

# Humani papiloma virus u preinvazivnim lezijama vrata maternice

---

Škrabić, Iva

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:251322>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-27**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

Iva Škrabić

Humani papiloma virus u  
preinvazivnim lezijama vrata maternice

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2019.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

Iva Škrabić

Humani papiloma virus u  
preinvazivnim lezijama vrata maternice

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2019.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u Klinici za ženske bolesti i porode Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom doc.dr.sc. Tomislava Župića, i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2018./2019.

Mentor rada: doc.dr.sc. Tomislav Župić

## POPIS I OBJAŠNJENJE KRATICA KORIŠTENIH U RADU

AIS – adenokarcinom in situ (lat. adenocarcinoma in situ)

AGC NOS – atipične glandularne stanice drukčije nespecificirane (eng. atypical glandular cells not otherwise specified)

ASCUS – atipične pločaste stanice neodređena značenja (eng. atypical squamous cell of undetermined significance)

CIN – cervikalna intraepitelna neoplazija (eng. cervical intraepithelial neoplasia)

CIS – karcinom in situ (lat. carcinoma in situ)

ESU – elektrokirurška jedinica (eng. electro-surgical unit)

GIL – glandularna intraepitelna neoplazija

HPV – humani papiloma virus

HR-HVP – visokorizični humani papiloma virus (eng. high risk human papilloma virus)

LEEP – elektrodijatermijska ekscizija TZ petljom (eng. Loop Electrosurgical Excision Procedure)

LLETZ – elektrodijatermijska ekscizija TZ velikom petljom (eng. Large loop excision of the transformation zone)

TZ – zona preobrazbe (eng. transformation zone)

VCE obrisak – vaginalni, cervikalni, endocervikalni uzorak

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. MORFOLOŠKE OSOBITOSTI VRATA MATERNICE .....	2
2.1 ANATOMIJA I HISTOLOGIJA VRATA MATERNICE.....	2
2.2 ZONA PREOBRAZBE .....	3
3. HUMANI PAPILOMA VIRUS .....	4
3.1 Povijest .....	4
3.2 Klasifikacija .....	4
3.3 Struktura, replikacija i patogeneza.....	5
4. PREINVAZIVNE LEZIJE VRATA MATERNICE .....	7
4.1 CERVICALNA INTRAEPITELNA NEOPLAZIJA.....	7
4.1.1 KLINIČKA SLIKA .....	7
4.1.2 TERMINOLOGIJA .....	7
4.1.3 PATHISTOLOŠKA KLASIFIKACIJA CIN-a.....	8
4.1.4 EPIDEMIOLOGIJA .....	9
4.1.5 ETIOPATOGENEZA CIN-a.....	9
4.1.6 MALIGNI POTENCIJAL CIN LEZIJA .....	10
4.1.7 UTJECAJ INFEKCIJE HPV-a NA TIJEK CIN1 LEZIJA.....	12
4.2 PREINVAZIVNE PROMJENE ŽLJEZDANOG EPITELA VRATA MATERNICE .....	13
5. DIJAGNOSTIKA .....	14
5.1 PAPA-test .....	14
5.1.1 Bethesda klasifikacija .....	14
5.1.2 Abnormalnosti u Papa-testu .....	15
5.2 KOLPOSKOPIJA.....	16
5.3 BIOPSIJA .....	17
5.4 DETEKCIJA HPV-a .....	18
6.1. Lokalnodestruktivne metode liječenja .....	20
6.1.1 Krioterapija .....	20
6.1.2 CO2 laserska vaporizacija .....	21
6.2. Ekscizijske metode.....	21
6.2.1. Konizacija nožem .....	22
6.2.2. CO2 laserska konusna biopsija.....	23
6.2.3. Ekscizija niskovoltaznom dijatermijskom petljom .....	23
6.2.4. Histerektomija .....	25
6.3 Perzistencija HPV infekcije nakon kirurškog tretmana .....	26
7. ŽIVOTOPIS .....	27
8. ZAHVALE.....	28
9. LITERATURA .....	29

## **SAŽETAK**

### **Naslov: Humani papiloma virus u preinvazivnim lezijama vrata maternice**

Humani papiloma virus glavni je etiološki čimbenik u razvoju karcinoma vrata maternice koji je drugi najčešće dijagnosticiran karcinom u žena. Karcinom vrata maternice ima jasno definiranu premalignu fazu koja podrazumijeva preinvazivne lezije, a to su cervikalne intraepitelne neoplazije (CIN). Obzirom na onkogeni potencijal razvoja raka vrata maternice razlikuju se visokorizični tipovi (engl. high risk HPV, HR-HPV) i niskorizični tipovi (eng. low risk HPV, LR-HPV). Ovisno o debljini zahvaćenosti epitela displastičnim promjenama, patohistološki se razlikuju tri stupnja cervikalne intraepitelne neoplazije: CIN 1 koji predstavlja najblaži oblik, CIN2 koji označuje srednje teški poremećaj i CIN 3 koji je teška displazija. Perzistentna infekcija visokorizičnim tipovima HPV-a ključni je čimbenik u razvoju preinvazivnih lezija visokog stupnja i raka vrat maternice, dok nestanak HPV infekcije predviđa regresiju CIN-a. Obzirom na činjenicu da se preinvazivne lezije vrata maternice ne očituju karakterističnim subjektivnim simptomima, dijagnoza se uglavnom postavlja u okviru redovitih ginekoloških pregleda, a zasniva se na citološkoj dijagnostici (PAPA test-u), HPV-testu i kolposkopiji. Kod citološki i kolposkopski dvojbene nalaza dijagnostika se dopunjuje biopsijom i endocervikalnom kiretažom, odnosno konizacijom koja može imati i terapijsko značenje. Terapijske metode liječenja preinvazivnih lezija u prvom redu podrazumijevaju kirurško liječenje jer zasad ne postoji učinkoviti lijek protiv HPV-a. Obzirom na visoku mogućnost regresije CIN promjena, dva su osnovna pristupa u liječenju. Prvi pristup podrazumijeva kontinuirano praćenje pacijentica s lezijama niskog stupnja uz citologiju, testiranje na HPV i kolposkopiju. Nasuprot tome, kod pacijentica s visokim stupnjem lezija koje perzistiraju, liječenje podrazumijeva eksciziju ili ablaciju promjene.

**KLJUČNE RIJEČI:** HPV infekcija, preinvazivne lezije vrata maternice, dijagnostika, liječenje

## **SUMMARY**

### **Title: Human papillomavirus in preinvasive cervical lesions**

Human papillomavirus is a major etiologic factor in the development of cervical cancer, the second most commonly diagnosed cancer in women. Cervical cancer has a clearly defined premalignant phase that involves preinvasive lesions called cervical intraepithelial neoplasia (CIN). Due to the oncogenic potential of developing cervical cancer, high risk HPV (HR-HPV) and low risk HPV (LR-HPV) types are distinguished. Three stages of cervical intraepithelial neoplasia are pathohistologically distinguished depending on the thickness of the epithelium affected by dysplasia: CIN 1, which is the mildest form, CIN2, which is a moderate disorder, and CIN 3, which is severe dysplasia. Persistent infection with high-risk HPV types is a key factor in the development of preinvasive high-grade lesions and cervical cancer, while disappearance of HPV infection predicts regression of CIN. Due to the fact that preinvasive lesions of the cervix are not manifested by characteristic subjective symptoms, the diagnosis is usually made in the framework of regular gynecological examinations, and is based on cytology tests (PAPA test), HPV test and colposcopy. In cytologically and colposcopically ambiguous findings, the diagnosis is supplemented by biopsy and endocervical curettage in the form of conization, which may have therapeutic significance. Because there is currently no effective cure for HPV, therapeutic methods for preinvasive lesions primarily involve surgical treatment. Given the high possibility of regression of CIN changes, there are two basic approaches to treatment. The first approach involves the continuous monitoring of patients with low grade lesions using cytology, HPV testing and colposcopy. In contrast, for patients with high-grade persistent lesions, treatment of choice involves excision or ablation of said lesion.

**KEY WORDS:** HPV infection, preinvasive cervical lesions, diagnostics, treatment



## 1. UVOD

Brojne su epidemiološke studije pokazale da je infekcija humanim papiloma virusom (HPV-om) najčešća spolno prenosiva bolest. Otprilike 80% žena se tijekom života zarazi HPV-om. Humani papiloma virus glavni je etiološki čimbenik maligne alteracije pločastog i žljezdanog epitela vrata maternice u karcinom koji je drugi najčešće dijagnosticiran karcinom u žena.<sup>1</sup> Karcinom vrata maternice ima jasno definiranu premalignu fazu koja podrazumijeva preinvazivne lezije, a to su cervikalne intraepitelne neoplazije (CIN). U 99,7% cervikalnih karcinoma izolirana je HPV DNK.<sup>2</sup> Visokorizični genotipovi HPV-a 16 i 18 uzrokuju otprilike 70% svih karcinoma vrata materice u svijetu, a tipovi 31, 33, 45, 52 i 58 uzrokuju dodatnih 20%.<sup>3</sup> Razvijena su cjepiva koja omogućuju imunizaciju i zaštitu protiv HPV infekcije, a samim time prevenciju karcinoma. Obzirom da postoji mogućnost prevencije tog karcinoma cijepljenjem protiv HPV-a, kao i činjenice da se preinvazivne promjene mogu lako rano dijagnosticirati i uspješno liječiti, neprihvatljivo je da žene danas u toj mjeri umiru od tog tipa karcinoma. U vrlo razvijenim zemljama stopa pojavnosti karcinoma vrata maternice je izrazito niska (npr. u Finskoj iznosi 2,7/100 000), što je pokazatelj da adekvatna medicinska skrb u smislu prevencije, ranog otkrivanja i liječenja preinvazivnih lezija bitno utječe na pojavnost karcinoma.<sup>4</sup>

## 2. MORFOLOŠKE OSOBITOSTI VRATA MATERNICE

### 2.1 ANATOMIJA I HISTOLOGIJA VRATA MATERNICE

Maternica je fibromuskularni ženski spolni organ kruškolikog oblika koji se nalazi u maloj zdjelici. Anatomske na maternici razlikujemo tijelo (lat. *corpus uteri*), uski i kratki prijelaz (lat. *isthmus uteri*) i vrat (lat. *cervix uteri*). Vrat maternice se sastoji od rodničkog dijela (lat. *portio vaginalis cervicis*, egzocerviks) koji prominira u rodnicu i supravaginalnog dijela (lat. *portio supravaginalis cervicis*, endocerviks) koji je preko istmusa spojen s tijelom maternice. Egzocerviks se često naziva samo porcija. Površina mu je okrugla i blago izbočena (konveksna), a u središnjem dijelu se nalazi vanjsko ušće (lat. *orificium uteri externum*) cervikalnog kanala (lat. *canalis cervicis*). Cervikalni kanal se pruža kroz čitav vrat maternice u dužini od 2-3 cm do unutarnjeg ušća (lat. *orificium uteri internum*) gdje se nastavlja u šupljinu maternice. U nulipara porcija je konična, a vanjsko je ušće podložno hormonalnim promjenama pa je u vrijeme ovulacije većeg promjera i prekriveno obilnom sluzi. U sluznici vrata maternice smještene su sluzne žlijezde (lat. *glandulae cervicales*) koje proizvode gusti sekret koji ispunjava kanal vrata maternice a naziva se Kristellerov čep. Miometrij u području vrata maternice pretežno je građen od vezivnog tkiva u odnosu na miometrij u području tijela maternice gdje je sastavljen od pretežno gusto složenog glatkog mišićnog tkiva. Perimetrij je vanjska ovojnica maternice koja je srasla s miometrijem te anteriorno doseže do prijelaza vrata i tijela maternice, a posteriorno u potpunosti prekriva dorzalnu površinu maternice do kraja egzocerviksa.<sup>5,6</sup>

Površinu porcije, kao i rodnicu, prekriva višeslojno neurožnjeni pločasti epitel za razliku od cervikalnog kanala koji je prekriven mukoznim jednoslojnim cilindričnim epitelom koji stvara žljezdane kripte i luči sluz. Samo područje prijelaza pločastog epitela u cilindrični naziva se skvamokolumnarna granica (SKG) čiji smještaj ponajviše ovisi o hormonalnoj aktivnosti. Tijekom djetinjstva i postmenopauze, kada nema hormonalne stimulacije, granica se nalazi duboko u cervikalnom kanalu. Nasuprot tome, u razdobljima kada je hormonalna aktivnost prisutna (u novorođenačkoj dobi, pubertetu, generativnoj dobi, trudnoći, prilikom korištenja oralnih kontraceptiva) dolazi do pomicanja SKG egzocervikalno zbog širenja hormonalno stimuliranog cilindričnog epitela. Utjecajem laktobacila, koji pripadaju normalnoj vaginalnoj flori, dolazi do sniženja pH prema kiselim vrijednostima (oko 3,8) kao rezultat razgradnje glikogena u

pločastim stanicama epitela, što u konačnici stimulira rezervne cilindrične stanice na pretvorbu u pločasti epitel i naziva se pločasta metaplazija. U tom se slučaju na egzocerviksu mogu uočiti dvije SKG. Rubnija, odnosno vanjska granica, zapravo je ona primarna SKG gdje su graničili originalni pločasti i cilindrični epitel. Sekundarna granica je ona unutarnja, odnosno aktivna, gdje cilindrični epitel graniči s metaplazijom novonastalog pločastog epitela. Opisano područje pločaste metaplazije između te dvije granice se naziva zona preobrazbe (eng. *transformation zone* - TZ).<sup>6</sup>

## **2.2 ZONA PREOBRAZBE**

Zona preobrazbe cerviksa smatra se mjestom karcinogeneze posredovane infekcijom s onkogenim tipovima HPV-a. U literaturi se izrazi TZ i SKG često poistovjećuju. Međutim, to su dva različita entiteta. SKG je područje u kojem se pločasti epitel ektocerviksa susreće s cilindričnim epitelom endocerviksa. TZ cerviksa je dinamična cjelina metaplazije tijekom života žene i histološki je područje gdje je žljezdani epitel zamijenjen pločastim epitelom.<sup>7,8</sup> Neke studije su pokazale da primarno mjesto preinvazivnih lezija i raka vrata maternice nije cjelokupna transformacijska zona, nego je to mala populacija kuboidnih stanica na SKG. Ova skupina stanica ima jedinstveni profil ekspresije gena sličan onom koji se nalazi u pločastom i žljezdastom CIN-u visokog stupnja i karcinomima.<sup>9</sup>

## **3. HUMANI PAPILOMA VIRUS**

### **3.1 POVIJEST**

Već je sredinom 70-ih godina 20. stoljeća HPV prepoznat kao jedan od glavnih etioloških čimbenika u razvoju neoplastičnih promjena donjeg dijela spolnoga sustava u žena. Citološke promjene karakteristične za infekciju HPV-om prvi put je opisao Koss 1956. godine i nazvao ih koilocitozom (*koilocytosis*). Značenje tih promjena shvaćeno je tek dvadeset godina kasnije kada su Meisels i suradnici uočili koilocitozu unutar blagih displastičnih promjena. Kasnije je HPV izoliran iz različitih promjena na spolnim organima, a uporabom tehnike hibridizacije tipiziran je i DNK virusa.<sup>6</sup>

### **3.2 KLASIFIKACIJA**

Zasad je poznato više od 200 tipova HPV-a, od kojih je oko 40 povezano s infekcijama genitalnog trakta. Obzirom na onkogeni potencijal razvoja raka vrata maternice razlikuju se:

- Visokorizični tipovi (engl. high risk HPV, HR-HPV) u koje ubrajamo HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 i 68
- Niskorizični tipovi (engl. Low risk HPV, LR-HPV) u koje ubrajamo HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 53, 54, 61, 72, 73 i 81

Tipovi 16 i 18 najčešće su izolirani tipovi HPV-a kod raka vrata maternice, a tip 16 nalazi se u otprilike 50% bolesnica. Međutim, ne rezultiraju sve infekcije visokorizičnim tipovima HPV-a razvojem karcinoma. Također, unutar pojedinih vrsta onkogenih HPV-a postoje varijante koje su povezane s različitim onkogenim potencijalom.<sup>11</sup>

### **3.3 STRUKTURA, REPLIKACIJA I PATOGENEZA**

Humani papiloma virus je mali neovijeni DNA virus s kapsidom simetrije ikozaedra koji pripada porodici Papillomaviridae. Genom virusa čini zatvorena, kružna, dvolančana DNA koja se dijeli na tri područja. Područje L (engl. *late*) u kojem su zapisi za strukturne proteine (kapsida); područje E (engl. *early*) sa zapisima za proteine odgovorne za umnožavanje virusa i transformaciju (onkogeni učinak) stanice, te područje R (engl. *regulatory*) sa zapisima za regulacijske proteine koji ne mogu kodirati bjelančevine, ali sadržavaju elemente potrebne za regulaciju ekspresije pojedinih gena, replikaciju virusnoga genoma i inkorporiranje virusnoga genoma u virusnu česticu. Na pozitivnom lancu genoma nalazi se šest tzv. ranih proteina (E1, E2, E4, E5, E6 i E7) i dva kasna gena (L1-L2).<sup>10</sup>

Replikacijski ciklus virusa započinje infekcijom bazalnog sloja epitelnih stanica koje čine matične epitelne stanice. Do infekcije dolazi vezanjem virusa za staničnu membranu i ulaskom virusa u stanicu. Replikacijski ciklus se potom može odvijati u dva smjera. Naime, genom virusa se može replicirati ekstrakromosomski (episomalna DNA) u malen broj kopija u bazalnim stanicama. Pri tome dolazi do odgovarajućeg imunološkog odgovora i suzbijanja infekcije. Međutim, ukoliko se inficirane bazalne stanice diferenciraju u procesu obnove tkiva u suprabazalni sloj epitela, HPV se pritom replicira u tom suprabazalnom sloju (stratum spinosum). Raspadanjem epitelnih stanica dolazi do otpuštanja virusnih čestica u okružje, što posljedično uzrokuje njihov novi život u stanicama površnog epitelnog sloja.<sup>12,13</sup> Diferencijacijom inficiranih bazalnih stanica dolazi do visoke razine sinteze virusne DNA i genske ekspresije virusa te u terminalno diferenciranim stanicama virus nije podložan reakciji imunološkog sustava.<sup>14</sup> Visokorizični tipovi HPV-a za razliku od niskorizičnih imaju sklonost ugradnje u genom stanice domaćina. Virusni se genom prije ugradnje najprije otvori, a potom izravna. Prekid genoma nastaje u području E2 koji ima zapise za proteine koji inhibiraju aktivnost prepisivanja područja E6 i E7. Posljedica fizičkog prekidanja E2 jest gomilanje virusnih proteina E6 i E7 koje su kritične molekule u onkogenom potencijalu virusa.<sup>10</sup> Ove su bjelančevine u stalnoj interakciji s brojnim staničnim proteinima koji kontroliraju stanični rast i diobu. Brojna istraživanja pokazuju da virusni proteini E6 i E7 uzrokuju proliferaciju i imortalizaciju stanice djelovanjem na bjelančevine Rb i p53, produkte tumor-supresorskih gena normalne stanice, koje su središnje molekule staničnog ciklusa. Naime, regija E7 HPV genoma se veže za Rb-gen pri čemu se

aktivira transkripcijski čimbenik E2F koji potiče ekspresiju proteina nužnih za replikaciju DNK stanice domaćina. U normalnim uvjetima, takva se neregularna S-faza staničnog ciklusa zaustavlja uvođenjem stanice u apoptozu, što je pod kontrolom bjelančevine p53.<sup>15</sup> Djelovanjem regije E6 virusnoga genoma dolazi do proteolitičke razgradnje bjelančevine p53 u stanici inficiranoj HPV-om, što dovodi do gubitka kontrole staničnog rasta, genske nestabilnosti i akumulacije onkogenih mutacija i u konačnici dovodi do zloćudne promjene.<sup>16</sup>

Perzistentna infekcija visokorizičnim tipovima HPV-a uzrokuje displastične promjene na epitelnim stanicama koje mogu biti blage (LSIL – Low-grade Squamous Intraepithelial Lesions) ili teške (HSIL – High-grade Squamous Intraepithelial Lesions). Pretpostavka je da do razvoja invazivnog karcinoma vrata maternice od dugotrajne infekcije HPV-om treba proći 7 do 10 godina. Prema tome dovoljno je vremena za prevenciju.<sup>17</sup>

## **4. PREINVAZIVNE LEZIJE VRATA MATERNICE**

### **4.1 CERVIKALNA INTRAEPITELNA NEOPLAZIJA**

Cervikalna intraepitelna neoplazija (CIN) označava intraepitelni predstadij karcinoma cerviksa. Karakterizirana je pojavom atipičnih stanica unutar pločastog epitela vrata maternice. Atipija stanica podrazumijeva nejednakosti u obliku i veličini stanica, ali i njihovih jezgara. U tako promijenjenim stanicama nalazi se poremećaj diferencijacije i odnosa citoplazma/jezgra, različita količina i kvaliteta kromatina, prisutnost mitozna, kao i način orijentacije jezgara. Otprilike 90% slučajeva CIN-a i preko 99% slučajeva karcinoma vrata maternice javlja se u HR-HPV pozitivnih bolesnica.<sup>18</sup>

#### **4.1.1 KLINIČKA SLIKA**

Preinvazivne lezije vrata maternice ne uzrokuju specifične subjektivne simptome koje bi ukazale na njihovu prisutnost. Eventualno prisutni simptomi poput promijenjenog iscjetka najčešće su posljedica pratećeg cervicitisa ili kolpitisa, a kontaktno krvarenje je moguće u većih, vulnerabilnih eritroplakija.<sup>6</sup>

#### **4.1.2 TERMINOLOGIJA**

Povijesno, preinvazivne lezije vrata maternice opisivane su kao blaga, umjerena ili teška displazija vrata maternice. Godine 1988. uveden je novi terminološki sustav, Bethesda sustav, koji je zatim revidiran 1991. i 2001. Bethesda sustav koristi različitu terminologiju za citološke i patohistološke nalaze. Citološki nalazi su opisani terminom "skvamozna intraepitelna lezija (SIL)", a histološke se promjene opisuju terminom "cervikalna intraepitelna neoplazija (CIN)".<sup>19</sup>

### **4.1.3 PATHISTOLOŠKA KLASIFIKACIJA CIN-A**

Razlikuju se tri stupnja cervikalne intraepitelne neoplazije (CIN):

- CIN 1 (Blaga displazija): predstavlja najblaži oblik cervikalne intraepitelne neoplazije. Promjene na stanicama prisutne su u donjoj trećini epitela gdje se nalazi mali broj mitozna i pokoja atipična stanica. U ovim je promjenama često prisutan citopatski učinak HPV-a koji se naziva koilocitoza.
- CIN 2 (Umjerena displazija): Označuje srednji teški poremećaj kod kojega su opisane promjene izraženije i prisutne u donje 2/3 epitela. Radi se o poremećaju rasporeda i sazrijevanja stanica, uz vidljivo prisustvo nezrelih stanica, s povećanim sadržajem kromatina. Sloj stanica sadrži veći broj mitozna, kao i veći broj stanica atipičnog izgleda.
- CIN 3 (Teška displazija): Ova skupina promjena predstavlja tešku displaziju koja se smatra prekanceroznom lezijom. Kod ovog tipa CIN-a nezrele displastične stanice se nalaze u više od 2/3 ili u cijeloj debljini epitela. Mitoze su mnogobrojne, kao i stanice s izrazitim promjenama na jezgrama.

Godine 2012. objavljen je projekt pod nazivom LAST (eng. Lower Anogenital Squamous Terminology) koji je uveo promjene u terminologiji koja se koristi za opisivanje preinvazivnih lezija anogenitalnog trakta povezanih s HPV-om. U LAST sustavu, histološki cervikalni nalazi su opisani koristeći istu terminologiju kao i citološki nalazi:

- CIN 1 se naziva LSIL.
- CIN 2 ima slabu reproduktivnost i vjerovatno je heterogena mješavina koja uključuje lezije koje bi se mogle nazvati CIN 1 ili 3. Uzorci koji su p16 i/ili Ki67-negativni nazivaju se LSIL, a oni koji su p16 i/ili Ki67-pozitivni nazivaju se HSIL.
- CIN 3 naziva se HSIL.<sup>19</sup>



#### **4.1.4 EPIDEMIOLOGIJA**

Procijenjena učestalost CIN-a u SAD-u kod žena koje su podvrgnute probiru raka vrata maternice iznosi 4% za CIN 1 i 5% za CIN 2/3. Lezije visokog stupnja obično se dijagnosticiraju kod žena u dobi od 25 do 35 godina, dok se invazivni rak češće dijagnosticira nakon 40. godine života, obično 8 do 13 godina nakon dijagnoze lezije visokog stupnja.<sup>19</sup>

#### **4.1.5 ETIOPATOGENEZA CIN-A**

Humani papiloma virus glavni je etiološki čimbenik u razvoju preinvazivnih lezija i karcinoma vrata maternice. HPV infekcija nepohodna je za razvoj cervikalne neoplazije, ali nije i dovoljna. Naime, velika većina žena zaraženih HPV-om ne razvijaju lezije vrata maternice visokog stupnja odnosno karcinom.<sup>17</sup>

Dva glavna čimbenika povezana s razvojem preinvazivnih lezija vrata maternice su tip HPV-a i perzistencija infekcije virusom. Čini se da čimbenici u okolišu (npr. pušenje cigareta) i imunološki utjecaji imaju ulogu. HPV ima ulogu prvenstveno u dva najčešća histološka tipa raka vrata maternice: karcinom pločastih stanica (69% raka vrata maternice) i adenokarcinom (25%). HPV tipovi povezani s karcinomom pločastih stanica donekle se razlikuju od onih povezanih s adenokarcinomom.<sup>18</sup>

Većina HPV infekcija je prolazna i javlja se kod mladih žena. Perzistentna infekcija onkogenim HPV tipovima ključni je čimbenik u razvoju cervikalnih lezija visokog stupnja i raka vrata maternice, dok nestanak HPV infekcije predviđa regresiju CIN-a. Više od 50% novih HPV infekcija spontano prolazi u 6 do 18 mjeseci, a 80-90% će proći u roku od dvije do pet godina. Prolazne infekcije su osobito česte kod mladih žena i prosječno trajanje novodijagnosticirane HPV infekcije je 8 do 13 mjeseci. Nije poznato je li regresija virusa rezultat potpunog nestanka virusa iz tijela ili se virus zadržati u neaktivnom stanju odnosno niskim koncentracijama.<sup>19</sup>

#### **4.1.6 MALIGNI POTENCIJAL CIN LEZIJA**

Kod većine bolesnica s CIN 1 doći će do spontane regresije promjena. Jedna retrospektivna studija na 680 žena s CIN 1 dokazanom biopsijom pokazala je sljedeće rezultate kontrolne citologije i/ili histologije:

- nakon šest mjeseci kod 49% bolesnica došlo je do regresije promjena, kod njih 35% promjene su perzistirale, a u 7% došlo je do progresije u lezije visokog stupnja;
- nakon 12 mjeseci (među bolesnicama s negativnim rezultatima nakon šest mjeseci): 80% je bilo negativno, 17% imalo je lezije niskog stupnja, a njih 4% razvilo je lezije visokog stupnja;
- nakon 12 mjeseci (među bolesnicama s perzistentnim CIN 1 nakon šest mjeseci): 50% je bilo negativno, njih 46% imalo je lezije niskog stupnja, a u 4% razvile su se lezije visokog stupnja.<sup>25</sup>

Studije su pokazale da će se u 4-13% žena s CIN 1 koje su prethodno imale citološki nalaz niskog stupnja dijagnosticirati CIN 2/3 u roku od 6 do 24 mjeseca praćenja. Nisu pronađeni podaci o razvoju invazivnog karcinoma vrata maternice u ovoj populaciji bolesnica unutar tog razdoblja praćenja. Jedno istraživanje je pokazalo da su žene s CIN 1 kojima je citološki prethodio HSIL imale petogodišnji rizik za razvoj CIN 3+ iznosio 15%.<sup>34</sup>

Obzirom da se većini bolesnica s CIN 2/3 preporučuje liječenje podaci o prirodnom tijeku bolesti su ograničeni. Izgleda da u polovici bolesnica s CIN2 su promjene spontano regredirale. Prirodni tijek lezija CIN2 najbolje se pokazao u metaanalizi 36 studija (randomiziranih i opažajnih), u kojoj je bilo uključeno ukupno 3160 žena s CIN 2.<sup>26</sup> U 24 mjeseca praćenja kod 50% žena došlo je do spontane regresije, u njih 32% promjene su perzistirale, dok je u 18% došlo do progresije u CIN3. Međutim, u analizi podskupine koja je uključivala 1069 žena mlađih od 30 godina, kod njih 60% došlo je do spontane regresije, 23% imalo perzistirajući je nalaz, a u 11% razvile su se lezije višeg stupnja. Također se pokazalo da su stope napredovanja lezija bile niže kod žena s negativnim nalazom HPV-a na početku. Ipak, treba uzeti u obzir da u većini studija nije zabilježen status HPV-a, a kod većeg broja žena došlo je do spontane regresije

nakon 24 mjeseca bez obzira na početni HPV status. Bilo je 15 slučajeva adenokarcinoma in situ i 15 slučajeva invazivnog karcinoma vrata maternice. Za CIN 3 procijenjena stopa spontane regresije iznosi 32-47%, a 12-40% napreduje u invazivni karcinom ukoliko se ne liječi.<sup>50-53</sup> Najbolji podaci o prirodnom tijeku histološki potvrđenog CIN 3 datiraju iz jedne retrospektivne kohortne studije koja je procijenila učestalost progresije CIN3 u invazivni karcinom vrata maternice tijekom 10 i 30 godina.<sup>53</sup> Bolesnice su bile podijeljene u dvije skupine. Prva skupina od 143 žene su praćene bez tretmana, a drugu skupinu su činile 593 žene koje su dobile adekvatan ili vjerojatno adekvatan tretman. Kumulativna incidencija invazivnog karcinoma vrata maternice bila je značajno veća kod neliječenih žena u razdoblju od 10 godina (20% u skupini neliječenih prema 0,3% kod liječenih) i 30 godina (31% prema 0,7%). U 65% žena koje su praćene, ali bez liječenja, imale su perzistirajući nalaz 6-24 mjeseca nakon početne dijagnoze CIN 3. U ovoj podskupini, kumulativna incidencija invazivnog raka vrata maternice unutar 10 i 30 godina bila je 31 odnosno 50%. Obzirom na ipak visoku stopu progresije do invazivnog karcinoma, više se ne preporučuje dugotrajno praćenje perzistirajućeg CIN-a.

#### **4.1.7 UTJECAJ INFEKCIJE HPV-A NA TIJEK CIN1 LEZIJA**

Jedna metaanaliza koja je uključila ukupno 38 studija promatrala je utjecaj HPV infekcije na progresiju CIN1 lezija. Osim toga, analizirala je utjecaj duljine infekcije visokorizičnim tipom HPV-a (HR-HPV).

Rezultati studije su pokazali da je rizik progresije CIN1 lezije bio 3,04 puta veći u HPV-pozitivnoj skupini u odnosu na HPV-negativnu skupinu. Također, analiza podataka je pokazala da je rizik perzistencije CIN1 bolesti bio 1,48 puta veći u HPV-pozitivnoj skupini nego u HPV-negativnoj skupini, dok je regresija CIN1 lezija bila 0,65 puta niža u HPV-pozitivnoj skupini nego u HPV-negativnoj skupini.

Studija je također pokazala da različito trajanje infekcije HR-HPV-om rezultira različitim učinkom na tijek CIN1 lezija. Perzistentna HR-HPV infekcija znači da je u dva ili više puta otkrivena HR-HPV bila pozitivna, a prolazna HR-HPV infekcija znači da je u samo jednom trenutku otkriven HR-HPV bio pozitivan.<sup>46</sup> Rizik progresije bolesti CIN1 bio je 13,91 puta veći u skupini s perzistentnom HR-HPV nego u HPV-negativnoj skupini. Utjecaj prolazne HR-HPV infekcije na progresiju i regresiju CIN1 lezije nije bio statistički značajan.

Pokazalo se da je perzistentna infekcija HR-HPV glavni faktor rizika za progresiju CIN1 u CIN2+, dok infekcije LR-HPV-om kao i prolazne infekcije nisu značajno povezane s povećanim rizikom od progresije CIN1. Takvi rezultati potvrđeni su u jednoj prospektivnoj studiji.<sup>47</sup> Ovaj je podatak od važnosti za donošenje odluke o liječenju CIN1 kako bi se izbjeglo prekomjerno ili neadekvatno liječenje.

Nadalje, Huang i suradnici su izvijestili da je rizik od napredovanja CIN1 u CIN2/3 u bolesnika s infekcijom HPV16 bio 2,51 veći nego u bolesnika s HPV18 infekcijom i 6,95 veći u odnosu na druge onkogene oblike. HPV16 se stoga smatra glavnim čimbenikom rizika za napredovanje bolesti CIN1.<sup>48</sup> Također se pokazalo da prirodni klirens HPV infekcije može trajati duže od 24 mjeseca. To je u skladu s razmakom od dvije godine ili duljim za detekciju HPV-a u sklopu probira na rak vrata maternice.<sup>18</sup>

Ukupno gledajući, HPV infekcija je imala tendenciju postupne regresije nakon primjene liječenja CIN-a. Pokazalo se da se medijan perzistencije HPV-a smanjivao s povećanjem vremena praćenja: 27% infekcija je perzistiralo nakon 3 mjeseca praćenja, 21% nakon 6 mjeseci, 15% nakon 12 mjeseci i 10% nakon 24 mjeseca od tretmana. Samo jedno ispitivanje nije slijedilo ovaj obrazac je je izvijestilo o 100% postojanosti HPV-a nakon 6 i 12 mjeseci.<sup>21</sup>

## 4.2 PREINVAZIVNE PROMJENE ŽLJEZDANOG EPITELA VRATA MATERNICE

Rijetko intraepitelna neoplazija potječe od žljezdanog epitela, što se označuje kao glandularna intraepitelna neoplazija - GIL.

Prema Bethesda klasifikaciji abnormalnosti žljezdanog epitela mogu biti iskazane kao:

- Atipične žljezdane stanice neodređena značenja (engl. Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance – AGCUS)
- Adenokarcinom

U preinvazivnim lezijama žljezdanog epitela normalne endocervikalne žljezdane stanice zamijenjene su atipičnim cilindričnim stanicama. Pritom su vidljive stratifikacije jezgara s hipokromazijom i polimorfizmom te povećanim brojem mitozama. U oko 50% bolesnica s AIS-om pridružena je i atipija pločastog epitela vrata maternice. S obzirom da se AIS često nalazi izvan TZ prema cervikalnom kanalu teško je dostupan uobičajenom citološkom probiru. Međutim, uporaba četkice (cytobrush) za dobivanje endocervikalnog razmaza pomaže u ranome otkrivanju atipičnosti žljezdanog epitela. Ipak, AIS se uglavnom dijagnosticira slučajno, najčešće na tkivnom materijalu odstranjenom zbog CIN-a. U slučaju patohistološke sumnje na žljezdanu atipiju vrata maternice indicirana je klasična konizacija nožem. Ukoliko je promjena proširena do rubova odstranjenog uzorka indicirana je rekonizacija, odnosno histerektomija ako se radi o bolesnici koja ne mora očuvati reproduktivnu sposobnost.<sup>6</sup>

## 5. DIJAGNOSTIKA

Obzirom na činjenicu da se preinvazivne lezije vrata maternice ne očituju karakterističnim subjektivnim simptomima, dijagnoza se uglavnom postavlja u okviru redovitih ginekoloških pregleda. Rijetko su suspektne promjene vidljive makroskopski, stoga se dijagnostika zasniva na citološkoj dijagnostici (PAPA test-u), HPV test-u i kolposkopiji. Kod citološki i kolposkopski dvojbjenih nalaza dijagnostika se dopunjuje biopsijom i endocervikalnom kiretažom, odnosno konizacijom koja istodobno može imati i terapijsko značenje.<sup>17</sup>

### 5.1 PAPA-TEST

Papa test označuje pretragu koja podrazumijeva uzimanje vaginalnog, cervikalnog i endocervikalnog uzorka (VCE obrisak) za citološku analizu. Na temelju dobivenih uzoraka se procjenjuje izgled i vrsta, kao i abnormalnosti stanica vrata maternice. Test se provodi tijekom redovitih ginekoloških kontrola, u okviru preventivnih programa u ranom otkrivanja raka vrata maternice, u okviru praćenja pacijentica tijekom uzimanja kontracepcije i drugih hormonskih pripravaka, kod abnormalnog vaginalnog krvarenja, abnormalnog izgleda vrata maternice ili drugih ginekoloških simptoma. Metoda bojanja *Papa* testa opisana je 1940-ih od američkog znanstvenika grčkog podrijetla Papanicolau, prema kojem je test dobio ime.<sup>6,22</sup>

#### 5.1.1 BETHESDA KLASIFIKACIJA

Bethesda klasifikacija predstavlja suvremenu klasifikaciju citoloških značajki i promjena u PAPA testu, koja se koristi još od 1988. godine.<sup>23</sup> Određuje pravila prilikom procjene oblika i izgleda stanica u dobivenom citološkom obrisku. Njena najveća prednost u usporedbi s ranije korištenim klasifikacijama je što podrazumijeva i samu procjenu kvalitete preparata, zatim razlikovanje jakih od slabih citoloških abnormalnosti, kao i mogućnosti uočavanja promjena koje su povezane s HPV infekcijom. Prema Bethesda klasifikaciji u prvom se dijelu nalaza navodi sama primjerenost uzorka i određuje se opća procjena preparata. Opisuju se vrste stanica u preparatu, procjenjuje se utjecaj hormona na stanice i promatra eventualno

prisustvo različitih patogena. Drugi dio citološkog nalaza podrazumijeva citološku dijagnozu ukoliko je abnormalnost prisutna. <sup>6,24</sup>

### **5.1.2 ABNORMALNOSTI U PAPA-TESTU**

Citološki se nalaz pločastog epitela može interpretirati kao uredan, bez citoloških atipija uz upalne promjene te može biti abnormalan.

Prema Bethesda klasifikaciji, abnormalan nalaz podrazumijeva promjene koje obuhvaćaju:

- atipične pločaste stanice neodređena značenja (eng. *atypical squamous cell of undetermined significance* - ASCUS)
- pločastu intraepitelnu leziju niskog stupnja (eng. *low-grade squamous intraepithelial lesion* – LSIL)
- pločastu intraepitelnu leziju visokog stupnja (eng. *high-grade squamous intraepithelial lesion* - HSIL).

Patohistološki nalaz CIN1 odgovara citološkom nalazu LSIL, dok CIN2 i CIN3 odgovaraju HSIL.<sup>20</sup> Na nalazu također može biti naznačeno postojanje citoloških promjena karakterističnih za infekciju HPV-om kao što je koilocitna atipija. <sup>7,36</sup> Druge promjene obuhvaćaju promjene u sazrijevanju epitela, kao i nalaz stanica karcinoma. Kod abnormalnih citoloških nalaza koji ukazuju na CIN potrebno je obaviti daljnju dijagnostičku obradu koja uključuje kolposkopiju s ciljanom biopsijom i/ili ekskohleacijom te patohistološku analizu.<sup>7,36</sup> Ukoliko se promjene uoče dovoljno rano, liječenje je jednostavno, relativno lako i pošteno. Točnost PAPA testa iznosi oko 80%, ali u kombinaciji s drugim metodama (kolposkopija i patohistološka analiza) točnost raste do 95%. Ovo je razlog što je kolposkopija idući korak u dijagnostičkom algoritmu nakon abnormalnog nalaza PAPA testa. Ukoliko se rezultat kolposkopije slaže s citološkom procjenom i radi se o lezijama niskog stupnja, nalaz se može pratiti i u tom slučaju nije nužna biopsija vrata maternice i histološka potvrda dijagnoze. <sup>6,25</sup>

## 5.2 KOLPOSKOPIJA

Kolposkopija je izvrsna dijagnostička dopuna citologiji. Omogućuje pouzdanu procjenu lokalizacije i proširenosti patološke epitelne lezije te ciljanu biopsiju sa suspektnog područja. Točnost kolposkopije u velikoj mjeri ovisi ovisi o iskustvu kolposkopičara, a iznosi između 60 - 85%.<sup>30</sup> Kolposkopija je optička metoda koja omogućuje vizualizaciju vrata maternice binokularnim optičkim instrumentom (kolposkopom) s jakim izvorom svjetla i uvećanjem 2 do 40 puta. Cilj je pretrage lokalizacija lezija, procjena težine i opsežnosti promjena zbog daljnjeg liječenja i određivanja mjesta uzimanja bioptata.<sup>27</sup> Razlikujemo nativnu kolposkopiju koja označuje jednostavno promatranje cerviksa bez pomoćnih sredstava. Također, kolposkopija se može izvoditi uz pomoć dodatnih optičkih ili kemijskih sredstava. Optičko pomoćno sredstvo je zeleni filter koji ponajviše omogućuje uočavanje krvnih žila na površini vrata maternice. Kemijska pomoćna sredstva korištena u kolposkopiji su 3%-tna octena kiselina i Lugolova otopina (otopina joda u kalijevom jodatu). Postupak započinje čišćenjem sluzi vrata maternice nakon čega se premaže 3-5%-tnom otopinom octene kiseline. Kroz otprilike pola minute u područjima nezrelog, metaplastično promijenjenog i displastičnog pločastog epitela epitelna octena kiselina prodire u stanice i denaturira stanične bjelancevine. Takva reakcija rezultira bubrenjem epitela koji se pritom prikazuje kao slika bijelog epitela (acetobijeljenje), što se označava kao pozitivna octena reakcija.<sup>28</sup> Nanošenjem Lugolove otopine na površinu vrata maternice glikogen zdravih pločastih stanica veže jod iz otopine, a epitel se boji u tamno smeđu boju i takva se reakcija naziva jod pozitivnom reakcijom, što isključuje postojanje epitelne atipije stanica. Atipične pločaste stanice i uredan žljezdani epitel ne vežu jod pa pokazuju jod negativnu reakciju. Razne kombinacije ovih reakcija imaju različito značenje u procjeni promjena na cervikalnoj površini. Kolposkopija se smatra zadovoljavajućom ukoliko se njome u potpunosti prikaže SKG što samim time podrazumijeva i u cijelosti vidljivu TZ.<sup>7</sup> Abnormalan epitel je tako u pravilu bijele boje i pokazuje jod negativnu reakciju.<sup>29</sup> Osim već navedenog, abnormalan kolposkopski nalaz bi uključivao: punktuacije, mozaik, atipične krvne žile. Punktuacije predstavljaju kolposkopski nalaz kapilara u točkastom obliku i što su one pravilnije veća je šansa da se radi o leziji nižeg stupnja. Mozaik čine nove formacije žila koje imaju različite pravokutne uzorke te što je manje izražen mozaik veća je šansa da je lezija nižeg stupnja.



Preporuka je da se u slučaju kolposkopski vidljive abnormalne promjene učini ciljana biopsija. Uzorci se mogu uzeti bioptičkim kliještima („*punch*“ biopsija), a ukoliko se sumnja na početnu invaziju radi se klinasta biopsija. Kod nezadovoljavajuće kolposkopije potrebno je napraviti ekskohleaciju endocerviksa. Tako dobiven reprezentativni uzorak se šalje na patohistološku analizu koja se smatra „zlatnim standardom“ u dijagnostici preinvazivnih promjena vrata maternice.<sup>30,31</sup> U najvećem broju slučajeva riječ je o CIN 1 promjeni koja se u otprilike 60% slučajeva povlači spontano. Ipak, u 15% slučajeva promjena dalje progredira stoga je preporuka da se PAPA-test ponovi nakon 4-6 mjeseci. Ukoliko nalaz i dalje perzistira potrebno je ponoviti kolposkopiju. Svaki citološki nalaz CIN 2/3 ili CIS trebalo bi odmah uputiti na kolposkopiju i ciljanu biopsiju.<sup>17</sup>

### **5.3 BIOPSIJA**

Biopsija je postupak uzimanja uzorka tkiva iz područja vrata maternice s ciljem utvrđivanja točne patohistološke dijagnoze. Ukoliko se biopsijom odstrani cijela promjena, postupak se naziva ekscizijska biopsija i ona je istovremeno dijagnostički i terapijski postupak, a ako se uzme samo uzorak tkiva tada je to incizijska biopsija. Najveća je važnost biopsije u razlikovanju benignih i preinvazivnih od invazivnih promjena. Biopsija se uzima sa sumnjivih mjesta pod kontrolom kolposkopa. Uzimanje uzorka tkiva s vrata maternice može se učiniti kao biopsija klještima (punch-biopsija), biopsija električnom omčicom (LETZ biopsija) i konusna biopsija (konizacija).<sup>6</sup>

Prije navedene tri dijagnostičke metode verifikacije intraepitelnih neoplazija može se učiniti i tipizacija HPV-a (PCR, *in situ* hibridizacija, *hybrid capture*).<sup>7</sup>

## 5.4 DETEKCIJA HPV-A

Napretkom molekularne biologije, olakšana je detekcija virusa HPV-a u preinvazivnim lezijama koja se sve više koristi u kliničkoj praksi. Preporuka je učiniti tipizaciju HPV-a neposredno nakon uočavanja citološke abnormalnosti. Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje pruža naknadu pri pretraživanju HPV-DNK zbog čega se tipizacija može raditi rutinski.<sup>32</sup>

Razlikuju se 3 načina detekcije HPV-a:

- *HPV DNK ispitivanje*

Testiranje HPV DNK bio je prvi pristup razvijen za rutinsko kliničko testiranje. Mnoga su istraživanja pokazala da je tipizacija DNK HPV-a, kao nadopuna citološkom nalazu, poboljšala osjetljivost za otkrivanje preinvazivnih lezija vrata maternice prvenstveno CIN 2 i 3. Međutim, time se smanjila specifičnost, što je rezultiralo potencijalno nepotrebnim upućivanjem žena za kolposkopiju.

- *Ispitivanje HPV ribonukleinskom kiselinom (RNK)*

Testiranje HPV RNK podrazumijeva detekciju ekspresije E6 i/ili E7 RNK koje se očekuje kod HPV infekcije onkogenog potencijala te stoga pruža jednaku osjetljivost i bolju specifičnost u usporedbi s HPV DNK testiranjem. RNK testiranje dobilo je odobrenje američke Agencije za hranu i lijekove (FDA) za ispitivanje cervikalnog HPV-a, jer značajno poboljšava specifičnost otkrivanja cervikalne intraepitelne neoplazije stupnja 2 i više (CIN2 +), smanjujući tako broj „lažno pozitivnih“ HPV-a testova u usporedbi s ispitivanjem HPV DNK.

- *Detekcija staničnih markera*

Detekcija staničnih markera koristi drugačiji pristup dijagnosticiranju bolesti povezanih s HPV-om. Protein E7 HPV-a dovodi do poremećaja staničnog ciklusa, što rezultira povećanom ekspresijom p16 proteina u stanici. Lezije visokog stupnja CIN-a sadrže visoku razinu p16, stoga bi ova metoda razlikovala takve lezije od onih koje nisu povezane s HPV-om i ne predstavljaju prekanceroze. Jedna studija koja je istraživala kombinaciju citologije s dvostrukom obojenom (p16 i Ki-67) pokazala je vrhunsku osjetljivost i specifičnost u odnosu na PAPA citologiju radi otkrivanja HSIL-a.<sup>17</sup>

## 6. LIJEČENJE PREINVAZIVNIH LEZIJA

Dva su osnovna pristupa u liječenju preinvazivnih lezija vrata maternice. Prvi pristup podrazumijeva kontinuirano praćenje pacijentica s lezijama niskog stupnja uz citologiju, testiranje na HPV i kolposkopiju. Nasuprot tome, kod pacijentica s visokim stupnjem lezija koje perzistiraju, liječenje podrazumijeva eksciziju ili ablaciju displastične promjene. Rijetko je metoda izbora histerektomija kao definitivna metoda.<sup>34</sup>

Studije su pokazale da se preinvazivne lezije vrata maternice sve češće javljaju kod žena reproduktivne dobi koje još nisu rodile. Stoga prevladava stav o što je moguće poštenijem liječenju koje će umanjiti mogućnost značajnih ili trajnih posljedica na reproduktivnu funkciju.<sup>6</sup> Obzirom na značajnu vjerojatnost spontane regresije nalaza te koja kod CIN1 iznosi i do 60% te kod CIN2/3 u prosjeku oko 35% prvi je korak obrada vrata maternice mikrobiološki i liječenje eventualno prisutne infekcije.<sup>19</sup> U slučaju prisutnosti visokorizičnih tipova HPV-a potrebno je učiniti kolposkopiju, a ovisno o nalazu kolposkopije i dijagnostičku biopsiju ili eksciziju sumnjive lezije. Preporuka je da se nakon biopsije ponovno napravi citološko-kolposkopska kontrola unutar 8-12 tjedana.<sup>7,36</sup> Različito se pristupa perzistirajućem nalazu CIN1 i CIN2 ovisno o tipu HPV-a, odnosno njegovom onkogenom potencijalu. Ukoliko je riječ o visokorizičnom tipu HPV-s kod nalaza CIN1 i CIN2 preporuča se kolposkopija. Nasuprot tome, u slučaju nalaza CIN1 i niskorizičnog tipa HPV-a, a obzirom na visoku mogućnost regresije, praćenje može biti i dvije godine. Kod perzistirajućeg nalaza CIN2 i CIN3 preporuka je odmah krenuti s liječenjem, a metoda liječenja ovisi o dobi, paritetu i kolposkopskom nalazu.<sup>32</sup> Terapijske metode u prvom redu podrazumijevaju kirurško liječenje jer zasad ne postoji učinkoviti lijek protiv HPV-a.<sup>6</sup>

U slučaju perzistencije teške displazije: CIN 2/3, kao i kod nalaza CIN1 i CIN2 uz visokorizični tip HPV-a koji se ne mijenja više od 12 mjeseci, preporučuje se konizacija. U slučaju da promjena nije odstranjena u cijelosti može se učiniti rekonizacija ili rjeđe histerektomija.<sup>32</sup>

## **6.1. LOKALNODESTRUKTIVNE METODE LIJEČENJA**

Lokalnodestruktivne metode imaju za cilj uništenje promijenjenog epitela. Međutim, korištenjem tih metoda se ne dobiva uzorak tkiva za patohistološku analizu tako da se ne može utvrditi je li displastični epitel odstranjen u cijelosti i kojeg je bio stupnja abnormalnosti. Iz tog razloga se te metode mogu primjenjivati jedino kada su ispunjeni određeni uvjeti: promjene su u potpunosti vidljive kolposkopski, pretežno su smještene na egzocerviksu, a SKG je vidljiva u cijelosti. U lokalnodestruktivne metode ubrajamo: krioterapiju, lasersku vaporizaciju, hladnu koagulaciju i radikalnu dijatermiju.<sup>7,36</sup> Korištenje ovih metoda smatra se učinkovitim obzirom na niske stope perzistencije i recidiviranje bolesti tijekom 7 ili više godina nakon liječenja i iznose manje od 10%. Usprkos visokim stopama uspjeha, nedostatak primjene ovih metoda je činjenica kako nema uzorka za patohistološku analizu pa se CIN2/3 ili već postojeći karcinom mogu previdjeti. Pojava komplikacija nakon lokalnodestruktivne terapije je niska, iznosi približno 1-2 %. Također, niži je rizik pojave opstetričkih komplikacija kao što je na primjer preuranjeni porođaj.<sup>35</sup>

### **6.1.1 KRIOTERAPIJA**

Krioterapija predstavlja metodu koja podrazumijeva nekrotični učinak niske temperature na tkivo zahvaćeno lezijom. Sam proces pothlađivanja se postiže hlađenjem tekućeg dušika (N<sub>2</sub>O) koji pod tlakom izlazi kroz mali otvor na kriosondi i dosegne temperaturu od -180°C. Zbog izrazito niske temperature dolazi do kristalizacije vode u stanicama i samim time njihova uništavanja. Kriosonda treba biti odgovarajuća, odnosno mora pokrivati cijelu promjenu i prisloniti se na egzocerviks. Smrzavanje se vrši sve dok se ne stvori ledeni pokrov koji se širi i od 4 do 5 mm od samog ruba sonde. Može se raditi dvostruki proces smrzavanja kojim se nakon prvog stvaranja ledenog pokrova pričekava 4-5 minuta do sljedećeg ponavljanja smrzavanja.<sup>7</sup> Izvodi se ambulatno i ne zahtjeva anesteziju. Moguće komplikacije su uglavnom prihvatljive i u najvećem broju se radi o vaginalnom iscjetku ili točkastom krvarenju. Rijetko se pojave ozbiljnije komplikacije poput upale ili jakih krvarenja.<sup>37</sup> Bolesnice bi kontrolni pregled trebale obaviti u rasponu od 7 do 14 dana kako bi se prevenirale ili liječile eventualne komplikacije. Smatra se nepovoljnom za veće lezije pa zato i nije metoda izbora za CIN 2/3.<sup>7</sup>

### **6.1.2 CO2 LASERSKA VAPORIZACIJA**

Laser je skupa visokostratificirana metoda koja se može koristiti kao lokalnodeduktivna metoda liječenja – CO2 laserska vaporizacija, ali i kao CO2 laserska konusna biopsija koja je ekscizijska metoda. CO2 laserska zraka posebno je dobro prilagođena za djelomično uništenje CIN-a. Laserska zraka je promjera od 0,5 do 2 mm, a valna duljina iznosi 10.6 µm. Pretežno se apsorbira u intracelularnoj i ekstracelularnoj tekućini uz minimalne gubitke energije pri čemu je neželjeni prodor dublje u tkiva sveden na minimum. Tehnika lasera vrlo je precizna i omogućuje maksimalnu točnost pri određivanju dubine destrukcije stoga se primjenjuje i kod liječenja lezija na rodnici. Jedna od prednosti ove tehnike je razmjerno brzo cijeljenje i epitelizacija koje se postiže unutar 3 tjedna, obzirom da uzrokuje iznimno malu nekrozu podležeg tkiva. Izvodi se ambulantno uz primjenu lokalne anestezije pod kontrolom kolposkopa.

Studije su pokazale da stopa izlječenja korištenjem ove tehnike iznosi oko 92%. Novije studije potvrđuju nisku stopu komplikacija (postoperativno krvarenje, cervikalna stenoza i infekcija) u 4% slučajeva.<sup>7,36</sup>

### **6.2.EKSCIZIJSKE METODE**

Provode se pod kontrolom kolposkopije u svrhu minimaliziranja mogućnosti pretjeranog ili nedovoljnog uklanjanja promijenjenog tkiva, kako bi se umanjila mogućnost oštećenja uzetog uzorka za histološku obradu. U ovakvom obliku liječenja potrebno je u potpunosti odstraniti TZ, a ne samo lezije. Optimalna dubina ekscizije je oko 7 mm zato što i najdublje žljezdane kripte mogu sadržavati displastične promjene. Prednost ekscizijskih metoda liječenja u odnosu na lokalnodeduktivne je upravo mogućnost patohistološke analize uzorka, pri čemu se postavlja i potvrđuje konačna dijagnoza. Također, omogućuju procjenu zadovoljavajućih rubova. U ekscizijske metode liječenja CIN-a ubrajaju se: konizacija nožem, CO2 laserska konusna biopsija i elektrodijatermijska ekscizija.<sup>6,39</sup>

### **6.2.1. KONIZACIJA NOŽEM**

Termini konizacija i konusna biopsija podrazumijevaju kirurške zahvate različitog opsega, od standardnih konusnih biopsija sve do konusne amputacije vrata maternice. Osnovni su ciljevi liječenja CIN-a konizacijom postavljanje točne patohistološke dijagnoze obradom odstranjenog uzorka i mogućnost izlječenja odstranjenjem promjene.

Dijagnostička konizacija indicirana je nakon prethodne citološke i kolposkopske obrade ukoliko:

- Promjena i/ili TZ šire se u cervikalni kanal te se kolposkopski ne mogu uočiti;
- Kolposkopski nalaz je uredan, međutim ponovljeni PAPA-test ukazuje na neoplastične promjene;
- Citološki nalaz ukazuje na jaču promjenu nego što se doima na temelju kolposkopskog nalaza i prethodne ciljane biopsije;
- Svaka sumnja na mikroinvazivnu bolest bilo na osnovi citološkog, kolposkopskog nalaza ili ciljane biopsije;
- Citologija ukazuje na atipiju cilindričnog epitela uključujući CGIN ili adenokarcinom in situ (AIS);
- Pozitivan nalaz endocervikalne kiretaže. <sup>6</sup>

Optimalna konizacija podrazumijeva odstranjenje lezije, TZ i barem trećine cervikalnog kanala. Problem može stvarati CIN koji zahvaća i žljezdane kripte. Zato ukoliko je vrh konusa preuzak ili preplitak zahvaćene kripte mogu biti prerezane te zaostati rezidualne promjene. To bi se teoretski moglo izbjeći kada bi se odstranjivao više cilindričan komad tkiva odnosno čunjasti konus. Konizacija nožem se u pravilu izvodi u općoj anesteziji. Nakon odstranjenja tkiva slijedi uspostava hemostaze jednom od brojnih tehnika postavljanja šavova. Neke metode podrazumijevaju podvezivanje cervikalnih ogranaka uterine arterije i infiltriranje vrata maternice vazokonstriksijskim sredstvima, nakon čega slijedi elektrokoagulacija i tamponada bez šivanja epitela. Smatra se da se optimalno cijeljenje i reepitelizacija postižu upravo korištenjem tehnika bez šavova, jer šavovi potiču stvaranje ožiljaka i deformaciju egzocerviksa. Poslijeoperacijski boravak u bolnici obično traje nekoliko dana. Od mogućih komplikacija intraoperativno krvarenje se javlja u otprilike 6% slučajeva, a poslijeoperacijsko do 8%, cervikalna stenoza u oko 17%, infertilitet u 4%, dok se

opstetričke komplikacije javljaju u svega 1% slučajeva.<sup>7,36</sup> Općenito se smatra da je cervikalna konizacija optimalna metoda za liječenje AIS-a i mikroinvazivnih karcinoma jer je u tim slučajevima potrebna odgovarajuća kontrola dubine ekscizije što je teško postići korištenjem drugih metoda.<sup>39</sup>

### **6.2.2. CO2 LASERSKA KONUSNA BIOPSIJA**

Radi se o zahvatu koji se izvodi ambulantno, u lokalnoj anesteziji uz dobivanje tkivnog preparata. Komplikacije zahvata kao što su krvarenje, infekcije i cervikalna stenoza učestalošću ne odstupaju značajno od onih kod laserske vaporizacije. Cijeljenje i epitelizacija egzocerviksa prilikom korištenja ove metode odvijaju se u razmjerno kratkom roku.<sup>7,36</sup> Laserska se konizacija također može izvoditi i pod općom anestezijom. Visokofokusirana laserska zraka omogućuje cirkumferencijsku konusnu eksciziju na egzocerviksu dubine 1 cm. Nakon toga se hemostaza može postići laserskom koagulacijom. Ograničavajući čimbenik laserske konizacije je činjenica da se uzorak može termički oštetiti i pritom otežati histološku verifikaciju rubova. Studije su pokazale da uspješnost liječenja laserskom konizacijom iznosi oko 93-96%. Prednosti korištenja ove metode su što omogućuje preciznije određivanje veličine koničnog uzorka, neznatan gubitak krvi u većini slučajeva, a trauma cerviksa je manja u usporedbi s konizacijom nožem. Neke studije su pokazale da mnogo manje ostalih promjena ima nakon izvođenja laserske konizacije u odnosu na konizaciju nožem. Laserska konizacija u usporedbi s LLETZ-om pokazala je statistički značajno dulje trajanje zahvata, veću perioperacijsku bol, značajno više termičkog oštećenja uzorka i manje zadovoljavajućih kontrolnih nalaza kolposkopije.<sup>38</sup>

### **6.2.3. EKSCIZIJA NISKOVOLTAŽNOM DIJATERMIJSKOM PETLJOM**

U usporedbi s ostalim ekscizijskim metodama, ekscizija niskovoltaznom dijatermijskom petljom (*eng. Loop Excision of Transformation Zone*) predstavlja pošteniju metodu liječenja. Obzirom da se CIN sve češće javlja kod mlađih bolesnica, upravo je to najčešće izvođena metoda liječenja. Uporaba elektrodijatermijske ekscizije malom petljom prvi put je opisana 80-ih godina prošlog stoljeća. Nešto kasnije u upotrebu dolaze petlje većeg promjera kojima su omogućavale odstranjenje cjelokupne TZ u

jednom potezu pa se ta metoda nazvala LLETZ (*eng. Large Loop Excision of Transformation Zone*). Ubrzo nakon toga prihvaćena je i od strane sjevernoameričkih autora, ali pod nazivom LEEP (*eng. Loop Electrosurgical Excision Procedure*). Zahvat se temelji na monopolarnoj niskovoltažnoj visokofrekventnoj izmjeničnoj struji kojom se postiže vaporizacija stanica duž linije reza. Istodobno dolazi do rezanja tkiva i koagulacije čime je postignuta odgovarajuća hemostaza. Također, moguća je daljnja patohistološka obrada odstranjenog tkiva i samim time procjena težine lezije i verifikacija rubova. U odnosu na ostale metode, termička oštećenja uzorka su manja i bolja je patohistološka procjena. Metoda se koristi kako u dijagnostičke tako i u terapijske svrhe, a po opsežnosti zahvata varira od male biopsije pa sve do ekscizije TZ u cijelosti. Opsežnost zahvata ovisi o veličini i proširenosti lezije. Ukoliko su promjene ograničene na egzocerviksu dovoljno je liječenje LLETZ-om.

Indikacije za LLETZ podrazumijevaju:

- Svi stupnjevi CIN-a dokazani biopsijom;
- Citološki nalaz perzistirajućeg SIL-a;
- Kolposkopski abnormalni nalaz na kojem nema znakova invazije.

Kontraindikacije za LLETZ su:

- Nalaz endocervikalne kiretaže koji je pozitivan;
- Endocervikalna granica se ne vidi kolposkopski;
- Klinički dokazan invazivni karcinom cerviksa;
- Koagulopatije;
- Trudnoća;
- Teški cervicitis;
- Babinje i prva 3 mjeseca postpartalno;
- Nejasne abnormalnosti cerviksa.

Ukoliko se lezija širi u kanal vrata maternice može se koristiti kombinacija LLETZ-a i male petlje za eksciziju cervikalnog kanala kako bi se učinila konusna biopsija. Studije su pokazale da je stopa izlječenja prilikom korištenja LLETZ-a visoka, a iznosi do 97%.<sup>7,36</sup>



Neke studije su pokazale da bi LLETZ mogao imati negativan utjecaj na trudnoću. Pokazalo se da žene liječene LLETZ-om češće imaju spontane prijevremene porođaje i taj rizik je povezan sa duljinom cerviksa mjerenim tijekom trudnoće.<sup>41</sup>

U razvijenim zemljama, ekscizijske metode liječenja (osobito LLETZ), uvelike zamjenjuju lokalnodeduktivne metode. LLETZ se smatra lako dostupnom, jednostavno primjenjivom, jeftinom i brzom metodom liječenja.<sup>38</sup>

#### **6.2.4. HISTEREKTOMIJA**

Sve do 70-tih godina prošlog stoljeća histerektomija je bila metoda izbora za liječenje većine preinvazivnih lezija visokog stupnja. Ova operacija zahtjeva opću anesteziju i hospitalizaciju tijekom nekoliko dana te može dovesti do značajnog morbiditeta.<sup>43</sup>

Danas je terapija izbora samo u pojedinim slučajevima. Ukoliko se radi o pacijenticama s dokazanim CIN-om u peri- i postmenopauzi a imaju pridruženu ginekološku patologiju kao što je:

- Simptomatski lejomiom maternice;
- Descensus maternice s inkontinencijom;
- Nepravilna krvarenja koja ne odgovaraju adekvatno na hormonsko liječenje;
- Adneksalni tumori.<sup>6</sup>

Kod mladih žena ovakvom liječenju se pristupa ukoliko su iscrpljene sve ostale terapijske mogućnosti liječenja CIN promjena.<sup>7,36</sup> Histerektomija bi se mogla provoditi kao oblik liječenja samo ako je prethodno sa sigurnošću isključen invazivan tumor (37).

### **6.3 PERZISTENCIJA HPV INFEKCIJE NAKON KIRURŠKOG TRETMANA**

Rezultati jedne studije su pokazali da je 9% žena ostalo pozitivno na iste tipove HPV-a nakon godinu dana od kirurškog tretmana. U većini slučajeva se pokazalo da kirurško liječenje rezultira uklanjanjem HPV infekcije u roku od 3 mjeseca.<sup>54</sup>

Druga je studija promatrala perzistenciju visokorizičnih tipova HPV-a nakon 6 mjeseci primjene LETZ metode. U 35% slučajeva detektiran je HR-HPV u kontrolnom obrisku, od čega je u 25% žena pronađen isti tip HPV-a kao i prije zahvata, dok je u njih 15% nađen novi tip HPV-a - 62% novodetektiranih tipova HPV-a činio je HPV 18. Smatra se da je visoka prisutnost novootkrivenih genotipova HPV 18 rezultat otpuštanja i ponovne aktivacije virusa iz proksimalnih slojeva cervikalnog kanala prilikom rezanja tijekom operacije. HPV infekcije otkrivene nakon LLETZ-a stoga mogu predstavljati HPV genotipove koji više prevladavaju u proksimalnim slojevima cerviksa.<sup>55,56</sup>

Iako je u stanju postići nisku stopu recidiva CIN-a visokog stupnja, laserska konizacija s CO<sub>2</sub> ne uklanja HPV infekciju u potpunosti iz vrata maternice. Naime, jedna je studija pokazala da je stopa perzistentne infekcije HPV-om nakon laserske konizacije za CIN 3 bila otprilike 20%, a 46% ovih bolesnica s perzistentnom HPV infekcijom razvile su recidiv CIN-a 4 do 10 mjeseci nakon postupka. Nasuprot tome, nijednoj od bolesnica kojima je nakon laserske konizacije iskorijenjena infekcija HPV-om nije se razvila recidivna bolest.<sup>57</sup> Čini se da je testiranje na HPV dragocjeno sredstvo za praćenje terapijskih rezultata konizacije čime bi se prepoznale bolesnice koje potencijalno imaju veći rizik od recidiva bolesti.<sup>58</sup>

## 7. ŽIVOTOPIS

Iva Škrabić, rođena je 15. rujna 1994. u Zagrebu gdje je i pohađala osnovnu školu „Ante Kovačića“. Završila je opći smjer Gimnazije Lucijana Vranjanina. Redovno studira na Medicinskom fakultetu u Zagrebu od 2013. godine. Bila je demonstrator iz anatomije i patofiziologije. Sudjelovala je na brojnim medicinskim kongresima i simpozijima s naglaskom na: sudjelovanje na pedijatrijskom kongresu održanom u Šibeniku 2019. godine pod nazivom „Racionalna dijagnostika i liječenje“, koautor i prezentator je postera pod naslovom „Clinical Presentation of Hospitalized Adults With Herpes Zoster: a 22-Year Single-Centre Experience“ predstavljenim na vodećem europskom kongresu infektologije i kliničke mikrobiologije ECCMID u Amsterdamu. Osim toga, koautor je 2 rada objavljena u Infektološkom glasniku pod naslovom „Prednosti i nedostaci cijepljenja protiv vodenih kozica i herpes-zostera“ i „Prikaz bolesnice oboljele od sindroma akutne retinalne nekroze“. Suosnivač je i voditelj Studentske sekcije za infektologiju Medicinskog fakulteta u Zagrebu. Od 2018. godine radi na sveučilišnim utakmicama kao Student-bolničar, osim toga bila je član medicinskog tima na utakmicama „STEM games-a“ održanim u Poreču 2019. Dugi niz godina bavi se volonterskim aktivnostima edukativnog i humanitarnog karaktera. Tečno priča engleski i služi se osnovama njemačkog jezika. Služi se osnovnim znanjem informatike.

## **8. ZAHVALE**

Zahvaljujem svom mentoru, doc. dr. sc. Tomislavu Župiću, na stručnom vodstvu i savjetima pruženima tijekom izrade ovog diplomskog rada.

Zahvaljujem svojim roditeljima, ocu Ivi, mami Draženi, braći Dinku i Filipu te sestri Mariji koji su mi pružali konstantnu podršku tijekom cijelog školovanja. Zahvaljujem svojim prijateljicama koje su također budno pratile i veselile se uz moje uspjehe, a bile su mi stalna potpora i snaga u svim mojim lijepim i onim najtežim trenucima. Također, velika zahvala prof. dr. sc. Daliboru Vukeliću koji je mentorirao rad sekcije i istraživanje koje smo provodili na Klinici za infektivne bolesti.

## 9. LITERATURA

- 1 Ober KG, Kaufman C, Hampler H. [Carcinoma in situ, beginning carcinoma and clinical cancer of the cervix uteri. It's diagnosis and therapy and its influence on results of cancer therapy]. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 1961 Mar;21:259-97.
- 2 Epidemiology of infection:human papillomaviruses. *Carcinog Risk Chem Hum* 1995;64:60-5. IARC.
- 3J Thomas Cox, MD, Joel M Palefsky, MD Human papillomavirus vaccination UpToDate [Internet]. UpToDate. 2017 [cited 2019 May 19].
- 4 Toivonen T, Nieminen P, Tarkkanen J, Timonen T, Krogerus L, Klemi P. Cytopathology in Finland. *Cytopathology.* 2005 Aug;16(4):210-4
- 5 Fanghanel J, Pera F, Anderhuber F, Nitsch R. *Waldeyerova anatomija čovjeka.* 1. hrvatsk. Vinter I, editor. Zagreb: GOLDEN MARKETING-TEHNIČKA KNJIGA; 2009. 1069-1075 p.
- 6 Velimir Šimunić i suradnici. *Ginekologija, Srećko Ciglar i Ernest Suchanek;* 2001. 412-427 p.
- 7 Ljubojević N. Dobročudne promjene vrata maternice. In: Ciglar S, Suchanek E, editors. *Ginekologija.* Zagreb: Naklada Ljevak; 2001. p. 408–28.
- 8 Reich O, Regauer S, McCluggage WG, Bergeron C, Redman C. Defining the Cervical Transformation Zone and Squamocolumnar Junction: Can We Reach a Common Colposcopic and Histologic Definition? *Int J Gynecol Pathol.* 2017;
- 9 Jelena Mirkovic,<sup>1</sup> Brooke E Howitt,<sup>1</sup> Patrick Roncarati,<sup>2</sup> Stephanie Demoulin,<sup>2</sup> Meggy Suarez-Carmona,<sup>2</sup> Pascale Hubert,<sup>2</sup> Frank D McKeon,<sup>3</sup> Wa Xian,<sup>3</sup> Anita Lee,<sup>1</sup> Philippe Delvenne,<sup>2</sup> Christopher P. Crum,<sup>1,\*</sup> and Michael Herfs<sup>2</sup> Carcinogenic HPV infection in the cervical squamo-columnar junction *J Pathol.* Author manuscript; available in PMC 2016 Jul 1. Published in final edited form as *J Pathol.* 2015 Jul; 236(3): 265–271.
- 10 Smilja Kalenić i suradnici: *Medicinska mikrobiologija; Medicinska naklada, Zagreb, 2013.* p. 359-61.
- 11 Joel M Palefsky, MD Virology of human papillomavirus infections and the link to cancer UpToDate [Internet]. UpToDate. 2017 [cited 2018 May 19]. Available from:
- 12 MUNOZ N, BOSCH FX, de SANJOSE S, HERRERO R, CASTELLSAGUE X, SHAH KV i sur. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348:518-27. 9.

13 MUNOZ N, CASTELLSAGUE X, de GONZALEZ AB, GISSMAN L, CHAPER I. HPV in etiology of human cancer. *Vaccine* 2006;24(Suppl3):S1-7..

14 STANLEY M. Immune response to human papillomavirus. *Vaccine* 2008;24:16-22.

15 Shunsuke Kato, Shuang-Yin Han, Wen Liu, Kazunori Otsuka, Hiroyuki Shibata, Ryunosuke Kanamaru, and Chikashi Ishioka Understanding the function–structure and function–mutation relationships of p53 tumor suppressor protein by high-resolution missense mutation analysis *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Jul 8; 100(14): 8424–8429.

16 MALLORY E. HARDEN<sup>A,B</sup> AND KARL MUNGER<sup>B</sup> HUMAN PAPILLOMAVIRUS MOLECULAR BIOLOGY *MUTAT RES. AUTHOR MANUSCRIPT; AVAILABLE IN PMC* 2018 APR 1. PUBLISHED IN FINAL EDITED FORM AS: *MUTAT RES.* 2017 APR-JUN; 772: 3–12.

17 MITRA A<sup>1</sup>, TZAFETAS M<sup>2</sup>, LYONS D<sup>3</sup>, FOTOPOULOU, PARASKEVAIDIS E<sup>4</sup>, KYRGIU M<sup>5</sup> CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA: SCREENING AND MANAGEMENT. *BR J HOSP MED (LOND)*. 2016 AUG 2;77(8):C118-23.

18 Mingzhu Liu,<sup>1,2</sup> Xiaolong Yan,<sup>1,2</sup> Mei Zhang,<sup>1,2</sup> Xiaoju Li,<sup>1,2</sup> Shugang Li,<sup>1,2</sup> \* and Mingxia Jing<sup>1</sup> Influence of Human Papillomavirus Infection on the Natural History of Cervical Intraepithelial Neoplasia 1: A Meta-Analysis *Biomed Res Int*. 2017; 2017: 8971059.

19 Jason D Wright, MD, Barbara Goff, MD, Vanessa A Barss, MD, FACOG Cervical intraepithelial neoplasia: Terminology, incidence, pathogenesis, and prevention update

20 Waxman AG, Chelmow D, Darragh TM, et al. Revised terminology for cervical histopathology and its implications for management of high-grade squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Obstet Gynecol* 2012; 120:1465.

21 MINGZHU LIU,<sup>1,2</sup> XIAOLONG YAN,<sup>1,2</sup> MEI ZHANG,<sup>1,2</sup> XIAOJU LI,<sup>1,2</sup> SHUGANG LI,<sup>1,2</sup> \* AND MINGXIA JING<sup>1,2</sup> Influence of Human Papillomavirus Infection on the Natural History of Cervical Intraepithelial Neoplasia 1: A Meta-Analysis *Biomed Res Int*. 2017; 2017: 8971059

22 Audy-Jurkovic S. Ginekološka citologija (dijagnostika). In: Ciglar S, Suchanek E, editors. *Ginekologija*. Zagreb; 2001. p. 151–60.

23 National Cancer Institute Workshop: The Bethesda System 2001.

24 Eun Kyung Hong, Jong Hee Nam, Moon Hyang Park The Bethesda System 2001 Workshop Report. *The Korean Journal of Cytopathology* 2001;12(1): 1-15.

25 Bansal N, Wright JD, Cohen CJ, Herzog TJ. Natural history of established low grade cervical intraepithelial (CIN 1) lesions. *Anticancer Res* 2008; 28:1763.

26 Tainio K, Athanasiou A, Tikkinen KAO, et al. Clinical course of untreated cervical intraepithelial neoplasia grade 2 under active surveillance: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2018; 360:k499.

27 Ingrid Baasland,<sup>1</sup> Bjørn Hagen,<sup>2,3</sup> Christina Vogt,<sup>3,4</sup> Marit Valla,<sup>1,4</sup> and Pål R. Romundstad<sup>1</sup> COLPOSCOPY AND ADDITIVE DIAGNOSTIC VALUE OF BIOPSIES FROM COLPOSCOPY-NEGATIVE AREAS TO DETECT CERVICAL DYSPLASIA *ACTA OBSTET GYNECOL SCAND.* 2016 NOV; 95(11): 1258–1263.

28 Barišić D. Biopsija u ginekologiji (dijagnostika). In: Ciglar S, Suchanek E, editors. *Ginekologija*. Zagreb: Naklada Ljevak; 2001. p. 129–35.

29 Walker P, 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(1):175–7.

30 Khan MJ<sup>1</sup>, Werner CL, Darragh TM, Guido RS, Mathews C, Moscicki AB, Mitchell MM, Schiffman M, Wentzensen N, Massad LS, Mayeaux EJ Jr, Waxman AG, Conageski C, Einstein MH, Huh WK. ASCCP Colposcopy Standards: Role of Colposcopy, Benefits, Potential Harms, and Terminology for Colposcopic Practice. *J Low Genit Tract Dis.* 2017 Oct;21(4):223-229.

31 INGRID BAASLAND,<sup>1</sup> BJØRN HAGEN,<sup>2,3</sup> CHRISTINA VOGT,<sup>3,4</sup> MARIT VALLA,<sup>1,4</sup> AND PÅL R. ROMUNDSTAD<sup>1</sup> Colposcopy and additive diagnostic value of biopsies from colposcopy-negative areas to detect cervical dysplasia *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2016 Nov; 95(11): 1258–1263.

32 Ljubojevic N, Babic S, Audy-Jurkovic S, Ovanin-Rakic A, Jukic S, Babic D, et al. Improved national Croatian diagnostic and therapeutic guidelines for premalignant lesions of the uterine cervix with some cost-benefit aspects. *Coll Antropol.* 2001;25(2):467–74.

33 Massad LS, Einstein MH, Huh WK, Katki HA, Kinney WK, Schiffman M, Solomon D, Wentzensen N, Lawson HW., 2012 ASCCP Consensus Guidelines Conference. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *J Low Genit Tract Dis.* 2013 Apr;17(5 Suppl 1):S1-S27.

34 Jason D Wright, MD, Cervical intraepithelial neoplasia: Management of low-grade and high-grade lesions UpToDate [Internet]. UpToDate. <https://www.uptodate.com/contents/cervical-intraepithelial-neoplasia-management-of-low-grade-and-high-grade-lesions?csi=15e184b6-b57c-43fa-84ac-e84c21a25582&source=contentShare>

35 Taylor NP. Cervical intraepithelial neoplasia: Ablative therapies - UpToDate [Internet]. UpToDate. 2017 [cited 2018 May 19]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/cervical-intraepithelial-neoplasia-ablative-therapies>

36 Čorušić A, Babić D, Šamija M, Šobat H. *Ginekološka onkologija*. Zagreb; 2005. 162-181 p.

- 37 Bishop A<sup>1</sup>, Sherris J, Tsu VD, Kilbourne-Brook M. Cervical dysplasia treatment: key issues for developing countries. *Bull Pan Am Health Organ.* 1996 Dec;30(4):378-86.
- 38 Pierre PL M-H, Paraskevaidis E, Kitchener HC. Surgery for cervical intraepithelial neoplasia. *Cochrane Database Syst Rev [Internet].* 1999;(3). Available from: <http://www.thecochranelibrary.com>
- 39 Connor JP, Hartenbach EM. Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia. *Glob Libr Women's Med [Internet].* 2009; Available from: [http://www.glowm.com/index.html?p=glowm.cml/section\\_view&articleid=228](http://www.glowm.com/index.html?p=glowm.cml/section_view&articleid=228)
- 40 (Giles J, Walker P, Chalk PA. Treatment of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) by radical electrocoagulation diathermy: 5 years' experience.- [Internet]. *Br J Obstet Gynaecol.* 1987 [cited 2018 May 21]. p. 1089–93. Available from: <https://www.clinicalkey.com/#!/content/medline/2-s2.0-348437531>). 18
- 41 Poon LCY, Savvas M, Zamblera D, Skyfta E, Nicolaides KH. Large loop excision of transformation zone and cervical length in the prediction of spontaneous preterm delivery. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2012;119(6):692–8.
- 42 van der Heijden E, Lopes A, Bryant A, Bekkers R, Galaal K. Follow-up strategies after treatment ( large loop excision of the transformation zone ( LLETZ )) for cervical intraepithelial neoplasia ( CIN ): Impact of human papillomavirus ( HPV ) test ( Review ). *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;(1).
- 44 Castle PE, Murokora D, Perez C, Alvarez M, Quek SC, Campbell C. Treatment of cervical intraepithelial lesions. *Int J Gynecol Obstet.* 2017;
- 45 Kesic V, Dokic M, Atanackovic J, Milenkovic S, Kalezic I, Vukovic S. Hysterectomy for Treatment of CIN. *J Low Genit Tract Dis [Internet].* 2003 Jan [cited 2018 May 29];7(1):32–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17051042>
46. Wang H. H., Chen L., Chen M., Wu L. L., Li J. P. Significance of high risk human papillomavirus monitoring in follow-up of cervical intraepithelial neoplasia? *Maternal and Child Health Care of China.* 2012;27(6):820–822.
- 47 Persistence and load of high-risk HPV are predictors for development of high-grade cervical lesions: a longitudinal French cohort study. Dalstein V, Riethmuller D, Pr  tet JL, Le Bail Carval K, Sauti  re JL, Carbillet JP, Kantelip B, Schaal JP, Mougin C *Int J Cancer.* 2003 Sep 1; 106(3):396-403.
- 48 Huang L.-W., Lin Y.-H., Pan H.-S., Seow K.-M., Lin C.-Y. Human papillomavirus genotyping as a predictor of high-grade cervical dysplasia in women with mildly cytologic abnormalities: a two-year follow-up report. *Diagnostic Cytopathology.* 2012;40(8):673–677.
- 49 Sarah R. Hoffman,<sup>1</sup> Tam Le,<sup>2</sup> Alexandre Lockhart,<sup>1</sup> Ayodeji Sanusi,<sup>3</sup> Leila Dal Santo,<sup>3</sup> Meagan Davis,<sup>4</sup> Dana A. McKinney,<sup>5</sup> Meagan Brown,<sup>4</sup> Charles Poole,<sup>1</sup> Corinne



Willame,<sup>6</sup> and Jennifer S. Smith<sup>1,7</sup> Patterns of persistent HPV infection after treatment for cervical intraepithelial neoplasia (CIN): A systematic review *Int J Cancer*. 2017 Jul 1; 141(1): 8–23.

50 Chan JK, Monk BJ, Brewer C, et al. HPV infection and number of lifetime sexual partners are strong predictors for 'natural' regression of CIN 2 and 3. *Br J Cancer* 2003; 89:1062.

51 American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin number 66, September 2005. Management of abnormal cervical cytology and histology. *Obstet Gynecol* 2005; 106:645.

52 McIndoe WA, McLean MR, Jones RW, Mullins PR. The invasive potential of carcinoma in situ of the cervix. *Obstet Gynecol* 1984; 64:451.

53 McCredie MR, Sharples KJ, Paul C, et al. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: a retrospective cohort study. *Lancet Oncol* 2008; 9:425.

54 Kristina Elfgren, MD, Marcel Jacobs, MD, Jan M. M. Walboomers, PhD, † Chris J. L. M. Meijer, MD, PhD, and Joakim Dillner, MD, PhD  
Rate of Human Papillomavirus Clearance After Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia

55 Sarian LO<sup>1</sup>, Derchain SF, Pitta Dda R, Morais SS, Rabelo-Santos SH. *J Clin Virol*. Factors associated with HPV persistence after treatment for high-grade cervical intraepithelial neoplasia with large loop excision of the transformation zone (LLETZ). 2004 Dec;31(4):270-4.

56 van Ham MA<sup>1</sup>, van Hamont D, Bekkers RL, Bulten J, Melchers WJ, Massuger LF. High-risk HPV presence in cervical specimens after a large loop excision of the cervical transformation zone: significance of newly detected hr-HPV genotypes. *J Med Virol*. 2007 Mar;79(3):314-9.

57 Nagai Y<sup>1</sup>, Maehama T, Asato T, Kanazawa K. Persistence of human papillomavirus infection after therapeutic conization for CIN 3: is it an alarm for disease recurrence? *Gynecol Oncol*. 2000 Nov;79(2):294-9.

58 Fallani MG<sup>1</sup>, Penna C, Marchionni M, Bussani C, Pieralli A, Andersson KL, Fambrini M. Prognostic significance of high-risk HPV persistence after laser CO2 conization for high-grade CIN: a prospective clinical study. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2008;29(4):378-82.