и 65 г. подлежат на профилактика за РМШ.

V.2. РЕЗУЛТАТИ ОТ ДИАГНОСТИЧНИТЕ ИЗСЛЕДВАНИЯ

V.2.1. РЕЗУЛТАТИ ОТ ХИСТОЛОГИЧНОТО ИЗСЛЕДВАНЕ НА МАТЕРИАЛИТЕ ОТ ИЗВЪРШЕНИТЕ ПРИЦЕЛНИ БИОПСИИ И АНАЛИЗ НА СЪСТОЯНИЕТО НА ЕПИТЕЛА НА МАТОЧНАТА ШИЙКА В ИЗСЛЕДВАНИТЕ ПАЦИЕНТКИ

При всички жени от четирите групи на нашето проспективно проучване, след провеждане на съответния тест за оценка състоянието на МШ в зависимост от групата, бе извършена колпоскопия и прицелна биопсия. По този начин верифицирахме реалното състояние на цервикалния епител и доказвахме наличие, или отсъствие на предрак на МШ. Хистологичното изследване е златен стандарт за определяне диагностичната сигурност на проучваните методи за оценка състоянието на цервикалния епител. Именно диагностичната сигурност ще покаже възможността отделните проучвани методи да бъдат използвани за скринингови такива. Задачата на всеки скринингов метод е да отсее здравите индивиди в изследваната група. В тази връзка всеки хистологичен резултат, показващ преканцероза на МШ, независимо от степента й, ние считахме за позитивна хистология (хистология „+“). При липса на данни за преканцероза от хисто-патологичното изследване, резултатът отчитахме като нормален (хистология „–“).

От всички 378 пациентки, участващи в проучването, 217 (57,41%) бяха с нормален резултат от хисто-патологичното изследване на биопсичния материал от МШ. Останалите 161 (42,59%) жени имаха различна степен на преканцероза на МШ, доказана хистологично (табл. 12).

Табл. 12

Обобщени данни от хистологичните резултати на всички пациентки от проучването

	Нормален епител	Койлоцитна дисплазия	CIN 1	CIN 2	CIN 3	Общо
Брой случаи	217	46	14	56	45	378
%	57,41%	12,17%	3,70%	15,08%	11,90%	100%

В нашето проучване групата с цитологично изследване на МШ (PAP – тест) включваше 99 пациентки. 55 от тях имаха нормален резултат от хисто-патологичното изследване на биопсичните материали от МШ (55,56%). От тези 55 жени без наличие на преканцероза в 36 (36,36%) от материалите имаше данни за наличие на HPV инфекция (сквамозен папилом, койлоцити). Останалите 44 пациентки имаха различна степен цервикална интраепителиална неоплазия (44,46%) (табл. 13):

Табл. 13

Хистологични резултати от прицелните биопсии на МШ в групата с конвенционална цитонамазка (PAP-тест) и техния относителен дял

PAP-тест	Без преканцероза			С преканцероза					общо
	нормален	папилом	койлоцити	Койлоцитна дисплазия	CIN 1	CIN 2	CIN 3	CIS	
Брой случаи	19	9	27	14	2	18	5	5	99
Относителен дял	19,19%	9,09%	27,27%	14,14%	2,02%	18,18%	5,05%	5,05%	100%
Общо (%)	55 (55,56%)			44 (44,46%)					99 (100%)

В групата с визуална инспекция на МШ с оцетна киселина включихме 95 пациентки. 61 от случаите бяха с нормален цервикален епител без данни за предрак на МШ (64,21%). Останалите 34 пациентки от групата имаха някаква цервикална преканцероза (35,79%). Сходно с останалите групи и при VIA в голяма част от резултатите без наличие на диспластичен цервикален епител имаше доказателство за инфекция с HPV (сквамозен папилом, или койлоцитоза от хистологичното изследване) – 35 случая (36,83%) (табл. 14).

Табл. 14

Хистологични резултати от прицелните биопсии на МШ в групата с визуална инспекция с оцетна киселина (VIA) и техния относителен дял

VIA	Без преканцероза			С преканцероза					Общо
	нормален	папилом	койлоцити	Койлоцитна дисплазия	CIN 1	CIN 2	CIN 3	CIS	
Брой случаи	26	11	24	13	7	9	1	4	95
Относителен дял	27,36%	11,57%	25,26%	13,68%	7,37%	9,47%	1,05%	4,21%	100%
Общо (%)	61 (64,21%)			34 (35,79%)					95 (100%)

Групата с визуална инспекция с Луголов разтвор от нашето проучване включваше 92 пациентки. Нормален резултат имаха 47 от жените (51,09%), а с абнормна хистология от прицелните биопсии бяха 45 случая (48,91%). Данни за HPV инфекция при жените с цервикална лигавица без предрак на МШ имаше в 29 от случаите (31,52%) (табл. 15).

Табл. 15

Хистологични резултати от прицелните биопсии на МШ в групата с визуална инспекция с Луголов разтвор (VILI) и техния относителен дял

VILI	Без преканцероза			С преканцероза					Общо
	нормален	папилом	койлоцити	Койлоцитна дисплазия	CIN 1	CIN 2	CIN 3	CIS	
Брой случаи	18	13	16	11	4	15	3	12	92
Относителен дял	19,57%	14,13%	17,39%	11,96%	4,35%	16,30%	3,26%	13,04%	100%
Общо (%)	47 (51,09%)			45 (48,91%)					92 (100%)

В групата със спектрофотометричен анализ на МШ на критериите за включване отговаряха 92 пациентки. При 54 от тях хистологичното изследване на материалите от прицелната биопсия показаха цервикален епител без данни за преканцероза (58,7%). В 30 (32,6%) от случаите имаше данни за въздействие от HPV (наличие на койлоцити, сквамозен папилом). При 38 от пациентките в тази група хистологията показа преканцероза на епителa на МШ (41,3%). От всички пациентки с преканцероза на МШ 15 случая бяха с CIN 3, или Ca in situ (16,3%). 8 пациентки имаха койлоцитна дисплазия (8,7%); 1 беше с CIN 1 (1,09%) и 14 случая показаха CIN 2 (15,22%) (табл. 16).

Табл. 16

Хистологични резултати от прицелните биопсии на МШ в групата със спектрофотометричен анализ с TruScreen® и техния относителен дял

TruScreen®	Без преканцероза			С преканцероза					Общо
	нормален	папилом	койлоцити	Койлоцитна дисплазия	CIN 1	CIN 2	CIN 3	CIS	
Брой случаи	24	5	25	8	1	14	5	10	92
Относителен дял	26,07%	5,43%	27,17%	8,70%	1,09%	15,22%	5,43%	10,87%	100%
Общо (%)	54 (58,7%)			38 (41,3%)					92 (100%)

ОБСЪЖДАНЕ

Прави впечатление високия дял на абнормни хистологични резултати (42,59%) в изследваните жени. Този висок дял позитивни хистологии може да се обясни с факта, че проучваните пациентки не са общата популация здрави жени, а са насочени от други специалисти за доуточняване в онко-профилактичния кабинет на СБАЛАГ „Майчин дом“, София, или сами са потърсили консултация там, поради субективни оплаквания (напр. контактно кървене). Освен това в нашата извадка 244 от пациентките (64,55%) са на възраст между 20 и 40 години, което е свързано с голяма честота на HPV в цервикалния епител. Според различни автори разпространението на преканцерозите на МШ сред клинично здрави жени е между 5% и 10% (установени в амбулаторни условия при профилактични прегледи). Сходни с нашите резултати са тези на Anusorn P. et al. (2011), където проучването е направено в болнични условия, каквато е и нашата извадка (227). Anusorn P. et al. изследват хистологично биопсични материали от МШ на пациентки с резултат ASCUS от цитологичния

скрининг, т.е. цитологично сигнализирани. Патологични резултати, показващи различна степен на преканцероза има при 43,6% от тях (в нашето проучване – 42,59%) (табл. 16).

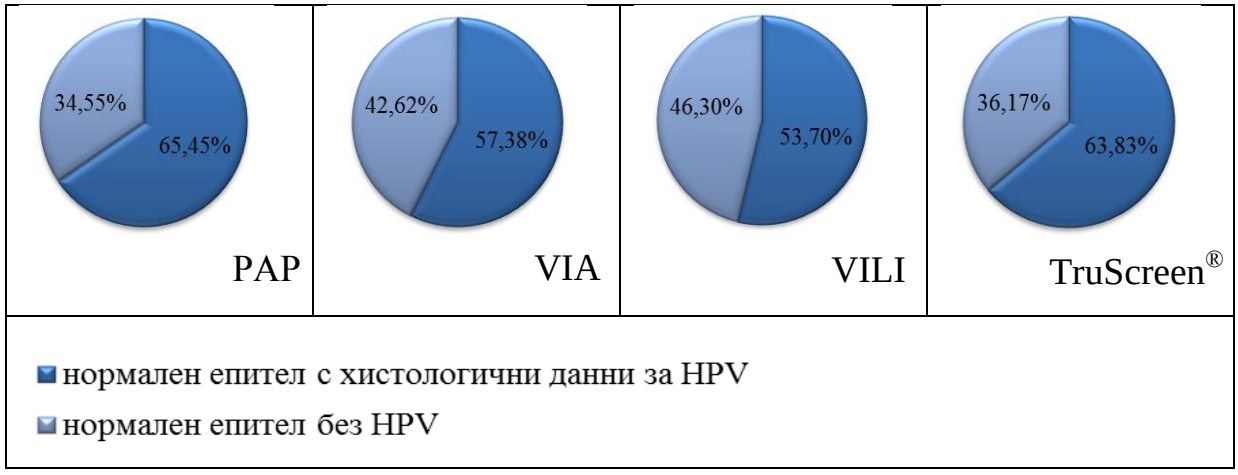
Табл. 16

Резултати от проучването на Anusorn P. et al.

Histopathology	n	%	
NILM *	124	**56,3**	
Low-grade CIN (CIN 1)	70	31,8	**43,6% CIN**
High-grade CIN (CIN 2)	19	8,6	
CIN 3/Ca in situ	7	3,2	

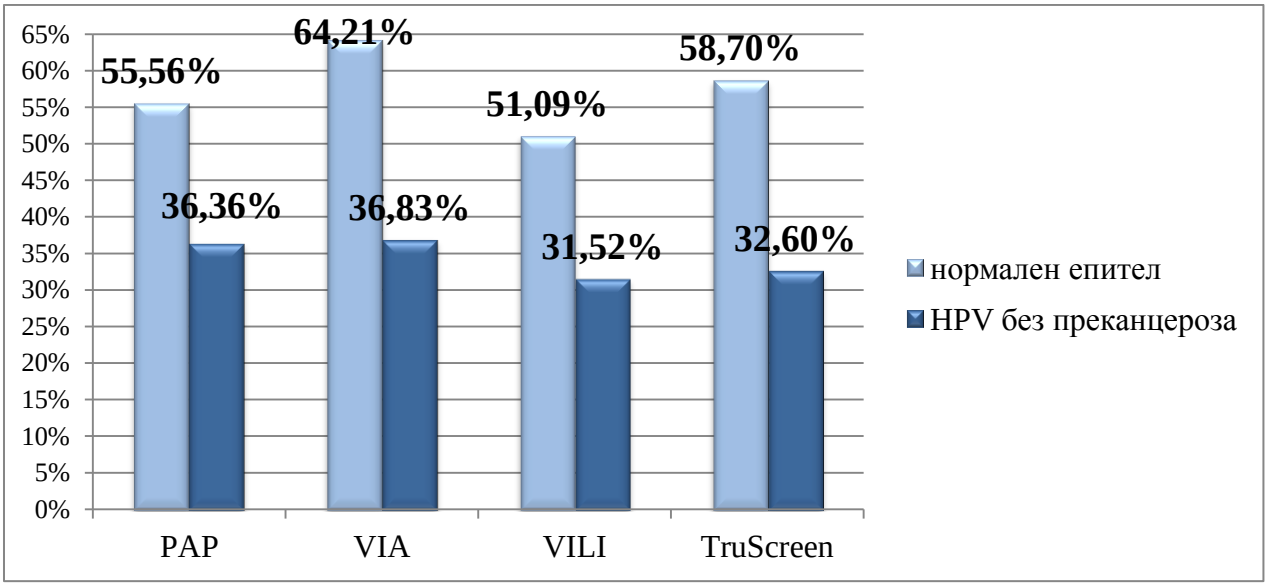
* NILM = negative for intraepithelial lesion and malignancy

И в четирите групи пациентки от нашето проучване състоянието на цервикалния епител показа наличие на HPV инфекция без данни за преканцероза (койлоцити, папилом) в 53% до 65% от случаите с нормални хистологични резултати (фиг. 14).



Фиг. 14 Дялово разпределение в отделните групи на нормалния цервикален епител със и без данни за наличие на HPV от хистологичните резултати

Това на практика означава, че и в четирите групи от проучването около 1/3 от пациентките без преканцероза на МШ всъщност имат инфекция с HPV (фиг. 15).



Фиг.15 Дял на пациентките с хистологични данни за HPV в изследваните групи

Чужди автори (Eileen M. Burd., 2003) посочват наличие на HPV в около 10% от нормалния цервикален епител в общата популация жени, провеждащи рутинна профилактика (228). По-високият относителен дял на нормален епител с данни за HPV в нашата извадка можем да обясним с факта, че участничките в проучването не са само здрави жени, а голяма част от тях имат оплаквания, или са насочени за доуточняване от други специалисти. Сходни с нашите резултати получават и Cuschieri KS et al. (2004). При HPV типизиране на проби от LBC техният колектив установява високорискови типове в 33,3% от хистологичните материали, негативни за цервикална неоплазия, или с гранични реактивни промени (229). Колективът на Bulk S. също доказва присъствие на високорискови типове HPV в голяма част от негативни цитонамазки, предшестващи развитие на CIN2/3 (50). Въпреки, че HPV е доказан като етиологичен

фактор за развитие на РМШ, инфекцията с него не е достатъчна за трансформация на цервикалния епител. Необходими са ко-фактори и време. Това се подкрепя и от епидемиологичните данни, показващи, че пикът в кривата на разпространение на цервикалните преканцерози изпреварва с 10-20 години пика на РМШ (Dewar et al., 1992). HPV присъства в цервикалния епител дълго преди да го промени и малигнената транформация отнема *време*, което е удачно да се използва за *профилактика* преди развитието на инвазивен процес. Макар че голяма част от HPV инфекциите са транзиторни, фактът че вирусът присъства в 10 до 33% от здравия цервикален епител показва, че скрининг за РМШ трябва да се провежда и да има достатъчно голям обхват. Това ще осигури диагностициране на процеса още в стадий на предрак.

V.2.2. РЕЗУЛТАТИ ОТ ПРИЛОЖЕНИЕТО НА КЛАСИЧЕСКАТА ЦИТОНАМАЗКА (PAP-ТЕСТ)

Първата група от нашето проучване включваше 99 пациентки, при които беше проведена класическа цитонамазка (PAP-тест), като материалите се взимаха с две отделни циточетки и се нанасяха на две отделни предметни стъкла. Резултатите бяха представяни по класическите критерии на на Papanicolaou-Koss в модификация на К. Цанев (1989) на съответен фиш (Приложение-фиг.1) за всяка пациентка. За улеснение и съответно адекватно групиране на пациентките, за *негативен тест* от цитологичното изследване приехме резултат *I-ва и II-ра група* по Papanicolaou, а за *позитивен* - ≥ *III-та група* по Papanicolaou.

При всички изследвани жени в рамките на същото посещение бяха извършени колпоскопия и прицелна биопсия от съответна лезия при колпоскопски атипизъм, или от предварително избран участък при липса

на такъв. Обобщените резултати от позитивните и негативните цитонамазки и съответните хистологични резултати от прицелните биопсии на пациентките от първа група на нашето проучване, изследвани с помощта на конвенционална цитонамазка са дадени в табл. 17.

Табл.17

Обобщени резултати от позитивните и негативните хистологии в първа група от проучването

Цитонамазка (група по Pap)	Хистология		общо	%
	негативна	позитивна		
1	2	0	2	2,02
2	45	14	59	59,6
3а	9	24	33	33,33
3б	0	5	5	5,05
общо	56	43	99	100

На база резултатите от хистологичното изследване на материалите от прицелната биопсия (от участък с колпоскопски атипизъм, или предварително избрано място при липса на такъв), извършена след провеждане на цитологичното изследване, с помощта на 2x2 таблици определихме истински позитивните (true positive, TP) – 29 случая, истински негативните (true negative, TN) – 47 случая, фалшиво позитивните (false positive, FP) – 9 случая и фалшиво негативните (false negative, FN) – 14 случая (табл. 18).

Табл. 18

2x2 таблица с резултатите от конвенционална цитонамазка (PAP – тест) и съответната ѝ хистология

Цитонамазка	**Хистология**		
	Негативна	Позитивна	Общо
Негативна (I, II група PAP)	**47** (TN)	**14** (FN)	**61**
Позитивна (≥IIIa група PAP)	**9** (FP)	**29** (TP)	**38**
Общо	**56**	**43**	**99**

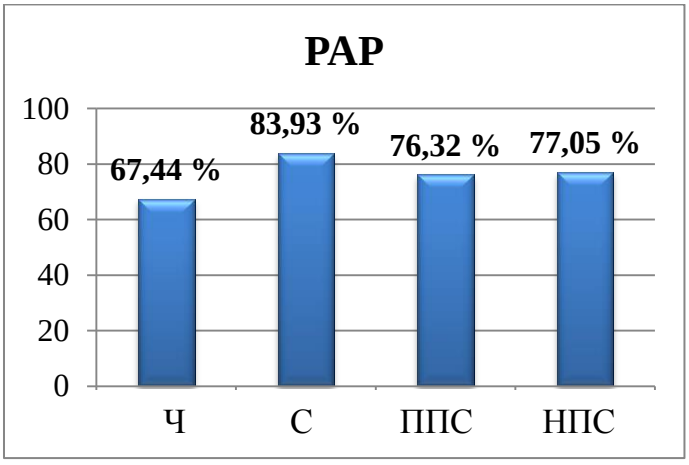
С помощта на съответните формули определихме чувствителност, специфичност, позитивна предиктивна стойност (ППС) и негативна предиктивна стойност (НПС) на PAP-теста. *Чувствителността* на класическата цитонамазка в нашето проучване беше **67,44%** (95% доверителен интервал 51,46% - 80,91%); *специфичността* – **83,93%** (95% доверителен интервал 71,67% - 92,36%); ППС – 76,32% (95% доверителен интервал 59,75% - 88,53%) и НПС – 77,05% (95% доверителен интервал 64,50% - 86,84%) (табл. 19).

Табл. 19

Статистически показатели за метода „конвенционална цитонамазка“

Статистически позатели за PAP-тест	**Value (Стойност)**	**95% CI (95% доверителен интервал)**	
Чувствителност	67.44%	51.46%	80.91%
Специфичност	83.93%	71.67%	92.36%
Позитивна предиктивна стойност	76.32%	59.75%	88.53%
Негативна предиктивна стойност	77.05%	64.50%	86.84%

На фиг. 16 графично е представено съотношението между отделните статистически показатели в групата с цитологично изследване на МШ (PAP-тест).



Фиг. 16 Чувствителност (Ч), специфичност (С), позитивна предиктивна стойност (ППС) и негативна предиктивна стойност (НПС) на PAP-теста

Използвахме теста на McNemar за сравняване на относителните дялове на различно класифицираните честоти (съгласуваност на всеки метод с резултата от хистологичното изследване на биопсичните материали от МШ) (табл. 20).

Табл. 20

Тест на McNemar за сравняване на относителните дялове на различно класифицираните честоти в групата с конвенционална цитонамазка (PAP-тест)

	хистология (+) n (%)	хистология (-) n (%)	Общо n (%)	p
PAP (+)	29 (67,4)	9 (16,1)	38 (38,4)	0,405
PAP (-)	14 (32,6)	47 (83,9)	61 (61,6)	
Общо	43 (100)	56 (100)	99 (100)	

Диагностичната сигурност на всеки един от методите определихме и с помощта на техните работни характеристики (receiver-operating characteristic) или ROC – криви. Информативна е площта под кривата (Area Under the Curve, AUC), която е относителен индекс и поради това не зависи от формата и дисперсиите на разпределенията, както и от броя на лицата във всяка група. По-голяма (близка до 1) стойност на AUC показва по-добра диагностична способност на метода. Стойността на AUC за конвенционалната цитонамазка в нашата извадка е 0,757 (95% доверителен интервал: 0,656 – 0,857; $p<0,001$) (табл. 21).

Табл. 21

AUC за конвенционална цитонамазка (PAP-тест)

Метод	**AUC (площ под кривата)**	**95% CI (95% доверителен интервал)**		**p**
PAP	0,757	0,656	0,857	< 0,001

В медицина, базарана на доказателства, за оценка на клиничното представяне на даден диагностичен/скринингов тест, се използат отношения на вероятностите (likelihood ratios, LR): за позитивните резултати – positive likelihood ratio (PLR), и за негативните резултати от теста – negative likelihood ratio (NLR). PLR и NLR са свързани с потенциалната полезност на даден диагностичен тест. Съотношенията на позитивна и негативна вероятност (PLR и NLR) показват вероятността за вярна и съответно грешна диагноза при представянето на съответния метод за оценка на епитела на МШ. PLR в групата с цитологично изследване на епитела на МШ от нашето проучване беше 4,20 (95% доверителен интервал 2,23 – 7,91), а NLR съответно 0,39 (95% доверителен интервал 0,25 – 0,61).

Подобна информация за клиничното представяне на различните методи получаваме от статистическия показател „Ефикасност на метода“, който за метода конвенционална цитонамазка показа стойност 0,77.

ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от нашето проучване в групата с цитологично изследване на МШ са сходни с тези на други автори (49, 230, 238) а именно – **средна по стойност чувствителност (67,44%)** и **по-висока специфичност (83,93%)**. **%)**. Nanda K. et al. (2000г.) провеждат систематичен анализ на 94 проучвания за ефикасността на конвенционалната цитонамазка и установяват много разнопосочни резултати, но при всички изследвания Pap-тестът показва средна чувствителност и по-висока специфичност, както и при нашето проучване (49). Чувствителността на самостоятелното изследване на МШ с класическа цитонамазка, която намират Longatto-Filho A. et al. (2012) в кохортно проучване върху 12000 жени е 71,6% (103). Специфичността на Pap-теста варира между 80% (Mayeux et al., 1995г.) и 96% (Schneider et al., 1996г.). Нашите резултати също потвърждават по-високата специфичност на метода (83,93%). Анализът на скрининговите програми в Европа (Ronco G. et al., 2009г.) установява голяма разлика между отделните страни, както по отношение на абнормните тестове (от 1,2% в Германия, до 11,7% в Ирландия и източните части), така и при разпределението им по тежест. Този анализ намира и големи разлики в честотата на извършване на повторен Pap-тест: от 2,9% в Нидерландия, до 16,6% в Словения. Тези различия се обясняват със специфичните за всяка страна протоколи и показват нуждата от стандартизиране на цитологичните и хистологични класификации, начин на регистрация, както и препоръки за поведение (230).

Прави впечатление, че от всички 61 случая с негативни цитонамазки в групата, при 14 пациентки имаме фалшиво отрицателни резултати, което съставлява почти 1/4 от негативните (22,95%) и **1/3 (32,6%)** от всички цитонамазки. Тези наши резултати са в съответствие с факта, че *основен*

недостатък на цитонамазката като скринингов метод са именно *фалшиво-негативните резултати*. Докладваните фалшиво-отрицателни резултати за цервикалната цитология като метод за оценка на епитела на МШ варират между 15% и 63% при различните проучвания (50, 51, 53). Мета-анализи на отделни проучвания (Nanda K. et al., 2000; Fahey MT et al., 1995) показват, че Pap-тестът пропуска между 40% и 50% от потвърдените чрез биопсия високостепенни SIL (49,212). Bulk S. et al. правят HPV-тест на предходни негативни цитонамазки при жени с CIN2/3 и в 69% от случаите променят степента на цитологичния резултат (50). В Дания качественият контрол на провеждане на цитологичния скрининг показва 22% фалшиво-негативни резултати (51). Рескринингът чрез автоматизиран цитоанализ (PAPNET), който правят Koss LG et al. намира в 31,6% от негативните цитонамазки сквамозни интраепителни лезии (52). Renshaw et al. (2004) намират фалшиво-отрицателни цитонамазки при хистологично доказан сквамозен РМШ 3,3%, за HSIL – 4,6%, за аденокарцинома – 8,9% и за AIS – 11,6%; общо 28,4%. Тези разнопосочни резултати означават потенциално различна значимост, както и затруднения при ретроспективната оценка на намазките. Тази разлика в стойностите на фалшиво-отрицателните резултати може да се дължи на различния дизайн на проучванията и различните методи за статистическа обработка, както и зададения праг на референтното изследване, ако е включено такова (хистологично потвърдени лезии). В страни с добре организирана скринингова програма, каквито са Скандинавските, проучванията (Stefan Lönnberg et al., 2010) показват между 20% и 35% фалшиво-негативни резултати при конвенционалната цитонамазка (51,231).

В тази проучвана група теста на McNemar за сравняване на относителните дялове на различно класифицираните честоти показа p =

0,405 (т.е. > 0,05), което доказва, че конвенционалната цитонамазка е метод, установяващ достатъчно вярно състоянието на цервикалния епител.

Към момента в световен мащаб цитологичното изследване на маточната шийка продължава да е най-успешния скринингов метод в превенцията на цервикален рак. Нашите резултати също показват висока специфичност (83,93%) и относително висока негативна предиктивна стойност (77,05%), което потвърждава възможността цитологичния метод да бъде използван за цервикален скрининг.

ИЗВОДИ

Цитологичният метод *има висока специфичност* (**83,93%**) *и висока негативна предиктивна стойност* (**77,05%**)*, което го прави подходящ за първичен цервикален скрининг като самостоятелен метод.*

Основен недостатък на цитологичния метод за оценка на цервикалния епител са фалшиво отрицателните случаи: 22,95% от негативните и 32,6% от всички цитонамазки, които водят до ограничена чувствителност на PAP-теста.

Ограничената чувствителност на цитонамазката (67,44%) изисква регулярно повтаряне на теста.

V.2.3. ПРЕДИМСТВА И НЕДОСТАТЪЦИ НА ВИЗУАЛНИТЕ МЕТОДИ ЗА ОЦЕНКА НА МШ (VIA И VILI)

V.2.3.1. РЕЗУЛТАТИ ОТ ВИЗУАЛНАТА ИНСПЕКЦИЯ НА МАТОЧНАТА ШИЙКА С ОЦЕТНА КИСЕЛИНА (VIA)

В рамките на нашето проучване оценихме клиничното представяне на две техники за визуална инспекция на МШ – с 4% оцетна киселина (Visual Inspection with Acetic Acid, VIA) и визуална инпекция на МШ с Луголов разтвор (Visual Inspection with Lugol's Iodine). Втората група от проспективното проучване включваше 95 жени, при които беше проведена VIA чрез аплициране на 4% разтвор на оцетна киселина върху МШ, а огледът се извършваше с невъоръжено око при добро осветление. Следеше се за поява на оцетно-бели лезии. Подробности, които бяха взимани под внимание, бяха интензитета на побеляване на лезиите, техните граници, хомогенност на побеляването в рамките на лезията, разположение на лезията (спрямо ГЦПЕ, площ, дали навлиза в цервикалния канал), брой на лезиите. Находките класифицирахме като тест-негативен и тест-позитивен съгласно установените критерии и резултатът се отбелязваше на работния фиш.

Както и в първа група с конвенционална цитонамазка, при всички пациентки от втора и трета група на проучването, оценени с визуални методи, в рамките на същото посещение бяха извършени колпоскопия и прицелна биопсия от съответна лезия при колпоскопски атипизъм, или от предварително избран участък при липса на такъв.

Въз основа на резултатите от хистологичното изследване на биопсичните материали (от участък с колпоскопски атипизъм, или предварително избрано място при липса на такъв) при пациентките от

втора група с визуална инспекция на МШ с 4 % оцетна киселина с помощта на 2x2 таблици определихме истински позитивните (true positive, TP) – 22 случая, истински негативните (true negative, TN) – 51 случая, фалшиво позитивните (false positive, FP) – 10 случая и фалшиво негативните (false negative, FN) – 12 случая (табл. 22).

Табл. 22

2x2 таблица за резултатите в групата с визуална инспекция с оцетна киселина

VIA	**Хистология**		
	Негативна	Позитивна	Общо
Тест – Негативен	**51** (TN)	**12** (FN)	**63**
Тест – Позитивен	**10** (FP)	**22** (TP)	**32**
Общо	**61**	**34**	**95**

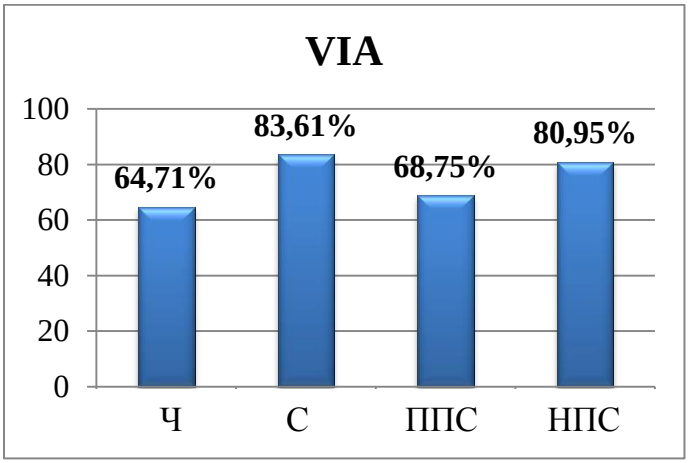
С помощта на съответните формули определихме чувствителност, специфичност, позитивна предиктивна стойност (ППС), негативна предиктивна стойност (НПС) на VIA (табл. 23, фиг. 17). *Чувствителността* на VIA в нашето проучване беше **64,71%** (95% доверителен интервал 46,49% - 80,24%); *специфичността* – **83,61%** (95% доверителен интервал 71,91% - 91,83%); ППС – 68,75% (95% доверителен интервал 49,99% - 83,86%) и НПС – 80,95% (95% доверителен интервал 69,09% - 89,74%) (табл. 23).

Табл. 23

Статистически показатели за метода VIA

Статистически позатели за метода VIA	**Value (Стойност)**	**95% CI (95% доверителен интервал)**	
Чувствителност	64,71%	46,49%	80,24%
Специфичност	83,61%	71,91%	91,83%
Позитивна предиктивна стойност	68,75%	49,99%	83,86%
Негативна предиктивна стойност	80,95%	69,09%	89,74%

На фиг. 17 графично е представено съотношението между отделните статистически показатели в групата с визуална инспекция на МШ с оцетна киселина (VIA).



Фиг. 17 Чувствителност (Ч), специфичност (С), позитивна предиктивна стойност (ППС) и негативна предиктивна стойност (НПВ) на метода VIA

С теста на McNemar сравнихме съгласуваността на VIA с резултата от хистологичното изследване на биопсичните материали от МШ (табл. 24).

Табл. 24

Тест на McNemar за сравняване на относителните дялове на различно класифицираните честоти в групата с VIA

	хистология (+) n (%)	хистология (-) n (%)	Общо n (%)	p
VIA (+)	22 (64,7)	10 (16,4)	32 (33,7)	0,832
VIA (-)	12 (35,3)	51 (83,6)	63 (66,3)	
Общо	34 (100)	61 (100)	95 (100)	

Оценката на диагностичното представяне на VIA с помощта на ROC крива и площта под кривата показа стойност на AUC 0,742 (табл. 25).

Табл. 25

AUC за метода VIA

Метод	**AUC (площ под кривата)**	**95% CI (95% доверителен интервал)**		**p**
VIA	0,742	0,631	0,852	< 0,001

ОБСЪЖДАНЕ

Визуалната инспекция на МШ с оцетна киселина е алтернативен на цитодиагностиката тест за цервикален скрининг. Предимствата му включват ниска цена, лесно приложение и резултат в реално време. Sankaranarayanan R. et al. провеждат проспективно проучване между 2000 и 2006г. за ефикасността на VIA и установяват намаляване на заболеваемостта от РМШ (коефициент за риск от развитие на РМШ 0,75), както и смъртността (коефициент за риск 0,65) и показват, че при адекватно изпълнение на техниката VIA е отличен метод за превенция на РМШ в развиващите се страни (232). Нашите резултати при пациентките с VIA показват средна по стойност чувствителност: **64,71%** и по-висока специфичност на метода: **83,61%**. Анализът на превенцията на цервикален рак в страни със слаба икономика показва различни стойности на статистическите показатели за техниката на визуална инспекция на МШ (табл. 26) (233). Добрите показатели по отношение на специфичността на VIA в отделните проучвания от този анализ и предимството, че е технически лесна и евтина, води до заключение на авторите, че VIA е подходяща за първичен скрининг на РМШ в тези страни.

Табл. 26

Резултати от различни проучвания за ефикасността на VIA

Автор	Страна	Брой случаи	Чувствителност (%)	Специфичност (%)
Megevand *et al.* (1996)	Южна Африка	2426	66	98
Sankaranarayanan *et al.* (1998)	Индия	2135	90	92
Sankaranarayanan *et al.* (1999)	Индия	1351	96	65
Chirenge *et al.* (1999)	Зимбабве	2148	77	64
Denny *et al.* (1999)	Южна Африка	2944	65	84
Belinson *et al.* (2002)	Китай	1997	71	74
Denny *et al.* (2002)	Южна Африка	2754	73	79
Cronje *et al.* (2003)	Южна Африка	1093	79	49

Denny et al. (2002г.) проучват клиничното представяне на VIA при 2754 жени и намират чувствителност на метода 73% и специфичност 79% (234). Недостатък, който отчитат за VIA, е невъзможността за стандартизиран качествен контрол, поради субективността на теста. Това обяснява и различните резултати при отделните автори (235). Субективността на теста и различния дизайн на проучванията може да обясни разминаванията в резултатите: Cronje HS et al. (2003) намират висока чувствителност (79%) и по-ниска специфичност на VIA (49%) (236). Много подобно на тези автори, в проспективното проучване на Goel A et al. (2005) чувствителността на VIA е дори 96,7%, а специфичността едва 36,4% (237).

Макар и твърде разнопосочни като стойности, повечето рандомизирани проучвания за представянето на VIA като метод за вторична профилактика на РМШ показват висока специфичност на тази техника, което я прави подходяща за скрининг (232, 234). Колективът на Doh AS изчислява чувствителност на визуалната инспекция с оцетна киселина 70,4% и по-висока специфичност – 77,6% (238). Проучванията за използването на VIA в Монголия и Кения също установяват по-високи стойности на специфичността на метода, съответно 89% и 80% (106, 239). Megevand E et al. (1996) подобно на други автори намират средна чувствителност (66%) и висока специфичност (98%) на техниката VIA (240).

Високата специфичност (83,61%) на визуалната инспекция на МШ с оцетна киселина прави теста подходящ за отсяване на рисковите за РМШ пациентки, т.е. *подходящ за цервикален скрининг*. В полза на възможността за използване на тази техника като скринингов метод е и ***високата NPV* (80,95%)** в нашето проучване. Чуждите автори също посочват висока NPV на VIA – 91,3% (Doh AS et al., 2005), поради което методът широко се използва за цервикален скрининг в страни, където липсват условия за цитологичен такъв (238).

12 от пациентките във втора група от проучването с нормален резултат от визуалната инспекция с оцетна киселина имат предракови изменения на цервикалния епител, установени от хистологичното изследване на биопсичните материали. Това означава, че около 1/5 от случаите с оценка „тест-негативен“ от VIA са ***фалшиво отрицателни*** (19,05%), които представляват ***12,63%*** от всички пациентки във втора група. Тези стойности са сходни с цитираните в чуждата литература (FN случаи от VIA около 10%). За сметка на това обаче расте делът на ***фалшиво позитивните*** случаи: около 1/3 от пациентките с „тест-

позитивен“ от VIA (**31,25%**). По тази причина намалява позитивната предиктивна стойност на теста (**68,75%** в нашето проучване). Високи стойности на FP обикновено водят до насочване на повече пациентки за доуточняване и извършване на излишни колпоскопии и биопсии.

В групата с VIA тестът на McNemar показа p = 0,832 (p > 0,05), т.е. методът отчита достатъчно вярно състоянието на цервикалния епител. Резултатите от нашето проучване показват, че VIA може да се използва като адекватен и приемлив тест, алтернативен на цитологичния, за ранно установяване на измененията на МШ, което е в съответствие с чуждия опит (240, 241).

ИЗВОДИ

*VIA има висока специфичност **(83,61%)**, т.е. отсява рисковите за развитие на инвазивен РМШ пациентки, което заедно с високата й негативна предиктивна стойност* **(80,95%)** *я прави подходящ метод за първичен цервикален скрининг като самостоятелен метод.*

Основен недостатък на VIA са фалшиво-позитивните резултати (около 1/3 от пациентките с „тест-позитивен“ от VIA – **31,25%**)*, което е свързано с насочване на повече пациенти за уточняваща диагностика (колпоскопия) и евентуално извършване на излишни биопсии. За намаляване на фалшиво-позитивните случаи от VIA е необходимо стриктно спазване на препоръките за категоризиране на находките от теста.*

Визуалната инспекция на МШ с оцетна киселина (VIA) е технически лесна за приложение, резултатът се получава в реално време и статистическите й показатели са сравними с тези на конвенционалната цитонамазка.

V.2.3.2. РЕЗУЛТАТИ ОТ ВИЗУАЛНАТА ИНСПЕКЦИЯ НА МАТОЧНАТА ШИЙКА С ЛУГОЛОВ РАЗТВОР (VILI)

Третата група от нашето проучване включваше 92 жени, при които беше направена визуална инспекция на МШ с Луголов разтвор (VILI). След аплициране на Луголовия разтвор находките се класифицираха като тест-негативен и тест-позитивен съгласно критериите (IARC, 2000) и резултатите се нанасяха на работния фиш на пациентката. Както в първа и втора групи, при всички пациентки от трета група на проучването, оценени с VILI, в рамките на същото посещение бяха извършени колпоскопия и прицелна биопсия от съответна лезия при колпоскопски атипизъм, или от предварително избран участък при липса на такъв.

С помощта на 2x2 таблици определихме истински позитивните (true positive, TP), истински негативните (true negative, TN), фалшиво позитивните (false positive, FP) и фалшиво негативните (false negative, FN) случаи (табл. 27).

Табл. 27

2x2 таблица за резултатите в групата с визуална инспекция с Луголов разтвор

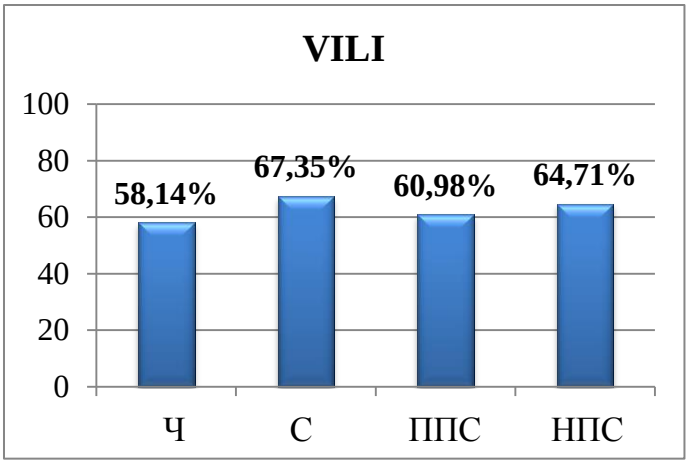
VILI	**Хистология**		
	Негативна	Позитивна	Общо
Тест – Негативен	**33** (TN)	**18** (FN)	**51**
Тест – Позитивен	**16** (FP)	**25** (TP)	**41**
Общо	**49**	**43**	**92**

С помощта на съответните формули определихме чувствителност, специфичност, позитивна предиктивна стойност (ППС), негативна предиктивна стойност (НПС) на VILI. *Чувствителността* на VILI в нашето проучване беше **58,14%** (95% доверителен интервал 42,13% - 72,99%); *специфичността* – **67,35%** (95% доверителен интервал 52,46% - 80,05%); ППС – 60,98% (95% доверителен интервал 44,5% - 75,8%) и НПС – 64,71% (95% доверителен интервал 50,07% - 77,57%) (табл. 28, фиг. 18).

Табл. 28

Статистически показатели за метода VILI

Статистически позатели за метода VILI	**Value (Стойност)**	**95% CI (95% доверителен интервал)**	
Чувствителност	58,14%	42,13%	72,99%
Специфичност	67,35%	52,46%	80,05%
Позитивна предиктивна стойност	60,98%	44,5%	75,8%
Негативна предиктивна стойност	64,71%	50,07%	77,57%



Фиг. 18 Чувствителност (Ч), специфичност (С), позитивна предиктивна стойност (ППС) и негативна предиктивна стойност (НПВ) на метода VILI

С помощта на теста на McNemar сравнихме съгласуваността на метода VILI с резултата от хистологичното изследване на биопсичните материали от МШ на съответните пациентки (табл. 29).

Табл. 29

Тест на McNemar за сравняване на относителните дялове на различно класифицираните честоти в групата с VILI

	хистология (+) n (%)	хистология (-) n (%)	Общо N (%)	p
VILI (+)	25 (58,1)	16 (32,7)	41 (44,6)	0,864
VILI (-)	18 (41,9)	33 (67,3)	51 (55,4)	
Общо	43 (100)	49 (100)	92 (100)	

Диагностичното представяне на метода VILI оценихме и с помощта на ROC крива. Площта под кривата (AUC) показа стойност на 0,627 (табл. 30).

Табл. 30

AUC за метода VILI

Метод	**AUC (площ под кривата)**	**95% CI (95% доверителен интервал)**		**p**
VILI	0,627	0,512	0,743	0,036

ОБСЪЖДАНЕ

Визуалната инспекция на МШ с Луголов разтвор (VILI) има редица предимства, особено в случаите, когато липсва организирана скринингова програма. Тя е лесно приложима, резултатите се получават в рамките на прегледа, себестойността й е ниска (Sue J. Goldie et al., 2001), не е необходимо Луголовият разтвор да е прясно приготвен (за разлика от VIA) (225). Интерпретацията на ефекта от Луголовия разтвор е значително по-лесна, в сравнение с този от оцетната киселина, тъй като участъците, които не поемат Луголовия разтвор се установяват много лесно от изследователя.

Международната Агенция за Изследване на Рака (International Agency for Research on Cancer, IARC) провежда мащабни мултицентрови проучвания (11 кръстосани проучвания, 4 в Индия и в 5 страни от Африка; над 58000 жени на възраст между 25 и 64 години) за оценка на ефикасността на различни скринингови тестове за установяване на

цервикални неоплазии. Резултатите от тези проучвания показват много разнопосочни стойности за отделните методи, което е резултат от различията в тестуването, подготовката на специалистите, качеството на контрола, използваните стандарти за установяване на истински позитивните случаи, докладването на хистологичните резултати и мониторирането на проучванията (73, 242, 243). В това мултицентрово проучване на IARC (2004) чувствителността на VILI варира между 76,00% до 97,00%, специфичността между 73,00% до 91,30% (242). Sarian et al. (2005) установяват чувствителност на VILI 56,7% и специфичност 77,9% (87), а резултатите за VILI от проучването на Lugoma et al. (2006) са чувствителност 68,3% и специфичност 76,2% (88,244).

Големите различия в резултатите от клиничното представяне на VILI от различните проучвания могат да се обяснят със субективната оценка на изследващия и степента на съобразяването с критериите за категоризиране на теста като позитивен, или негативен. Тези огромни различия са и причината VILI като метод да има *ниска възпроизводимост* на резултатите и да не е предпочитан за цервикален скрининг.

Резултатите от нашето проучване показват средна по стойност *чувствителност* (**58,14%**) и средна *специфичност* (**67,35%**) на метода VILI. Сходно с резултатите на чужди автори (Latin American Screening study, LAMS, 2005) (87), специфичността на метода VILI в нашата извадка е доста по-ниска от тази на *цитологичния метод* (**83,93%**), което е резултат от по-големия брой *фалшиво-позитивни резултати* при използване на тази техника за цервикален скрининг. В групата с VILI от пациентките с резултат „тест (+)“ 16 случая са фалшиво позитивни (**39,02%**). Това е познат недостатък на този метод като скрининг и е свързан с излишно насочване на пациента за колпоскопия и ненужна биопсия.

Тъй като фалшиво-позитивните резултати са основния недостатък на този вид визуална инспекция на МШ., ние се придържахме стриктно към критериите за определяне на позитивните и негативните резултати при прилагането на метода (A practical manual on visual screening for cervical neoplasia, IARC, 2003) (245). Обикновено VILI показва по-голяма чувствителност от цитологичния метод. В това наше проучване обаче чувствителността на VILI е по-ниска (**58,14%**). Това може да се обясни именно с факта, че за тест-позитивен приемахме единствено жълтеникаво оцветените (mustard yellow) участъци от зоната на трансформация, непоемащи Луголовия разтвор, които бяха в близост до цервикалния канал, или навлизаха в него. Неравномерното поемане на Луголовия разтвор, както и сателитните лезии (далеч от цервикалния канал) отбелязвахме като негативен тест, както сочат препоръките на IARC Working Group on the Evaluation of Cancer (2005) (246).

Ниската негативна предиктивна стойност (НПВ, NPV) на VILI, която установихме в нашето проучване, а именно **64,71%**, прави теста неподходящ за използването му като скринингов метод за РМШ. Ако прагът за оценка на клиничото представяне на VILI е CIN2+, се оказва , че специфичността на теста е висока (>95%) (Arbyn M , 2008) (211). Това на практика означава, че визуалната инспекция с Луголов разтвор е удачно да се използва не като скринингов метод, а с цел при рутинен преглед да не изпусне случай с РМШ, или тежка дисплазия.

ИЗВОДИ

При в*изуалната инспекция на МШ с Луголов разтвор резултатът се получава в рамките на същия преглед и интерпретацията на резултата е много лесна.*

Основен недостатък на VILI са фалшиво-позитивните резултати (**39,02%** от случаите с резултат „тест-негативен“)*, които водят до ниска специфичност на теста* (**67,35%**) *и извършване на излишни колпоскопии и биопсии.*

VILI има ниска възпроизводимост на резултатите.

Ниската негативна предиктивна стойност на теста **(64,71%)** *го прави неподходящ за първичен цервикален скрининг.*

В случаите, когато не е сигурно дали ще може да се проследи пациента, може при прегледа да се използва VILI с цел да се изключи тежка дисплазия или инвазивен РМШ (специфичност на VILI >95% при праг от хистологичното изследване CIN2+).

V.2.4. ПРИЛОЖЕНИЕ НА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕН АНАЛИЗ ЗА ОТКРИВАНЕ ИЗМЕНЕНИЯ НА МАТОЧНАТА ШИЙКА (TRUSCREEN®)

Четвъртата група пациентки от нашето проучване включваше 92 жени, при които беше направен спектрофотометричен анализ на МШ с TruScreen®. След калибриране и поставяне на стерилен индивидуален накрайник (SUS) преди всеки преглед, следваше отчитане на 16-32 полета от зоната на трансформация на МШ на съответната пациентка. В края на изследването резултатът се принтираше в две копия (едно за пациентката и второ за работния фиш). В проучването включихме само случаите с негативен (Normal) и позитивен (Abnormal) резултат, а тези с незадоволителен (Inadequate) – 2 случая, или при липсващи данни (No data) – 1 случай, бяха изключени от проучването. При всички пациентки от четвърта група на проучването, оценени с TruScreen®, в рамките на същото посещение бяха извършени колпоскопия и прицелна биопсия от съответна лезия при колпоскопски атипизъм, или от предварително избран участък при липса на такъв.

На база резултатите от хистологичното изследване на биопсичните материали с помощта на 2x2 таблици определихме истински позитивните (true positive, TP), истински негативните (true negative, TN), фалшиво позитивните (false positive, FP) и фалшиво негативните (false negative, FN) случаи (табл. 31).

Табл. 31

2x2 таблица за резултатите в групата със спектрофотометричен анализ на МШ с TruScreen®

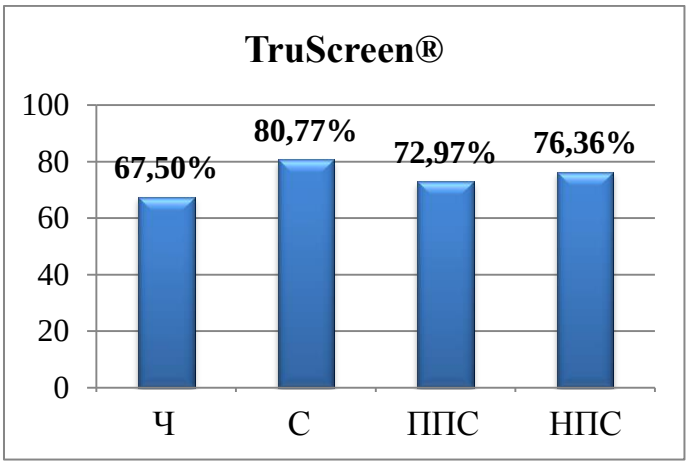
TruScreen®	**Хистология**		
	Негативна	Позитивна	Общо
Normal	**42** (TN)	**13** (FN)	**55**
Abnormal	**10** (FP)	**27** (TP)	**37**
Общо	**52**	**40**	**92**

Използвайки съответните формули определихме чувствителност, специфичност, позитивна предиктивна стойност (ППС) и негативна предиктивна стойност (НПС) на спектрофотометричния анализ с TruScreen®. *Чувствителността* на TruScreen® в нашето проучване беше **67,5%** (95% доверителен интервал 50,87% - 81,43%); *специфичността* – **80,77%** (95% доверителен интервал 67,47% - 90,37%); *ППС* – **72,97%** (95% доверителен интервал 55,88% - 86,21%) и *НПС* – **76,36%** (95% доверителен интервал 62,98% - 86,77%) (табл. 32, фиг. 19).

Табл. 32

Статистически показатели за метода спектрофотометричен анализ (TruScreen®)

Статистически позатели за TruScreen®	**Value (Стойност)**	**95% CI (95% доверителен интервал)**	
Чувствителност	67,5%	50,87%	81,43%
Специфичност	80,77%	67,47%	90,37%
Позитивна предиктивна стойност	72,97%	55,88%	86,21%
Негативна предиктивна стойност	76,36%	62,98%	86,77%



Фиг. 19 Чувствителност (Ч), специфичност (С), позитивна предиктивна стойност (ППС) и негативна предиктивна стойност (НПВ) на метода спектрофотометричен анализ на МШ с TruScreen®

Използвахме теста на McNemar за сравняване на относителните дялове на различно класифицираните честоти (съгласуваност на метода спектрофотометричен анализ на МШ с резултата от хистологичното изследване на биопсичните материали от МШ) (табл. 33).

Табл. 33

Тест на McNemar за сравняване на относителните дялове на различно класифицираните честоти в групата със спектрофотометричен анализ на МШ с TruScreen®

	хистология (+) n(%)	хистология (-) n(%)	Общо n(%)	p
TruScreen® (+)	27 (67,5)	10 (19,23)	37 (40,22)	0,005
TruScreen® (-)	13 (32,5)	42 (80,77)	55 (59,78)	
Общо	40 (100)	52 (100)	92 (100)	

С помощта на ROC крива определихме диагностичното представяне на метода TruScreen®. Площта под кривата (AUC) показа стойност на 0,741 (табл. 34).

Табл. 34

AUC за метода TruScreen®

Метод	**AUC (площ под кривата)**	**95% CI (95% доверителен интервал)**		**p**
TruScreen®	0,741	0,635	0,847	< 0,001

ОБСЪЖДАНЕ

Спектрофотометричния анализ на МШ (TruScreen®) е представител на методите за оценка на цервикалния епител в реално време. Редица проучвания разглеждат ефикасността на TruScreen® за установяване на преканцерозите на МШ (205,206,207). Pruski D **et al. (2008) в своето проспективно проучване намират специфичност на метода 84%, а чувствителността при праг на хистологичния резултат CIN1/2 се различава от тази при праг CIN3, съответно 53% и 80% (205). Колективът на Li W. (2011) сравнява представянето на TruScreen®** с ефикасността на еднослойните цитонамазки и установява, че **спектрофотометричния анализ на МШ също** ефикасно открива случаите с ASCUS (206). При сравняване на клиничното представяне на **TruScreen®** и цитологичния метод Не ХК et al. намират и при двете техники високи стойности на специфичността, съответно 96,7% и 93,7%, а именно специфичността на един метод показва дали е удачен за извършване на вторична профилактика (207). **На места, където липсва организирана скринингова програма е възможно използването на TruScreen® за първичен скрининг за РМШ.** Мултицентровото проучване на колектива на Singer A. (2003) показва чувствителност на спектрофотометричния анализ при хистологично потвърдени CIN 2/3 67%, а при праг CIN 1 – 70% (200). **Резултатите от проучването на S.Long и сътр. показват** чувствителност на **TruScreen® като самостоятелен** метод за първичен скрининг 67,4%, и специфичност съответно 68,1% (208). Нашите резултати са близки до чуждия опит: *чувствителност* на TruScreen® **67,5%** и *специфичност* **80,77%** при праг CIN 1+ от хистологичното изследване на биопсичните материали на пациентките.

В четвъртата група от проучването има 55 пациентки с нормален резултат от спектрофотометричния анализ на МШ с TruScreen® (резултат

“Normal”). От тях 13 имат данни за преканцероза на МШ от хистологичното изследване на съответния биопсичен материал, т.е. ***23,64%*** от жените с отрицателен резултат от теста са *фалшиво-негативни* (***14,13%*** *от всички* пациентки в групата). От пациентките с резултат „Abnormal“ от теста с TruScreen® (тест-позитивен), 10 случая са фалшиво-позитивни (27,03% от положителните случаи и 10,87% от всички пациентки в четвърта група).

Резултатите от това наше проспективно проучване показват *висока специфичност* на спектрофотометричния анализ на МШ (TruScreen®), а именно **80,77%** и *висока негативна предиктивна стойност*: **76,36%** (подобно на тази на цитологичния метод – **77,05%**), което показва, че TruScreen® може да бъде използван като *самостоятелен* метод за скрининг на РМШ, особено при липса на организирана скринингова програма.

ИЗВОДИ

Спектрофотометричния анализ на МШ (TruScreen®) се извършва лесно, не изисква специална квалификация и резултатите се получават в реално време.

При изследване на МШ с TruScreen® няма субективен елемент за разлика от методите за визуална инспекция.

*TruScreen® има висока специфичност (**80,77%**) и висока негативна предиктивна стойност (**76,36%**), т.е. може да бъде използван като самостоятелен метод за първичен цервикален скрининг.*

V.2.5. РЕЗУЛТАТИ ОТ КОМБИНИРАНОТО ПРИЛОЖЕНИЕ НА РАЗЛИЧНИ ДИАГНОСТИЧНИ МЕТОДИ ЗА ОЦЕНКА НА ЦЕРВИКАЛНИЯ ЕПИТЕЛ

На основание резултатите от проучването LAMS (Latin American Screening study) (211) счетохме за удачно да проверим дали има разлика между ефикасността на проучваните методи *самостоятелно* и *в комбинация*. Разумно би било да се комбинират метод, установяващ промени по порциото на МШ (визуална инспекция, спектрофотометричен анализ) с такъв, откриващ лезии и в цервикалния канал (ексфолиативна цитология). Целта на такъв комбиниран тест е да се *повиши чувствителността* на изследването без да се намалява акуратността на теста заради загуба на специфичност, или насочване на излишен брой пациенти за уточняваща диагностика. Тъй като при всички пациентки от настоящото проучване беше взета цитонамазка в началото на прегледа преди VIA и VILI, и след TruScreen®, беше възможно да се оцени и комбинираното клинично представяне на тези образни техники с цитологичния метод. Съответно бяха сформирани две подгрупи, при които оценката на МШ бе извършена с помощта на комбинация от два метода, а именно:

I-ва подгрупа – жени, при които бяха извършени ***VIA и цитонамазка***

II-ра подгрупа – жени, при които бяха извършени спектрофотометричен анализ на МШ с ***TruScreen® и цитонамазка***.

И в двете комбинирани подгрупи приехме за позитивен резултат от комбинацията случаите, в които поне един от двата метода беше показал позитивен резултат. За негативни в тези подгрупи приехме само случаите, в които и двата метода показаха отрицателен резултат.

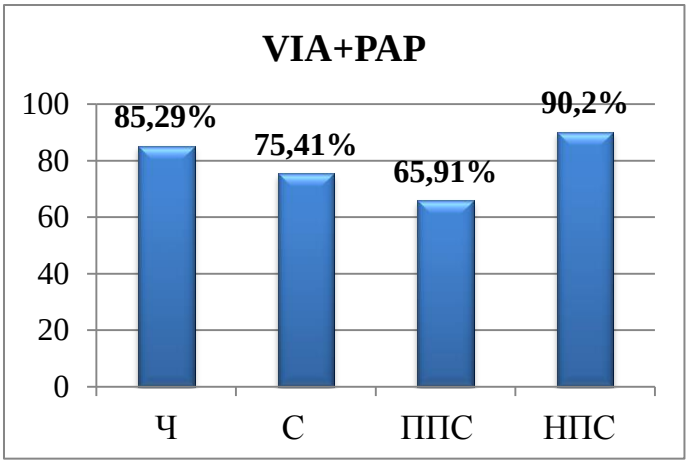
V.2.5.1. РЕЗУЛТАТИ ОТ КОМБИНИРАНЕТО НА VIA И PAP-ТЕСТ

В първата подгрупа от настоящото проучване бяха оценени статистическите показатели на комбинираното изследване на МШ с **визуална инспекция с оцетна киселина (VIA)** и **цитонамазка (PAP-тест)**. *Чувствителността*, която намерихме за този комбиниран тест беше **85,29%** (95% доверителен интервал 68,93% - 94,99%), *специфичността* – **75,41%** (95% доверителен интервал 62,70% - 85,53%), позитивната предиктивна стойност – 65,91% (95% доверителен интервал 50,08% - 79,50%), а негативната предиктивна стойност – 90,20% (95% доверителен интервал 78,57% - 96,70%) (табл. 35, фиг. 20).

Табл. 35

Чувствителност, специфичност, позитивна предиктивна стойност и негативна предиктивна стойност в I-ва подгрупа на комбинирано изследване на МШ с VIA и PAP

Статистически позатели за VIA+PAP	**Value (Стойност)**	**95% CI (95% доверителен интервал)**	
Чувствителност	85,29%	68,93%	94,99%
Специфичност	75,41%	62,70%	85,53%
Позитивна предиктивна стойност	65,91%	50,08%	79,50%
Негативна предиктивна стойност	90,20%	78,57%	96,70%



Фиг. 20 Чувствителност (Ч), специфичност (С), позитивна предиктивна стойност (ППС) и негативна предиктивна стойност (НПВ) в I-ва подгрупа на комбинирано изследване на МШ с VIA и PAP

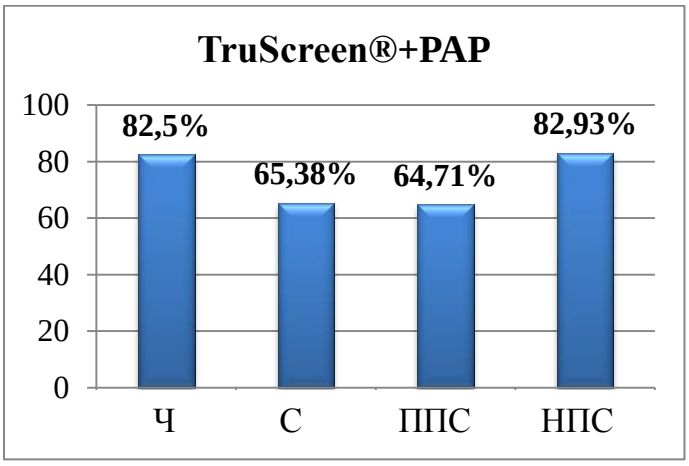
V.2.5.2. РЕЗУЛТАТИ ОТ КОМБИНИРАНЕТО НА TruScreen® И PAP-ТЕСТ

Втората подгрупа с комбинирано изследване на МШ включваше 92 пациентки, при които беше направен спектрофотометричен анализ на МШ с **TruScreen®** и **PAP**. За да оценим представянето на тази комбинация от тестове, също изчислихме съответните статистически показатели. *Чувствителността* на изследването TruScreen® + PAP, която получихме е **82,5%** (95% доверителен интервал 67,22% - 92,66%), *специфичността* - **65,38%** (95% доверителен интервал 50,91% - 78,03%), позитивната предиктивна стойност - 64,71% (95% доверителен интервал 50,07% - 77,57%), негативната предиктивна стойност - 82,93% (95% доверителен интервал 67,94% - 92,85%) (табл. 36, фиг. 21).

Табл. 36

Чувствителност, специфичност, позитивна предиктивна стойност и негативна предиктивна стойност във II-ра подгрупа на комбинирано изследване на МШ с TruScreen® и PAP

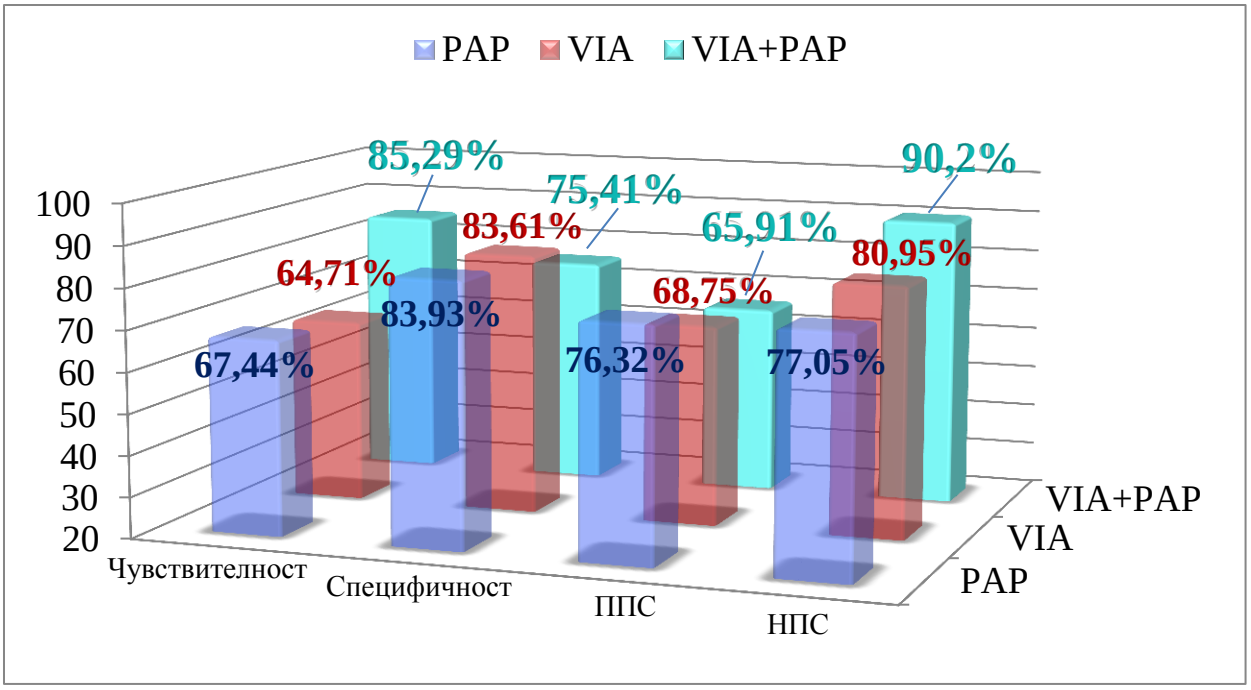
Статистически позатели за TruScreen®+PAP	**Value (Стойност)**	**95% CI (95% доверителен интервал)**	
Чувствителност	82,5%	67,22%	92,66%
Специфичност	65,38%	50,91%	78,03%
Позитивна предиктивна стойност	64,71%	50,07%	77,57%
Негативна предиктивна стойност	82,93%	67,94%	92,85%



Фиг. 21 Чувствителност (Ч), специфичност (С), позитивна предиктивна стойност (ППС) и негативна предиктивна стойност (НПВ) във II-ра подгрупа на комбинирано изследване на МШ с TruScreen® и PAP

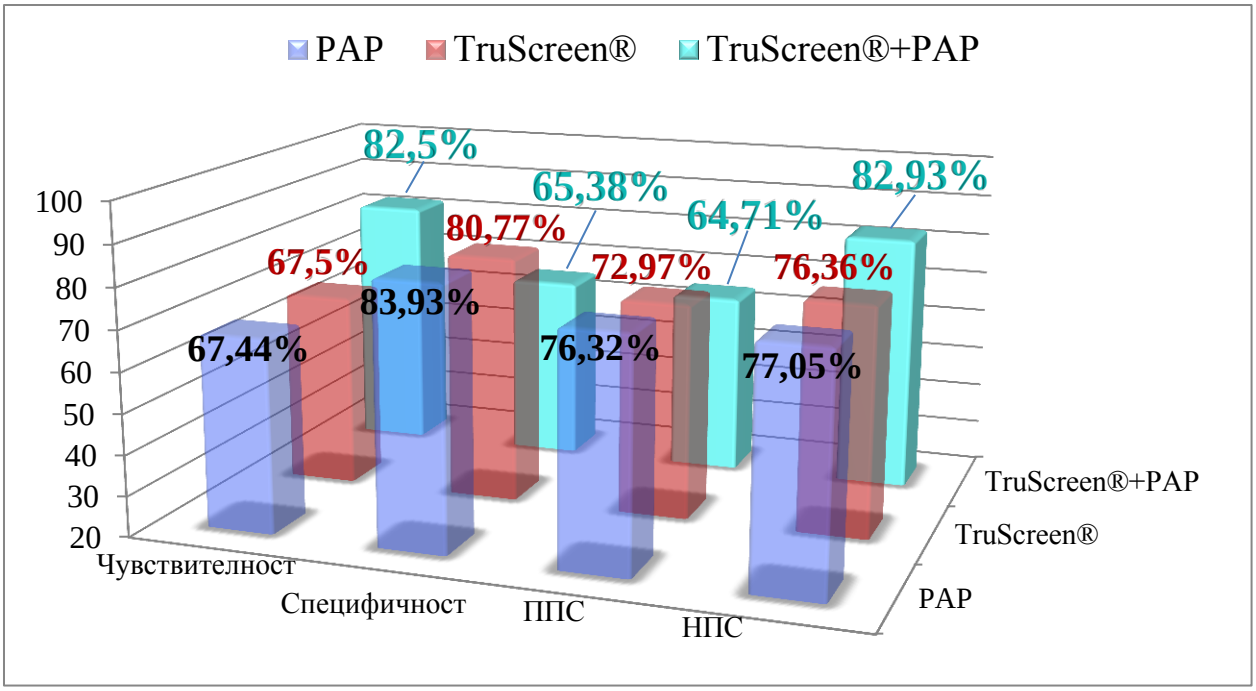
ОБСЪЖДАНЕ НА КОМБИНИРАНОТО ИЗСЛЕДВАНЕ НА МШ

На фиг. 22 е представено сравнение между представянето на VIA и PAP-тест като самостоятелни методи за изследване на МШ и комбинацията между VIA и PAP-тест. Комбинирането на тези две техники води до *статистически значимо повишаване на чувствителността* (**85,29%**), както спрямо самостоятелното използване на PAP-тест (67,44%) – **+17,85%** ($p<0,05$), така и спрямо самостоятелното изследване на МШ с VIA (64,71%) – **+20,58%** ($p<0,05$). Оценката на МШ с VIA + PAP-тест е свързано с *намаляване на специфичността* (**75,41%**), но липсва статистически значима разлика спрямо специфичността на самостоятелното използване на PAP-тест (83,93%) и VIA (83,61%) ($p>0,05$). За клиничното представяне на всеки *скринингов метод* значение има *негативната предиктивна стойност (НПС)*. В групата с комбинирано изследване на МШ с VIA и PAP от нашето проучване НПС беше **90,2%**, което показва, че тази комбинация от техники може да бъде използвана за първичен цервикален скрининг.



Фиг. 22 Сравнение между статистическите показатели чувствителност, специфичност, позитивна предиктивна стойност (ППС) и негативна предиктивна стойност (НПС) на самостоятелното клинично представяне на PAP-тест и VIA и комбинирането им

На фиг. 23 е сравнено самостоятелното клинично представяне на класическата цитонамазка (PAP-тест), спектрофотометричния анализ на МШ с TruScreen® и това на комбинацията между двете техники. Много сходно с другата подгрупа от нашето проучване с комбинация VIA + PAP, наблюдаваме статистически значимо ($p<0,05$) повишаване на *чувствителността* на **комбинацията TruScreen® + PAP-тест (82,5%)** спрямо самостоятелното използване на двете техники поотделно. Успоредното използване на спектрофотометричния анализ на МШ и класическата цитонамазка обаче води и до статистически значимо ($p<0,05$) намаляване на специфичността на комбинацията (**65,38%**): от 83,93% на PAP-теста – - 18,55% и от 80,77% на TruScreen® – - 15,39%.



Фиг. 23 Сравнение между чувствителност, специфичност, позитивна предиктивна стойност (ППС) и негативна предиктивна стойност (НПС) при самостоятелното използване на PAP-тест и TruScreen®, както и комбинацията им

Singer A. et al. (2003) също проучват ефикасността на спектрофотометричния анализ на МШ като допълнение на PAP-теста в мултицентрово проучване (200). Техният колектив установява, че при праг на хистологичното изследване CIN 1 комбинираното тестуване на МШ води до повишаване на чувствителността до 87% (от 67% на самостоятелното изследване с TruScreen®). Не ХК et al. разглеждат самостоятелно тестуване с TruScreen® и паралелно TruScreen® и PAP. Техните резултати показват статистически значима разлика между успоредното изследване на МШ с TruScreen® и PAP и това без TruScreen® ($p<0,05$), но не и между самостоятелното представяне на TruScreen® и комбинирането му с PAP-тест ($p>0,05$) (207). Така те показват, че

TruScreen® допринася за диагностичната точност, ако се използва за допълнителен тест за цервикален скрининг, но ако той се използва като първичен скрининг, няма полза от комбинирането му с друг тест.

Негативната предиктивна стойност на комбинираното тестуване с TruScreen® и PAP е висока - **82,93%**. Това показва, че тази комбинация от тестове също може да се използва за първичен цервикален скрининг. НПС на самостоятелното изследване на МШ с TruScreen® е 76,36% и комбинирането му с PAP-тест не води до статистически значима разлика ($p > 0,05$), което на практика означава, че не е оправдано TruScreen® да се комбинира с друг метод, а е уместно той да се използва като ***самостоятелна техника за първичен цервикален скрининг***.

ИЗВОДИ

Комбинираното изследване на МШ с ***VIA и PAP-тест*** *(цитонамазка) води до статистически значимо повишаване на чувствителността* ***(85,29%)*** *и негативната предиктивна стойност* ***(90,2%)****, спрямо самостоятелното използване на съответните методи. Комбинацията на тези два теста е свързана с намаляване на специфичността (75,41%), но липсва статистически значима разлика (p>0,05) спрямо използването на методите за оценка на цервикалния епител поотделно. Нашите резултати показват, че тази комбинация от техники е удачна за вторична профилактика на РМШ и може да бъде част от цервикалния скрининг.*

Комбинираното изследване на МШ с ***TruScreen® и PAP-тест*** *(цитонамазка) има негативна предиктивна стойност* **(82,93%)** *близка до тази на самостоятелното тестуване с TruScreen®* (76,36%)*, без статистически значима разлика (p>0,05). В същото време успоредното използване на TruScreen® и цитонамазка води до статистически значимо (p<0,05) понижаване на специфичността (****65,38%****). Тези стойности показват, че спектрофотометричният анализ на МШ е подходящ за* ***самостоятелен първичен цервикален скрининг*** *и не е оправдано комбинирането му с други техники за изследване на МШ.*

VI. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Страни с действащи скринингови програми имат най-ниски заболеваемост и смъртност (194,195). Мащабно проучване на раковите регистри на скандинавските страни (Дания, Финландия, Норвегия и Швеция) за 50 годишен период (S Vaccarella et al., 2014) показва, че над 60000 случая на инвазивен, или между 41% и 45%, са били предотвратени благодарение на въведените скринингови програми (247). Анализът на заболеваемостта и смъртността от РМШ от базата данни на СЗО в Балтийските страни (Естония, Латвия и Литва) и тези от югоизточна Европа (България и Румъния) (Arbyn M et al., 2011) показва тенденция за повишение и на двата показателя за нашата страна (248). Остава въпросът какво би могло да се направи на места, където няма организиран цервикален скрининг, особено в условията на слаба икономика. Това бе причината в нашето проучване да сравним различни методи, които лесно биха могли да се използват за вторична профилактика на РМШ и да не са скъпи. Доколко един скринингов тест е удачен зависи не само от неговата точност, оценена основно на база чувствителността и специфичността му, но също така и от степента на сложност за приложението му и неговата безопасност. ППС и НПС също определят дали даден метод е подходящ за скринингов такъв, но тези два показателя зависят от разпространението на болестта (в случая броя на предраковите изменения на МШ при изследваните пациентки). Нашето проспективно проучване позволява да се направи сравнителна оценка на ефикасността на четири различни метода, използвани за цервикален скрининг: класическа цитонамазка, визуална инспекция на МШ с оцетна киселина (VIA), визуална инспекция на МШ с Луголов разтвор (VILI) и спектрофотометричен анализ на МШ с TruScreen®. В допълнение проверихме и способността за установяване на цервикална неоплазия при комбинация от два скринингови метода, а именно: VIA + цитонамазка и TruScreen® + цитонамазка. Оценката на

характеристиките от клиничното представяне на гореспоменатите методи е важно с оглед определяне на оптималния протокол за вторична профилактика на РМШ, подходящия интервал за проследяване и последващото поведение в зависимост от резултата.

В настоящото проучване сравняваме следните методи за онко-профилактична оценка на епителa на МШ:

1. Класическа цитонамазка (PAP – тест)
2. Визуална инспекция с оцетна киселина (VIA)
3. Визуална инспекция с Луголов разтвор (VILI)
4. Спектрофотометричен анализ на МШ с TruScreen®
5. Комбинация между VIA и цитонамазка
6. Комбинация между TruScreen® и цитонамазка

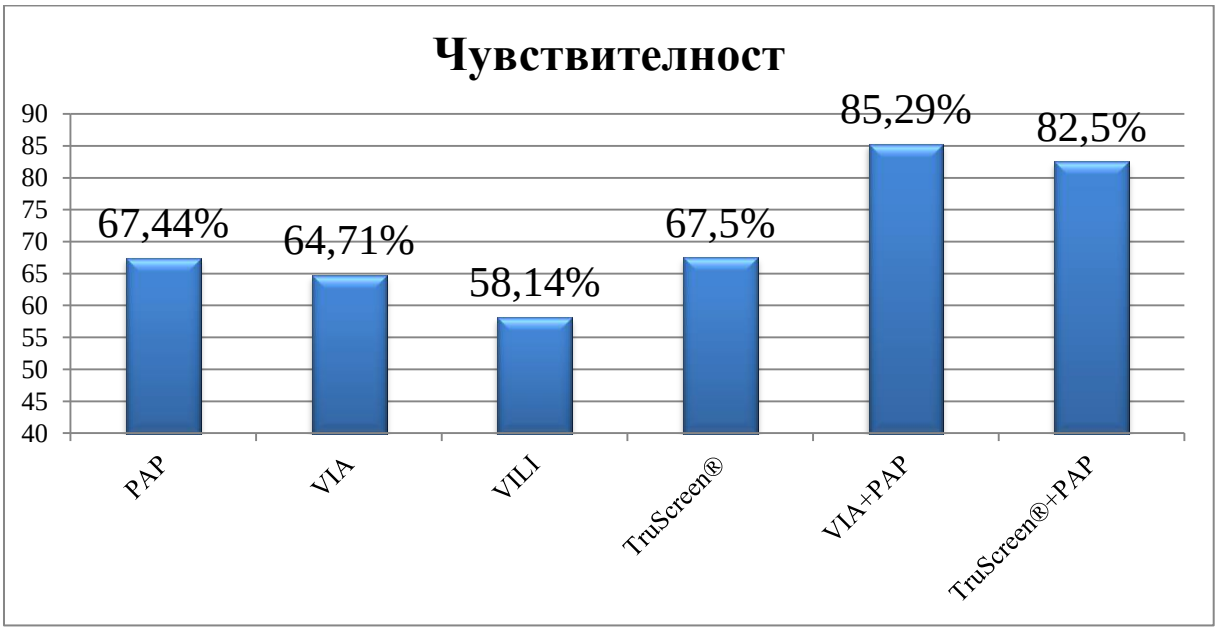
В табл. 37 са посочени всички статистически показатели за проучваните от нас методи за установяване измененията на МШ.

Табл. 37

Чувствителност (Ч), специфичност (С), позитивна и негативна предиктивна стойност (ППС, НПС), съотношения на позитивна и негативна вероятност (СПВ, СНВ), площ под кривата при ROC анализа (AUC) и ефикасност (Е) на всички проучени методи

Метод	Ч	С	ППС	НПС	СПВ	СНВ	AUC	Е
PAP	67,44%	83,93%	76,32%	77,05%	4,20	0,39	0,757	0,7677
VIA	64,71%	83,61%	68,75%	80,95%	3,95	0,42	0,742	0,7684
VILI	58,14%	67,35%	60,98%	64,71%	1,78	0,62	0,627	0,6304
TruScreen®	67,50%	80,77%	72,97%	76,36%	3,51	0,40	0,741	0,7500
VIA+PAP	85,29%	75,41%	65,91%	90,20%	3,47	0,20	0,804	0,7895
TruScreen® +PAP	82,50%	65,38%	64,71%	82,93%	2,38	0,27	0,739	0,7283

Резултатите от нашето проучване показаха следните стойности за чувствителност на съответните методи: цитонамазка – 67,44%, VIA – 64,71%, VILI – 58,14%, TruScreen® – 67,5%, VIA+PAP – 85,29% и TruScreen®+PAP – 82,5% (фиг. 24).



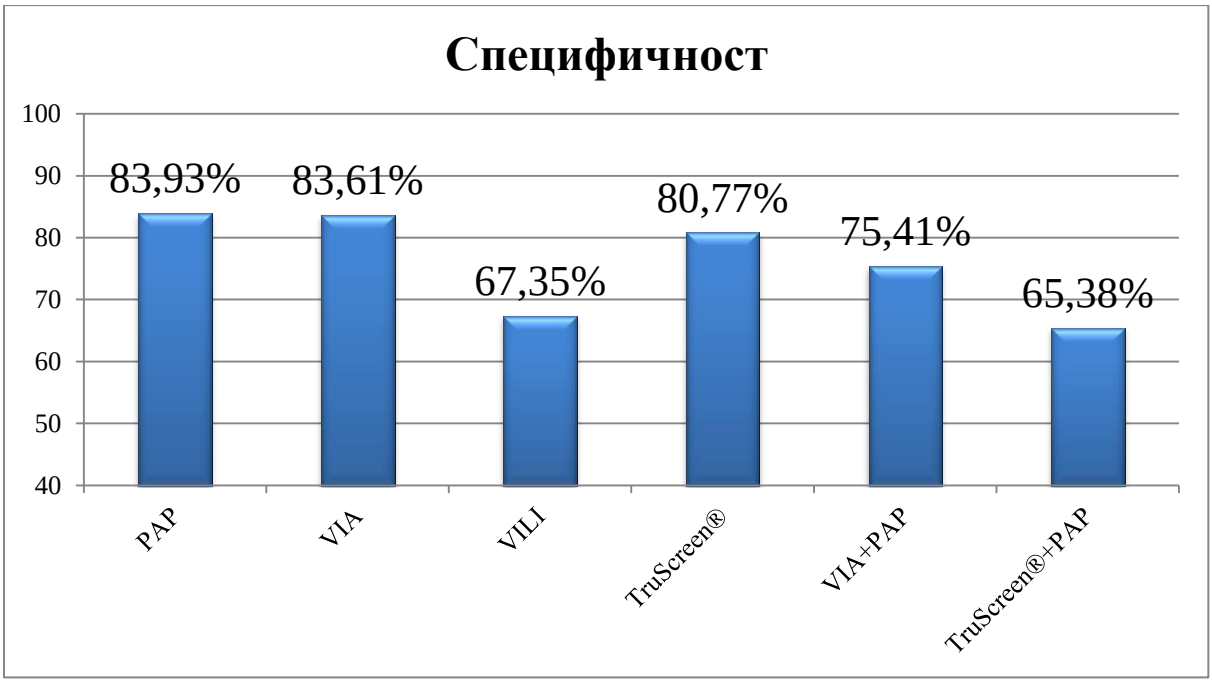
Фиг. 24 Чувствителност на проучваните методи за оценка на цервикалния епител

Най-високи стойности на чувствителност имат комбинациите между **VIA+PAP (85,29%)** и **TruScreen®+PAP (82,5%)**. Много сходни резултати за съчетаване на VIA и PAP-тест има в проучването LAMS (Latin American Screening study): комбинирането на цитонамазка с VIA показва оптимален баланс между чувствителност, специфичност и ненужно насочване към колпоскопия. LAMS установява чувствителност на тази комбинация от методи **87,1 %** (103). В нашето проучване комбинирането на VIA с цитонамазка повишава статистически значимо чувствителността (**85,29%**) спрямо самостоятелното използване на конвенционалната цитонамазка

(67,44%) с ***17,85% (p<0,05)***, а съотнесено към самостоятелното приложение на VIA (64,71%) с ***20,58% (p<0,05)***.

Проучването на Singer et al. (2003) установява значително повишена чувствителност на комбинацията TruScreen®+PAP, в сравнение със самостоятелното представяне на теста (200): при праг от хистологията CIN2/3 успоредното изследване на МШ с тези два метода води до чувствителност **93%**, а при праг CIN 1 чувствителността на комбинацията е **87%**. T. Allameh et al. (2013) също показват значително повишаване на чувствителността при комбиниране на TruScreen®+PAP: **93,8%**, при **46,9%** чувствителност от самостоятелното тестуване с TruScreen® (249). В нашето проспективно проучване чувствителността на TruScreen®+PAP (**82,5%**) е с **15,06%** по-висока ($p<0,05$) спрямо моно-теста с цитонамазка и с **15%** по-висока ($p<0,05$) от тази на моно-тест с TruScreen®. Това показва, че комбинирано изследване на МШ с TruScreen®+PAP дава възможност да се установи цервикална неоплазия, изпусната от цитологията (известен недостатък на цитологичния метод са фалшиво-отрицателните резултати).

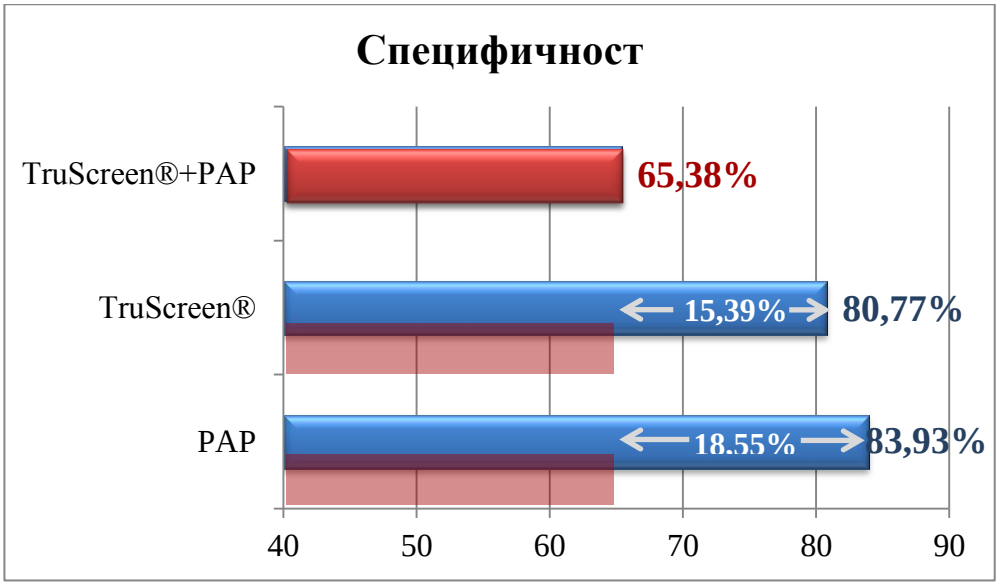
За специфичността на проучваните методи получихме следните резултати: PAP-тест – 83,93%, VIA – 83,61%, VILI – 67,35%, TruScreen® - 80,77%, VIA+PAP – 75,41%, TruScreen®+PAP – 65,38% (фиг. 25).



Фиг. 25 Специфичност на проучваните методи за оценка на цервикалния епител

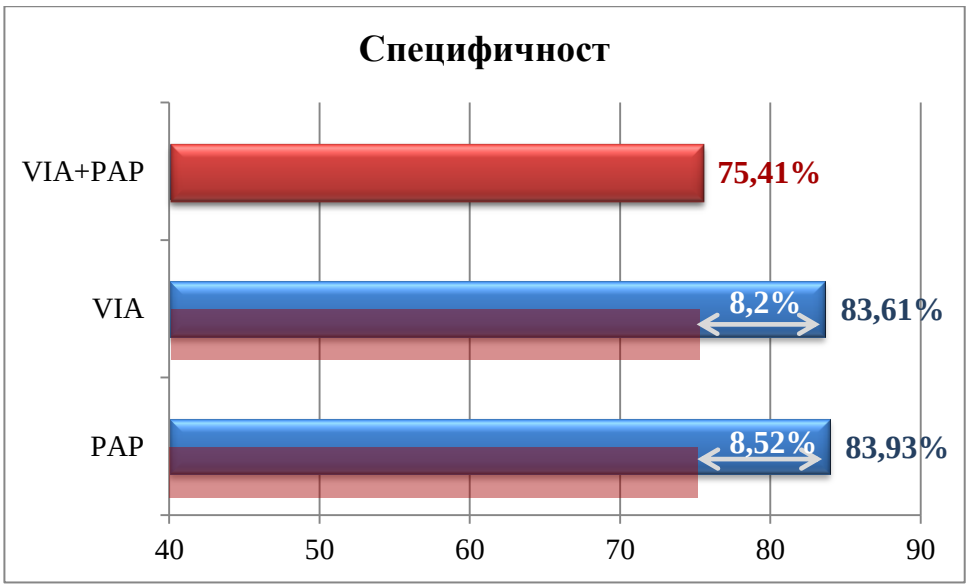
Нашите резултати показват най-високи стойности на специфичността при **самостоятелното** използване на ***класическата цитонамазка*** (**83,93%**), ***VIA*** (**83,61%**) и ***TruScreen®*** (**80,77%**). В съответствие с очакванията, комбинирането на два метода доведе до *понижаване на специфичността*, в резултат на по-големия брой *фалшиво положителни* случаи. Установихме ститистически значимо понижение на специфичността ($p<0,05$) при *комбинация на TruScreen® и PAP* (**65,38%**): с

18,55% спрямо самостоятелно приложение на PAP (83,93%) и с **15,39%** спрямо моно-тест с TruScreen® (80,77%) (фиг. 26). Това се потвърждава и от чужди автори: He XK et al. (2010) също сравняват самостоятелното и успоредното изследване на МШ с TruScreen® и PAP-тест и установяват намаляване на специфичността при комбинирането на методите. В тяхното проучване TruScreen®+PAP показват специфичност 75,8%, която е с 20,9% по-ниска от самостоятелното използване на TruScreen® (96,7%) и с 17,9% по-ниска от самостоятелното изследване с PAP-тест (93,7%) (207). На практика това означава, че не е оправдано успоредното изследване на МШ с TruScreen® и цитонамазка, а извършването на *самостоятелно изследване* с един от двата метода, тъй като увеличаването на фалшиво положителните случаи ще доведат до извършване на излишни колпоскопии и биопсии.



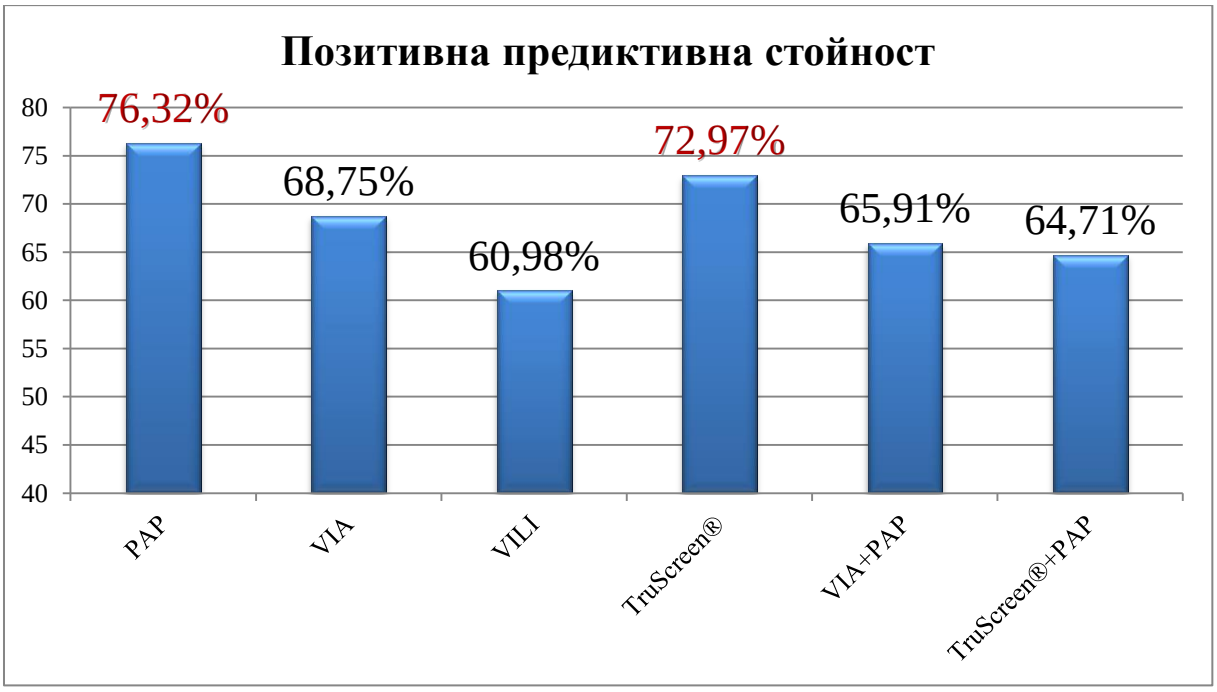
Фиг. 26 Понижение на специфичността при комбинирано изследване на МШ с TruScreen® и цитонамазка спрямо самостоятелното тестуване с всеки от двата метода

Понижението на специфичността при *комбинирано изследване с VIA и PAP* (**75,41%**) не е статистически значимо, съотнесено към специфичността на самостоятелното изследване със съответния тест: с **8,52%** (p>0,05) спрямо специфичността на самостоятелно използване на PAP (**83,93%**) и с **8,2%** (p>0,05) спрямо моно-тест с VIA (**83,61%**) (фиг.27). Статистически значимото повишаване на чувствителността при успоредно изследване на МШ с VIA и PAP (**85,29%)** и липсата на значима разлика в специфичността между комбинираното и самостоятелното използване на тези методи показва, че е оправдано конвенционалната цитонамазка да се допълва в практиката на гинеколога с визуална инспекция с оцетна киселина, защото това би допринесло за повишаване точността на изследване, без да има излишно насочване на пациентите за колпоскопия и ненужно извършване на биопсии.



Фиг. 27 Понижение на специфичността при комбинирано изследване на МШ с VIA и цитонамазка спрямо самостоятелното тестуване с всеки от двата метода

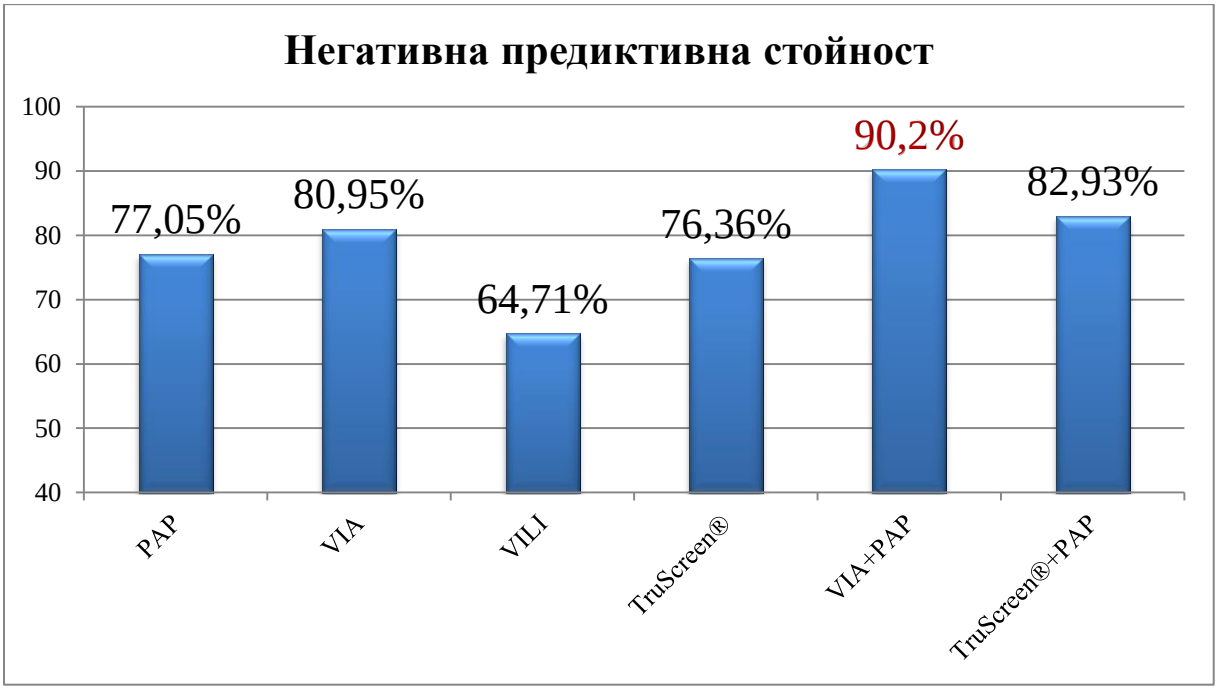
При оценяване на клиничното представяне на различни методи важна информация предоставят и предиктивните стойности (позитивна и негативна). Позитивната предиктивна стойност (ППС) показва какъв процент от пациентите с позитивен резултат от съответния тест за изследване на МШ действително имат преканцероза на МШ. В нашето проучване получихме следните резултати за ППС в отделните групи: цитонамазка – 77,32%, VIA – 68,75%, VILI – 60,98%, TruScreen® – 72,97%, VIA+PAP – 65,91%, TruScreen®+PAP – 64,71% (фиг. 28).



Фиг. 28 Позитивна предиктивна стойност на проучваните методи за оценка на цервикалния епител

Най-високи стойности на **ППС** в нашето проспективно проучване имат ***класическата цитонамазка*** (**76,32%**) и спектрофотометричния анализ на МШ (***TruScreen®***) (**72,97%**) като *самостоятелен метод* за цервикален скрининг.

Негативната предиктивна стойност (НПС) показва какъв процент от пациентите с негативен резултат от съответния тест за изследване на цервикалния епител действително имат здрава МШ. Ето защо този показател е важен за установяване дали даден метод е удачен за използване като скринингов такъв. За отделните групи от проучването получихме следните резултати за НПС: цитонамазка – 77,05%, VIA – 80,95%, VILI – 64,71%, TruScreen® – 76,36%, VIA+PAP – 90,2%, TruScreen®+PAP – 82,93% (фиг. 29).



Фиг. 29 Негативна предиктивна стойност на проучваните методи за оценка на цервикалния епител

Най-висока стойност на **НПС** получихме при *комбинирана оценка* на цервикалния епител с ***VIA и цитонамазка*** (**90,2%**). От гледна точка на скринингово изследване, т.е. отсяване на здравите от тези, които евентуално имат изменения на МШ, най-удачна се оказва тази комбинация от методи за оценка на МШ. Достатъчно висока НПС имат и *VIA* като

самостоятелен тест (**80,95%**), както и *комбинираното изследване с TruScreen® и цитонамазка* (**82,93%**). Тези наши резултати се потвърждават и от други автори, които също посочват повишаване на НПС при комбинация от тестове: T. Allameh et al. (2013) намират НПС при успоредно тестуване на МШ с TruScreen® и цитонамазка 86,7% (249).

В медицина, базарана на доказателства, за оценка на клиничното представяне на даден диагностичен/скринингов тест, се използват *съотношения на вероятностите* (likelihood ratios, LR). Съществуват два вида LR: за позитивните резултати от теста – positive likelihood ratio (PLR), и за негативните резултати от теста – negative likelihood ratio (NLR). LR се изчисляват по съответните формули:

PLR – Positive Likelihood Ratio (съотношение на позитивна вероятност, СПВ)
= Sensitivity/(100 – Specificity)

NLR – Negative Likelihood Ratio (съотношение на негативна вероятност, СНВ)
= (100 – Sensitivity)/Specificity

PLR (СПВ) и NLR (СНВ) са свързани с потенциалната полезност на даден диагностичен тест. Съотношенията на позитивна и негативна вероятност (СПВ и СНВ) показват вероятността за вярна и съответно грешна диагноза при представянето на съответния метод за оценка на епитела на МШ. СПВ – отношението между истински позитивни и фалшиво позитивни случаи: колкото по-голяма от 1 е тази стойност, толкова по-голяма е вероятността за вярна диагноза. СНВ – отношението

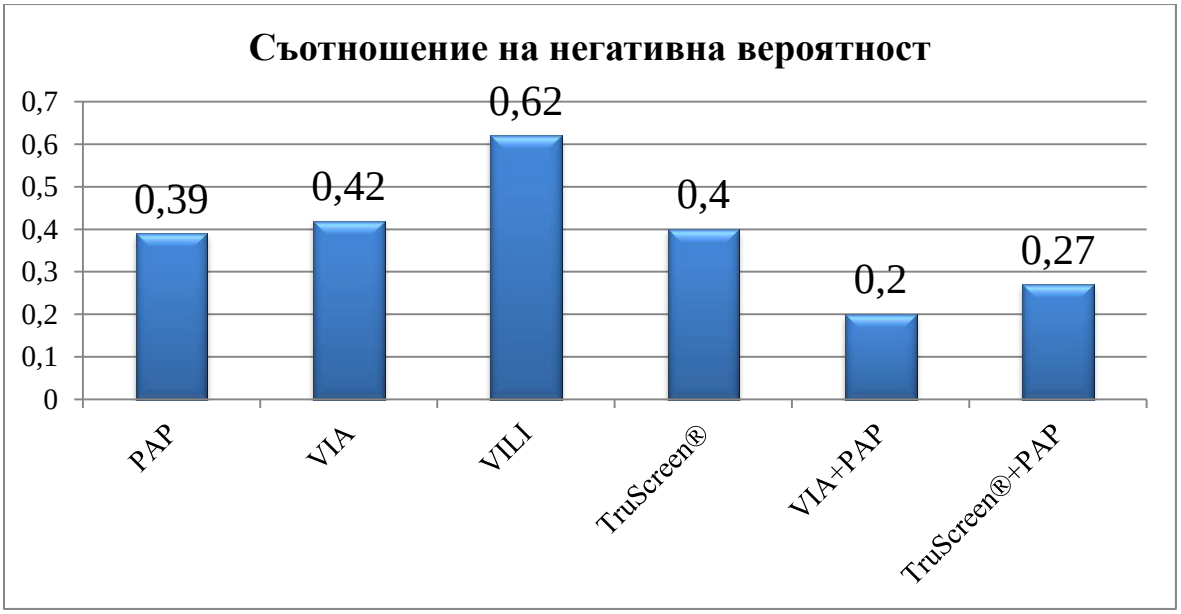
между фалшиво негативни и истински негативни: колкото по-малка от 1 е тази стойност, толкова по-малка е вероятността за фалшива диагноза. Ако LR=1, това означава, че съответният метод не променя вероятността за наличие на отклонение от нормата (в нашия случай преканцероза на МШ). За четирите основни групи и двете подгрупи от нашето проспективно проучване изчислихме и LR (фиг. 30).



Фиг. 30 Сравнение между стойностите на съотношение на позитивна вероятност в отделните групи и двете подгрупи от нашето проучване

Най-висока стойност на **СПВ** в нашето проучване има ***цитологичният метод*** (**4,20**), т.е. от методите, които сравняваме, при позитивен PAP-тест има най-голяма сигурност за вероятна преканцероза на МШ. Сходен PLR (СПВ) има **самостоятелното представяне на *VIA*** като метод за изследване на МШ (**3,95**). В останалите групи PLR (СПВ) има по-ниски стойсти, което се дължи на по-големия брой фалшиво-позитивни резултати.

На фиг. 31 е онагледен сравнителен анализ на стойностите на съотношение на негативна вероятност (CHB) в отделните групи и подгрупи от нашето проучване.

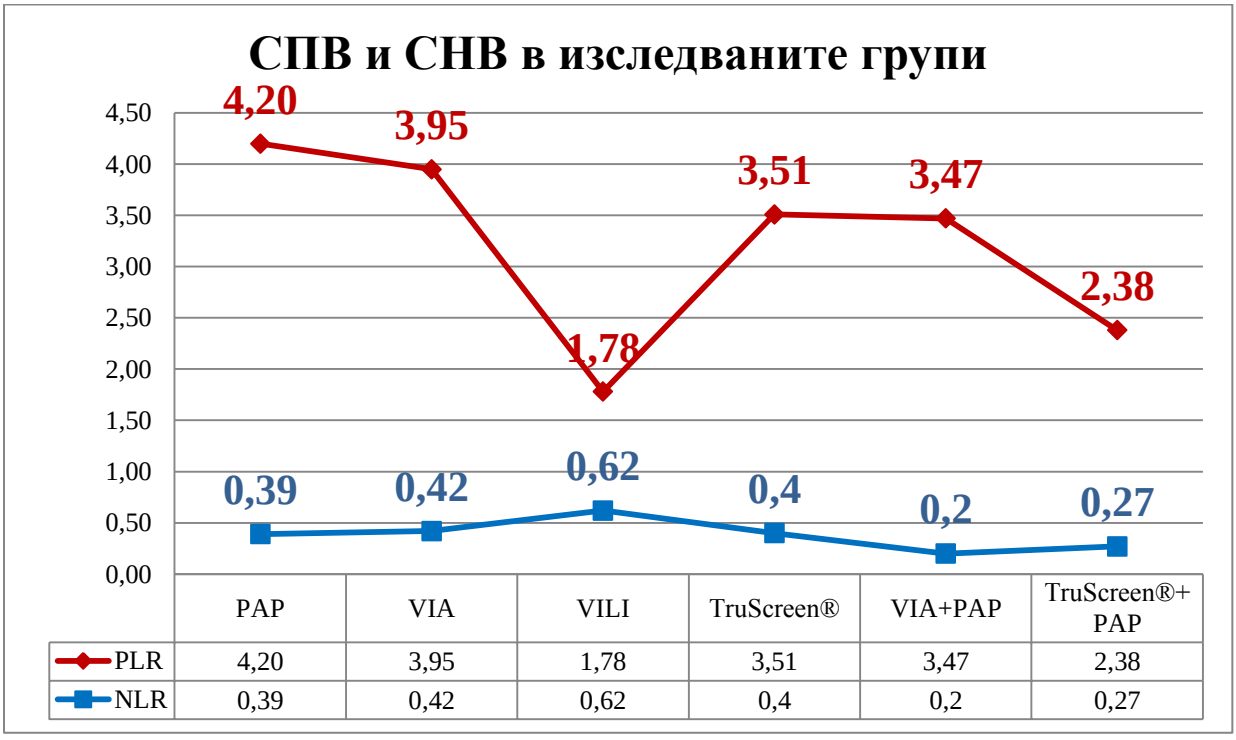


Фиг. 31 Сравнение между стойностите на съотношение на негативна вероятност в отделните групи и подгрупи от проучването

В настоящото проучване сравняваме методи, които се използват за вторична профилактика на РМШ, а целта на това е да се отсеят истински здравите пациенти от тези с потенциален риск. От тази гледна точка важно е сравняването на съотношението на негативна вероятност в разглежданите групи (CHB). Колкото по-ниска е тази стойност, толкова по-сигурно е, че пациент с негативен резултат от профилактичния тест ще има нормален резултат от хистологичното изследване (без преканцероза на МШ). *Най-ниски стойности на* ***CHB*** имаме в ***комбинираните*** групи: ***VIA+PAP (0,2)*** и ***TruScreen®+PAP (0,27)***. Самостоятелното клинично представяне на PAP, VIA и TruScreen® има сходни и по-високи стойности

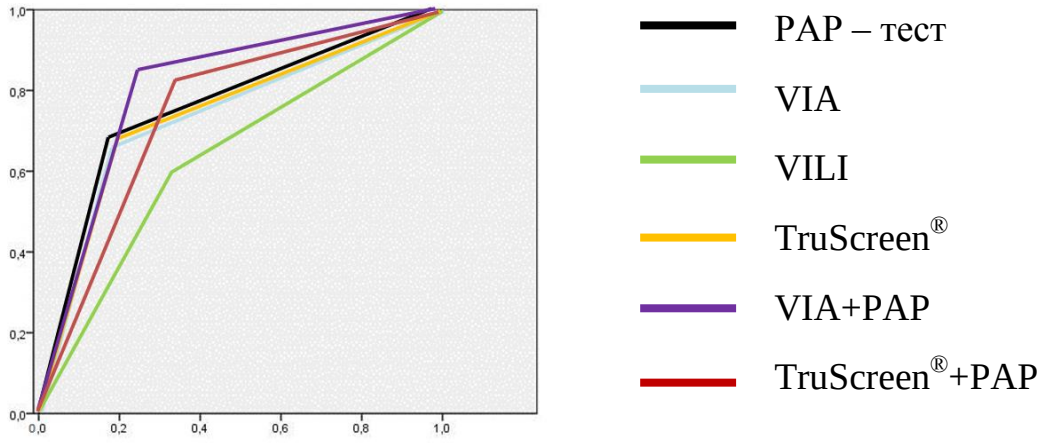
от тези в комбинираните групи, съответно 0,39; 0,42 и 0,40. В групата с VILI СНВ има стойност 0,62, която на практика показва, че VILI не е удачна техника за цервикален скрининг, тъй като има много фалшиво-позитивни резултати.

На фиг. 32 е представено съотношението между стойностите на СПВ и СНВ във всяка от изследваните групи. От графиката става ясно, че оптимални стойности, а именно *високи СПВ* и *ниски СНВ*, има при ***самостоятелно изследване*** на МШ с **PAP**, **VIA** и **TruScreen**®, както и при ***комбинирана оценка*** на епитела на МШ с **VIA+PAP**. В групата с VILI имаме едновременно най-високата стойност на СНВ и най-ниската на СПВ, което означава, че този метод не би бил полезен в ежедневната практика за адекватна оценка на цервикалния епител.



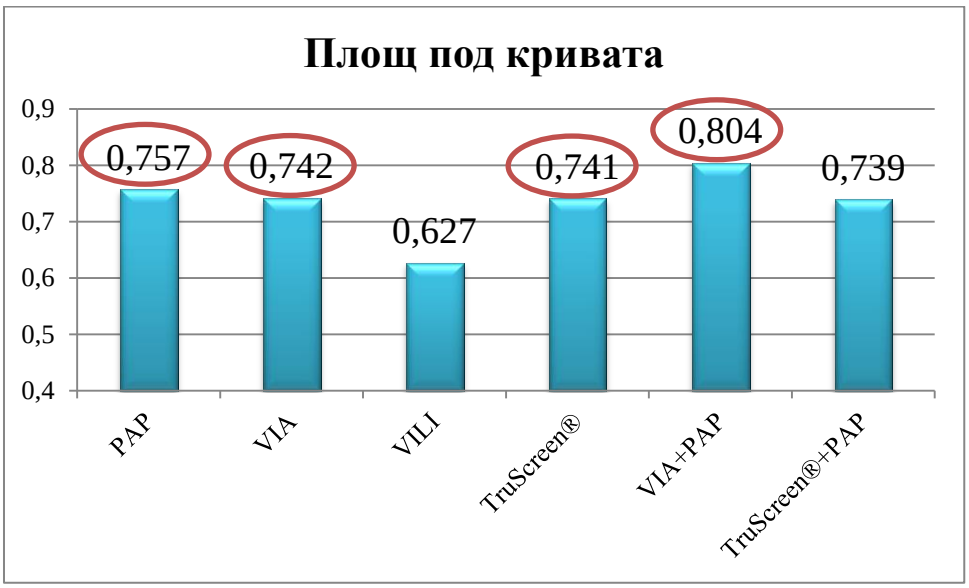
Фиг. 32 Съотношения на позитивна и негативна вероятност (СПВ и СНВ) в групите

По отношение ефикасността на скрининговите и диагностични методи преценка може да се направи и от ROC (Receiver Operating Characteristic) кривите и по-специално площта под кривата (AUC, area under curve) – колкото е по-висока тази стойност, по-точен е съответния метод (фиг. 33).



Фиг. 33 ROC (Receiver Operating Characteristic) криви на проучените от нас методи

На фиг. 34 са сравнени стойностите на AUC във всички групи от нашето проспективно проучване.

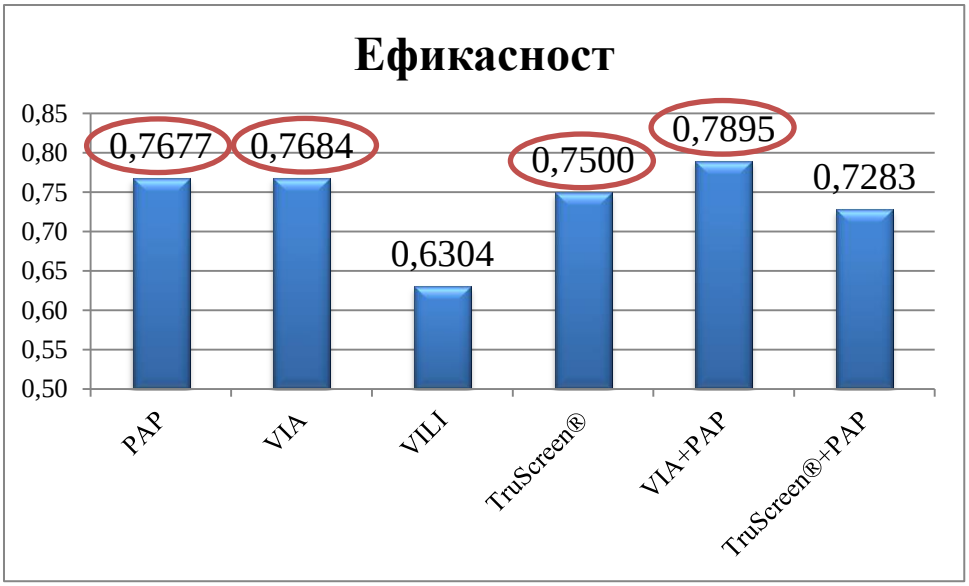


Фиг. 34 Площ под кривите при ROC анализ във всички групи и подгрупи от нашето проучване

Най-висока стойност на AUC има в комбинираната група **VIA+PAP (0,804)**. Площта под кривата в групите ***PAP***, ***VIA*** и ***TruScreen®*** е сходна като стойност, съответно 0,757; 0,742 и 0,741, което показва че тези три техники за цервикален скрининг имат близко като ефикасност клинично представяне и са *удачни за първичен скрининг на МШ* ***като самостоятелен метод***. В проучването на Özgü et al. (2015) AUC на самостоятелното изследване с TruScreen® показва също висока стойност – 0,606 (250). Подобна на самостоятелното изследване на МШ с TruScreen® стойност на площта под кривата е и AUC на комбинацията между TruScreen® и PAP (0,739), което означава, че не е оправдано комбинираното оценяване на МШ, а е по-удачно *самостоятелното* използване на TruScreen®.

Подобна информация за клиничното представяне на различните методи получаваме от статистическия показател „Ефикасност на метода“ (фиг. 35), който се изчислява по формулата:

$$\text{Ефикасност} = \frac{TP + TN}{TP + FP + TN + FN}$$



Фиг. 35 Ефикасност на всеки от методите в проспективното проучване

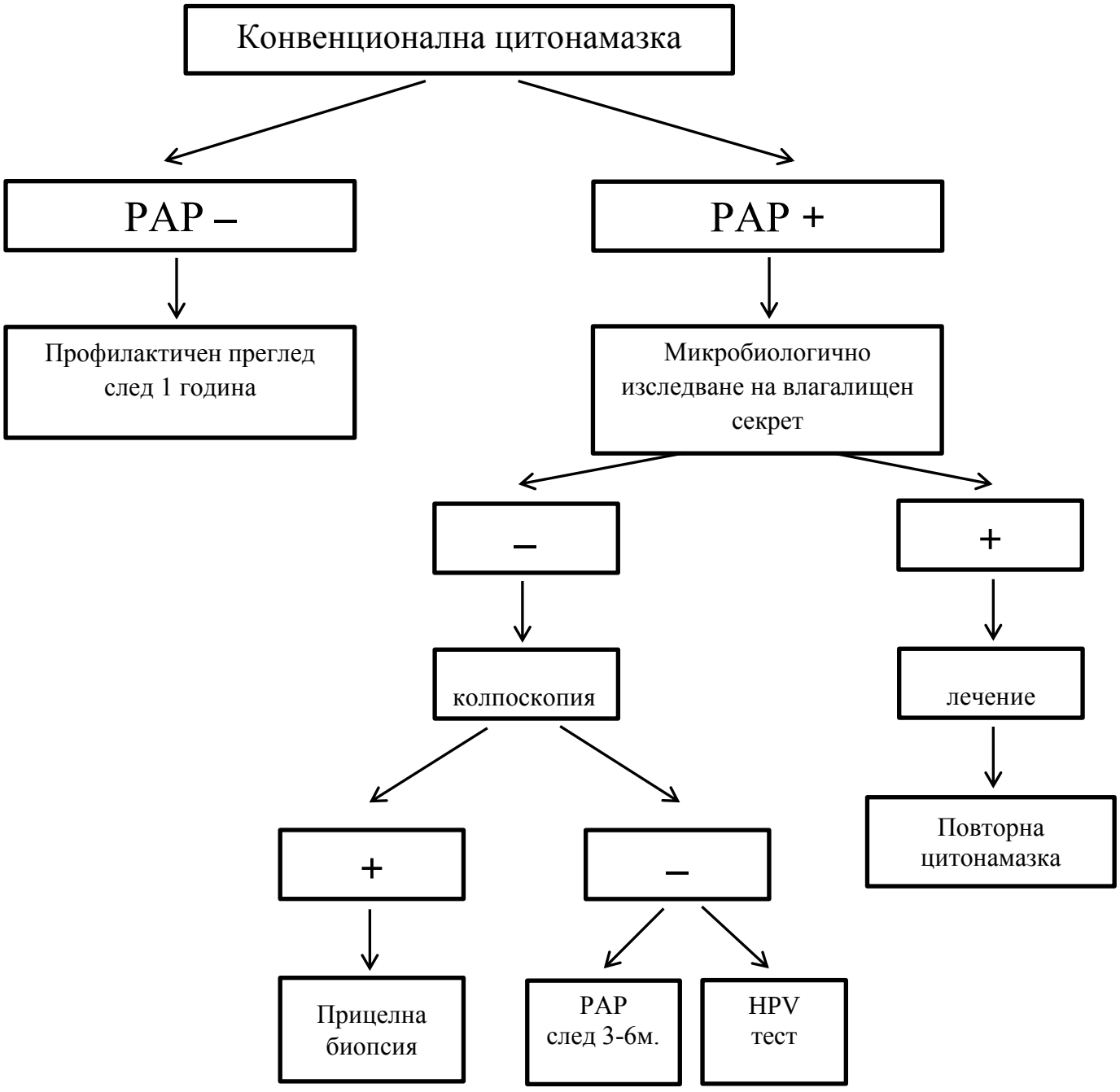
В потвърждение от данните при анализ на ROC кривите, ефикасността на методите от нашето проучване показва, че най-удачно за вторична профилактика на РМШ като *самостоятелна техника* да се използват **PAP**, **VIA** и **TruScreen®**, а от *комбинираните методи* – **VIA+PAP**, защото в тези случаи имаме най-висока стойност на статистическия показател „ефикасност“. Ефикасността на проучените техники, подобно на AUC, показва, че *TruScreen®* е по-подходящ за *самостоятелен скрининг*, а не в комбинация с цитологичния метод.

РМШ все още е значим медико-социален проблем в България, което се потвърждава от епидемиологичните показатели, демонстриращи неблагоприятни тенденции за това заболяване в нашата страна. Тъй като вече е доказана ролята на HPV в етиопатогенезата на цервикалния рак, HPV ваксините представляват *първична профилактика* на РМШ. Дори и да се постигне максимален обхват на таргетната популация с тези ваксини, ще са необходими доста години, за да може разпространението на високорискови HPV да намалее сред населението (Crosbie EJ, et al., 2006) (251). Ето защо, въпреки потенциала на тези ваксини, е наложително да се провежда стриктно *вторична профилактика* на РМШ. Цитологичното изследване на МШ е утвърден в практиката метод за вторична профилактика на РМШ и е част от цервикалния скрининг в редица страни. На малко места, обаче, се осъществяват добре организирани и ефективни скринингови програми. Това налага търсене на други техники за контрол на заболяването, които са достъпни и ефикасни алтернативи на цитонамазката. Освен това, ниската чувствителност на цитологичния метод (**67,44%**) налага по-често проследяване, ако вторичната профилактика се извършва самостоятелно с тази техника. Това компрометира съотношението цена-ефективност и е причина да се търсят други методи за оценка на МШ, които могат да се прилагат на по-големи интервали, но да имат поне подобна на утвърдения метод сигурност. Проучването на алтернативни на цитологичния методи с цел въвеждането им в практиката на гинеколога е най-засилено на места, където липсват действащи скринингови програми и ясни препоръки за поведение. Особено важно е алтернативният метод да има добра възпроизводимост, за да е надежден (т.е. повтарянето на теста да показва същия резултат). Освен това тестовите характеристики и точността на метода (чувствителност и специфичност) е добре да имат оптимално съотношение (Mahe C. et al., 2005), за да може методът да разграничава адекватно ранните стадии на

заболяване (в случая преканцероза на МШ) от липсата на такова (218). В развитите страни има действащ *популационен скрининг*, при който специалистите се ръководят от препоръки, базирани на доказателства (219,220). В България се провежда *опортюнистичен скрининг* и популационният обхват е твърде малък, поради което РМШ все още е значим проблем в нашата страна. Сериозна пречка за осъществяване на ефективна вторична профилактика е и липсата на достатъчно цитологични лаборатории и подготвени цитотехници.

Въз основа на резултатите от нашето проучване, сравняващо цитонамазката и други алтернативни методи за изследване на МШ, разработихме алгоритми за оценка на цервикалния епител и вторична профилактика на РМШ, съобразени с икономическата ситуация в страната, в зависимост от наличните условия, с които разполага съответния специалист, както и достъпа до цитологична лаборатория.

В специализирани центрове (болници, онкопрофилактични кабинети), където може да се проведе качествена цитологична диагностика на МШ:



В кабинети и амбулатории, където няма достъп до цитологична лаборатория и съответните специалисти:

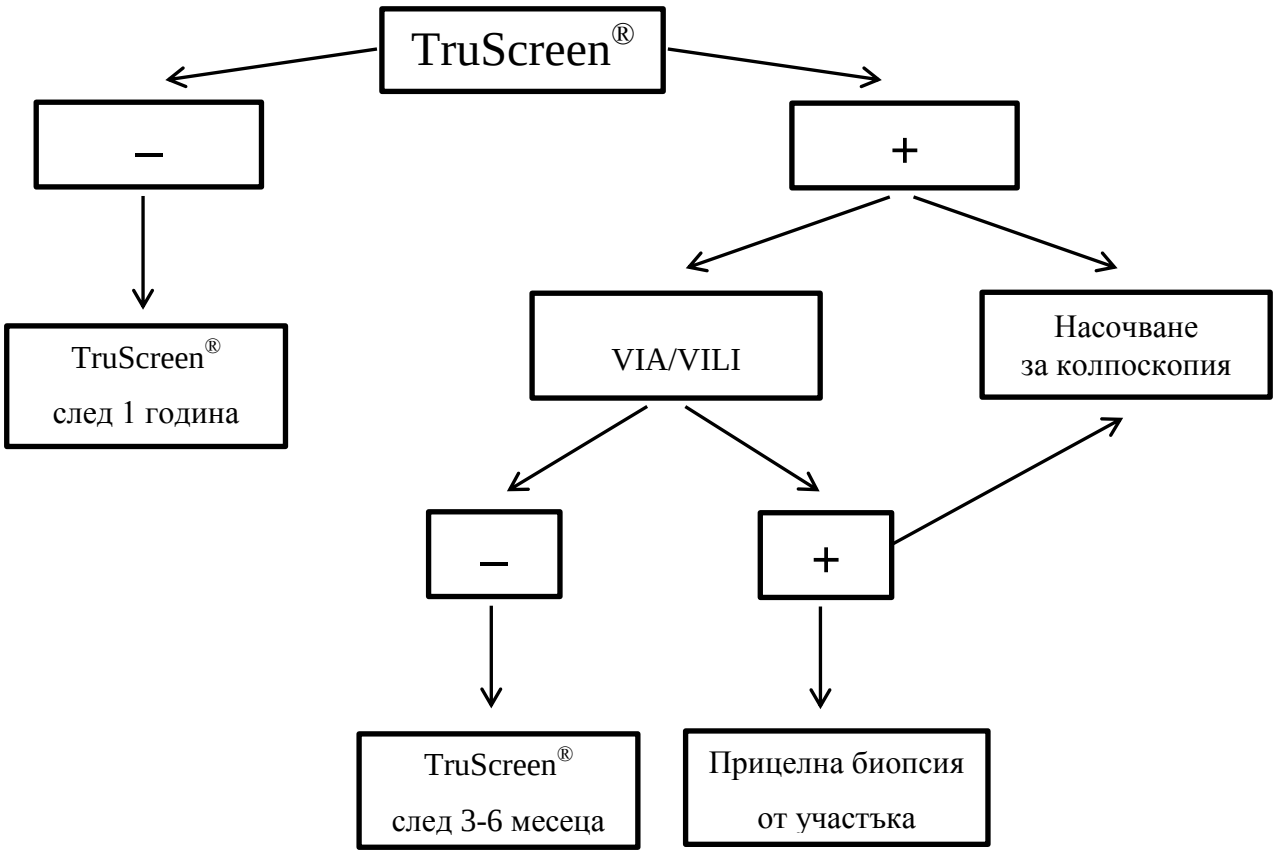
I-ви вариант:

In vivo техники за оценка на цервикалния епител:

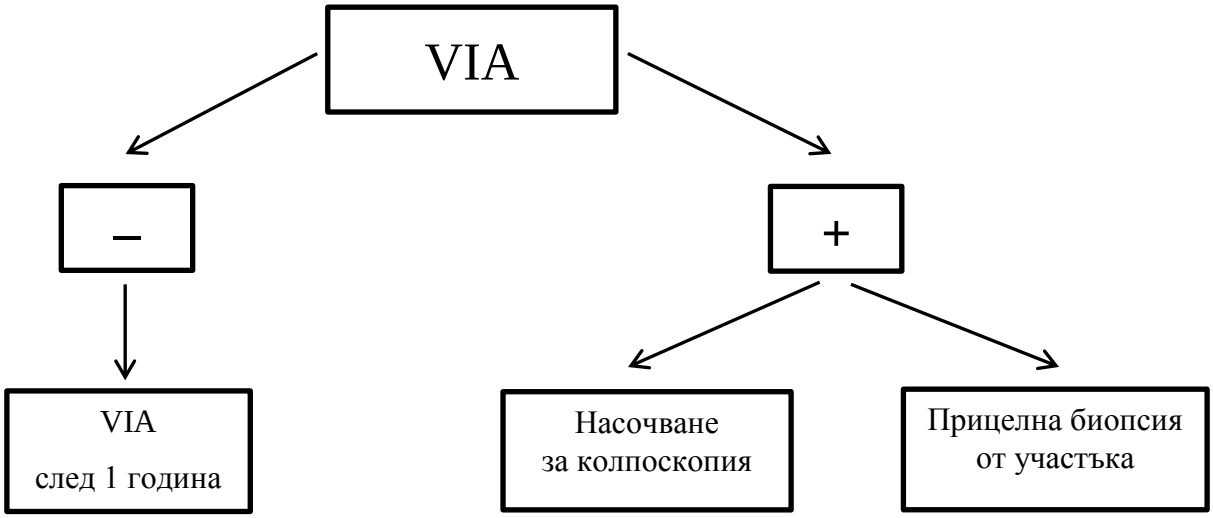
1. Спектрофотометричен анализ на МШ с **TruScreen®**
2. Визуална инспекция на МШ с оцетна киселина (**VIA**)

И при двата метода резултатът се получава в рамките на прегледа. При позитивен резултат е удачно насочване на пациентката към специализиран център за доуточняване. Ако няма възможност за такава консултация, след положителен резултат от VIA може да се вземе прицелна биопсия от съответния участък, като хистологичният резултат определя поведението.

1. Спектрофотометричен анализ на МШ с TruScreen®

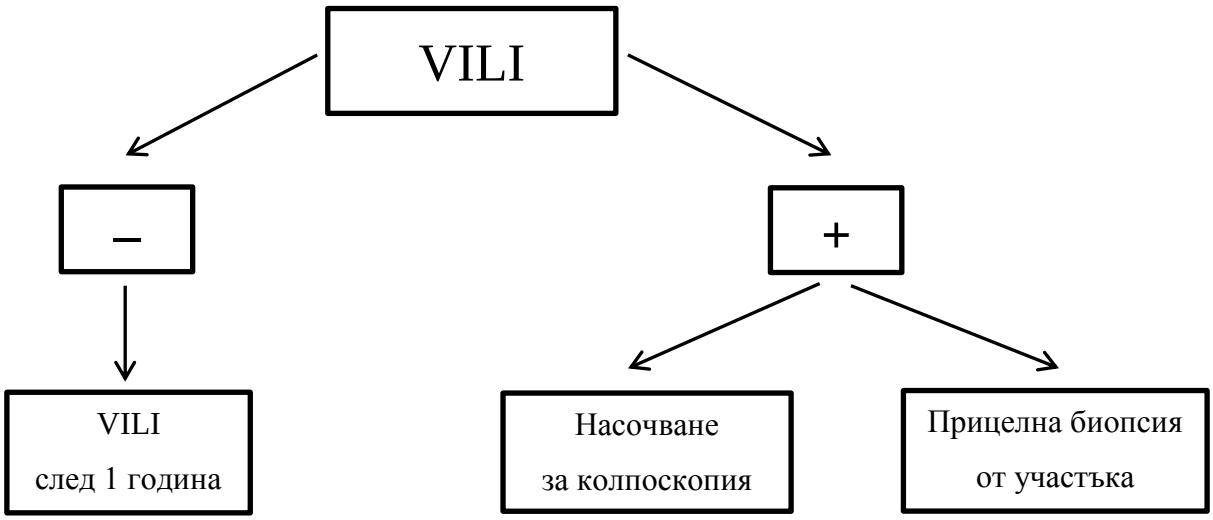


2. Визуална инспекция на МШ с оцетна киселина (VIA)



II-ри вариант

В случаите, когато не е сигурно, че пациентката ще може да бъде проследена, вторичната профилактика на МШ може да се проведе с визуална инспекция с Луголов разтвор (VILI). Резултатите от мултицентровото проучване на IARC (Sankaranarayanan R. et al., 2004) показват, че този метод е удачен с цел изключване на HSIL (242). При позитивен тест пациентката се насочва за колпоскопия, или се прави прицелна биопсия от съответния атипичен участък.



VII. ИЗВОДИ

1. *Няма статистически значима разлика между възрастта на пациентките с нормален хистологичен резултат и тези с патологичен (p=0,188), което е в подкрепа на факта, че жените между 21 и 65 години подлежат на вторична профилактика за РМШ, независимо от възрастта си.*
2. *Установихме че, в* ***53,70% - 65,45%*** *от случаите с цервикален епител без преканцероза от хистологичното изследване имаме данни за HPV инфекция. Това е в подкрепа на факта, че малигнената трансформация отнема време, което трябва да се използва за насочено търсене сред здравите на тези, които потенциално имат риск (вторична профилактика, скрининг).*
3. ***Цитологичният метод*** *има* ***висока специфичност*** **(83,93%)** *и* ***висока негативна предиктивна стойност*** **(77,05%)***, което го прави подходящ за първичен цервикален скрининг като* ***самостоятелен метод****. Основен недостатък на цитологичния метод за оценка на цервикалния епител са фалшиво отрицателните случаи: 22,95% от негативните и 32,6% от всички цитонамазки, които водят до ограничена чувствителност на PAP-теста (67,44%), а това от своя страна изисква регулярно повтаряне на теста.*
4. *Визуалната инспекция на МШ с оцетна киселина (****VIA****) има висока специфичност (****83,61%****), което заедно с високата й негативна предиктивна стойност (****80,95%****) я прави подходящ метод за първичен цервикален скрининг като* ***самостоятелен метод****.*
5. ***VIA*** *е добра алтернатива на цитонамазката, но като субективен метод изисква внимателно мониториране и точно спазване на препоръките за категоризиране на находките.*

6. ***TruScreen®*** *има висока специфичност (80,77%) и висока негативна предиктивна стойност (76,36%), т.е. е добра алтернатива на цитонамазката като метод за първичен цервикален скрининг.*
7. *Визуалната инспекция на МШ с оцетна киселина (**VIA**) и спектрофотометричния анализ на МШ (**TruScreen®**), като алтернативи на класическата цитонамазка, имат сравними с нейните стойности на специфичност (83,93%), негативна предиктивна стойност (77,05%) и ефикасност (0,7677), съответно: 83,61% и 80,77%, 80,95% и 76,36%, и 0,7684 и 0,7500.*
8. *Най-висока специфичност от всички проучени методи имат **цитонамазката** (PAP-тест) – 83,93%, **VIA** – 83,61% и **TruScreen®** - 80,77%, което прави и трите теста подходящи за вторична профилактика на РМШ като **самостоятелен метод**.*
9. *Успоредното изследване на МШ с **VIA и цитонамазка** има най-висока негативна предиктивна стойност (**90,2%**), което прави това **комбинирано изследване** изключително удачно за вторична профилактика на РМШ.*
10. *Комбинирането на **TruScreen®** **с цитонамазка** води до статистически значимо ($p<0,05$) повишаване на чувствителността (82,5%), но и до статистически значимо ($p<0,05$) понижаване на специфичността (65,38%), което прави неоправдано използването на тази комбинация от методи за вторична профилактика на РМШ.*
11. *Данните от ROC* (Receiver Operating Characteristic) *анализа, както и ефикасността на проучените методи показват най-високи стойности за **цитонамазка**, **VIA**, **TruScreen®** и **TruScreen®+PAP***
12. *Резултатите от нашето проспективно проучване показват, че за първичен цервикален скрининг е оптимално да се използват:*
    - ***PAP**, **VIA** или **TruScreen®** като **самостоятелен метод**, или*
    - ***VIA+PAP** като **комбинаранация от методи***

ПРИНОСИ

1. Научно-теоретични с оригинален характер

- За първи път в България е анализиран спектрофотометричния анализ на МШ (TruScreen®) в проспективно проучване и са оценени неговите възможности, предимства, недостатъци и ограничения в приложението му за вторична профилактика на РМШ.
- За първи път у нас е извършено проучване на ефикасността на техниките за визуална инспекция на МШ с оцетна киселина (VIA) и Луголов разтвор (VILI) и е оценена възможността за използването им за изследване на цервикалния епител и вторична профилактика на РМШ.

2. С потвърдителен характер

- Анализирани са статистическите показатели (чувствителност, специфичност, позитивна и негативна предиктивна стойност, съотношения на позитивна и негативна вероятност, площ под кривата при ROC анализа (AUC) и ефикасност) на класическата цитонамазка, техниките за визуална инспекция на МШ и спектрофотометрична оценка на МШ с TruScreen®.
- Оценени са възможностите за използване на цитонамазката, VIA, VILI и TruScreen® за вторична профилактика на РМШ, самостоятелно или в комбинация.

3. С научно-приложен характер

- На база получените резултати са предложени алгоритми за оценка състоянието на цервикалния епител в специализирани центрове (болници, онкопрофилактични кабинети) и амбулатории в зависимост от наличните условия и достъп до цитологични лаборатории.

VIII. КНИГОПИС

1 Arbyn M, Castellsagué X., de Sanjosé S., Bruni L., Saraiya M., Bray F., Ferlay J. Worldwide burden of cervical cancer in 2008. Ann Oncol 2011 Apr 6

2 World Health Organization (2010), Strengthening cervical cancer prevention and control. Report of the GAVI–UNFPA–WHO meeting 1 December 2009, Geneva, Switzerland

3 В. Златков, Костова, П. Ваксини за предрак и рак на маточната шийка. I. Профилактични ваксини. Акуш и гинекол. 46, 2007,7,27-31

4 Костова, П, В. Златков. Ваксини за предрак и рак на маточната шийка. II. Терапевтични HPV ваксини. Акуш и гинекол. 46,2007,8,31-35

5 Holowaty P, Miller AB, Rohan T, et al.: Natural history of dysplasia of the uterine cervix. J Natl Cancer Inst 91 (3): 252-8, 1999

6 Български национален раков регистър Заболяемост от рак в България, 2012; Том XXIII, 2014 ISSN: 1314-7315 (Валерианова З., Димитрова Н, Тонев С, Вуков М. (редактори) Заболяемост от рак в България, 2012. Български национален раков регистър. София, 2014)

7 William, J. (1888) Cancer of the uterus: Harveian lectures for 1886. HK Lewis, London

8 Broders, A.C. (1932) Carcinoma in situ contrasted with benign penetrating epithelium. J. Am. Med. Assoc., 99, 1670

9 Reagan, J.W., Seidermann, I.L., & Saracusa, Y. (1953) The cellular morphology of carcinoma in situ and dysplasia or atypical hyperplasia of the uterine cervix. Cancer, 6, 224-235

10 Richart, R.M. (1968) Natural history of cervical intraepithelial neoplasia. Clin. Obstet. Gynecol., 5, 748-784

11 Карагьозов И., Макавеева В. Койлоцитна дисплазия на маточната шийка. Акушерство и гинекология 1984; 23 (1):66-71

12 Komorowski R, Clowry L., Jr Koilocytotic atypia of the cervix. Obstet Gynecol. 1976;47(5):540–544

13 Recher L, Srebnik E. Histopathologic features of koilocytotic atypia: a detailed description. Acta Cytol. 1981;25(4):377–382

14 S. Fletcher. Histopathology of papilloma virus infection of the cervix uteri: the history, taxonomy, nomenclature and reporting of koilocytic dysplasias. J Clin Pathol. 1983; 36(6): 616–624

15 Richart, R.M. (1990) A modified terminology for cervical intraepithelial neoplasia. Obstet. Gynecol., 75, 131-133

16 McIndoe, W.A., McLean, M.R., Jones, R.W., & Mullins, P.R. The invasive potential of carcinoma in situ of the cervix. Obstet. Gynecol. 1984, 64, 451-458

17 Ostor, A.G. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. Int J Gynecol. Pathol. 1993, 12, 186-192

18 Mitchell, M.F., Hittelman, W.N., Hong, W.K., Lotan, R., & Schottenfeld, D. The natural history of cervical intraepithelial neoplasia: an argument for intermediate endpoint biomarkers. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 1994, 3, 619-626

19 Melnikow, J., Nuovo, J., Willan, A.R., Chan, B.K., & Howell, L.P. Natural history of cervical squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. Obstet Gynecol. 1998, 92(4 Pt 2), 727-735

20 Златков В. HPV-инфекция и нейното значение за цервикалната онкогенеза. Акуш. И гинекол., 37: 1998, 1, 45-46

21 Карагьозов И., и сътр. Генитални инфекции, причинени от Човешки папиломен вирус. Мед. и физк., София, 1989, 1-130.

22 Bosch FX, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. J Clin Pathol 55: 2002; 244-65

23 Franco EL, Duarte-Franco E. Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. CMAJ. 2001, 165, 739-40

24 Hiller, T., T. Iftner. The papilloma virus. In: HPV handbook. Ed.By: W.Prendiville, Ph. Davies. Taylor&Francis. 2004, 11-26

25 IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic riscs to humans. Human papillomaviruses. Vol.64, IARC, Lyon, 1995, 379

26 Mougin C., et al. Epidemiology of cervical papillomavirus infections. Recent knowledge. Presse Med., 30, 2001, 1017-1023

27 Stern, P.L., M.A.Stanley., (Eds.). Human papillomaviruses and cervical cancer. Biology and immunology. Oxford Univ. Press, New York, 1994, 1-226

28 Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F et al. A review of human carcinogenesis – part B. Biological agents. Lancet Oncol. 2009;10:321-322

29 Tjalma WA, et al. Prophylactic human papillomavirus vaccines: the beginning of the end of cervical cancer. Int J Gynecol Cancer. 14, 2004, 751-61

30 Onon, TS. Viral treatment and prophylactic vaccination strategies. In: HPV handbook. Ed. by: W. Prendiville, Ph. Davies. Taylor&Francis. 2004, 55-72

31 Harper, D., et al. Efficacy of a bivalent L1 vrus-like particle vaccine in prevention of infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: a randomized controlled trial. Lancet. 364: 2004, 9447,1757-1765

32 Валерианова Здр. Превенция на злокачествените заболявания. Основни принципи на вторичната профилактика и скрининга. Медицинска практика, 11: 2001, 7-9

33 Костова П., Златков В., Профилактика и скрининг на предрака и рака на маточната шийка през XXI век, Акуш и гинекол. 48, 2009, 1, 41-45

34 Miller AB. Cervical cancer screening programmes: Managerial guidelines. World Health Organization, Geneva. 1993

35 Palència L, Espelt A, Rodríguez-Sanz M, Puigpinós R, Pons-Vigués M, Pasarín MI, Spadea T, Kunst AE, Borrell C. Socio-economic inequalities in breast and cervical cancer screening practices in Europe: influence of the type of screening program. Int J Epidemiol. 2010;39(3):757-65

36 von Karsa L, Anttila A, Ronco G et al. Cancer screening in the European Union. Report on the implementation of the Council Recommendation on cancer screening –First Report. European Comission, 2008

37 Златков, В., П. Костова-Златкова Профилактика, скрининг и ваксини при предрака и рака на маточната шийка, Българска издателска къща, София, 2006

38 G. Papanicolaou, “New cancer diagnosis,” in Proceedings of the 3rd Race Betterment Conference, pp. 528–534, 1928

39 G. Papanicolaou and H. Traut, “The diagnostic value of vaginal smears in carcinoma of the uterus,” The American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1941;42:193–206

40 Willis BH, Barton P, Pearmain P, Bryan S, Hyde C. Cervical screening programmes: can automation help? Evidence from systematic reviews, an economic analysis and a simulation modelling exercise applied to the UK. Health Technol Assess 2005;9(13):1–207

41 Cenci M1, Giovagnoli MR, Olla SV, Drusco A, Vecchione A. Automation of cytological analysis of cervical smears, Minerva Ginecol. 1999 Jul-Aug;51(7-8):291-8

42 Koss LG, Lin E, Schreiber K, Elgert P, Mango L. Evaluation of the PAPNET cytologic screening system for quality control of cervical smears. Am J Clin Pathol. 1994 Feb;101(2):220-9

43 Howell LP, Davis RL, Belk TI, Agdigos R, Lowe J. The AutoCyte preparation system for gynecologic cytology Acta Cytol. 1998 Jan-Feb;42(1):171-7

44 Patten SF Jr, Lee JS, Wilbur DC, Bonfiglio TA, Colgan TJ, Richart RM, Cramer H, Moinuddin S.The AutoPap 300 QC System multicenter clinical trials for use in quality control rescreening of cervical smears: I. A prospective intended use study. Cancer. 1997 Dec 25;81(6):337-42

45 Innovations in Pap Screening for Cervical Neoplasia, University of California, San Francisco, Medscape General Medicine. 1996;1(1)

46 Иванов Ст., Цитологичен скрининг – техниката на вземане на цитонамазка и нейното влияние върху качеството на изследване. Акушерство и гинекология, 2007;8:26-27

47 Hutchinson ML, et al. Homogeneous sampling accounts for the increased diagnotstic accuracy using the ThinPrep® Processor, Am J Clin Pathol. 1994;101:215-19

48 Костова П. Цена-ефективност на цервикалния скрининг. Акуш и гинекол. 46, 2007, 6, 32-34

49 Nanda K, McCrory DC, Myers ER, Bastian LA, Hasselblad V, Hickey JD, Matchar DB Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. Ann Intern Med 2000;132(10):810–819

50 Bulk S, Rozendaal L, Zielinski GD, et al. High-risk human papillomavirus is present in cytologically false-negative smears: an analysis of "normal" smears preceding CIN2/3. J Clin Pathol 2008;61:385–9.

51 Ejersbo D, Dahl M-B, Hølund B. False negative Pap smears in a Danish material. Ugeskrift for laeger 2003;165:2391–4

52 Koss LG, Sherman ME, Cohen MB, et al. Significant reduction in the rate of false-negative cervical smears with neural networkbased technology (PAPNET Testing System). Hum Pathol 1997;28:1196–203

53 Kristensen GB, Skyggebjerg KD, Hølund B, Holm K, Hansen MK. Analysis of cervical smears obtained within three years of the diagnosis of invasive cervical cancer. Acta Cytol 1991;35:47–50.

54 van der Graaf Y, Vooijs GP, Gaillard HL, Go DM. Screening errors in cervical cytologic screening. Acta Cytol 1987;31:434–8.

55 Rylander E. Negative smears in women developing invasive cervical cancer. Acta Obstet Gynecol Scand 1977;56:115–8.

56 Sara J. Bernstein, MD, Luis Sanchez-Ramos, MD, and Boniface Ndubisi, MD Liquid-based cervical cytologic smear study and conventional Papanicolaou smears: A metaanalysis of prospective studies comparing cytologic diagnosis and sample adequacy Am J Obstet Gynecol 2001, Vol. 185, Issue 2, Pages 308-317

57 Moss SM, Gray A, Legood R, Henstock E (2003) Evaluation of HPV/LBC Cervical screening pilot studies. First report to the Department of Health on evaluation of LBC

58 Payne N, Chilcott J, McGoogan E. Liquid-based cytology in cervical screening: a rapid and systematic review. Health Technol Assess 2000; 4: 1–73

59 Akamatsu S, Kodama S, Himeji Y, Ikuta N, Shimagaki N. A comparison of liquid-based cytology with conventional cytology in cervical cancer screening. Acta Cytol 2012; 56:370-374).

60 C Sherlaw-Johnson,Z Philips. An evaluation of liquid-based cytology and human papillomavirus testing within the UK cervical cancer screening programme. British Journal of Cancer, 2004; 91:84–91

61 Christine Bergeron, M.D., Ph.D., John Bishop, M.D. et al., Accuracy of Thin-Layer Cytology in Patients Undergoing Cervical Cone Biopsy, Acta Cytol 2001; 45:519-524

62 Karnon J, Peters J, Platt J, Chilcott J, McGoogan E, Brewer N. Liquid-based cytology in cervical screening: an updated rapid and systematic review and economic analysis. Health Technol Assess. 2004;8(20):1-78

63 А. Цонев, С. Иванов, Е. Ковачев, Сравнителен анализ на конвенционалната цитология от маточната шийка с течностно базираната цитология (LBC), Акуш. и гинекол., 2012,7

64 Combo and HR HPV DNA testing in liquid-based Pap. Diagn Cytopathol 2005; 33: 177-180

65 Zhu J, Norman I, Elfgren K, Gaberi V, Hagmar B, Hjerpe A, Andersson S. A comparison of liquid-based cytology and Pap smear as a screening method for cervical cancer. Oncol Rep. 2007;18(1):157-60

66 Denny, L., Kuhn, L., Pollack, A., Wainwright, H. & Wright, T.C., Jr Evaluation of alternative methods of cervical cancer screening for resourcepoor settings. Cancer (2000); 89: 826-833.

67 Belinson, J.L., Pretorius, R.G., Zhang, W.H., Wu, L.Y., Qiao, Y.L. & Elson, P. Cervical cancer screening by simple visual inspection after acetic acid. Obstet. Gynecol. (2001); 98:441-444

68 Sankaranarayanan, R., Budukh, A.M. & Rajkumar, R. Effective screening programmes for cervical cancer in lowand middle-income developing countries. Bull. World Health Org. (2001); 79: 954-962.

69 Goldie, S.J., Kuhn, L., Denny, L., Pollack, A. & Wright, T.C. Policy analysis of cervical cancer screening strategies in low-resource settings: clinical benefits and cost-effectiveness. JAMA (2001);285:3107-3115

70 Sankaranarayanan R, Wesley RS. Visual inspection of the uterine cervix with acetic acid (VIA) and Lugol's iodine (VILI) teaching manual. International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon, 2000

71 R.Sankaranarayanan, Ramani S. Wesley. A Practical Manual on Visual Screening for Cervical Neoplasia 2003

72 Anatomical and pathological basis of visual inspection with acetic acid (VIA) and with Lugol's iodine (VILI) IARC Screening group

73 Sankaranarayanan R., Wesley R., Thara S. Test characteristics of visual inspection with 4% acetic acid (VIA) and Lugol's iodine (VILI) in cervical cancer screening in Kerala, India. Int. J. Cancer 2003:106,404-408

74 Kraatz H. Farbfiltervorschaltung zur leichteren Erlernung der Kolposkopie. Zbl. Gynaek. 1939;63:2307-2309.

75 Stafl A. New nomenclature for colposcopy. Report of the Committee on Terminology. Obstet Gynecol 1976;48:123–4.

76 Stafl A, Wilbanks GD. An international terminology of colposcopy: Report of the Nomenclature Committee of the International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy. Obstet Gynecol 1991;77:313–4.

77 Walker PG, Dexeus S, De Palo G, Barrasso R, Campion M, Girardi F, et al. International terminology of colposcopy: an updated report from the International Federation for Cervical Pathology and Colposcopy. Obstet Gynecol 2003;101:175–7.

78 Zlatkov V, P. Kostova. New colposcopic terminology: Rio de Janeiro--2011. Akush Ginekol (Sofiia). 53: 2014; 2, 31-36.

79 Stafl A. Cervicography: a new method for cervical cancer detection. Am J Obstet Gynecol. 1981;139:815-25

80 Nuovo J, Melnikow J, Hutchison B, Palieschesкey M. Is cervicography a useful diagnostic test? A systematic overview of the literature. J Am Board Fam Pract 1997;10:390Y7.

81 Coibion M, Autier P, Vandam P, Delobelle A, Huet F, Hertens D, et al. Is there a role for cervicography in the detection of premalignant lesions of the cervix uteri? Br J Cancer 1994;70:125Y8.

82 Златков, В. Цервикографски скрининг при жени с начална бременност. Акушерство и гинекология,1995; 3(35-38)

83 Schneider DL, Herrero R, Bratti C, Greenberg MD, Hildesheim A, Sherman ME. et al. Cervicography screening for cervical cancer among 8460 women in a high-risk population. Am J Obstet Gynecol. 1999;180:290-8

84 Ferris DG, Schiffman M, Litaker MS. Cervicography for triage of women with mildly abnormal cervical cytology results. Am J Obstet Gynecol 2001;185:939Y43.

85 Ferris DG. Cervicography--an adjunct to Papanicolaou screening. Am Fam Physician. 1994;50:363-70

86 SY Park ; M Follen et al.; Automated image analysis of digital colposcopy for the detection of cervical neoplasia, J. Biomed. Opt. 13(1), 2008

87 Sauvaget C, Fayette JM, Muwonge R, Wesley R, Sankaranarayanan R. Accuracy of visual inspection with acetic acid for cervical cancer screening. Int J Gynaecol Obstet 2011; 113: 14-24

88 Sarian LO, Derchain SF, Naud P, Roteli-Martins C, Longatto-Filho A, Tatti S, Branca M, Erzen M, Serpa-Hammes L, Matos J, Gontijo R, Bragança JF, Lima TP, Maeda MY, Lörincz A, Dores GB, Costa S, Syrjänen S, Syrjänen K. Evaluation of visual inspection with acetic acid (VIA), Lugol's iodine (VILI), cervical cytology and HPV testing as cervical screening tools in Latin America. This report refers to partial results from the LAMS (Latin AMerican Screening) study. J Med Screen 2005; 12: 142-149.

89 Saxena U, Sauvaget C, Sankaranarayanan R. Evidence-based screening, early diagnosis and treatment strategy of cervical cancer for national policy in low- resource countries: example of India. Asian Pac J Cancer Prev 2012; 13: 1699-1703

90 Sankaranarayanan R, Nessa A, Esmy PO, Dangou JM. Visual inspection methods for cervical cancer prevention. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2012; 26: 221-232

91 Jeronimo J, Morales O, Horna J, Pariona J, Manrique J, Rubiños J, Takahashi R. Visual inspection with acetic acid for cervical cancer screening outside of low-resource settings. Rev Panam Salud Publica 2005 Jan;17(1):1-5

92 Kierkegaard O, Byrjalsen C, Frandsen KH, Hansen KC, Frydenberg M. Diagnostic accuracy of cytology and colposcopy in cervical squamous intraepithelial lesions. Acta Obstet Gynecol Scand 1994;73:648–51.

93 Ang MS, Kaufman RH, Adam E, Riddle G, Irwin JF, Reeves KO, et al. Colposcopically directed biopsy and loop excision of the transformation zone. Comparison of histologic findings. J Reprod Med 1995;40:167–70.

94 ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) Group. Results of a randomized trial on the management of cytology interpretations of atypical squamous cells of undetermined significance. Am J Obstet Gynecol 2003;188:1383–92.

95 Mitchell MF, Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, Cantor SB, Richards-Kortum R. Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. Obstet Gynecol. 1998;91:626–631

96 Underwood M, Arbyn M, Parry-Smith W, De Bellis-Ayres S, Todd R, Redman CW, et al. Accuracy of colposcopy-directed punch biopsies: a systematic review and meta-analysis. BJOG. 2012;119:1293–1301

97 Massad LS, Einstein MH, Huh WK, Katki HA, Kinney WK, Shiffman M, et al. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. Obstet Gynecol. 2013;121:829–846

98 Massad LS, Jeronimo J, Katki HA, Schiffman M, National Institutes of Health/American Society for Colposcopy and Cervical Pathology Research Group . The accuracy of colposcopic grading for detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. J Low Genit Tract Dis. 2009;13:137–144

99 Zaal A, Louwers JA, Berkhof J, Kocken M, TerHarmsel WA, Graziosi GC, et al. Agreement between colposcopic impression and histological diagnosis among human papillomavirus type 16-positive women: a clinical trial using dynamic spectral imaging colposcopy. BJOG. 2012;119:537–544

100 Petry KU, Luyten A, Sherbing S. Accuracy of colposcopic management to detect CIN3 and invasive cancer in women with abnormal screening test: results

from a primary HPV screening project from 2066 to 2011 in Wolfsburg, Germany. Gynecol Oncol. 2013;128:282–287

101 Massad LS, Jeronimo J. Schiffman M; National Institutes of Health/American Society for Colposcopy and Cervical Pathology (NIH/ASCCP) Research Group. Interobserver agreement in the assessment of components of colposcopic grading. Obstet Gynecol. 2008;111(6):1279-1284

102 S.B. Cantor, M. Cárdenas-Turanzas, M. Follen and D. D. Cox. The accuracy of colposcopy in diagnostic and screening settings; Obstet Gynecol 2008;111:7-14

103 Longatto-Filho A, Naud P, Derchain SF, Roteli-Martins C, Tatti S, Hammes LS, et al. Performance characteristics of Pap test, VIA, VILI, HR-HPV testing, cervicography, and colposcopy in diagnosis of significant cervical pathology. Virchows Arch 2012;460:577-85

104 Baldauf JJ, Dreyfus M, Lehmann M, Ritter J, Philippe E. Cervical cancer screening with cervicography and cytology. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1995;58:33-9.

105 Cronje´ HS, Cooreman BF, Beyer E, Bam RH, Middlecote BD, Divall PD. Screening for cervical neoplasia in a developing country utilizing cytology, cervicography and the acetic acid test. Int J Gynaecol Obstet 2001;72:151Y7.

106 De Vuyst H, Claeys P, Njiru S, Muchiri L, Steyaert S, De Sutter P. et al. Comparison of pap smear, visual inspection with acetic acid, human papillomavirus DNA-PCR testing and cervicography. Int J Gynaecol Obstet. 2005;89:120-6

107 N. Khodakarami, F. Farzaneh et al. Comparison of Pap smear, visual inspection with acetic acid, and digital cervicography as cervical screening strategies. Archives of Gynecology & Obstetrics; 2011; 284(5):1247-52

108 Ph. De Sutter ,M. Coibion et al. A multicentre study comparing cervicography and cytology in the detection of cervical intraepithelial neoplasia Br J Obstet Gynaecol 1998;105, 613-620

109 Ferris DG, Litaker M. Interobserver agreement for colposcopy quality control using digitized colposcopic images during the ALTS trial. J Low Genit Tract Dis. 2005;9:29-35

110 M. H. Schiffman, H. M. Bauer, R. N. Hoover et al., “Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia,” Journal of the National Cancer Institute 1993;85(12):958–964

111 J. M. Walboomers, M. V. Jacobs,M.M.Manos et al., “Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide,” Journal of Pathology 1999;189(1):12–19

112 J. K. Wolf and P. T. Ramirez, “The molecular biology of cervical cancer,” Cancer Investigation2001; 19(6):621–629

113 H. Zur Hausen, “Papillomaviruses in human cancers,” Proceedings of the Association of American Physicians1999;111(6):581–587

114 M. Schiffman, P. E. Castle, J. Jeronimo, A. C. Rodriguez, and S. Wacholder, “Human papillomavirus and cervical cancer,” Lancet 2007;370(9590):890–907

115 N. F. Schlecht, S. Kulaga, J. Robitaille et al., “Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia,” Journal of the American Medical Association 2001;286(24):3106–3114

116 M. H. Stoler and M. Schiffman, “Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study,” Journal of the AmericanMedical Association 2001;285(11):1500–1505

117 J. Doorbar, “Papillomavirus life cycle organization and biomarker selection,” DiseaseMarkers 2007;23(4):297–313

118 M. H. Stoler, “Human papillomavirus biology and cervical neoplasia: implications for diagnostic criteria and testing,” Archives of Pathology and Laboratory Medicine 2003;127(8):935–939

119 D. Dehn, K. C. Torkko, and K. R. Shroyer, “Human papillomavirus testing and molecular markers of cervical dysplasia and carcinoma,” Cancer 2007;111(1):1–14

120 Duensing S, Munger K. Mechanisms of genomic instability in human cancer: insights from studies with human papillomavirus oncoproteins. Int. J. Cancer 2004;109(2),: 157–162

121 Vikrant V Sahasrabuddhe, Patricia Luhn, Nicolas Wentzensen; Human Papillomavirus and Cervical Cancer: Biomarkers for Improved Prevention Efforts;Future Microbiol. 2011;6(9):1083-1098

122 Castellsague X, Diaz M, de Sanjose S et al. Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention. J. Natl. Cancer Inst. 98(5), 303–315 (2006)

123 Arbyn M, Sasieni P, Meijer CJ, Clavel C, Koliopoulos G, Dillner J. Chapter 9: Clinical applications of HPV testing: a summary of meta-analyses. Vaccine 24(Suppl. 3),S3/78–89 (2006)

124 Schiffman M, Wentzensen N, Wacholder S, Kinney W, Gage JC, Castle PE. Human papillomavirus testing in the prevention of cervical cancer. J. Natl. Cancer Inst. 103(5), 368–383 (2011)

125 Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R et al. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. Vaccine 26(Suppl. 10),K29–K41 (2008).

126 Eder PS, Lou J, Huff J, Macioszek J. The next-generation Hybrid Capture High-Risk HPV DNA assay on a fully automated platform. J. Clin. Virol. 45(Suppl. 1),S85–S92 (2009)

127 Bartholomew DA, Luff RD, Quigley NB, Curtis M, Olson MC. Analytical performance of Cervista® HPV 16/18 genotyping test for cervical cytology samples. J. Clin. Virol. 51(1), 38–43 (2011).

128 De Francesco MA, Gargiulo F, Schreiber C, Ciravolo G, Salinaro F, Manca N. Comparison of the AMPLICOR human papillomavirus test and the hybrid capture 2 assay for detection of high-risk human papillomavirus in women with abnormal PAP smear. J. Virol. Methods 147(1), 10–17 (2008)

129 Stoler MH, Wright TC, Jr., Sharma A, Apple R, Gutekunst K, Wright TL. High-risk human papillomavirus testing in women with ASC-US cytology: results from the ATHENA HPV study. Am. J. Clin. Pathol. 135(3), 468–475 (2011)

130 Dillner J, Rebolj M, Birembaut P et al. Long term predictive values of cytology and human papillomavirus testing in cervical cancer screening: joint European cohort study. BMJ 337,A1754 (2008).

131 Katki HA, Kinney WK, Fetterman B et al. Cervical cancer risk for women undergoing concurrent testing for human papillomavirus and cervical cytology: a population-based study in routine clinical practice. Lancet Oncol 12(7), 663–672 (2011).

132 Mayrand MH, Duarte-Franco E, Rodrigues I et al. Human papillomavirus DNA versus Papanicolaou screening tests for cervical cancer. N. Engl. J. Med. 357(16), 1579–1588 (2007).

133 Bulkmans NW, Berkhof J, Rozendaal L et al. Human papillomavirus DNA testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial. Lancet 370(9601), 1764–1772 (2007).

134 Naucler P, Ryd W, Tornberg S et al. Efficacy of HPV DNA testing with cytology triage and/or repeat HPV DNA testing in primary cervical cancer screening. J. Natl. Cancer Inst. 101(2), 88–99 (2009).

135 Leinonen M, Nieminen P, Kotaniemi-Talonen L et al. Age-specific evaluation of primary human papillomavirus screening vs conventional cytology in a randomized setting. J. Natl. Cancer Inst. 101(23), 1612–1623 (2009).

136 Sankaranarayanan R, Nene BM, Shastri SS, Jayant K, Muwonge R, Budukh AM, Hingmire S, Malvi SG, Thorat R, Kothari A, Chinoy R, Kelkar R, Kane S, Desai S, Keskar VR, Rajeshwarkar R, Panse N, Dinshaw KA (2009) HPV screening for cervical cancer in rural India. N Engl J Med 360(14):1385–1394

137 Kitchener HC, Almonte M, Thomson C et al. HPV testing in combination with liquid-based cytology in primary cervical screening (ARTISTIC): a randomised controlled trial. Lancet Oncol. 10(7), 672–682 (2009).

138 Ronco G, Giorgi-Rossi P, Carozzi F et al. Efficacy of human papillomavirus testing for the detection of invasive cervical cancers and cervical intraepithelial neoplasia: a randomised controlled trial. Lancet Oncol. 11(3), 249–257 (2010).

139 Koliopoulos G, Arbyn M, Martin-Hirsch P, Kyrgiou M, Prendiville W, Paraskevaidis E. Diagnostic accuracy of human papillomavirus testing in primary cervical screening: a systematic review and meta-analysis of non-randomized studies. Gynecol. Oncol. 104(1), 232–246 (2007).

140 Lynge E, Rebolj M. Primary HPV screening for cervical cancer prevention: results from European trials. Nat. Rev. Clin. Oncol. 6(12), 699–706 (2009).

141 Wentzensen N, Gravitt PE, Solomon D, Wheeler CM, Castle PE. A study of Amplicor human papillomavirus DNA detection in the atypical squamous cells of undetermined significance-low-grade squamous intraepithelial lesion triage study. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 18(5), 1341–1349 (2009).

142 Kinney W, Stoler MH, Castle PE. Special commentary: patient safety and the next generation of HPV DNA tests. Am. J. Clin. Pathol. 134(2), 193–199 (2010).

143 Meijer CJ, Berkhof J, Castle PE et al. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. Int. J. Cancer 124(3), 516–520 (2009)

144 Xi LF, Koutsky LA, Castle PE et al. Human papillomavirus type 16 variants in paired enrollment and follow-up cervical samples: implications for a proper understanding of type-specific persistent infections. J. Infect. Dis. 202(11), 1667–1670 (2010)

145 Castle PE, Rodriguez AC, Burk RD et al. Short term persistence of human papillomavirus and risk of cervical precancer and cancer: population based cohort study. BMJ 339,b2569 (2009).

146 Costa S, Negri G, Sideri M et al. Human papillomavirus (HPV) test and PAP smear as predictors of outcome in conservatively treated adenocarcinoma in situ (AIS) of the uterine cervix. Gynecol. Oncol. 106(1), 170–176 (2007).

147 Einstein MH, Martens MG, Garcia FA et al. Clinical validation of the Cervista HPV HR and 16/18 genotyping tests for use in women with ASC-US cytology. Gynecol. Oncol. 118(2), 116–122 (2010).

148 Geraets DT, Lenselink CH, Bekkers RL, van Doorn LJ, Quint WG, Melchers WJ. Universal human papillomavirus genotyping by the digene HPV Genotyping RH and LQ Tests. J. Clin. Virol. 50(4), 276–280 (2011).

149 Jamison J, Wilson RT, Carson J. The evaluation of human papillomavirus genotyping in cervical liquid-based cytology specimens; using the Roche Linear Array HPV genotyping assay. Cytopathology 20(4), 242–248 (2009).

150 Wentzensen N, von Knebel Doeberitz M. Biomarkers in cervical cancer screening. Dis. Markers 23(4), 315–330 (2007).

151 Szarewski A, Ambroisine L, Cadman L et al. Comparison of predictors for high-grade cervical intraepithelial neoplasia in women with abnormal smears. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 17(11), 3033–3042 (2008).

152 Doorbar J. Papillomavirus life cycle organization and biomarker selection. Dis. Markers 23(4), 297–313(2007).

153 Cuschieri K, Wentzensen N. Human papillomavirus mRNA and p16 detection as biomarkers for the improved diagnosis of cervical neoplasia. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 17(10), 2536–2545 (2008).

154 Cattani P, Zannoni GF, Ricci C et al. Clinical performance of human papillomavirus E6 and E7 mRNA testing for high-grade lesions of the cervix. J. Clin. Microbiol. 47(12), 3895–3901 (2009).

155 Coquillard G, Palao B, Patterson BK. Quantification of intracellular HPV E6/E7 mRNA expression increases the specificity and positive predictive value of cervical cancer screening compared with HPV DNA. Gynecol. Oncol. 120(1), 89–93 (2011).

156 Keegan H, McInerney J, Pilkington L et al. Comparison of HPV detection technologies: Hybrid capture 2, PreTect HPV-Proofer and analysis of HPV DNA viral load in HPV16, HPV18 and HPV33 E6/E7 mRNA positive specimens. J. Virol. Methods 155(1), 61–66 (2009).

157 Ratnam S, Coutlee F, Fontaine D et al. Clinical performance of the PreTect HPV-Proofer E6/E7 mRNA assay in comparison with that of the Hybrid Capture 2 test for identification of women at risk of cervical cancer. J. Clin. Microbiol. 48(8), 2779–2785 (2010).

158 Reuschenbach M, Clad A, von Knebel Doeberitz C et al. Performance of p16INK4a-cytology, HPV mRNA, and HPV DNA testing to identify high grade cervical dysplasia in women with abnormal screening results. Gynecol. Oncol. 119(1), 98–105 (2010).

159 Sorbye SW, Fismen S, Gutteberg TJ, Mortensen ES. HPV mRNA test in women with minor cervical lesions: experience of the University Hospital of North Norway. J. Virol. Methods 169(1), 219–222 (2010).

160 Wu R, Belinson SE, Du H et al. Human papillomavirus messenger RNA assay for cervical cancer screening: the Shenzhen Cervical Cancer Screening Trial I. Int. J. Gynecol. Cancer 20(8), 1411–1414 (2010).

161 Burger EA, Kornor H, Klemp M, Lauvrak V, Kristiansen IS. HPV mRNA tests for the detection of cervical intraepithelial neoplasia: a systematic review. Gynecol. Oncol. 120(3), 430–438 (2011).

162 Agnes Kathrine Lie, Gunnar Kristensen. Human Papillomavirus E6/E7 mRNA Testing as a Predictive Marker for Cervical Carcinoma. Expert Rev Mol Diagn. 2008;8(4):405-415

163 Костова, П, В. Златков, П. Драганов, А. Гълъбов. Молекулярни биологични техники за диагноза на HPV инфекцията на маточната шийка Онкология, 35: 2007, 47-52

164 M. K. Doeberitz, M. Reuschenbach, D. Schmidt, Ch. Bergeron. Biomarkers for cervical cancer screening: the role of p16INK4a to highlight transforming HPV infections. Expert Review of Proteomics 2012; 9(2):149-163

165 Balasubramanian A, Hughes J, Mao C et al. Evaluation of an ELISA for p16INK4a as a screening test for cervical cancer. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. 18(11), 3008–3017 (2009)

166 Passamonti B, Gustinucci D, Recchia P et al. Expression of p16 in abnormal pap-tests as an indicator of CIN2+ lesions: a possible role in the low grade ASC/US and L/SIL (Ig) cytologic lesions for screening prevention of uterine cervical tumours. Pathologica 102(1), 6–11 (2010).

167 Petry KU, Schmidt D, Scherbring S et al. Triaging Pap cytology negative, HPV positive cervical cancer screening results with p16/Ki-67 Dual-stained cytology. Gynecol. Oncol. (2011).

168 Guo M, Warriage I, Mutyala B et al. Evaluation of p16 immunostaining to predict high-grade cervical intraepithelial neoplasia in women with Pap results of atypical squamous cells of undetermined significance. Diagn. Cytopathol. 39(7), 482–488 (2010).

169 Denton KJ, Bergeron C, Klement P, Trunk MJ, Keller T, Ridder R. The sensitivity and specificity of p16(INK4a) cytology vs HPV testing for detecting high-grade cervical disease in the triage of ASC-US and LSIL pap cytology results. Am. J. Clin. Pathol. 134(1), 12–21 (2010).

170 Schmidt D, Bergeron C, Denton KJ, Ridder R. p16/ki-67 dual-Stain cytology in the triage of ASCUS and LSIL papanicolaou cytology: Results from the european equivocal or mildly abnormal papanicolaou cytology study. Cancer Cytopathology 119(3), 158–166 (2011).

171 Zeng WJ, Li Y, Fei HL et al. The value of p16ink4a expression by fluorescence in situ hybridization in triage for high risk HPV positive in cervical cancer screening. Gynecol. Oncol. 120(1), 84–88 (2011).

172 Carozzi F, Confortini M, Dalla Palma P et al. Use of p16-INK4A overexpression to increase the specificity of human papillomavirus testing: a nested substudy of the NTCC randomised controlled trial. Lancet Oncol. 9(10), 937–945 (2008).

173 Halloush RA, Akpolat I, Jim Zhai Q, Schwartz MR, Mody DR. Comparison of ProEx C with p16INK4a and Ki-67 immunohistochemical staining of cell blocks prepared from residual liquid-based cervicovaginal material: a pilot study. Cancer 114(6), 474–480 (2008).

174 Siddiqui MT, Cohen C, Nassar A. Detecting high-grade cervical disease on ASC-H cytology: role of BD ProEx C and Digene Hybrid Capture II HPV DNA testing. Am. J. Clin. Pathol. 130(5), 765–770 (2008).

175 Guo M, Baruch AC, Silva EG et al. Efficacy of p16 and ProExC immunostaining in the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cervical carcinoma. Am. J. Clin. Pathol. 135(2), 212–220 (2011).

176 Pinto AP, Schlecht NF, Woo TY, Crum CP, Cibas ES. Biomarker (ProEx C, p16(INK4A), and MiB-1) distinction of high-grade squamous intraepithelial lesion from its mimics. Mod. Pathol. 21(9), 1067–1074 (2008).

177 Yu L, Wang L, Zhong J, Chen S. Diagnostic value of p16INK4A, Ki-67, and human papillomavirus L1 capsid protein immunochemical staining on cell blocks from residual liquid-based gynecologic cytology specimens. Cancer Cytopathol. 118(1), 47–55 (2010).

178 Huang MZ, Li HB, Nie XM, Wu XY, Jiang XM. An analysis on the combination expression of HPV L1 capsid protein and p16INK4a in cervical lesions. Diagn. Cytopathol. 38(8), 573–578 (2010).

179 Schweizer J, Lu PS, Mahoney CW et al. Feasibility study of a human papillomavirus E6 oncoprotein test for diagnosis of cervical precancer and cancer. J. Clin. Microbiol. 48(12), 4646–4648 (2010).

180 Yang HP, Walmer DK, Merisier D et al. A pilot analytic study of a research-level, lower-cost human papillomavirus 16, 18, and 45 test. J. Virol. Methods 176(1-2), 112–114 (2011).

181 Esteller M. Epigenetics in cancer. N. Engl. J. Med. 358(11), 1148–1159 (2008).

182 Lai HC, Lin YW, Huang TH et al. Identification of novel DNA methylation markers in cervical cancer. Int. J. Cancer 123(1), 161–167 (2008).

183 Wentzensen N, Sherman ME, Schiffman M, Wang SS. Utility of methylation markers in cervical cancer early detection: appraisal of the state-of-the-science. Gynecol. Oncol. 112(2), 293–299 (2009).

184 de Wilde J, Kooter JM, Overmeer RM et al. hTERT promoter activity and CpG methylation in HPV-induced carcinogenesis. BMC Cancer 10, 271 (2010).

185 Umayahara K, Numa F, Suehiro Y et al. Comparative genomic hybridization detects genetic alterations during early stages of cervical cancer progression. Genes Chromosomes Cancer 33(1), 98–102 (2002).

186 Jiang J, Wei LH, Li YL et al. Detection of TERC amplification in cervical epithelial cells for the diagnosis of high-grade cervical lesions and invasive cancer: a multicenter study in China. J. Mol. Diagn. 12(6), 808–817 (2010).

187 Heselmeyer-Haddad K, Sommerfeld K, White NM et al. Genomic amplification of the human telomerase gene (TERC) in pap smears predicts the development of cervical cancer. Am. J. Pathol. 166(4), 1229–1238 (2005).

188 Jalali GR, Herzog TJ, Dziura B, Walat R, Kilpatrick MW. Amplification of the chromosome 3q26 region shows high negative predictive value for nonmalignant transformation of LSIL cytologic finding. Am. J. Obstet. Gynecol. 202(6), 581 E581–E585 (2010).

189 Fitzpatrick MA, Funk MC, Gius D et al. Identification of chromosomal alterations important in the development of cervical intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma using alignment of DNA microarray data. Gynecol. Oncol. 103(2), 458–462 (2006).

190 Li B, Hu Y, Ye F, Li Y, Lv W, Xie X. Reduced miR-34a expression in normal cervical tissues and cervical lesions with high-risk human papillomavirus infection. Int. J. Gynecol. Cancer 20(4), 597–604 (2010).

191 Li Y, Liu J, Yuan C, Cui B, Zou X, Qiao Y. High-risk human papillomavirus reduces the expression of microRNA-218 in women with cervical intraepithelial neoplasia. J. Int. Med. Res. 38(5), 1730–1736 (2010).

192 Liu C, Pan C, Shen J, Wang H, Yong L, Zhang R. Discrimination analysis of mass spectrometry proteomics for cervical cancer detection. Med. Oncol. 20(4), 597–604 (2010).

193 Zegels G, Van Raemdonck GA, Coen EP, Tjalma WA, Van Ostade XW. Comprehensive proteomic analysis of human cervical–vaginal fluid using colposcopy samples. Proteome Sci. 7, 17 (2009).

194 Lăără E, Day NE, Hakama M: Trends in mortality from cervical cancer in the Nordic countries: association with organised screening programmes. Lancet 1 (8544): 1247-9, 1987

195 Sigurdsson K: Effect of organized screening on the risk of cervical cancer. Evaluation of screening activity in Iceland, 1964-1991. Int J Cancer 1993;54(4): 563-570

196 Aristizabal N, Cuello C, Correa P, et al.: The impact of vaginal cytology on cervical cancer risks in Cali, Colombia. Int J Cancer 1984;34(1):5-9

197 Clarke EA, Anderson TW: Does screening by "Pap" smears help prevent cervical cancer? A case-control study. Lancet 1979;2 (8132): 1-4

198 La Vecchia C, Franceschi S, Decarli A, et al.: "Pap" smear and the risk of cervical neoplasia: quantitative estimates from a case-control study. Lancet 2 1984; (8406): 779-82

199 Herrero R, Brinton LA, Reeves WC, et al.: Screening for cervical cancer in Latin America: a case-control study. Int J Epidemiol 1992;21(6):1050-6

200 Singer A, Coppleson M, Canfell K, Skladnev V, Mackellar G, Pisal N, Deery A. A real time optoelectronic device as an adjunct to the Pap smear for cervical screening: a multicenter evaluation. Int J Gynecol Cancer. 2003;13(6):804-11

201 Zlatkov V. Possibilities of the TruScreen for screening of precancer and cancer of the uterine cervix. Akush Ginekol (Sofiia). 48: 2009; 6, 46-50.

202 Coppleson M., K. Canfell, V. Skladnev. The Polarprobe-an instantaneous optoelectronic approach to cervical screening. CME J Gynecol Oncol, 2000;5:31-38

203 Barrow AJ, Wu SM. Impedance measurements for cervical cancer diagnosis. Gynecol Oncol. 2007;107(1 Suppl 1):S40-3

204 Singer A. Clinical experience with the usage of the Polarprobe. Proceedings of the EUROGIN Third International Congress, 24-27 March 1997, Paris.

205 Pruski D, Kedzia W, Przybylski M, Józefiak A, Kedzia H, Spaczyński M. Assesment of real optoelectronic method in the detection of cervical intraepithelial neoplasia. Ginekol Pol. 2008;79(5):342-6

206 Li W, Guo Y, Niu H, Jin S, Wang L. Application of TruScreen in detecting ASCUS patients. Asian Pac J Trop Med 2011;4(8):669–671

207 He XK, Luo X, Mao L, Chen G, Li Y, Zhang J. An optoelectronic cervical cancer screening system for screening cervical cancer: comparison with cervical cytology. Journal of Southern Medical University 2010;30(10):2304-2306

208 S. Long, Shuyu Long W. Lei, Wei Lei Y. Feng,Yukuan Feng D. Lv, Donghao Lv Y. Cai, Yaxi Cai P. Yang. The feasibilities of TruScreen for primary cervical cancer screening: a self-controlled study. Archives of Gynecology and Obstetrics 2013; 288(1):113-118

209 Tajossadat Allameh, Somayeh Khanjani, Fereshteh Mohammadizadeh, Elaheh Refaei. Diagnostic value of the combination of TruScreen and Pap smear in screening cervical epithelial lesions: Does it add advantages over the Pap smear alone? Open Journal of Obstetrics and Gynecology, 2013, 3, 341-346

210 R. Litjens , A. Hopman , K. K. Vijver , F. Ramaekers , R. Kruitwagen , A. Kruse. Molecular biomarkers in cervical cancer diagnosis: a critical appraisal. Expert Opinion on Medical Diagnostics, 2013; 7(4):365-377).

211 Arbyn M, Sankaranarayanan R, Muwonge R, Keita N, Dolo A, Mbalawa CG, Nouhou SB, Wesley R, Somanathan T, Sharma A, Shastri S, Basu P (2008)

Pooled analysis of the accuracy of five cervical cancer screening tests assessed in eleven studies in Africa and India. Int J Cancer 123(1):153–60

212 Fahey, M.T., Irwin L, P. Macaskill P Meta-analysis of Pap test accuracy. Am J Epidemiol 141(7): 680-9.

213 Sankaranarayanan R, Nene BM, Dinshaw KA, Mahe C, Jayant K, Shastri SS, Malvi SG, Chinoy R, Kelkar R, Budukh AM, Keskar V, Rajeshwarker R, Muwonge R, Kane S, Parkin DM, Chauhan MK, Desai S, Fontaniere B, Frappart L, Kothari A, Lucas E, Panse N (2005) A cluster randomized controlled trial of visual, cytology and human papillomavirus screening for cancer of the cervix in rural India. Int J Cancer 116(4):617–23

214 Cuzick J, Clavel C, Petry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S, Szarewski A, Birembaut P, Kulasingam S, Sasieni P, Iftner T (2006) Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. Int J Cancer 119(5):1095–101)

215 Syrjänen K, Derchain S, Roteli-Martins C, Longatto-Filho A, Hammes LS, Sarian L (2008) Value of conventional pap smear, liquid-based cytology, visual inspection and human papillomavirus testing as optional screening tools among Latin American women <35 and > or =35 years of age: experience from the Latin American Screening Study. Acta Cytol 52(6):641–53

216 Costa S, Sideri M, Syrjänen K, Terzano P, De Nuzzo M, De Simone P, Cristiani P, Finarelli AC, Bovicelli A, Zamparelli A, Bovicelli L (2000) Combined Pap smear, cervicography and HPV DNA testing in the detection of cervical intraepithelial neoplasia and cancer. Acta Cytol 44(3):310–8

217 De Sutter P, Coibion M, Vosse M, Hertens D, Huet F, Wesling F, Wayembergh M, Bourdon C, Autier P (1998) A multicentre study comparing cervicography and cytology in the detection of cervical intraepithelial neoplasia. Br J Obstet Gynaecol 105(6):613–20

218 Mahe C, Gaffikin L (2005) Screening test accuracy studies: how valid are our conclusions? Application to visual inspection methods for cervical screening. Cancer Causes Control 16(6):657–66

219 Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, Garcia FA, Moriarty AT, Waxman AG, Wilbur DC, Wentzensen N, Downs LS Jr, Spitzer M, Moscicki AB, Franco EL, Stoler MH, Schiffman M, Castle

PE, Myers ER, ACS-ASCCP-ASCP Cervical Cancer Guidelines Committee. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. CA Cancer J Clin. 2012 May;62(3):147-72

220 J. Jordan, M. Arbyn, P. Martin-Hirsch, U. Schenck, J-J. Baldauf, D. Da Silva, A. Anttila, P. Nieminen and W. Prendiville European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening: recommendations for clinical management of abnormal cervical cytology Cytopathology 2008, 19, 342–354 ©2008 European Commission, Journal compilation ©2008 Blackwell Publishing Ltd

221 Arbyn M, Buntinx F, Van Ranst M et al. Virologic versus cytologic triage of women with equivocal Pap smears: a meta-analysis of the accuracy to detect high-grade intraepithelial neoplasia. J Natl Cancer Inst 2004; 96:280–93

222 Arbyn M, Dillner J, Van Ranst M et al. Re: Have we resolved how to triage equivocal cervical cytology? J Natl Cancer Inst 2004;96:1401–2

223 Coleman D, Day N, Douglas G et al. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Europe against cancer programme. Eur J Cancer 1993; 29A(Suppl. 4):S1–38.

224 ASCUS-LSIL Triage Study Group. A randomized trial on the management of low-grade squamous intraepithelial lesion cytology interpretations. Am J Obstet Gynecol 003;188:1393–400

225 Sue J. Goldie, Louise Kuhn, Lynette Denny et al. Policy Analysis of Cervical Cancer Screening Strategies in Low-Resource Settings. Clinical Benefits and Cost-effectiveness JAMA. 2001;285(24):3107-3115

226 Sue J. Goldie, Lynne Gaffikin, Jeremy D. Goldhaber-Fiebert et al. Cost-Effectiveness of Cervical-Cancer Screening in Five Developing Countries N Engl J Med 2005;353:2158-68

227 Anusorn P. et al. Prevalence of High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) in the Patients with Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (ASC-US) Pap Smears: Hospital Based, Dynamic Population Area J Med Assoc Thai 2011; 94 (2): 159-63

228 Eileen M. Burd. Human Papillomavirus and Cervical Cancer. Clin Microbiol. 2003 Jan; 16(1): 1–17

229 Cuschieri KS et al. Multiple high risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population. J Clin Pathol, 2004;57:68-72

230 Ronco G, van Ballegooijen M, Becker N, et al. Process performance of cervical cancer screening programmes in Europe. Eur J Cancer 2009;45:2659–70.

231 Stefan Lönnberg, Ahti Anttila, Laura Kotaniemi-Talonen, et al. Low Proportion of False-Negative Smears in the Finnish Program for Cervical Cancer Screening 2010 Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 19(2); 381–7.

232 Sankaranarayanan R, Esmy PO, Rajkumar R, Muwonge R, Swaminathan R, Santhakumari S, et al. Effect of visual screening on cervical cancer incidence and mortality in Tamil Nadu, India: a cluster randomized trial. Lancet 2007;370:398–406;

233 Denny L. The prevention of cervical cancer in developing countries. BJOG 2005;112:1204–12

234 Denny L, Kuhn L, Pollack A, Wright Jr TC. Direct visual inspection for cervical cancer screening. An analysis of factors influencing test performance. Cancer 2002;94: 1699–1707

235 Singh KN, More S. Visual inspection of cervix with acetic acid in early diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia and early cancer cervix. J Obstet Gynaecol India 2010;60:55–60

236 Cronje HS, Parham GP, Cooreman BF, de Beer A, Divall 18. P, Bam RH. A comparision of four screening methods for cervical neoplasia in a developing country. Am J Obstet Gynaecol 2003; 188 : 395-400

237 Goel A, Gandhi G, Batra S, Bhambhani S, Zutshi V, Sachdeva 10. P. Visual inspection of the cervix with acetic acid for cervical intraepithelial lesions. Int J Gynaecol Obstet 2005; 88 : 25-30

238 Doh AS. Visual Inspection with acetic acid and cytology as screening methods for cervical lesions in Cameroon. Int J Gynecol Obstet 2005:89

239 Elit L, Baigal G, Tan J, Munkhtaivan A. Assessment of 2 cervical screening methods in Mongolia: cervical cytology and visual inspection with acetic Acid. J Low Genit Tract Dis 2006;10:83–8. 20

240 Megevand E et al., Acetic acid visualization of the cervix: an alternative to cytologic screening, Obstetrics & Gynecology, 1996, 88(3): 383–386

241 Shuchi C. et al. Comparative study of effectiveness of Pap smear versus visual inspection with acetic acid and visual inspection with Lugol's iodine for mass screening of premalignant and malignant lesion of cervix. Indian J Med Paediatr Oncol. 2012 Jul-Sep; 33(3): 161–165

242 Sankaranarayanan R, Basu P, Wesley RS, Mahé C, Keita N, Mbalawa CC, et al. Accuracy of visual screening for cervical neoplasia: Results from an IARC multicentre study in India and Africa. Int J Cancer. 2004;110:907–13

243 Arbyn M, Gaffikin L, Sankaranarayanan R, Muwonge R, Keita N, Wesley R, Tsu V. Assessment of Innovative Approaches to Cervical Cancer Screening, Follow-up and Treatment of Screen Detected Cervical Lesions in Developing Countries. A Pooled Analysis of ACCP Trial Results IPH/EPI-REPORTS 2005;2:1–215. Seattle, Brussels: PATH & IPH, pp 1–215

244 Lugoma GS, Mahmud S, Samih H, Liaras J. Visual inspection 21. as a cervical cancer screening method in a primary health care setting in Africa. Int J Cancer 2006; 119 : 1389-95

245 Sankaranarayanan R, Wesley RS. A practical manual on visual screening for cervical neoplasia. Lyon: IARC Press and World Health Organization Distribution and Sales, 2003:1–49

246 IARC Working Group on the Evaluation of Cancer: IARC Handbooks of Cancer Prevention Volume 10: Cervix Cancer Screening. 10 edition. Lyon: IARC Press; 2005

247 S Vaccarella, S Franceschi, G Engholm, S Lönnberg, S Khan and F Bray. 50 years of screening in the Nordic countries: quantifying the effects on cervical cancer incidence. British Journal of Cancer (2014) 111, 965–969

248 Arbyn M, Antoine J, Mägi M, Smailyte G, Stengrevics A, Suteu O, Valerianova Z, Bray F, Weiderpass E. Trends in cervical cancer incidence and mortality in the Baltic countries, Bulgaria and Romania. Int J Cancer. 2011 Apr 15;128(8):1899-907

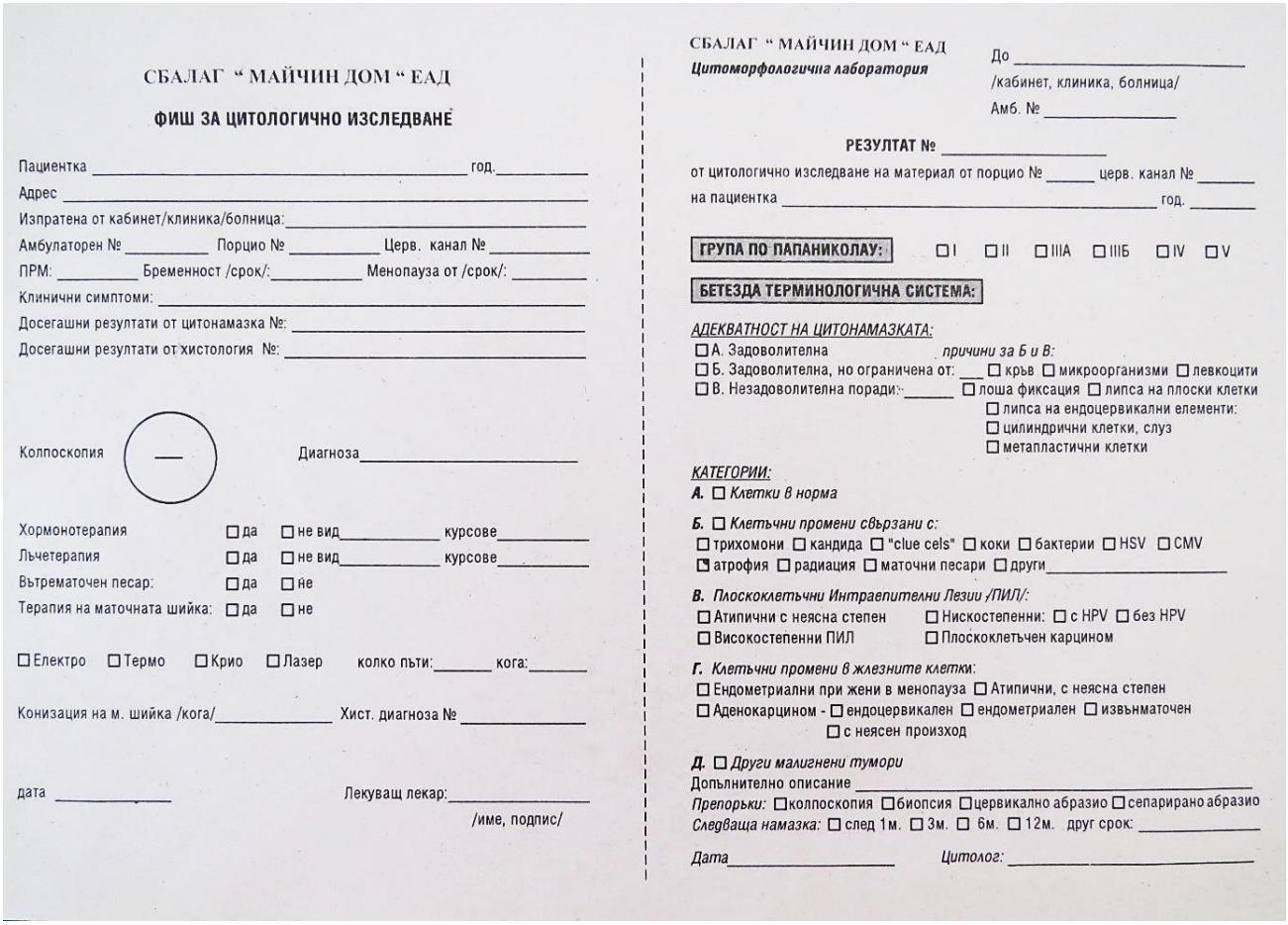
249 T. Allameh et al. Diagnostic value of the combination of TruScreen and Pap smear in screening cervical epithelial lesions: Does it add advantages over the Pap smear alone? Open Journal of Obstetrics and Gynecology 2013,3:341-346

250 Emre Özgü, Yunus Yıldız, Burçin Salman Özgü, Murat Öz, Nuri Danışman, Tayfun Güngör. An optoelectronic device (TruScreen™) in detecting CIN. J Turk Ger Gynecol Assoc 2015; 16: 41-4

251 Crosbie EJ, Kitchener HC. Human papillomavirus in cervical screening and vaccination. Clin Sci (Lond) 2006;110:543–52

252 Костова П. Организация, качествен контрол и ефективност на цервикалния скрининг в България (дисертация, дм), 2001, МУ-София

IX. ПРИЛОЖЕНИЕ



СБАЛАГ " МАЙЧИН ДОМ " ЕАД

ФИШ ЗА ЦИТОЛОГИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ

Пациентка _____ год._____
Адрес _____
Изпратена от кабинет/клиника/болница:_____
Амбулаторен № _____ Порцио № _____ Церв. канал № _____
ПРМ: _____ Бременност /срок/:_____ Менопауза от /срок/: _____
Клинични симптоми: _____
Досегашни резултати от цитонамазка №: _____
Досегашни резултати от хистология №: _____

Колпоскопия — Диагноза_____

Хормонотерапия ☐ да ☐ не вид_____ курсове_____
Лъчетерапия ☐ да ☐ не вид_____ курсове_____
Вътрематочен песар: ☐ да ☐ не
Терапия на маточната шийка: ☐ да ☐ не

☐ Електро ☐ Термо ☐ Крио ☐ Лазер колко пъти:_____ кога:_____

Конизация на м. шийка /кога/_____ Хист. диагноза № _____

дата _____ Лекуващ лекар:_____
/име, подпис/

СБАЛАГ " МАЙЧИН ДОМ " ЕАД
Цитоморфологична лаборатория

До _____
/кабинет, клиника, болница/
Амб. № _____

РЕЗУЛТАТ № _____
от цитологично изследване на материал от порцио № _____ церв. канал № _____
на пациентка _____ год. _____

ГРУПА ПО ПАПАНИКОЛАУ: ☐ I ☐ II ☐ IIIA ☐ IIIБ ☐ IV ☐ V

БЕТЕЗДА ТЕРМИНОЛОГИЧНА СИСТЕМА:

АДЕКВАТНОСТ НА ЦИТОНАМАЗКАТА:
☐ А. Задоволителна *причини за Б и В:*
☐ Б. Задоволителна, но ограничена от: ___ ☐ кръв ☐ микроорганизми ☐ левкоцити
☐ В. Незадоволителна поради:_____ ☐ лоша фиксация ☐ липса на плоски клетки
☐ липса на ендоцервикални елементи:
☐ цилиндрични клетки, слуз
☐ метапластични клетки

КАТЕГОРИИ:
А. ☐ *Клетки в норма*

Б. ☐ *Клетъчни промени свързани с:*
☐ трихомони ☐ кандида ☐ "clue cels" ☐ коки ☐ бактерии ☐ HSV ☐ CMV
☐ атрофия ☐ радиация ☐ маточни песари ☐ други_____

В. *Плоскоклетъчни Интраепителни Лезии /ПИЛ/:*
☐ Атипични с неясна степен ☐ Нискостепенни: ☐ с HPV ☐ без HPV
☐ Високостепенни ПИЛ ☐ Плоскоклетъчен карцином

Г. *Клетъчни промени в жлезните клетки:*
☐ Ендометриални при жени в менопауза ☐ Атипични, с неясна степен
☐ Аденокарцином - ☐ ендоцервикален ☐ ендометриален ☐ извънматочен
☐ с неясен произход

Д. ☐ *Други малигнени тумори*
Допълнително описание _____
Препоръки: ☐ колпоскопия ☐ биопсия ☐ цервикално абразио ☐ сепарирано абразио
Следваща намазка: ☐ след 1м. ☐ 3м. ☐ 6м. ☐ 12м. друг срок: _____

*Дата*_____ *Цитолог:* _____

Фиг. 1 Фиш за резултати от цитологичното изследване на МШ

Приложение А

РАБОТЕН ФИШ

Дата на въвеждане: _ _._ _._ _ _ _ **Изследвано лице Код №** | | | | | |

ЛИЧНИ ДАННИ НА ИЗСЛЕДВАНОТО ЛИЦЕ:	
Име:	**ЕГН:**
Адрес:	
Телефон:	

СОЦИАЛНА АНАМНЕЗА [1]

Семейно положение [1.1]: □ неомъжена [1.1.1] / □ омъжена [1.1.2] / □ разведена [1.1.3] / □ вдовица [1.1.4] / □ разделена [1.1.5] / □ друго [1.1.6].....

Образование [1.2]: □ без образование[1.2.1] / □ начално[1.2.2] / □ основно[1.2.3] / □ средно[1.2.4] / □ средно-специално[1.2.5] / □ полувисше[1.2.6] / □ висше[1.2.7] / □ друго[1.2.8].....

Социална група [1.3]: □ безработна [1.3.1] / □ работничка [1.3.2] / □ земеделка [1.3.3] / □ служаща [1.3.4] / □ свободна професия [1.3.5] / □ домакиня [1.3.6] / □ учаща [1.3.7] / □ пенсионерка [1.3.8] / □ друго [1.3.9].....

МЕНСТРУАЛНА, СЕКСУАЛНА И РЕПРОДУКТИВНА ФУНКЦИИ; АНТИКОНЦЕПЦИЯ [2]

Менструация [2.1]: □ менархе на ..... години [2.1.1] / □ в менопауза от ..... години [2.1.2]
□ ПРМ .....[2.1.3]
Менструален цикъл през ..... дни [2.1.4], с продължителност ..... дни [2.1.5]
Особености: □ не [2.1.6] / □ да [2.1.7] .....

Репродуктивна функция [2.2]: брой бременности: ..... [2.2.1]; брой аборти: ..... [2.2.2]; брой раждания: ..... [2.2.3],
от тях по вагинален път:.....[2.2.3.1] / от тях по вагинален път с оперативна намеса.....[2.2.3.2] /
чрез цезарово сечение.....[2.2.3.3]

Промискуитет [2.3]: начало: ..... години [2.3.1]; брой: .....[2.3.2] / □ отказ от отговор [2.3.3]

Антиконцепция [2.4]: □ не [2.4.1] / □ да [2.4.2];
ако да – най-често използвания метод: □ презерватив [2.4.2.1] / □ таблетки [2.4.2.2] / □ спирала [2.4.2.3] / □ прекъснат полов акт [2.4.2.4] / □ календарен метод [2.4.2.5] / □ друг [2.4.2.6] .....
продължителност на прилагане [2.4.3]: ..... години [2.4.3.1]; ..... месеци [2.4.3.2]

СПЕЦИАЛИЗИРАНА АНАМНЕЗА [3]

Минали сексуално-трансмисивни заболявания [3.1]: □ не [3.1.1] / □ да [3.1.2] / □ не зная [3.1.3];
Ако да, посочете какви:.....

Имали ли сте генитални брадавици/кондиломи? [3.2]: □ не[3.2.1] / □ да [3.2.2] / □ не зная [3.2.3]

Имали ли сте партньор с брадавици/кондиломи? [3.3]: □ не [3.3.1] / □ да [3.3.2] / □ не зная [3.3.3]

Минали заболявания на маточната шийка:

Имали ли сте разкъсване на маточната шийка при раждане **[3.4]:** □ не [3.4.1] / □ да [3.4.2] / □ не зная [3.4.3],
ако да, било ли е възстановено: □ не [3.4.2.1] / □ да [3.4.2.2] / □ не зная [3.4.2.3]

Имали ли сте раничка на маточната шийка **[3.5]:** □ не [3.5.1] / □ да [3.5.2] / □ не зная [3.5.3],
ако да, от колко време: ..... [3.5.2.1]

Провеждали ли сте лечение **[3.6]:** □ не [3.6.1] / □ да [3.6.2] / □ не зная [3.6.3],
ако да, с какъв метод: □ коагулация с ел. ток/лазер [3.6.2.1] / □ конизация [3.6.2.2] / □ друг [3.6.2.3].....

Предишни резултати [3.7]: хистология .....[3.7.1]
HPV типизиране .....[3.7.2]
Друго.....[3.7.3]

Фиг. 2 Работен фиш, приложение А – анамнестични данни

Дата на въвеждане: _ _._ _._ _ _ _ **Изследвано лице Код №** | | | | | |

СПЕЦИАЛИЗИРАНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ

ЦИТОЛОГИЧЕН РЕЗУЛТАТ [4]

Група по Папаниколау (Pap): □ **I** [4.1] / □ **II** [4.2] / □ **IIIA** [4.3] / □ **IIIБ** [4.4] / □ **IV** [4.5] / □ **V** [4.6]

Допълнително описание:.....

VIA (ВИЗУАЛНА ИНСПЕКЦИЯ С ОЦЕТНА КИСЕЛИНА) [5]

□ тест негативен [5.1] □ тест позитивен [5.2] □ съмнение за карцином [5.3]

VILI (ВИЗУАЛНА ИНСПЕКЦИЯ С ЛУГОЛОВ РАЗТВОР) [6]

□ тест негативен [6.1] □ тест позитивен [6.2] □ съмнение за карцином [6.3]

КОЛПОСКОПИЯ [7]

Находка [7.0]:

□ нормална [7.0.1] / □ лек атипизъм [7.0.2] / □ тежък атипизъм [7.0.3] / □ карцином [7.0.4]

Особености [7.1]:

- □ *Невидима ГПЦЕ* [7.1.1]
  - □ видима лезия [7.1.1.1]
  - □ невидима лезия [7.1.1.2]
- □ *Видима ГПЦЕ* [7.1.2]
  - □ видима лезия [7.1.2.1]
  - □ невидима лезия [7.1.2.2]

Последваща терапия [7.2]:

- □ не [7.2.1]
- □ да [7.2.2]:
  - □ електрокоагулация [7.2.2.1]
  - □ конизация [7.2.2.2]
  - □ LHT [7.2.2.3]
  - □ LHR [7.2.2.4]
  - □ друга [7.2.2.5]

ХИСТОЛОГИЧЕН РЕЗУЛТАТ [8]

Биопсия [8.1]:

(№...../.....)

□ Нормален епител [8.1.1]
□ Абнормен епител [8.1.2]
□ Хронично възпаление [8.1.3]
□ с HPV/койлоцити [8.1.4]
□ Лека дисплазия [8.1.5]
□ Умерена дисплазия [8.1.6]
□ Тежка дисплазия [8.1.7]
□ CIS [8.1.8]
□ Ca (плоскоклетъчен) [8.1.9] стадий:.....
□ Ca (аденокарцином) [8.1.10]

Допълнително описание:.....

Окончателен след лечение [8.2]:

(№...../.....)

□ Нормален епител [8.2.1]
□ Абнормен епител [8.2.2]
□ Хронично възпаление [8.2.3]
□ с HPV/койлоцити [8.2.4]
□ Лека дисплазия [8.2.5]
□ Умерена дисплазия [8.2.6]
□ Тежка дисплазия [8.2.7]
□ CIS [8.2.8]
□ Ca (плоскоклетъчен) [8.2.9] стадий:.....
□ Ca (аденокарцином) [8.2.10]

Допълнително описание:.....

TruScreen® [9]

Exam result [9.1]:…….. **SUS Batch Code:……**

№ of spots [9.2]:.....

Фиг. 2 Работен фиш, приложение Б за отбелязване на резултатите на всяка пациентка