Vrijednost genotipizacije humanoga papiloma virusa u praćenju bolesnica s premalignim promjenama i početnim karcinomom vrata maternice nakon liječenja konizacijom

Banović, Maja

Doctoral thesis / Disertacija

2016

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:101378

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Maja Banović

Vrijednost genotipizacije humanoga papiloma virusa u praćenju bolesnica s premalignim promjenama i početnim karcinomom vrata maternice nakon liječenja konizacijom

DISERTACIJA

Zagreb, 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Maja Banović

Vrijednost genotipizacije humanoga papiloma virusa u praćenju bolesnica s premalignim promjenama i početnim karcinomom vrata maternice nakon liječenja konizacijom

DISERTACIJA

Zagreb, 2016.

Disertacija je izrađena u Klinici za ženske bolesti i porode, Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Damir Babić, dr. med.

Zahvaljujem mentoru prof. dr. sc. Damiru Babiću na uloženom trudu i vremenu pri izradi ovog rada.
Posebno zahvaljujem dr. sc. Kristini Meljanac Salopek i dr. sc. Mariji Mišić
Rad je ostvaren u suradnji s ginekološkim kirurzima Klinike te kolegama s Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KBC-a Zagreb.
Zahvaljujem mojoj obitelji na pomoći i razumijevanju.

Mojim roditeljima Draženu i Gordani

SADRŽAJ

1. UVOD 1

1.1. Preinvazivne promjene vrata maternice 1

1.2. Humani papiloma virus (HPV) 11

1.3. Kirurško liječenje i praćenje operiranih bolesnica 19

1.4. Superficijalni invazivni karcinom vrata maternice pločastog epitela 26

2. HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA 30

2.1. Hipoteza 30

2.2. Ciljevi istraživanja 30

3. ISPITANICE I METODE 31

3.1. Tekuća citologija 32

3.2. Detekcija HPV DNK 34

3.2.1. AMPLICOR 34

3.2.2. Inno-LiPA 35

3.3. Statističke metode 36

4. REZULTATI 38

5. RASPRAVA 68

6. ZAKLJUČCI 78

7. SAŽETAK 79

8. SUMMARY 80

9. LITERATURA 81

10. ŽIVOTOPIS 105

Kratice

HPV – humani papiloma virus

CIN – cervikalna intraepitelna neoplazija

AIS – *adenocarcinoma in situ*

TBS – engl. *The Bethesda system*

HPV-VR DNK test – deoksirubunukleinski test humanoga papiloma virusa visokog rizika

HSIL - skvamozna intraepitelna lezija visokog stupnja

LSIL - skvamozna intraepitelna lezija niskog stupnja

LLETZ – engl. *Large loop excision of transformation zone*

LASER - engl. *Light amplification by stimulated emission of radiation*

LBC – engl. *Liquid based cytology*

1. UVOD

1.1. PREINVAZIVNE PROMJENE VRATA MATERNICE

Prevencija nastanka i otkrivanje zloćudnih bolesti u najranijem stadiju jedna je od najbitnijih zadaća suvremene medicine. Karcinom vrata maternice je na drugom mjestu po učestalosti među zloćudnim bolestima u žena. Šezdesetih godina prošlog stoljeća bio je dijagnosticiran jednoj od 25 žena (1). Žene danas ne bi smjele umirati od tog tipa karcinoma obzirom na mogućnost rane dijagnoze i liječenja preinvazivnih stadija ove bolesti a to su cervikalna intraepitelna lezija (CIN) i *adenocarcinoma in situ* (AIS). U svijetu od karcinoma vrata maternice godišnje oboli oko 530 000 žena, a umre oko 275 000 (2). U Republici Hrvatskoj 2011. godine bilo je 339 novooboljelih, sa stopom pojavnosti od 15,3/100 000 (3). U razvijenim zemljama je stopa pojavnosti u žena mlađih od 20 godina 0,1/100 000, u dobi od 20-24 godine iznosi 1,5/100 000, a značajan porast bilježi se iznad 30. godine sa stopom od 11,0-15,8/100 000 (4). Vrlo razvijene zemlje imaju izrazito niske stope pojavnosti (npr. Finska 2,7/100 000) što je rezultat odlične organizacije medicinske skrbi i adekvatnog liječenja preinvazivnih stadija bolesti prvenstveno pločastog histološkog tipa (5). Učestalost adenokarcinoma vrata maternice je u apsolutnom i relativnom porastu. Relativni udio u ukupnom broju karcinoma vrata maternice sredinom prošlog stoljeća bio je 5%, a danas je 16-25%, s najvećim povećanjem u dobi od 25-49 godina (6-8). Dio stručnjaka smatra kako se povećana učestalost može objasniti i činjenicom da su patohistološke revizije pokazale kako je dio adenokarcinoma prvotno bio dijagnosticiran kao karcinom pločastog epitela (9).

Učestalost preinvazivnih promjena je nepoznata jer u većini zemalja ne postoji registar, niti obveza prijave. Insinga i sur. su u opservacijskom istraživanju na oko 150 000 žena objavili godišnju pojavnost CIN-ova od 2,7/1000 (10). Prema SEER podacima *(engl.*

Surveillance, Epidemiology and End Results) Državnog američkog instituta za istraživanje raka, tek je 1% preinvazivnih promjena vrata maternice dijagnosticirano kao AIS (11). U svakom slučaju radi se o velikom broju bolesnica, većinom generativne dobi koje je potrebno liječiti kako bi se spriječio nastanak karcinoma.

U razdoblju od 1955. do 1976. godine ginekolog Herbert Green proveo je tzv. „nesretni eksperiment". Smatrajući da dijagnosticirane atipične promjene epitela na vratu maternice u smislu *carcinoma in situ* nisu prekursor karcinoma, odustajao je od daljnjeg liječenja svojih bolesnica ili ga je odgađao, bez obzira na kontrolne citološke nalaze. Unatoč neprihvatljivoj metodologiji i neetičnosti tog istraživanja, podaci su pomogli razjasniti povezanost razvoja invazivne bolesti iz *carcinoma in situ*. McIndoe i McCredie su analizom Greenovih podataka pokazali da je nakon primarnog liječenja 30-godišnji rizik za nastanak invazivne bolesti, ukoliko su kontrolni citološki nalazi uredni 0,7% (CI 0,3-1,9), dok je u bolesnica s abnormalnim citološkim nalazom rizik 24,8 puta veći, uz kumulativnu incidenciju karcinoma vrata maternice i svoda rodnice od 31,3% (CI 22,7-42,3) (12,13). Jasno je da cervikalne intraepitelne promjene prethode nastanku karcinoma te da pravovremeno i dostatno liječenje značajno smanjuje mogućnost invazije. Razvidno je također da unatoč abnormalnim citološkim nalazima kod dvije trećine bolesnica neće doći do razvoja karcinoma.

Preinvazivne promjene na vratu maternice i pločastog i cilindričnog tipa, nastaju u zoni transformacije ili uz nju, a uvjetovane su HPV infekcijom pričuvnih (rezervnih) stanica u metaplaziji koje se nalaze uz bazalnu membranu (14). Međutim tek manji broj inficiranih žena razvije intraepitelne promjene jer za njihov razvoj potrebni i kočimbenici – promotori. To su pušenje duhana, rana koitarhe, promiskuitet, rana dob prve trudnoće, višerodilje (≥7 terminskih trudnoća), koinfekcija s HSV-2, Chlamydia trachomatis, HIV, imunosupresija, dugogodišnje uzimanje oralne kontracepcije, specifični genotip HPV-a, koinfekcija s više tipova HPV-a (15-19).

Metaplazija započinje na primarnoj skvamokolumnarnoj granici (SKG) u subkolumnarnim pričuvnim stanicama na vrhu cilindričnih kripti. Podrazumijeva se da je promjena u cijelosti ograničena iznad bazalne membrane. Promjene pločastog epitela su podijeljene u tri histološka stupnja ovisno o debljini zahvaćenog epitela (donja trećina - CIN1, donje dvije trećine - CIN2, više od dvije trećine uključujući i cijelu debljinu epitela - CIN3).

Unatoč jasnoj definiciji, reproducibilnost histološkog nalaza CIN promjena ovisi i o istraživačima i o stupnju promjene. Istraživanje Stolera i sur. pokazalo je značajnu varijabilnost među patolozima. Čak je 41% nalaza CIN-a 1 na reviziji bilo negativno na intraepitelnu promjenu. Revizija je bila visokopodudarna za primarno negativne nalaze (90,8%), ali i za promjene visokog stupnja ≥CIN2 (76,9%). Međutim CIN2 i CIN3 odvojeni u zasebne skupine imaju nisku reproducibilost (20). Stoga se klasificiraju zajedno kao promjene visokog stupnja i tako liječe.

Promjene visokog stupnja se najčešće dijagnosticiraju kod žena u dobi od 25-30 godina i to 1-10 godina nakon HPV infekcije, dok se dijagnoza invazivne bolesti postavlja obično 8-13 godina nakon dijagnoze promjene visokog stupnja (21). Smatra se da CIN nastaje, zatim regredira ili progredira unutar pet godina od primarne HPV infekcije (22). Ostor, Syryanen, Bansal, Cox i njihovi suradnici u svojim su istraživanjima pokazali vjerojatnost spontane progresije, odnosno regresije preinvazivne promjene (Tablica 1) (23-26).

Tablica 1. Vjerojatnost spontane progresije, odnosno regresije CIN-a.

Stupanj promjene	Regresija (%)	Perzistencija (%)	Progresija u CIN 3 (%)	Progresija u karcinom (%)
CIN 1	60	30	10	1
CIN 2	40	40	15	5
CIN 3	33	55	-	> 12

Nije sasvim jasno što utječe na dinamiku tih promjena, ali podaci upućuju da imaju veću tendenciju regresije u mlađoj dobi. U skupini djevojaka u dobi od 18-22 godine CIN2

potvrđen biopsijom unutar 18 mjeseci do tri godine regredira čak u 65-75% slučajeva pa je preporuka da se ova skupina liječi konzervativno (27,28).

Za razliku od karcinoma pločastog epitela kod kojeg postoje jasne preinvazivne promjene različitog stupnja, jedini definirani prekursor u razvoju adenokarcinoma vrata maternice je *adenocarcinoma in situ* (AIS) (29). Prirodni razvoj preinvazivnih promjena cilindričnog epitela je nejasan, a stoga i vjerojatnost njihove regresije odnosno progresije. Jasniji histološki dijagnostički kriteriji koriste se tek zadnjih 15-20 godina (30). Točno se dijagnosticira tek oko 40-60% slučajeva prije konizacije, dok je u 46-72% slučajeva AIS nađen zajedno s CIN-om kao „miješana bolest" (31,32). AIS se najčešće dijagnosticira u dobi od 35-39 godina, dok se „miješana bolest" dijagnosticira 5-6 godina ranije (33). Za promjene pločastog epitela omjer invazivne bolesti u odnosu na preinvazivnu je 1:3, dok je za cilindrični epitel 5:1. Sve to ukazuje na još uvijek nezadovoljavajuće metode ranog otkrivanja i prevencije nastanka adenokarcinoma vrata maternice. Lee i sur. su u svom istraživanju pokazali da je prosječna dob u kojoj se dijagnosticira AIS 37,8 godina a mikroinvazivni adenokarcinom 43 godine, stoga su autori zaključili da AIS prethodi invazivnom adenokarcinomu za otprilike 5 godina (34). Plaxe i sur. su analizom SEER podataka zaključili da preinvazivna faza traje u prosjeku oko 13 godina, dok je taj period za CIN3 17,9 godina (35).

Dijagnoza AIS-a se postavlja patohistološkom analizom konusa. Dokazano je da skoro svi slučajevi AIS-a i invazivnog adenokarcinoma vrata maternice nastaju u transformacijskoj zoni ili 3-5 mm uz nju (32,36). U 60% slučajeva preinvazivna promjena cilindričnog epitela nalazi se u kripti ispod normalnog metaplastičnog ili displastičnog pločastog epitela. Kripte su u prosjeku zauzete do dubine od 2,5 do 4 mm, ali su opisane i promjene na dubini od 6-8 mm (37). Promjene mogu dopirati do 15 mm od vanjskog ušća, a pliće su kod mlađih bolesnica (38,39). Preinvazivne promjene cilindričnog tipa mogu se javiti kao „preskakajuće" lezije

(*engl. skip lesions*) u 6,5-15% slučajeva, ali to ne mijenja kolposkopsku sliku niti povećava šansu za rezidualnu bolest nakon primarnog liječenja (33,40).

U prvoj polovici 20. stoljeća Georgios N. Papanicolaou i Herbert Trout došli su do revolucionarne spoznaje da odljuštene stanice s vrata maternice mogu ukazati na razvoj zloćudne bolesti (41). Daljnja istraživanja u tom području promijenila su stavove o karcinogenezi općenito, a metoda probira koja se temelji na toj spoznaji dovela je do pada incidencije karcinoma vrata maternice za skoro 70% (42).

Nalazi eksfolijativne citologije se interpretiraju prema NCI Bethesda sustavu (The Bethesda System – TBS 1988. 2001. 2006.) odnosno modifikaciji TBS klasifikacije "Zagreb 2002" (Tablica 2) (43,44).

Tablica 2. Razvoj citološkog klasifikacijskog sustava

PAPANICOLAOU	WHO	CIN	TBS 1991	TBS 2001	ZAGREB 2002	TBS 2006
I	Uredan			Negativan na intraepitelnu neoplaziju	Negativan na intraepitelnu neoplaziju	Negativan na intraepitelnu neoplaziju
II	Atipija		Infekcija, reaktivni epitel			
			ASCUS	ASCUS ASCH	ASCUS ASCH	ASCUS ASCH
	Atipične glandularne stanice		AGUS	Atipične glandularne stanice	AGC-neodređene AGC - reaktivne	AGC – neodređene
					AGC – vjerojatno intraepitelna lezija	AGC – vjerojatno intraepitelna lezija
III	Blaga displazija	Kondilomi CIN 1	LSIL	LSIL	LSIL	LSIL
IV	Umjerena displazija	CIN 2	HSIL	HSIL	HSIL	HSIL
	Teška displazija CIS	CIN 3				
	AIS	CGIN	AGUS	AIS	AIS	AIS
V	Invazivni karcinom					

Procijenjeno je da u oko 50% žena kojima je dijagnosticiran rak vrata maternice nikada nije učinjen obrisak po Papanicoulaou (PAPA test), dok je u 10% bolesnica zadnji PAPA učinjen unutar 5 godina od postavljanja dijagnoze. Prema meta-analizama osjetljivost jednog citološkog obriska u otkrivanju promjena pločastog tipa visokog stupnja je 62-72%**,** a specifičnost 86-96% (45). Ograničenost metode vidljiva je u djelomičnom smanjenju osjetljivosti i specifičnosti disperzijom abnormalnih nalaza u skupinu s atipičnim promjenama. Među nalazima atipičnih pločastih stanica neodređenog značenja (ASC-US) krije se 5-20% promjena visokog stupnja i 0,1% slučajeva raka, a u skupini nalaza atipičnih pločastih stanica gdje se ne može isključiti promjena visokog stupnja (ASC-H) histološki se u 30-40% slučajeva dokaže ≥CIN2 (46-48). Učestalost ASC-US nalaza je 1,2-3,4% (49-50).

Insinga i sur. su proveli epidemiološko istraživanje na temelju analize rutinskih citoloških obrisaka u oko 45 000 žena. U toj je populaciji oko 5% žena imalo abnormalan citološki nalaz (3,4% ASC, 0,2% AGC, 2,1% L-SIL, 0,3% H-SIL). U daljnjem je praćenju utvrđeno da je čak polovica (51,5%) tih bolesnica imala lažno pozitivan nalaz, a oko 29% nije adekvatno praćeno. Dijagnoza CIN-a ili raka je potvrđena u 19,4% bolesnica. Njihovi primarni citološki nalazi bili su među nalazima ASC (2-4%), L-SIL (22,2%) H-SIL (68,8%) i AGC (10%) (10). Točnost citoloških nalaza u otkrivanju promjena cilindričnog epitela je puno lošija nego za pločasti tip, a to se prvenstveno odnosi na nisku osjetljivost, nepravilno uzimanje uzorka i dijagnostičku pogrešku (51). Mitchell i sur. su analizom podataka Registra za rak australske države Victoria pokazali da su za razliku od žena s karcinomom pločastog epitela za koje je dokazano da su neredovito kontrolirane, one s adenokarcinomom jednako sudjelovale u probiru kao i kontrolna skupina 52). Bethesda klasifikacija je nekoliko puta prilagođavana raznolikosti atipije cilindričnih stanica vrata maternice. Osnovna podjela nalaza na skupinu atipičnih cilindričnih stanica – AGC i na *adenocarcinoma in situ* – AIS ima nezadovoljavajuću osjetljivost i specifičnost. Endocervikalna atipija nađe se u 0,46% svih

citoloških nalaza, ali tek oko 50% bolesnica ima histološki dokazane promjene i to češće pločastog nego cilindričnog tipa (53). Najčešće su nađene atipične glandularne promjene neodređenog značenja (AGUS). Citološki nalazi mogu biti lažno pozitivni ukoliko postoji hiperplazija pričuvnih stanica, mikroglandularna hiperplazija, upalne promjene, endometrioza, Arias-Stella promjene, tubarna metaplazija i invazivni adenokarcinom (54).

Prema meta-analizi 24 studije, na temelju više od dva milijuna PAPA nalaza učestalost AGUS nalaza bila je 0,29% (55). U 70,9% tih nalaza histološki su nađene dobroćudne promjene (kronična upala, endometrioza, ranija konizacija, pločasta metaplazija, tubarna metaplazija, postiradijacijska oštećenja, cervikalni polip). U 8,5% nađen je CIN1, u 11,1% CIN2/3, u 2,9% AIS, u 1,4% endometralna hiperplazija, a u 5,2% slučajeva zloćudna bolest. U skupini zloćudnih bolesti karcinom endometrija nađen je u 57,6% slučajeva, cervikalni adenokarcinom u 23,6%, cervikalni pločasti karcinom u 5,4%, a karcinom jajnika i jajovoda u 6,4%. Druga pak istraživanja navode da se u skupini nalaza AGC - neodređenog značenja u 9-41% histološki dokaže CIN 2/3, AIS ili karcinom, a među nalazima AGC - vjerojatna intraepitelna neoplazija čak do 96% (56). Bolesnice s citološkim nalazima AGC-endocervikalno i AGC-nejasnog značenja imaju veći rizik od ozbiljne promjene ukoliko su već imale preinvazivne promjene, od onih kojima su razmazi dotad bili uredni (57). Nalaz AGC-neodređenog značenja nosi veći rizik u odnosu na ASCUS jer u toj skupini veći broj žena ima klinički značajnu dijagnozu, međutim češće se radi o promjeni pločastog tipa (58). Pozitivna prediktivna vrijednost AIS citoloških nalaza je iznad 90% međutim, dijagnoza je teška i učestalost takvih PAPA nalaza je tek 0,0002–0,004% (59).

Brojni istraživači su se osvrnuli na način uzorkovanja kao uzrok nezadovoljavajućim nalazima. Schoolland i sur. su pokazali da je osjetljivost jednog citološkog obriska u otkrivanju AIS promjene 47,6%, a za udruženu AIS+CIN2/3 promjenu 65,6%. U njihovom je istraživanju broj pogreški pri uzimanju uzorka bio visok, ali je broj lažno negativnih

citoloških kao i histoloških nalaza bio nizak. Pokazali su da citološki probir s boljim načinom uzorkovanja (četkicom) i jasno definiranim histološkim kriterijima, može poboljšati stupanj otkrivanja cilindričnih preinvazivnih promjena ili barem povećati osjetljivost (60). U njihovim razmazima cilindrične stanice endocerviksa nalaze se u 80% slučajeva za razliku od samo 50% prije uporabe endocervikalnih četkica. Dijagnozu ovih promjena otežava i postojanje različitih histoloških podtipova AIS-a (endocervikalni, endometrioidni, intestinalni, miješani). Lee i sur. su naznačili da je endometrioidni tip unatoč strogoj edukaciji patologa jako teško dijagnosticirati te su pokazali da je osjetljivost citoloških nalaza za otkrivanje AIS promjena 40-68%, a povećava se ponavljanjem obriska (61). Mitchell i Higgins su pokazali da je 44% žena s AIS-om imalo uredan citološki obrisak unutar dvije godine prije dijagnoze, a 64% unutar 5 godina, dok su vrijednosti za ista vremenska razdoblja za CIS (prema TBS 2006 CIN3) 30% i 48% (62).

Uvođenjem citološkog probira stopa učestalosti karcinoma pločastog epitela u odnosu na adenokarcinom smanjila se s 20:1 na 2:1 (52). Promjena u načinu uzorkovanja i jasniji dijagnostički kriteriji te educiranost citopatologa i ginekologa s vremenom su doprinijeli boljoj dijagnostici. Prema nekim istraživanjima kumulativna incidencija adenokarcinoma bi se trebala smanjivati za 45% dvogodišnjim te 65% godišnjim citološkim probirom, dok kod planocelularnog karcinoma takvi probiri smanjuju učestalost za 93,5%, odnosno 92,5% (63).

Dijagnozu preinvazivnih promjena na vratu maternice poboljšala je kolposkopija (grč. *kolpos* – šupljina, utroba, rodnica; *skopos* – gledati) koju je u kliničku praksu uveo H. Hinselmann 1925. godine. Pregled rodnice i vrata maternice s uvećanjem od 3,5 - 35x uz premazivanje epitela 3%-tnom acetoctenom kiselinom ili izvođenje Schillerovog testa, indiciran je kod abnormalnog citološkog nalaza, ponavljano pozitivnog HPV DNK testa i sumnje na rak (64). Zadnje smjernice prema kojima se vrši i procjenjuje kolposkopski pregled prihvaćene su 2011. godine na XIV. Svjetskom kolposkopskom kongresu u Rio de Janeiru u

Brazilu (65). Osjetljivost kolposkopskog nalaza je manja u odnosu na citološki nalaz stoga kolposkopija ne zadovoljava kriterije kao metoda probira (66). Metoda je subjektivna i ovisi o vještini kolposkopičara.

Reproducibilnost kolposkopskog nalaza za CIN je prema nekim istraživanjima oko 66% (67). Dijagnostiku otežava i činjenica da sve CIN promjene neće pokazati kolposkopske abnormalnosti (68). Osjetljivost i specifičnost za promjene ≥CIN2 je 86-96%, odnosno 48%, dok je kod promjena niskog stupnja čak 54% lažno negativnih nalaza (69). Ciljana ili "slijepa" biopsija *(engl. "punch")* poboljšava dijagnostičku vrijednost, a pozitivna prediktivna vrijednost tog histološkog nalaza za CIN1 je 16%, za CIN2 32%, a za CIN3 86% (70). Dodatnih 2-6% CIN2/3 promjena otkriva se endocervikalnom kiretažom oštrom žlicom ili Kevorkianovom kiretom pogotovo u slučajevima kad je kolposkopija nezadovoljavajuća (71). Prediktivna vrijednost kolposkopije je veća što je promjena većeg stupnja. Međutim, nepodudarnost citološkog nalaza i nalaza biopsije kod kolposkopije je dosta varijabilna (4,3-57,1%) (72). Kolposkopijom se previdi 56% mikroinvazivnih i 30% invazivnih promjena vrata maternice (73).

Dijagnostička vrijednost kolposkopije je smanjena ukoliko u cijelosti nije vidljiva skvamokolumnarna granica, te ako su prisutne izražene upalne, ožiljkaste ili atrofične promjene. Stoga je nakon primarnog liječenja preinvazivnih promjena u velikom broju slučajeva nezadovoljavajuća.

Za preinvazivne promjene cilindričnog epitela nema karakterističnih kolposkopskih slika i vrijednost kolposkopije je značajno manja nego za pločasti epitel. Ne postoji kolposkopska slika AIS-a niti kolposkopski možemo razlikovati AIS od adenokarcinoma (74). Takve se promjene češće nalaze u endocervikalnom kanalu i teže prikazuju kolposkopom. Vrlo iskusni kolposkopičari posumnjanju na tek oko 28% kasnije histološki dokazanih abnormalnosti cilindričnog epitela (33). Citološki nalaz, kolposkopija, *„punch"* biopsija i endocervikalna

kiretaža zbog nepoznatog stupnjevitog procesa glandularne displazije i njenog prijelaza u AIS, imaju veliki broj lažno negativnih nalaza, oko 48% (75-78).

Citologija i kolposkopija su izrazito poboljšale skrb u borbi protiv karcinoma vrata maternice međutim razvidno je da njihova osjetljivost i specifičnost nije idealna. To je razumljivo obzirom da je citologija indirektna metoda procjene, a kolposkopija se oslanja na subjektivan dojam.

1.2. HUMANI PAPILOMA VIRUS (HPV)

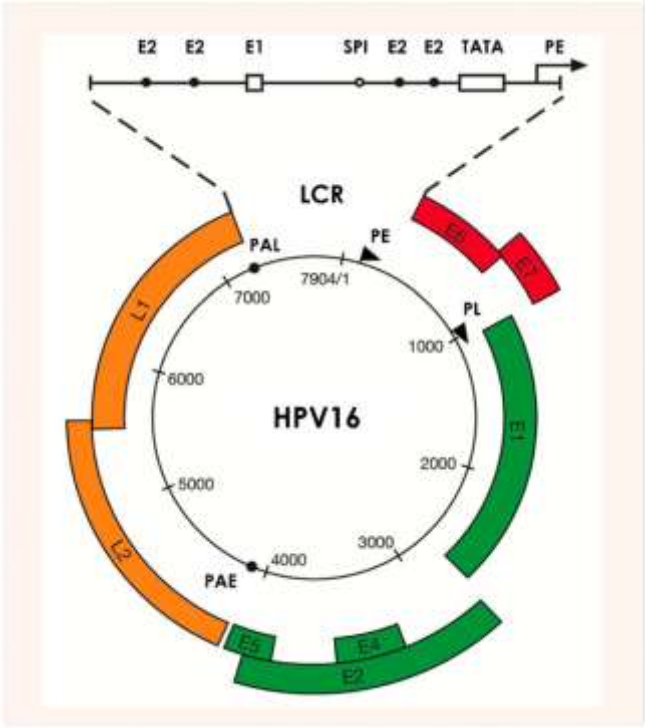
Sedamdesetih godina prošlog stoljeća njemački virolog Harald zur Hausen spoznao je uzročnu povezanost nastanka raka vrata maternice i Humanoga papiloma virusa (HPV) zbog čega je 2008. godine primio Nobelovu nagradu za medicinu (79). Smatra se da oko 75% spolno aktivnih žena bude inficirano HPV-om tijekom života. Većina tih infekcija prođe spontano, a tek mali broj perzistira (80,81). Perzistirajuća infekcija HPV-om je najveći rizični faktor i ključna je u nastanku preinvazivnih promjena vrata maternice pločastog i cilindričnog histološkog tipa, a prisutna je u 99,7% slučajeva karcinoma vrata maternice (82-84).

Humani papiloma virus je DNK virus koji pripada obitelji *Papovaviridae*. Ovi virusi pokazuju tropizam prema vrsti epitela. Među njima oko 40 genotipova inficira genitalni sustav i pripada koljenu *Alphapapillomavirus* (85). Infekcija se u pravilu prenosi spolnim putem, ali postoje i dokazi nespolnog prijenosa (infekcija čeda intrauterino i tijekom vaginalnog porođaja). Rizični čimbenici za infekciju su mlađa dob, broj spolnih partnera tijekom života, rana dob prvog spolnog odnosa, spolne navike partnera i oslabljen imunološki status.

Papilomavirusi imaju dvolančanu kružnu DNK veličine oko 7,9 kb obavijenu kapsidom. Virusna DNK kodira za LCR regiju (*engl. long control region*), 6 „ranih" (E1, E2, E4-E7) i 2 „kasna" (L1 i L2) proteina. Kapsidu formiraju 72 kapsomere čiju osnovu čine proteini L1 i L2 (Slika 1). U ranoj regiji genotipova 1, 11, 16, 31 i 33 izolirana su još dva gena, E3 i E8, ali njihova uloga još nije razjašnjena.

Najbolje je proučen HPV16 i njegov genom služi kao prototip visokorizičnih tipova, a čini ga LCR regija (naziva se još i URR engl. *upstream regulatory region*) i osam spomenutih gena koji su neophodni za različite stadije života virusa. Ovi geni kodiraju velik broj produkata (proteina) zahvaljujući mRNK izrezivanju (*engl. splicing*). LCR regija sadrži vezajuća mjesta

za stanične faktore transkripcije (npr. SP1, AP1, Oct1), kao i za virusne E1 i E2 proteine koji kontroliraju replikaciju virusa i ekspresiju gena. HPV16 ima dva jasna promotora PE (rani promotor p97) i PL (kasni promotor p670) koji reguliraju ekspresiju različito izrezanih mRNK tijekom diferencijacije epitelne stanice (88).



Slika 1. Shema HPV16 genoma. Preuzeto iz *"The biology and life-cycle of human papillomaviruses''.* Doorbar J i sur. (88)

Sekvenca DNK poznata je za preko 150 tipova HPV-a. Novi genotip [broj] se određuje ako postoji manje od 90% podudarnosti u L1 (ORF – *engl. open reading frame*), E6 i E7 regijama genoma dotad poznatih tipova.

Obzirom na vjerojatnost perzistirajuće infekcije i maligne transformacije stanice Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) prihvatila je podjelu mukoznih tipova na visokorizične i niskorizične. Definirano je dvanaest genotipova koji uzrokuju karcinom [16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59] i spadaju u kategoriju 1. Kategorija 2A je skupina

genotipova koji vjerojatno uzrokuju karcinom [68, 73], dok su u 2B kategoriji genotipovi koji su filogenetski povezani s onima za koje je dokazano da uzrokuju karcinom. U kategoriji 3 su nekarcinogeni genotipovi. Ostali identificirani genotipovi nisu klasificirani zbog nedostatka epidemioloških podataka. Iako HPV16 dominantno uzrokuje karcinom pločastog epitela, a HPV18 adenokarcinom i jedan i drugi mogu uzrokovati oba. Tropizam prema tipu tkiva (koža, sluznica) nije oštro ograničen, ali određeni tipovi češće inficiraju i uzrokuju neoplazmu u jednom nego u drugom (Slika 2).



Slika 2. Razvoj neoplazme i *Alpha papillomavirusi*. Preuzeto iz *"The biology and life-cycle of human papillomaviruses"*. Doorbar J i sur. (88)

Genotipovi niskog rizika u pravilu uzrokuju dobroćudne promjene kao što su spolne bradavice (condyloma acuminata), CIN1 i rekurirajuća respiratorna papilomatoza, a vrlo rijetko u skupini imunokompromitiranih bolesnica mogu uzrokovati karcinom (89).

Genotipovi visokog rizika uzrokuju CIN (sve stupnjeve), AIS, karcinom pločastih i cilindričnih stanica vrata maternice, karcinom penisa, anusa (analne transformacijske zone), tonzila, orofarinksa i baze jezika.

Kroz mjesto ozlijeđenog epitela HPV inficira pričuvnu, bazalnu stanicu koja osigurava rezervoar infekcije. Priroda inficirane stanice i utjecaji na razvoj bolesti još uvijek nisu razjašnjeni. Kako se epitelne stanice diferenciraju, na različitim razinama dolazi do ekspresije raznih produkata gena virusa, amplifikacije genoma, sastavljanja i otpuštanja novih viriona. Dolazi do citopatskog učinka virusa te nastaju koilociti i nuklearne atipije, pretežno u granularnom sloju (90). Temelj visoke prevalencije virusa je njegova produktivna infekcija u episomalnom obliku. Nakon infekcije slijedi amplifikacija genoma i održavanje virusnog episoma niskog broja kopija za koje su neophodni E1 i E2 proteini. E2 je bitan i za transkripciju virusa.

Preduvjet za neoplastičnu transformaciju stanice je aktivnost E6 i E7 virusnih proteina. Dokazane su velike funkcionalne razlike između E6 i E7 proteina niskorizičnih i visokorizičnih tipova (91). Kod visokorizičnih tipova E6 i E7 jasno potiču proliferaciju bazalnih i parabazalnih stanica. Njihova povišena razina je izravno povezana sa stupnjem promjene, a poremećaj u regulaciji ovih gena uzrok je gomilanju genetskih pogrešaka u inficiranoj stanici (92). Interakcijom sa staničnim proteinima domaćina oni ometaju normalni stanični ciklus. Protein E7 visokorizičnih tipova ima različitu sposobnost vezivanja za proteine iz obitelji Retinoblastoma (pRb) te stimulira nestabilnost genoma domaćina, najviše poremećajem regulacije ciklusa centrosoma u proliferirajućim bazalnim stanicama (93). Za razliku od niskorizičnih tipova, visokorizični imaju na E6 proteinu "PDZ-vezujuću domenu" signalnih bjelančevina i degradiraju PDZ susptrate, degradiraju p53, utječu na aktivnost telomeraze i induciraju imortalizaciju keratinocita (94). Sve je jasnije da E6 i E7 imaju još puno više staničnih supstrata ali njihova glavna funkcija kod većine HPV tipova nije

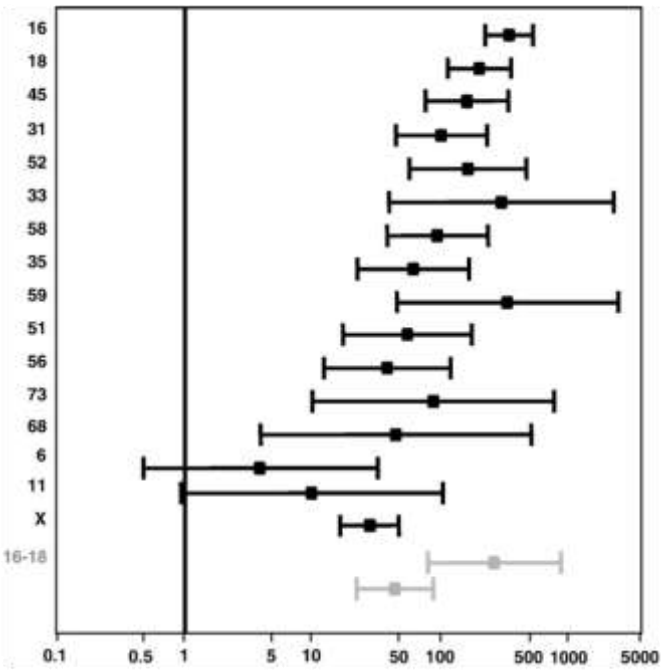
promocija proliferacije bazalnih stanica već stimulacija ponovnog ulaska u stanični ciklus (*engl. "cell cycle re-entry"*) u srednjim dijelovima epitela kako bi se omogućila amplifikacija genoma (95). Epitelna stanica u kojoj se događa amplifikacija genoma virusa izražava markere diferencijacije (keratin 1, 10, 4, 13) i markere ponovnog ulaska u stanični ciklus (MCM, Ki-67, PCNA, ciklin E, ciklin A) (88). Proteini E4 i E5 indirektno pomažu amplifikaciju genoma. E5 je transmembranski protein koji ometa apoptozu stabilizirajući EGFR i pojačavajući aktivnost MAP kinaze (96). Protein E4 vjerojatno sudjeluje u otpuštanju virusa iz stanice i transmisiji (97). Maturacija i otpuštanje virusa događa se u najpovršnijim slojevima epitela u umirućim keratinocitima. Tijekom karcinogeneze dolazi i do ugradnje DNK virusa u genom domaćina te se gubi kontrolni učinak E2 na transkripciju virusa i ostvaruje trajni učinak E6 i E7 proteina (98). Konstantna aktivnost tih proteina dovodi do genske nestabilnosti, nakupljanja onkogenih mutacija, ugradnje DNK virusa u genom domaćina i progresije u rak, ali samo u slučaju E6 i E7 proteina visokorizičnog HPV-a (99). Smatra se da se integracija virusa u genom domaćina događa u promjenama visokog stupnja i time se može pojačati već poremećena aktivnost E6/E7 (100). U slučaju infekcije s HPV16 u 30% slučajeva karcinom nastaje iz stanica koje sadrže samo virusne episome, a oko 70% imaju integrirane HPV sekvence, dok je u karcinomima uzrokovanim s HPV18 virusni genom uvijek integriran (101,102). U oba su slučaja dugotrajna i prekomjerna ekspresija E6/E7 te nakupljanje genetskih pogrešaka najbitniji čimbenici za progresiju CIN-a 3 u karcinom (88).

Mehanizam ispravljanja genetske pogreške koja se događa prilikom fiziološke diobe stanice može biti narušen u slučaju perzistentne virusne infekcije. Urođeni stanični imunološki odgovor domaćina u pravilu sprječava tu perzistenciju te dolazi do spontane regresije HPV infekcije. Međutim, HPV može vrlo uspješno izbjeći domaćinov imunološki sustav. Replikacija virusa događa se isključivo intraepitelno, nema viremije, citolize ili stanične smrti uzrokovane virusom, niti upalnih promjena (103). Visokorizični tipovi mogu

suprimirati urođeni imunološki odgovor domaćina sprječavanjem staničnih proteina (IRF-1 i IRF-3 gena) da aktiviraju gen za interferon-beta (IFN-β) i transkripciju gena koji ga induciraju (104-106). Također, suprimiraju stečeni tip imunosti ometajući signalni put aktivacije Langerhansovih stanica, stromalnih dendritičkih stanica i makrofaga (107). Produkti HPV gena mogu smanjiti prezentaciju HPV epitopa na površini inficirane stanice (108). Stanice u kojima se događa replikacija viriona i na kojima se izražavaju virusni proteini odljuštit će se s površine epitela daleko od cirkulirajućih imunoloških stanica. Regresija promjene se događa zamjenom epitela koji sadrži aktivnu replikaciju virusa, s ‘’normalnim’’ stanicama (podrijetla bazalnih stanica) koje još uvijek mogu sadržavati virusni genom, ali bez ekspresije virusnih gena te se pretpostavlja da se virus može reaktivirati uslijed imunospresije ili promjena u razini hormona (109).

Infekcija HPV-om ne znači nužno i prisutnost bolesti. Otprilike 10% žena u svijetu s urednim citološkim nalazom ima HPV infekciju (22). HPV je pozitivan u 70-90% H-SIL, 20-50% L-SIL i u oko 50% ASCUS-AGC promjena (110). Distribucija genotipova izoliranih u pojedinim promjenama je različita. Smatra se da su za oko 70% slučajeva pločastog karcinoma i 80-85% slučajeva adenokarcinoma vrata maternice odgovorni HPV tipovi 16 i 18 (98). Omjer izgleda (*engl. ODDS RATIO*) za razvoj pločastog i adenokarcinoma za petnaest najčešće izoliranih tipova prikazan je na slici 3.

Najčešće izoliran genotip 16 nalazi se u 50-55% karcinoma, ali i u 2-4% žena bez dokazanih preinvazivnih ili invazivnih promjena (22). Castellsague i sur. su u međunarodnoj multicentričnoj studiji pokazali da su u karcinomu pločastih stanica vrata maternice najčešće izolirani tipovi 16, 18, 45, 31, 33 (88%), a u adenokarcinomu 16, 18, 45, 59 i 35 (96%) (111). HPV je izoliran u mucinoznom tipu, koji čini više od 95% svih adenokarcinoma vrata maternice (endocervikalni, intestinalni, endometrioidni), ali ne i u nemucinoznom (klarocelularni, serozni, mezonefrički) (112).



Slika 3. Rizik za nastanak karcinoma vrata maternice u odnosu na HPV genotip. Preuzeto iz *"Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer"*. Castellsague X (111).

Američki centar za prevenciju i kontrolu bolesti (*engl. Center for Disease Control, CDC*) procjenjuje da je godišnja incidencija HPV infekcije oko 5,5 milijuna što je trećina svih spolnoprenosivih bolesti te da je trenutna prevalencija infekcije u njihovoj zemlji oko 24 milijuna (113). Prevalencija HPV infekcije naglo opada s dobi tako da između 20. i 24. godine iznosi 40%, a iznad 30. godine 5-10% (111). Bilježi se mali porast (*engl. "second peak"*) infekcija u dobi oko 45 godina. Nejasno je radi li se o novoj HPV infekciji vezano uz promjenu spolnih navika ili o reaktivaciji latentne infekcije s početkom "imunološkog starenja". Promjene u prevalenciji odraz su biološkog ponašanja HPV-a i činjenice da infekcija može biti prolazna (incidentna) ili perzistirajuća. Prema objavljenim istraživanjima 80-90% infekcija HPV-om je prolazno, a najčešće perzistiraju infekcije genotipovima visokog rizika, pogotovo HPV 16 (114). Šira definicija perzistirajuće infekcije je pozitivan nalaz

HPV-a nekoliko puta unutar određenog vremenskog okvira. Negdje je definirana kao opetovano pozitivan HPV DNK test u razmaku od 6 i 12 mjeseci (115). Rizični čimbenici za perzistiranje infekcije su genotip visokog rizika, broj kopija virusa i starija dob (116). Perzistirajuća HPV infekcija je preduvjet za nastanak preinvazivnih i invazivnih promjena na vratu maternice i ta spoznaja je jedna od najčvršćih u epidemiologiji raka općenito (117). Infekcija s više genotipova istovremeno (multipla infekcija) je u ALTS studiji zabilježena u 56% slučajeva, ali istraživači nisu zabilježili jasno povećanje rizika za nastanak preinvazivnih i invazivnih promjena, dok su Spinillo i suradnici zaključili da je ona povezana s većom vjerojatnošću perzistencije i zloćudne preobrazbe (118,119). Postoji razlika u stopi regresije HPV infekcije obzirom na genotip virusa. Najniža stopa regresije je kod genotipova 16, 18, 31 i 33 (120).

Vrijednost HPV testiranja je još uvijek predmet rasprave i ne postoji suglasnost kada, koga i koliko često testirati obzirom na cijenu samog testa i nisku specifičnost rezultata (121). Kada govorimo o probiru, prednost velike osjetljivosti HPV DNK testa u kombinaciji s visokom specifičnosti citološkog nalaza je u mogućnosti produženja intervala testiranja žena kod kojih su oba testa negativna.

Prema zadnjim smjernicama engleskog društva za kolposkopiju HPV DNK testiranje provest će se u sklopu organiziranog nacionalnog programa probira i protokola, s čim se započelo u studenom 2011. godine, a čija će evaluacija rezultirati konačnim smjernicama. Prema podacima Američkog društva za kolposkopiju (ASCCP), FDA je 2006. godine odobrila korištenje HPV DNK testa u probiru i to kod žena s nalazom ASC-US kako bi se odredila potreba za kolposkopskim pregledom, te kod žena starijih od 30 godina u kombinaciji s citološkim nalazom. Također je predloženo određivanje HPV DNK kao „test izlječenja" (*engl. test of cure*) 6-12 mjeseci nakon liječenja preinvazivnih promjena pločastog epitela.

1.3. KIRURŠKO LIJEČENJE I PRAĆENJE OPERIRANIH BOLESNICA

Nakon uvođenja PAPA testa u kliničku praksu, kirurški je zahvat rađen već na osnovu jednog abnormalnog nalaza. Međutim, tek je 23% bolesnica imalo i dokazanu patohistološku promjenu, što znači da ih je više od dvije trećine nepotrebno operirano (123). Samo je ženama mlađim od 40 godina koje nisu rodile bila ponuđena konizacija, a za ostale je smatrano da je „sigurnija" totalna histerektomija. Ženama u postmenopauzi je rađena totalna histerektomija s obostranom adneksektomijom ili su zračene radijem kako je liječen i klinički karcinom. U protokole je zatim uvedena kolposkopija s biopsijom, pa je tek kod dokazanih displastičnih promjena preporučen operacijski zahvat. Međutim i tada je veliki broj zahvata bio nepotreban jer je promjena bila odstranjena biopsijom, pa je odlučeno da se nakon biopsije ponovi citološki nalaz prije odluke o daljnjem liječenju (124).

Danas je optimalno liječenje uz očuvanje reprodukcijskog zdravlja prioritet u liječenju CIN-a i AIS-a obzirom da se dijagnoza postavlja kod žena u dobi od 25-30 godina, odnosno nekoliko godina kasnije. Dob prvorodilja danas je u većini europskih zemalja 26-29 godina, a negdje je pomaknuta i iznad tridesete stoga ove bolesnice većinom ili nisu rodile ili su rodile tek jednom. Zabrinutost je opravdana jer kirurški zahvat skraćuje vrat maternice te ostavlja ožiljak i predispoziciju za prijevremeni porođaj (125,126). Odstranjuju se cilindrične kripte i stroma, a time oštećuje proizvodnja sluzi koja je potrebna za kapacitaciju spermija pri oplodnji i stvaranje Kristellerovog čepa u trudnoći. Isto tako može nastati insuficijencija vrata maternice i povećan rizik za ascendirajuću infekciju tijekom trudnoće (127). Sve se više dovodi u pitanje rizik prekomjernog zahvata (*engl. overtreatment*) ali i psihički učinak dijagnostičko-terapijskih postupnika na bolesnice (128).

U Republici Hrvatskoj se slijede „S3 stručne smjernice za dijagnostiku i liječenje" cervikalnih intraepitelnih lezija prikazanih na „II. hrvatskom onkološkom kongresu HDGO-a"

u Zagrebu, 2012. godine. Američke preporuke prihvaćaju konzervativan stav i poštedniji pristup ukoliko se radi o adolescenticama s CIN2 promjenama. U trudnoći se zahvat ne preporuča osim ako ne postoji sumnja na invazivnu bolest.

Ukoliko se postavi histološka dijagnoza CIN-a 2/3, AIS-a ili postoji sumnja na karcinom mora se učiniti dijagnostičko/terapijski kirurški zahvat. Obzirom da je histološka razlika između CIN2 i CIN3 promjene slabo reproducibilna odlučeno je da obje treba kirurški liječiti. Danas je ekscizija transformacijske zone konizacijom zlatni standard u liječenju preinvazivnih promjena na vratu maternice kao dijagnostičko/terapijski postupak. Cilj zahvata je odstraniti vidljivu promjenu, cijelu transformacijsku zonu i 1/3 cervikalnog kanala.

U nekim zemljama prihvaćen je i *"see and treat"* pristup koji podrazumijeva postupak ekscizije transformacijske zone električnom omčom kao prvi postupak u evaluaciji i liječenju H-SIL promjena, a opravdava se nesuradljivošću bolesnica i neredovitim dolascima na kontrolne preglede. Glavna kritika takvom pristupu je opasnost od prekomjernog liječenja (128).

Ekscizijske metode vrednujemo ovisno o učinku i učestalosti kratkoročnih i dugoročnih komplikacija, a istraživanja su pokazala da nijedna nije superiorna drugoj obzirom na stopu izlječenja (129). Najčešće se koriste klasična konizacija hladnim nožem (Lisfranc, 1815), konizacija električnom omčom (*Europa engl. large loop excision of transformation zone – LLETZ, SAD engl. loop electrosurgical excision procedure – LEEP*; Cartier i Prendiville 1989) i LASER *(engl. light amplification by stimulated emission of radiation).* Ako je potrebno odstraniti veći konus može se koristiti ravna volframova žica (*NETZ, EL-needle, straight needle conisation*).

U početku je kod korištenja LASER-a i LLETZ-a histološka analiza preparata bila otežana u oko 51% uzoraka, a rubovi nejasni za interpretaciju u 31-38%. Danas je to uspješno prevladano razvojem uređaja i sve boljom edukacijom kirurga, a zahvati kratko traju uz

minimalan gubitak krvi. Perioperacijske komplikacije najčešće su kod konizacije nožem, a nakon tog zahvata kolposkopska slika je većinom nejasna i SKG nije vidljiva u oko 50% slučajeva. Veličina konusa je značajno veća u odnosu na LLETZ i LASER, a također i učestalost cervikalne stenoze (Tablica 3) (130-134).

Tablica 3. Komplikacije ekscizijskih metoda na vratu maternice

Tip konizacije	Klasična	LLETZ	LASER
Visina konusa	1,8 cm	0,8-1,2 cm	1 cm
Stopa izlječenja	90-98%	91-97%	92-98%
Komplikacije	20,9%	4,7%	4-8%
Perioperacijsko krvarenje	6-17%	3%	2-5%
Cervikalna stenoza	7-8%	1%	1-3,5%

Analizom dosadašnjih istraživanja jasno je da liječenje konizacijom ne dovodi do neplodnosti, međutim pokazano je da ekscizijski postupci na vratu maternice povećavaju učestalost komplikacija tijekom trudnoće (135). Povećana je učestalost prijevremenog poroda (≥34. tjedna) i učestalost preranog prsnuća plodovih ovoja prije termina, ali su rizici dvostruko manji ukoliko se koristi LLETZ (136-138). Arbynova meta-analiza pokazala je kako LLETZ i LASER ne povećavaju rizik komplikacija prije navršenog 34. tjedna trudnoće (139). U žena kojima je učinjena klasična konizacija preporuča se cervikometrija svaka dva tjedna od 16. do 32. tjedna gestacije. Kod LLETZ-a cervikometrija nije potrebna ukoliko konus nije ≥1,5-2 cm ili ukoliko nije više puta učinjen zahvat. Profilaktička serklaža se nakon

konizacije nije pokazala učinkovitom, a dovršenje trudnoća carskim rezom je češće u skupini u kojoj je učinjena klasična konizacija (RR=3,17) (124,140).

NCCN *(engl. National Comprehensive Cancer Network)* je 2006. godine u SAD-u prihvatio da LLETZ i klasična konizacija imaju jednaku učinkovitost u liječenju preinvazivnih promjena na vratu maternice, uz naznaku da su kod LLETZ-a komplikacije rjeđe. Europsko društvo za kolposkopiju od 2012. godine smatra kako ukupan broj klasičnih konizacija nožem u liječenju preinvazivnih promjena na vratu maternice bilo kojeg histološkog tipa treba biti ispod 3% (141). Kontraindikacija za LLETZ kao i za druge vrste konizacije je trudnoća ukoliko ne postoji sumnja na invazivnu bolest.

Najagresivniji način liječenja CIN-a je totalna histerektomija. Ona se može raditi u bolesnica u peri/postmenopauzi s dokazanim CIN-om i dodatnom ginekološkom patologijom (descensus/prolaps maternice s inkontinencijom, simptomatski miom, tumori na adneksima ili želja bolesnice).

Nakon liječenja konizacijom bolesnice su praćene i citološki i kolposkopski intenzivnije nego one u standardnom probiru. To je potrebno obzirom da bolesnice liječene zbog preinvazivnih promjena na vratu maternice imaju 4-5 puta veći rizik za rak od opće populacije, a preporučuje se redovito praćenje i do 20 godina od primarnog liječenja (142,143). Tijekom prve dvije poslijeoperacijske godine otkrije se 80-90% slučajeva rezidualne bolesti, odnosno recidiva (144). Povrat bolesti i kumulativna stopa raka 8 godina nakon liječenja CIN-a iznosi 5,8/1000 što je 5 puta više u odnosu na opću populaciju (145).

Prvi korak u procjeni uspješnosti liječenja je analiza rubova konizata. Kad promjene ne dopiru do ruba konizata vjerojatnost postojanja rezidualne bolesti je oko 0-5%, a rizik je povećan kod starijih od četrdeset godina, ukoliko postoje satelitske promjene izvan TZ ili ako se CIN promjena spušta u endocervikalni kanal (146,147). Ukoliko su rubovi zauzeti vjerojatnost zaostale promjene, a time i mogućnost progresije bolesti i razvoja raka je oko

30% (148-150). Tijekom prve poslijeoperacijske godine citološke kontrole se obavljaju svaka 3-4 mjeseca. Ukoliko nakon dvije godine nema recidiva i testovi su negativni bolesnica se dalje kontrolira prema nacionalom postupniku standardnog probira za opću populaciju (151).

Smatra se da je liječenje AIS-a konizacijom otežano zbog anatomije cilindričnih kripti. Međutim, prema SEER podacima (1988-2001. godine) za IA stadij adenokarcinoma i IA stadij pločastog karcinoma vrata maternice, nema razlike u preživljenju bez obzira je li učinjena konizacija, jednostavna ili radikalna histerektomija (5-godišnje preživljenje 99,3%) (6). Procjena rubova konizata kod cilindričnih promjena prema mnogim autorima ima manju vrijednost nego za pločaste promjene jer ukoliko su rubovi negativni vjerojatnost rezidualne promjene je 0-44%, a kod pozitivnih rubova 53-75%. (33,76,152-155). Kad su rubovi pozitivni u ostatnom tkivu je nađen invazivni adenokarcinom u 5-12% slučajeva, dok je vjerojatnost istog nalaza kod negativnih rubova 0,1% (156,157). Stoga većina autora preporuča da se u slučaju pozitivnih rubova odmah učini rekonizacija, a nakon završene reprodukcije ekstrafascijalna histerektomija. Međutim, obzirom na visoku stopu komplikacija kod ponovnog zahvata te velik broj negativnih nalaza, preranu reoperacija bi trebalo izbjeći pogotovo kod mlađih bolesnica. Sigurno je da u novije vrijeme istraživanja s većim brojem bolesnica, zatim jasniji histološki kriteriji, bolje uzorkovanje i temeljitija patohistološka analiza tkiva kod primarne operacije, daju veću sigurnost u procjeni rubova konizata. Kod mlađih bolesnica negativan rub konizata ali i izlječenje postiže se s gotovo jednakim uspjehom i LLETZ-om i klasičnom konizacijom. Tome pogoduje i činjenica da mlađe bolesnice (<36 godina) imaju značajno pliće AIS promjene (158). Iako Bertrand i sur. smatraju da konus mora biti visok barem 25 mm uz negativne rubove konizata da bi mogli biti sigurniji u izlječenje, Akiba i van Hanegen su pokazali da kod visine konusa u prosjeku od 13 mm (8-18 mm) nijedna bolesnica nije imala rezidualnu bolest/recidiv (159,160).

U konzervativno liječenih potrebne su češće citološko-kolposkopske kontrole, a kad bolesnica

rodi autori još uvijek preporučuju ekstrafascijalnu histerektomiju. Upitno je treba li bolesnici koja redovito dolazi na kontrolu, a kod koje nema dokaza o prisutnoj bolesti učiniti histerektomiju. Ostor i suradnici su pratili 53 žene 16 godina od konizacije učinjene zbog AIS-a i nijedna nije razvila adenokarcinom. U velikom broju histerektomiranih bolesnica ne nađe se rezidualna bolest što znači da je promjena u cijelosti odstranjena konizacijom. U tim je slučajevima radikalan zahvat nepotreban i tragičan za bolesnicu koja još uvijek želi roditi. Ženama gubitak spolnih organa ne označava samo gubitak reprodukcijske sposobnosti već uzrokuje emotivno-psihičke promjene, a dugoročno i nove morbiditete u smislu poremećaja statike dna zdjelice (161,162).

Jasno je da kako bismo poštedili bolesnice agresivnog i prekomjernog liječenja *(engl. overtreatment)* procjena rubova konizata i češće citološko-kolposkopske kontrole nisu dovoljne. U tome nam treba pomoći uvođenje HPV DNK testa u medicinske protokole međutim, postoji opasnost i od prekomjernog i neopravdanog testiranja zbog intolerancije pogreške *(engl. intolerence of error)* koja je breme moderne medicine.

Provedena istraživanja su pokazala da se uvođenjem HPV DNK tipizacije u protokole praćenja nakon liječenja preinvazivnih lezija pločastih stanica poboljšava prepoznavanje rezidualne bolesti/recidiva, ali i omogućuje raniji povratak bolesnice u standardni probir. Na taj se način poboljšava kvaliteta života bolesnice, a ujedno smanjuju i medicinski troškovi. Osjetljivost i specifičnost u otkrivanju rezidualne bolesti/recidiva je do 97% ako se uzme u obzir i citološki nalaz i HPV DNK tipizacija *(engl. Combined test)* (163-177). Preinvazivne promjene visokog stupnja koje uzrokuje HPV moguće je potpuno odstraniti kirurškim metodama, ali pitanje je možemo li tako odstraniti HPV tj. izlječiti infekciju. Neka istraživanja su pokazala progresivnu negativizaciju HPV testa nakon LLETZ konizacije i krioterapije (178).

Bolesnica s preinvazivnim promjenama cilindričnim stanica nisu dostatno uključene u

istraživanja koja bi pokazala važnost HPV tipizacije u praćenju tih bolesnica nakon konizacije. Povećana učestalost adenokarcinoma vrata maternice ukazuje na to da su dosadašnji medicinski protokoli nedovoljno uspješni u otkrivanju preinvazivnog stadija te bolesti, a time i u praćenju bolesnica nakon konizacije. Prisutan je strah i anksioznost kod bolesnica i kod liječnika kojima su potrebni pouzdaniji protokoli kako bi bolesnica bila pošteđena radikalnog zahvata. Obzirom da HPV uzrokuje karcinom vrata maternice i pločastog i cilindričnog tipa, dokaz prisutnosti odnosno odsutnosti tog virusa nakon učinjene konizacije, uz naravno citološko-kolposkopsku kontrolu, može omogućiti sigurnost u praćenju bolesnica i osigurati konzervativniji pristup u praćenju i liječenju, s ciljem produžavanja fertilne sposobnosti žene. Pitanje ostaje u kojem trenutku tijekom praćenja je ta informacija „najkorisnija" kako bismo bili sigurni da je bolesnica izliječena odnosno da je potreban ponovni kirurški zahvat.

1.4. SUPERFICIJALNI INVAZIVNI KARCINOM VRATA MATERNICE PLOČASTOG EPITELA

Prema klasifikaciji Međunarodne udruge za karcinom ginekologa i opstetričara (FIGO - Fédération Internationale de Gynécologie et d´Obstetrique 2009) I a stadij invazivnog pločastog karcinoma podrazumijeva karcinome vidljive samo mikroskopski s invazijom strome širine ≤5 mm i dubine ≤7mm. Definicija superficijalnog invazivnog karcinoma pločastih stanica Američkog društva patologa (CAP) i Američkog društva za kolposkopiju i patologiju vrata maternice (ASCCP) odgovara FIGO stadiju Ia1. Dijagnoza Ia stadija postavlja se konizacijom ili histerektomijom kojom je promjena odstranjena u cijelosti. Klinički vidljivi tumori su I b stadija bez obzira na veličinu. Stadij Ia1 podrazumijeva invaziju strome dubine ≤3 mm i širine ≤7 mm. Lezije dublje od 3 mm i šire od 7 mm smatraju se stadijem Ia2. Dubina invazije mjeri se od bazalnog epitela od kojeg i nastaje. Ukoliko je učinjena konizacija potrebno je naznačiti udaljenost invazivnog tumora i/ili pridruženih CIN promjena od resekcijskih rubova. Invazija limfokapilarnih prostora (LKP) ne mijenja stadij ali se mora naznačiti. Američko ginekološko onkološko društvo (GOS) definira mikroinvazivni karcinom kao invaziju strome od bazalnog epitela dubine ≤3 mm bez invazije LKP. Veći tumori ili oni s invazijom LKP smatraju se stadijem Ib. Rani invazivni karcinom vrata maternice može imati multifokalne promjene. Predloženo je nekoliko načina mjerenja i procjene multižarišnih lezija. Mcllwaine i sur su u novijem istraživanju pokazali da je klinički najprihvatljivije obzirom na određivanje stadija tumora i izbor liječenja žarišta invazije promatrati zasebno a dijagnozu postaviti prema žarištu najvišeg FIGO stadija (179).

Stadij I a pločastog karcinoma vrata maternice nađe se u oko 5% konizata (klasičnih ili LLETZ) reseciranih zbog CIN-a. Prosječna dob bolesnica je 45 godina što je deset godina

manje od prosječne dobi oboljelih od invazivnog pločastog karcinoma vrata maternice svih ukupnih stadija.

FIGO klasifikacija karcinoma vrata maternice:

STADIJ I Karcinom ograničen isključivo na vrat maternice

- IA invazivni karcinom koji se može dijagnosticirati samo mikroskopski, s najdubljom invazijom ≤ 5 mm i najvećom širinom invazije ≤7 mm
- IA1 invazija u stromu ≤3 mm u dubinu i širina invazije ≤7 mm
- IA2 invazija u strome >3 mm ali ne >5 mm sa širinom invazije ne >7 mm
- IB Klinički vidljiva lezija ograničena na vrat maternice ili pretklinički rak veći od stadija IA
- IB1 klinički vidljiva lezija ≤4 cm u najvećem promjeru
- IB1 klinički vidljiva lezija >4 cm u najvećem promjeru

STADIJ II: Karcinom vrata maternice širi se izvan maternice, ali ne do zdjeličnog zida niti u donju trećinu vagine

- IIA bez invazije u parametrije
- IIA1 klinički vidljiva lezija ≤ 4 cm u najvećem promjeru
- IIA2 klinički vidljiva lezija >4 cm u najvećem promjeru
- IIB s očitom invazijom (zahvaćanjem) parametrija

STADIJ III: Tumor se širi do zdjeličnog zida i/ili zahvaća donju trećinu rodnice i/ili uzorkuje hidronefrozu i/ili prestanak rada bubrega

- IIIA tumor se širi u donju trećinu rodnice, bez širenja do zdjeličnog zida
- IIIB tumor se širi do zdjeličnog zida i/ili hidronferoza ili prestanak rada bubrega

STADIJ IV: Karcinom se proširio izvan male zdjelice ili zahvaća (dokazano biopsijom) sluznicu mokraćnog mjehura ili rektuma

- IVA širenje u okolne organe
- IVB širenje u udaljene organe

Histološki gradus tumora (eozionofilna citoplazma, međustanične veze, keratinizacija) se nije pokazao kao prognostiči bitan. U patohistološkom nalazu postoji tipična stromalna reakcija oko invazivnih otočića praćena edemom, fibrozom, nakupljanjem limfocita, eozinofila i povremeno ganulomatozna rekacija na keratin. Bojanje citokeratina i bazalne membrane (laminin ili kolagen IV) omogućava razlikovanje CIN promjena i invazije kod koje nalazimo diskontinuiranu ili nepostojeću bazalnu membranu. Patohistološku analizu otežava prisustvo floridne skvamozne metaplazije, pseudoinvazijne nakon biopsije, ektopično decidualno tkivo pa dijagnoza može biti lažno-pozitivna. Pseudoinvazija limfokapilarnog prostora može nastati kao artefakt uzrokovan lidokainskom injekcijom kod konizacije. Zauzetost glandualarnih kripti CIN-om razlikuje se od invazivne bolesti normalnom stratifikacijom epitela, glatkom granicom s endocervikalnom stromom bez promjena u sazrijevanju stanica i stromalnih promjena.

Invazija LKP može utjecati na izbor liječenja i prognozu. Učestalost pozitivnih LKP raste s dubinom invazije tako da je kod invazije manje od 1 mm učestalost 4,4%, invazije 1-2 mm 16,4% a kod invazije 3-5 mm 19,7%. Kod karcinoma Ia1 stadija bez invazije LKP učestalost metastaziranja u limfne čvorove je 1,7%, dok je kod zauzetih LKP učestalost 8,2%. (180)

Kada su resekcijski rubovi konizata zauzeti CIN-om i/ili invazivnim tumorom postoji visok rizik od invazivne bolesti na zaostalom tkivu kod histerektomije i do 70%. Kad su rubovi slobodni učestalost je puno manja, do 5% (181, 182).

Kliničke karakteristike Ia1 stadija odgovaraju onima kod CIN-a i AIS-a. U nekim slučajevima sumnja se može postaviti PAPA testom. Neke bolesnice imaju jasno vidljive kolposkopske promjene koje se razlikuju od okolnih CIN promjena. Mikroskopski nalaz karakteririzraju jezičci neoplastičnih stanica koje su probile bazalnu membranu udružene s CIN promjenama. Obično se radi o širokom polju CIN-a koji zauzima i kripte. Više od 90% invazije nastaje unutar transformacijske zone a ostatak iz ektocervikalnog pločastog epitela. Dijagnoza superficijalnog invazivnog pločastog karcinoma se obično postavlja na konizatu. Recidiv se javlja kod oko 1% bolesnica. Rizik je veći ukoliko su zauzeti LKP (3,1%) nego kod onih bez (0,6%). Manje od 0,5% bolesnica umre od ove bolesti. (183)

Ovi podaci navode na zaključak da pločasti karcinom Ia1 stadija bez invazije LKP ima zanemariv rizik od metastaziranja u limfne čvorove te da je konizacija dostatno kirurško liječenje ukoliko su rubovi slobodni, a to potvrđuju i rezultati istraživanja (184).

Liječenje Ia1 stadija s invazijom limfnih prostora je individualizirano, ali u nekim centrima liječe se popout Ia2 stadija.

Praćenje ovih bolesnica također se temelji na citološko-kolposkopskom protokolu kao i za preinvazivnu bolest, ali je vrijeme intenzivnog praćenja produženo do 5 godina od postavljanja dijagnoze. Kontrole se vrše svaka 3-4 mjeseca tijekom prve dvije poslijeoperacijske godine a zatim dvaput godišnje slijedeće tri godine. Iako je HPV uzročnik karcinoma vrata maternice HPV DNK VR testiranje se ne koristi rutinski u protokolima praćenja. Pregledom objavljenih znanstvenih članaka nema istraživanja koja su uključila HPV test u protokol praćenja kod žena s dijagnozom superficijalnog invazivnog karcinoma vrata maternice pločastog epitela liječenih konizacijom.

2. HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

2.1. HIPOTEZA

Ako nakon konizacije nema infekcije HPV-om, nema ni rezidualne preinvazivne bolesti, odnosno karcinoma te takvim bolesnicama nije potrebno daljnje operacijsko liječenje.

2.2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

1. Odrediti učestalost HPV pozitivnih bolesnica nakon konizacije, te korelirati rezultati HPV DNK testa s citološkim nalazima i ishodom.
2. Definirati vrijednost citološkog nalaza i HPV DNK testa nakon konizacije.
3. Definirati vremenski period ponavljanja citološke pretrage i HPV DNK testa nakon konizacije.

3. ISPITANICE I METODE

Istraživanje je provedeno u Klinici za ženske bolesti i porode te Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju KBC-a Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (Klinika), uz suglasnost Etičkog povjerenstva obje ustanove. Sve ispitanice su potpisale informirani pristanak bolesnika za sudjelovanje u istraživanju.

Istraživanje je provedeno u razdoblju od 01. siječnja 2008. do 01. siječnja 2014. godine. Ispitanice koje su sudjelovale liječene su prema revidiranom dijagnostičko-terapijskom postupniku za preinvazivne promjene vrata maternice Hrvatskog društva za kolposkopiju (179). U istraživanje su uključene 162 bolesnice kojima je patohistološkom analizom konusa postavljena dijagnoza CIN3 i/ili AIS te superficijalnog invazivnog karcinoma vrata maternice pločastog epitela. Podaci su prikupljani retrospektivno i prospektivno.

U skupini u kojoj su svi podaci prikupljeni prospektivno uključene su 122 bolesnice operirane konizacijom nakon početka istraživanja. Pismenim putem pozvano je još 120 bolesnica operiranih unutar dvije godine prije početka istraživanja. Od tih bolesnica četrdeset se odazvalo istraživanju i njihovi podaci su prikupljeni djelomično retrospektivno. Podaci o njihovom patohistološkom nalazu kod konizacije te uzorci citoloških pregleda do trenutka početka studije prikupljeni su iz arhive Klinike, Zavoda za kirurgiju te Kliničke jedinice za ginekološku i perinatalnu patologiju Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju KBC-a Zagreb.

Sve bolesnice su kontrolirane prema postupniku Hrvatskog društva za kolposkopiju. Tijekom prve poslijeoperacijske godine imale su kontrolni pregled svaka 3 do 4 mjeseca, a zatim svakih 6 mjeseci tijekom druge poslijeoperacijske godine. Kod svakog kontrolnog pregleda u prospektivnom praćenju učinjen je obrisak vrata maternice za citološku analizu metodom tekuće citologije (*engl. liquid-based cytology*, LBC). Iz istog uzorka određen je i HPV-VR

DNK. U dostupnim retrospektivno prikupljnim uzorcima za citološki pregled određena je također HPV-VR DNK. U slučajevima pozitivnog HPV-VR DNK testa određivan je zatim HPV genotip. Rezultat HPV testa nije uzet u obzir u postupniku liječenja i nadležni ginekolog nije imao podatak o nalazu.

Nalazi su grupirani u tri skupine intervala praćenja: prvi (3-6 mjeseci), drugi (9-12 mjeseci) i treći (18-24 mjeseca). Sve su bolesnice praćene barem 24 mjeseca od primarnog operacijskog zahvata (konizacija) ukoliko nije postavljena sumnja na rezidualnu bolest/recidiv ili do sekundarnog operacijskog zahvata (rekonizacija, histerektomija).

3.1 TEKUĆA CITOLOGIJA

Tekuća citologija (*engl. liquid-based cytology*, LBC) je metoda citološke analize obriska vrata maternice. Razvila se unazad dva desetljeća (odobrenje FDA SAD 1996. godine). Postoje ThinPrep©, SurePath© i MonoPrep© testovi. Glavna razlika između LBC-a i PAPA testa je u tome što se stanice uzete s vrata maternice ne razmažu na mikroskopsko stakalce nego se prenose izravno u bočicu s tekućinom za konzerviranje. Za bolesnice je pregled rodnice u potpunosti jednak ali se uzeti obrisak drugačije pohranjuje i obrađuje.

Ova metoda je razvijena kako bi se pokušala svladati ograničenja klasične citologije. Nedostaci klasične citologije podrazumijevaju nemogućnost prenošenja cijelog uzorka uzetog od bolesnice na stakalce, nedostatnu fiksaciju uzorka, nezadovoljavajuću distribiciju abnormalnih stanica u uzorku, zagađujuće tvari (iscjedak, krv) i tehničke razlike u kvaliteti razmaza. Istraživanja su pokazala da je u više od 15% klasičnih razmaza vrijednost ograničena zbog krvi i upale te preklapajućih stanica u nekoliko razina (180,181).

Kontrolirana randomizirana studija provedena u devet centara pokazala je da LBC nema veću osjetljivost za promjene ≥CIN2, ali je broj nezadovoljavajućih uzoraka smanjen, a time i

pozitivna prediktivna vrijednost (PPV) testa jer je povećan broj nalaza ACS-US i AGC-US (182). RHINE-SAAR studija je pokazala veću osjetljivost ThinPrep-a od klasičnog obriska po Papanicoulaou bez gubitka na specifičnosti (183). Mogućnost računalne pohrane i obrade slika još je dodatno povećala osjetljivost. Neke studije su pokazale povećanu osjetljivost i specifičnost u dijagnozi preinvazivnih promjena cilindričnih stanica (AGC i AIS) za čak 50-72% (184-186). Meta-analiza istraživanja objavljenih od 1991. do 2007. godine pokazala je da i tekuća i klasična citologija imaju jednaku osjetljivost i specifičnost (187). Međutim, gotovo su svi autori suglasni da je broj nezadovoljavajućih uzoraka smanjen kod tekuće citologije. Vrijeme potrebno za analizu uzorka je manje nego kod PAPA testa. Međutim još uvijek se navodi potreba za kvalitetnijim i bolje organiziranim istraživanjima (188).

Dodatna prednost tekuće citologije je u mogućnosti testiranja istog uzorka na infekciju uzročnicima kao što su humani papiloma virus (engl. *reflex HPV testing*), herpes simplex virus (HSV), Chlamydia trachomatis i Neisseria gonorrhoae. U primarnom probiru se u slučaju abnormalnog nalaza uzorak može naknadno testirati na HPV bez ponovnog pregleda bolesnice. Na taj se način poboljšava i suradljivost bolesnice. Također je moguće imunohistokemijski odrediti pojačanu ekspresiju p16 tumor supresor gena u preinvazivnim i invazivnim pločastim i cilindričnim promjenama. Tekuća citologija otvara nove mogućnosti za citodijagnostiku u budućnosti jer se nalazi mogu očitavati i putem računalnih programa. U uporabi je *ThinPrep Image read*, koji je u SAD za kliničku uporabu odobrila FDA 2003. godine.

3.2. DETEKCIJA HPV DNK

3.2.1. AMPLICOR

Za detekciju HPV-a visokog rizika koristili smo AMPLICOR® *Human Papilloma Virus (HPV) Test* (<ROCHE> Molecular Systems, Inc). To je kvalitativni *in vitro* test za detekciju HPV-a u kliničkom uzorku. Koristi primere za određivanje redoslijeda baza u polimorfnoj L1 regiji dugačkoj 165 pb. Dodatni primer prepoznaje b-globin ljudskih stanica kao kontrolu. Uzorak se prikuplja metodom tekuće citologije LBC (Cobas® PCR Cell Collection Media), transportira na temperaturi od 2-30ºC i čuva na sobnoj temperaturi do 3 tjedna, odnosno na 2-8ºC do 8 tjedana. Test se temelji na umnožavanju ciljne DNK sekvence lančanom reakcijom polimeraze (PCR, engl. *polymerase chain reaction*) i hibridizacijom nukleinskih kiselina za otkrivanje 13 tipova HPV-a visokog rizika (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 i 68) u stanicama vrata maternice pohranjenih u tekućem mediju, u našem slučaju LBC. PCR DNK test je visoko osjetljiva (96%) i neinvazivna metoda za dokazivanje aktivne HPV infekcije na vratu maternice, ali pri tom ne pokazuje o kojem se genotipu radi.

AMPLICOR test ima 4 koraka:

- priprema uzorka lizom u denaturirajućim uvjetima na povišenim temperaturama;
- PCR amplifikacija ciljne DNK koristeći komplementarne specifične primere – DNK amplikon (primeri odgovaraju sekvencama u polimorfnoj L1 regiji HPV genoma);
- hibridizacija amplificiranog produkta za oligonukleotidne probe (oligonukleotidni primeri neovisno detektiraju HPV amplikon i b-globin amplikon);
- detekcija tog kompleksa (produkt-proba) kolorometrijski.

U istom uzorku se istovremeno amplificira i b-globin DNK amplikon od 268bp (stanična kontrola).

Tablica 3. Interpretacija rezultata testa.

HPV A 450	ß-globin A 450	INTERPRETACIJA
< 0.20	≥ 0.20	HPV-HR negativan
< 0.20	< 0.20	Nevaljan test – treba ponoviti
≥ 0.20	Bilo kakav	HPV-HR pozitivan

3.2.2. Inno-LiPA

Genotip HPV-a određen je korištenjem LiPA (engl. *Line immuno Probe Assay*) metode komercijalnog kompleta *„INNO-LiPA HPV genotyping v2 system''* (Innogenetics, Gent, Belgium), prema njihovom protokolu. Prvo je umnožen dio genoma HPV-a PCR metodom sa setom početnica (SPF10) koje obuhvaćaju visoko konzerviranu regiju - HPV L1 otvoreni okvir čitanja i daju produkte od 65kb. Amplikoni (PCR produkti) se inkubiraju 5 minuta na sobnoj temperaturi s denaturacijskom otopinom i biotiniliraju te se dodaje hibridizacijska otopina i membranski stripovi koji imaju na sebi imobilizirane specifične probe. Nakon inkubacije od sat vremena na 49ºC u tresućoj vodenoj kupelji ispiru se puferom u istim uvjetima tijekom 30 minuta, uz dodanu streptavidin-konjugiranu alkalnu fosfatazu koja se vezala na biotinilirane hibride. Vizualizacija uz substrat uslijedila je nakon konjugacije na sobnoj temperaturi. Formiran je ljubičasti precipitat na membranskim stripovima nakon konačne inkubacije s BCIP/NBT kromogenom. Rezultati su interpretirani vizualno.

Ovaj test odvojeno prepoznaje 28 tipova HPV-a među kojima su tipovi visokog i niskog rizika (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 43, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 70, 71, 74, 82), s tim da ima još i mogućnost prepoznavanja prisutnosti neodređenih tipova (HPV X).

3.3. STATISTIČKE METODE

Podaci su prikazani tablično i grafički. Prikazane su osnovne mjere opisne statistike za kvantitativne vrijednosti - minimalne i maksimalne vrijednosti, aritmetičke sredine i standardne devijacije, dok su kategorijske vrijednosti prikazane kroz apsolutne brojeve (frekvencije) i učestalosti. Bolesnice s AIS-om prikazane su tablično s individualnim opisima pojedinih kliničkih parametara. Razlike u pojedinim kategorijskim parametrima analizirane su χ^2 testom. McNemarovim testom analizirane su manje skupine. Koeficijent kappa (k) izračunat je za analizu konzistencije nalaza između intervala praćenja.

Za procjenu vrijednosti citološkog nalaza i HPV testa u detekciji rezidualne bolesti/recidiva tijekom praćenja, prema tablicama kontingencije s 95%-tnim intervalom pouzdanosti izračunati su:

- OSJETLJIVOST – opisuje vjerojatnost da će neka osoba s ciljanim poremećajem na ispitivanju biti pozitivna.
- SPECIFIČNOST – opisuje vjerojatnost da će osoba bez ciljnog poremećaja po ispitivanju biti negativna.
- POZITIVNA PREDIKTIVNA VRIJEDNOST (PPV) – je mjera učinkovitosti testa, a označava koliki postotak osoba s pozitivnim nalazom ima neku bolest.
- NEGATIVNA PREDIKTIVNA VRIJEDNOST (NPV) – je također mjera učinkovitosti testa i otkriva koliki postotak osoba s negativnim rezultatom nema bolest.
- OMJERI VJEROJATNOSTI (*engl. "LIKELIHOOD RATIO", LR*) za pozitivan (LR+), odnosno negativan test (LR-) izražavaju veličinu kojom je vjerojatnost bolesti u određenom bolesniku promijenjena rezultatom pretrage. Omjerima vjerojatnosti uspoređuju se dvije vjerojatnosti: vjerojatnost da će osoba s određenom bolešću imati određeni rezultat pretrage u odnosu na vjerojatnost da će osoba bez takve bolesti imati isti rezultat pretrage. Raspon

vrijednosti LR je od nule do beskonačnosti. Vrijednosti <1 odgovaraju padu vjerojatnosti bolesti poslije pretrage, dok vrijednosti >1 upućuju na porast vjerojatnosti bolesti poslije pretrage. Vrijednost LR koja iznosi 1 naznačuje da za pretragu postoji ista vjerojatnost da bude pozitivna ili negativna u ispitanika koji imaju bolest i onih koji je nemaju te stoga nije korisna.

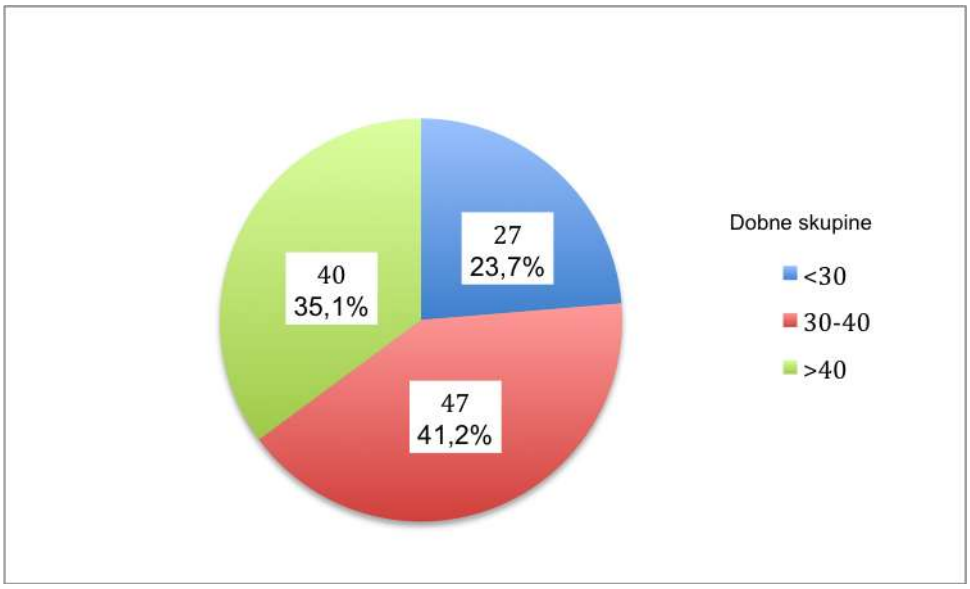
- DIJAGNOSTIČKI OMJER IZGLEDA *engl. DIAGNOSTIC ODDS RATIO* (DOR) je mjera učinkovitosti testa. Izražava jačinu povezanosti između izloženosti i bolesti. To je omjer izgleda za pozitivnost na bolest u odnosu na izglede za pozitivnost u neoboljelih osoba. Vrijednost DOR je u rasponu od 0 do beskonačnosti. Više vrijednosti ukazuju na bolju razlikovnost pretrage.

Sve P vrijednosti manje od 0,05 su smatrane značajnima. U analizi se koristila programska podrška *StatsDirect Statistical Software version 2.7.8 (www.statsdirect.com).*

4. REZULTATI

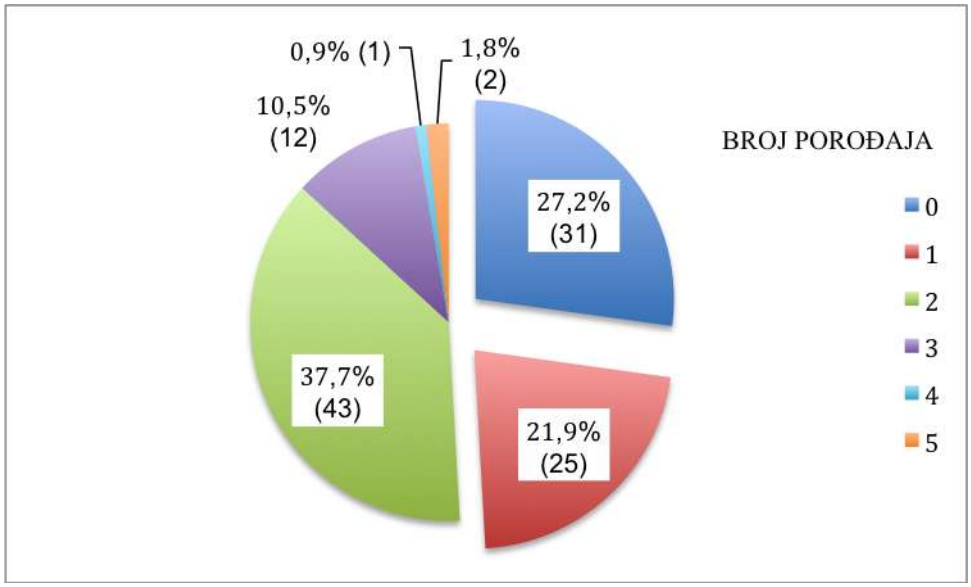
Od 162 bolesnice uključene u istraživanje, 125 je imalo sve tražene podatke potrebne za analizu. Bolesnice su praćene u rasponu od 5 do 72 mjeseca (medijan 41 mjesec). U skupini bolesnica s preinvazivnom bolesti kod 101 (88,6%) je patohistološkom analizom konusa postavljena dijagnoza CIN3, dok je kod 13 (11,4%) postavljena dijagnoza AIS. Kod 11 bolesnica je postavljena dijagnoza superficijalnog invazivnog karcinoma pločastog tipa. Bolesnice s ranim invazivnim karcinomom prikazane su posebno obzirom na malen uzorak i nepotpunu statističku analizu.

Grafikon 1. Podjela bolesnica s preinvazivnom bolesti po dobnim skupinama



U skupini bolesnica s preinvazivnom bolesti većina je bila mlađa od 40 godina (64,9%; medijan 35,0; raspon 18-66 godina), a najviše ih je bilo u dobnoj skupini od 30-40 godina (Graf 1).

Grafikon 2. Podjela bolesnica s preinvazivnom bolesti u odnosu na broj porođaja



Skoro trećina (27,2%; N=31) bolesnica do konizacije nije rodila, a 25 (21,9%) ih je rodilo samo jednom (Graf 2). Te dvije skupine čine gotovo polovicu ispitanica (49,1%).

Tablica 4. Karakteristike bolesnica operiranih zbog AIS-a

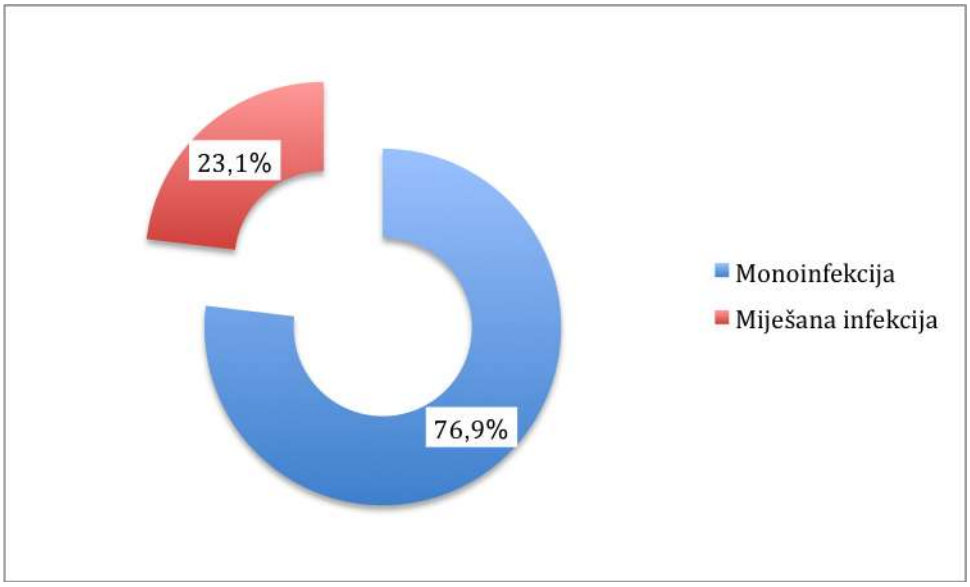
	Dob	Paritet	HPV prije konizacije	Tip operacije	Patohistološki nalaz kod konizacije	Rubovi	Citološki nalaz nakon konizacije	HPV nakon konizacije	Patohistološki nalaz nakon reoperacije (rekonizacija/histerektomija)
1.	31	2	16, 18	nož	CIN3+AIS	neg	uredna	neg	Kontrolni nalazi uredni
2.	37	0	18	nož	AIS	poz	AGC-vjer intraep.	neg	Tuboendometralna metaplazija
3.	43	2	N/A	nož	AIS+CIN3	neg	CIN/AIS	neg	Endometriosis adenomyosis
4.	31	0	16	LLETZ	AIS+CIN3	neg	H-SIL	neg	uredan
5.	42	2	18	nož	AIS	neg	ASC-H AIS	neg	Kontrolni nalazi citologije uredni
6.	31	0	Poz	LLETZ	AIS+CIN3	neg	H-SIL AGC	poz	MIC
7.	58	2	18	nož	AIS	neg	uredna	neg	Kontrolni nalazi uredni
8.	28	1	18	nož	AIS	neg	uredna	neg	Kontrolni nalazi uredni
9.	43	2	16	nož	AIS+CIN3	neg	uredna	HPV 74,51	Kontrolni nalazi uredni
10.	27	0	N/A	nož	AIS	neg	AGC intraep.	neg	Biopsija – kronična upala. Kontrolni nalazi uredni
11.	28	1	16	nož	AIS	neg	AGC	neg	Kontrolni nalazi uredni
12.	25	0	N/A	nož	AIS+CIN3	neg	ASC-H	neg	Kontrolni nalazi uredni
13.	38	3	N/A	nož	AIS+CIN3	neg	AGC intraep	neg	Biopsija CIN1 kontrolni nalazi uredni

MIC – mikroinvazivni adenokarcinom, N/A – nema podatka

Broj bolesnica kojima je na konusu dijagnosticiran AIS je malen sukladno prevalenciji ove bolesti. Karakteristike ovih bolesnica prikazane su u Tablici 4. Bolesnice su bile u dobi od 25 do 58 godina. Devet (69,2%) ih je bilo mlađe od 40 godina. Pet (38,5%) je bilo nulipara. Prije konizacije je u četiri bolesnice izoliran HPV16, a u pet HPV18. Za ostale nema podatka. Dvije bolesnice su operirane LLETZ metodom, a ostale hladnim nožem. U 7 (53,8%) bolesnica je na konizatu uz AIS nađen i CIN3. Samo je u jednom slučaju rub bio nejasan odnosno pozitivan. Tri bolesnice koje su bile reoperirane (redni br 2, 3, 6 u Tablici 4) imale su negativan HPV DNK test prije reoperacije i sva su tri PHD nalaza kod druge operacije bila negativna na preinvazivnu ili invazivnu bolest vrata maternice. Sve tri su reoperirane do 5 mjeseci od konizacije. Bolesnica br. 6 je reoperirana 19 mjeseci nakon konizacije. Kod nje je nakon konizacije HPV test bio pozitivan a kod reoperacije je nađen

mikroinvazivni adenokarcinom. Od bolesnica koje nisu reoperirane samo je jedna (br. 9) imala pozitivan HPV DNK test. Kod nje je devet mjeseci od konizacije izoliran HPV74, a 12 mjeseci od konizacije HPV51 (prije konizacije izoliran je HPV16). Kontrolni citološki nalazi su bili uredni.

Grafikon 3. Tip HPV infekcije prije konizacije (LLETZ, hladni nož)



Sve bolesnice kojima je prije konizacije učinjen HPV test (N=39) bile su HPV pozitivne. Genotipizacijom je kod 76,9% izoliran samo jedan genotip (Graf 3).

Tablica 5. Učestalost HPV infekcije prema genotipu prije konizacije

	N	%
16	18	46,2
16,18	2	5,1
16,51	2	5,1
16,52	1	2,6
16,58,52	1	2,6
16,66	1	2,6
18	4	10,3
31	1	2,6
31,33,53,54,44	1	2,6
33	3	7,7
33,52,54	1	2,6
51	1	2,6
52	2	5,1
53	1	2,6
Ukupno	39	100,0

Raspodjela genotipova je prikazana u tablici 5. U skoro dvije trećine (64,1%) bolesnica izoliran je genotip 16, bilo kao monoinfekcija (46,2%) ili infekcija miješanog tipa. U 15,4% slučajeva izoliran je HPV18. Rjeđe su bili prisutni HPV51 (7,7%), HPV52 (12,9%), HPV53 (5,2%), HPV58 (2,6%) te HPV33 (12,9%). Samo u miješanom tipu infekcije izolirani su HPV44 (2,6%), HPV54 (5,2%) i HPV66 (2,6%).

Tablica 6. Raspodjela HPV genotipova ovisno o dobnoj skupini

Izolirani genotip prije konizacije	Dobne skupine					
	<30		30-40		>40	
	N	%	N	%	N	%
16	6	60,0%	7	43,8%	5	38,5%
16,18	0	0,0%	2	12,5%	0	0,0%
16,51	1	10,0%	1	6,3%	0	0,0%
16,52	0	0,0%	0	0,0%	1	7,7%
16,58,52	1	10,0%	0	0,0%	0	0,0%
16,66	0	0,0%	1	6,3%	0	0,0%
18	1	10,0%	1	6,3%	2	15,4%
31	0	0,0%	0	0,0%	1	7,7%
31,33,53,54,44	0	0,0%	1	6,3%	0	0,0%
33	0	0,0%	2	12,5%	1	7,7%
33,52,54	0	0,0%	1	6,3%	0	0,0%
51	0	0,0%	0	0,0%	1	7,7%
52	1	10,0%	0	0,0%	1	7,7%
53	0	0,0%	0	0,0%	1	7,7%

χ^2=23,143;df=26;p=0,625

Nije nađena razlika u raspodjeli genotipova u odnosu na dob (p=0,625) (Tablica 6).

Tablica 7. Izolirani HPV genotip u odnosu na patohistološku dijagnozu konizata

Izolirani genotip prije konizacije	Dijagnoza kod konizacije					
	CIN		AIS		Ukupno	
	N	%	N	%	N	%
16	16	50,0%	2	28,6%	18	46,2%
16,18	1	3,1%	1	14,3%	2	5,1%
16,51	2	6,3%	0	0,0%	2	5,1%
16,52	1	3,1%	0	0,0%	1	2,6%
16,58,52	1	3,1%	0	0,0%	1	2,6%
16,66	1	3,1%	0	0,0%	1	2,6%
18	0	0,0%	4	57,1%	4	10,3%
31	1	3,1%	0	0,0%	1	2,6%
31,33,53,54,44	1	3,1%	0	0,0%	1	2,6%
33	3	9,4%	0	0,0%	3	7,7%
33,52,54	1	3,1%	0	0,0%	1	2,6%
51	1	3,1%	0	0,0%	1	2,6%
52	2	6,3%	0	0,0%	2	5,1%
53	1	3,1%	0	0,0%	1	2,6%

χ^2=23,533;df=13;**p=0,036**

Postoji razlika u raspodjeli genotipova ovisno o patohistološkoj dijagnozi (p=0,036) (Tablica 7). Genotip 18 izoliran je samo u bolesnica s AIS-om. Kod tri bolesnice s AIS-om izoliran je i genotip 16, a svi ostali izolirani genotipovi nađeni su samo u bolesnica s CIN-om.

Tablica 8. Tip HPV infekcije u odnosu na dob bolesnica

			Broj genotipova prije konizacije		Ukupno
			1	>1	
Dobne skupine	<30	N	8	2	10
		%	80,0%	20,0%	100,0%
	30-40	N	10	6	16
		%	62,5%	37,5%	100,0%
	>40	N	13	0	13
		%	100,0%	0%	100,0%
Ukupno		N	31	8	39
		%	79,5%	20,5%	100,0%

χ^2=6,188;df=2;**p=0,045**

Monoinfekcija je u analiziranoj skupini bila češća u svim dobnim skupinama, a miješana je infekcija nađena samo kod mlađih od 40 godina (p=0,045) (Tablica 8).

Tablica 9. Tip HPV infekcije u odnosu na paritet bolesnica

			Broj genotipova prije konizacije		Ukupno
			1	>1	
Je li rodila?	Ne	N	10	3	13
		%	76,9%	23,1%	100,0%
	Da	N	21	5	26
		%	80,8%	19,2%	100,0%
Ukupno		N	31	8	39
		%	79,5%	20,5%	100,0%

χ^2=0,079;df=1;p=0,779

Tip HPV infekcije se nije razlikovao između skupine žena koje su rodile i skupine nulipara (p=0,779) (Tablica 9).

Tablica 10. Patohistološka dijagnoza konusa u odnosu na dob bolesnica

			PHD dijagnoza kod konizacije		Ukupno
			CIN	AIS	
Dobne skupine	<30	N	22	5	27
		%	21,8%	38,5%	23,7%
	30-40	N	43	4	47
		%	42,6%	30,8%	41,2%
	>40	N	36	4	40
		%	35,6%	30,8%	35,1%
Ukupno		N	101	13	114
		%	100,0%	100,0%	100,0%

χ^2=1,820;df=2;p=0,402

U tablici 10. prikazana je raspodjela CIN-a i AIS-a među dobnim skupinama. Razlika u raspodjeli nije bila značajna (p=0,402), iako je nešto više bolesnica s AIS-om bilo mlađe od 30 godina nego u skupini bolesnica s CIN-om (38,5% vs 21,8%) (Tablica 10).

Tablica 11. Patohistološka dijagnoza konusa u odnosu na paritet bolesnica

		Dijagnoza kod konizacije		Ukupno
		CIN	AIS	
Nulipara	N	26	5	31
	%	83,9%	16,1%	100,0%
Rodilja	N	75	8	83
	%	90,4%	9,6%	100,0%
Ukupno	N	101	13	114
	%	88,6%	11,4%	100,0%

χ^2=0,941;df=1;p=0,332

Pojavnost CIN-a ili AIS-a nije ovisila o paritetu bolesnice (p=0,332) (Tablica 11).

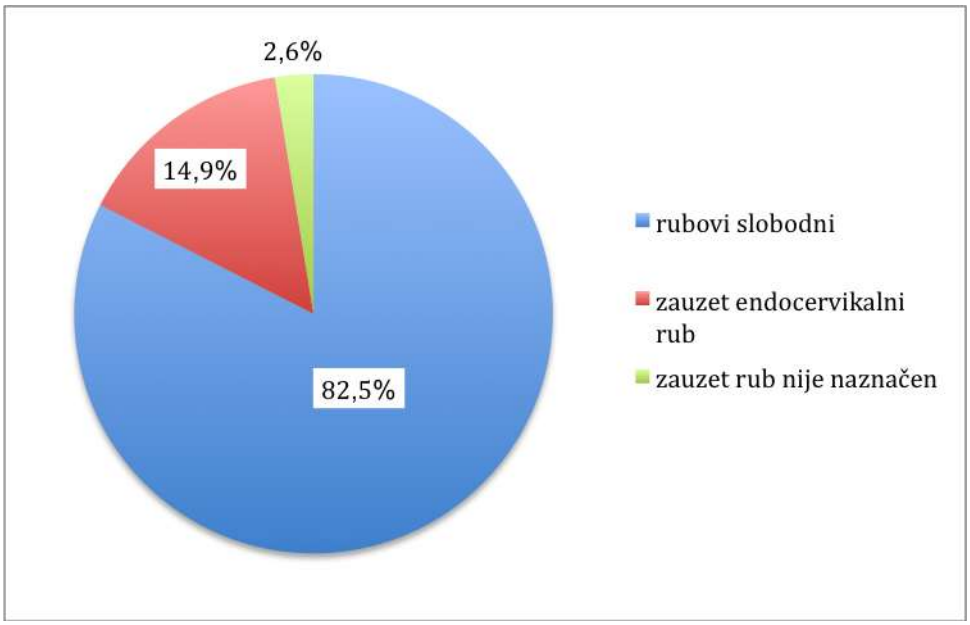
Tablica 12. Patohistološka dijagnoza konusa u odnosu na tip infekcije prije konizacije

			Broj genotipova prije konizacije		Ukupno
			1	>1	
Dijagnoza kod konizacije	CIN	N	25	7	32
		%	78,1%	21,9%	100,0%
	AIS	N	6	1	7
		%	85,7%	14,3%	100,0%
Ukupno		N	31	8	39
		%	79,5%	20,5%	100,0%

χ^2=0,203;df=1;p=0,652

Iako su bolesnice s AIS-om nešto češće imale monoinfekciju u odnosu na bolesnice s CIN-om (85,7 vs 78,1%) ta razlika nije značajna (p=0,652) (Tablica 12).

Grafikon 4. Učestalost zauzetih rubova konusa



U 98 (86%) bolesnica učinjena je konizacija hladnim nožem, a u 16 (14%) LLETZ konizacija. Učestalost pozitivnih rubova bila je 17,5%. U 3 slučaja nije naznačeno koji je rub zauzet, a ostali su bili endocervikalni (Graf 4).

Tablica 13. Zauzetost rubova konusa u odnosu na metodu konizacije

			Tip operacije		Ukupno
			Hladni nož	LLETZ	
Zauzetost rubova konusa	Negativni	N	84	10	94
		%	85,7%	62,5%	82,5%
	Pozitivni	N	14	6	20
		%	14,3%	37,5%	17,5%
Ukupno		N	98	16	114
		%	100,0%	100,0%	100,0%

χ^2=5,124;df=1;**p=0,024**

U tablici 13 prikazana je raspodjela pozitivnih odnosno negativnih rubova konusa u odnosu na metodu konizacije. Rubovi su bili značajno češće pozitivni kod bolesnica operiranih LLETZ metodom (37,5% vs 14,3%) (p=0,024).

Tablica 14. Zauzetost rubova konusa u odnosu na dob bolesnice

			Dobne skupine			Ukupno
			<30	30-40	>40	
Zauzetost rubova konusa	Negativni	N	25	35	34	94
		%	26,6%	37,2%	36,2%	100,0%
	Pozitivni	N	2	12	6	20
		%	10,0%	60,0%	30,0%	100,0%
Ukupno		N	27	47	40	114
		%	23,7%	41,2%	35,1%	100,0%

χ^2=4,170;df=2;p=0,124

Raspodjela pozitivnih odnosno negativnih rubova konusa nije se značajno razlikovala po dobnim skupinama (p=0,124), iako su pozitivni rubovi češće nađeni kod bolesnica u dobi od 30-40 godina (Tablica 14).

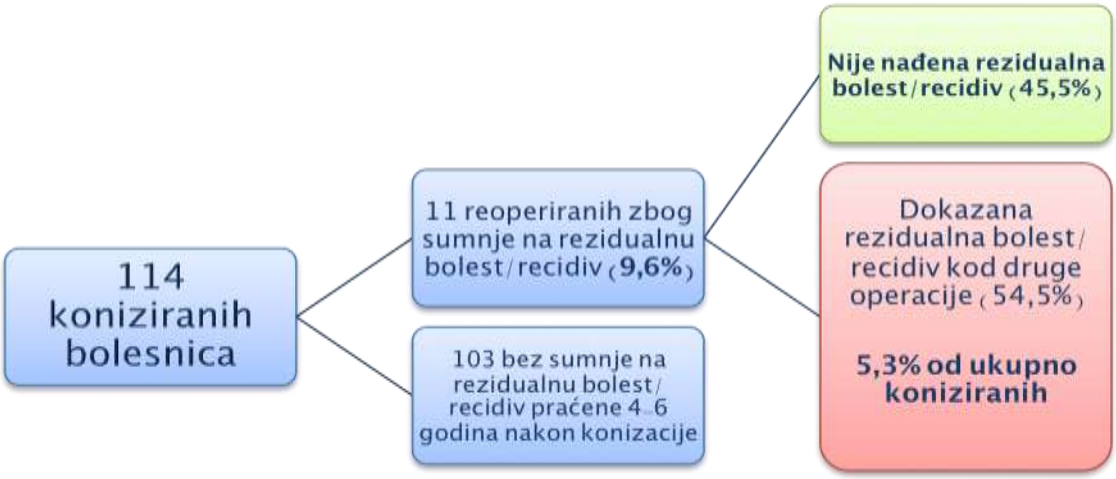
Tablica 15. Zauzetost rubova konusa u odnosu na paritet

			Rodila		Ukupno
			Ne	Da	
Zauzetost rubova konusa	Negativni	N	26	68	94
		%	27,7%	72,3%	100,0%
	Pozitivni	N	5	15	20
		%	25,0%	75,0%	100,0%
Ukupno		N	31	83	114
		%	27,2%	72,8%	100,0%

χ^2=0,059;df=1;p=0,808

Raspodjela nalaza slobodnih, odnosno negativnih rubova konusa bila je gotova jednaka među skupinama rodilja i nulipara (p=0,808) (Tablica 15).

Slika 4. Ishod bolesnica koniziranih zbog preinvazivne bolesti vrata maternice



U jedanaest (9,6%) bolesnica je tijekom praćenja postavljena indikacija za ponovnu operaciju (Slika 4). Ostale bolesnice (N=103) su bile bez znakova bolesti do kraja vremena praćenja od 4 do 6 godina nakon konizacije. Među reoperiranim bolesnicama pet (45,5%) je imalo uredan patohistološki nalaz nakon reoperacije (PHD negativan na preinvazivnu ili invazivnu bolest vrata maternice). Kod šest bolesnica je potvrđena rezidualna bolest/recidiv (5,3% od ukupnog broja; N=114).

Tablica 16. Karakteristike reoperiranih bolesnica koje su na konusu imale preinvazivnu bolest

Redni br.	dob	paritet	HPV prije konizacij	PHD konizacije	Rub konizata	Citološki nalaz nakon konizacije	HPV poslije konizacije	MI	reoperacija	PHD reoperacije
1.	31	0	16	AIS	-	H-SIL	negativan	5	rekonizacija	uredan
2.	43	2	*	AIS	-	AIS, H-SIL	negativan	5	TAH+OA	Endometriosis Cervicitic chr
3.	37	0	18	AIS	+	AGC-intraep.	negativan	5	rekonizacija	Tuboendometralna metaplazija
4.	31	0	poz*	AIS+CIN3	-	H-SIL AGC	poz*	19	rekonizacija	mikroinvazivni adenokarcinom (do 3mm)
5.	46	2	*	CIN3	-	H-SIL	negativan	5	TAH+OA	Cervicitis chr
6.	43	3	33	CIN3	+	H-SIL, sumnja na početnu invaziju	33	8	TAH+OA	CIN 3
7.	44	3	16	CIN3	-	H-SIL, AGC	Na 3 mj 16, na 9 mj negativan	11	TAH+OA	uredan
8.	31	0	16	CIN3	+	H-SIL	16	10	rekonizacija	MIC
9.	54	1	*	CIN3	-	H-SIL	Poz 51	24	rekonizacija	CIN3
10.	38	2	16,18	CIN3	+	H-SIL	31	11	rekonizacija	CIN 3
11.	38	1	*	CIN3	+	H-SIL	poz*	8	rekonizacija	CIN3

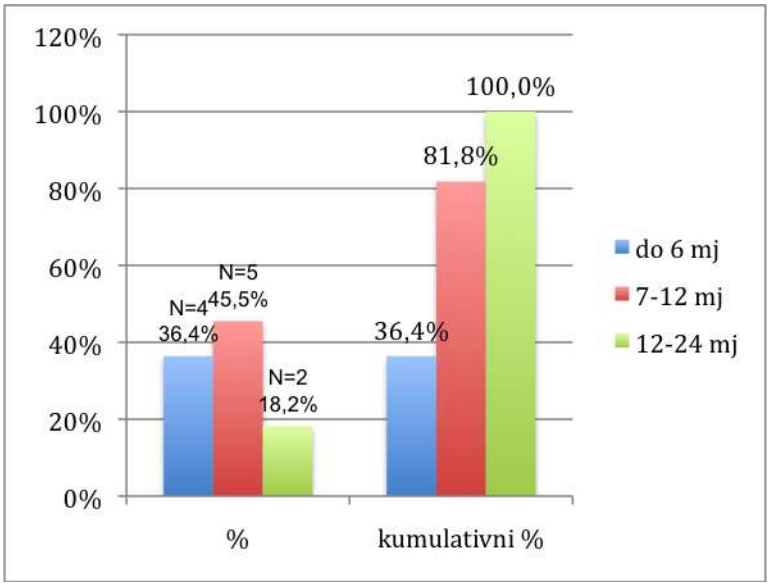
TAH+OA=totalna abdominalna histerektomija s obostranom adneksektomijom

MI međuoperacijski interval u mjesecima, - negativan, + pozitivan, * nedostaje podatak

Karakteristike reoperiranih bolesnica su navedene u Tablici 16. Indikacija za reoperaciju je postavljena na temelju pozitivnog citološkog i suspektnog, odnosno nezadovoljavajućeg kolposkopskog nalaza. Četiri su bolesnice (redni broj 1-4) kod primarne operacije (konizacije) imale AIS. Od njih je jedino bolesnica pod rednim brojem 4 imala pozitivan patohistološki nalaz kod reoperacije tj. nađen je mikroinvazivni karcinom. Od ukupnog broja reoperiranih (N=11) kod četiri (36,4%) je bolesnice učinjena histerektomija s obostranom adneksektomijom, a kod sedam (63,6%) rekonizacija. Šest (46,2%) reoperiranih bolesnica do zahvata nije rodilo, a od njih je 5 (83%) imalo uredan PHD na reoperaciji.

Bolesnice kojima je patohistološki nalaz od reoperacije bio negativan na preinvazivnu odnosno invazivnu bolest (N=5) imale su i negativan HPV DNK test. Među bolesnicama kojima je kod reoperacije patohistološki nalaz bio pozitivan na preinvazivnu odnosno invazivnu bolest (N=6) četiri u imale CIN2/3, jedna planocelularni karcinom, a jedna adenokarcinom. Karcinomi su bili IA1 stadija.

Grafikon 5. Raspodjela reoperiranih bolesnica po vremenskim intervalima



Bolesnice su reoperirane u vremenu od 5 do 24 mjeseca od konizacije. Kod većine (81,8%) je sumnja na rezidualnu bolest/recidiv postavljena do kraja prve godine od konizacije (Graf 5).

Tablica 17. Rezidualna bolest/recidiv u odnosu na tip HPV infekcije prije konizacije

		Rezidualna bolest/recidiv		Ukupno
		Ne	Da	
Monoinfekcija	N	29	2	31
	%	93,5%	6,5%	100,0%
Miješana infekcija	N	7	1	8
	%	87,5%	12,5%	100,0%
Ukupno	N	36	3	39
	%	92,3%	7,7%	100,0%

χ^2=6,452;df=1;p=0,864

Bez obzira o kojem se tipu infekcije radilo nije nađena povećana učestalost rezidualne bolesti/recidiva (p=0,864) (Tablica 18).

Tablica 18. Pojavnost rezidualne bolesti/recidiva u odnosu na genotip HPV-a

Izolirani genotip prije konizacije	Rezidualna bolest/recidiv			
	Ne		Da	
	N	%	N	%
16	17	47,2%	1	33,3%
16,18	1	2,8%	1	33,3%
16,51	2	5,6%	0	0,0%
16,52	1	2,8%	0	0,0%
16,58,52	1	2,8%	0	0,0%
16,66	1	2,8%	0	0,0%
18	4	11,1%	0	0,0%
31	1	2,8%	0	0,0%
31,33,53,54,44	1	2,8%	0	0,0%
33	2	5,6%	1	33,3%
33,52,54	1	2,8%	0	0,0%
51	1	2,8%	0	0,0%
52	2	5,6%	0	0,0%
53	1	2,8%	0	0,0%

χ^2=12,450;df=26;p=0,988

Izolirani genotip nije utjecao na pojavnost rezidualne bolesti/recidiva (p=0,988) (Tablica 18).

Tablica 19. Utjecaj metode konizacije na učestalost reoperacije

			Reoperacija		Ukupno
			Ne	Da	
Metoda konizacije	Hladni nož	N	91	7	98
		%	92,9%	7,1%	100,0%
	LLETZ	N	12	4	16
		%	75,0%	25,0%	100,0%
Ukupno		N	103	11	114
		%	90,4%	9,6%	100,0%

χ^2=5,031;df=1;**p=0,025**

Bolesnicama koje su primarno operirane LLETZ-om značajno je češće postavljena sumnja na rezidualnu bolest/recidiv te su češće reoperirane tijekom praćenja (p=0,025) (Tablica 19).

Tablica 20. Pojavnost rezidualne bolesti/recidiva ovisno o metodi konizacije

			Rezidualna bolest/recidiv		Ukupno
			Ne	Da	
Metoda konizacije	Hladni nož	N	95	3	98
		%	96,9%	3,1%	100,0%
	LLETZ	N	13	3	16
		%	81,3%	18,7%	100,0%
Ukupno		N	108	6	114
		%	94,7%	5,3%	100,0%

χ^2=4,008;df=1;**p=0,045**

Kod bolesnica operiranih LLETZ metodom češće je nađena rezidualna bolest/recidiv u odnosu na one operirane hladnim nožem i ta razlika je značajna (p=0,045) (Tablica 20).

Tablica 21. Zauzetost rubova konusa kod bolesnica koje su reoperirane

			Reoperacija		Ukupno
			Ne	Da	
Zauzetost rubova konusa	Negativni	N	87	7	94
		%	92,6%	7,4%	100,0%
	Pozitivni	N	16	4	20
		%	80,0%	20,0%	100,0%
Ukupno		N	103	11	114
		%	90,4%	9,6%	100,0%

χ^2=2,981;df=1;p=0,084

Iako je nešto više bolesnica reoperirano u skupini koja je imala pozitivne rubove u odnosu na skupinu koja je imala negativne, procjena rubova konusa nije utjecala na odluku za reoperaciju odnosno postavljanje sumnje na rezidualnu bolest/recidiv (p=0,084) (Tablica 21).

Tablica 22. Rezidualna bolest/recidiv u odnosu na rubove primarnog konusa

			Rezidualna bolest/recidiv		Ukupno
			Ne	Da	
Zauzetost rubova konusa	Negativni	N	92	2	94
		%	97,9%	2,1%	100,0%
	Pozitivni	N	16	4	20
		%	80,0%	20,0%	100,0%
Ukupno		N	108	6	114
		%	94,7%	5,3%	100,0%

χ^2=7,279;df=1;**p=0,007**

Zauzeti rubovi su bili rizičan čimbenik za pojavu rezidualne bolesti/recidiva (p=0,007) (Tablica 22). U skupini bolesnica s negativnim rubovima 2,1% je imalo rezidualnu bolest/recidiv, dok je u skupini s pozitivnim rubovima učestalost bila 20%.

Tablica 23. Zauzetost rubova konusa u odnosu na patohistološki nalaz nakon reoperacije

			PHD nalaz kod reoperacije		Ukupno
			Negativan	Pozitivan	
Zauzetost rubova konusa	Negativni	N	5	2	7
		%	71,4%	28,6%	100,0%
	Pozitivni	N	0	4	4
		%	0,0%	100,0%	100,0%
Ukupno		N	5	6	11
		%	45,5%	54,5%	100,0%

χ^2=5,238;df=1;**p=0,022**

Iako zauzeti rubovi nisu bili rizičan čimbenik za reoperaciju (p=0,084), sve su bolesnice kojima je citološki nalaz bio pozitivan i rubovi zauzeti imale rezidualnu bolest/recidiv (p=0,022) (Tablica 23). Dvije (2/7) bolesnice kojima je rub konusa kod primarne konizacije bio negativan imale su kod reoperacije pozitivan patohistološki nalaz.

Tablica 24. Citološki nalaz nakon konizacije u odnosu na zauzetost rubova konusa

			Citološki nalaz		Ukupno
			Negativna	Pozitivna	
Zauzetost rubova konusa	Negativni	N	81	13	94
		%	86,2%	13,8%	100,0%
	Pozitivni	N	15	5	20
		%	75,0%	25,0%	100,0%
Ukupno		N	96	18	114
		%	84,2%	15,8%	100,0%

χ^2=1,548;df=1;p=0,213

U tablici 24 vidljivo je da zauzetost rubova konizata nije utjecala na citološki nalaz nakon primarne operacije (p=0,213) (Tablica 24) a prema tome niti na reoperaciju (p=0,084) (Tablica 21).

Tablica 25. HPV infekcija nakon konizacije u odnosu na zauzetost rubova

			HPV		Ukupno
			Negativan	Pozitivan	
Zauzetost rubova konusa	Negativni	N	74	20	94
		%	78,7%	21,3%	100,0%
	Pozitivni	N	12	8	20
		%	60,0%	40,0%	100,0%
Ukupno		N	86	28	114
		%	75,4%	24,6%	100,0%

χ^2=3,120;df=1;p=0,077

Iako je HPV češće bio pozitivan u skupini gdje je rub pozitivan nego u skupini gdje je rub negativan (40% vs 21,3%) ta razlika nije značajna (p=0,077) (Tablica 25).

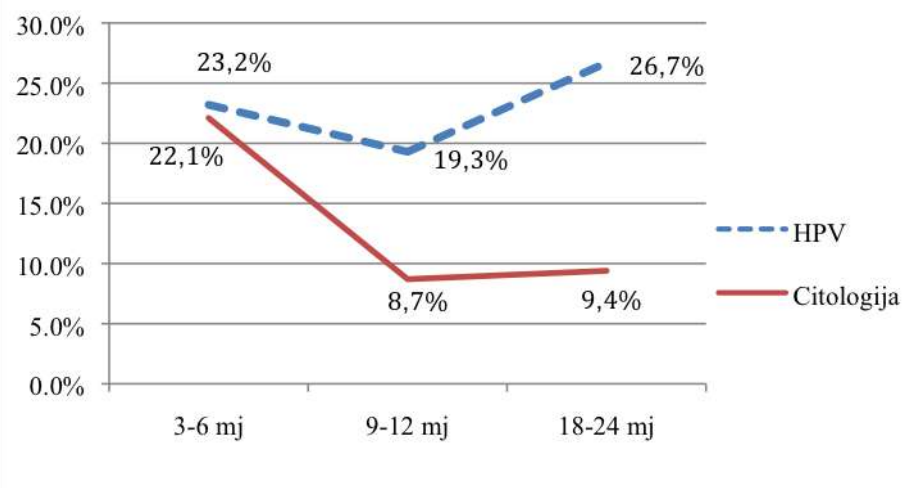
Tablica 26. Rezidualna bolest/recidiv u odnosu na tip HPV infekcije prije konizacije

		PHD nalaz nakon reoperacije		Ukupno
		Negativan	Pozitivan	
Monoinfekcija	N	29	2	31
	%	93,5%	6,5%	100,0%
Miješana infekcija	N	7	1	8
	%	87,5%	12,5%	100,0%
Ukupno	N	36	3	39
	%	92,3%	7,7%	100,0%

χ^2=1,087;df=2;p=0,581

Tip HPV infekcije prije konizacije nije utjecao na pojavnost rezidualne bolesti/recidiva kod reoperacije (p=0,581) (Tablica 26).

Grafikon 6. Učestalost pozitivnih nalaza HPV-a i citologije po intervalima praćenja



Grafikon 6 prikazuje distribuciju pozitivnih nalaza citologije i HPV testa po intervalima praćenja. Međutim, u svim intervalima postoji tendencija češće pozitivnog nalaza HPV testa u odnosu na citološki nalaz.

Tablica 27. Usporedba pozitivnih nalaza citologije i HPV testa

	HPV	Citologija	P
3-6 mjeseci	13 (23,2%)	23 (22,1%)	0,968
9-12 mjeseci	11 (19,3%)	8 (8,7%)	0,104
18-24 mjeseci	12 (26,7%)	8 (9,4%)	**0,010**

Fischerov test

HPV test je značajno češće pozitivan u trećem intervalu praćenja u odnosu na nalaz citologije (p=0,010) (Tablica 27).

Tablica 28. Usporedba nalaza citologije među intervalima praćenja

		Citologija 3-6 mj.				Citologija 9-12 mj.				CItologija 18-24 mj.			
		Negativna		Pozitivna		Negativna		Pozitivna		Negativna		Pozitivna	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Citologija 3-6 mj.	Negativan	81	100,0%	0	0,0%	66	86,8%	1	14,3%	61	87,1%	5	71,4%
	Pozitivan	0	0,0%	23	100,0%	10	13,2%	6	85,7%	9	12,9%	2	28,6%
Citologija 9-12 mj.	Negativan	66	98,5%	10	62,5%	84	100,0%	0	0,0%	62	96,9%	4	80,0%
	Pozitivan	1	1,5%	6	37,5%	0	0,0%	8	100,0%	2	3,1%	1	20,0%
Citologija 18-24 mj.	Negativan	61	92,4%	9	81,8%	62	93,9%	2	66,7%	77	100,0%	0	0,0%
	Pozitivan	5	7,6%	2	18,2%	4	6,1%	1	33,3%	0	0,0%	8	100,0%

3/6-9/12 χ^2=21,684;df=1;**p<0,001** 9/12-18/24 χ^2=1,283;df=1;p=0,257 3/6-18/24 χ^2=3,176;df=1;p=0,075

Uspoređujući citološke nalaze među intervalima praćenja u tablici 28, nađeno je da je nalaz bio najčešće pozitivan tijekom prvog intervala praćenja (3-6 mjeseci). Ta razlika je značajna u odnosu na intervale od 9-12 mjeseci i 18-24 mjeseca (p<0,001).

Tablica 29. Usporedba nalaza HPV testa među intervalima praćenja

		HPV 3-6 mj.				HPV 9-12 mj.				HPV 18-24 mj.			
		Negativan		Pozitivan		Negativan		Pozitivan		Negativan		Pozitivan	
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
HPV 3-6 mj.	Negativan	43	100,0%	0	0,0%	14	73,7%	4	80,0%	7	100,0%	2	100,0%
	Pozitivan	0	0,0%	13	100,0%	5	26,3%	1	20,0%	0	0,0%	0	0,0%
HPV 9-12 mj.	Negativan	14	77,8%	5	83,3%	46	100,0%	0	0,0%	9	100,0%	4	66,7%
	Pozitivan	4	22,2%	1	16,7%	0	0,0%	11	100,0%	0	0,0%	2	33,3%
HPV 18-24 mj.	Negativan	7	77,8%	0	0,0%	9	69,2%	0	0,0%	33	100,0%	0	0,0%
	Pozitivan	2	22,2%	0	0,0%	4	30,8%	2	100,0%	0	0,0%	12	100,0%

3/6-9/12 χ^2=0,084;df=1;p=0,772 9/12-18/24 χ^2=3,462;df=1;p=0,063

Nije bilo značajne razlike u nalazu HPV testa među intervalima praćenja od 3-6 mjeseci i 9-12 mjeseci (p=0,772), te između intervala od 9-12 mjeseci i 18-24 mjeseca (p=0,063). Usporedba intervala od 3-6 mjeseca i 18-24 mjeseca nije bila moguće jer su se pozitivni nalazi iz prvog intervala negativizirali (Tablica 29).

Tablica 30. Usporedba nalaza citologije i HPV testa po intervalima praćenja

			Citologija 3-6 mj.		Citologija 9-12 mj.		Citologija 18-24 mj.	
			Negativna	Pozitivna	Negativna	Pozitivna	Negativna	Pozitivna
HPV 3-6 mj	Negativan	N	32	10	34	0	24	3
		%	84,2%	58,8%	87,2%	0,0%	77,4%	75,0%
	Pozitivan	N	6	7	5	4	7	1
		%	15,8%	41,2%	12,8%	100,0%	22,6%	25,0%
HPV 9-12 mj.	Negativan	N	30	7	41	3	35	1
		%	76,9%	77,8%	87,2%	50,0%	83,3%	100,0%
	Pozitivan	N	9	2	6	3	7	0
		%	23,1%	22,2%	12,8%	50,0%	16,7%	0,0%
HPV 18-24 mj.	Negativan	N	28	3	28	0	28	3
		%	75,7%	60,0%	80,0%	0,0%	73,7%	60,0%
	Pozitivan	N	9	2	7	0	10	2
		%	24,3%	40,0%	20,0%	0,0%	26,3%	40,0%

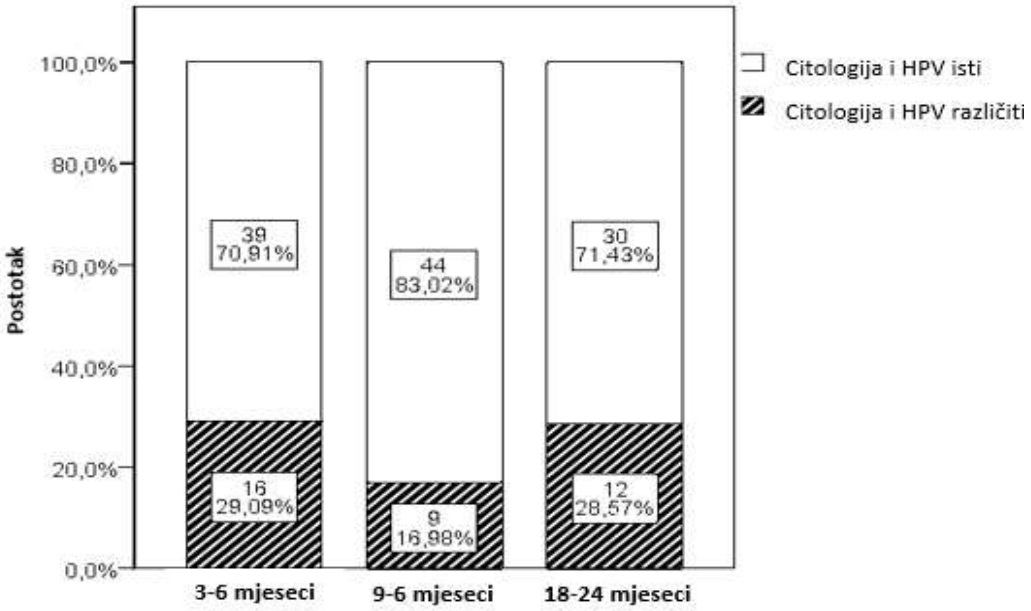
HPV 3/6 – citologija 3/6	χ^2= 4,19;df=1;**p=0,041**
HPV 3/6 – citologija 9/12	χ^2=16,66;df=1;**p<0,001**
HPV 3/6 – citologija 18/24	χ^2=0,012;df=1;p=0,914
HPV 9/12 – citologija 3/6	χ^2=0,003;df=1;p=0,956
HPV 9/12 – citologija 9/12	χ^2=5,23;df=1;**p=0,022**
HPV 9/12 – citologija 18/24	χ^2=3,48;df=1;p=0,063
HPV 18/24 – citologija 3/6	χ^2=0,526;df=1;p=0,454
HPV 18/24 – citologija 9/12	N/A
HPV 18/24 – citologija 18/24	χ^2=0,411;df=1;p=0,521

Tablice 27, 28 i 29 su korištene za izračun vrijednosti koeficijenata podudarnosti (kappa = k) za citološke nalaze među intervalima praćenja, nalaze HPV testa među intervalima praćenja te usporedbu nalaza citologije i HPV testa također po istim intervalima. Nalaz citologije je bio najkonzistentniji/najpodudarniji između prvog i drugog intervala praćenja (k=0,458) (Tablica 31). Rezultati HPV testa bili su slabo podudarni među intervalima praćenja i vrijednost koeficijenta podudarnosti je niska. Najveća podudarnost nađena je između HPV nalaza u prvom intervalu i nalaza citologije u drugom intervalu (k=0,559) (Tablice 30 i 31). Ako je HPV pozitivan, odnosno negativan u intervalu od 3-6 mjeseci i citološki nalaz će vrlo vjerojatno bit pozitivan, odnosno negativan u intervalu od 9-12 mjeseci.

Tablica 31. Vrijednosti koeficijenata podudarnosti (k) za usporedbu nalaza citologije i HPV testa po intervalima praćenja.

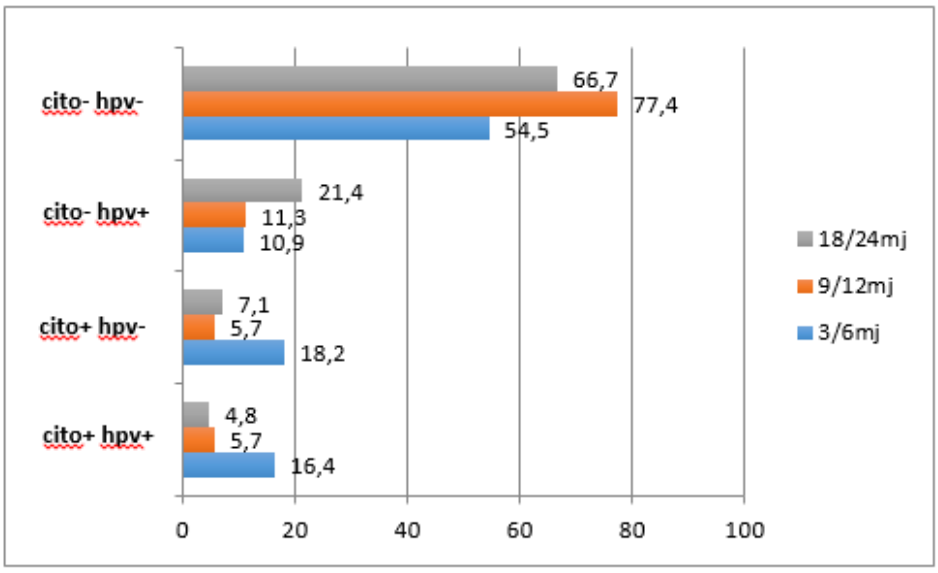
	k	P
HPV 3/6 vs HPV 9/12	-0,059	0,772
HPV 3/6 vs HPV 18/24	N/A	N/A
HPV 9/12 vs HPV 18/24	0,375	0,063
Citologija 3/6 vs citologija 9/12	0,458	<0,001
Citologija 3/6 vs citologija 18/24	0,125	0,257
Citologija 9/12 vs citologija18/24	0,207	0,075
HPV 3/6 vs citologija 3/6	0,272	0,041
HPV 3/6 vs citologija 9/12	0,559	<0,001
HPV 3/6 vs citologija 18/24	0,017	0,914
HPV 9/12 vs citologija 9/12	0,306	0,022
HPV 9/12 vs citologija 18/24	0,375	0,063
HPV 18/24 vs citologija 18/24	0,085	0,521
Citologija 3/6 vs HPV 9/12	N/A	0,956
Citologija 3/6 vs HPV 18/24	N/A	0,454
Citologija 9/12 vs HPV 18/24	N/A	N/A

Grafikon 7. Učestalost podudarnih nalaza citologije i HPV testa po intervalima praćenja



U sva tri intervala praćenja visok je postotak nalaza citologije i HPV testa koji su ili oba pozitivna ili oba negativna (grafikon 7). Najmanji postotak različitih nalaza citologije i HPV testa je u intervalu praćenja od 9-12 mjeseci (16,99%).

Grafikon 8. Nalazi citologije i HPV-a po intervalima praćenja (%)



Najveći broj slučajeva gdje su oba nalaza bila pozitivna je u intervalu od 3-6 mjeseci. Oba nalaza su bila negativna najčešće u intervalu od 9-12 mjeseci (Graf 8). Neslaganje nalaza gdje je citološki nalaz bio pozitivan, a HPV negativan bilo je najčešće u prvom intervalu. Slučajevi gdje je citološki nalaz bio negativan a HPV pozitivan bili su najčešći u trećem intervalu.

Tablica 32. Učestalost reoperacije u odnosu na citološki nalaz po intervalima praćenja

		Reoperacija			
		Ne		Da	
		N	%	N	%
Citologija 3-6 mj.	Negativan	80	86,0%	1	9,1%
	Pozitivan	13	14,0%	10	90,9%
Citologija 9-12 mj.	Negativan	84	96,6%	0	0,0%
	Pozitivan	3	3,4%	5	100,0%
Citologija 18-24 mj.	Negativan	77	91,7%	0	0,0%
	Pozitivan	7	8,3%	1	100,0%

3/6 χ^2=33,798;df=1;**p<0,001** 9/12 χ^2=55,517;df=1;**p<0,001** 18/24 χ^2=9,740;df=1;**p<0,001**

Bolesnice koje su reoperirane značajno su češće imale pozitivan nalaz citologije u svim intervalima praćenja (p<0,001) (Tablica 32).

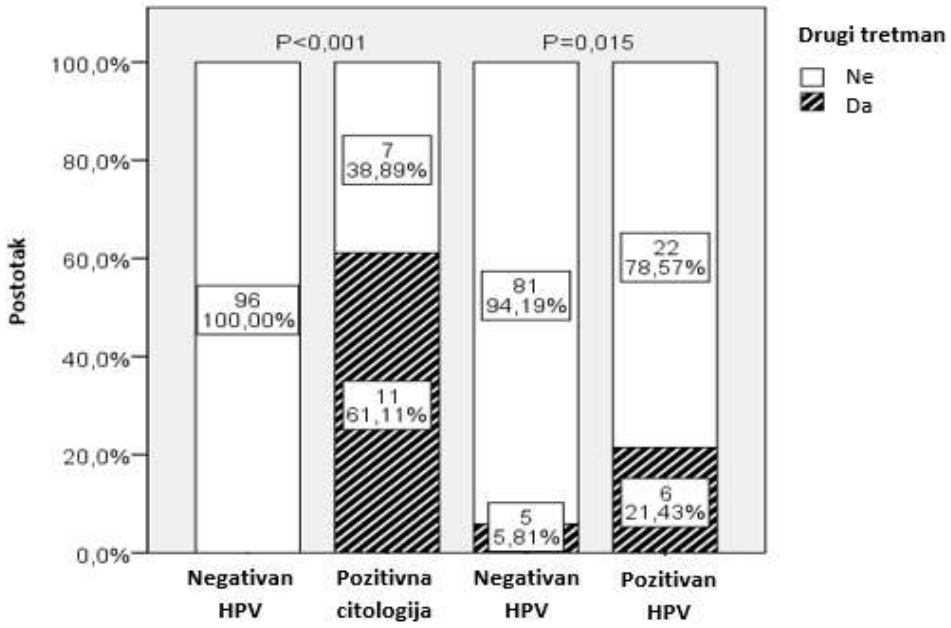
Tablica 33. Učestalost reoperacije u odnosu na HPV test po intervalima praćenja

		Reoperacija			
		Ne		Da	
		N	%	N	%
HPV 3-6 mj.	Negativan	39	81,3%	4	50,0%
	Pozitivan	9	18,8%	4	50,0%
HPV 9-12 mj.	Negativan	45	83,3%	1	33,3%
	Pozitivan	9	16,7%	2	66,7%
HPV 18-24 mj.	Negativan	33	75,0%	0	0,0%
	Pozitivan	11	25,0%	1	100,0%

3/6 χ^2=3,757;df=1;p=0,053 9/12 χ^2=4,562;df=1;**p=0,033** 18/24 χ^2=2,813;df=1;p=0,094

U skupini bolesnica s pozitivnim citološkim nalazom bolesnice s pozitivnim HPV testom u intervalu od 9-12 mjeseci imale su značajno češće reoperaciju (p=0,033) (Tablica 33).

Grafikon 9. Reoperacija u odnosu na nalaz citologije i HPV-a



Grafikon 9 pokazuje da pozitivan citološki nalaz i pozitivan HPV nalaz značajno povećavaju šansu za ponovni kirurški zahvat (p<0,001;p=0,015) (Graf 9).

Tablica 34. Vrijednost citološkog nalaza i HPV-a u procjeni za reoperaciju

	Citološki nalaz	HPV
PPV (95% CI)	61,1% (35,8 - 82,7)	21,4% (8,3 - 40,95%)
NPV (95% CI)	100% (96,2 - 100)	94,19% (87 - 98,1)
OSJETLJIVOST (95% CI)	100% (71,5 - 100)	54,6% (23,4 - 83,3)
SPECIFIČNOST (95% CI)	93,2% (86,5 - 97,2)	78,6% (69,5 - 86,1)
LR + (95% CI)	14,7 (7 - 28,9)	2,6 (1,2 - 4,5)
LR-	*	0,6 (0,3 - 0,9)
DOR	*	4,4 (1 - 19,9)

U tablici 34 prikazane su dijagnostičke vrijednosti nalaza citologije i HPV testa za reoperaciju. U slučaju pozitivnog nalaza citologije visoka je pozitivna prediktivna vrijednost testa tj. 61,1% bolesnica s pozitivnim testom će biti reoperirano. Pozitivan nalaz citologije

povećava šansu za reoperaciju (LR+) 14,7 puta. Obzirom na negativnu prediktivnu vrijednost testa (NPV=100%) nijedna bolesnica s negativnim nalazom citologije nije bila reoperirana. Dijagnostički omjer izgleda (DOR) za pozitivan nalaz citologije i šansa za reoperaciju kod negativnog nalaza citologije (LR-) nisu izračunati jer nijedna bolesnica s negativnim citološkim nalazom nije bila reoperirana.

Šansa da bolesnica bude reoperirana se povećava za 2,6 puta u slučaju pozitivnog HPV testa (LR+). Među bolesnicama s pozitivnim HPV testom nakon primarne operacije 21,4% ih je reoperirano. Dijagnostički omjer izgleda kao mjera učinkovitosti testa za HPV test je 4,4. Negativan HPV test je među ispitanim bolesnicama smanjio šansu za ponovni operacijski zahvat i LR (-) vrijednost je iznosila 0,6.

Tablica 35. Pojavnost rezidualne bolesti/recidiva u odnosu na citološki nalaz po intervalima praćenja

		Rezidualna bolest/recidiv			
		Negativan		Pozitivan	
		N	%	N	%
Citologija 3-6 mj.	Negativan	80	98,8%	1	1,2%
	Pozitivan	18	78,3%	5	21,7%
Citologija 9-12 mj.	Negativan	84	100,0%	0	0%
	Pozitivan	4	50,0%	4	50,0%
Citologija 18-24 mj.	Negativan	77	100,0%	0	0%
	Pozitivan	7	87,5%	1	12,5%

3/6 χ^2=13,85;df=1;**p<0,001** 9/12 χ^2=13,91;df=1;**p<0,001** 18/24 χ^2=9,74;df=1;**p=0,002**

Pozitivan nalaz citologije je u svim intervalima praćenja značajno povećao šansu za rezidualnu bolest/recidiv (p<0,001; p<0,001; p=0,002) (Tablica 35). Međutim, u intervalu od 9-12 mjeseci nešto je manje lažno pozitivnih citoloških nalaza.

Tablica 36. Pojavnost rezidualne bolesti/recidiva u odnosu na nalaz HPV testa po intervalima praćenja

		Rezidualna bolest/recidiv			
		Ne		Da	
		N	%	N	%
HPV 3-6 mj.	Negativan	43	100,0%	0	0,0%
	Pozitivan	10	76,9%	3	23,1%
HPV 9-12 mj.	Negativan	46	100,0%	0	0,0%
	Pozitivan	9	81,8%	2	18,2%
HPV 18-24 mj.	Negativan	33	100,0%	0	0,0%
	Pozitivan	11	91,7%	1	8,3%

3/6 χ^2 =10,49,df=1,**p<0,001**; 9/12 χ^2=8,67,df=1,**p=0,003**; 18/24 χ^2=2,81,df=1,p=0,094

Vjerojatnost za prisutnu rezidualnu bolest/recidiv bila je veća ukoliko je HPV bio pozitivan u intervalu od 3-6 mjeseci (p<0,001) i intervalu od 9-12 mjeseci (p=0,003) (Tablica 36). Broj lažno pozitivnih nalaza je najveći u trećem intervalu praćenja.

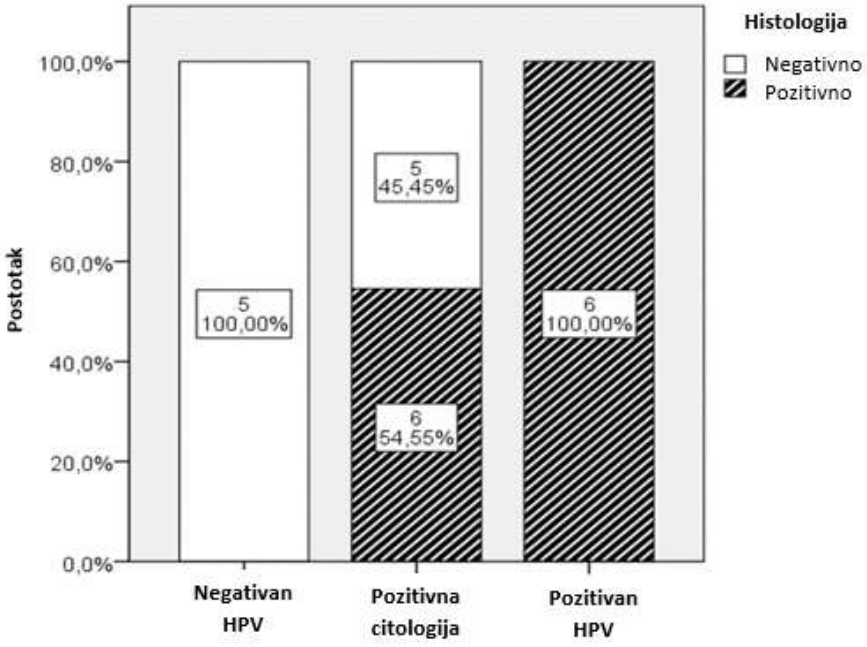
Tablica 37. Citološki nalaz i HPV u procjeni rezidualne bolesti/recidiva (N=114)

		Rezidualna bolest/recidiv			
		Ne		Da	
		N	%	N	%
Citološki nalaz	Negativan	96	100,0%	0	0,0%
	Pozitivan	12	66,7%	6	33,3%
HPV	Negativan	86	100,0%	0	0,0%
	Pozitivan	22	78,6%	6	21,4%

Citologija χ^2 =33,77 df=1 **p<0,001**; HPV χ^2 =19,45 df=1 **p<0,001**

Tablica 37 prikazuje da ako se uzmu u obzir nalazi citologije i HPV testa bez obzira na vrijeme proteklo od konizacije, značajno je češće prisutna rezidualna bolest/recidiv kod bolesnica s pozitivnim nalazom (citologija p<0,001; HPV p<0,001).

Grafikon 10. Citološki nalaz i HPV s obzirom na histološki nalaz nakon reoperacije



Grafikon 10 prikazuje skupinu reoperiranih bolesnica u odnosu na kontrolne nalaze citologije i HPV testa nakon konizacije. Bolesnice kojima je potvrđena rezidualna bolest/recidiv su imale pozitivan HPV test neovisno o tome koliko je prošlo vremena od primarne operacije. Bolesnicama kojima je patohistološki nalaz kod reoperacije bio negativan na preinvazivnu ili invazivnu bolest je HPV test bio negativan.

Tablica 38. Dijagnostička točnost citološkog nalaza i HPV testa u otkrivanju rezidualne bolesti/recidiva

	Citološki nalaz	HPV
PPV (95% CI)	33,3 % (13,3-59)	21,4 % (8,3-41)
NPV (95% CI)	100,0 % (96,2-100)	100,0 % (95,8-100)
OSJETLJIVOST (95% CI)	100,0 % (54,1-100)	100,0 % (54,1-100)
SPECIFIČNOST (95% CI)	88,9 % (81-94,1)	79,6 % (70,8-86,8)
LR + (95% CI)	9 (4,1-14,6)	4,9 (2,4-6,8)
LR – (95% CI)	*	*
DOR (95% CI)	*	*

U skupini bolesnica s pozitivnim citološkim nalazom 33,3% je imalo rezidualnu bolest/recidiv, dok je u skupini s pozitivnim HPV testom 21,4% bolesnica imalo rezidualnu bolest/recidiv (Tablica 38). Ukoliko je test bio negativan (citologija ili HPV) nije bilo rezidualne bolesti/recidiva (NPV=100%). Sve bolesnice koje su imale rezidualnu bolest/recidiv imale su pozitivan HPV test (osjetljivost 100%), a 75% bolesnica bez rezidualne bolesti/recidiva imalo je negativan HPV test.

Specifičnost oba testa u otkrivanju rezidualne bolesti/recidiva je bila visoka međutim ipak nešto veća za citološki nalaz (88,9%).

Obzirom na LR vrijednost pozitivan nalaz citologije povećao je 9 puta šansu za prisutnost rezidualne bolesti/recidiva u odnosu na pozitivan nalaz HPV testa koji je šansu povećao 4,9 puta.

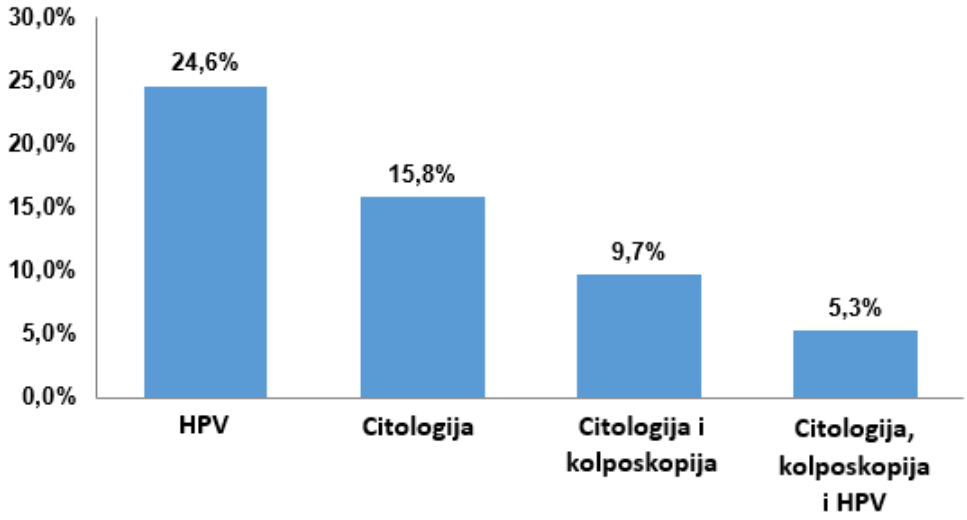
Vrijednosti LR (-) i DOR se nije moglo izračunati obzirom da kod nijedne bolesnice s negativnim citološkim nalazom i negativnim HPV testom nije dokazana rezidualna bolest/recidiv.

Tablica 39. Vrijednost citološkog nalaza i HPV-a u skupini reoperiranih bolesnica u procjeni rezidualne bolesti/recidiva

	Citološki nalaz	HPV
PPV (95% CI)	54,6% (23,4-83,3)	100% (54,1-100)
NPV (95% CI)	*	100% (47,8-100),
OSJETLJIVOST (95% CI)	100% (54,1-100)	100% (54,1-100)
SPECIFIČNOST (95% CI)	0% (0-52,2)	100% (47,8-100)
LR + (95% CI)	1 (0-∞)	*
LR – (95% CI)	*	*
DOR (95% CI)	*	*

Kad se uzmu u obzir samo reoperirane bolesnice dijagnostička točnost HPV-a je 100% neovisno o tome kad je bolesnica reoperirana (Tablica 39).

Grafikon 11. Postotak pozitivnih nalaza ovisno o metodi praćenja



Ako bi se indikacija za reoperaciju temeljila samo na nalazu HPV testa 24,6% bolesnica bi bilo reoperirano, na temelju pozitivnog citološkog nalaza 15,8% a na temelju nalaza citologije i kolposkopije 9,7% kao što je u našem istraživanju. Najmanji broj reoperiranih (5,3%) bio bi u skupini u kojoj je HPV određen bolesnicama s pozitivnim citološkim nalazom i suspektnom/neadekvatnom kolposkopijom bez da bi bio previđen itijedan slučaj rezidualne bolesti/recidiva (Graf 11).

Tablica 40. Bolesnice kojima je na konusu dijagnosticiran superficijalni invazivni karcinom vrata maternice pločastog epitela

br	P	Citologija 3-6 mj	HPV 3-6 mj	Citologija 9-12 mj	HPV 9-12mj	Citologija 18-24 mj	HPV 18-24mj	Reoperacija Nakon koliko?	PHD 2
1.	2	ASC-US	neg	neg	neg	neg	neg	ne	
2.	1	ASC-H	poz					Da rekonizacija nakon 4mj	CIN 3
3.	0	neg	neg	neg	neg	neg	neg	ne	
4.	3	neg	neg	neg	neg	neg	neg	ne	
5.	2	neg	neg	neg	neg	neg	neg	ne	
6.	2	ASCUS	poz	neg	neg	neg	neg	ne	
7.	1	HSIL	neg	neg	neg	neg	neg	ne	
8.	1	neg	neg	neg	neg	neg	neg	ne	
9.	1	neg	neg	neg	neg	neg	neg	ne	
10.	0	ASCUS	neg	Neg	neg	neg	neg	ne	
11.	3	neg	neg	neg	neg	neg	neg	ne	
12.	2	neg	neg	neg	neg	neg	neg	ne	
13.	2	neg	neg	neg	neg	neg	neg	ne	
14.	2	LSIL	neg	ASCUS	neg	neg	neg	ne	
15.	1	neg	neg	neg	neg	neg	neg	ne	

Obzirom na malen broj bolesnica adekvatna statistička analiza nije bila moguća stoga su podaci prikazani tablično i opisno. Bolesnice su bile u dobi od 35-50 godina. Dvije nisu rodile do vremena konizacije. Kod svih bolesnica je patohistološkom analizom (PHD) konusa nađena invazija do 1 mm. Rubovi konusa su kod svih bolesnica bili negativni i niti kod jedne nije nađena invazija limfokapilarnih prostora. Tijekom praćenja je kod bolesnice br 2. na temelju citološko-kolposkopskog protokola učinjena reoperacija i to 4 mjeseca od konizacije. Na PHD nalazu je nađen CIN3. Kod te bolesnice je i HPV test bio pozitivan prije reoperacije.

5. RASPRAVA

Širenjem medicinskih spoznaja i razvojem medicinske tehnologije u mogućnosti smo smanjiti učestalost i uspješno liječiti mnoge bolesti. S druge strane zbog toga smo danas suočeni s dva za struku neprihvatljiva stava. To se odnosi na netoleranciju pogreške te na netoleranciju lošeg ishoda liječenja. Tako stvoreno ozračje može lako dovesti do nekritičnog korištenja dostupnih dijagnostičkih metoda i testova i prekomjernog liječenja. Dijagnostikom i liječenjem premalignih promjena na vratu maternice dramatično je smanjena učestalost karcinoma međutim, strah od zloćudne bolesti u značajnom broju slučajeva rezultira nepotrebnim kirurškim zahvatima tijekom praćenja ovih bolesnica. Uz jasna ograničenja temeljnih metoda a to su citologija i kolposkopija, HPV tipizacija je otvorila mogućnost točnije dijagnostike CIN-a i AIS-a međutim, još uvijek nema uniformnog stava kod implementacije tog testa u algoritam liječenja i praćenja.

Preinvazivne promjene vrata maternice najčešće su u dobi od 25 do 29 godina. Jasno je da je tijekom liječenja mladih žena nužno očuvati reprodukcijsko zdravlje. To se prvenstveno odnosi na smanjenje mogućih komplikacija u trudnoći, od kojih su najčešće cervikalna insuficijencija i prijevremeni porođaj (189). Prema Perinatalnom izvješću naše Klinike za 2013. godinu, najčešće rađaju žene u dobi od 30-34 godine. Od ukupnog broja bolesnica (N=129) u našem je istraživanju 64,9% bolesnica bilo mlađe od 40 godina. Gotovo trećina nije rađala. Za žene koje još uvijek žele roditi postavljena sumnja na rezidualnu bolest/recidiv i indikacija za ponovni kirurški zahvat znači i veću mogućnost navedenih komplikacija. Rizik od komplikacija je veći ukoliko su operirane klasičnom konizacijom u odnosu na LLETZ a u našoj skupini to je 86% bolesnica. Od ukupno 129 bolesnica u našem istraživanju tek je 13 imalo dijagnozu AIS-a što odgovara niskoj prevalenciji ovih lezija. Skoro polovica bolesnica s AIS-om (46%) je imala pridružene CIN promjene. U literaturi se

bilježi učestalost miješane bolesti do oko 70% (31,32). Unatoč desetljećima uvriježenom mišljenju da glandularne promjene zahtijevaju agresivniji pristup u liječenju, istraživanje koje je uključivalo bolesnice s mikroinvazivnim adenokarcinomom pokazalo je da ukoliko su rubovi konizata slobodni bolesnice možemo pratiti na isti način kao i one s promjenama pločastih stanica (190). *Adenocarcinoma in situ* danas liječimo poštednijim pristupom kao i promjene pločastog epitela.

Učestalost rezidualne bolesti/recidiva nakon konizacije je prema literaturi 4-18% (191). U našoj je skupini reoperirano 9,6% bolesnica, a tek je u 5,3% nađena rezidualna bolest/recidiv (55,5% među reoperiranima). Iako je broj bolesnica kod kojih smo imali sve potrebne podatke na kraju istraživanja bio 129 duljina praćenja nakon konizacije (do 72 mjeseca) poduprijela je vjerodostojnost analize i zaključaka. Polovica bolesnica je prema tome nepotrebno reoperirana, odnosno nepotrebno izložena perioperacijskom i postoperacijskom morbiditetu. Drugi istraživači su također objavili visok postotak (63-73,2%) urednih patohistoloških nalaza kod reoperacije (199,168). Osim nepotrebne indikacije za reoperaciju prekomjerno liječenje može biti učinjeno i kod izbora tipa operacije. U više od trećine (36%) reoperiranih učinjena je totalna abdominalna histerektomija s obostranom adneksektomijom. Iako su te bolesnice bile u peri- i postmenopauzi a time i kandidati za tu vrstu operacije, potencijalne dugoročne komplikacije ovog zahvata su prolaps, inkontinencija, probavne tegobe, spolna disfunkcija, fistule zdjeličnih organa, prijevremeni simptomi menopauze i urogenitalno starenje. Nakon većeg zahvata kao što je histerektomija kod bolesnica liječenih zbog CIN-a i AIS-a još uvijek je povećan rizik za nastanak vaginalne intraepitelne neoplazije visokog stupnja i karcinoma rodnice i to najčešće u dobi od 40-49 godina (192-195). Iako je rekonizacija poštedniji zahvat, kod žena koje nisu završile reprodukciju povećava rizik od prijevremenog porođaja (124). Taj rizik nije prihvatljiv

ukoliko je na temelju citološko/kolposkopskog nalaza učinjena reoperacija nakon koje je patohistološki nalaz bio negativan na preinvazivnu, odnosno invazivnu bolest.

Kliničko-patološki pokazatelji izlječenja, perzistencije bolesti, progresije ili recidiva nakon konizacije su procjena rubova konizata, citološki obrisak, kolposkopija i zadnjih godina HPV-VR DNK test. Ovisno o istraživanjima imaju različitu vrijednost, ali su većinom komplementarni. U našoj je skupini manji broj bolesnica operiran LLETZ metodom ali je kod njih učestalost zauzetih rubova konizata bila značajno veća (p=0,024), bile su češće reoperirane (p=0,025) te je kod njih češće nađena rezidualna bolest/recidiv (p=0,045). Takvi rezultati ne odgovaraju podacima u literaturi niti stavu Europskog društva za kolposkopiju da udio operiranih klasičnom konizacijom zbog premalignih bolesti treba biti <3% pa možemo zaključiti da se radi o neiskustvu i/ili tehničkim problemima (141). Iako ne značajno, rubovi su bili najčešće pozitivni u dobi od 30-40 godina. Manji broj zauzetih rubova konusa u žena mlađih od 30 godina potkrijepljuje tvrdnju da je kod tih bolesnica promjena plića i to kod oba histološka tipa. To govori u prilog što poštednijem kirurškom pristupu (36). Zauzetost rubova konusa u našoj studiji nije utjecala na odluku o reoperaciji (p=0,084) i tek je 20% bolesnica sa zauzetim rubovima reoperirano. Međutim, prema rezultatima naše studije pozitivni rubovi konusa jesu bili rizičan faktor za pojavu rezidualne bolesti/recidiva (p=0,007). Vrijednost procjene rubova konusa se razlikuje u brojnim istraživanjima i meta-analizama. Serati i sur. su zaključili da su pozitivni rubovi konusa kod CIN-a najvažniji prognostički čimbenik za razvoj recidiva (196). Prema Parku i sur. 54,5% bolesnica je bilo prekomjerno, a 20,4% nedostatno liječeno na temelju zauzetih rubova, te su pokazali da su zauzeti rubovi rizičan faktor za lažno pozitivne citološke nalaze (197). Naši rezultati su pokazali da nalaz na rubovima konizata ne utječe na citološki nalaz nakon primarne operacije (p=0,213). U našem je istraživanju kod 2% bolesnica s negativnim rubovima i 20% onih s pozitivnim rubovima nađena rezidualna bolest/recidiv. Taj rezultat je jednak meta-analizi Ghaem-Maghamija i sur.

na 15828 žena (198). U našoj je skupini samo jedna bolesnica s AIS-om imala zauzet rub konizata te je reoperirana, ali nije nađena rezidualna bolest. Većina autora preporuča reeksciziju kao slijedeći korak u postupniku u bolesnica kojima je na konizatu nađen AIS i rubovi su zauzeti promjenom, obzirom na veliku šansu za ostatnu bolest (41%) i prisutnost invazivne bolest (2,8%) (199,200). Međutim ako se radi o mlađim ženama koje nisu rodile moramo uzeti u obzir da su promjene kod njih pliće i da je vjerojatnost da je cijela promjena odstranjena konizacijom veća (152,153). Dvije retrospektivne studije bolesnica s AIS-om imale su suprotan zaključak. Costa i suradnici su zaključili da je procjena rubova bitna za procjenu perzistencije i progresije bolesti, dok su Costales i suradnici zaključili da ta procjena nije dovoljno pouzdana jer je među reoperiranima kojima je na primarnom konizatu rub bio zauzet većina (76,9%) imala uredan patohistološki nalaz (205,206).

U našem istraživanju odluka o reoperaciji temeljila se na citološko/kolposkopskom protokolu Hrvatskog društva za kolposkopiju. Većina bolesnica je reoperirana tijekom prve godine praćenja (81,2%). Patohistološki nalaz je najčešće bio negativan kod onih operiranih u prvih 6 mjeseci od konizacije što podupire zaključak da se prerano odlučujemo na ponovni zahvat, odnosno da se kontrolni pregledi vrše prerano nakon konizacije. Drugi autori također smatraju da je ovaj protokol češće lažno-pozitivan u ranom poslijeoperacijskom razdoblju obzirom da je citološki nalaz ograničen reparatorno-proliferacijskim promjenama epitela (201,202). Coupe i sur. upozoravaju na visok broj nepotrebnih kolposkopija na temelju lažno pozitivnih citoloških nalaza 6 mjeseci nakon zahvata (202). Podaci Schorgea i sur. također govore u prilog tome da je kod cilindričnih promjena još veći broj lažno pozitivnih citoloških nalaza u odnosu na pločaste pogotovo ako su pridružene benigne promjene kao što su tuboendometralna metaplazija ili endometrioza vrata maternice što je bio slučaj kod dvije naše reoperirane bolesnice (54,55,190,203). Ožiljkaste promjene koje zaostaju odstranjenjem transformacijske zone otežavaju kolposkopsku analizu i biopsiju u poslijeoperacijskom

razdoblju, što je češće nakon konizacije hladnim nožem (134). Rješenje problema lažno pozitivnih ili negativnih nalaza nisu češći kontrolni pregledi čiji rezultati nerijetko zbunjuju liječnika te uzrokuju strah i anksioznost bolesnica. Prerani kontrolni pregledi i lažno pozitivni nalazi citologije nakon operacije povećavaju broj nepotrebnih dijagnostičko-terapijskih postupaka koji mogu imati negativne posljedice za daljnje reprodukcijsko zdravlje bolesnica. Prekomjerno testiranje i liječenje ima za posljedicu povećanje morbiditeta i troškova liječenja (204). U našem istraživanju također se pokazalo da je najveći broj lažno pozitivnih citoloških nalaza u prvom intervalu praćenja (3-6 mjeseci od operacije). Citološki nalaz je najviše utjecao na odluku o daljnjem postupku. Pozitivna prediktivna vrijednost citološkog nalaza za reoperaciju u našem je istraživanju bila 61,1%. Stoga smatramo da ukoliko se radi o mlađoj bolesnici koja želi roditi, može se sačekati do 6 mjeseci kako bi se učinila prva citološka kontrola bez obzira na status rubova.

Obzirom na visok udio reoperiranih bolesnica koje imaju negativan PHD, jasno je da je potrebno unaprijediti kriterije za prepoznavanje rezidualne bolesti/recidiva tijekom praćenja kako bi se poboljšalo izdvajanje skupine stvarno pozitivnih bolesnica. Obzirom na povećani rizik od obolijevanja od karcinoma u ovoj skupini bolesnica pozitivan nalaz kod kontrolnog pregleda često dovodi do prekomjernog liječenja, a prema našim rezultatima najčešće tijekom prvih 6 mjeseci. Sve bolesnice u našoj skupini koje su reoperirane u tom razdoblju imale su negativan patohistološki nalaz.

Rezidualna bolest/recidiv može biti posljedica nedostatnog odstranjenja primarne lezije, perzistirajuće HPV infekcije ili razvoja "de novo" promjene zbog nove infekcije. Raspodjela HPV genotipova u našem istraživanju podupire stajalište da je perzistirajuća infekcija s HPV16 i/ili 18 najveći rizični čimbenik za razvoj prekanceroze. Genotip 16 je bio prisutan u 64,2% a genotip 18 u 15,4% bolesnica. Prema epidemiološkim istraživanjima istu važnost ima i genotip 45, ali u našoj skupini nije izoliran u nijedne bolesnice (88). Raspodjela

infekcije drugim genotipovima također je odgovarala objavljenim epidemiološkim istraživanjima (205). Tip infekcije se nije značajno razlikovao obzirom na dob iako je monoinfekcija bila nešto češća u dobi iznad 40 godina. Prema istraživanjima koja obuhvaćaju i žene bez razvijene preinvazivne lezije multipla infekcija je češća u mlađih žena (118).

Meta-analize dosadašnjih istraživanja potvrdile su da uvođenjem HPV-HR DNK testa nakon konizacije poboljšavamo otkrivanje rezidualne bolesti/recidiva tijekom praćenja bolesnica i s pločastim i cilindričnim promjenama (206,207). Važnost HPV testa je prepoznata i definirana u postupnicima probira za opću populaciju (ASCCP, 2006). Također je uveden i u protokole praćenja nakon liječenja preinvazivne bolesti (S3 smjernice, HDGO XI/2013, ASCCP 2012) međutim, nije još sasvim jasna njegova najbolja iskoristivost (208). Autori nisu sasvim suglasni kada i koliko puta je potrebno učiniti HPV test tijekom praćenja. Park i sur. smatraju da HPV-HR treba odrediti unutar 6 mjeseci od konizacije, a učestalost kontrolnih pregleda treba biti veća u onih kojima je test pozitivan (197). Strander i sur. smatraju da ne treba žuriti s HPV testom nakon operacije u procjeni dugoročnog rizika za razvoj recidiva. Njihovi rezultati su pokazali da je prediktivni učinak testa veći ako se radi 12 mjeseci nakon primarnog zahvata u odnosu na 6 mjeseci (209). Neki kritiziraju da je 12 mjeseci predug period u slučaju da postoji rezidualna promjena ≥CIN2 uključujući i karcinom, jer je vremenski raspon dijagnosticirane rezidualne bolesti/recidiva 1-30 mjeseci (210). Coupe i sur. su na modelu pokazali da testiranjem samo nakon 6 i 12 mjeseci možemo propustiti dijagnosticirati promjene razvijene reinfekcijom cervikalnog epitela. Stoga preporučuju i testiranje nakon 24 mjeseca (172). Prema Costi i suradnicima pozitivan HPV-VR DNK test u bilo koje vrijeme nakon konizacije zbog AIS-a najjači je izolirani predskazatelj progresije bolesti (199).

Rezultati ovih istraživanja ukazuju da HPV test može biti vrijedan u različitim vremenskim intervalima od konizacije a to dokazuju rezultati našeg istraživanja. Naime, u

našem je istraživanju dijagnostička vrijednost i citoloških nalaza i HPV testa bila visoka u otkrivanju rezidualne bolesti/recidiva (Tablica 38) s osjetljivošću od 100% i NPV 100%. Bolesnice koje nisu bile reoperirane bile su bez bolesti do 72 mjeseca od konizacije. Tijekom cijelog vremena praćenja nalazi citologije i HPV testa bili su većinom podudarni (Grafikon 7) a skoro 70% bolesnica imalo je oba testa negativna što odgovara rezultatima drugih istraživanja (207). Obzirom na visoku osjetljivost i podudarnost nalaza, prema ovim rezultatima zaključujemo da u našim uvjetima nije isplativo niti medicinski niti ekonomski raditi oba testa svim bolesnicama nakon konizacije. Pogotovo ne treba raditi oba testa kod svakog kontrolnog pregleda jer će prema našim rezultatima (Grafikon 5) HPV biti češće lažno pozitivan u odnosu na citološki nalaz i time nećemo pridonijeti povećanju specifičnosti kontrolnih pregleda.

Gok i suradnici smatraju da su najrizičnija skupina bolesnica one kojima je prije konizacije izoliran HPV16 i da njima nakon 6 mjeseci treba učiniti i citološki nalaz i HPV-VR test (211). Iako je uzorak mali, prema našim rezultatima izolirani genotip prije konizacije nije utjecao na pojavnost rezidualne bolesti/recidiva (p=0,988). Obzirom da je prije konizacije u velike većine naših bolesnica (74,5%) izoliran HPV16 ili 18, smatramo da korist od genotipizacije nakon konizacije u odnosu na HPV test neće biti veća, a povećat ćemo cijenu pretrage. U biopsijom dokazanim CIN 2/3 i AIS promjenama podrazumijeva se da je HPV-VR prisutan tako da smatramo da genotipizacija nije nužna niti prije konizacije.

Kod liječenih od preinvazivne bolesti povećan je rizik od razvoja karcinoma slijedećih 10-20 godina u odnosu na opću populaciju. Prema Kockenu i sur. koji su pratili 435 žena koniziranih od 1988-2004. godine, petogodišnji rizik za nastanak ≥CIN2 uz 3 uzastopno negativna citološka nalaza ili za negativne nalaze citologije i HPV DNK testa nakon 6 i 24 mjeseca, jednak je općoj populaciji i stoga se one mogu vratiti u redoviti petogodišnji probir

(212). Jasno je da je financijski isplativije učiniti tri citološka nalaza u odnosu na dva kombinirana testa.

Niska podudarnost za nalaz HPV testa (Tablica 31) između intervala praćenja u našem istraživanju potvrđuje da se ne možemo osloniti na jednokratno određivanje HPV-a za procjenu izlječenja bolesnice. U ranom periodu nakon konizacije postoji mogućnost da je HPV prisutan u nepromijenjenim epitelim stanica koje će se potencijalno odljuštiti sazrijevanjem epitela. Testiranje tada može dati lažno pozitivan nalaz u smislu postojanja bolesti. Neka istraživanja su pokazala progresivnu negativizaciju HPV testa tijekom 6 mjeseci od konizacije (213). Uzimajući to u obzir te činjenicu da je najveći broj lažno-pozitivnih citoloških nalaza kod naših bolesnica nađen u ranom periodu nakon konizacije, zaključujemo da je prvu kontrolu potrebno učiniti 6 mjeseci nakon konizacije. Prirodni razvoj HPV infekcije ovisi o individualnim karakteristikama bolesnice i spolnim navikama oba partnera (103). To objašnjava porast učestalosti infekcije tijekom druge godine praćenja u našem istraživanju. Učestalost pozitivnog nalaza HPV testa u trećem intervalu praćenja (18-24 mjeseca) bila je značajno veća u odnosu na nalaz citologije u istom intervalu (p=0,010). Razvidno je da je interpretacija rezultata HPV testa tijekom druge godine praćenja ograničena vrlo vjerojatnom *''de novo''* infekcijom.

Prema našim rezultatima i citološki nalaz i HPV test pojedinačno imaju visoku vrijednost u otkrivanju rezidualne bolesti/recidiva te ovisno o socio-ekonomskim prilikama i jedan i drugi mogu biti primarna metoda u praćenju bolesnica nakon konizacije. Podudarnost nalaza citologije i HPV testa među intervalima praćenja je bila visoka, pogotovo između prva dva intervala. Međutim, specifičnost citološkog nalaza je bila veća (88,9% vs 79,6%) stoga je smatramo izborom za primarnu metodu praćenja. Bez obzira koji je test odabran kao primaran ukoliko je pozitivan potrebno je učiniti i onaj drugi prije odluke o daljnjem postupku. HPV-VR DNK test ne treba raditi „a priori" svim bolesnicama jer pozitivan test sam za sebe još

uvijek ne znači da postoji promjena i da je potreban ponovni zahvat, nego tek u kombinaciji s citološkim nalazom može dati smjernicu kako dalje.

Prema našim rezultatima HPV test bi poboljšao specifičnost citološko-kolposkopskog protokola. Kod svih reoperiranih bolesnica s dokazanom rezidualnom bolesti/recidivom bio je pozitivan, odnosno bio je negativan kod onih kojima je patohistološki nalaz kod reoperacije pokazao odsustvo bolesti. Vrijeme proteklo od konizacije nije utjecalo na vrijednost HPV testa u toj skupini ($p<0,001$), stoga u svim intervalima praćenja u slučaju pozitivnog citološkog nalaza i/ili nezadovoljavajuće kolposkopije negativan HPV test može dati sigurnost liječniku i smanjiti anksioznost bolesnice bez da se žuri s reoperacijom. Citološki nalaz bi se tada trebao ponoviti za 3-4 mjeseca. U ovim slučajevima tekuća citologija ima prednost u odnosu na klasičnu jer ne moramo ponovno pozivati bolesnice na pregled, nego možemo odrediti HPV DNK iz uzorka za citologiju. To nam omogućava bolju suradljivost bolesnice. Izbjegavamo nelagodu ponovnog pregleda koji može imati i negativan psihički učinak na bolesnicu.

Kada bismo iz skupine reoperiranih bolesnica izdvojili one kojima je nakon reoperacije patohistološki nalaz bio negativan a imale su i negativan HPV test, broj reoperiranih bismo smanjili za oko 45% (s 9,6% na 5,3%).

Protokol praćenja mora osigurati određenu sigurnost i liječniku i bolesniku uz zadovoljavajući omjer troška i koristi. Rezultati našeg istraživanja pokazuju da povećanjem osjetljivosti dijagnostičkih metoda u liječenju premalignih bolesti vrata maternice postoji realna opasnost od prekomjernog testiranja i liječenja tih bolesnica. Rezultati dijagnostičkih metoda moraju biti dovoljno specifični kako bi nam pomogli donijeti odluku o daljnjem liječenju. To ne možemo postići ponavljanim testiranjem svim dostupnim testovima.

Prema rezultatima našeg istraživanja nakon konizacije je potrebno prvo učiniti citološki obrisak 6 mjeseci nakon operacije. HPV test treba učiniti u bolesnice s pozitivnim

citološkim nalazom bilo kad tijekom praćenja kao točka odluke za reoperaciju. Ovim pristupom bismo značajno poboljšali kalitetu protokola praćenja bolesnica liječenih zbog preinvazivne boelsti na vratu maternice i značajno smanjili broj reoperiranih bolesnica.

6. ZAKLJUČCI

1. Kod bolesnica kojima je na konizatu potvrđena dijagnoza CIN3 ili AIS prvi kontrolni pregled potrebno je učiniti nakon 6 mjeseci, bez obzira dopire li promjena do resekcijskih rubova ili ne.
2. Pozitivan nalaz citologije 6 mjeseci nakon konizacije, u smislu prekanceroze ne zahtijeva odmah reoperacijski zahvat (rekonizaciju ili histerektomiju) zbog velikog broja lažno pozitivnih citoloških nalaza.
3. Ukoliko je citološki nalaz pozitivan bez obzira na vrijeme proteklo od konizacije potrebno je učiniti HPV test prije odluke o reoperaciji.
4. HPV-VR DNK tipizaciju nije potrebno raditi rutinski 6 mjeseci nakon konizacije, zajedno s citološkim nalazom, bez obzira radi li se o dijagnozi na konusu vrata maternice CIN3 ili AIS.
5. Ukoliko su oba testa pozitivna rizik za rezidualnu bolest je značajan i takvu bolesnicu je potrebno reoperirati (rekonizacija ili histerektomija) s velikom vjerojatnošću nalaza rezidualne bolesti na ekscidiranom tkivu.
6. Ukoliko je citološki nalaz pozitivan a HPV test negativan u bilo koje vrijeme nakon konizacije ne treba žuriti s reoperacijom već ponovo učiniti citološku kontrolu za 3-4 mjeseca.
7. Ovakvim protokolom smanjili bismo broj reoperiranih za oko 45% tj. s 9,6% na 5,3%.

7. SAŽETAK

Cilj: Poboljšati učinkovitost protokola praćenja bolesnica nakon konizacije zbog preinvazivne bolesti na vratu maternice, uz smanjenje broja reoperiranih bolesnica definirajući vrijednost i vremenski period ponavljanja citološke pretrage i HPV DNK testa.

Ispitanice i metode: U istraživanju je sudjelovalo 114 bolesnica koniziranih zbog CIN3 i/ili AIS-a. Kontrolni nalazi su grupirani u tri skupine intervala praćenja: prvi (3-6 mjeseci), drugi (9-12 mjeseci) i treći (18-24 mjeseca). Uzet je uzorak za tekuću citološku analizu (*engl. liquid-based cytology*, LBC) i iz tog biološkog materijala određivana je prisutnost DNK visokorizičnog HPV-a. U slučaju pozitivnog testa određivan je zatim HPV genotip. Bolesnice su praćene barem 24 mjeseca od primarnog operacijskog zahvata (konizacija) ukoliko nije postavljena sumnja na rezidualnu bolest/recidiv ili do sekundarnog operacijskog zahvata.

Rezultati: Medijan praćenja bolesnica je bio 41 mmjesec (5-72 mjeseca). Specifičnost citološkog nalaza za procjenu rezidualne bolesti/recidiva bila je 88,9%, osjetljivost 100%, PPV 33,3%, a NPV 100%. Specifičnost HPV testa je bila 76,9%, osjetljivost 100%, PPV 21,4%, NPV 100%.

Zaključak: Prema našim rezultatima i citološki nalaz i HPV test mogu biti primarni testovi u praćenju bolesnica nakon konizacije. U našim okvirima HPV test je potrebno učiniti samo kod bolesnica s pozitivnim citološkim nalazom bilo kad nakon konizacije prije odluke o potrebnom ponovnom kirurškom zahvatu.

Ključne riječi: humani papiloma virus, preinvazivna bolest vrata maternice, praćenje, HPV test

8. SUMMARY

Title: The value of HPV-HR DNA testing during the follow-up after the treatment of preinvasive disease of cervix uteri. Maja Banović, 2015.

Aims: We performed this study in order to improve diagnostic accuracy of the follow-up protocol after a treatment for preinvasive cervical disease, at the same time reducing the number of overtreated patients.

Patients and methods: One hundred and fourteen patients were followed up after conization for CIN3 and/or AIS at 3-6 month, 9-12 month and 18-24 month intervals, then yearly. The follow-up consisted of cytology, colposcopy with biopsy if needed and HPV testing. The end-point of the study was a secondary treatment due to a high suspicion of resdidual/recurrent disease or disease free period of at least 24 months.

Results: The median follow-up time was 41 months (5-72 months). In predicting residual/recurrent disease cytology had a specificity of 88.9%, sensitivity of 100%, PPV of 33.3% and a NPV of 100% whereas HPV had a specificity of 76.9%, sensitivity of 100%, PPV of 21.4% and a NPV of 100%.

Conclusion: According to our results both tests can be used as a primary follow-up tool after conization. The choice should depend on a socio-economic aspect. In our setting the HPV test should be done only in those patients with a positive smear any time during follow-up as the point of decision for a second treatment. With this approach we could considerably decrease the number of reoperated patients and co-morbidities.

Key words: human papillomavirus, preinvasive cervical disease, postconisation, HPV DNA test, follow-up

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. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin. 2011;61(2):69.

3. Incidencija raka u Hrvatskoj 2013. Registar za rak. HZZJZ. Zagreb 2015. Bilten br. 38.

4. Ries LAG, Melbert D, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2004. National Cancer Institute; Bethesda, MD 2007.

5. Toivonen T, Nieminen P, Tarkkanen J, Timonen T, Krogerus L, Klemi P. Cytopathology in Finland. Cytopathology. 2005 Aug;16(4):210-4.

6. http://seer.cancer.gov/

7. Smith HO, Tiffany MF, Qualls CR, Key CR. The rising incidence of adenocarcinoma relative to squamous cell carcinoma of the uterine cervix in the United States - a 24-year population-based study. Gynecol Oncol. 2000;78(2):97.

8. Liu S, Semenciw R, Moa Y. Cervical cancer: The increasing incidence of adenocarcinoma and adenosquamous carcinoma in young women. CMAJ. 2001;164:1151–1154.

9. Leminen A, Paavonen J, Forss M et al. Adenocarcinoma of the uterine cervix. Cancer. 1990;65:53-59.

10. Insinga RP, Glass AG, Rush BB. Diagnoses and outcomes in cervical cancer screening: a population-based study. Am J Obstet Gynecol. 2004;191(1):105.

11. http://seer.cancer.gov

12. McIndoe WA, McLean MR, Jones RW, Mullins PR. The invasive potential of carcinoma in situ of the cervix. Obstet Gynecol. 1984 Oct;64(4):451-8.

13. McCredie MR, Sharples KJ, Paul C i sur. Natural history of cervical neoplasia and risk of invasive cancer in women with cervical intraepithelial neoplasia 3: A retrospective cohort study. The Lancet Oncology. 2008;9:425-434.

14. Schiffman MH, Bauer HM, Hoover RN i sur. Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. J Natl Cancer Inst. 1993 Jun 16;85(12):958-64.

15. Castellsague X, Bosch FX, Munoz N. 2002. Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. Virus Res. 2002;89:191-199.

16. Brinton LA, Reeves WC, Herrero R i sur. Oral contraceptive use and risk of invasive cervical cancer. Int J Epidemiol. 1990;19: 4–11.

17. Horowitz IR, Jacobson LP, Zucker PK i sur. Epidemiology of adenocarcinoma of the cervix. Gynecol Oncol. 1988;31:25–31.

18. Vaccarella S, Herrero R, et al. Reproductive factors, oral contraceptive use, and human papillomavirus infection: pooled analysis of the IARC HPV prevalence surveys. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006 Nov;15(11):2148-53.

19. Green J, Berrington de Gonzalez A, Sweetland S i sur. Risk factors for adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the cervix in women aged 20-44 years: the UK National Case-Control Study of Cervical Cancer. Br J Cancer. 2003 Dec 1;89(11):2078-86.

20. Wright TC, Massad L S, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. American Society for Colposcopy and Cervical Pathology-sponsored Consensus Conference. 2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. Am J Obstet Gynecol. 2007;197, 340-345.

21. Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S, Villa LL. Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. Vaccine. 2006;24 Suppl 3, S3/42-51.

22. Bosch FX, Burchell AN, Schiffman M i sur. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. Vaccine 2008;26 Suppl 10, K1-16.

23. Syrjänen KJ. Spontaneous evolution of intraepithelial lesions according to the grade and type of the implicated human papillomavirus (HPV). Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1996;65, 45-53.

24. Bansal N, Wright JD, Cohen CJ, Herzog TJ. Natural history of established low grade cervical intraepithelial (CIN 1) lesions. Anticancer Res 2008;28:1763-1766.

25. Cox JT, Schiffman M, Solomon D. ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) Group. Prospective follow-up suggests similar risk of subsequent cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 among women with cervical intraepithelial neoplasia grade 1 or negative colposcopy and directed biopsy. Am J Obstet Gynecol. 2003 Jun;188(6):1406-12.

26. Östör AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: A critical review. Int J Gynecol Path: Official Journal of the International Society of Gynecological Pathologists 1993;12:186-192.

27. Moore K, Cofer A, Elliot L i sur. Adolescent cervical dysplasia: histologic evaluation, treatment and outcomes. Am J Obstet Gynecol. 2007; 141.e1-141e6.

28. Fuchs K, Weitzen S, Wu L i sur. Management of cervical intraepithelial neoplasia 2 in adolescent and young women. J Pedatr Adolesc Gynecol. 2007;20:269-74.

29. Hepler TK, Dockerty MB, Randall LM. Primary adenocarcinoma of the cervix. Am J Obstet Gynecol l952;63:800-808.

30. Jaworski RC, Pacey NF, Greenberg ML i sur. The histologic diagnosis of adenocarcinoma in situ and related lesions oft he cervix uteri. Cancer. 1988;61:1171-1181.

31. Jaworski RC. Endocervical glandular dysplasia, adenocarcinoma in situ and early invasive (microcarcinoma) of the uterine cervix. Semin Diag Path 1990;7:190–204.

32. Akiba Y, Kubushiro K, Fukuchi T i sur. Is laser conization adequate for therapeutic excision of adenocarcinoma *in situ* of the uterine cervix? J Obstet Gynaecol. 2005 Jun Res Vol 31, No. 3:252–256.

33. Ostor AG, Duncan A, Quinn M i sur. Adenocarcinoma in situ of the uterine cerviz. An experience with 100 cases. Gynecol Oncol. 2000;79:207–210.

34. Lee KR, Flynn CE. Early invasive adenocarcinoma of the cervix. Cancer. 2000 Sep 1;89(5):1048-55.

35. Plaxe SC, Saltzstein SL. Estimation of the duration of the preclinical phase of cervical adenocarcinoma suggests that there is ample opportunity for screening. Gynecol Oncol. 1999 Oct;75(1):55-61.

36. Bertrand M, Lickrish GM, Colgan TJ. The anatomical distribution of cervical adenocarcinoma in situ. Am J Obstet Gynecol. 1987;1:21–26.

37. Colgan TJ, Lickrish GM. The topography and invasive potential of cervical adenocarcinoma in situ, with or without associated squamous dysplasia. Gynecol Oncol. 1990:36:246–249.

38. Andersen ES, Arffman E. Adenocarcinoma in situ of the uterine cervix. A clinical-pathologic study of 36 cases. Gynecol Oncol. 1989;35:1–7.

39. Nicklin JL, Wright RG, Bell JR i sur. A clinicopathological study of adenocarcinoma of the cervix. The influence of HPV infection and other factors, and the role of conservative surgery. Obstet Gynecol. 1991;2:179–183.

40. Wright VC. Colposcopy of adenocarcinoma in situ and adenocarcinoma of the uterine cervix. Differentiation from other cervical lesions. J Lower Genital Tract Dis. 1999;3:83–87.

41. Traut HF, Papanicolaou GN. Cancer of the Uterus: The Vaginal Smear in Its Diagnosis. Cal West Med. 1943 Aug;59(2):121-2.

42. Quinn M, Babb P, Jones J, Allen E. Effect of screening on incidence of and mortality from cancer of cervix in England: evaluation based on routinely collected statistics. BMJ. 1999;318:904–8.

43. Ovanin-Rakić A, Pajtler M, Stanković T i sur. Klasifikacija citoloških nalaza vrata maternice ‘’Zagreb 2002’’. Modifikacija klasifikacija ‘’Zagreb 1990’’ i NCI Bethesda system 2001’’. Gynaecol Perinatol. 2003; 12:148-53.

44. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A i sur. The 2001 Bethesda system. Terminology for reporting results of cervical cytology. JAMA. 2002; 287:2114-9.

45. Koliopoulos G, Arbyn M, Martin-Hirsch P i sur. Diagnostic accuracy of human papillomavirus testing in primary cervical screening: A systematic review and meta-analysis of non-randomized studies. Gynecol Oncol. 2007;104:232.

46. Wright TC, Cox JT, Massad LS i sur. 2001 Consensus guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. JAMA. 2002;287:2120–9.

47. Pitman MB, Cibas ES, Powers CN i sur. Reducing or eliminating use of the category of atypical squamous cells of undetermined significance decreases the diagnostic accuracy of the Papanicoloau smear. Cancer (Cancer Cytopathol). 2002;96:128–34.

48. Sherman ME, Solomon D, Schiffman M for the ALTS group. A comparison of equivocal LSIL and equivocal HSIL cervical cytology in the ASCUS LSIL Triage Study. Am J Clin Pathol 2001;116:386–94.

49. Jones H III. Clinical treatment of ASCUS and AGCUS cervical cytology. Clin Obstet Gynecol. 2000;381-393.

50. Rekhi B, Ajit D, Joseph SK, Gawas S, Deodhar KK. Evaluation of atypical squamous cells on conventional cytology smears: An experience from a screening program practiced in limited resource settings. Cytojournal. 2010 Aug 5;7:15.

51. Dunton CJ. Management of atypical glandular cells and adenocarcinoma in situ. Obstet Gynecol Clin North Am. 2008;356.23-32; ix.

52. Mitchell H, Medley G, Gordon I, Giles G. Cervical cytology reported as negative and risk of adenocarcinoma of the cervix: no strong evidence of benefit. Br J Canc. 1995 Apr;71(4):894-7.

53. Goff BA, Atanasoff P, Brown E, Muntz HG, Bell DA, Rice LW. Endocervical glandular atypia in Papanicolaou smears. Obstet Gynecol 1992;79:101–104.

54. Ayer B, Pacey F, Greenberg ML i sur. The cytologic diagnosis of adenocarcinoma in situ of the cervix uteri and related lesions. I. Adenocarcinoma in situ. Acta Cytol. 1987,31:397-411.

55. Schnatz PF, Guile M, O'Sullivan DM, Sorosky JI. Clinical significance of atypical glandular cells on cervical cytology. Obstet Gynecol. 2006 Mar;107(3):701-8.

56. Levine L, Lucci JA 3rd, Dinh TV. Atypical glandular cells: new Bethesda Terminology and Management Guidelines. Obstet Gynecol Surv. 2003 Jun;58(6):399-406.

57. Raab SS, Bishop NS, Zaleski MS. The effect of cervical disease history on outcomes of women who have a Pap diagnosis of atypical glandular cells of undetermined significance. Gynecol Oncol 1999; 74:460 – 464.

58. Raab SS, Bishop NS, Zaleski MS. Long term outcomes and relative risk of women who have a diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance. Am J Clin Pathol 1999;112:57–62.

59. Roberts JM, Thurloe JK, Biro C i sur. Follow-up of cytologic predictions of endocervical glandular abnormalities: Histologic outcomes in 123 cases. J Low Genit Tract Dis. 2005;9:71–7.

60. Schoolland M, Segal A, Allpress S, Miranda A, Frost FA, Sterrett GF. Adenocarcinoma in situ of the cervix. Cancer. 2002 Dec 25;96(6):330-7.

61. Lee KR, Minter LJ, Granter SR. Papanicolaou smear sensitivity for adenocarcinoma in situ of the cervix. A study of 34 cases. Am J Clin Pathol 1997;107:30 –35.

62. Mitchell H, Higgins V. Recent negative cytology prior to histologically confirmed carcinoma in situ of the cervix. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 1994;34:178–181

63. Mitchell H, Hocking J, Saville M. Improvement in protection against adenocarcinoma of the cervix resulting from participation in cervical screening. Cancer. 2003 Dec 25;99(6):336-41.

64. Jordan J, Arbyn M, Martin-Hirsch P i sur. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening: Recommendations for clinical management of abnormal cervical cytology, part 1. Cytopathology: Official Journal of the British Society for Clinical Cytology. 2008;19:342-354.

65. www.ifcpc.org

66. Kierkegaard O, Byrjalsen C, Frandsen KH, Hansen KC, Frydenberg M. Diagnostic accuracy of cytology and colposcopy in cervical squamous intraepithelial lesions. Acta Obstet Gynecol Scand. 1994 Sep;73(8):648-51.

67. Hopman EH, Voorhorst FJ, Kenemans P, Meyer CJ, Helmerhorst TJ. Observer agreement on interpreting colposcopic images of CIN. Gynecol Oncol. 1995 Aug;58(2):206-9.

68. McCord ML, Stovall TG, Summitt RL Jr, Ling FW. Discrepancy of cervical cytology and colposcopic biopsy: is cervical conization necessary? Obstet Gynecol. 1991 May;77(5):715-9.

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

70. Gage JC, Hanson VW, Abbey K i sur. ASCUS LSIL Triage Study (ALTS) Group. Number of cervical biopsies and sensitivity of colposcopy. Obstet Gynecol. 2006;108:264-272.

71. Solomon D, Stoler M, Jeronimo J, Khan M, Castle P, Schiffman M. Diagnostic utility of endocervical curettage in women undergoing colposcopy for equivocal or low-grade cytologic abnormalities. Obstet Gynecol. 2007 Aug;110(2 Pt 1):288-95.

72. Heatley MK, Bury JP. The correlation between the grade of dyskaryosis on cervical smear, grade of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) on punch biopsy and the final histological diagnosis on cone biopsies of the cervix. Cytopathology. 1998 Apr;9(2):93-9.

73. Hopman EH, Kenemans P, Helmerhorst TJ. Positive predictive rate of colposcopic examination of the cervix uteri: an overview of literature. Obstet Gynecol Surv. 1998 Feb;53(2):97-106

74. Andersen ES, Arffmann E. Adenocarcinoma in situ of the uterine cervix: a clinico-pathologic study of 36 cases. Gynecol Oncol. 1989 Oct;35(1):1-7.

75. Krane JF, Granter SR, Trask CE, Hogan CL, Lee KR. Papanicolaou smear sensitivity for the detection of adenocarcinoma of the cervix: a study of 49 cases. Cancer. 2001 Feb 25;93(1):8-15.

76. Muntz HG, Bell DA, Lage JM, Goff BA, Feldman S, Rice LW. Adenocarcinoma in situ of the uterine cervix. Obstet Gynecol. 1992 Dec;80(6):935-9.

77. Ruba S, Schoolland M, Allpress S, Sterrett G. Adenocarcinoma in situ of the uterine cervix: screening and diagnostic errors in Papanicolaou smears. Cancer. 2004 Oct 25;102(5):280-7.

78. Denehy TR, Gregori CA, Breen JL. Endocervical curettage, cone margins, and residual adenocarcinoma in situ of the cervix. Obstet Gynecol 1997;90:1–6.

79. zur Hausen H. Human papillomaviruses and their possible role in squamous cell carcinomas. Curr Top Microbiol Immunol. 1977;78:1-30.

80. Koutsky L. Epidemiology of genital human papillomavirus infection Am J of Med. 1997 102(5A):3-8.

81. Elfgren K, Kalantari M, Moberger B, Hagmar B, Dillner J. A population-based five-year follow-up study of cervical human papillomavirus infection. Am J Obstet Gynecol. 2000 Sep;183(3):561-7.

82. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM i sur. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol. 1999;189(1):12.

83. Burd, Eileen M 2003. Human Papillomavirus and cervical cancer. Clin Microb Rev 16:1-17.

84. zur Hausen H. 2002. Papillomavirus and cancer: From basic studies to clinical application. Nat Rev Cancer. 2(5):342-50.

85. Bernard HU, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, Hausen H, de Villiers EM. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. Virology. 2010 May 25;401(1):70-9.

86. Rintala MA, Grenman SE, Jarvenkyla ME, Syrjänen KJ, Syrjänen SM. High-risk types of human papillomavirus (HPV) DNA in oral and genital mucosa of infants during their first 3 years of life: Experience from the finnish HPV family study. Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. 2005;41:1728-1733.

87. Sarkola ME, Grenman SE, Rintala MA, Syrjänen KJ, Syrjänen SM. Human papillomavirus in the placenta and umbilical cord blood. Acta Obstet Gynecol Scand. 2008;87:1181-1188.

88. Doorbar J, Quint W, Banks L i sur. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. Vaccine. 2012 Nov 20;30 Suppl 5:F55-70. doi: 10.1016/j.vaccine.2012.06.083. Review.

89. Dubina M, Goldenberg G. Viral-associated nonmelanoma skin cancers: a review. Am J Dermatopathol 2009;31(6):561-73.

90. Koss LG, Durfee GR. Unusual patterns of squamous epithelium of the uterine cervix: Cytologic and pathologic study of koilocytotic atypia. Ann N Y Acad Sci. 1956;63:1245-1261.

91. Klingelhutz AJ, Roman A. Cellular transformation by human papillomaviruses: lessons learned by comparing high- and low-risk viruses. Virology. 2012 Mar 15;424(2):77-98.

92. Melsheimer P, Vinokurova S, Wentzensen N, Bastert G, von Knebel Doeberitz M. DNA aneuploidy and integration of human papillomavirus type 16 e6/e7 oncogenes in intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma of the cevix uteri. Clin Cancer Res 2004;10(9):3059-63.

93. Duensing A, Spardy N, Chatterjee P i sur. Centrosome overduplication, chromosomal instability, and human papillomavirus oncoproteins. Environ Mol Mutagen. 2009 Oct;50(8):741-7. Review.

94. Galloway DA, Gewin LC, Myers H i sur. Regulation of telomerase by human papillomaviruses. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 2005;70:209-15.

95. White EA, Sowa ME, Tan MJ i sur. Systematic identification of interactions between host cell proteins and E7 oncoproteins from diverse human papillomaviruses. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Jan 31;109(5):E260-7.

96. Genther SM, Sterling S, Duensing S, Munger K, Sattler C, Lambert PF. Quantitative role of the human papillomavirus type 16 E5 gene during the productive stage of the viral life cycle. J Virol. 2003 Mar;77(5):2832-42.

97. Doorbar J, Ely S, Sterling J, McLean C, Crawford L. Specific interaction between HPV-16 E1-E4 and cytokeratins results in collapse of the epithelial cell intermediate filament network. Nature. 1991 Aug 29;352(6338):824-7.

98. Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, Gissmann L. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. Vaccine. 2006 Aug 31;24 Suppl 3:S3/1-10. Review.

99. Duensing S, Lee LY, Duensing A, et al. The human papilloma-virus type 16 E6 and E7 oncoproteins cooperate to induce mitotic defects and genomic instability by uncoupling centro- some duplication from the cell division cycle. Proc Natl Acad Sci U S A 2000;97:10002–10007.

100. Häfner N, Driesch C, Gajda M i sur. Integration of the HPV16 genome does not invariably result in high levels of viral oncogene transcripts. Oncogene. 2008 Mar 6;27(11):1610-7.

101. Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I i sur. Type-dependent integration frequency of human papillomavirus genomes in cervical lesions. Cancer Res. 2008 Jan 1;68(1):307-13.

102. Badaracco G, Venuti A, Sedati A, Marcante ML. HPV16 and HPV18 in genital tumors: Significantly different levels of viral integration and correlation to tumor invasiveness. J Med Virol. 2002 Aug;67(4):574-82.

103. Stanley MA. Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus. Clin Microbiol Rev. 2012 Apr;25(2):215-22. Review.

104. Chang YE, Laimins LA. Microarray analysis identifies interferon-inducible genes and stat-1 as major transcriptional targets of human papillomavirus type 31. J Virol 2004;74: 4174–4182.

105. Nees M, Geoghegan JM, Hyman T i sur. Papillomavirus type 16 oncogenes downregulate expression of interferon-responsive genes and upregulate proliferation-associated and NF-kappaB- responsive genes in cervical keratinocytes. J Virol 2001;75: 4283–4296.

106. Park JS, Kim EJ, Kwon HJ i sur. Inactivation of interferon regulatory factor-1 tumor suppressor protein by HPV E7 oncoprotein. Implication for the E7-mediated immune evasion mechanism in cervical carcinogenesis. J Biol Chem 2000; 275:6764–6769.

107. Kanodia S, Fahey LM, Kast WM. Mechanisms used by human papillomaviruses to

escape the host immune response. Curr Cancer Drug Targets. 2007 Feb;7(1):79-89.

108. Gardiol D, Kuhne C, Glaunsinger B i sur. Oncogenic human papillomavirus E6 proteins target the discs large tumour suppressor for proteasome-mediated degradation. Oncogene. 1999;18:5487–5496.

109. Maglennon GA, McIntosh P, Doorbar J. Persistence of viral DNA in the epithelial basal layer suggests a model for papillomavirus latency following immune regression. Virology. 2011 Jun 5;414(2):153-63.

110. Castellsagué X. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. Gynecol Oncol. 2008 Sep;110(3 Suppl 2):S4-7. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.07.045. Review.

111. Castellsagué X, Díaz M, de Sanjosé S i sur. International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention. J Natl Cancer Inst. 2006 Mar 1;98(5):303-15.

112. Pirog EC, Kleter B, Olgac S i sur. Prevalence of human papillomavirus in different histological subtypes of cervical adenocarcinoma. Am J Pathol. 2000;157:1055–1060.

113. www.cdc.gov

114. Elfgren K, Kalantari M, Moberger B, Hagmar B, Dillner J. A population-based five-year follow-up study of cervical human papillomavirus infection. Am J Obstet Gynecol. 2000 Sep;183(3):561-7.

115. Zsemlye M. High-grade cervical dysplasia: Pathophysiology, diagnosis, and treatment. Obstet Gynecol Clin North Am. 2008;35:615-21; ix.

116. Castle PE, Sideri M, Jeronimo J, Solomon D, Schiffman M. Risk assessment to guide the prevention of cervical cancer. Am J Obstet Gynecol. 2007;197:356.

117. van Hamont D, Bekkers RL, Massuger LF, Melchers WJ. Detection, management, and follow-up of premalignant cervical lesions and the role for human papillomavirus. Reviews in Medical Virology. 2008;18:117-132.

118. Spinillo A, Dal Bello B, Gardella B, Roccio M, Dacco' MD, Silini EM. Multiple human papillomavirus infection and high grade cervical intraepithelial neoplasia among women with cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low grade squamous intraepithelial lesions. Gynecol Oncol. 2009 Apr;113(1):115-9.

119. Stanley MA, Pett MR, Coleman N. HPV: From infection to cancer. Biochem Soc Trans. 2007;35:1456-1460.

120. Kulasingam SL, Hughes JP, Kiviat NB i sur. Evaluation of Human Papillomavirus Testing in Primary Screening for Cervical Abnormalities. JAMA. 2002;288(14):1749-57.

121. Kotaniemi-Talonen L, Nieminen P, Anttila A, Hakama M. Routine cervical screening with primary HPV testing and cytology triage protocol in a randomised setting. Br J Cancer. 2005;93:862-867.

122. Novak's Gynecologic and obstetric pathology: With clinical and endocrine relations. U: Novak ER, Woodruff JD. 7. izd. W. B. Saunders Company 1974.

123. Moreni SL, Mitchell CM, Garcia RL, Eckert LO. Loop Electrosurgical Excisional Procedure (LEEP) Done for Discrepancy: Does the Time from HGSIL Affect Pathologic Grade of CIN in LEEP Specimen? Obstet Gynecol Int. 2010;2010:743097. Epub 2010 Jun 29.

124. Kyrgiou M, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W, Paraskevaidis E. Obstetric outcomes after conservative treatment for intraepithelial or early invasive cervical lesions: Systematic review and meta-analysis. Lancet. 2006 Feb 11;367(9509):489-98. Review.

125. Arbyn M, Kyrgiou M, Simoens C i sur. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: Meta-analysis. BMJ (Clinical Research Ed.) 2008;337, a1284.

126. Svare JA, Andersen LF, Langhoff-Roos J i sur. The relationship between prior cervical conization, cervical microbial colonization and preterm premature rupture of the membranes. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1992 Oct 23;47(1):41-5.

127. Maissi E, Marteau TM, Hankins M, Moss S, Legood R, Gray A. The psychological impact of human papillomavirus testing in women with borderline or mildly dyskaryotic cervical smear test results: 6-month follow-up. Brit J Cancer. 2005;92:990-994.

128. Wright TC, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. www.ajog.com

129. MartinHirsch PL, Paraskevaidis E, Kitchener H. Surgery for cervical intraepithelial neoplasia. Cochrane Database Syst Rev. 2000;(2):CD001318.

130. Mathevet P, Dargent D, Roy M, Beau G. A randomized prospective study comparing three techniques of conization: cold knife, laser, and LEEP. Gynecol Oncol. 1994 Aug;54(2):175-9.

131. Ueda M, Ueki K, Kanemura M, Izuma S i sur. Diagnostic and therapeutic laser conization for cervical intraepithelial neoplasia. Gynecol Oncol. 2006 Apr;101(1):143-6.

132. Hallam NF, West J, Harper C i sur. Large loop excision of the transformation zone (LLETZ) as an alternative to both local ablative and cone biopsy treatment: a series of 1000 patients. J Gynecol Surg. 1993 Summer;9(2):77-82.

133. Bostofte E, Berget A, Falck Larsen J, Hjortkjaer Pedersen P, Rank F. Conization by carbon dioxide laser or cold knife in the treatment of cervical intra-epithelial neoplasia. Acta Obstet Gynecol Scand. 1986;65(3):199-202.

134. Oyesanya OA, Amerasinghe C, Manning EA. A comparison between loop diathermy conization and cold-knife conization for management of cervical dysplasia associated with unsatisfactory colposcopy. Gynecol Oncol. 1993 Jul;50(1):84-8.

135. Jakobsson M, Bruinsma F. Adverse pregnancy outcomes after treatment for cervical intraepithelial neoplasia. BMJ. 2008 Sep 18;337:a1350. doi: 10.1136/bmj.a1350.

136. Cruickshank ME, Flannelly G, Campbell DM, Kitchener HC. Fertility and pregnancy outcome following large loop excision of the cervical transformation zone.
Br J Obstet Gynaecol. 1995 Jun;102(6):467-70.

137. Kyrgiou M, Koliopoulos G, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W, Paraskevaidis E. Obstetric outcomes after conservative treatment for intraepithelial or early invasive cervical lesions: systematic review and meta-analysis. Lancet. 2006 Feb 11;367(9509):489-98. Review.

138. Noehr B, Jensen A, Frederiksen K, Tabor A, Kjaer SK. Loop electrosurgical excision of the cervix and subsequent risk for spontaneous preterm delivery: a population-based study of singleton deliveries during a 9-year period. Am J Obstet Gynecol. 2009 Jul;201(1):33.

139. Arbyn M, Kyrgiou M, Simoens C i sur. Perinatal mortality and other severe adverse pregnancy outcomes associated with treatment of cervical intraepithelial neoplasia: meta-analysis. BMJ. 2008 Sep 18;337:a1284. doi: 10.1136/bmj.a1284. Review.

140. Zeisler H, Joura EA, Bancher-Todesca D, Hanzal E, Gitsch G. Prophylactic cerclage in pregnancy. Effect in women with a history of conization. J Reprod Med. 1997 Jul;42(7):390-2.

141. www.efc.cx

142. Kalliala I, Anttila A, Pukkala E, Nieminen P. Risk of cervical and other cancers after treatment of cervical intraepithelial neoplasia: Retrospective cohort study. BMJ (Clinical Research Ed.) 2005;331:1183-1185.

143. Strander B, Andersson-Ellstrom A, Milsom I, Sparen P. Long term risk of invasive cancer after treatment for cervical intraepithelial neoplasia grade 3: Population based cohort study. BMJ (Clinical Research Ed.) 2007;335:1077.

144. Chew GK, Jandial L, Paraskevaidis E, Kitchener HC. Pattern of CIN recurrence following laser ablation treatment: long-term follow-up. Int J Gynecol Cancer. 1999 Nov;9(6):487-490.

145. Soutter WP, de Barros Lopes A, Fletcher A i sur. Invasive cervical cancer after conservative therapy for cervical intraepithelial neoplasia. Lancet. 1997 Apr 5;349(9057):978-80.

146. Paraskevaidis E, Lolis ED, Koliopoulos G, Alamanos Y, Fotiou S, Kitchener HC. Cervical intraepithelial neoplasia outcomes after large loop excision with clear margins. Obstet Gynecol. 2000 Jun;95(6 Pt 1):828-31.

147. Gardeil F, Barry-Walsh C, Prendiville W, Clinch J, Turner MJ. Persistent intraepithelial neoplasia after excision for cervical intraepithelial neoplasia grade III. Obstet Gynecol. 1997;89(3):419-22.

148. Oliveira CA, Russomano FB, Gomes Júnior SC, Corrêa Fde M. Risk of persistent high-grade squamous intraepithelial lesion after electrosurgical excisional treatment with positive margins: a meta-analysis. Sao Paulo Med J. 2012;130(2):119-25.

149. Spitzer M, Chernys AE, Seltzer VL. The use of large-loop excision of the transformation zone in an inner-city population. Obstet Gynecol. 1993 Nov;82(5):731-5.

150. Goya-Canino MM, Falcón-Santana JM, Arencibia-Sánchez O i sur. Follow-up of high risk intraepithelial lesions after loop excision. Prog Obstet Ginecol. 2006;49(2):72-6.

151. Verguts J, Bronselaer B, Donders G i sur. Prediction of recurrence after treatment for high-grade cervical intraepithelial neoplasia: the role of human papillomavirus testing and age at conisation. BJOG. 2006 Nov;113(11):1303-7.

152. JK, Levenback C, Malpicca A, Morris M, Burke T, Mitchell MF. Adenocarcinoma *in situ* of the cervix: Significance of cone biopsy margins. Obstet Gynecol 1996;88:82–86.

153. Azodi M, Chambers SK, Rutherford TJ, Kohorn EI, Schwartz PE, Chambers JT. Adenocarcinoma *in situ* of the cervix: Management and outcome. Gynecol Oncol 1999;73:348–353.

154. Im DD, Duska LR, Rosenshein ND. Adequacy of conization margins in adenocarcinoma *in situ* of the cervix as a predictor of residual disease. Gynecol Oncol 1995;59:179–182.

155. Kietpeerakool C, Khunamornpong S, Srisomboon J, Kasunan A, Sribanditmongkol N, Siriaungkul S. Predictive value of negative cone margin status for risk of residual disease among women with cervical adenocarcinoma in situ. Int J Gynaecol Obstet. 2012 Dec;119(3):266-9

156. Salani R, Puri I, Bristow RE. Adenocarcinoma in situ of the uterine cervix: a metaanalysis of 1278 patients evaluating the predictive value of conization margin status. Am J Obstet Gynecol. 2009 Feb;200(2):182.

157. ElMasri WM, Walts AE, Chiang A, Walsh CS. Predictors of invasive adenocarcinoma after conization for cervical adenocarcinoma in situ. Gynecol Oncol. 2012 Jun;125(3):589-93.

158. Nicklin JL, Wright RG, Bell JR i sur. A clinicopathological study of adenocarcinoma of the cervix. The influence of HPV infection and other factors, and the role of conservative surgery. Obstet Gynecol 1991;2:179–183.

159. Bertrand M, Lickrish GM, Colgan TJ. The anatomic distribution of cervical adenocarcinoma in situ: implications for treatment. Am J Obstet Gynecol. 1987 Jul;157(1):21-5.

160. van Hanegem N, Barroilhet LM, Nucci MR, Bernstein M, Feldman S. Fertility-sparing treatment in younger women with adenocarcinoma in situ of the cervix. Gynecol Oncol. 2012 Jan;124(1):72-7.

161. Cooper R, Mishra G, Hardy R, Kuh D. Hysterectomy and subsequent psychological health: findings from a British birth cohort study. J Affect Disord. 2009 May;115(1-2):122-30. doi: 10.1016/j.jad.2008.08.017. Epub 2008 Oct 2.

162. Persson P, Brynhildsen J, Kjølhede P. Hysterectomy Multicentre Study Group in South-East Sweden. Pelvic organ prolapse after subtotal and total hysterectomy: a long-term follow-up of an open randomised controlled multicentre study. BJOG. 2013 Nov;120(12):1556-65. doi: 10.1111/1471-0528.12399. Epub 2013 Aug 20.

163. Alonso I, Torné A, Puig-Tintoré LM i sur. Pre- and post-conization high-risk HPV testing predicts residual/recurrent disease in patients treated for CIN 2-3. Gynecol Oncol. 2006 Nov;103(2):631-6.

164. Zielinski GD, Rozendaal L, Voorhorst FJ i sur. HPV testing can reduce the number of follow-up visits in women treated for cervical intraepithelial neoplasia grade 3. Gynecol Oncol. 2003 Oct;91(1):67-73.

165. Cecchini S, Carozzi F, Confortini M, Zappa M, Ciatto S. Persistent human papilloma virus infection as an indicator of risk of recurrence of high-grade cervical intraepithelial neoplasia treated by the loop electrosurgical excision procedure. Tumori. 2004 Mar-Apr;90(2):225-8.

166. Houfflin Debarge V, Collinet P, Vinatier D i sur. Value of human papillomavirus testing after conization by loop electrosurgical excision for high-grade squamous intraepithelial lesions. Gynecol Oncol. 2003 Sep;90(3):587-92.

167. Costa S, De Simone P, Venturoli S i sur. Factors predicting human papillomavirus clearance in cervical intraepithelial neoplasia lesions treated by conization. Gynecol Oncol. 2003 Aug;90(2):358-65.

168. Bae JH, Kim CJ, Park TC, Namkoong SE, Park JS. Persistence of human papillomavirus as a predictor for treatment failure after loop electrosurgical excision procedure. Int J Gynecol Cancer. 2007 Nov-Dec;17(6):1271-7.

169. Paraskevaidis E, Koliopoulos G, Alamanos Y, Malamou-Mitsi V, Lolis ED, Kitchener HC. Human papillomavirus testing and the outcome of treatment for cervical intraepithelial neoplasia. Obstet Gynecol. 2001 Nov;98(5 Pt 1):833-6.

170. Nagai N, Mukai K, Oshita T, Shiroyama Y, Ohama K. Human papillomavirus DNA status after loop excision for cervical intraepithelial neoplasia grade III - A prospective study. Int J Mol Med. 2004 Apr;13(4):589-93.

171. Prato B, Ghelardi A, Gadducci A i sur. Correlation of recurrence rates and times with posttreatment human papillomavirus status in patients treated with loop electrosurgical excision procedure conization for cervical squamous intraepithelial lesions. Int J Gynecol Cancer. 2008 Jan-Feb;18(1):90-4.

172. Coupe VM, Berkhof J, Verheijen RH, Meijer CJ. Cost-effectiveness of human papillomavirus testing after treatment for cervical intraepithelial neoplasia. BJOG. 2007 Apr;114(4):416-24.

173. Gök M, Coupé VM, Berkhof J i sur. HPV16 and increased risk of recurrence after treatment for CIN. Gynecol Oncol. 2007 Feb;104(2):273-5.

174. Riethmuller D, Gabelle C, Ramanah R i sur. [Importance of human papillomavirus (HPV) screening in the follow-up after CIN2-3 treatment.] J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2008 Jun;37(4):329-37.

175. Park JY, Lee SM, Yoo CW, Kang S, Park SY, Seo SS. Risk factors predicting residual disease in subsequent hysterectomy following conization for cervical intraepithelial neoplasia (CIN) III and microinvasive cervical cancer. Gynecol Oncol. 2007 Oct;107(1):39-44.

176. Lonky NM, Hunter MI, Sadeghi M, Edwards G, Bajamundi K, Monk BJ. Cost-effectiveness of adding human papilloma virus testing to a managed care cervical cancer screening program. J Low Genit Tract Dis. 2007 Oct;11(4):258-64.

177. Elfgren K, Jacobs M, Walboomers JM, Meijer CJ, Dillner J. Rate of human papillomavirus clearance after treatment of cervical intraepithelial neoplasia. Obstet Gynecol. 2002 Nov;100(5Pt 1):965-71.

178. Aerssens A, Claeys P, Garcia A i sur. Natural history and clearance of HPV after treatment of precancerous cervical lesions. Histopathology. 2008;2:381-386.

179. McIlwaine P, Nagar H, McCluggage WG. Multifocal FIGO stage 1A1 cervical squamous carcinomas have an extremely good prognosis equivalent to unifocal lesions. Int J Gynecol Pathol. 2014 May;33(3):213-7. doi: 10.1097/PGP.0b013e31829040ce.

180. Gadducci A, Sartori E, Maggino T et al. The clinical outcome of patients with stage Ia1 and Ia2 squamous cell carcinoma of the uterine cervix: a Cooperation Task Force (CTF) study. Eur J Gynaecol Oncol. 2003;24(6):513-6.

181. Lee SJ, Kim WY, Lee JW al. Conization using electrosurgical conization and cold coagulation for international federation of gynecology and obstetrics stage IA1 squamous cell carcinomas of the uterine cervix. Int J Gynecol Cancer. 2009 Apr;19(3):407-11. doi: 10.1111/IGC.0b013e3181a1a297.

182. Papakonstantinou K, Kyrgiou M, Lyons D, Soutter WP, Ghaem-Maghami S. Management of stage Ia1 squamous cervical cancer and the importance of excision margins: a retrospective study of long-term outcome after 25 years of follow-up. Am J Obstet Gynecol. 2014 Dec;211(6):625.e1-6. doi: 10.1016/j.ajog.2014.06.032. Epub 2014 Jun 17.

183. Benedet JL1, Anderson GH. Stage IA carcinoma of the cervix revisited. Obstet Gynecol. 1996 Jun;87(6):1052-9.

184. Nam JH, Kim SH, Kim JH, Kim YM, Kim YT, Mok JE. Nonradical treatment is as effective as radical surgery in the management of cervical cancer stage IA1. Int J Gynecol Cancer. 2002 Sep-Oct;12(5):480-4.

185. Ljubojević N, Babić S, Audy-Jurković S, Ovanin-Rakić A, Grubišić G, Ljubojević-Grgec D. Revidirani dijagnostičko-terapijski postpunik kod premalignih promjena vrata maternice (s osvrtom na financijsku isplativost). URI: http://161.53.18.95:2020/resource/articleJournal/191428

186. Hutchinson ML, Zahniser DJ, Sherman ME i sur. Utility of liquid-based cytology for cervical carcinoma screening: Results of a population-based study conducted in a region of Costa Rica with a high incidence of cervical carcinoma. Cancer. 1999;87: 48–55.

187. Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ i sur. Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears. Including initial biopsy results. Acta Cytol. 1998;42:189–197.

188. Ronco G, Cuzick J, Pierotti P, Cariaggi MP, Dalla Palma P, Naldoni C. Accuracy of liquid based versus conventional cytology: overall results of new technologies for cervical cancer screening: randomised controlled trial. BMJ. 2007 July 7;335(7609):28.

189. Klug SJ, Neis KJ, Harlfinger W i sur. A randomized trial comparing conventional cytology to liquid-based cytology and computer assistance. Int J Cancer. 2012 Nov 23.

190. Ashfaq R, Gibbons D, Vela C i sur. ThinPrep Pap Test. Accuracy for glandular disease. Acta Cytol 1999;43:81–85.

191. Mitchell H, Hocking J, Saville M. Improvement in protection against adenocarcinoma of the cervix resulting from participation in cervical screening. Cancer. 2003;99:336.

192. Bai H, Sung CJ, Steinhoff MM. ThinPrep Pap Test promotes detection of glandular lesions of the endocervix. Diagn Cytopathol. 2000;23:19.

193. Arbyn M, Bergeron C, Klinkhamer P, Martin-Hirsch P, Siebers AG, Bulten J. Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and meta-analysis. Obstet Gynecol. 2008 Jan;111(1):167-77.

194. Davey E, Barratt A, Irwig L i sur. Effect of study design and quality on unsatisfactory rates, cytology classifications, and accuracy in liquid-based versus conventional cervical cytology: a systematic review. Lancet. 2006 Jan 14;367(9505):122-32.

195. Van Hentenryck M, Noel JC, Simon P. Obstetric and neonatal outcome after surgical treatment of cervical dysplasia. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2012 May;162(1):16-20.

196. Schorge JO, Lee KR, Sheets EE. Conservative management of stage IA1 cervical adenocarcinoma by conization alone to preserve fertility: A preliminary report. Gynecol Oncol 2000; 78:217–220.

197. Arbyn M, Ronco G, Anttila A i sur. Evidence regarding human papillomavirus testing in secondary prevention of cervical cancer. Vaccine. 2012 Nov 20;30 Suppl 5:F88-99.

198. Schockaert S, Poppe W, Arbyn M, Verguts T, Verguts J. Incidence of vaginal intraepithelial neoplasia after hysterectomy for cervical intraepithelial neoplasia: a retrospective study. Am J Obstet Gynecol 2008;199:113.

199. Edgren G, Sparen P. Risk of anogenital cancer after diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia: a prospective population-based study. Lancet Oncol 2007; 8:311–16.

200. Jakobsson M, Pukkala E, Paavonen J, Tapper AM, Gissler M. Cancer incidence among Finnish women with surgical treatment for cervical intraepithelial neoplasia, 1987-2006. Int J Cancer. 2011 Mar 1;128(5):1187-91.

201. Hwang DM, Lickrish GM, Chapman W, Colgan TJ. Long-term surveillance is required for all women treated for cervical adenocarcinoma in situ. J Low Genit Tract Dis 2004;8(2):125–31.

202. Serati M, Siesto G, Carollo S i sur. Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia

recurrence after conization: a 10-year study. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2012 Nov;165(1):86-90.

203. Park JY, Bae J, Lim MC i sur. Role of high risk-human papilloma virus test in the follow-up of patients who underwent conization of the cervix for cervical intraepithelial neoplasia. J Gynecol Oncol. 2009 Jun;20(2):86-90.

204. Ghaem-Maghami S, Sagi S, Majeed G, Soutter WP. Incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia and risk of treatment failure: a meta-analysis. Lancet Oncol. 2007 Nov; 8(11):985-93.

205. Costa S, Venturoli S, Negri G i sur. Factors predicting the outcome of conservatively treated adenocarcinoma in situ of the uterine cervix: an analysis of 166 cases. Gynecol Oncol. 2012 Mar;124(3):490-5.

206. Costales AB, Milbourne AM, Rhodes HE i sur. Risk of residual disease and invasive carcinoma in women treated for adenocarcinoma in situ of the cervix. Gynecol Oncol. 2013 Jun;129(3):513-6.

207. Colposcopy Principles and practice. An integrated textbook and atlas. Second edition. Apgar B, Brotzman G, Spitzer M 2008, 2002 by Saunders

208. Coupé VM, Berkhof J, Verheijen RH, Meijer CJ. Cost-effectiveness of human papillomavirus testing after treatment for cervical intraepithelial neoplasia. BJOG. 2007 Apr;114(4):416-24.

209. Lee KR. Atypical glandular cells in cervical smears from women who have undergone cone biopsy: A potential diagnostic pitfall. Acta Cytol 1993;37:705–709.

210. ACOG Practice Bulletin No 109. Cervical Cytology Screening. 2009.

211. Simonella LM, Lewis H, Smith M, Neal H, Bromhead C, Canfell K. Type-specific oncogenic human papillomavirus infection in high grade cervical disease in New Zealand. BMC Infect Dis. 2013 Mar 3;13:114. doi: 10.1186/1471-2334-13-114.

212. Paraskevaidis E, Arbyn M, Sotiriadis A i sur. The role of HPV DNA testing in the follow-up period after treatment for CIN: a systematic review of the literature.
Cancer Treat Rev. 2004 Apr;30(2):205-11. Review

213. Zielinski GD, Bais AG, Helmerhorst TJ i sur. HPV testing and monitoring of women after treatment of CIN 3: review of the literature and meta-analysis. Obstet Gynecol Surv. 2004 Jul;59(7):543-53.

214. www.asccp.org

215. Strander B, Ryd W, Wallin KL i sur. Does HPV-status 6-12 months after treatment of high grade dysplasia in the uterine cervix predict long term recurrence? Eur J Cancer. 2007 Aug;43(12):1849-55.

216. Nobbenhuis MA, Meijer CJ, van den Brule AJ i sur. Addition of high-risk HPV testing improves the current guidelines on follow-up after treatment for cervical intraepithelial neoplasia. Br J Cancer. 2001 Mar 23;84(6):796-801.

217. Gök M, Coupé VM, Berkhof J i sur. HPV16 and increased risk of recurrence after treatment for CIN. Gynecol Oncol. 2007 Feb;104(2):273-5.

218. Kocken M, Helmerhorst TJ, Berkhof J i sur. Risk of recurrent high-grade cervical intraepithelial neoplasia after successful treatment: a long-term multi-cohort study. Lancet Oncol. 2011 May;12(5):441-50.

219. Du R, Meng W, Chen ZF, Zhang Y, Chen SY, Ding Y. Post-treatment human papillomavirus status and recurrence rates in patients treated with loop electrosurgical excision procedure conization for cervical intraepithelial neoplasia. Eur J Gynaecol Oncol. 2013;34(6):548-51.

10. ŽIVOTOPIS

- Rođena u Splitu, 29. svibnja 1979. godine

Obrazovanje

- 1991 - 1994. gimnazija "Mercy College", Sydney, Australia
- 1997. maturirala XVI. Gimnazija u Zagrebu
- 1997-2004. Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu
- kolovoz, 2004 – kolovoz 2005 liječnik stažist u Klinici za tumore, Ilica 196 Zagreb
- 2006-2011. specijalizacija ginekologije i porodništva Klinike za ženske bolesti i porode, Kliničkog bolničkog centra Zagreb
- 2006-2010. doktorski poslijediplomski studij ‘’Biomedicina i zdravstvo’’ na Medicinskom fakultetu, Sveučilišta u Zagrebu
- od kolovoza 2015. subspecijalizacija iz Humane reprodukcije i ginekološke endokrinologije
- predavač u dodiplomskoj nastavi na engleskom jeziku, Katedre za ginekologiju i porodništvo, Medicinskog fakulteta u Zagrebu
- aktivno se služim engleskim, francuskim i talijanskim jezikom.