

# Weryfikacja wątpliwych wyników cytologicznego testu diagnostycznego u kobiet objętych badaniami przesiewowymi w województwie podlaskim

Verification of doubtful PAP smear results of women included in the screening program in the Podlaskie province

Ewa Błońska, Piotr Andrzej Knapp

Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej, Uniwersytecki Szpital Kliniczny w Białymstoku, Polska

## Streszczenie

**Cel pracy:** Weryfikacja tzw. wątpliwych wyników cytologicznych kobiet objętych badaniem przesiewowym w woj. podlaskim.

**Materiały i metody:** Ocenie poddano 101 wymazów z tarczy części pochwowej szyjki macicy pobranych u kobiet objętych badaniami przesiewowymi w województwie podlaskim. Analizowane obrazy stanowiła grupa tzw. preparatów nieprawidłowych spośród 7296 cytologii ocenianych w 2012 r. przez Akademicki Ośrodek Diagnostyki Patomorfologicznej i Genetyczno-Molekularnej. Wśród cytologii stanowiących punkt zainteresowania 19 stanowiły wymazy z cytologicznym rozpoznaniem ASCUS, 59 z cytologicznym rozpoznaniem LSIL, a 23 z cytologicznym rozpoznaniem ASC-H oraz cechami morfologicznymi obecności wirusa brodawczaka ludzkiego (Human Papilloma Virus – HPV).

Barwienia dokonano przy użyciu testu CINtec®PLUS według instrukcji producenta. Wszystkie preparaty ostatecznie były weryfikowane histologicznie w procedurze diagnostyczno-terapeutycznej po ocenie kolposkopowej topografii zmian.

**Wyniki:** W grupie wymazów z cytologicznym rozpoznaniem ASCUS wynik dodatni stwierdzono w 5 przypadkach (26,3%), ujemny w 14 (73,7%), w grupie z cytologicznym rozpoznaniem LSIL wynik dodatni stwierdzono w 32 przypadkach (54,2%), ujemny w 27 (45,8%), natomiast w grupie z cytologicznym rozpoznaniem ASC-H wynik dodatni stwierdzono w 20 przypadkach (87%), ujemny w 3 (13%).

**Wnioski:** Test CINtec®PLUS pozwala uzupełnić diagnozę cytologiczną w grupie pacjentek z cytologicznym rozpoznaniem ASCUS, LSIL oraz ASC-H. Połączenie konwencjonalnej cytologii oraz testu CINtec®PLUS może pomóc w stworzeniu nowego algorytmu postępowania w przypadku nieprawidłowego, niejednoznacznego wyniku przesiewowego badania cytologicznego. Może mieć to znaczenie przede wszystkim u kobiet młodych, u których ze względu na niezakończony proces rozrodczy przyjmujemy pozycję wyczekującą.

Słowa kluczowe: wirus HPV / rak szyjki macicy / białko p16 / Ki-67 /

## Adres do korespondencji:

Ewa Błońska  
Klinika Ginekologii i Ginekologii Onkologicznej, Uniwersytecki Szpital Kliniczny w Białymstoku  
Polska, 15-276 Białystok, ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A  
tel. 85 746 8347, fax 85 746 8682  
e-mail: blonskaewa@poczta.onet.pl

Otrzymano: 16.11.2012  
Zaakceptowano do druku: 10.06.2013

Ewa Błońska, Piotr Andrzej Knapp. Weryfikacja wątpliwych wyników cytologicznego testu diagnostycznego u kobiet objętych badaniami przesiewowymi w województwie podlaskim.

## Abstract

**Objectives:** Verification of uncertain PAP-smear results in a group of women covered by the cervical screening program in the Podlaski province. The main aim of the study was to identify CIN (Cervical Intraepithelial Neoplasia) lesions present, with varying degrees of severity, in women with cytological diagnosis of ASCUS (atypical squamous cells of undetermined significance), LSIL (low grade squamous intraepithelial lesion), and ASC-H (atypical squamous cells – cannot exclude high grade squamous intraepithelial lesion).

**Materials and Methods:** The study evaluated 101 cervical smears taken from the vaginal part of the cervix in a group of screened women in the Podlaski province. Cytological evaluation was performed according the Bethesda System. We analyzed abnormal smears selected from a total of 7296 cytological examinations performed during 2012 at the University Center for Pathomorphological and Genetic – Molecular Diagnosis, Medical University in Białystok. The cytological results which were of interest to us included 19 cases with ASCUS, 59 with LSIL, and 23 with ASC-H, as well as with morphological features of the presence of Human Papilloma Virus (HPV). Staining was performed using CINtec®PLUS test according to the manufacturer's instructions. CINtec®PLUS is a immunocytochemical test based on specially designed monoclonal antibodies (E6H4TM) that let us identify protein p16ink4a within the cervical smear. Additionally, the diagnostic kit was provided with antibodies for diagnosing the presence of Ki-67 protein, a known marker of cell proliferation. The result was considered positive when staining of the nucleus and the cytoplasm appeared in red and brown, respectively. All abnormal results were eventually verified by histological examination of the tissue taken from cervical lesions by diagnostic-therapeutic procedure following colposcopic evaluation of cervical lesion topography.

**Results:** In the group of cytological smears with ASCUS, the diagnosis was positive in 5 cases (26.3%), negative in 14 (73.7%). In the group with the diagnosis of LSIL, the cytology results were positive in 32 cases (54.2%) , negative in 27 (45.8%). In the cytological diagnosis of ASC-H there were 20 positive (87%) and 3 negative (13%) results.

**Conclusions:** Test CINtec®PLUS could be a helpful tool in the final diagnosis of cervical abnormality in patients with the cytological diagnosis of ASCUS, LSIL and ASC-H. The combination of conventional cytological test and CINtec®PLUS can help create a new procedure algorithm for cases with abnormal or ambiguous cytological screening results. It could be especially useful in a group of young women of childbearing age, when it is common to avoid a more radical treatment of cervical lesions.

Key words: **HPV / cervical cancer / protein p16 and Ki-67 /**

## Wstęp

Rak szyjki macicy określany jest nadal mianem jednego z najczęstszych nowotworów narządu płciowego, mimo funkcjonowania w wielu państwach masowych programów profilaktycznych. Polska jest krajem, który ma ciągle jeden z relatywnie wysokich współczynników zachorowalności i umieralności na raka szyjki macicy wśród wszystkich państw w Unii Europejskiej [1, 2]. Taka sytuacja epidemiologiczna nakazuje intensyfikację działań prewencyjnych w tym uprecyzynienie diagnostyki. Faktem wskazującym na taką potrzebę jest odnotowywany w Programie Badań Przesiewowych wysoki odsetek wyników tzw. niejednoznacznych, czy też suboptymalnych (do ok. 30%).

Od czasu odkrycia Harald zur Hausena zakażenie wirusem brodawczaka ludzkiego (Human Papilloma Virus – HPV) uważane jest za istotny czynnik rozwoju raka szyjki macicy [3, 4]. Rola wirusa w karcinogenezie została poparta wieloma badaniami epidemiologicznymi, molekularnymi oraz klinicznymi [5, 6, 7, 8]. W zależności od zastosowanej metody obecność onkogennych typów wirusa HPV stwierdza się w 97-100% przypadków raka szyjki macicy [6, 9]. Mogą one wprowadzać komórki na drogę transformacji nowotworowej, a co za tym idzie, rozwój inwazyjnego raka szyjki macicy [10, 12, 13]. Ogólnie uważa się, że jednak około 80% zakażeń ma charakter przemijający i zostaje wyeliminowana dzięki naturalnym mechanizmom odporności-

wym organizmu w ciągu kilku miesięcy. Część zakażeń jednak przechodzi w fazę przewlekłą i przyczynia się do rozwoju omawianego schorzenia [13, 14, 15]. Spostrzeżenie to ma istotne znaczenie w ustalaniu sposobu postępowania klinicznego i nadzoru szczególnie kobiet młodych chcących zachować niezaburzony proces rozrodczy.

Najkrótszy cykl życiowy wirusa od zakażenia komórek podstawnych aż do wytworzenia pełnowartościowych kapsydów wirusa wynosi około 8 tygodni, a więc tyle, ile czas dojrzewania komórki nabłonka – keratocyta. Aby doszło do transformacji nowotworowej keratocytów niezbędne jest działanie białek E6 i E7 wirusa. Białka te pełnią rolę onkogenów. Gen E6 produkuje białko, które łączy się z komórkowym białkiem p53 i powoduje jego degradację. Białko p53 jest antyonkogenem komórkowym, hamuje cykl podziałowy uszkodzonej komórki oraz powoduje jej apoptozę. Onkoproteina E7 poprzez połączenie z białkiem komórkowym Rb powoduje uwolnienie przez Rb czynnika transkrypcyjnego E2F, który aktywuje geny związane z proliferacją komórki. Białko p16 jest komórkowym białkiem supresorowym, kodowanym przez gen INK4a. Hamuje zależne od cyklina kinazy CDK-4 oraz CDK-6. Kinazy te mają zdolność inaktywacji białka Rb, co powoduje z kolei uwolnienie czynnika transkrypcyjnego E2F, którego nagromadzenie prowadzi do zwiększonej produkcji białka p16, a to pozwala zmniejszyć aktywność kinaz poprzez

Ewa Błońska, Piotr Andrzej Knapp. Weryfikacja wątpliwych wyników cytologicznego testu diagnostycznego u kobiet objętych badaniami przesiewowymi w województwie podlaskim.

pętlę sprzężenia zwrotnego. Działanie białka E7 HPV naśladuje inaktywację białka Rb wywołaną przez kinazy, czego skutkiem jest wzrost stężenia p16 w komórce [16, 17, 18].

Powinowactwo białka E7 niskoonkogennych typów HPV jest 10 razy mniejsze niż powinowactwo białka E7 wysokoonkogennych typów wirusa.

W przypadku dysplazji małego stopnia rzadko dochodzi do ekspresji p16. Jest to związane z niewielką produkcją białka E7 w tego typu zmianach. Zmiany dysplastyczne dużego stopnia, związane z zakażeniem wysokoonkogennymi typami wirusa HPV, wykazują natomiast wyraźną ekspresję p16 [19].

## Cel pracy

Celem pracy było zweryfikowanie zmian cytologicznych z grupy tzw. obrazów suboptimalnych obejmujących komórki o nieokreślonym znaczeniu. Zaliczono tu obrazy klasyfikowane jako ASCUS (nieprawidłowe komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego o nieokreślonym znaczeniu), LSIL (zmiana śródnabłonkowa małego stopnia) oraz ASC-H (nieprawidłowe komórki nabłonka wielowarstwowego płaskiego, w których nie można wykluczyć zmiany śródnabłonkowej dużego stopnia) oraz cechami morfologicznymi obecności wirusa HPV.

## Materiał metoda

Ocenie bezpośredniej poddano 101 wymazów z tarczy części pochwowej szyjki macicy pobranych u kobiet objętych badaniami przesiewowymi w województwie podlaskim w 2012 r. Preparaty te wybrano z grupy rozmazów nieprawidłowych spośród 7296 cytologii ocenianych przez Akademicki Ośrodek Diagnostyki Patomorfologicznej i Genetyczno-Molekularnej w Białymstoku. Ogółem 19 stanowiły wymazy z cytologicznym rozpoznaniem ASCUS, 59 z cytologicznym rozpoznaniem LSIL, a 23 z cytologicznym rozpoznaniem ASC-H oraz z cechami morfologicznymi obecności wirusa HPV.

Materiał do badań pobrano przy użyciu szczoteczki Cervex-Brush® z tarczy części pochwowej szyjki macicy, po uprzednim założeniu wziernika ginekologicznego typu „Cusco”. Natychmiast po pobraniu materiał rozprowadzano na szkiełku podstawowym w taki sposób, aby uzyskać możliwie najcieńszą warstwę komórek przeznaczonych do dalszych badań i utrwalano za pomocą utrwalacza cytologicznego w areozolu „Fixocyt”. Barwienia dokonano przy użyciu testu CINtec®PLUS według instrukcji producenta. Oceny mikroskopowej dokonano przy użyciu mikroskopu OLYMPUS BX 41 oraz OLYMPUS BX 45 wykorzystując powiększenie x100 oraz x200.

CINtec®PLUS jest testem immunocytochemicznym, bazującym na specjalnie zaprojektowanych przeciwciałach monoklonalnych (E6H4™) pozwalających zidentyfikować białko p16INK4a w preparatach cytologicznych. Dodatkowo zestaw jest wzbogacony o odczynniki pozwalające na jednoczesne wykrycie obecności białka Ki-67, które jest markerem proliferacji komórkowej.

W zestawie CINtec®PLUS do wykrywania zmian nowotworowych w próbkach z szyjki macicy zastosowano połączenie dwóch biomarkerów w jednym teście. Za wynik dodatni uznawano jednoczesne wybarwienie jądra komórkowego na kolor czerwony (ekspresja białka Ki-67), a cytoplazmy na kolor brązowy (nadekspresja białka p16), co jest wyrazem obecności w pobranym materiale komórek z zaburzonym cyklem komórkowym.

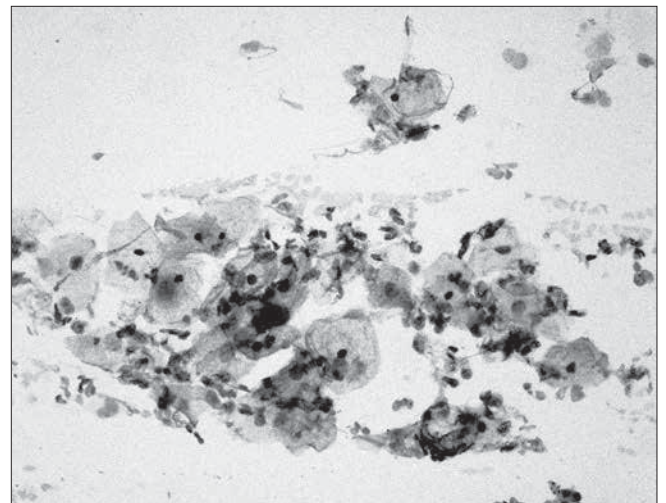
Wszystkie preparaty ostatecznie były weryfikowane histologicznie w procedurze diagnostyczno-terapeutycznej po ocenie kolposkopowej topografii zmian.

## Wyniki

Po barwieniu z zastosowaniem testu CINtec®PLUS w grupie wymazów pobranych u kobiet z cytologicznym rozpoznaniem ASCUS wynik dodatni stwierdzono w 5 przypadkach (26,3%), ujemny w 14 (73,7%), w grupie z cytologicznym rozpoznaniem LSIL wynik dodatni stwierdzono w 32 przypadkach (54,2%), ujemny w 27 (45,8%), natomiast w grupie z cytologicznym rozpoznaniem ASC-H wynik dodatni stwierdzono w 20 przypadkach (87%), ujemny w 3 (13%), co szczegółowo przedstawia tabela I.

Tabela I.

Rozpoznanie cytologiczne	Ilość rozmazów	Wynik dodatni testu CINtec®PLUS	Wynik ujemny testu CINtec®PLUS
ASCUS	19	5 (26,3%)	14 (73,7%)
LSIL	59	32 (54,2%)	27 (45,8%)
ASC-H	23	20 (87,0%)	3 (13,0%)

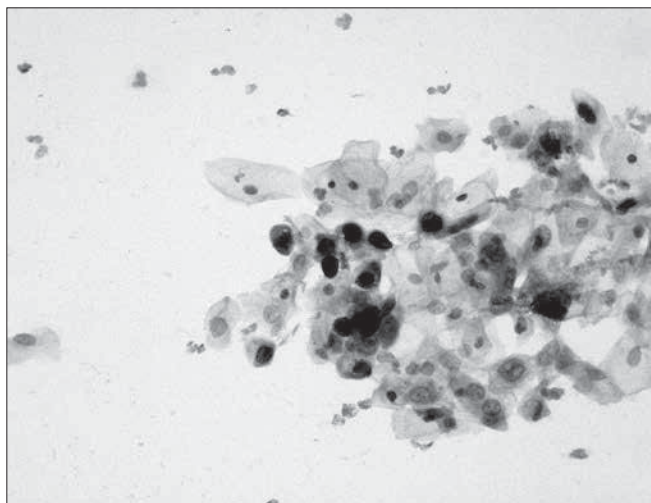


Zdjęcie 1. Obraz przedstawia zabarwione testem CINtec®PLUS nieprawidłowe komórki nabłonka płaskiego o nieokreślonym znaczeniu (ASCUS), białko p16 i Ki-67 wynik dodatni. Powiększenie x200.

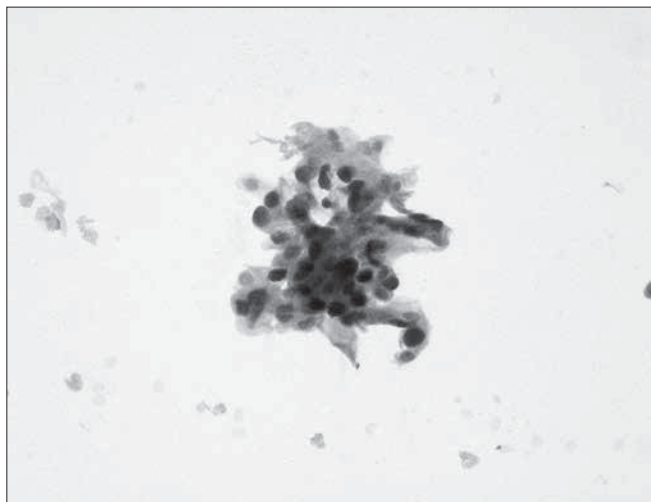
Wszystkie rozpoznania cytologiczne zostały zweryfikowane histopatologicznie w procesie diagnostyczno-terapeutycznym po ocenie kolposkopowej topografii zmian.

W grupie 19 kobiet z cytologicznym rozpoznaniem ASCUS badanie histopatologiczne u 5 wykazało zmianę CIN 1. W grupie 59 kobiet z cytologicznym rozpoznaniem LSIL badanie histopatologiczne u 30 wykazało zmianę CIN 1, u 2 zmianę CIN 2. W grupie 23 kobiet z cytologicznym rozpoznaniem ASC-H badanie histopatologiczne u 1 wykazało zmianę CIN 1, u 15 zmianę CIN 2, u 4 zmianę CIN 3.

Ewa Błońska, Piotr Andrzej Knapp. Weryfikacja wątpliwych wyników cytologicznego testu diagnostycznego u kobiet objętych badaniami przesiewowymi w województwie podlaskim.



**Zdjęcie 2.** Obraz przedstawia zabarwione testem CINtec@PLUS komórki nabłonka płaskiego z cechami śródnowonabłonkowej neoplazji małego stopnia (LSIL), białko p16 i Ki-67 wynik dodatni. Powiększenie x200.



**Zdjęcie 3.** Obraz przedstawia zabarwione testem CINtec@PLUS nieprawidłowe komórki nabłonka płaskiego, nie można wykluczyć zmiany śródnowonabłonkowej dużego stopnia (ASC-H), białko p16 i Ki-67 wynik dodatni. Powiększenie x200.

## Dyskusja

Postępem w diagnostyce nowotworów, w tym raka szyjki macicy, mogłoby być ulepszenie lub też wzbogacenie dotychczasowych testów, w tym cytologii ginekologicznej, tak aby wykrywała zmiany możliwie najdokładniej, zgodnie ze złotym standardem jaki stanowi badanie histologiczne. Ułatwiłoby to znacznie monitorowanie zagrożonej populacji, jak również zmniejszyło koszt badań diagnostycznych oraz leczenia [20].

Po barwieniu z zastosowaniem testu CINtec@PLUS w grupie kobiet z cytologicznym rozpoznaniem ASCUS uzyskaliśmy 26,3% wyników dodatnich. Autorzy podobnych badań w tej grupie preparatów uzyskiwali wyższe odsetki (34,9%) wyników pozytywnych [21]. Natomiast w grupie kobiet z cytologicznym rozpoznaniem LSIL uzyskaliśmy wyniki zbliżone (54,2% wyników dodatnich), podczas gdy cytowani autorzy w przypadku LSIL uzyskali wynik 52,5% [21]. W materiale własnym w gru-

pie wyników ASC-H otrzymaliśmy aż 87% wyników dodatnich wskazujących na rozpoczęty proces zmian śródnowonabłonkowych. Można uznać, iż pomimo stosunkowo niewielkiej liczby przebadanych wymazów wyniki uzyskane w naszej pracy są porównywalne, a metoda barwienia z zastosowaniem testu CINtec@PLUS jest powtarzalna.

Autorzy kolejnych badań w przypadku ASCUS uzyskali 35% wyników pozytywnych, co potwierdza nasze spostrzeżenia [22]. Jednak w kolejnych grupach ich wyniki różnią się. W grupie kobiet z cytologicznym rozpoznaniem LSIL, po barwieniu z zastosowaniem testu CINtec@PLUS, wyżej wymienieni autorzy uzyskali jedynie 36,4% wyników dodatnich, w przypadku ASC-H 47,1%, a w przypadku HSIL 86,4% wyników pozytywnych. Wyniki w grupie ASC-H wykazały podobieństwo do powyższych dotyczących zmian HSIL. Metoda cytologiczna jest metodą bardzo wartościową do wykrywania raka i zmian przedrakowych szyjki macicy, jednakże w przypadkach ASCUS i ASC-H wymaga diagnostyki uzupełniającej, o czym świadczą wyniki zacytowanych autorów [22]. Z naszych obserwacji wynika, iż w przypadku braku pewności rozpoznania, a więc szczególnie ASCUS i ASC-H, metoda z zastosowaniem połączenia dwóch biomarkerów w jednym teście jest bardzo przydatna. Natomiast w przypadku HSIL diagnostyka pogłębiona barwieniem z zastosowaniem testu CINtec@PLUS nie jest konieczna ze względu na dużą wykrywalność w badaniach cytologicznych tego stanu zaawansowania procesu i wysoką zgodność z badaniem histologicznym.

Autorzy wcześniej zacytowanych badań w grupie 44 pacjentek z cytologicznym rozpoznaniem ASCUS uzyskali 22,7% wyników dodatnich przy zastosowaniu metody podwójnego barwienia i u tych samych pacjentek histopatologicznie potwierdzono wystąpienie zmiany CIN 1 [21]. W grupie pacjentek z LSIL podobne badania dotyczyły 77 kobiet. Uzyskano 42,9% wyników pozytywnych. Może to świadczyć, iż metoda potwierdza rozpoczęty proces neoplazji, co niewątpliwie jest jej wartością. Niewiele jest jednak prac oceniających wartość metody z zastosowaniem połączenia dwóch biomarkerów – białka p16 i Ki-67, dlatego też wymaga to przeprowadzenia badań na większej populacji.

Stale poszerzana wiedza na temat molekularnych mechanizmów regulujących proliferację komórkową może być przydatna do wykrywania złośliwych zmian w różnych narządach. Białka regulujące proliferację komórkową mogą być użyteczne jako markery nowotworowe. Zastosowanie testów połączonych w diagnostyce zmian przedrakowych szyjki macicy w znaczny sposób wpływa na wzrost czułości metod wykrywających.

## Wnioski

1. Test CINtec@PLUS pozwala precyzyjnie wskazać w grupie kobiet z cytologicznie nieprawidłowym rozpoznaniem (ASCUS, LSIL oraz ASC-H) te, u których rozpoczął się proces karcinogenezy.
2. Wprowadzenie do konwencjonalnej diagnostyki cytologicznej oceny testem CINtec@PLUS tzw. nieprawidłowych wyników niepewnych może zwiększyć swoistość ocen cytologicznych.
3. Może mieć to znaczenie w ustaleniu algorytmu postępowania w opisanej grupie rozpoznań cytologicznych u kobiet młodych, u których ze względu na niezakończony proces rozrodczy przyjmujemy pozycję wyczekującą.

Ewa Błońska, Piotr Andrzej Knapp. Weryfikacja wątpliwych wyników cytologicznego testu diagnostycznego u kobiet objętych badaniami przesiewowymi w województwie podlaskim.

KOMUNIKAT

## Piśmiennictwo

1. Dzikowska J, Wojciechowska U, Tarkowski W, [et al.]. Nowotwory złośliwe w Polsce w 1999: Krajowy rejestr nowotworów. Warszawa Centrum: Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie. 2002, 1-122.
2. Spaczyński M, Nowak-Markwitz E, Januszek-Michalecka L, [et al.]. Women's social conditions and their participation in Cervical Cancer Population Screening Program in Poland. *Ginekol Pol.* 2009, 80, 833-838.
3. zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host cell control in Elary events in carcinogenesis. *Natl Cancer Inst.* 2000, 92, 690-698.
4. Vogt P, Baver H, Deusch P. Viral etiology of human tumor. *Verh Dtsch Ges Inn Med.* 1973, 79, 572-574.
5. Kjellberg L, Hallmans G, Ahren A, [et al.]. Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intraepithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *Br J Cancer.* 2000, 82, 1332-1338.
6. Hildesheim A, Herrero R, Castle P, [et al.]. HPV - co-factors related to the development of cervical cancer: results from a population-based study in Costa Rica. *Br J Cancer.* 2001, 84, 1219-1226.
7. Lethinen M, Luukkaala T, Wallin K, [et al.]. Human papillomavirus infection, risk for subsequent development of cervical neoplasia and associated population attributable fraction. *J Clin Virol.* 2001, 22, 117-124.
8. Lehmann M, Groch A, Rodel J, [et al.]. Detection of Chlamydia trachomatis DNA in cervical samples with regard to infection by human papillomavirus. *J Infect.* 1999, 38, 12-17.
9. Ling M, Kanayama M, Roden R, [et al.]. Preventive and therapeutic vaccines for human papillomavirus-associated cervical cancers. *J Biomed Sci.* 2000, 7, 341-356.
10. Villa L, Sichero L, Rahal P, [et al.]. Molecular variants of human papillomavirus type 16 and 18 preferentially associated with cervical neoplasia. *J Gen Virol.* 2000, 81, 2959-2968.
11. Mościcki A, Hills N, Shiboski S, [et al.]. Risk for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. *JAMA.* 2001, 285, 2995-3002.
12. Richart R, Cox J, Twigg L, [et al.]. A sea change in diagnosing and managing HPV and cervical disease – part I and II. *Contemporary Ob/Gyn.* 2002, 47.
13. Nagai Y, Maehama T, Asoto T, [et al.]. Persistence of human papillomavirus infection after therapeutic conization for CIN 3: Is it an alarm for disease recurrence? *Gynecol Oncol.* 2000, 79, 294-299.
14. Konya J, Dillner J. Immunity to oncogenic human papillomaviruses. *Adv Cancer Res.* 2001, 82, 205-238.
15. Munoz N, Bosch H, Sanjose S, [et al.]. The International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer. *N Eng J Med.* 2003, 348, 518-527.
16. Desaitnes C, Dermeret C, Goyet S, [et al.]. Expression of the papillomavirus E2 protein in HeLa cells leads to apoptosis. *EMBO J.* 1997, 16, 501-514.
17. Wolf J, Ramirez P. The molecular biology of cervical cancer. *Cancer Invest.* 2001, 19, 621-629.
18. Scheffner M, Huibregtse J, Vierstra R, Howley P. The HPV 16 E6 AP complex functions as a ubiquitin protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell.* 1993, 75, 495-505.
19. Nieh S, Chen S, Chu T, [et al.]. Expression of p16INK4a in Papanicolaou smears containing atypical squamous cells of undetermined significance from the uterine cervix. *Gynecol Oncol.* 2003, 91, 201-208.
20. Scarpini C, White V, Muralidhar B, [et al.]. Improved screening for anal neoplasia by immunocytochemical detection of minichromosome maintenance proteins. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008, 17, 2855-2864.
21. Schmidt D, Bergeron K, Denton K, [et al.]. 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 Cytopathol.* 2011, 119, 158-166.
22. Singh M, Mockler D, Akalin A, [et al.]. Immunocytochemical Colocalization of p16INK4a and Ki-67 Predicts CIN2/3 and AIS/Adenocarcinoma. *Cancer Cytopathol.* 2012, 120, 26-34.

Sekcja Genetyki Klinicznej  
Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego

z a p r a s z a n a

Konferencję Naukowo-Szkoleniową pt.

**Nowe kierunki w genetyce  
w ginekologii i położnictwie**

która odbędzie się w dniach:

**20-22 września 2013 roku**

Miejscem obrad będzie:

**Pensjonat Villa Polanica** w Polanicy, ul. Matuszewskiego 8.

Tematem wykładów będą metody diagnostyki prenatalnej oraz nowe techniki badań genetycznych.

Podczas konferencji odbędą się wybory do Sekcji Genetyki Klinicznej.

Będzie możliwość aktywnego wypoczynku na łonie górskiej przyrody.

Zgłoszenia prosimy kierować do dnia 30 sierpnia 2013 r. na adres:

Klinika Rozrodczości Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu  
60-535 Poznań, ul. Polna 33  
Tel. +61 84-19-302

lub poprzez stronę internetową:

**www.polanica2013.pl**

Uczestnicy ponoszą koszty związane tylko z zakwaterowaniem i wyżywieniem.

Rezerwacji pokoi hotelowych można dokonać telefonicznie pod numerem:  
+48 748136920

Zapraszamy do aktywnego udziału wszystkich obecnych i przyszłych członków Sekcji.

Przewodnicząca Sekcji Genetyki  
Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego**Prof. dr hab. n.med. Jana Skrzyżczak**  
e-mail: jskrzyżczak@am.poznan.pl