

# Učestalost infekcija humanim papiloma virusom i raspodjela genotipova u populaciji žena Splitsko-dalmatinske županije

---

**Kaliterna, Petar**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:921129>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-28**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET SPLIT**

**Petar Kaliterna**

**UČESTALOST INFEKCIJA HUMANIM PAPILOMA VIRUSOM I RASPODJELA  
GENOTIPOVA U POPULACIJI ŽENA SPLITSKO-DALMATINSKE ŽUPANIJE**

**Diplomski rad**

**Akadska godina:**

**2019. / 2020.**

**Mentor:**

**doc. dr. sc. Martina Šunj, dr. med.**

**Split, srpanj 2020.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET SPLIT**

**Petar Kaliterna**

**UČESTALOST INFEKCIJA HUMANIM PAPILOMA VIRUSOM I RASPODJELA  
GENOTIPOVA U POPULACIJI ŽENA SPLITSKO-DALMATINSKE ŽUPANIJE**

**Diplomski rad**

**Akademska godina  
2019. / 2020.**

**Mentor:  
doc. dr. sc. Martina Šunj, dr. med.**

**Split, srpanj 2020.**

*Zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Martini Šunj na pomoći i savjetima u izradi ovog rada.*

*Zahvaljujem svojim roditeljima, prijateljima i kolegama koji su mi bili potpora tijekom mog akademskog obrazovanja.*

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Humani Papillomavirus - HPV .....	2
1.2. Viralna onkogeneza .....	3
1.3. Patogeneza i prijenos infekcija uzrokovanih HPV-om.....	4
1.4. Imunologija i faktori rizika za HPV infekciju .....	5
1.5. Epidemiologija HPV infekcija.....	7
1.6. Kliničke manifestacije HPV infekcija .....	8
1.7. Dijagnostika HPV infekcije.....	9
1.7.1. <i>Izravni vizualni pregled vrata maternice s octenom kiselinom (VIA)</i> .....	9
1.7.2. <i>Citološki pregled stanica vrata maternice</i> .....	9
1.7.3. <i>Testiranje na visokorizični (hr) HPV</i> .....	11
1.7.4. <i>Kolposkopija</i> .....	12
1.8. Liječenje HPV infekcija i bolesti uzrokovanih HPV-om .....	13
1.8.1. <i>Liječenje intraepitelne neoplazije</i> .....	13
1.8.2. <i>Liječenje raka vrata maternice</i> .....	14
1.8.3. <i>Liječenje genitalnih bradavica</i> .....	14
1.9. Prevencija HPV infekcija .....	15
1.9.1. <i>Primarna prevencija</i> .....	15
1.9.2. <i>Sekundarna prevencija</i> .....	17
<b>2. CILJEVI I HIPOTEZE</b> .....	19
<b>3. ISPITANICE I METODE</b> .....	21
<b>4. REZULTATI</b> .....	24
<b>5. RASPRAVA</b> .....	38
<b>6. ZAKLJUČCI</b> .....	42
<b>7. LITERATURA</b> .....	44
<b>8. SAŽETAK</b> .....	52
<b>9. SUMMARY</b> .....	54
<b>10. ŽIVOTOPIS</b> .....	56

## **1. UVOD**

## 1.1. Humani Papilloma virus – HPV

Humani papillomavirus – HPV pripada porodici *Papovaviridae* i rodu *Papillomavirus*. Danas je poznato oko 200 različitih tipova ovog virusa, a oko 40 ih zahvaća spolni sustav (1, 2). Genitalna infekcija uzrokovana HPV-om najčešća je spolno prenosiva bolest. Dijagnoza infekcije HPV-om je bitna jer je HPV najvažniji poznati predisponirajući čimbenik karcinoma vrata maternice, vulve, anusa, penisa, a prema nekim istraživanjima i prostate, kao i ekstragenitalnih organa poput usne šupljine i jednjaka (2, 3).

Virus je ikozaedralne strukture, promjera 55-60 nm. Otporan je na eter, 70%-tni etanol, kiseline i toplinu, jer nema lipidnu ovojnici. Genom je statičan i mutacije su rijetke. Čini ga zatvorena, kružna, dvolančana DNK veličine 7800 do 7900 parova baza. Geni su podijeljeni na rano (eng. *Early* – E), kasno (eng. *Late* – L) i regulatorno (eng. *Regulatory* – R) područje. L područje kodira strukturu kapsidnih bjelančevina i to velikog L1 i malog L2 kapsidnog proteina. E područje sadržava zapise bjelančevina odgovornih za razmnožavanje virusa (E1 za replikaciju i E2 za transkripciju), vezanje za citokeratin (E4), staničnu transformaciju (E5 vezanje na receptor za čimbenik rasta) i onkogenezu (E6 i E7) (3, 4).

Virus većinom zahvaća višeslojni pločasti epitel i transformacijsku zonu vrata maternice. Inficira epitel skrotuma, analnog kanala, cerviksa, vulve i perianalnog područja. Virus ulazi u bazalne stanice putem mikro trauma i mikroabrazija (2, 5).

Klasifikacija virusa temelji se na razlikovanju redosljeda baza u području L1, novim tipovima se smatra samo onaj u kojeg je razlika veća od 10% nukleotidnih nizova. Različiti tipovi virusa imaju različiti tkivni tropizam te preferiraju određena tkiva, npr. kondilome uzrokuju najčešće tipovi 6 i 11. HPV se dijeli na tipove visokog i niskog rizika s obzirom na molekularno-biološka svojstva i povezanosti s anogenitalnim malignomima.

Visokorizični (hr-HPV) tipovi (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82) povezuju se s nastankom genitalnih i ekstragenitalnih karcinoma. Niskorizični (lr-HPV) tipovi (6, 11, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 i CP6108) uzrokuju dobroćudne anogenitalne promjene i intraepitelne lezije vrata maternice niskog stupnja. Niskorizični tipovi 6 i 11 uzrokuju papilome nosne i usne šupljine i grkljana te iako su niskog rizika, smatraju se potencijalnim karcinogenima (3, 6, 7).

## 1.2. Viralna onkogeneza

Papiloma virusi, kao i mnogi drugi DNK virusi, uzrokuju rak kada je poremećen njihov regulirani obrazac ekspresije gena. Neoplazija visokog stupnja predstavlja abortivnu infekciju u kojoj se ekspresija virusnog gena poremeti, a normalan životni ciklus virusa ne može biti dovršen. Većina karcinoma vrata maternice nastaje unutar zone transformacije vrata maternice na skvamozno-kolumnarnom spoju, a pretpostavlja se da je to mjesto na kojem ne bude podržana produktivna infekcija. Smatra se da je kompleksna veza između produkata onkogeni i tumor supresorskih gena važna u staničnoj transformaciji, te taj odnos može narušiti normalne fiziološke funkcije specifičnih genskih proizvoda tumor supresorskih gena (8, 9). Iako integracija nije dio normalnog životnog ciklusa HPV-a, DNK visokorizičnog HPV-a često se integrira u ljudski genom tkiva karcinoma pločastih stanica vrata maternice (engl. *squamous cell carcinoma*, SCC). Smatra se da je integracija rani događaj povezan s progresijom od niskog stupnja skvamozne intraepitelne lezije (engl. *low-grade squamous intraepithelial lesion*, LSIL) do visokog stupnja skvamozne intraepitelne lezije (engl. *high-grade squamous intraepithelial lesion*, HSIL), pa može biti biomarker u progresiji raka. Mjesta integracije složena su u genomu kao krhka kromosomska mjesta na kojima se ne može popraviti oštećena dvostruka uzvojnica DNK. Oštećenje DNK često se inducira oksidativnim molekulama i HPV proteinima E1, E6 i E7 (10).

Neki dijelovi visokorizičnog-HPV genoma se brišu u virusnim integracijama, a stalna karakteristika je gubitak virusnog gena E2, što može inhibirati transkripciju iz integriranog virusnog promotora. Integracija je otkrivena u gotovo 90% karcinoma vrata maternice, i to u vrlo visokom postotku u HPV-16 i HPV-18 pozitivnih karcinoma vrata maternice. Znatno je niža učestalost integriranja u prekanceroznih lezija vrata maternice visokog stupnja, međutim, gotovo nikada se ne događa u ranim HPV-induciranim lezijama. Integracija dovodi do povećane ekspresije i stabilnosti transkripata koji kodiraju E6 i E7 proteine, koji vežu i narušavaju rad mnogih ključnih staničnih proteina poput p53 i pRb. Takvi su učinci ograničeni na visoko rizične tipove HPV-a, pružajući biološko objašnjenje za razlike u riziku od raka povezanim s vrstama visokorizičnog i niskorizičnog HPV-a (11, 12).

**Onkogeni aktivnost E6 proteina** visokorizičnog HPV-a povezana je s njegovom sposobnošću interakcije i inaktiviranja staničnog p53 proteina. E6 proteini potiču o ubikvitinu ovisnu razgradnju p53 *in vitro*. Ovo sugerira da E6 može djelovati u produženju životnog vijeka stanice poticanjem razgradnje p53. Gen p53 je tumor supresorski gen, za njega se vežu još neki onkoproteini kodirani DNK tumorskim virusima (13, 14).



**Onkogeni E7 protein** ima sposobnost vezanja za tumor supresorski gen retinoblastom (pRb). Zbog toga se pRB odvaja od kompleksa koji inače stvara s transkripcijskim faktorom EF2 (engl. *elongation factor 2*). Nadalje posljedično slobodni EF2 potiče ekspresiju gena uključenih u staničnu progresiju (13).

### 1.3. Patogeneza i prijenos infekcija uzrokovanih HPV-om

Nakon uspješnog vezanja na receptor, virus uđe u stanicu endocitozom. Potom virusni genom ulazi u jezgru. HPV proteini E6 i E7 utječu na kontrolne točke koje osiguravaju pravilno izvršavanje različitih koraka staničnog ciklusa. To omogućuje diferencirajućem keratinocitu da započne nekontroliranu proliferaciju. Replikacija virusnog genoma se ubrzava, amplificira se velika količina virusnog genoma, te se istodobno povećava količina proteina E1, E2, E4 i E5. Kao rezultat toga, broj virusnih kopija povećava se na tisuće primjeraka po stanici. U terminalno diferenciranom sloju epitela sklapaju se kapsidni proteini L1 i L2 i virusne čestice budu sastavljene. Virus se širi s jedne na drugu osobu otpalim stanicama (2, 10).

Žene se inficiraju HPV-om spolnim odnosom sa zaraženim partnerom. Prevalencija HPV-a je velika u dobi prvog seksualnog odnosa, kada je izloženost velika, a nema imuniteta. Infekcija nestaje unutar dvije godine kod više od 90% osoba. Stoga je konzervativno liječenje dobra terapijska opcija u adolescentica s patološkim citološkim nalazima. Infekcije koje duže perzistiraju imaju veći rizik od napredovanja do premalignih promjena vrata maternice, kao intraepitelne neoplazije vrata maternice (engl. *cervical intraepithelial neoplasia grade 3*, CIN 3), a te lezije mogu prijeći u rak vrata maternice, ako se ne liječe, u razdoblju od nekoliko godina. Napredovanje prekanceroznih lezija do invazivnog karcinoma obično traje više od jednog desetljeća, što nam daje dovoljno vremena za provođenje programa probira, identifikaciju infekcije i lezija i liječenje promjena (2, 15).

Neka klinička i epidemiološka zapažanja ukazuju da se genitalni tipovi HPV-a mogu prenijeti i na druge načine, posebno s majke na dijete. Neke studije također spominju indirektni prijenos putem predmeta kontaminiranih HPV-om (odjeća, plahte, ručnici, predmeti i instrumenti), ali njegov je utjecaj u prijenosu i izazivanju aktivne infekcije vrlo mali. HPV visokog rizika utvrđen je u uzorcima mlijeka 15% normalnih dojilja, što sugerira mogućnost prenošenja virusa mlijekom (16, 17).

#### 1.4. Imunologija i faktori rizika za HPV infekciju

Prirodna infekcija HPV-om uzrokuje specifičan imunski odgovor u većini slučajeva, ali samo ograničen broj pojedinaca razvija visoke titre antitijela koji pružaju zaštitu od ponovne infekcije istim tipom. Još uvijek nije jasno zašto prirodni imunitet ne stvara uvijek zaštitne imunski odgovore. Moguće objašnjenje je da tijekom infekcije protein L1 obično biva izložen imunskom sustavu u vrlo maloj dozi i pretežno u neupalnom okruženju, a to stvara malu vjerojatnost izazivanja dugovječne reakcije. Intramuskularnim cijepljenjem antigen se u velikoj dozi daje sustavnom imunološkom sustavu u pro-upalnom kontekstu, zbog prisutnosti adjuvansa. Ova vrsta izloženosti ponavljajućem antigenu općenito izaziva snažnu reakciju u limfnim čvorovima (18-20).

Perzistencija HPV-a ključna je za razvoj visokog stupnja CIN-a i raka vrata maternice. Faktori koji doprinose perzistenciji virusa uključuju dob, imunodeficijenciju, pušenje cigareta, dugotrajnu oralnu kontracepciju, infekciju bakterijom *Chlamydia trachomatis* i veći broj poroda (15,21). Japansko istraživanje provedeno među studenticama pokazalo je da ih je 125 (16,2%) bilo pozitivno na hr-HPV, te ukazuju da je HPV infekcija povezana s pušenjem, ukupnim brojem partnera, brojem partnera u posljednjih 6 mjeseci, nepravilnom uporabom kondoma i klamidijskom infekcijom (22). Studija provedena u Brazilu ukazuje da su *C. trachomatis* i *Neisseria gonorrhoeae* glavni patogeni povezani s hr-HPV-om zbog povećanog rizika za sve stupnjeve cervikalnih abnormalnosti, ali uglavnom za HSIL, što sugerira moguće sinergističko djelovanje u napredovanju lezija vrata maternice (23). Latentna infekcija virusom Epstein-Barr (EBV) može djelovati kao kancerogeni kofaktor. Prisutnost EBV ko-infekcije povezana je s pet puta većim rizikom od istodobne integracije hr-HPV-a u ljudski genom, što je važan korak u napredovanju do invazivnog karcinoma (24).

Vaginalna mikrobiota igra značajnu ulogu u zdravlju i bolesti ženskog reproduktivnog sustava. Istraživači su primijetili da HPV-pozitivne žene imaju veću raznolikost vrsta i značajno manje vrste *Lactobacillus* spp. Bakterijska vaginoza, često povezana s anaerobnim vrstama, uključujući bakterije *Gardnerella*, *Megasphaera*, *Sneathia* i *Prevotella*, povezuje se s većom učestalošću HPV infekcije i s razvojem CIN-a (25-29). Što se tiče ženskog reproduktivnog sustava, povoljnije je ako je niska mikrobna raznolikost i dominacija samo jedne ili nekoliko vrsta laktobacila. Brotman i njegovi kolege ustvrdili su da vaginalna mikrobna zajednica CST II (engl. *community state type II*), kojom dominira *Lactobacillus gasseri*, može biti povezana s vrlo brzim uklanjanjem akutne HPV infekcije. Racionalni odabir probiotika je učinkovit za zdravlje žena i zaštitu od spolno prenosivih bolesti. Probiotici su također predloženi kao

sredstvo za poticanje HPV negativizacije, a za to postoje *in vitro* i *in vivo* dokazi (27). Nasuprot tomu, prema nekim autorima, smatra se da upotreba tampona može dovesti do suhoće i iritacije u vagini i vratu maternice, stvaraju se mikroabrazije čime se povećava osjetljivost na HPV infekciju (30).

Transplantirane pacijentice s potisnutim imunološkim sustavom izložene su velikom riziku od različitih infekcija, poput HPV-a i posljedičnog razvoja zloćudnih bolesti (31).

Tijek infekcije HPV-om i razvoj CIN-a tijekom trudnoće usporedno je proučavan među trudnicama i ženama koje nisu bile trudne. Autori su usporedili stopu perzistentnosti, progresije i regresije CIN-a kolposkopski vođenom biopsijom tijekom trudnoće s ishodom HPV infekcije kod žena koje nisu trudne. U skupini trudnica, postporođajno je utvrđena značajno veća sklonost spontanoj regresiji (56,9% nasuprot 31,4%), pa čak i viša stopa potpune remisije (41,2% naspram 27,5%) u usporedbi s kohortom žena koje nisu trudne. Također, autori su primijetili značajno nižu perzistenciju CIN-a u skupini trudnica (39,2 naspram 58,8%). Stopa progresije bila je niska u trudničkoj kohorti (3,9%) i nije primijećeno napredovanje do invazivnog karcinoma. Stoga, ovo istraživanje preporučuje konzervativno liječenje CIN-a sigurnim u trudnoći zbog visokih regresivnih stopa i niskih stopa progresije nakon poroda (32).

## 1.5. Epidemiologija HPV infekcija

Svake godine više od 270 000 žena umre od raka vrata maternice, a većina tih slučajeva je prisutna u zemljama s niskim i srednjim dohotkom. Rak vrata maternice zauzima 3. mjesto među karcinomima koji pogađaju žene širom svijeta, a drugo mjesto u zemljama u razvoju. 85% globalne incidencije raka vrata maternice je u zemljama u razvoju. Stopa incidencije gotovo je dvostruko veća u zemljama u razvoju (17,8%) u odnosu na razvijene zemlje (9,0%). Smatra se da se ta razlika uglavnom odnosi na primjenu ranih dijagnostičkih metoda probira u razvijenim zemljama i rano liječenje otkrivenih promjena, koje umanjuju rizik od razvoja raka vrata maternice koji nastaje kao posljedica perzistentne HPV infekcije (33). Prema podacima Registra za rak, u Hrvatskoj je u 2017. godini incidencija raka vrata maternice bila 14,3/100.000 žena, a smrtnost od ove bolesti je bila 5,1/100.000 žena (34). Najučestalija dob za infekciju kod žena je oko 20 godina. Procjenjuje se da će 80% spolno aktivnih žena biti inficirano u nekom trenutku do 50. godine života (21). Prevalencija HPV DNK u raku vrata maternice je 99,7%, što znači da gotovo nema raka vrata maternice bez HPV-a (35). Najrašireniji i najonkogeniji tipovi HPV-a su HPV-16 i -18, a odgovorni za oko 70% slučajeva raka vrata maternice širom svijeta. Udio HPV-16/-18 je nešto viši u razvijenijim (72-77%) nego u manje razvijenim (65-72%) područjima. Osam najčešćih tipova: HPV-16, -18, -33, -45, -31, -58, -52 i -35 čine 90% slučajeva (36).

Mnoga su istraživanja ispitivala znanje i mišljenja o HPV-u u populaciji. Argentinska studija pokazala je da žene, radnice, bolje obrazovane, osobe koje su imale spolno prenosivu bolest ili HPV, te osobe koje primaju informacije putem medicinskih ili obrazovnih ustanova imaju veće znanje o toj temi (37). U Grčkoj su stariji studenti, studenti zdravstvenih studija i studenti s majkom koja radi imali češće višu ukupnu razinu znanja o HPV-u (33). U studijama provedenim na adolescentima i studentima Sveučilišta u Škotskoj, Portugalu i Italiji, objavljeno je da je postotak ispitanika koji su znali da HPV uzrokuje rak vrata maternice bio iznad 90% (37).

## 1.6. Kliničke manifestacije HPV infekcija

Velika većina HPV infekcija na svim mjestima je subklinička i asimptomatska. Ove infekcije su karakteristično neupalne; prema tome, većina osoba koje se zaraze HPV-om nikad ne zna da su zaraženi. Infekcija ženskog anusa, vrata maternice, vagine i vulve hr-HPV-om može rezultirati vidljivim dobroćudnim bradavicama uzrokovanim pretežno HPV tipovima 6 i 11 (38).

Oko 90% hr-HPV infekcija je samoograničavajuće i regresiraju unutar nekoliko mjeseci (5). U oko 10% slučajeva, međutim, infekcija perzistira i može napredovati do transformirajuće hr-HPV infekcije koja inducira razvoj preneoplastičnih lezija ili invazivnih karcinoma (11). Prekancerozne lezije, uzrokovane HPV-om, koje napreduju u karcinom pločastih stanica (SCC), nazivaju se cervikalna intraepitelna neoplazija (CIN) ili skvamozna intraepitelna lezija (SIL), koja je klasificirana prema stupnju lezije. Produktivna hr-HPV infekcija može se razviti u SIL niskog stupnja (LSIL) koji nije malignan i nosi mali rizik od progresije u malignost i odgovara CIN 1. SIL visokog stupnja (HSIL) predstavlja abortivnu virusnu infekciju u kojoj je poremećena ekspresija ranih gena HPV-a u bazalnim epitelnim stanicama, s većim rizikom od napredovanja do invazivne bolesti što odgovara CIN 2/3. Karcinom pločastih stanica (SCC) najčešći je oblik raka vrata maternice (10). Infekcija hr-HPV-om može uzrokovati pločaste intraepitelne lezije visokog stupnja (HSIL), CIN, VIN (engl. *vulvar intraepithelial neoplasia*), VAIN (engl. *vaginal intraepithelial neoplasia*) i AIN (engl. *anal intraepithelial neoplasia*). Također, može uzrokovati invazivni karcinom na svim ženskim anogenitalnim mjestima (38).

Žljezdani epitel također je osjetljiv na HPV infekciju, posebno tipom HPV-18, što može uzrokovati adenokarcinom (engl. *adenocarcinoma*, ADC), dok se HPV-16 otkriva češće u SCC-u nego u ADC-u. Adenokarcinom vrata maternice čini 10 do 20% premalignih i malignih lezija i razlikuje se od cervikalne intraepitelne neoplazije i invazivnog karcinoma pločastih stanica (39).

## 1.7. Dijagnostika HPV infekcija

Molekularno razumijevanje malignih transformacija u donjem genitalnom sustavu uzrokovanih humanim papiloma virusom i dostupne epidemiološke informacije dovele su do razvoja mnogih strategija za pravovremeno otkrivanje i ranu intervenciju. Noviji testovi na onkogene HPV genotipove omogućili su predviđanje rizika od budućeg razvoja karcinoma vrata maternice (40). Pri odabiru testa probira uzima se u obzir točnost, ponovljivost i troškovi testa, kao i jednostavna integracija u programe probira (pokrivenost, prihvatljivost, tehnološki zahtjevi) (41).

### 1.7.1. Izravni vizualni pregled vrata maternice s octenom kiselinom (VIA)

VIA (engl. *visual inspection with acetic acid*) je najjednostavnija i najjeftinija metoda koja se koristi u mnogim programima probira za rak vrata maternice u siromašnim zemljama. To uključuje pregled vrata maternice golim okom, korištenjem izvora svjetla, nakon nanošenja 3-5% razrijeđene otopine octene kiseline na vrat maternice pomoću pamučnog brisa ili spreja. Otkrivanje dobro definiranih aceto-bijelih područja blizu spoja pločastog i cilindričnog epitela (skvamo-kolumnarne granice) ukazuje na pozitivan test. Samo VIA nije dovoljna za dijagnosticiranje lezija vrata maternice, ali ako iza nje slijedi HPV DNK test, ovo bi mogla biti isplativa strategija probira raka vrata maternice u područjima s malim resursima. Može se upotrijebiti i vizualni pregled Lugolovim jodom umjesto octenom kiselinom (identifikacija senf-žutih lezija na vratu maternice odmah nakon primjene) (40, 42-45).

### 1.7.2. Citološki pregled stanica vrata maternice

Citološki pregled stanica vrata maternice kao standard za sekundarnu prevenciju provodi se u razvijenim zdravstvenim sustavima dugi niz godina. Organizirani i kontrolirani citološki programi probira znatno su smanjili učestalost raka vrata maternice u mnogim razvijenim zemljama gdje postoje odgovarajuća resursi koji osiguravaju visoku kvalitetu i dobru pokrivenost rizične populacije. Ključ ovog uspjeha leži u organiziranom programu u kojem je svaka žena u dobnom rasponu za probir dobiva redovne pozive za pregled (46).

*Konvencionalna citologija ili PAPA test* je glavna metoda probira raka vrata maternice već 60 godina. Bio je to prvi test probira, a njegova upotreba je značajno smanjila učestalost

raka vrata maternice. Nakon uzimanja uzorka špatulom, četkicom ili plastičnom metlicom, uzorak se odmah nanese na stakalce, zatim se učvrsti i oboji (43).

**Tekućinska citologija (engl. liquid based cytology, LBC)** osjetljivija je od klasične citologije. Nakon uzimanja uzorka četkicom, uzorak se odmah miješa u posudi koja sadrži tekući konzervans (ThinPrep, Hologic, Bedford, MA, SAD), a nakon primitka u laboratorij, stanice se aspiriraju na filter i oboje na stakalcu. Uzorak ima homogenije rašireni preparat u usporedbi sa Papa-om, a pokazalo se da LBC smanjuje broj neadekvatnih uzoraka za 80%, smanjujući tako potrebu za ponovnim testiranjem i opterećenjem rada laboratorija. Tekući ostatak uzorka može se koristiti za daljnja ispitivanja (46).

Prema „Bethesda sustavu 2014.“ za izvještavanje o citološkim promjenama vrata maternice, poremećaji pločastih epitelnih stanica klasificiraju se kao (47):

**1. Atipične pločaste stanice** (engl. *atypical squamous cells*, ASC): - neodređenog značaja (engl. *atypical squamous cells of undetermined significance*, ASC-US), ili - ne mogu isključiti HSIL (engl. *atypical squamous cells; cannot exclude high-grade intraepithelial lesion*, ASC-H),

**2. Skvamozna intraepitelna lezija niskog stupnja** (engl. *low-grade squamous intraepithelial lesion*, LSIL), HPV blaga displazija, CIN 1,

**3. Skvamozna intraepitelna lezija visokog stupnja** (do visokog stupnja skvamozne intraepitelne lezije (engl. *high-grade squamous intraepithelial lesion*, HSIL), umjerena i teška displazija; CIN 2 i CIN 3

**4. Karcinom skvamoznih stanica** (engl. *squamous cell carcinoma*, SCC).

Dihotomna terminologija izvještavanja za LSIL i HSIL zadržana je i rezultat je našeg trenutnog razumijevanja prirode infekcija povezanih s HPV-om; promjene niskog stupnja predstavljaju produktivnu, uglavnom prolaznu HPV infekciju, a promjene visokog stupnja predstavljaju prekanceroznu leziju. Probir raka vrata maternice prvenstveno je usmjeren na otkrivanje i liječenje HSIL-a (47).

Osjetljivost citologije za otkrivanje lezija visokog stupnja kreće se od 30% do 87% sa prosječnom specifičnošću od 62% (61-94%), ovisno o laboratoriju, iskustvu citologa, adekvatnosti uzorka i fiksacijskoj tehnici (40). Rješenje za poboljšani probir donosi uvođenje molekularnog testiranja kao primarnog testa probira, umjesto citološkog, u probir raka vrata maternice i u razvijenim i u zemljama u razvoju (41).

### **1.7.3. Testiranje na visokorizični (hr) HPV**

Testiranje na HPV prvobitno je korišteno kao refleksno testiranje nakon citologije kako bi se pomoglo razlučivanju atipičnih PAPA testova i slanju istih na kolposkopiju, kao i kod onih kod kojih je bilo potrebno učestalo praćenje. HPV test ima bolju osjetljivost za otkrivanje lezija vrata maternice visokog stupnja (oko 90%) od citološkog pregleda, pomaže u rješavanju nesigurne citološke dijagnoze (ASCUS, LSIL), ali ovaj test ima nisku specifičnost (oko 60%) zbog činjenice da ne može odvojiti prolaznu od trajne infekcije, a samo su ove posljednje povezane s povećanim rizikom od visokog stupnja CIN-a i karcinoma (40, 45). Kombinacijom oba testa, odnosno dodavanjem citološkog pregleda HPV testiranju povećava se osjetljivost na 96,7% (48). Prepoznavanje snažne uzročne veze između trajne infekcije genitalnog sustava visokorizičnim tipovima HPV-a i pojave raka vrata maternice, rezultiralo je razvojem niza metoda detekcije HPV-DNK ili -RNK (49).

#### **1.7.3.1. HPV-DNK test**

Zbog važne implikacije HPV infekcije na razvoj ginekoloških zloćudnih bolesti, rutinska HPV dijagnostika postala je standard u trijaži granične citologije za procjenu učinkovitosti liječenja, te kao dodatak citologiji kod žena starijih od 30 godina. U mnogim zemljama primjena testiranja na HPV počinje kao primarni probir zamjenjivati citologiju. Budući da HPV može biti samo kontaminacija, a može biti prisutan i kod produktivnih i kod transformirajućih infekcija, njegova detekcija nije uvijek u korelaciji s kliničkom važnošću. Da bi se razvila neoplazija vrata maternice, određena količina virusa mora biti prisutna neko vrijeme. Stoga su prolazna infekcija HPV-om i mala količina virusa klinički nevažni.

Rutinsko testiranje HPV-a zahtijeva metodu detekcije s klinički definiranom graničnom vrijednošću količine virusa kako bi se izbjegli HPV-nespecifični pozitivni rezultati koji uzrokuju nepotrebne daljnje dijagnostičke postupke i liječenje. HPV DNK testovi koji su trenutno u upotrebi mogu se podijeliti u nekoliko skupina, oni koji daju rezultat samo kao pozitivan na HPV DNK i oni kojima se može istovremeno odrediti pojedinačni genotip. To je naročito važno za utvrđivanje tipova HPV-16 i HPV-18 koji imaju veći rizik za razvoj karcinoma, pa takve pacijentice trebaju agresivnije liječenje (50).



### 1.7.3.2. HPV-mRNK test

Iako je hr-HPV najčešće povezan s nekom vrstom CIN-a, hr-HPV DNK može se otkriti u značajnom dijelu žena bez bolesti. Kod visokih stupnjeva lezija i raka, E6 i E7 su prekomjerno eksprimirani u stanicama epitela cerviksa. HPV glasnička RNK (mRNK) otkrivena je u više od 90% žena s CIN 3 lezijama i karcinomom. Dakle, otkrivanje mRNK iz E6 i E7 gena hr- genotipova snažno je povezano s ozbiljnošću histološke dijagnoze, a kliničarima omogućuje razlikovanje žena koje već imaju rak ili prekanceroznu promjenu od onih s prolaznom ili neznačajnom infekcijom (41).

### 1.7.4. Kolposkopija

Kolposkopija se koristi u žena koje imaju patološki citološki nalaz za procjenu daljnjih postupaka. Nema podataka koji bi podržavali upotrebu kolposkopije kao primarnog probirnog testa i to se općenito ne preporučuje (43). Kolposkopski se promjena sumnjiva na CIN vidi kao oštro razgraničen aceto-bijeli epitel (zbog dehidracije stanica nakon primjene octene kiseline) i patološke vaskularne promjene poput točkastih promjena i mozaika. Ako se otkrije takva promjena, potrebno je izvršiti biopsiju (51).

Prihvaćeno je da žene s HSIL-om trebaju kolposkopsku procjenu i eventualno liječenje. Međutim, optimalan način vođenja žena s manjim abnormalnostima i dalje je nepoznat. U mlađih žena promjene su uglavnom rezultat prolazne HPV infekcije. Stoga je potrebno slijediti nacionalne preporuke za odabir primarne metode testiranja (citologija ili HPV test) s obzirom na dob, kako bi se smanjile nepotrebne kolposkopske biopsije, koje su skupe i invazivne (52, 53).

## 1.8. Liječenje HPV infekcija i bolesti uzrokovanih HPV-om

Neoplazija donjeg genitalnog sustava može biti intraepitelna neoplazija cerviksa (CIN), vagine (VAIN) i vulve (VIN), koje u malom dijelu slučajeva napreduju do invazivnog karcinoma. Gotovo 100% cervikalnih, ~ 43% vulvarnih i ~ 70% vaginalnih tumora može se pripisati infekciji humanim papiloma virusom. Metode liječenja anogenitalnih lezija povezanih s HPV-om u prvom redu su kirurške (54).

### 1.8.1. Liječenje intraepitelne neoplazije

Postojeće strategije liječenja usmjerene su na uklanjanje prekanceroznih stanica zaraženih HPV-om uz istovremeno minimiziranje oštećenja cerviksa (51). Liječenje izbora je konizacija, što znači izrezati cervikalni stožac, uključujući sumnjivo područje. Izvodi se laserskom, električnom omčom ili hladnim nožem (105).

**Laserskom konizacijom** izdvaja se mali konus, ali je skupa i procjena rubova je teška. Postupak elektrokirurške ekscizije petljom (engl. *loop electrosurgical excision procedure*, LEEP) jedan je od najčešće korištenih postupaka, relativno je jeftinih i moguće je provođenje tih postupaka ambulantno, ali teško je odrediti rubove. Ako postoji sumnja na invazivnu bolest ili problem s rubovima, obično je konizacija hladnim nožem standard liječenja zbog sposobnosti duboke resekcije endocervikalnog kanala i izbjegavanja arterfakata na rubovima. Krioterapija je tretman koji se široko koristi u mnogim zemljama, jer je to jednostavna opcija koja je dostupna izvan kirurške dvorane. Međutim, dijagnoza i vizualizacija lezije moraju biti sigurni prije upotrebe krioterapije kako se ne bi propustili karcinomi, poput onih duboko u endocervikalnom kanalu. Histerektomija je neprihvatljiva kao primarna terapija za visoki stupanj CIN-a (54).

Praćenje nakon liječenja CIN-a testom na HPV mogu se razlikovati žene koje su u riziku od neuspjeha liječenja, odnosno koje su pozitivne na HPV nakon liječenja što je najjači prediktor trajne bolesti, od onih žena koje su HPV negativne, za koje su vrlo niski rizici i mogu se sigurno vratiti u rutinsko praćenje (46).

Protokol za liječenje VIN-a je operativna ekscizija unifokalne promjene i sumnjivih lezija na moguću invaziju. Teža je za liječenje multifokalna bolest jer može zahvatiti veliki dio vulve. Ekscizija tako velikog područja kože vulve može dovesti do gubitka oblina vulve i seksualne funkcije, što može imati jaki učinak na ženino samopoštovanje i kvalitetu života.

Zbog toga laserska ablacija ima prednost zbog preciznosti i izbjegavanja gubitka kože, ali je povezana s visokom stopom neuspjeha liječenja (54).

### **1.8.2. Liječenje raka vrata maternice**

Većina karcinoma vrata maternice može se liječiti konizacijom ili radikalnom histerektomijom s izvrsnim preživljavanjem. Napredniji tumori liječe se istodobnom kemoradioterapijom. Kirurško liječenje ovisi o stadiju FIGO (engl. *International Federation of Gynecology and Obstetrics*) i histološkim rezultatima prethodne biopsije konusa. U fazi IA1 bez vaskularne invazije, praćenje i jednostavna histerektomija moguća su opcija. Prisutnost vaskularne invazije u fazi IA1 i IA2 zahtijeva modificiranu radikalnu histerektomiju sa zdjeličnom limfadenektomijom. U bolesti IB ili IIA, standardni tretman je radikalna histerektomija i disekcija limfnih čvorova. Bolest u naprednoj fazi II-IVA liječi se zdjeličnom i paraarortnom radioterapijom i istodobnom kemoterapijom (51, 54).

HPV test bi trebalo rutinski uključiti (s ili bez citologije) u praćenje bolesnika s CIN 2+ lezijama nakon liječenja radi ranog otkrivanja recidiva i progresije raka. Metode genotipizacije HPV-a, kao biološki pokazatelj perzistentne bolesti, su prikladnije za procjenu rizika (naročito u slučaju razlikovanja perzistencije HPV-a 16/18 od ostalih tipova HPV-a) (55, 56). HPV testom mogu se utvrditi populacije s najvećim rizikom od povrata lezije CIN 2+ nakon liječenja, posebno među ženama s pozitivnim rubovima (57).

### **1.8.3. Liječenje genitalnih bradavica**

Tretmani genitalnih bradavica mogu se kategorizirati kao terapije koje se provode u liječničkim ordinacijama i terapije koje pacijenti sami primjenjuju kod kuće.

Terapije koje provode liječnici uključuju krioterapiju, trikloroctenu kiselinu ili kirurško uklanjanje. Krioterapija koristi tekući dušik za zamrzavanje unutarstanične vode u bradavici, što rezultira staničnim uništavanjem. U mnogim slučajevima čest je problem ponovna pojava bolesti nakon uspješnog uklanjanja. Kirurška ekscizija ima najveću stopu uspješnosti kod liječenja genitalnih bradavica, ali zahtijeva dodatnu edukaciju i opremu. Latentni HPV može ostati u okolnom tkivu bez oštećenja, što dovodi do recidiva.

Terapije koje mogu primjenjivati sami pacijenti kod kuće uključuju podofilotoksin, imikvimod i sinekatehin (54).

## 1.9. Prevencija HPV infekcije

Najbolje i najisplativije metode kontrole nad zloćudnim bolestima povezanim s HPV-om su primarna prevencija edukacijom i cijepljenjem protiv HPV-a i sekundarna prevencija koja uključuje redovite ginekološke preglede, citološke preglede, otkrivanje HPV virusa i uklanjanje kofaktora, npr. pušenje cigareta (51).

### 1.9.1. Primarna prevencija HPV cjepljenjem

Dostupnost profilaktičkih cjepiva protiv HPV-a pružila je snažno oružje za primarnu prevenciju raka vrata maternice i drugih bolesti povezanih s HPV-om. Od 2006. godine, cjepiva su licencirana u mnogim zemljama širom svijeta, te ih je od tada sve veći broj zemalja uveo u svoje nacionalne programe (58). Profilaktička cjepiva protiv HPV-a koja su se prva pojavila bila su dvovalentno (2vHPV; Cervarix, GSK, Rixensart, Belgija) i četverovalentno (4vHPV; Gardasil / Silgard, Merck, Kenilworth, New Jersey) cjepivo. Nakon njih pojavilo se na tržištu deveterovalentno (9vHPV; Gardasil 9, Merck) cjepivo je 2014. godine dobilo FDA odobrenje. Sve vrste cjepiva su usmjerene protiv HPV 16/18, jer su to vrste koje uzrokuju oko 66% karcinoma vrata maternice. U 9vHPV cjepivu dodano je još 5 onkogenih vrsta (31/33/45/52/58) koje su uzrokuju oko 15% karcinoma vrata maternice. Cjepiva 4vHPV i 9vHPV štite i protiv HPV 6 i 11, vrsta koje uzrokuju anogenitalne bradavice (59, 60).

Profilaktička primjena cjepiva sprječava infekciju i bolesti povezane samo s tipovima HPV-a koji su uključeni u cjepivo. Ne očekuje se da će spriječiti bolest kod osoba koje su već zaražene HPV-om (61). Cjepivo se dobro podnosi, većina nuspojava blage su do umjerene jačine, a to su bile bol, oteklina i eritem koji su bili povezani s ubrizgavanjem (60).

Više od 200 milijuna doza 4vHPV cjepiva distribuirano je širom svijeta. Cjepivo je odobreno za sprječavanje trajne infekcije HPV tipovima 6/11/16/18, niske i visoke razine intraepitelne neoplazije vrata maternice (CIN 1 i CIN 2/3), adenokarcinoma in situ (AIS), karcinoma vrata maternice, vaginalne i vulvarne intraepitelne neoplazije visokog stupnja (VaIN 2/3 i VIN 2/3), raka vagine i vulve, analne intraepitelne neoplazije visokog stupnja (AIN 2/3), analnog karcinoma i anogenitalnih bradavica.

Budući da cijepljenje najbolje štiti kada se primjenjuje prije izlaganja HPV-u, rutinski se preporučuje prije adolescencije (obično u dobi od 11 do 12 godina). Programi cijepljenja za stariju populaciju (engl. *catch-up*) proširuju obuhvat na žene u dobi od 13 do 26 godina. Neke su države pokrenule programe cijepljenja protiv HPV-a za muškarce (u dobi od 13 do 21

godine). 4vHPV cjepivo prvotno je testirano i odobreno za primjenu u 3 doze, s rasporedom doziranja od 0, 2 i 6 mjeseci (59). Ako se cjepivo primjenjuje na djevojčice u dobi od 9 do 13 godina, 2-dozni raspored 4vHPV preventivnog cjepiva smatra se jednako učinkovitim kao i primjena u 3 doze (42, 62-64).

Učinkovitost i utjecaj 4vHPV vakcinacije u smanjenju infekcija i bolesti povezanih sa HPV-om, prema studijama, ovisili su o obuhvatnosti cijepljenja u ispitanoj populaciji, dobnoj kohorti na kojoj je cijepljenje ispitano u svakoj zemlji, provedbi i trajanju „catch-up“ programa za povećanje obuhvata starijih dobni skupina unutar navedenog dobno raspona, o vremenu između pokretanja programa i mjerenja učinka, kao i o duljini vremena praćenja obuhvaćenog istraživanjem. Prema tome, varijabilnost u učincima cjepiva vjerojatnije odražava različite protokole svojstvene svakoj različitoj studiji, a ne temeljne razlike u učinkovitosti cjepiva među populacijama s inače sličnim osnovnim karakteristikama. Nakon uvođenja programa 4vHPV vakcinacije zabilježeno je brzo smanjenje, oko 90%, infekcija tipovima HPV-a 6/11/16/18 i genitalnih bradavica, a to je prvi put dokazano kod mladih žena u Australiji, Europi, Sjevernoj Americi i Novom Zelandu i postalo je vidljivo unutar 4 godine nakon uvođenja cijepljenja. Dodatno, uvođenje probirnih testova na karcinom cerviksa, dovelo je do smanjenja za oko 45% kod citoloških abnormalnosti niskog stupnja i oko 85% u visokom stupnju histološki potvrđenih lezija vrata maternice. Očekivanu korist od HPV cijepljenja na stopu karcinoma povezanog s HPV-om još nije moguće u potpunosti utvrditi zbog dugog razdoblja latencije nakon izlaganja (59).

Nažalost, puni potencijal cijepljenja protiv HPV-a još uvijek nije realiziran. Unatoč razvoju djelotvornih profilaktičkih cjepiva, bolesti povezane s HPV-om i dalje predstavljaju glavne izazove javnog zdravstva kako za razvijene zemlje tako i za zemlje u razvoju. Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organisation*, WHO) prepoznala je važnost raka vrata maternice i drugih bolesti povezanih s HPV-om kao globalnu prijetnju javnom zdravstvu, te su preporučili da cjepiva protiv HPV-a trebaju biti uključena u nacionalne programe imunizacije (59). Programi cijepljenja protiv HPV-a trebali bi težiti minimalnoj procijepljenosti od 70-80% (64).

Prepreke za cijepljenje protiv HPV-a jesu: roditelji i pacijenti nemaju znanje o cjepivu protiv HPV-a, nedostatak preporuka liječnika za cijepljenje, regionalne razlike u poticanju na cijepljenje, praćenje svih doza (dovršetak cijepljenja) i troškovi cjepiva. CDC (engl. *Centre for Disease and Control*) potiče državne i lokalne odjele za javno zdravstvo da pomognu u vođenju kampanje za cijepljenje protiv HPV-a, da organiziraju, educiraju i motiviraju i roditelje i

kliničare o cijepljenju protiv HPV-a i da u državne planove za kontrolu raka uključe cijepljenje protiv HPV-a (66).

Terapijska cjepiva koja mogu kontrolirati postojeću infekciju trenutno se istražuju. Sadrže E6 / E7 onkogene specifičnih visoko rizičnih genotipova HPV-a (posebno HPV 16 i 18) i djeluju inducirajući snažan stanični imuni odgovor koji uništava lezije povezane sa HPV-om (67).

### ***1.9.2. Sekundarna prevencija - probir na rak vrata maternice***

Ne postoji jedinstvena globalna strategija za prevenciju karcinoma vrata maternice. Kombinirajući cijepljenje protiv HPV-a s novim, osjetljivijim testovima probira na karcinom vrata maternice, kao dio rutinske preventivne skrbi, poboljšat će se zdravstvena zaštita za sve žene (59). Unatoč razlikama u osjetljivosti i specifičnosti između testova probira, većina karcinoma vrata maternice pojavljuje se u žena u kojih probir uopće nije proveden. 60% žena s rakom vrata maternice u SAD-u nikada nisu napravile Papa test ili ga nisu napravile više od pet godina (40). U novije vrijeme preporučuje se da se prvo treba napraviti osjetljiviji test (test na HPV), a samo za žene pozitivne na HPV radi se potom specifičniji test (citologija) kako bi se odredio daljnji postupak (68).

Testiranje na HPV sve se više prepoznaje kao najbolja metoda za primarni probir cerviksa zbog vrlo visoke osjetljivosti (68). Prema najnovijim europskim smjernicama za probir raka vrata maternice, za žene između 35 i 65 godina preporučuje se HPV test kao test primarnog probira s citologijom kao refleksnom metodom, s preporučenim intervalom probira najmanje 5 godina u žena s negativnim rezultatom primarnog testiranja na HPV. Žene koje su pozitivne na onkogeni tip HPV-a na primarnom pregledu, trebaju bez odlaganja napraviti refleksnu citologiju stanica vrata maternice. Ovisno o rezultatu citološkog nalaza, HPV-pozitivne žene treba uputiti ili na ponovljeno testiranje ili na kolposkopiju (64).

Testiranje na HPV s pojedinačnom genotipizacijom tipova HPV-16 i -18 predstavlja točniju metodologiju za primarni probir raka vrata materice, posebno u starijih žena (69). U SAD-u, za razliku od europskih smjernica, postoje kliničke smjernice za probir raka vrata maternice koje se zalažu za trijažu HPV-pozitivnih žena, koristeći dodatnu pojedinačnu tipizaciju na tipove HPV-16 i -18, a pozitivne žene se upućuju na kolposkopiju. Za žene pozitivne na 12 ostalih hr-HPV tipova preporučuje se citološki pregled stanica vrata maternice. Ovaj model probira postiže razumnu ravnotežu osjetljivosti metode za otkrivanje bolesti s brojem testova probira i kolposkopija potrebnih za postizanje te detekcije (70). ASCCP (engl.

*American Society for Colposcopy and Cervical Pathology*) 2012 konsenzus smjernice za prevenciju i rano otkrivanje raka vrata maternice preporučuje početak probira u dobi od 21 godine i trajanje do 65. godine za cijepljene i necijepljene žene (60, 71). Za žene u dobi od 21 do 29 godina preporučuje se probir samo citologijom svake 3 godine. Za žene u dobi od 30 do 65 godina preporučuje se kotestiranje citologijom i HPV testiranjem svakih 5 godina (poželjno) ili sa citologijom svake 3 godine (prihvatljivo) (71). Studija ATHENA (engl *Addressing the Need for Advanced HPV Diagnostics*) bila je prospektivno 3-godišnje ispitivanje probira na karcinoma vrata maternice, dizajnirano za usporedbu značajki HPV testa (Cobas, Roche), samo i u kombinaciji s citologijom (72). U ovoj studiji pokazalo se da je primarni probir na HPV u žena  $\geq 25$  godina jednako učinkovit kao strategije preporučene od strane ASCCP-a (73). Bolja NPV (negativna prediktivna vrijednost) testiranja na HPV omogućuje sigurno produženje intervala probira, smanjujući na taj način stres uzrokovan probirom, jer primarni probir HPV testom zahtijeva manje pregleda tijekom života. Rezultati studije ATHENA zalažu se za upotrebu primarnog probira HPV testom počevši u dobi od 25 godina, pri čemu se za trijažu HPV pozitivnih koristi pojedinačna genotipizacija za HPV 16/18. Pozitivne žene na HPV tipove 16/18 upućuju se na kolposkopiju, a za žene pozitivne na 12 drugih hr-HPV tipova preporučuje se refleksna citologija (73). Na temelju podataka iz ove studije, FDA je 2014. odobrio Cobas HPV test (Roche) kao primarni test probira (72).

Neki autori navode da nije dovoljno pojedinačno tipizirati samo HPV-16 i -18, jer se i drugi tipovi, npr. HPV-31 i -33 pojavljuju kao važni tipovi HPV-a s višim pozitivnim prediktivnim vrijednostima (74).

Provođenje primarnog probira hr-HPV testiranjem ima potencijal za daljnje smanjenje morbiditeta i smrtnosti od raka vrata maternice. Međutim, kako bi se postigla maksimalna korist, najvažnije je tražiti žene koje se ne pregledavaju redovito (70). Važno je naglasiti da je cilj probira prevencija raka, a temelji se na otkrivanju i liječenju prekursorskih lezija prije nego što postanu rak (74).

U današnje vrijeme preporučuje se kombinacija cijepljenja protiv HPV-a i probira hr-HPV testiranjem kao učinkovit i isplativ model prevencije bolesti povezanih s HPV-om (64).

Zaštita od raka vrata maternice cijepljenjem s Gardasilom 9 je 90%. Zbog ovako visoke zaštite, kod cijepljenih žena će možda biti moguće smanjiti broj HPV testiranja na svega tri tijekom života (u dobi od 30, 40 i 60 godina), ali to treba još provjeriti u velikim studijama (75).

## **2. CILJEVI I HIPOTEZE**



Ciljevi ovoga rada bili su:

1. dijagnosticirati Humani papiloma virus u uzetim uzorcima pacijentica na redovnom sistematskom pregledu u više ginekoloških ordinacija Splitsko-dalmatinske županije
2. prikazati zastupljenost HPV-a u populaciji žena u Splitsko-dalmatinskoj županiji
3. prikazati zastupljenost tipova HPV-16 i HPV-18 u populaciji žena SDŽ
4. utvrditi učestalost ostalih mikroorganizama u obriscima vrata maternice u populaciji žena SDŽ
5. utvrditi učestalost patoloških citoloških nalaza stanica vrata maternice (PAPA test) u u populaciji žena SDŽusporediti dobivene rezultate za populaciju žena SDŽ s podacima iz literature

Hipoteze ovog rada bile su:

1. promjene mikrobiote i bakterijska infekcija u donjem dijelu ženskog spolnog sustava utječu na stvaranje uvjeta koji pogoduju hr-HPV infekciji
2. postoji povezanost patološkog citološkog nalaza i prisutnosti HPV-a

### **3. ISPITANICE I POSTUPCI**

Ovo istraživanje napravljeno je kao prospektivna studija o prevalenciji HPV-a i raspodjeli HPV tipova u populaciji žena Splitsko-dalmatinske županije. Podaci su prikupljeni tijekom rutinskih kontrolnih pregleda od strane nepovezane skupine ginekologa na području Splitsko-Dalmatinske županije. Istraživanje je dio studije koja je odobrena od strane Etičkog povjerenstva ustanove u kojoj se istraživanje odvijalo (Nastavni zavod za javno zdravstvo Splitsko-dalmatinske županije).

### ***Ispitanice***

U ovo istraživanje bili su uključeni podatci od 1050 žena s područja Splitsko-dalmatinske županije koje su bile na redovnom sistematskom pregledu. Uzorci i ankete su se prikupljali u 4 ginekološke ordinacije iz različitih gradova županije (Kaštela, Solin i Split).

Utjecaji na rezultate eliminirani su na način da su u uzorak odabrane sve žene koje su u unaprijed određene dane (jedan dan u tjednu) došle na redovni sistematski ginekološki pregled i koje su bile potpuno asimptomatske, uz napomenu da su sve dale pisani pristanak da im se napravi cjelokupna obrada: ginekološka, citološka, mikrobiološka, te su ispunile anketu. U uzorak nisu bile uključene trudnice, žene koje boluju od težih bolesti (karcinom, imunodeficijencije...) ili su u postupku liječenja od neke ginekološke bolesti.

### ***Postupci***

Za svaku ženu u uzorku prikupljeni su podatci za: dob, bračno stanje, broj poroda, korištenje kontracepcije, broj partnera u zadnjih 6 mjeseci, PAPA test, mikrobiološki nalaz: bakteriološki aerobno, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* i/ili *Ureaplasma urealyticum* te HPV.

Sve varijable su kvalitativne. Kako je varijabla dobi definirana za dvije dobne skupine i to za žene od 29 godina ili manje i za žene u dobi od 30 godina ili više, i ova varijabla se može definirati kao nominalna.

Uzorak za dijagnostiku bio je obrisak vrata maternice, uzet prema uputi za uzorkovanje, u 4 različite epruvete s transportnim medijem za mikrobiološku dijagnostiku (Amies transportni medij za aerobne bakterije, transportni medij za urogenitalne mikoplazme, Cobas PCR medij za klamidiju i ThinPrep transportni medij za HPV).

Za otkrivanje hr-HPV-a u stanicama vrata maternice koristili smo PCR test u stvarnom vremenu (*Cobas 4800 HPV test*) odobren od strane FDA (engl. *Food and Drug Administration*), koji omogućuje istodobno individualno genotipiziranje za HPV-16 i HPV-18 i skupno otkrivanja 12 ostalih hr-HPV genotipova (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68).

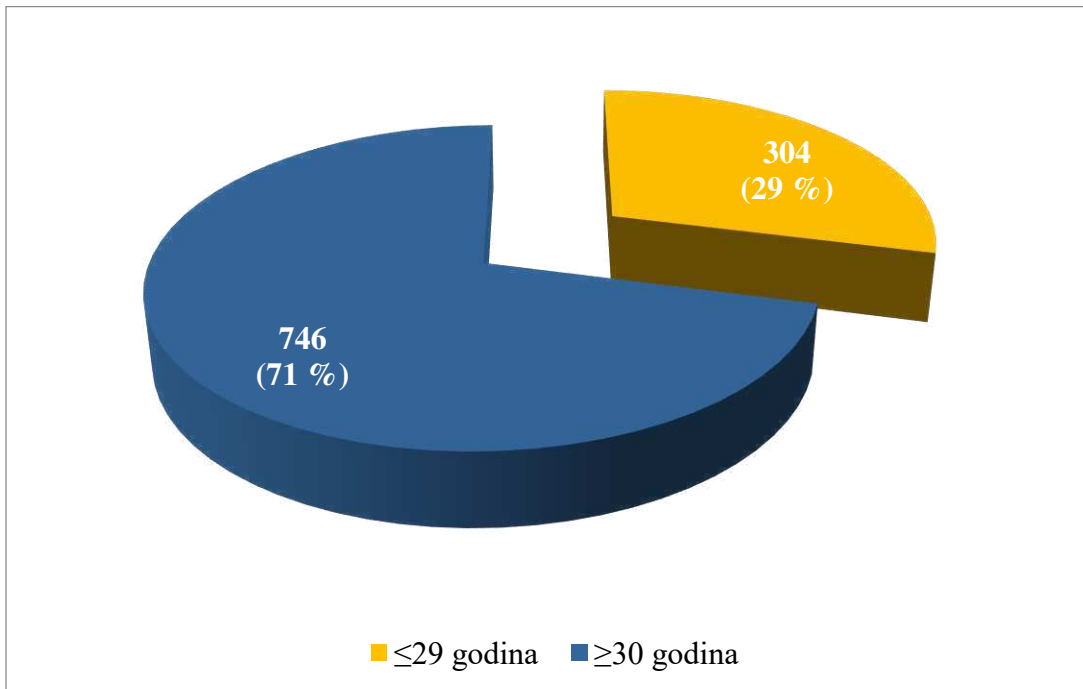
### ***Statistička analiza***

Dobiveni rezultati su se pohranili u MS Excel bazu podataka. Za prikaz odabranih varijabli korišteni su grafikoni strukturnog kruga te tablični prikazi. Za prikaz strukture prema modalitetima odabranih varijabli, uz nominalne vrijednosti, korišteni su i relativni brojevi u postotcima. Za provjeru distribucije podataka korišten je test po Kolmogorov-Smirnovu. Za statističku obradu kvalitativnih varijabli koje imaju normalnu razdiobu proveden je hi kvadrat test. Statistička analiza napravljena je pomoću statističkog paketa SPSS 17.0 (SSPS Inc., Chicago, IL). Kao statistički značajna postavljena je vrijednost  $p < 0,05$ .

## **4. REZULTATI**

U ovo prospektivno istraživanje bilo je uključeno 1050 žena s područja Splitsko-dalmatinske županije koje su pristupile redovnom sistematskom pregledu.

Životna dob ispitanica bila je od 16 do 74 godina. Ukupno je sudjelovalo 746 (71%) žena starijih od 30 godina, dok su samo 304 (29%) žene mlađe od 29 godina pristupile sistematskom pregledu u razdoblju istraživanja (Slika 1).



**Slika 1.** Raspodjela ispitanica prema dobi (N = 1 050)

U ovom istraživanju tri četvrtine ispitanica bilo je u braku, njih 805 (77%), dok 245 (23%) ispitanica nisu bile udane.

Najviše je bilo žena koje su rodile 1 ili 2 puta, 472 od 1050 (45%), njih 264 (25%) je imalo 3 i više poroda u životu, a 314 (30%) ispitanica nisu nikad rodile.

Od 1050 žena, njih 78 (7,4%) u trenutku provođenja istraživanja nije imalo spolnog partnera u posljednjih 6 mjeseci, a 972 (92,6%) ispitanice su bile spolno aktivne u vrijeme istraživanja.

Najveći broj ispitanica, njih 935 (89,1%), je imalo jednoga spolnog partnera, dok ih 32 (3%) navode da su imale 2 partnera, a svega 5 (0,5%) ispitanica navode da su imale tri i više spolnih partnera u posljednjih 6 mjeseci.

Spolno aktivnih žena u ovom istraživanju bilo je 972, a od njih je 279 (26,6%) koristilo kontracepciju (Tablica 1),

**Tablica 1.** Raspodjela ispitanicas obzirom na ulazne parametre  
ispitivanja (N = 1050)**Bračno  
stanje**

	<b>N</b>	<b>Postotci (%)</b>
Neudane	245	23,0
Udane	805	77,0
Ukupno	1050	100,0

**Broj poroda**

Nerotkinje	314	30,0
≤2 poroda	472	45,0
≥3 poroda	264	25,0
Ukupno	1050	100,0

**Broj partnera  
u zadnjih 6 mjeseci**

Bez partnera	78	7,4
1 stalni partner	935	89,1
≤2 partnera	32	3,0
≥3 partnera	5	0,5
Ukupno	1050	100,0

**Kontracepcija**

Da	279	26,6
Ne	693	73,4
Ukupno	972	100,0



Iz Tablice 2 uočava se da su u ispitanice u ovom istraživanju od mikroorganizama najčešće bile izolirane urogenitalne mikoplazme *Mycoplasma hominis* i/ili *Ureaplasma urealyticum*, u 317 od 1050 žena (30,2%).

Iako je većina ispitanica u redovnom sistematskom pregledu imala negativan test na klamidiju, njih 1029 (98%), ipak je u 21 (2%) ispitanice dokazana patogena bakterija *Chlamydia trachomatis*. HPV je dokazan u obriscima cerviksa 107 (10,2%) žena u ovom istraživanju.

U 181 (17,2%) ispitanice izolirana je neka druga aerobna bakterija u prevladavajućem broju ili čistoj kulturi (*Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*...), a najčešće je to bila *Gardnerella vaginalis* u 90 od ukupno 1050 ispitanica (8,6%)

**Tablica 2.** Raspodjela ispitanica s obzirom na mikrobiološki nalaz (N = 1050)

<b>Mikrobiološki nalaz</b>	<b>Pozitivno N</b>	<b>Negativno N</b>	<b>Ukupno N</b>
<b>Bakteriološki aerobno</b>	181 (17,2%)	869 (82,8%)	1050 (100%)
<i>Chlamydia trachomatis</i>	21 (2%)	1029 (98%)	1050 (100%)
<i>Mycoplasma hominis</i> i/ili <i>Ureaplasma urealyticum</i>	317 (30,2%)	733 (69,8%)	1050 (100%)
<b>HPV</b>	107 (10,2%)	943 (89,8%)	1050 (100%)

Od 1050 žena u ovom istraživanju, njih 1010 (96,2%) imalo je uredan citološki nalaz PAPA testa, dok ih je 40 (3,8%) imalo patološki citološki nalaz.

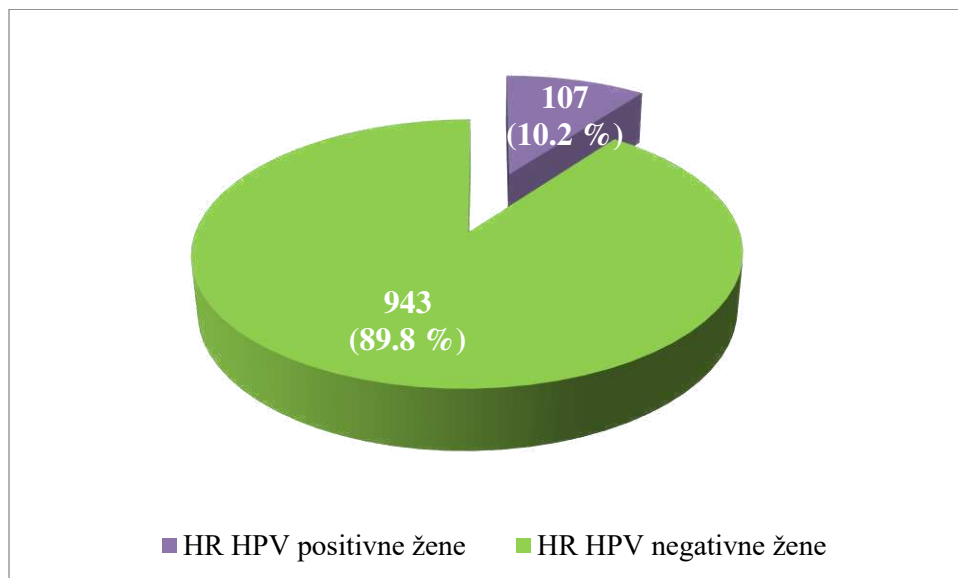
Prema rezultatima u Tablici 3, može se zaključiti da ne postoji statistički značajna ovisnost između dobi ispitanica i rezultata PAPA testa. U dobi od 29 godina i mlađih, njih 14 (4,6%) imalo je patološki citološki nalaz, dok ih je u skupini od 30 i više godina njih 26 (3,5%) imalo patološki nalaz PAPA testa. To nije predstavljalo statistički značajnu razliku ( $p = 0,389$ ).

**Tablica 3** Učestalost patoloških citoloških nalaza s obzirom na dob ispitanica (N = 1050)

<b>Dob</b>	<b>Patološki PAPA</b>	<b>Uredan PAPA</b>	<b>Ukupno</b>
<b>≤29 godina</b>	14 (4,6%)	290 (95,4%)	304 (100%)
<b>≥30 godina</b>	26 (3,5%)	720 (96,5%)	743 (100%)
<b>Ukupno</b>	40 (3,8%)	1010 (96,2%)	1050 (100%)

$\chi^2 = 0,7394$ ,  $p = 0,389$

Od ukupnog broja ispitanica 1050, njih 107 (10,2%) imalo je dokazanu infekciju HPV-om, dok su ostale 943 (89,8%) bile negativne na HPV (Slika 2).



**Slika 2.** Raspodjela ispitanica prema rezultatu HPV testa (N = 1050)

U ovom istraživanju utvrđeno je da žene mlađe od 29 godina statistički značajno češće imaju infekciju HPV-om. Od 304 ispitanice u dobi od 29 godina i mlađe, njih 59 (19,4%) imalo je HPV infekciju, dok je od 746 ispitanica u dobi od 30 i više godina njih samo 48 (6,4%) imalo infekciju HPV-om (Tablica 4), što je predstavljalo statistički značajnu razliku ( $p < 0,001$ ).

**Tablica 4.** Učestalost HPV infekcije s obzirom na dob ispitanica (N = 1050)

Dob	HPV		Ukupno
	negativno	pozitivno	
≤29 godina	245 (80,6%)	59 (19,4%)	304 (100%)
≥30 godina	698 (93,6%)	48 (6,4%)	746 (100%)
<b>Ukupno</b>	943 (89,8%)	107 (10,2%)	1050 (100%)

$\chi^2 = 39,7215$ ,  $p < 0,001$

Statistički značajna ovisnost utvrđena je između pozitivnog nalaza urogenitalnih mikoplazmi i HPV-a. Prema podacima u Tablici 5 može se vidjeti da je među ispitanicama koje imaju pozitivan cervikalni bris na urogenitalne mikoplazme, značajno veći udio onih s pozitivnim HPV nalazom (njih 61/317, odnosno 19,2%) u odnosu na one s negativnom mikoplazmom, kod kojih je udio onih s pozitivnim HPV nalazom manji (46/733) i iznosi 6,3%, što čini statistički značajnu razliku ( $p < 0,001$ ).

**Tablica 5.** Raspodjela ispitanica s obzirom na povezanost pozitivnog nalaza na urogenitalne mikoplazme (*Mycoplasma hominis* i/ili *Ureaplasma urealyticum*) i pozitivnog nalaza HPV-a

<i>Mycoplasma hominis</i> i/ili <i>Ureaplasma urealyticum</i>	HPV		Ukupno
	negativno	pozitivno	
<b>negativno</b>	687 (93,7%)	46 (6,3%)	733 (100%)
<b>pozitivno</b>	256 (80,8%)	61(19,2%)	317 (100%)
<b>Ukupno</b>	943 (89,8%)	107 (10,2%)	1050 (100%)

$\chi^2 = 40,6591$ ,  $p < 0,001$

Među ispitanicama koje imaju pozitivan cervikalni bris na bakteriju *Chlamydia trachomatis* utvrđen je značajno veći udio onih s pozitivnim HPV nalazom (njih 7/21, odnosno 33,3%), u odnosu na *C. trachomatis* negativne u kojih je taj udio bio statistički značajno manji (100/1029) i iznosi 9,7% ( $p < 0,001$ ) (Tablica 6).

**Tablica 6.** Raspodjela ispitanica s obzirom na povezanost pozitivnog nalaza bakterije *Chlamydia trachomatis* i pozitivnog nalaza HPV-a

<i>Chlamydia trachomatis</i>	HPV		Ukupno
	negativno	pozitivno	
<b>negativno</b>	929 (90,3%)	100 (9,7%)	1029 (100%)
<b>pozitivno</b>	14 (66,7%)	7 (33,3%)	21 (100%)
<b>Ukupno</b>	943 (89,8%)	107 (10,2%)	1050 (100%)

$\chi^2 = 12,5404$ ,  $p < 0,001$

Prema rezultatima u Tablici 7, utvrđeno je da je među ispitanicama kod kojih je utvrđen u obrisku cerviksa porast aerobnih bakterija u čistoj kulturi ili u prevladavajućem broju u njih 23 od 181 (12,7%) istodobno potvrđen i HPV, dok je je HPV pronađen u 84 od 869 žena (9,7%) s fiziološkom florom. Nije utvrđena statistički značajna povezanost između izolacije aerobnih bakterija i pozitivnog rezultata HPV testa ( $p = 0,218$ ).

**Tablica 7.** Raspodjela ispitanica s obzirom na povezanost pozitivnog nalaza bakteriološki aerobno i pozitivnog nalaza HPV-a (N = 1050)

Aerobne bakterije	HPV		Ukupno
	negativno	pozitivno	
<b>negativno</b>	785 (90,3%)	84 (9,7%)	869 (100%)
<b>pozitivno</b>	158 (87,3%)	23 (12,7%)	181 (100%)
<b>Ukupno</b>	943 (89,8%)	107 (10,2%)	1050 (100%)

$\chi^2 = 1,5135$ ,  $p = 0,218$

Od bakterija kultivacijski je najčešće izolirana *Gardnerella vaginalis* (GV), u 90 od 1050 ispitanica (8,6%). Prema rezultatima u Tablici 8, može se zaključiti da postoji statistički značajna ovisnost između nalaza bakterije *G. vaginalis* i HPV-a, odnosno među GV pozitivnim ispitanicama značajno je veći udio onih s pozitivnim HPV nalazom (njih 17/90, odnosno 18,9%). Među onima kojima je cervikalni bris na GV negativan, udio onih s pozitivnim HPV nalazom je manji (90/960) i iznosi 9,4%. To predstavlja statistički značajnu razliku ( $p=0,004$ ).

**Tablica 8.** Raspodjela ispitanica s obzirom na povezanost pozitivnog nalaza bakterije *Gardnerella vaginalis* i pozitivnog nalaza HPV-a (N = 1050)

<i>Gardnerella vaginalis</i>	HPV		Ukupno
	negativno	pozitivno	
<b>negativno</b>	870 (90,6%)	90 (9,4%)	960 (100%)
<b>pozitivno</b>	73 (81,1%)	17 (18,9%)	90 (100%)
<b>Ukupno</b>	943 (89,8%)	107 (10,2%)	1050 (100%)

$$\chi^2 = 8,1381, p = 0,004$$

Prema rezultatima u Tablici 9, može se zaključiti da postoji statistički značajna ovisnost između HPV nalaza i patološkog nalaza PAPA testa (CIN 1 ili CIN 2). Među ispitanicama koje imaju pozitivan HPV nalaz, značajno je veći udio onih koji imaju patološki PAPA nalaz, njih 16 od 107 HPV pozitivnih (15%), u odnosu na one koji imaju negativan HPV nalaz kod kojih je udio onih koje imaju patološki PAPA nalaz značajno manji, 24 od 943, i iznosi 2,6%. To predstavlja statistički značajnu razliku ( $p < 0.001$ ).

**Tablica 9.** Raspodjela ispitanica s obzirom na povezanost pozitivnog nalaza HPV-a i pozitivnog nalaza citološkog testa (N = 1050)

HPV test	PAPA test		Ukupno
	uredan	patološki	
<b>negativno</b>	919 (97,5%)	24 (2,5%)	943 (100%)
<b>pozitivno</b>	91 (85,00%)	16 (15,00%)	107 (100%)
<b>Ukupno</b>	1010 (96,2%)	40 (3,8%)	1050 (100%)

$\chi^2 = 40,3758$ ,  $p < 0,001$



U ovom radu je utvrđeno da je među onima koji imaju patološki nalaz PAPA testa, značajno veći udio onih s istodobno pozitivnim HPV-om (njih 16/40, odnosno 40%). Među onima koje su imale uredan citološki nalaz, udio onih s pozitivnim HPV nalazom je manji (91/1010) i iznosi 9%. To predstavlja statistički značajnu razliku ( $p < 0,001$ ) (Tablica 10).

**Tablica 10.** Učestalost HPV infekcije s obzirom na rezultat PAPA testa (N = 1050)

PAPA test	HPV test		Ukupno
	negativan	pozitivan	
uredan	919 (91,00%)	91 (9,00%)	1010 (100%)
patološki	24 (60,00%)	16 (40,00%)	40 (100%)
<b>Ukupno</b>	943 (89,8%)	107 (10,2%)	1050 (100%)

$\chi^2 = 40,199$ ,  $p < 0,001$

U Tablici 11 prikazana je učestalost pojedinih genotipova HPV-a u populaciji žena Splitsko-dalmatinske županije na uzorku od 1050 asimptomatskih žena koje su pristupile na redovni ginekološki pregled.

Od ukupnog broja ispitanica (N = 1050), HPV-16 utvrđen je u 38 (3,6%) žena, HPV-18 u 7 (0,7%) žena, dok su ostali hr-HPV genotipovi utvrđeni u 89 (8,5%) ispitanica.

U ovom istraživanju, od ukupnog broja testiranih 1050, bilo je 107 (10,2%) HPV pozitivnih žena. Učestalost pojedinih genotipova u HPV pozitivnih žena (N = 107) bila je redom: HPV-16 u 38 (35,5%) žena, HPV-18 u 7 (6,5%) žena, dok su ostali hr-HPV genotipovi utvrđeni u 89 (83%) ispitanica.

Multiple infekcije zabilježene su u 27 ispitanica, što je bilo 25% od ukupnog broja od 107 HPV pozitivnih žena, odnosno 2,6% od ukupnog broja od 1050 ispitanica.

**Tablica 11.** Učestalost hr-HPV genotipova u populaciji žena Splitsko-dalmatinske županije (N = 1050) i raspodjela genotipova u hr-HPV pozitivnih žena (N = 107)

<b>Raspodjela HR HPV genotipova</b>			
	<b>Pozitivni</b>	<b>Cijela populacija ispitanica</b> N = 1050	<b>HPV pozitivne žene</b> N = 107
<b>HPV genotip</b>	N = 134**	Udio genotipa	Udio genotipa
<b>16</b>	38	3,6%	35,5%
<b>18</b>	7	0,7%	6,5%
<b>Ostali HR tipovi*</b>	89	8,5%	83,0%

\*Ostali HR HPV tipovi: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68

\*\*Multiple infekcije su zabilježene u 27 ispitanica

## **5. RASPRAVA**

U ovom istraživanju od 1050 asimptomatskih ispitanica u njih 107 (10,2%) dokazan je HPV. Ovakvi rezultati sukladni su podacima iz literature prema kojima je prevalencija infekcije HPV-om u svijetu kod žena bez cervikalnih poremećaja 11-12% (76). Također su sukladni i s rezultatima autora iz Grčke koji su utvrdili da je prevalencija HPV-a u općoj populaciji žena 12,7%, a od njih je 2,7% imalo HPV-16, dok je njih 1,4% imalo HPV-18 (69). U našem istraživanju HPV-16 je dokazan u 38 ispitanica (u 3,6% od ukupnog broja ispitanica), HPV-18 u samo 7 (0,7%), dok su ostali hr HPV genotipovi dokazani u njih 89 (8,5%) od ukupnog broja ispitanica na redovnom ginekološkom pregledu. Prema autorima iz Grčke, primarni probir na HPV uz istovremenu detekciju HPV-16 i -18 ima istu točnost kao citologija za otkrivanje HSIL-a i selekciju žena za daljnju kolposkopiju (69), a ovakvo razmišljanje sukladno je preporukama ATENA studije za primarni probir na rak vrata maternice HPV testom (72).

U našem istraživanju, od ukupnog broja 1050 asimptomatskih žena na redovitom sistematskom pregledu, njih 40 (3,8%) je imalo patološki PAPA rezultat (uključivo CIN 1 i CIN 2). U studiji Agorastosa i suradnika, HSIL je utvrđen u 1,07% ispitanica iz opće populacije žena (69). U našoj studiji utvrđeno je da je među onima koji imaju patološki nalaz PAPA testa, značajno veći udio onih s istodobno pozitivnim HPV-om (njih 16/40, odnosno 40%). Među onima koje su imale uredan citološki nalaz, udio onih s pozitivnim HPV nalazom je manji (91/1010) i iznosi 9%, što je predstavljalo statistički značajnu razliku ( $p < 0,001$ ).

Novija istraživanja ukazuju da vaginalna mikrobiota, odnosno bakterijska infekcija, utječe na stvaranje uvjeta koji pogoduju hr-HPV infekciji i cervikalnoj karcinogenezi (77). Od mikroorganizama u obriscima cerviksa ispitanica u ovom istraživanju najčešće su bile izolirane urogenitalne mikoplazme *Mycoplasma hominis* i/ili *Ureaplasma urealyticum*, u 317 od 1050 žena (30,2%). Iako je većina ispitanica u redovnom sistematskom pregledu imala negativan test na klamidiju, njih 1029 (98%), ipak je u 21 (2%) asimptomatske ispitanice dokazana patogena bakterija *Chlamydia trachomatis*. HPV je dokazan u obriscima cerviksa 107 (10,2%) žena u ovom istraživanju. U 181 (17,2%) ispitanice izolirana je neka druga aerobna bakterija u prevladavajućem broju ili čistoj kulturi (*Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*...), a najčešće je to bila *Gardnerella vaginalis* u 90 od ukupno 1050 ispitanica (8,6%).

Premda neki autori ukazuju da ne postoji značajna povezanost između prisutnosti bakterija *Mycoplasma hominis* i/ili *Ureaplasma urealyticum* i HPV infekcije (77), u našem istraživanju je utvrđeno da postoji statistički značajna ovisnost između pozitivnog nalaza urogenitalnih mikoplazmi i HPV-a. Prema dobivenim rezultatima vidi se da je među onima koji

imaju pozitivan cervikalni bris na urogenitalne mikoplazme, značajno veći udio onih s pozitivnim HPV nalazom (njih 61/317, odnosno 19,2%). Među onima kojima je cervikalni bris na mikoplazme negativan, udio onih s pozitivnim HPV nalazom je manji (46/733) i iznosi 6,3%, što čini statistički značajnu razliku ( $p < 0,001$ ). Naši rezultati su sukladni rezultatima Biernat-Sudolska i suradnika koji su također pronašli značajnu povezanost HPV infekcije i *Mycoplasma/Ureaplasma* infekcije (78).

Studija provedena u Brazilu ukazuje da je *Chlamydia trachomatis* važan patogen povezani s hr-HPV-om zbog povećanog rizika za sve stupnjeve cervikalnih abnormalnosti, ali uglavnom za HSIL, što sugerira moguće sinergističko djelovanje s HPV-om u napredovanju lezija vrata maternice (23). U ovom istraživanju utvrdili smo statistički značajnu ovisnost između nalaza bakterije *C. trachomatis* i HPV-a. Utvrđeno je da je među onima koji imaju pozitivan cervikalni bris na bakteriju *C. trachomatis* značajno veći udio onih s pozitivnim HPV nalazom (njih 7/21, odnosno 33,3%). Među onima kojima je cervikalni bris na bakteriju *C. trachomatis* negativan, udio onih s pozitivnim HPV nalazom je statistički značajno manji (100/1029) i iznosi 9,7% ( $p < 0,001$ ).

Vaginalna mikrobiota igra značajnu ulogu u zdravlju i bolesti ženskog reproduktivnog sustava. Istraživači su primijetili da se bakterijska vaginoza (BV), uključujući bakteriju *Gardnerella vaginalis*, povezuje s većom učestalošću HPV infekcije i s razvojem CIN-a (26-29). U ovom istraživanju utvrdili smo da postoji statistički značajna ovisnost između nalaza bakterije *Gardnerella vaginalis* (GV) i HPV-a. Prema dobivenim rezultatima se može vidjeti da je među onima koji imaju pozitivan cervikalni bris na GV, značajno veći udio onih s pozitivnim HPV nalazom (njih 17/90, odnosno 18,9%). Među onima kojima je cervikalni bris na GV negativan, udio onih s pozitivnim HPV nalazom je manji (90/960) i iznosi 9,4%. To predstavlja statistički značajnu razliku ( $p = 0,004$ ).

Rezultati ovog istraživanja o prevalenciji HPV-a i raspodjeli HPV genotipova u općoj populaciji žena južne Hrvatske, mogli bi biti korisni za bolju organizaciju probira na rak vrata maternice koji bi se temeljio na HPV testu kao primarnom testu probira kao i cijepljenja protiv HPV-a u ovom području.

Međutim, limitacija ove studije je što je istraživanje završeno prije nego što je cijepljenje protiv HPV-a ušlo u široku primjenu na području Splitsko-dalmatinske županije, što će sigurno utjecati na raspodjelu genotipova. Iz studije su bile isključene trudnice, žene koje su bolovale od težih bolesti i one koje su bile u postupku liječenja od ginekoloških bolesti. Nedostatak studije je što se nije detaljnije ispitala povijest bolesti ispitanica, u prvom redu značajan bi bio podatak o šećernoj bolesti jer se zna da su takvi pacijenti skloniji infekcijama. Također,

primjena ankete za prikupljanje osobnih podataka ispitanica (dob, broj poroda, broj partnera u posljednjih 6 mjeseci, korištenje kontracepcije...) uvijek nosi mogućnost dobivanja netočnih podataka.

## **6. ZAKLJUČCI**

1. U ovom istraživanju obuhvaćeno je 1050 asimptomatskih ispitanica Splitsko-dalmatinske županije koje su pristupile redovnom ginekološkom pregledu, u njih 107 (10,2%) dokazan je HPV u obriscima vrata maternice.
2. HPV-16 je dokazan u 38 ispitanica (u 3,6% od ukupnog broja ispitanica), HPV-18 u samo 7 (0,7%), dok su ostali hr HPV genotipovi dokazani u njih 89 (8,5%) od ukupnog broja ispitanica u općoj populaciji žena SDŽ.
3. Od mikroorganizama u obriscima cerviksa ispitanica u ovom istraživanju najčešće su bile izolirane urogenitalne mikoplazme *Mycoplasma hominis* i/ili *Ureaplasma urealyticum*, u 317 od 1050 žena (30,2%).
4. Među ispitanicama koje su imale pozitivan cervikalni bris na urogenitalne mikoplazme, *Chlamydia trachomatis* i *Gardnerella vaginalis* statistički je značajno veći udio onih s pozitivnim HPV nalazom.
5. Od ukupnog broja 1050 asimptomatskih žena na redovitom sistematskom pregledu, njih 40 (3,8%) je imalo patološki PAPA rezultat..
6. Utvrđeno je da je među onima koji imaju patološki nalaz PAPA testa, značajno veći udio onih s istodobno pozitivnim HPV-om (njih 16/40, odnosno 40%).



## **7. LITERATURA**

1. Bzhalava D, Eklund C, Dillner J. International standardization and classification of human papillomavirus types. *Virology*. 2015;476:341-4.
2. Bravo IG, Félez-Sánchez M. Papillomaviruses: Viral evolution, cancer and evolutionary medicine. *Evol Med Public Health*. 2015;2015:32-51.
3. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zurHausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004;324:17-27.
4. Stanley MA, Pett MR, Coleman N. HPV: from infection to cancer. *Biochem Soc Trans*. 2007;35:1456-60.
5. Stanley M. HPV-immune response to infection and vaccination. *Infect Agent Cancer*. 2010;5:19.
6. Berumen J, Ordoñez RM, Lazcano E, Salmerón J, Galván SC, Estrada RA, i sur. Asian-American variants of human papillomavirus 16 and risk for cervical cancer: a case-control study. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93:1325-30.
7. Chen AA, Gheit T, Franceschi S, Tommasino M, Clifford GM. IARC HPV Variant Study Group: Human Papillomavirus 18 Genetic Variation and Cervical Cancer Risk Worldwide. *J Virol*. 2015;89:10680-7.
8. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *ClinSci (Lond)*. 2006;110:525-41.
9. Munger K, Werness BA, Dyson N, Phelps WC, Harlow E, Howley PM. Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product. *EMBO J*. 1989;8:4099-105.
10. Senapati R, Senapati NN, Dwibedi B. Molecular mechanisms of HPV mediated neoplastic progression. *Infect Agent Cancer*. 2016;11:59.
11. Vinokurova S, Wentzensen N, Kraus I, Klaes R, Driesch C, Melsheimer P, i sur. Type-Dependent Integration Frequency of Human Papillomavirus Genomes in Cervical Lesions. *Cancer Research*. 2008;68:307-13.
12. Pett M, Coleman N. Integration of high-risk human papillomavirus: a key event in cervical carcinogenesis? *J Pathol*. 2007;212:356-67.
13. Huibregtse JM, Scheffner M, Howley PM. Localization of the E6-AP regions that direct human papillomavirus E6 binding, association with p53, and ubiquitination of associated proteins. *Mol Cell Biol*. 1993;13:4918-27.
14. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell*. 1990;63:1129-36.

15. Gravitt PE. The known unknowns of HPV natural history. *J Clin Invest.* 2012;121:4593-99.
16. Bosch FX, de Sanjosé S. The epidemiology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Dis Markers.* 2007;23:213-27.
17. Glenn WK, Whitaker NJ, Lawson JS. High risk human papillomavirus and Epstein Barr virus in human breast milk. *BMC Res Notes.* 2012;5:477.
18. Michael KM, Waterboer T, Sehr P, Rother A, Reidel U, Boeing H, i sur. Seroprevalence of 34 human papillomavirus types in the German general population. *PLoS Pathog.* 2018;4:e1000091.
19. Kirnbauer R, Hubbert NL, Wheeler CM, Becker TM, Lowy DR, Schiller JT. A virus-like particle enzyme-linked immunosorbent assay detects serum antibodies in a majority of women infected with human papillomavirus type 16. *J Natl Cancer Inst.* 1994;86:494-9.
20. Schiller JT. The Potential Benefits of HPV Vaccination in Previously Infected Women. *EbioMedicine.* 2016;10:5-6.
21. Mitra A, MacIntyre DA, Marchesi JR, Lee YS, Bennett PR, Kyrgiou M. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next? *Microbiome.* 2016;4:58.
22. Imai H, Nakao H, Shinohara H, Watarai M, Matsumoto N, Yamagishi T, i sur. Prevalence, Potential Predictors, and Genotype-Specific Prevalence of Human Papillomavirus Infection among Sexually Active Students in Japan. *PLoS One.* 2015;10:132-62.
23. de Abreu AL, Malaguti N, Souza RP, Uchimura NS, Ferreira EC, Pereira MW, i sur. Association of human papillomavirus, *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* co-infections on the risk of high-grade squamous intraepithelial cervical lesion. *Am J Cancer Res.* 2016;6:1371-83.
24. Gianella S, Ginocchio CC, Daar ES, Dube MP, Morris SR. Genital Epstein Barr Virus is associated with higher prevalence and persistence of anal human papillomavirus in HIV-infected men on antiretroviral therapy. *BMC Infect Dis.* 2016;16:24.
25. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL, i sur. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108:4680-87.
26. Lee JE, Lee S, Lee H, Song YM, Lee K, Han MJ, i sur. Association of the vaginal microbiota with human papillomavirus infection in a Korean twin cohort. *PLoS One.* 2013;8:63514.

27. Brotman RM, Shardell MD, Gajer P, Tracy JK, Zenilman JM, Ravel J, i sur. Interplay between the temporal dynamics of the vaginal microbiota and human papillomavirus detection. *J Infect Dis.* 2014;210:1723-33.
28. Gillet E, Meys JF, Verstraelen H, Bosire C, De Sutter P, Temmerman M, i sur. Bacterial vaginosis is associated with uterine cervical human papillomavirus infection: a meta-analysis. *BMC Infect Dis.* 2011;11:10.
29. Gillet E, Meys JF, Verstraelen H, Verhelst R, De Sutter P, Temmerman M, i sur. Association between bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia: systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2012;7:45201.
30. Shaw E, Ramanakumar AV, El-Zein M, Silva FR, Galan L, Baggio ML, i sur. Ludwig-McGill Cohort Study: Reproductive and genital health and risk of cervical human papillomavirus infection: results from the Ludwig-McGill cohort study. *BMC Infect Dis.* 2016;16:116.
31. Ghazizadeh S, Lessan-Pezeshki M, Nahayati MA. Human papilloma virus infection in female kidney transplant recipients. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2011;22:433-6.
32. Mailath-Pokorny M, Schwameis R, Grimm C, Reinhaller A, Polterauer S. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia in pregnancy: postpartum histo-pathologic outcome and review of the literature. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2016;16:74.
33. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay F, Ward R, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011;61:69-90.
34. Registar za rak. Incidencija raka u Hrvatskoj 2017. Bilten br. 42, Zagreb: Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2020.
35. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos M, Bosch FX, Kummer A, Shah KV, i sur. Human Papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999;189:12-9.
36. Clifford G, Franceschi S, Diaz M, Muñoz N, Villa LL. Chapter 3: HPV type-distribution in women with and without cervical neoplastic diseases. *Vaccine.* 2006;24:26-34.
37. Venezuela RF, Monetti MS, Kiguen AX, Frutos MC, Mosmann JP, Cuffini CG. Knowledge of the General Community in Cordoba, Argentina, on Human Papilloma Virus Infection and its Prevention. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2016;17:2689-94.
38. Ginocchio C, Gravitt P, Smith J. Human Papillomaviruses. In: *Manual of Clinical Microbiology, Eleventh Edition.* Eds: J Jorgensen, M Pfaller, K Carroll, G Funke, M Landry, S Richter, D Warnock. ASM Press, Washington, DC. 2015;1:1783-802.

39. Vandenbroucke L, Robert AL, Lavoué V, Foucher F, Henno S, Levêque J. L'adénocarcinome du col utérin: particularités diagnostiques et thérapeutiques [Adenocarcinoma of the uterine cervix: particularities in diagnosis and treatment]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2013;42:207-16.
40. Goodman A. HPV testing as a screen for cervical cancer. *BMJ*. 2015;350:2372.
41. Gravitt PE, Coutlée F, Iftner T, Sellors JW, Quint WG, Wheeler CM. New technologies in cervical cancer screening. *Vaccine*. 2008;26:42-52.
42. Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, Tsu V, Ronco G, Mayrand MH, et al. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. *Vaccine*. 2008;26:29-41.
43. Denny L, Quinn M, Sankaranarayanan R. Chapter 8: Screening for cervical cancer in developing countries. *Vaccine*. 2006;24:71-7.
44. Nalliah S, Kariklan B, Kademane K. Multifaceted usage of HPV related tests and products in the management of cervical cancer--a review. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16:2145-50.
45. Cuzick J, Bergeron C, Von Knebel Doeberitz M, Gravitt P, Jeronimo J, Lorincz AT, et al. New technologies and procedures for cervical cancer screening. *Vaccine*. 2012;30:107-16.
46. Kitchener HC, Castle PE, Cox JT. Chapter 7: Achievements and limitations of cervical cytology screening. *Vaccine*. 2006;24:63-70.
47. Nayar R, Wilbur DC. The Pap and Bethesda 2014. "The reports of my demise have been greatly exaggerated." (after a quotation from Mark Twain). *Acta Cytol*. 2015;59:121-32.
48. Erickson BK, Alvarez RD, Huh WK. Human papillomavirus: what every provider should know. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;208:169-75.
49. Arbyn M, Sasieni P, Meijer CJ, Clavel C, Koliopoulos G, Dillner J. Chapter 9: clinical applications of HPV testing: a summary of meta-analyses. *Vaccine*. 2006;24:78-89.
50. Ikenberg H. Laboratory Diagnosis of Human Papillomavirus Infection. In: *Human Papillomavirus: Bench to Bedside*. Curr Probl Dermatol. Eds: MK Ramirez-Fort, F Khan, PL Rady, SK Tying. Krager, Basel, Switzerland. 2014;45:166-74.
51. Heinzelmann-Schwarz VA, Kind AB, Jacob M. Management of Human Papillomavirus-Related Gynecological Malignancies. In: *Human Papillomavirus: Bench to Bedside*. Curr Probl Dermatol. Eds: MK Ramirez-Fort, F Khan, PL Rady, SK Tying. Krager, Basel, Switzerland. 2014;45:216-24.

52. Kyrgiou M, Kalliala I, Mitra A, Ng KYB, Raglan O, Fotopoulou C, i sur. Immediate referral to colposcopy versus cytological surveillance for low-grade cervical cytological abnormalities in the absence of HPV test: A systematic review and a meta-analysis of the literature. *Int J Cancer*. 2017;140:216-23.
53. Ryu KJ, Lee S, Min KJ, Kim JW, Hong JH, Song JY, i sur. Reflex Human Papillomavirus Test Results as an Option for the Management of Korean Women With Atypical Squamous Cells Cannot Exclude High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion. *Oncologist*. 2015;20:635-39.
54. Stern PL, van der Burg SH, Hampson IN, Broker TR, Fiander A, Lacey CJ, i sur. Therapy of Human Papillomavirus-Related Disease. *Vaccine*. 2012;30:71-82.
55. Kang WD, Ju UC, Kim SM. A human papillomavirus (HPV)-16 or HPV-18 genotype is a reliable predictor of residual disease in a subsequent hysterectomy following a loop electrosurgical excision procedure for cervical intraepithelial neoplasia 3. *J Gynecol Oncol*. 2016;27:2.
56. Mariani L, Sandri MT, Preti M, Origoni M, Costa S, Cristoforoni P, i sur. HPV-Testing in Follow-up of Patients Treated for CIN2+ Lesions. *J Cancer*. 2016;7:107-14.
57. Onuki M, Matsumoto K, Sakurai M, Ochi H, Minaguchi T, Satoh T, i sur. Posttreatment human papillomavirus testing for residual or recurrent high-grade cervical intraepithelial neoplasia: a pooled analysis. *J Gynecol Oncol*. 2016;27:3.
58. Markowitz LE, Tsu V, Deeks SL, Cubie H, Wang SA, Vicari AS, i sur. Human papillomavirus vaccine introduction - the first five years. *Vaccine*. 2012;30:139-48.
59. Garland SM, Kjaer SK, Muñoz N, Block SL, Brown DR, DiNubile MJ, i sur. Impact and Effectiveness of the Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine: A Systematic Review of 10 Years of Real-world Experience. *Clin Infect Dis*. 2016;63:519-27.
60. Petrosky E, JrBocchini JA, Hariri S, Chesson H, Curtis CR, Saraiya M, i sur. Use of 9-valent human papillomavirus (HPV) vaccine: updated HPV vaccination recommendations of the advisory committee on immunization practices. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2015;64:300-4.

61. Joura EA, Giuliano AR, Iversen OE, Bouchard C, Mao C, Mehlsen J, i sur. A 9-valent HPV vaccine against infection and intraepithelial neoplasia in women. *N Engl J Med*. 2015;372:711-23.
62. Min KJ, Kwon SH, Kim S, Kim HJ, Seong SJ, Song YJ, i sur. Preventive vaccination against cervical cancer: Korean Society of Gynecologic Oncology Guideline. *J Gynecol Oncol*. 2016;27:30.
63. Brotherton JML, Malloy M, Budd AC, Saville M, Drennan KT, Gertig DM. Effectiveness of less than three doses of quadrivalent human papillomavirus vaccine against cervical intraepithelial neoplasia when administered using a standard dose spacing schedule: Observational cohort of young women in Australia. *Papillomavirus Res*. 2015;1:59-73.
64. von Karsa L, Arbyn M, De Vuyst H, Dillner J, Dillner L, Franceschi S, i sur. European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Summary of the supplements on HPV screening and vaccination. *Papillomavirus Res*. 2015;1:22-31.
65. Saraiya M, Unger ER, Thompson TD, Lynch CF, Hernandez BY, Lyu CW, i sur. HPV Typing of Cancers Workgroup: US assessment of HPV types in cancers: implications for current and 9-valent HPV vaccines. *J Natl Cancer Inst*. 2015;107:86.
66. Beavis AL, Levinson KL. Preventing Cervical Cancer in the United States: Barriers and Resolutions for HPV Vaccination. *Front Oncol*. 2016;6:19.
67. Choi YJ, Park JS. Clinical significance of human papillomavirus genotyping. *J Gynecol Oncol*. 2016;27:21.
68. Cuzick J, Mayrand MH, Ronco G, Snijders P, Wardle J. Chapter 10: New dimensions in cervical cancer screening. *Vaccine*. 2006;24:90-7.
69. Agorastos T, Chatzistamatiou K, Katsamagkas T, Koliopoulos G, Daponte A, Constantinidis T, i sur. Primary screening for cervical cancer based on high-risk human papillomavirus (HPV) detection and HPV 16 and HPV 18 genotyping, in comparison to cytology. *PloS One*. 2015;10:119-25.
70. Huh WK, Ault KA, Chelmow D, Davey DD, Goulart RA, Garcia FAR, i sur. Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening: interim clinical guidance. *Gynecol Oncol*. 2015;136:178-82.
71. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, Killackey M, Kulasingam SL, Cain J, i sur. ACS-ASCCP-ASCP Cervical Cancer Guideline Committee: American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for

Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA Cancer J Clin.* 2012;62:147-72.

72. Cox JT, Castle PE, Behrens CM, Sharma A, Wright TC, Cuzick J, Athena HPV Study Group. Comparison of cervical cancer screening strategies incorporating different combinations of cytology, HPV testing, and genotyping for HPV 16/18: results from the ATHENA HPV study. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;208:184.
73. Wright TC, Stoler MH, Behrens CM, Sharma A, Zhang G, Wright TL. Primary cervical cancer screening with human papillomavirus: end of study results from the ATHENA study using HPV as the first-line screening test. *Gynecol Oncol.* 2015;136:189-97.
74. Cuzick J, Wheeler C. Need for expanded HPV genotyping for cervical screening. *Papillomavirus Res.* 2016;2:112-5.
75. Cuzick J. Gardasil 9 joins the fight against cervix cancer. *Expert Rev. Vaccines.* 2015;14:1047-9.
76. Jelastopulu E, Fafliora E, Plota A, Babalis V, Bartsokas C, Poulas K, i sur. Knowledge, behaviours and attitudes regarding HPV infection and its prevention in female students in West Greece. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20:2622-9.
77. Feriyawati L, Anggraini DR, Nasution TA. Co-Infection of Human Papillomavirus with Mycoplasma Hominis/Ureaplasma Urealyticum Among Female Sex Workers in Medan, Indonesia. *Open Access Maced J Med Sci.* 2019;7:3425-8.
78. Biernat-Sudolska M, Szostek S, Rojek-Zakrzewska D, Klimek M, Kosz-Vnenchak M. Concomitant infections with human papillomavirus and various mycoplasma and ureaplasma species in women with abnormal cervical cytology. *Adv Med Sci.* 2011;56:299-303.



## **8. SAŽETAK**

**Pozadina / Ciljevi:** Prema Hrvatskom nacionalnom registru karcinoma i najnovijim podacima za Hrvatsku, u 2017. godini incidencija raka vrata maternice bila je 14,3 / 100 000, a stopa smrtnosti bila je 5,1 / 100 000. O prevalenci i distribuciji HPV tipova u Hrvatskoj se vrlo malo zna. Postoji samo nekoliko studija, temeljenih na rezultatima laboratorijskih ispitivanja povezanih sa uzorcima vrata maternice odabranih žena, koje su njihovi ginekolozi uputili u laboratorij na HPV DNK testiranje, bilo s normalnim ili abnormalnim Papa testom. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi prevalenciju HPV-a i raširenost distribucije HPV genotipova u općoj ženskoj populaciji južne Hrvatske (Splitsko-dalmatinska županija).

**Metode:** Proveli smo prospektivnu studiju o prevalenciji i raspodjeli tipova HPV-a u ambulantnih žena. Podaci su prikupljeni tijekom rutinskih kontrolnih pregleda od strane nepovezane skupine ginekologa na području Županije. Pristranosti su uklonjene jer su ginekolozi poslali uzorke za testiranje na HPV svih onih žena koje su dolazile na redoviti ginekološki pregled u unaprijed određene dane tijekom razdoblja od godinu dana. Žene su bile isključene ako su patile od težih bolesti. hr-HPV otkriven je u eksfoliranim cervikalnim stanicama upotrebom PCR testa u stvarnom vremenu odobrenog od FDA-a (*Cobas 4800 HPV test*) na temelju istodobnog individualnog genotipiziranja za HPV-16 i HPV-18 i skupnog otkrivanja 12 drugih HPV-a.

**Rezultati:** Ukupno je ocijenjeno 1050 žena u dobi od 16 do 74 godine koje su dolazile na rutinske ginekološke preglede. 107 (10,2%) njih je bilo pozitivno na hr-HPV. Od ukupnog broja testiranih žena, 304 (29%) su mlađe od 29 godina, a 746 (71%) starije od 30 godina. hr-HPV infekcija bila je razvijenija kod žena u dobi manjoj od 29 godina (59/304 (19,4%)) u usporedbi s skupinom starijom od 30 godina (48/746 (6,4%)). Među 107 HPV pozitivnih uzoraka, otkrivena je sljedeća raspodjela genotipa: HPV-16 u 35,5%, HPV-18 u 6,5% slučajeva, dok su ostali tipovi HPV-a utvrđeni u 83% pozitivnih uzoraka. U 25% pozitivnih uzoraka pronađeno je više HPV infekcija. U ovom istraživanju otkrili smo značajnu povezanost između HPV infekcije i abnormalne citologije, otkrivanja urogenitalne mikoplazme, bakterije *Gardnerella vaginalis* i bakterije *Chlamydia trachomatis*.

**Zaključci:** Podaci iz ove studije o prevalenciji i distribuciji HPV genotipova u općoj ženskoj populaciji južne Hrvatske mogli bi biti korisni za bolju organizaciju probirnih programa i cijepljenja protiv raka vrata maternice u ovoj regiji i u cijeloj Hrvatskoj.

## **9. SUMMARY**

## **Human Papillomavirus (HPV) Prevalence and Genotypes Distribution in the General Female Population of Split and Dalmatia County**

**Background/Objectives:** According to the Croatian National Cancer Registry and the latest data for Croatia, in 2017 cervical cancer incidence were 14.3/100.000, and mortality rate were 5.1/100.000. Very little is known about prevalence and distribution of HPV types in Croatia. There are only few studies, based on laboratory test results, related to cervical samples of selected women, referred by their gynecologists to laboratory for HPV DNA testing, with either normal or abnormal Pap smear. The aim of this study was to determine the prevalence of HPV and HPV genotypes distribution in the general female population of Southern Croatia (Split and Dalmatia County).

**Methods:** We performed a prospective study about HPV prevalence and type distribution of outpatient women. Data were collected during routine check-up exams by an unaffiliated group of gynecologists across the County. Biases were eliminated because the gynecologists sent samples for HPV testing of all those women who came for regular gynecological examination on specific predetermined days over a period of one year. Women were excluded if they suffered from more severe diseases. hr-HPV was detected in cervical exfoliated cells, by using a real-time FDA approved PCR assay (*Cobas 4800 HPV Test*) based on concurrent individual genotyping for HPV-16 and HPV-18 and pooled detection of 12 other HPVs.

**Results:** A total of 1050 women aged 16-74 years, attending routine gynecological visits, were evaluated. 107 (10.2%) of them were hr-HPV positive. Out of total of number of tested women, 304 (29%) were  $\leq 29$  years old and 746 (71%) were  $\geq 30$  years old. hr-HPV infection was higher in women aged  $\leq 29$  years (59/304 (19.4%)) in compare with group older than 30 years (48/746 (6.4%)). Among 107 HPV positive samples, following genotype distribution was detected: HPV-16 in 35.5%, HPV-18 in 6.5% cases, while the other HPV types were established in 83% of positive samples. Multiple HPV infections were found in 25% of positive specimens. In this study, we found a significant association between HPV infection and the abnormal cytology, detection of urogenital mycoplasma, *Gardnerella vaginalis*, and *Chlamydia trachomatis*.

**Conclusions:** Data from this study on the prevalence and distribution of HPV genotypes in general female population of southern Croatia could be valuable for better organization of HPV-based cervical cancer screening and vaccination programme in this region and in Croatia.

## **10. ŽIVOTOPIS**

**Ime i prezime:** **Petar Kaliterna**

**Adresa:** A.B. Šimića, 21000 Split

**Telefon:** 021 370 855

**Mobile:** 091 753 51 99

**Elektronička pošta:** petar.kaliterna@gmail.com

**Državljanstvo:** hrvatsko

**Datum i mjesto rođenja:** 25. kolovoza 1995. Split, Republika Hrvatska

**Školovanje:** Osnovna škola: OŠ Blatine-Škrape 2002.- 2010.  
Srednja škola: IV. Gimnazija Split 2010.-2014.  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu 2014.-2020.  
U ljeto 2019. stipendija u bolnici „UCONN Health“  
u Connecticutu, USA

**Materinji jezik:** hrvatski

**Strani jezici:** engleski, talijanski

**Tehničke vještine i kompetencije:** poznavanje rada na računalu, MS Office

**Vozačka dozvola:** B kategorija