

Porównanie czułości i swoistości metody fotodynamicznej z kolposkopia i diagnostyką cytologiczną w wykrywaniu zmian neoplastycznych szyjki macicy

Comparison of sensitivity and specificity of PDD, colposcopy and cytology in the detection of cervical neoplastic lesions

Szafińska-Dolata Agnieszka^{1,3}, Kędzia Witold^{1,3}, Szafiński Adrian²,
Józefiak Agata³, Spaczyński Marek¹

¹ Klinika Onkologii Ginekologicznej Katedry Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Ginekologicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

² Klinika Chirurgii Stomatologicznej Centrum Stomatologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

³ Pracownia Patofizjologii Szyjki Macicy GPSK Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Streszczenie

Cel pracy: Porównanie czułości i swoistości diagnostyki fotodynamicznej, kolposkopii, diagnostyki cytologicznej w wykrywaniu śródnamionkowej neoplazji szyjki macicy.

Materiał: Do badania zakwalifikowano 73 pacjentki Kliniki Onkologii Ginekologicznej GPSK UM w Poznaniu oraz Pracowni Patofizjologii Szyjki Macicy GPSK UM w Poznaniu w okresie od października 2006r. do grudnia 2007r. Do grupy badanej włączono 43 kobiety z nieprawidłowym wynikiem wymazu cytologicznego \geq ASC-US i dodatnim wynikiem testu na obecność DNA HPV HR. W skład grupy kontrolnej wchodziło 30 pacjentek z prawidłowym wynikiem wymazu cytologicznego i ujemnym testem na obecność DNA HPV HR. Średnia wieku pacjentek w grupie badanej wynosiła 34,8 lat, w grupie kontrolnej 37,5 lat.

Metodyka: Każdej pacjentce pobrano wymaz cytologiczny, przeprowadzono test na obecność DNA HPV HR oraz badanie kolposkopowe i diagnostykę fotodynamiczną. Do przeprowadzenia diagnostyki fotodynamicznej użyto 3% żelu kwasu 5- δ -aminolewulinowego, (5-ALA).

Wyniki: Czulość badania cytologicznego i testu na obecność DNA HPV HR w wykrywaniu zmian neoplastycznych szyjki macicy wyniosła 97%, swoistość 43%, wartość prognostycznie dodatnia 71%, wartość prognostycznie ujemna 93%. Obliczona czulość badania kolposkopowego użytego do wykrywania CIN wynosiła 79%, swoistość 77%, pozytywna wartość predykcyjna tego testu diagnostycznego wynosiła 83%, negatywna wartość predykcyjna 72%. Czulość diagnostyki fotodynamicznej w tym badaniu wynosiła 91%, a swoistość 93%. Negatywna wartość predykcyjna tego badania wynosiła 88%, pozytywna wartość predykcyjna wynosiła 95%.

Wnioski: Diagnostyka fotodynamiczna z użyciem 3% 5-ALA umożliwia wykrywanie śródnamionkowej neoplazji szyjki macicy z czulością wyższą niż kolposkopia, ze swoistością wyższą niż cytodiagnostyka. Uzyskana fluorescencja pozwala na precyzyjną lokalizację zmiany neoplastycznej, ze szczególnym uwzględnieniem jej rozległości, linii ograniczenia i wieloogniskowego charakteru. Topografia zmiany określona na podstawie uzyskanej fluorescencji może stanowić podstawę wyboru miejsca celowanej biopsji, jak również decydować o rozległości planowanej terapii.

Słowa kluczowe: **diagnostyka fotodynamiczna / śródnamionkowa neoplazja szyjki macicy / kwas aminolewulinowy (5-ALA) / fotouczulacz /**

Adres do korespondencji:

Agnieszka Szafińska-Dolata
Klinika Onkologii Ginekologicznej Katedry Ginekologii, Położnictwa i Onkologii Ginekologicznej
Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu
60-535 Poznań, ul. Polna 33
tel. 061 841 92 71, fax: 061 841 94 65
e-mail: agnieszka_szd@yahoo.com

Otrzymano: 10.04.2009
Zaakceptowano do druku: 15.07.2009

Abstract

Objectives: Photodynamic diagnosis (PDD) is based on the phenomenon of selective accumulation of a photosensitizer in the tissues where carcinogenesis has started. The change may be identified by fluorescence which takes place when a photosensitizer is activated by the light of an appropriate wave length.

The aim of this study was:

1. Evaluation of photodynamic diagnosis in detection and precise location of cervical neoplastic lesions
2. Comparison of sensitivity and specificity of PDD, colposcopy and cytology in detection of cervical neoplastic lesions

Material: The study was carried out between October 2006 and December 2007 and included 73 women, patients of Gynecologic Oncology Division of the Poznan University of Medical Sciences Hospital. The examined patients were divided into two groups: the first consisted of 43 women with neoplastic lesions and the second, consisting of 30 patients with no oncologic changes of uterine cervix, comprised the control group.

Methods: Each patient had PDD, cytological smear and colposcopy performed. For PDD 3% 5- δ -aminolevulinic acid (5-ALA) gel was used as a photosensitizer, applied on cervical surface 4 hours before the examination. To activate fluorescence of the areas with highest accumulation of the photosensitizer, the cervix was exposed to the light of 405 nm wave length.

- Results and conclusions:**
1. Photodynamic diagnosis with 3% 5-ALA enables the detection of cervical intraepithelial neoplasia with higher sensitivity than colposcopy and higher specificity than cytological diagnosis
 2. Fluorescence allows for precise location of a cervical neoplastic change as well as its extension, borders or multifocal character
 3. Location of the change indicated by fluorescence may facilitate the choice of the place for direct biopsy as well as the extension of the therapy

Key words: **photodynamic diagnosis (PDD) / cervical intraepithelial neoplasia (CIN) / aminolevulinic acid (5-ALA) / photosensitizers /**

Wstęp

Śródnaślakowa neoplazja jest rzeczywistym stanem przednowotworowym szyjki macicy. Patologia ta dotyczy zmian w nabłonku, które obejmują zarówno zmiany morfologii komórkowej, jak i architektoniki warstw nabłonka. Zgodnie z klasyfikacją FIGO z 1988r. wyróżniamy trzy stopnie śródnaślakowej neoplazji szyjki macicy: niski (CIN 1 - *cervical intraepithelial neoplasia gradus minoris*), średni (CIN 2 - *cervical intraepithelial neoplasia gradus mediocris*) i wysoki (CIN 3 - *cervical intraepithelial neoplasia gradus maioris*). Z badań prowadzonych przez Kolegium Patologów Amerykańskich od 1990 roku wynika, że rocznie na świecie ponad 1 milion kobiet jest diagnozowana i leczona z powodu CIN 1, a około 500 000 z powodu CIN 2,3 [1].

Badanie cytologiczne, kolposkopowe, test na obecność wirusowego DNA HPV oraz biopsja celowana, to metody stosowane w diagnostyce stanów przednowotworowych szyjki macicy [2, 3, 4].

Badanie cytologiczne cechuje stosunkowo niska czułość i swoistość, a przede wszystkim wysoki odsetek wyników fałszywie negatywnych [5]. Dla wykrywania śródnaślakowej neoplazji szyjki macicy średniego stopnia (CIN 2) czułość ta wynosi średnio 53% (48,6%-57,4%) [6]. Dla neoplazji śródnaślakowej średniego i wysokiego stopnia łącznie, czułość badania cytologicznego mieści się w przedziale 47%-62% [7]. Swoistość cyto-diagnostyki w wykrywaniu CIN 2 i CIN 3 wynosi według różnych źródeł pomiędzy 60% a 95% [5, 8]. Dowiedziono, że przy jednoczesnym stosowaniu badania cytologicznego i oznaczania DNA HPV HR czułość wykrywania neoplazji wysokiego stopnia i raka szyjki macicy wzrasta do 95% [9].

Kolposkopia to stosunkowo subiektywna metoda diagnostyczna, jej czułość zależy od okresu szkolenia oraz od doświadczenia kolposkopisty. W opublikowanej w 1998 metaanalizie Mitchell i wsp. podaje średnią czułość kolposkopii w rozróżnianiu tkanek prawidłowych i patologicznych szyjki macicy 0,96

(95% CI 0,95-0,97) oraz średnią swoistość 0,48 (95% CI 0,47-0,49) [3]. Badanie przeprowadzone przez Massada i wsp. określa czułość tego badania dla CIN na 89%, a swoistość 52%. Massad określił też, że swoistość kolposkopii dla zmian CIN 2/3 wynosi 56% [10]. Przeprowadzone w USA wielośrodkowe badanie ALTS (ASCUS /LSIL Triage Study) wykazało, że jednorazowe badanie kolposkopowe nie wykrywa 33-36% zmian typu CIN 2 i CIN 3 [11].

Ostatnie lata przyniosły dynamiczny rozwój technik obrazowych szyjki macicy. Na szczególną uwagę zasługuje diagnostyka fotodynamiczna, jako badanie umożliwiające precyzyjną identyfikację i lokalizację zmian przednowotworowych m. in. szyjki macicy. Diagnostyka fotodynamiczna (PDD - *photodynamic diagnosis*) jest relatywnie nową dziedziną medycyny. Metoda ta oparta jest na zjawisku selektywnego gromadzenia się w tkankach zmienionych patologicznie związków zwanych fotouczulaczami. Po aplikacji fotouczulacza wzbudza się jego fluorescencję światłem monochromatycznym o długości fali leżącej w paśmie absorpcji danego fotouczulacza. Bezinwazyjność, bezbolesność oraz brak notowanych objawów ubocznych w przypadku miejscowej aplikacji fotouczulacza, to cechy które pozwalają na zastosowanie tej metody w diagnostyce zmian przednowotworowych i nowotworowych pęcherza moczowego, płuc, układu pokarmowego, skóry oraz narządów płciowych.

Porfiryny, będące pochodnymi hemu są najbardziej rozpoznanymi i najbardziej zbadanymi fotouczulaczami. Kwas 5- δ -aminolewulinowy (5-ALA), to naturalny prekursor protoporfiryny IX (PpIX), która bierze udział w syntezie hemu. 5-ALA to fotouczulacz drugiej generacji. Właściwym fotouczulaczem jest w tym przypadku protoporfiryna IX, której kumulacja następuje w tkankach zmienionych neoplastycznie [12]. Maksimum absorpcji dla protoporfiryny IX przypada na długość światła 410nm, a emitowana przez nią fluorescencja mieści się w przedziale 635-705nm [13].

Cel pracy

Celem pracy była ocena przydatności diagnostyki fotodynamicznej w procesie wykrywania i precyzyjnej lokalizacji śród-nabłonkowej neoplazji szyjki macicy oraz porównanie czułości i swoistości metody diagnostyki fotodynamicznej z kolposkopią, diagnostyką cytologiczną i testem na obecność DNA HPV HR w wykrywaniu CIN.

Materiał i metodyka

Do badań włączono 73 pacjentki leczone w Klinice Onkologii Ginekologicznej oraz Pracowni Patofizjologii Szyjki Macicy GPSK UM w Poznaniu w okresie od października 2006r. do grudnia 2007r., które zakwalifikowano do dwóch grup.

Do pierwszej grupy włączono 43 pacjentki z nieprawidłowym wynikiem wymazu cytologicznego \geq ASC-US i dodatnim testem na obecność DNA HPV HR.

Drugą grupę kontrolną, stanowiło 30 pacjentek z prawidłowym wynikiem wymazu cytologicznego i ujemnym testem na obecność DNA HPV HR, zakwalifikowanych do leczenia operacyjnego z przyczyn nieonkologicznych.

Średnia wieku pacjentek w grupie badanej wynosiła 34,8 lat. W grupie kontrolnej średnia wieku pacjentek wynosiła 37,5 lat.

Każda pacjentka poddana była badaniu podmiotowemu, badaniu we wziernikach, badaniu ginekologicznemu przez pochwę. Każdej pacjentce pobrano: 1). wymaz cytologiczny i test na DNA HPV HR (Amplicor Roche) 2). przeprowadzono kolposkopię, a następnie 3). diagnostykę fotodynamiczną.

U każdej pacjentki z grupy badanej wykonano biopsję miejsc uznanych jako najbardziej podejrzane oraz przeprowadzono diagnostyczną abrazję kanału szyjki macicy. Wszystkie pacjentki z grupy kontrolnej miały przeprowadzoną weryfikację histopatologiczną szyjki macicy wykonaną z przyczyn nieonkologicznych.

Badanie kolposkopowe przeprowadzono za pomocą kolposkopu Olympus OCS 500. Archiwizacji zdjęć dokonywano przy użyciu videokolposkopu VC-101 firmy Medi.com. Cyfrowej rejestracji obrazu oraz rejestracji pozostałych danych pacjentek dokonywano za pomocą programu IRIS Ginekologia. Oceny powierzchni tarczy części pochwowej szyjki macicy i granicy między nabłonkami dokonywano w kolposkopii w świetle białym przy użyciu 4% kwasu octowego, a następnie płynu Lugola. Celem obiektywizacji oceny kolposkopowej posługiwano się skalą Reida.

Celem przeprowadzenia diagnostyki fotodynamicznej, na powierzchnię szyjki macicy 4 godziny przed zaplanowanym badaniem, aplikowano 3% żel kwasu 5- δ -aminolewulinowego z DMSO (dimetylosulfotlenkiem). Żel 3% kwasu 5- δ -aminolewulinowego jest prekursorem właściwego fotouczulacza, jakim jest protoporfiryna IX. Związek użyty w badaniu syntetyzowany był przez zespół badaczy pod kierownictwem prof. Alfredy Graczyk z Samodzielnej Pracowni Biochemii i Spektroskopii Instytutu Optoelektroniki Wojskowej Akademii Technicznej w Warszawie. Całą powierzchnię tarczy części pochwowej szyjki macicy pokrywano 3% żelem 5-ALA z DMSO.

Po 4 godzinach od aplikacji żelu, naświetlano całą powierzchnię szyjki macicy światłem o długości fali $\lambda=405$ nm, generowanym przez pierścieniowy oświetlacz diodowy, wbudowany w głowicę kamery videokolposkopu VC-101 firmy Medi.com.

Lekarze wykonujący badanie fotodynamiczne i kolposkopowe dysponowali dla każdej pacjentki wynikiem wymazu cytolo-

gicznego i testu na obecność DNA HPV HR. Biopsję wykonywano zarówno w miejscach analogicznie wskazanych przez oba rodzaje diagnostyki tj. kolposkopii i fotodiagnostyki, jak również w obszarach podejrzanych rozbieżnie identyfikowanych przez obie techniki.

Analizy statystycznej dokonano w Zakładzie Informatyki i Statystyki Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu przy pomocy pakietu statystycznego StatSoft, Inc. (2007) STATISTICA (data analysis software system), v.8.0, Cytel Studio Version 8.0.0, oraz Instat v 3.00 firmy GraphPad.

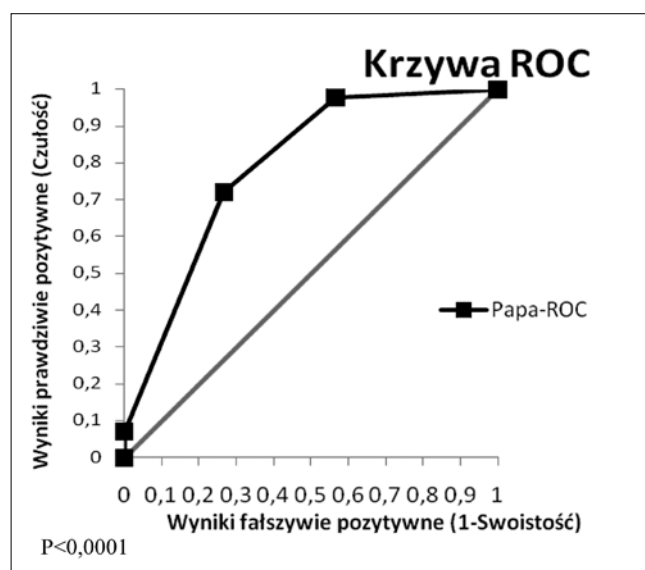
Wyniki

Przeprowadzona w wyniku podjętych badań diagnostyka patomorfologiczna wykazała, że w skład grupy badanej weszło 8 pacjentek z rozpoznaną histopatologicznie koilocytozą i obecnością DNA HPV HR (+), co stanowiło 19% wszystkich kobiet z grupy badanej, 9 pacjentek z rozpoznaniem CIN 1 (21%), 18 z CIN 2 (41%) oraz 8 z CIN 3 (19%).

Wśród pacjentek z grupy kontrolnej stwierdzono: 13 pacjentek z ektopią gruczołową, co stanowiło 43% pacjentek z grupy kontrolnej, 2 (7%) pacjentki z endometriozą szyjki macicy, 8 (27%) pacjentek z polipem gruczołowym, 2 (7%) pacjentki ektopią i z przewlekłym zapaleniem szyjki macicy oraz 5 (17%) kobiet zakwalifikowanych do leczenia z przyczyn nieonkologicznych.

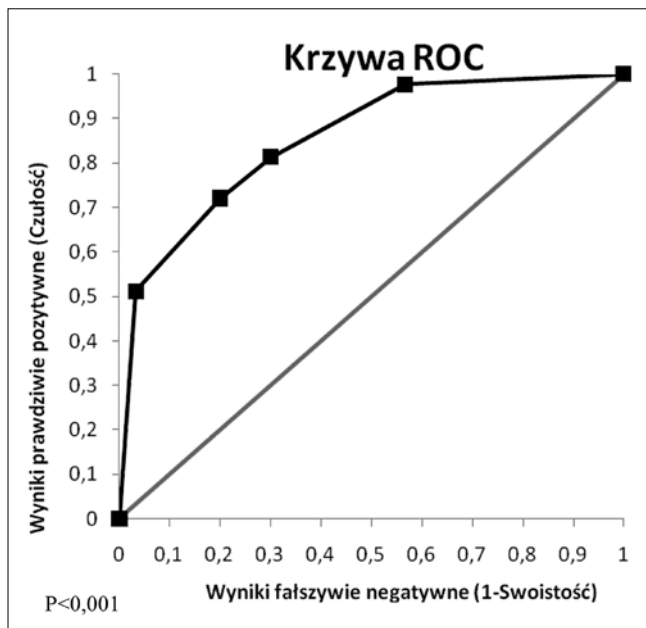
Obliczono czułość i swoistość badania cytologicznego ocenianego według klasyfikacji Papanicolaou powiązanego z testem na obecność DNA HPV HR. Czuość badania cytologicznego wynosi 97% (95% CI; 88%-100%), swoistość 43% (95% CI; 26%-82%), wartość prognostycznie dodatnia 71% (95% CI; 58%-82%), wartość prognostycznie ujemna 93% (95% CI; 66%-100%). Test ten charakteryzuje się wysoką czułością, jednakże niewielką swoistością. W celu oceny przydatności cytodiagnostyki do wykrywania CIN wykreślono krzywą ROC. (Rycina 1).

Pole pod krzywą wynosi 0,79 (95% CI; 0,69-0,89) co świadczy o wysokiej wartości diagnostycznej tego testu.



Rycina 1. Badanie cytologiczne oceniane według klasyfikacji Papanicolaou i testu na DNA HPV HR - krzywa ROC określająca przydatność cytodiagnostyki powiązanej z testem na DNA HPV HR do wykrywania CIN w badaniu przesiewowym. Pole pod krzywą 0,79.

Wymaz cytologiczny oceniano również przy zastosowaniu klasyfikacji TBS. Jako onkologicznie podejrzane uznano rozpoznania: ASC-US, ASC-H, AGC, LSIL, HSIL, rak.



Rycina 2. Badanie cytologiczne według Bethesda – krzywa ROC określająca przydatność cytodiagnostyki wg klasyfikacji TBS do wykrywania CIN w badaniu przesiewowym. Pole pod krzywą wynosi 0,86.

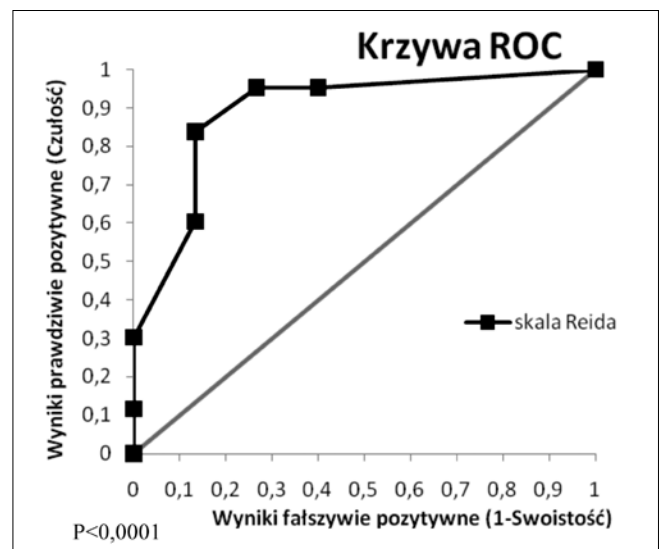
Pole pod krzywą ROC dla cytologii według klasyfikacji TBS wynosi 0,86 (95% CI; 0,77-0,94), co świadczy o dużej wartości diagnostycznej tego testu. (Rycina 2).

Czułość i swoistość badania cytologicznego użytego do wykrywania CIN, ocenianego wg klasyfikacji Bethesda dla poszczególnych stopni cytologicznych przedstawia tabela I.

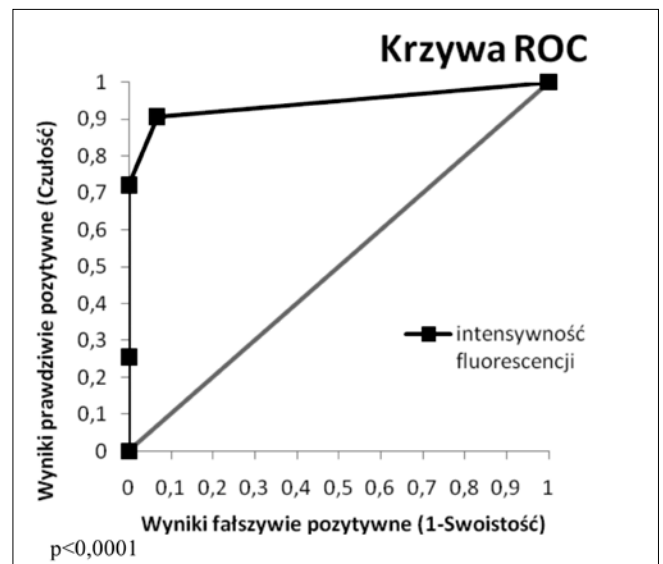
Obliczona czułość badania kolposkopowego użytego do wykrywania CIN wynosi 79% (95% CI; 64-90%), swoistość 77% (95% CI; 58-90%), pozytywna wartość predykcyjna tego testu diagnostycznego wynosi 83% (95% CI; 68-93%), negatywna wartość predykcyjna 72% (95% CI; 53-86%).

Dla badania kolposkopowego wykreślono krzywą ROC. Pole pod krzywą wynosi 0,89 (95% CI; 0,82-0,97). (Rycina 3).

Czułość diagnostyki fotodynamicznej w tym badaniu wynosi 91% (95% CI; 78%-97%), a swoistość 93% (95% CI; 78%-99%). Negatywna wartość predykcyjna tego badania wynosi 88% (95% CI; 72%-96%), pozytywna wartość predykcyjna wynosi 95% (95% CI; 83%-99%).



Rycina 3. Badanie kolposkopowe- krzywa ROC. Pole pod krzywą wynosi 0,89. Charakteryzuje przydatność kolposkopii w wykrywaniu CIN w badaniu przesiewowym.



Rycina 4. Diagnostyka fotodynamiczna – krzywa ROC. Pole pod krzywą (0,94) obrazuje wartość testu PDD użytego do wykrywania śródnamionkowej neoplazji szyjki macicy.

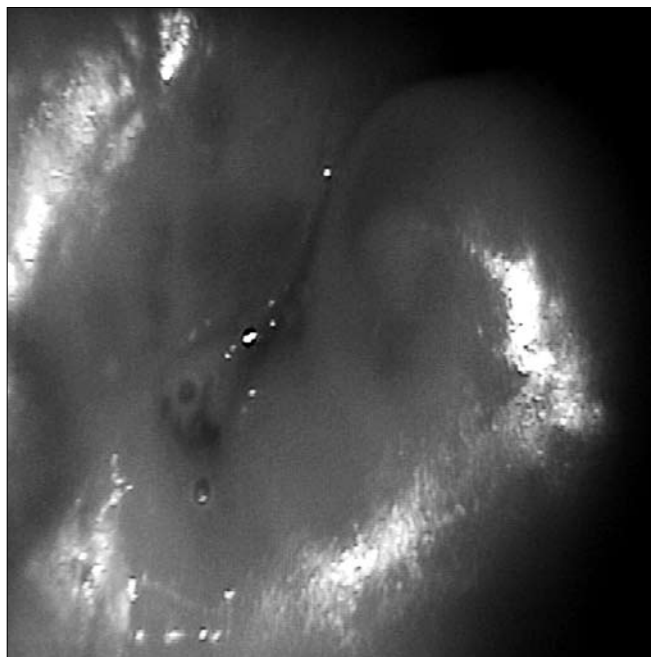
Dla diagnostyki fotodynamicznej wykreślono krzywą ROC. (Rycina 4).

Pole pod krzywą wynosi 0,94 (95% CI; 0,90-0,99), co świadczy o wysokiej wartości diagnostycznej tego testu.

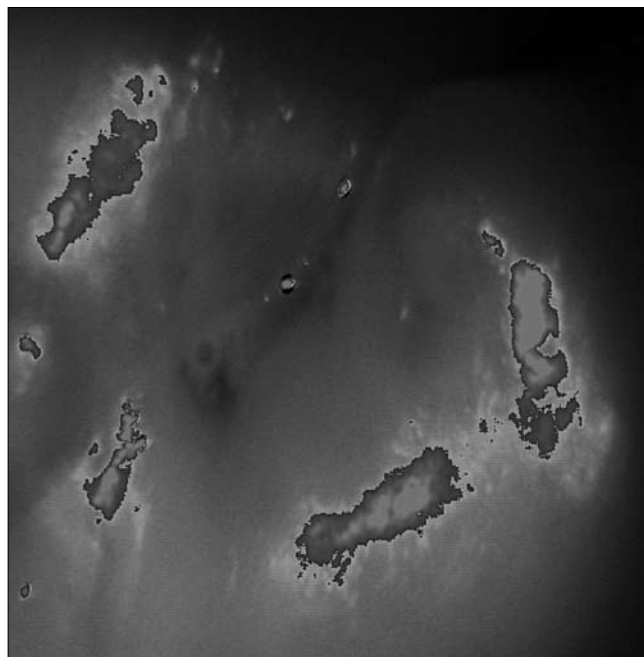
Tabela I. Czułość i swoistość badania cytologicznego ocenianego wg klasyfikacji Bethesda dla poszczególnych stopni cytologicznych.

Cytologia wg Bethesda	Czułość	95% CI	Swoistość	95% CI
ASC-US	0,977	0,877 do 0,999	0,433	0,255 do 0,626
AGC/ASC-US	0,814	0,666 do 0,916	0,700	0,506 do 0,853
LSIL	0,721	0,563 do 0,847	0,800	0,614 do 0,923
HSIL	0,512	0,355 do 0,667	0,967	0,828 do 0,999

Porównanie czułości i swoistości metody fotodynamicznej z kolposkopią i diagnostyką cytologiczną...

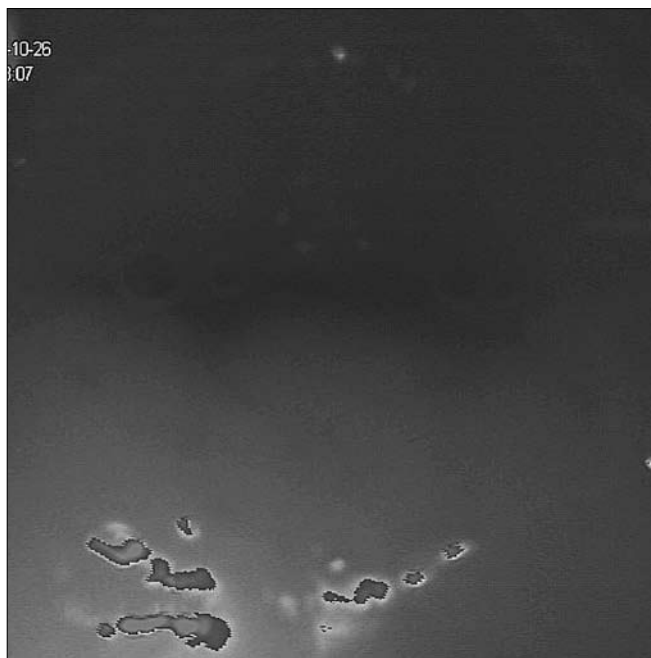


Rycina 5A. Obraz szyjki macicy uzyskany w wyniku diagnostyki fotodynamicznej u pacjentki lat 43 z wynikiem oceny wymazu cytologicznego wg TBS: LSIL, widoczna wyraźna fluorescencja.



Rycina 5B. Otrzymany obraz powstał w wyniku komputerowej obróbki poprzedniego obrazu w skali barwnej. Ostateczny wynik badania histopatologicznego: CIN 1.

Na rycinach przedstawiono obrazy jakie uzyskano w wyniku diagnostyki fotodynamicznej u pacjentek z patologiami szyjki macicy. (Ryciny 5A-7B).



Rycina 6. Obraz szyjki macicy pacjentki I. 27, rozpoznanie cytologiczne wg TBS: HSIL. Fluorescencja wskazuje na godzinie 6.00 miejsca do biopsji. Ostateczny wynik histopatologiczny: CIN 2.

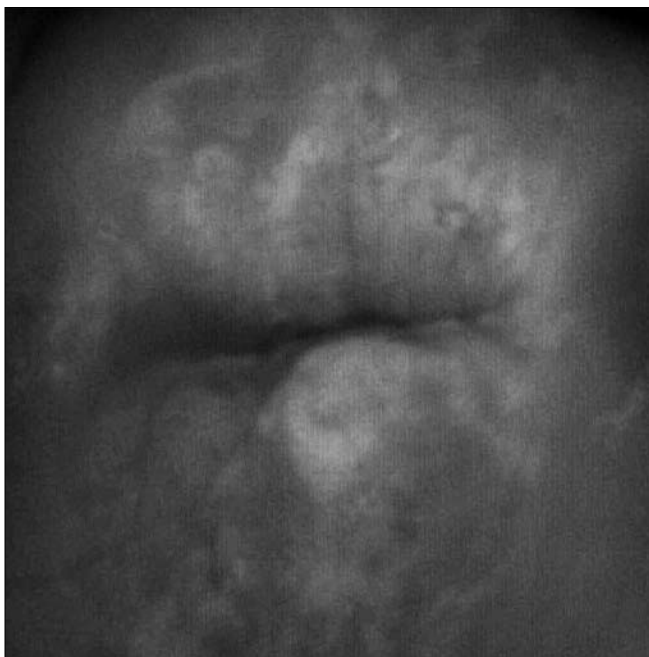
Dyskusja

Rak szyjki macicy jest wciąż jednym z najczęściej występujących nowotworów złośliwych żeńskich narządów rodnych. Wykrywanie i rozpoznawanie zmian śródnaślennych, nieprzekraczających błony podstawnej, pozwala na zastosowanie oszczędzającego leczenia, co jest szczególnie istotne dla kobiet w wieku rozrodczym. Wysoka częstość występowania zmian przednowotworowych szyjki macicy w polskiej populacji, połączona z niedoskonałościami dotychczasowych metod diagnostycznych, stwarza potrzebę poszukiwania nowych testów diagnostycznych charakteryzujących się większą czułością i swoistością w wykrywaniu CIN.

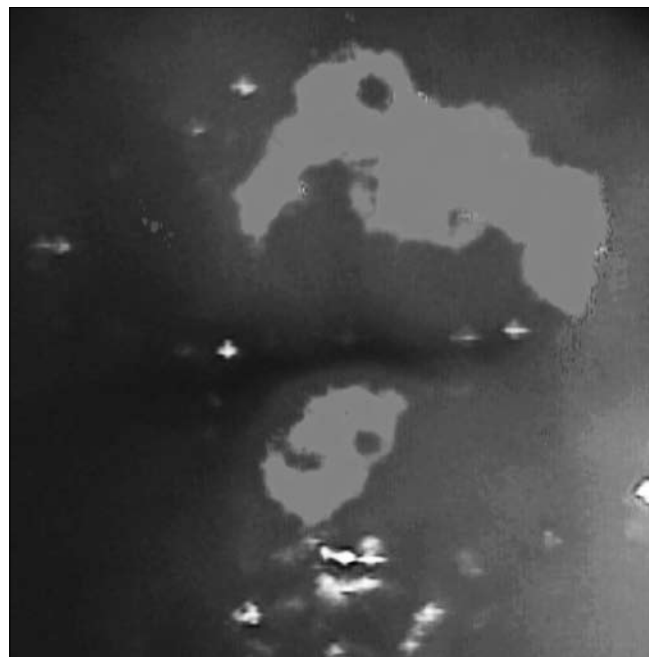
Powszechnie przyjęty na świecie algorytm postępowania diagnostycznego zmierzającego do wykrywania i rozpoznawania CIN polega na realizacji kolejnych badań: cytodiagnostyki, badania kolposkopowego, pobrania celowanych wycinków do badania histopatologicznego. Wprowadzone przez Papanicolaou w latach 30 ubiegłego wieku przesiewowe badanie cytologiczne doprowadziło do spadku zachorowalności z powodu raka szyjki macicy. Narodowy Instytut Raka podaje, że również śmiertelność spowodowana tym nowotworem spadła w ciągu 70 lat o 70% [14].

Badanie cytologiczne nadal pozostaje na świecie podstawowym narzędziem diagnostycznym w wykrywaniu patologii nabłonka płaskiego i gruczołowego szyjki macicy. Cytodiagnostyka spełnia podstawowe kryteria WHO dla testu przesiewowego. Zapewnia odpowiednią swoistość i czułość, a ponadto jest procedurą akceptowaną przez pacjentki, łatwą w wykonaniu i tanią.

Ujemną stroną badania cytologicznego jest duży odsetek wyników fałszywie negatywnych sięgający od 19% do 50% oraz brak wysokiej efektywności do wykrywania zmian śródkanałowych [15]. Za przyczynę tak wysokiego odsetka wyników fałszywie negatywnych uważa się błędy w pobieraniu wymazów, nieodpowiednią jakość preparatu lub nieadekwatną ocenę.



Rycina 7A. Obraz uzyskany w wyniku diagnostyki PDD szyjki macicy pacjentki I. 32, rozpoznanie cytologiczne wg TBS: HSIL. Fluorescencja wskazuje podejrzane miejsca do biopsji.



Rycina 7B. Obraz powstały w wyniku komputerowej obróbki poprzedniego obrazu w skali barwnej, kolor czerwony wskazuje miejsca do biopsji. Ostateczne rozpoznanie histopatologiczne: CIN 3.

Ze względu na duży odsetek wyników fałszywie negatywnych badanie to wymaga regularnego powtarzania. Średnia czułość i swoistość konwencjonalnego badania cytologicznego w wykrywaniu zmian śród nabłonkowych szyjki macicy, jaką podaje Nanda i wsp. wynosi odpowiednio 47% i 95% [5]. Sankaranarayanan i wsp. dokonali analizy kilku badań i oszacowali czułość konwencjonalnego badania cytologicznego dla zmian CIN 2/3 na 47%-62%, a swoistość na 60%-95% [8]. Czuość badania cytologicznego powiązanego z testem na obecność DNA HPV HR uzyskana w ramach niniejszej pracy dla wszystkich patologii nabłonkowych szyjki macicy wynosi 97% (87,8%-99,9%) swoistość 43% (25,5%-82,3%), wartość prognostycznie dodatnia 71% (58,0%-82,3%), prognostycznie ujemna 92% (66,1%-99,8%). Zatem uzyskane dane są bardzo zbliżone do wartości przytoczonych w światowym piśmiennictwie.

Badanie kolposkopowe jest istotnym elementem w diagnostyce zmian szyjki macicy, a jego główna rola oprócz wykrycia patologii szyjki macicy polega na precyzyjnej identyfikacji miejsc podejrzanych, w celu wykonania biopsji. Połączenie kolposkopii z cytodiagnostyką pozwala na wykrycie około 98% patologii szyjki macicy, w porównaniu do 88% zmian jakie identyfikuje samodzielne użycie cytodiagnostyki [16]. Kolposkopia stanowi stosunkowo czułe narzędzie wykorzystywane do badania strefy transformacji szyjki macicy. Kolposkopia jest szczególnie przydatna u kobiet młodych, u których z reguły nie ma trudności z uwidocznieniem granicy międz nabłonkowej.

U kobiet w okresie menopauzalnym dochodzi do cofania się nabłonka gruczołowego w głąb kanału szyjki macicy, a to uniemożliwia uzyskanie satysfakcjonujących warunków badania kolposkopowego. Diagnostyka kolposkopowa wymaga kosztownej aparatury i wieloletniego doświadczenia klinicznego. Ze względu na subiektywne różnice w interpretacji obrazów kolposkopowych ocenianych przez różnych specjalistów Reid i Scalzi opracowali

skale, która stanowi próbę obiektywizacji badania kolposkopowego [17]. Według światowego piśmiennictwa metoda ta charakteryzuje się wyższą niż cytodiagnostyka czułością, jednakże nie jest to badanie przydatne do diagnostyki głębokich zmian śród kanałowych. W wyniku przeprowadzonej metaanalizy opublikowanej w 1992 roku czułość badania kolposkopowego wahała się od 11% do 99%, a swoistość od 14% do 97% [7, 18]. Massad i Collins przeprowadzili badanie kolposkopowe u 2825 kobiet i określili czułość tego badania na 89%, a swoistość 53%. Swoistość dla zmian CIN 2/3 w tym badaniu wynosiła 56% [10]. Czuość i swoistość tego badania użytego dla wykrycia zmian neoplastycznych szyjki macicy przeprowadzonego w ramach niniejszej pracy wyniosła odpowiednio 79% (95% CI; 64%-90%) i 77% (95% CI; 68%-93%). Uzyskane wartości oceny przydatności badania kolposkopowego do wykrywania CIN są znacznie zbliżone do tych, które opublikował Mitchell, czułość 79%, swoistość 76% [19]. Analiza pola pod krzywą ROC dla kolposkopii wykazała, że jest ono wyższe (0,89; 95% CI; 0,82-0,97) od pola powierzchni pod krzywą ROC dla badania cytologicznego ocenianego zarówno wg klasyfikacji Papanicolaou i testu na DNA HPV HR, jak i w systemie Bethesda.

Niezwykle interesujące są uzyskane w ramach realizacji niniejszej pracy wyniki dotyczące przydatności metody PDD do wykrywania CIN, dla której uzyskano 91% czułość i 93% swoistość. Pozytywna wartość predykcyjna tego badania wynosiła 95%, negatywna wartość predykcyjna 88%. Ponadto dla diagnostyki fotodynamicznej wykreślono krzywą ROC. Pole pod krzywą wyniosło 0,94. Wartość ta przewyższa opisaną poprzednio pola powierzchni pod krzywą ROC dla cytodiagnostyki, kolposkopii. Osiągnięte wyniki diagnostyki fotodynamicznej w wykrywaniu śród nabłonkowej neoplazji szyjki macicy potwierdzają wcześniejsze doniesienia innych autorów o przydatności tej metody w diagnostyce zmian przednowotworowych szyjki macicy.

Dane z piśmiennictwa wskazują również na wysoką przydatność diagnostyki fotodynamicznej w wykrywaniu stanów przednowotworowych sromu i pochwy.

Hillemanns i wsp. przeprowadzili diagnostykę fotodynamiczną u 68 kobiet z rozpoznaniem śródnaślukowej neoplazji szyjki macicy w stopniu CIN 1-3. Określili oni czułość badania PDD na 94%, a swoistość na 51%. Celem wykrycia zmian neoplastycznych szyjki macicy przy użyciu metody fotodynamicznej Hillemanns i wsp. stosowali miejscowo 0,5% i 1,0% kwas 5- δ -aminolewulinowy. W trakcie badania autorzy doszli do wniosku, że kwas 5- δ -aminolewulinowy o stężeniu 0,5% jest nieprzydatny w diagnostyce fotodynamicznej zmian przednowotworowych szyjki macicy. Czulość i swoistość fluorescencji uzyskanej po 60-90 minutach od aplikacji ALA była porównywalna do czulości i swoistości kolposkopii [20]. Czulość diagnostyki fotodynamicznej w wykrywaniu zmian przednowotworowych szyjki macicy podana przez Hillemannsa i wsp. była zbliżona do czulości PDD uzyskanej w ramach realizacji niniejszej pracy. Czulość kolposkopii opisanej w pracy Hillemannsa znacznie przewyższała czulość jaką uzyskano przy wykonywaniu własnych badań.

Collinet i wsp. oceniali przydatność diagnostyki fotodynamicznej w wykrywaniu śródnaślukowej neoplazji szyjki macicy przy użyciu miejscowo stosowanego fotouczulacza MAL (*methyl aminolevulinate*), będącego pochodną metylową kwasu 5- δ -aminolewulinowego. Badacze potwierdzili obecność śródnaślukowej neoplazji szyjki macicy metodą diagnostyki fotodynamicznej u 10 na 14 badanych pacjentek. Czulość badania PDD w wykrywaniu śródnaślukowej neoplazji szyjki macicy określili na 69%, a pozytywną wartość predykcijną na 90% [13].

W innej publikacji Nowakowski i wsp. podaje wyniki stosowania 15% kwasu 5- δ -aminolewulinowego u 124 pacjentek diagnozowanych z powodu zmian szyjki macicy. Wszystkim pacjentkom autor pobierał wymaz cytologiczny, materiał na obecność DNA HPV HR (HC2), przeprowadzał badanie kolposkopowe i diagnostykę fotodynamiczną [21]. Badanie cytologiczne charakteryzowało się najwyższą czulością wśród wszystkich przeprowadzonych badań diagnostycznych 100%, a swoistość osiągnęła wartość 77,9%. Czulość cytodiagnostyki określona w badaniu Nowakowskiego i wsp. była zbliżona do czulości wykazanej w niniejszej pracy (97%). Ponadto diagnostyka fotodynamiczna w badaniu Nowakowskiego i wsp., podobnie jak w naszym badaniu (93%) charakteryzowała się najwyższą swoistością w diagnostyce zmian szyjki macicy (93,5% vs 93%). Wyniki te są bardzo zbliżone do wartości uzyskanych w wyniku realizacji niniejszej pracy, w których uzyskano 93% swoistość PDD w wykrywaniu CIN. Czulość i swoistość badania kolposkopowego (czulość 85,1%; swoistość 90,9%) w badaniu Nowakowskiego i wsp. była znacznie niższa niż czulość i swoistość diagnostyki fotodynamicznej. Wartości te znacznie przewyższały czulość i swoistość kolposkopii uzyskaną w niniejszym badaniu (czulość 79%, swoistość 77%) [21].

Wydaje się, że ta nowatorska metoda, jaką jest diagnostyka fotodynamiczna mogłaby stać się standardem diagnostycznym wykrywania CIN, w sytuacji wiarygodnego udowodnienia czulości wykrywania neoplazji na poziomie 90-100%.

Ponadto jej zastosowanie nie ograniczyłoby się tylko do diagnostyki stanów przednowotworowych, lecz umożliwiłoby ich skuteczne leczenie przy wykorzystaniu terapii fotodynamicznej, mającej te same podstawy teoretyczne co PDD.

Różnice w uzyskiwanych dotychczas wynikach, w pracach badawczych nad zastosowaniem ALA w diagnostyce i terapii fotodynamicznej CIN, zależą od różnych dawek, stężeń, dróg podania leków, odmiennych źródeł światła oraz czasu pomiędzy aplikacją leku, a naświetlaniem.

Badania zrealizowane na potrzeby niniejszej pracy potwierdziły wysoką przydatność diagnostyki fotodynamicznej w wykrywaniu śródnaślukowej neoplazji szyjki macicy i wykazały, że metoda ta charakteryzuje się większą wartością diagnostyczną w wykrywaniu tej patologii niż cytodiagnostyka czy kolposkopia.

Wnioski

1. Diagnostyka fotodynamiczna z użyciem 3% 5-ALA umożliwia wykrywanie śródnaślukowej neoplazji szyjki macicy z czulością wyższą niż kolposkopia, ze swoistością wyższą niż cytodiagnostyka wraz z testem na DNA HPV HR.
2. Uzyskana fluorescencja pozwala na precyzyjną lokalizację zmiany neoplastycznej, ze szczególnym uwzględnieniem jej rozległości, linii ograniczenia i wieloogniskowego charakteru.
3. Topografia zmiany określona na podstawie uzyskanej fluorescencji może stanowić podstawę wyboru miejsca celowanej biopsji, jak również decydować o rozległości planowanej terapii.

Piśmiennictwo

1. Davey D, Neal M, Wilbur D, [et al.]. Bethesda 2001 implementation and reporting rates: 2003 practices of participants in the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program in Cervicovaginal Cytology. *Arch Pathol Lab Med.* 2004, 128, 1224-1229.
2. Koss L. The Papanicolaou test for cervical cancer detection. A triumph and a tragedy. *JAMA.* 1989, 261, 737-743.
3. Mitchell M, Schottenfeld D, Tortolero-Luna G, [et al.]. Colposcopy for the diagnosis of squamous intraepithelial lesions: a meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 1998, 91, 626-631.
4. Vlatos A, Richards-Kortum R, Zuluaga A, [i wsp.]. Nowe możliwości badań przesiewowych w kierunku raka szyjki macicy. *Ginek Dypl.* 2003, 5, 49-57.
5. Nanda K, McCrory D, Myers E, [et al.]. Accuracy of Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med.* 2000, 132, 810-819.
6. Cox T, Cuzick J. HPV DNA testing in cervical cancer screening: from evidence to policies. *Gynecol Oncol.* 2006, 103, 8-11.
7. Fahey M, Irwig L, Macaskill P. Meta-analysis of Pap test accuracy. *Am J Epidemiol.* 1995, 141, 680-689.
8. Sankaranarayanan R, Gaffkin L, Jacob M, [et al.]. A critical assessment of screening methods for cervical neoplasia. *Int J Gynaecol Obstet.* 2005, 89, suppl 2, S4-S12.
9. Richart R. Zakażenie wirusem brodawczaka ludzkiego a badania przesiewowe w kierunku raka szyjki macicy. *Ginek Dypl.* 2001, 3, 67-82.
10. Massad L, Collins Y. Strength of correlations between colposcopic impression and biopsy histology. *Gynecol Oncol.* 2003, 89, 424-428.
11. ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) Group. Results of randomized trial on the management of cytology interpretations of atypical squamous cells of undetermined significance. *Am J Obstet Gynecol.* 2003, 188, 1383-1392.
12. Kennedy J, Pottier R. Endogenous protoporphyrin IX, a clinically useful photosensitizer for photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B.* 1992, 14, 275-292.
13. Collinet P, Delemer M, Jouve E, [et al.]. Fluorescence diagnosis of cervical squamous intraepithelial lesions: A clinical feasibility study. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy.* 2007, 4, 112-116.
14. Rock C, Michael C, Reynolds R, [et al.]. Prevention of cervix cancer. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2000, 33, 169-185.
15. Chew G, Cruickshank M. Human papillomavirus as a from of risk assessment. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2001, 15, 759-768.
16. Knapp P, Knapp P, Zboroch T. Zasady wczesnego wykrywania raka szyjki macicy. W: *Postępy w ginekologii i położnictwie*. Red. Spaczyński M. XXIX Kongres Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego, Poznań, [28-30.IX] 2006. Poznań: Polskie Towarzystwo Ginekologiczne. 2006, 287-295.
17. Reid R, Scalti P. Genital warts and cervical cancer. VII: an improved colposcopic index for differentiating benign papillomaviral infections from high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol.* 1985, 153, 611-618.
18. Jenkins D. Human papillomaviruses in cervical screening. *Curr Diag Pathol.* 2001, 7, 96-112.
19. Mitchell M. The accuracy of colposcopy. *Consult Obstet Gynecol.* 1994, 6, 70-73.
20. Hillemanns P, Weingandt H, Baumgartner R, [et al.]. Photodetection of cervical intraepithelial neoplasia using 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence. *Cancer.* 2000, 88, 2275-82.
21. Nowakowski Z, Stelmachów J, Śpiwankiewicz B, [et al.]. Diagnostic value of the photodynamic method in the evaluation of lesions of the uterine cervix. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2005, 26, 315-322.