

Wpływ hormonalnej terapii zastępczej na ryzyko wystąpienia infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego

Influence of hormonal replacement therapy on risk of human papilloma virus infection

Kazimierz Kamiński, Bogdan Waksmański, Małgorzata Cieślak-Steć

Celem pracy było określenie wpływu hormonalnej terapii zastępczej na ryzyko wystąpienia infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego. Dokonano oceny częstości występowania wirusów o wysokim potencjale onkogennym w okresie menopauzy i porównano z wynikami badania cytologicznego. Stwierdzono obecność genomu wirusa HPV w 30% przypadków u kobiet nie stosujących hormonalnej terapii zastępczej oraz 36% u kobiet zażywających HTZ. Względne ryzyko infekcji HPV typami łagodnymi nie zmienia się podczas HTZ, natomiast w przypadkach obecności wirusa o dużej złośliwości ryzyko względne zwiększa się istotnie statystycznie. W grupie pacjentek otrzymujących hormonalną terapię zastępczą zaobserwowano także duży odsetek zaawansowanych zmian cytologicznych. Potwierdzono istnienie proporcjonalnej zależności pomiędzy stopniami dysplazji szyjki macicy i rakiem a obecnością onkogennych typów wirusa HPV o wysokiej złośliwości w okresie menopauzy. Preparaty estrogenowo-gestagenowe stosowane w hormonalnej terapii zastępczej zwiększają ryzyko infekcji wirusami o wysokiej onkogenności HPV.

Słowa kluczowe: wirus brodawczaka ludzkiego, hormonalna terapia zastępcza, łańcuchowa reakcja polimerazy.

(Przegląd Menopauzalny 2002, 2: 42–48)

Wirus brodawczaka ludzkiego jest głównym czynnikiem etiologicznym raka szyjki macicy. Dotychczasowe prace sugerują, że wirus HPV inicjuje i powoduje genetyczne zmiany w komórkach nabłonka płaskiego szyjki macicy w miarę rozwoju choroby [1]. Dotychczas wyizolowano i zidentyfikowano ponad 100 typów wirusa z rodzaju *Papillomavirus*, należącego do rodziny *Papillomaviridae*. Typy urogenitalne występujące u człowieka stanowią przeszło 1/5 tej grupy. W oparciu o dane epidemiologiczne dotyczące częstości występowania wirusów brodawczaka człowieka w łagodnych bądź

złośliwych zmianach rozrostowych szyjki macicy pogrupowano poszczególne typy HPV na wysokoonkogenne, m.in.: typ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 51, 52, 56 i 58 oraz niskoonkogenne, wśród których najczęściej spotyka się typ 6, 11, 42, 43 i 44 [2, 9, 11, 13].

W genomie HPV wyróżnia się 3 regiony. Region wczesny (E) – zawierający geny kodujące białka istotne we wczesnych fazach cyklu życiowego wirusa. W obrębie fragmentów wczesnych istnieją otwarte ramki odczytu (ORFs), kierujące replikacją wirusowego DNA. Białka E1, E2, E4, E5 spełniają funkcje

Katedra i Klinika Perinatologii i Ginekologii Zabrze, Śląska Akademia Medyczna Katowice,
kierownik: prof. zw. dr hab. n. med. Kazimierz Kamiński



regulacyjne, a fragmenty E6 i E7 biorą udział w transformacji komórkowej. Region późny (L) – zawiera geny kodujące białka strukturalne kapsomerów wirusa (L1, L2), ulegające ekspresji w dojrzałych komórkach i odpowiedzialne za swoistość wirusa. Region kontrolny (LCR) – zawiera sekwencje sygnałowe, uczestniczące w replikacji wirusowego DNA i w kontroli ekspresji wirusowego genomu. W regionie tym występują sekwencje zdolne do wiązania licznych komórkowych czynników transkrypcyjnych, m.in. element GRE (*glucocorticoid responsive element*), czyli sekwencja zdolna do wiązania się z receptorem glukokortykoidowym. Struktura GRE w genomie HPV umożliwia aktywację transkrypcji wczesnych genów wirusowych przez hormony steroidowe. Wzrost stężenia tych hormonów doprowadza prawdopodobnie do pobudzenia transkrypcji i syntezy onkogennych białek wirusowych E6 i E7. Występowanie tej zależności wyjaśnia, dlaczego bardziej podatne na infekcję wirusami HPV są kobiety oraz dlaczego częstsze infekcje obserwuje się w ciąży oraz u kobiet stosujących leki hormonalne [5, 11, 12].

W ostatnich latach zwraca się coraz baczniejszą uwagę na problem długotrwałego stosowania leków hormonalnych. Doustne środki antykoncepcyjne wydają się zwiększać nieznacznie ryzyko rozwoju raka sutka, jednakże po upływie 10 lat ryzyko to maleje do wartości spotykanej wśród kobiet nie zażywających leków hormonalnych. Z kolei hormonalna terapia zastępcza zwiększa istotnie ryzyko wystąpienia raka endometrium i wykazuje dodatnią korelację z rakiem piersi [1]. Nie do końca wyjaśniony jest związek infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego z lekami hormonalnymi: antykoncepcyjnymi i stosowanymi w terapii zastępczej [4, 7]. Częstość występowania HPV wśród kobiet w okresie menopauzy Kutza i wsp. [6] określili na poziomie 10% badanych w tym wieku, a 2,8% wirusów wykrytych w tym badaniu było o wysokim potencjale onkogennym.

Dlatego interesująca jest ocena częstości występowania wirusów o wysokim potencjale onkogennym w okresie menopauzy i porównanie z wynikami badania cytologicznego.

Cel pracy

Ocena wpływu hormonalnej terapii zastępczej na ryzyko wystąpienia infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego.

Materiał i metoda

Badania wykonano u 470 pacjentek, które w latach 1998–2001 były hospitalizowane w Katedrze i Klinice

Perinatologii i Ginekologii lub zgłosiły się do poradni przyklinicznej w celu okresowej kontroli cytologicznej, bądź też do badań cytologicznych w ramach akcji profilaktyki raka narządu rodowego. Wszystkie pacjentki zamieszkiwały w województwie śląskim. Materiał z szyjki macicy pobrano jednocześnie do oceny cytologicznej oraz do identyfikacji wirusów metodą PCR. Wiek kobiet mieścił się pomiędzy 47–66 lat.

Wydzielono 2 grupy pacjentek w wieku okołomenopauzalnym:

- grupa I – kobiety, które nie otrzymały hormonalnej terapii zastępczej w ciągu ostatniego roku przed pobraniem materiału do badania wirusologicznego
- grupa II – kobiety, które otrzymywały preparaty estrogenowo-gestagenne co najmniej przez 6 mies.

Do oceny objawów zespołu klimakterycznego zastosowano skalę Greena.

Ocena cytoonkologiczna wg systemu Bethesda

We wszystkich przypadkach materiał uzyskiwano z tarczy i kanału szyjki macicy, przy pomocy szczoteczki Cervex Brush (Rovers B.V., Netherlands). Pobrany w standardowy sposób materiał nanoszono na 2 szkiełka. Rozmazy przeznaczone do oceny mikroskopowej utrwalano preparatem Cytofix i barwiono wg schematu Papanicolaou. Następnie wykonano mikroskopową analizę cytoonkologiczną rozmazów szyjkowych. Wyniki klasyfikowano wg systemu Bethesda.

Badanie obecności DNA HPV oraz ich typów techniką PCR

Materiał pobrany z szyjki macicy na drugie szkiełko, bez utrwalenia przeznaczone do oceny obecności wirusa.

Izolacja genomowego DNA (zestaw Genomic DNA Prep Plus firmy A&A Biotechnology kat. nr 116). Komórki nabłonka pochodzące z rozmazu pobranego z części pochwowej szyjki macicy poddawano liście za pomocą buforu zawierającego sole chaotropowe, detergent niejonowy oraz Proteinazę K. Po wypłukaniu z kolumny resztek zanieczyszczeń eluowano oczyszczone DNA za pomocą buforu elucyjnego zawierającego 10 mM TRIS/HCl o pH 8,5.

Reakcje PCR

Do polimerazowej reakcji łańcuchowej użyto odczynników firmy TaKaRa Shuzo Co Ltd.



- odczynnik Premix Taq™ (kat. nr RR003A) zawierający: mieszaninę nukleotydów, bufor PCR oraz polimerazę TaKaRa Ex Taq;
- primery dla HPV (primery dla typów łagodnych i złośliwych wirusów HPV oraz dla poszczególnych typów HPV [6, 11, 16, 18, 33] firmy TaKaRa);
- wzorce dla typów złośliwych Control Template (malignant HPV 16, 18, 31, 33, 35, 51, 52b, 58, 59);
- wzorce dla typów łagodnych Control Template (benign HPV 6, 11).

Reakcje PCR przeprowadzano w probówkach PCR-tubes 0,2 ml firmy Eppendorf używając termocyklera THERMOREACTOR DTC15 firmy Koncept s.c.

Wykonywano od 30 do 34 cykli PCR w temp. 94°C – 1 min, 55°C – 2 min, 72°C – 2 min.

Identyfikacja namnożonego produktu PCR

Produkt pierwszej reakcji PCR poddano elektroforezie żelowej używając 3% żelu agarozowego (Agarose – *elektroforesis grade* Gibco BRL 15510-019), na buforze do elektroforezy Gel-Mix Running Mate TBE bufer (kat. nr 15546-013 skład: 100 mM Tris, 90 mM kwas borny, 1,0 mM EDTA). Elektroforezę wykonano z użyciem zestawu SUBDNA i zasilacza mikroprocesorowego STABNAP 300 firmy Kucharczyk-Techniki Elektroforetyczne.

Żel po elektroforezie obserwowano w transiluminatorze UV 302 nm firmy Koncept s.c. Do dokumentacji użyto kamery Bischke CCD – Camera i programu Graffito 24 ver. 1,0.

Po wyizolowaniu DNA z próbki nastawiano po 2 reakcje PCR: jedną z primerami dla typów złośliwych, jedną z primerami dla typów łagodnych. Po

elektroforezie oceniano obecność wirusa – złośliwy czy łagodny. Po tej identyfikacji przeprowadzono kolejne reakcje PCR z primerami dla poszczególnych typów wirusów.

W analizie statystycznej zastosowano w celu oceny zależności pomiędzy badanymi cechami ryzyko względne. Obliczono wartość względnego ryzyka wraz z 95-procentowym przedziałem ufności. Jeżeli przedział ufności nie zawierał cyfry 1, to względne ryzyko różniło się statystycznie. Dla testowania znamienności użyto testu Mantela-Haenszela.

Wyniki

Uzyskane wyniki badań przedstawiono w postaci tab. I–VI. Opracowany materiał dotyczy 470 pacjentek.

W analizowanym materiale kobiet będących w wieku okołomenopauzalnym stwierdzono obecność genu wirusa HPV w 30% przypadków kobiet nie stosujących hormonalnej terapii zastępczej oraz 36% kobiet zażywających HTZ (hormonalna terapia zastępcza) (tab. I). Oceniając związek infekcji HPV z wiekiem, jedynie dla typu 18 stwierdzono istotną zależność (OR dla wieku powyżej 55 lat wynosi 3 dla 95-procentowego przedziału ufności 1,5–8,1) (tab. II). Dla innych badanych typów wirusa nie udało się wykryć podobnej zależności.

Względne ryzyko infekcji HPV typami łagodnymi w zależności od wyniku cytologicznego wzrasta podobnie w obu badanych grupach pacjentek. Dla prawidłowego wyniku rozmazu cytologicznego i infekcji wirusem brodawczaka wyniosło 1, dla LGSIL (*low grade squamous intraepithelial lesion*) wyniosło 2 (przy 95-procentowym przedziale ufności 0,8–3,6) oraz dla HGSIL (*high grade squamous intraepithelial lesion*) równało się 4 (przy 95-procentowym przedziale ufności 1,8–9,0) (tab. III i IV). Natomiast w przypadkach obecności wirusa o dużej zło-

Tab. I. Względne ryzyko infekcji HPV związane ze stosowaniem hormonalnej terapii zastępczej w grupie niestosującej i przyjmującej leki hormonalnej terapii zastępczej

	HPV obecne		HPV nieobecne		Razem	OR	PU
	liczba	%	liczba	%			
grupa I	84	30%	193	70%	277	1	
grupa II	70	36%	123	64%	193	3	2,2–4,8
ogół grupy	154	33%	316	67%	470		

Grupa I – nie stosowano hormonalnej terapii zastępczej

Grupa II – stosowano hormonalną terapię zastępczą

OR – względne ryzyko

PU – 95% przedział ufności



Tab. II. Względne ryzyko infekcji HPV typem 18 związane z wiekiem (tylko pacjentki z grupy I i II, u których wykryto HPV typ 18)

Wiek	HPV typ 18 obecny		HPV typ 18 nieobecny		Razem	OR	PU
	liczba	%	liczba	%			
47–49	7	5%	124	95%	131	1	0,5–3,1
50–54	9	6%	137	94%	146	1	0,6–3,4
55+	14	7%	179	93%	193	3	1,5–8,1
Razem	30	6%	440	94%	470		

OR - względne ryzyko
PU - 95% przedział ufności

Tab. III. Względne ryzyko infekcji HPV typem łagodnym, związane z wynikiem cytologicznym w grupie pacjentek nie otrzymujących hormonalnej terapii zastępczej (grupa I)

Wynik cytologiczny	HPV typ łagodny obecny		HPV typ łagodny nieobecny		Razem	OR	PU
	liczba	%	liczba	%			
prawidłowy	11	10%	98	90%	109	1	
LGSIL	20	16%	103	84%	123	2	0,8–3,8
HGSIL	14	31%	31	69%	45	4	1,9–9,8
ogół grupy	45	16%	232	84%	277		

LGSIL – śródnabłonkowe uszkodzenie nabłonka płaskiego niskiego stopnia
HGSIL – śródnabłonkowe uszkodzenie nabłonka płaskiego wysokiego stopnia
OR – względne ryzyko
PU – 95% przedział ufności

Tab. IV. Względne ryzyko infekcji HPV typem łagodnym, związane z wynikiem cytologicznym w grupie pacjentek otrzymujących hormonalną terapię zastępczą (grupa II)

Wynik cytologiczny	HPV typ łagodny obecny		HPV typ łagodny nieobecny		Razem	OR	PU
	liczba	%	liczba	%			
Prawidłowy	8	10%	70	90%	78	1	
LGSIL	11	17%	54	83%	65	2	0,8–3,6
HGSIL	12	31%	27	69%	39	4	1,8–9,0
Ogół grupy	31	17%	162	83%	193		

LGSIL - śródnabłonkowe uszkodzenie nabłonka płaskiego niskiego stopnia

HGSIL – śródnabłonkowe uszkodzenie nabłonka płaskiego wysokiego stopnia
Ca – rak płaskonabłonkowy
OR – względne ryzyko
PU – 95% przedział ufności

śliwości ryzyko względne zwiększa się znacząco. Szczególnie w grupie kobiet stosujących hormonalną terapię zastępczą przy wyniku rozmazu cytologicznego LGSIL ryzyko względne wynosi 15 (2,1–16,1 przy 95-procentowym przedziale ufności), z kolei

w przypadku HGSIL sięga 29 (przy 95% przedziale ufności 21,1–42,6) (tab. V i VI). W grupie pacjentek otrzymujących hormonalną terapię zastępczą zwraca także uwagę duży odsetek zaawansowanych zmian cytologicznych raka szyjki macicy (tab. VI).



Tab. V. Względne ryzyko infekcji HPV typem złośliwym związane z wynikiem cytologicznym u pacjentek nie otrzymujących hormonalnej terapii zastępczej (grupa I)

Wynik cytologiczny	HPV typ złośliwy obecny		HPV typ złośliwy nieobecny		Razem	OR	PU
	liczba	%	liczba	%			
prawidłowy	2	2%	82	98%	84	1	
LGSIL	11	8%	128	92%	139	3	0,8–15,8
HGSIL	16	40%	24	60%	40	12	6,1–12,1
Ca	10	71%	4	29%	14	23	16,6–32,6
ogół grupy	39	14%	238	86%	277		

LGSIL - śródnabłonkowe uszkodzenie nabłonka płaskiego niskiego stopnia

HGSIL - śródnabłonkowe uszkodzenie nabłonka płaskiego wysokiego stopnia

Ca - rak płaskonabłonkowy

OR - względne ryzyko

PU - 95% przedział ufności

Tab. VI. Względne ryzyko infekcji HPV typem złośliwym związane z wynikiem badania cytologicznego u pacjentek otrzymujących hormonalną terapię zastępczą (grupa II)

Wynik cytologiczny	HPV typ złośliwy obecny		HPV typ złośliwy nieobecny		Razem	OR	PU
	liczba	%	liczba	%			
prawidłowy	1	1%	78	99%	79	1	
LGSIL	10	16%	53	84%	63	15	2,1-16,1
HGSIL	20	51%	19	49%	39	29	21,1-42,6
Ca	8	67%	4	33%	12	36	26,3-59,7
ogół grupy	39	20%	154	80%	193		

LGSIL - śródnabłonkowe uszkodzenie nabłonka płaskiego niskiego stopnia

HGSIL - śródnabłonkowe uszkodzenie nabłonka płaskiego wysokiego stopnia

Ca - rak płaskonabłonkowy

OR - względne ryzyko

PU - 95% przedział ufności

Dyskusja

Na całym świecie rak szyjki macicy jest najczęstszym rakiem narządu rodniczego. W większości przypadków związane jest to z niedostateczną profilaktyką. Większość metod przesiewowych stosowanych pojedynczo posiada większy lub mniejszy margines wyników fałszywie pozytywnych i negatywnych. W ostatnich latach postuluje się 2-stopniowe badanie skryningowe w kierunku raka szyjki macicy, obejmujące kolejno kolposkopię, cytologię, badanie na obecność wirusa HPV oraz cerwikografię [3]. Standardowy rozmaz cytologiczny, w ok. 20% przypadków daje wynik fałszywie ujemny [10]. Z kolei zastosowanie badania cytologicznego i oznaczenia HPV o wysokiej złośliwości w odniesieniu do dysplazji znacznego stopnia i raka szyjki macicy, daje

95-procentową pewność rozpoznania [2]. Jednakże wykonując badanie wirusów HPV o dużej złośliwości w połączeniu z cytologią stwierdza się w objętej badaniem przesiewowym populacji ok. 4% kobiet z dodatnim wynikiem oznaczenia genomu wirusa i prawidłowym wynikiem badania cytologicznego [11]. Na podstawie analizy naszego materiału wykryto HPV u 154 kobiet, a u 3 kobiet z prawidłowym rozmazem cytologicznym stwierdzono obecność HPV typu złośliwego.

Wyniki wielu prac wskazują, że czynnikami ryzyka rozwoju dysplazji dużego stopnia (CIN III) wśród kobiet z zakażeniem ludzkim wirusem brodawczaka są, oprócz zachowań seksualnych również: liczba przeżytych ciąż, stosowanie doustnej antykoncepcji hormonalnej, wiek i palenie papiero-



sów [2, 8, 11, 13]. Najczęściej badania wymienionych czynników ryzyka dotyczy kobiet młodych i często trudno je ze sobą porównać, ze względu na przejściowy charakter infekcji HPV. Częstość występowania genomu wirusa maleje wraz z wiekiem i u kobiet po 30. roku życia jest dość mała. Z drugiej strony wiadomo, że wraz z wiekiem wzrasta odsetek zakażeń przewlekłych. Niektóre badania sugerują, że istnieje prawdopodobnie drugi szczyt częstości zakażeń po 60. roku życia lub w okresie menopauzalnym [8, 13]. Zakażenie wirusem brodawczaka zaliczane jest do schorzeń przenoszonych drogą płciową, niemniej jednak pośrednia transmisja ma również istotne znaczenie. Niestety, niewiele wiadomo obecnie o naturalnym przebiegu zakażenia wirusem *Papilloma*. Niektórzy autorzy wiążący proces nowotworzenia z infekcją wirusową zakładają, że rozwój dysplazji jest na tyle długi, iż konieczne jest przejście przez fazę zakażenia utajonego [7]. Niewykluczone jest również, że objawowa infekcja nie musi mieć miejsca, by promować karcinogenezę, a istotną patogenezę obecność wirusa można jedynie wykryć przy użyciu metod uwidaczniających wirion w komórce, bądź izolując wirusowe DNA z genomu.

Na podstawie analizy czynników ryzyka infekcji przewlekłego zakażenia HPV niektórzy autorzy potwierdzili koncepcję bezpośredniego udziału wirusów o wysokim typie onkogenym w przewlekłym zakażeniu [13]. Innym często cytowanym czynnikiem ryzyka przewlekłej infekcji jest wiek [9]. W naszym analizowanym materiale stwierdzono obecność wirusów o wysokim potencjale onkogenym u 14% pacjentek nie otrzymujących HTZ i 20% kobiet stosujących leki hormonalne.

Smith i wsp. [14] w swojej pracy wykazali, iż częstość występowania wirusa HPV u kobiet stosujących hormonalną terapię zastępczą jest większa niż przypuszczano i nierozdzielnie związana ze stopniem uszkodzenia nabłonka szyjki macicy. Autorzy ci także stwierdzili, że dominującym typem wirusa jest typ 16 i 18. Potwierdzeniem związku występowania HPV z HTZ są badania Salazara i wsp. [12], którzy wykazali związek estradiolu oraz jego metabolitów z infekcją wirusa brodawczaka i rakiem szyjki macicy. Z kolei Ferenczy i wsp. [4] po przebadaniu 180 pacjentek stosujących hormonalną terapię zastępczą i po porównaniu z grupą kontrolną nie wykazali znamienych statystycznie różnic w częstości infekcji wirusami HPV. Natomiast Hildesheim i wsp. [5] wykazali w pracy związek pomiędzy wiekiem a częstością infekcji HPV. Do podobnych wniosków doszedł również Melnikow i wsp. [9]. Również

McLachlin i wsp. [8] oceniali obecność wirusów 16 i 18 w dysplazjach szyjki macicy i nie wykazali zależności tych typów od wieku pacjentki. W badanym materiale nie stwierdzono zależności infekcji wirusem HPV z wiekiem pacjentek. Jedynie zaobserwowano, że u kobiet w wieku okołomenopauzalnym istnieje znamieny statystycznie trend wzrostowy przy zakażeniu wirusem HPV typu 18.

Kutza i wsp. [6] przy użyciu metody regresji logistycznej określili ryzyko infekcji HPV u kobiet stosujących hormonalną terapię zastępczą. Autorzy ci stwierdzili istotny statystycznie wzrost ryzyka (OR *odds ratio* 1,96 przy 95-procentowym przedziale ufności 0,56, 6,86) w grupie pacjentek, które stosowały w przeszłości HTZ, a grupą kobiet, która w trakcie badania otrzymywała leki hormonalne (OR 1,01) lub też w ogóle nie była leczona (OR 1,50). W naszym badaniu nie uwzględniono pacjentek, które w przeszłości stosowały HTZ. Natomiast w grupie kobiet, które w czasie pobierania materiału do badania cytologicznego i wirusologicznego zażywały leki hormonalne stwierdzono istotne bardzo wysokie ryzyko infekcją wirusami o wysokim potencjale onkogenym.

Jednym z zadań oznaczenia obecności wirusa brodawczaka ludzkiego jest potwierdzenie wyniku badania cytologicznego w odniesieniu do badanej grupy pacjentek. Kobieta, u której wykryto DNA wirusa HPV szczególnie typu o dużej onkogenności z pewnością ma znacznie większe ryzyko uzyskania nieprawidłowego wyniku badania cytologicznego, o czym należy pamiętać szczególnie wykonując badania u kobiet w okresie menopauzalnym.

Wnioski

1. Potwierdzono istnienie proporcjonalnej zależności pomiędzy stopniami dysplazji szyjki macicy i rakiem a obecnością onkogennych typów wirusa HPV o wysokiej złośliwości w okresie menopauzy.
2. Preparaty estrogenowo-gestagenowe stosowane w hormonalnej terapii zastępczej zwiększają ryzyko infekcji wirusami o wysokiej onkogenności HPV.



Piśmiennictwo

1. Boyle P, Maisonneuve P, Autier P. *Update on cancer control in women*. Int J Gynaecol Obstet 2000; 70 (2): 263-303.
2. Deacon JM, Evans CD, Yule R, et al. *Sexual behaviour and smoking as determinants of cervical HPV infection and of CIN3 among those infected: a case-control study nested within the Manchester cohort*. Br J Cancer 2000; 88 (11): 1565-72.
3. Denny L, Kuhn L, Risi L, et al. *Two-stage cervical cancer screening: an alternative for resource-poor settings*. Am J Obstet Gynecol 2000; 183: 383-8.
4. Ferenczy A, Gelfand MM, Franco E, Mansour N. *Human papillomavirus infection in postmenopausal women with and without hormone therapy*. Obstet Gynecol 1997; 90 (1): 7-11.
5. Hildesheim A, Schiffman MH, Gravitt PE, et al. *Persistence of type-specific Human Papillomavirus infection among cytologically normal women*. The Journal of Infectious Diseases 1994; 169: 235-40.
6. Kutza J, Smith E, Levy B, et al. *Use of hormone replacement therapy (Hrt) And detection of human papillomavirus (Hpv) DNA in postmenopausal women*. Ann Epidemiol 2000; 10 (7): 465-6.
7. Lacey JV Jr, Brinton LA, Barnes, et al. *Use of hormone replacement therapy and adenocarcinomas and squamous cell carcinomas of the uterine cervix*. Gynecol Oncol 2000; 77 (1): 149-54.
8. McLachlin CM, Shen LH, Sheets EE, et al. *Disparities in mean age and histopathologic grade between human papillomavirus type-specific early cervical neoplasms*. Hum Pathol 1997; 28 (11): 1226-9.
9. Melnikow J, Nuovo J, Paliescheskey M, et al. *Detection of High Grade Cervical Dysplasia: Impact of age and Bethesda system terminology*. Diagn Cytopathol 1997; 17: 321-5.
10. Menezes GA, Wakely PE Jr, Stripe DM, Nuovo GJ. *Increased incidence of atypical Papanicolaou tests from ThinPreps of postmenopausal women receiving hormone replacement therapy*. Cancer 2001; 93 (6): 357-63.
11. Nobbenhuis MA, Walboomers JM, Helmerhost TJ, et al. *Relation of human papillomavirus status to cervical lesions and consequence for cervical cancer screening: a prospective study*. Lancet 1999; 354: 20-5.
12. Salazar EL, Mercado E, Sojo I, Salcedo M. *Relationship between estradiol 16 alpha-hydroxylation and human papillomavirus infection in cervical cell transformation*. Gynecol Endocrinol 2001; 15 (5): 335-40.
13. Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J, et al. *Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia*. JAMA 2001; 286 (24): 3106-14.
14. Smith EM, Johnson SR, Figuerres EJ, et al. *The frequency of human papillomavirus detection in postmenopausal women on hormone replacement therapy*. Gynecol Oncol 1997; 65 (3): 441-6.

Adres do korespondencji

Katedra i Klinika Perinatologii i Ginekologii
41-800 Zabrze
pl. Traugutta 6

