

MOGUĆNOSTI KOLPOSKOPIJE U PREPOZNAVANJU LATENTNE HPV INFEKCIJE CERVIKSA UTERUSA

THE POSSIBILITIES OF COLPOSCOPY IN RECOGNITION OF THE LATENT CERVICAL HPV INFECTION

Nikola Tuškan, Vesna Kljajo,* Miroslav Furdek,** Emil Tuškan**

Izvorni članak

Ključne riječi: cerviks uterusa, latentna HPV infekcija, kolposkopija

SAŽETAK. Cilj rada. Pojam latentne HPV infekcije označava prisustvo viralnog genoma u morfološki normalnim stanicama. Zbog toga latentnu HPV infekciju se ne može dijagnosticirati citološkom ni patohistološkom analizom već samo testovima HPV DNA tipizacije. Naša je namjera bila usmjerena na istraživanje mogućnosti kolposkopije u prepoznavanju latentne HPV infekcije cerviksa uterusa. **Metode istraživanja.** U probiru bolesnica za test DNA hibridizacije istraživane su dvije skupine ispitanica. Prvu skupinu činilo je 65 bolesnica ranije liječenih kombiniranom terapijom zbog subkliničke HPV infekcije. Tri mjeseca po završenoj terapiji učinjeni su kontrolni citološki i kolposkopski pregledi. U drugoj skupini bile su 52 ispitanice u kojih je citološkom analizom nađena cervikalna intraepitelna neoplazija (CIN) različitih stupnjeva bez koilocitoze. U svih ispitanica prve i druge skupine učinjeni su testovi HPV DNA hibridizacije i kolposkopija. **Rezultati.** Od 65 ispitanica prve skupine u njih 38 (58,46%) testovi hibridizacije bili su pozitivni. U drugoj skupini od 52 ispitanice testovi hibridizacije bili su pozitivni u njih 34 (65,38%). Kolposkopskim pregledom ispitanica obje skupine s pozitivnim testom hibridizacije u 70,83% njih nađen je mikrokapilarni crtež s nejednako proširenim interkapilarnim prostorima i oskudnim crtežom s nejednako proširenim interkapilarnim prostorima i oskudnim crtežom sitnih krvnih žila. **Zaključak.** Kolposkopski znaci koji upućuju na moguću latentnu HPV infekciju su mikrokapilarni crtež, nejednako široki interkapilarni prostori i oskudne sitnokalibrirane krvne žile. Kolposkopija može biti korisna u prepoznavanju vjerojatne latentne HPV infekcije cerviksa uterusa.

Original paper

Key words: uterine cervix, latent HPV infection, colposcopy

SUMMARY. Objective. The concept of latent HPV infection implies the presence of viral genome within morphologically normal cells. Therefore the latent HPV infection couldn't be diagnosed by either cytologic or histologic examinations but by DNA hybridization. Our intention was to examine the possibilities of colposcopy in recognition of the latent cervical HPV infection. **Methods.** There were two groups of examinees selected for testing with DNA hybridization. In the first there were 65 women recently treated with combined therapy because of subclinic HPV infection. The cytologic and colposcopic examinations were performed 3 months after therapy completed. In the second group there are 52 examinees with cytologic signs of CIN without koilocytosis. Hybridization tests and colposcopy were performed in all examinees. **Results.** Hybridization tests were positive in 38 patients (58,46%) of the first group and in 34 (65,38%) of those of the second group. Colposcopic findings in both groups of examinees with positive hybridization tests showed microcapillary contours, irregular widths of the intercapillar spaces with poor fine-caliber vessels in 70,83% of them. **Conclusions.** A common colposcopic signs in patients with latent HPV infection of the uterine cervix are the findings of the microcapillary contours, irregular widths of the intercapillar spaces and fine-caliber vessels, poorly formed patterns. Colposcopy could be used for presumptive recognition of latent HPV infection of the uterine cervix.

Papilomavirusi su sitni DNA virusi koji pripadaju porodici Papovaviridae. Nemaju vlastite ovojnice a obavijeni su kapsidom koja se sastoji od najmanje dva strukturna proteina: glavni protein kapside ima molekularnu masu do 55.000 daltona i čini 80% virusnih proteina, a drugi protein kapside veličine je 70.000 daltona.¹ Virus je otporan na visoke i niske temperature te na dehidraciju pa može biti kontagiozan i bez seksualnog kontakta, kao primjerice preko kirurških rukavica, dijagnostičkih instrumenata, kriokautera i općenito indirektnim kontaktom.^{2,3} Klinička i subklinička infekcija u neliječenih bolesnica izvor su zaraze koja se može prenijeti na seksualnog partnera, na novorođenčce tijekom poroda, a za bolesnice predstavlja rizik od karcinoma.⁴ Nakon provedene terapije mogu se povući fenotipske promjene u keratinocitima, ali latentna infekcija može i dalje perzistirati.

Epidemiološka istraživanja u USA provedena 1987. godine pokazala su da je HPV infekcija najučestalija spol-

no prenosiva bolest. U 2% seksualno aktivne populacije žena nađen je klinički oblik infekcije, u 4% njih subklinički, a u 10% latentna infekcija.⁵ Ulazno mjesto infekcije najčešće je na mikrotraumu osjetljiva regija, primjerice pri spolnom kontaktu introitus vagine, perinealna sluznica i cerviks uterusa. Utvrđeno je, također, da su najprije inficirane stanice bazalnog sloja.⁶

Nakon infekcije virusna DNA postaje samostalni replirajući ekstrakromosomalni plasmid, episom, u jezgri epitelnih stanica bazalnog sloja. Virusna infekcija može ostati latentna u bazalnim stanicama bez fenotipskih promjena u stanicama drugih slojeva. Aktivna infekcija, međutim, rezultira morfološkom ekspresijom rane i kasne genske funkcije HPV-a u diferencijaciji stanica pločastog epitela. Rane genske funkcije se histološki manifestiraju akantozom (zadebljanje stratum spinosum), a kasna ekspresijom virusnih polipeptida u terminalno diferenciranim keratocitima superficijalnog sloja, u kojima nastaju

degenerativne promjene u citoplazmi (vakuolizacija) i u jezgri (anizokarioza i binukleacija). Te su stanice prepoznatljive kao koilociti. Sinteza proteina virusne kapside i nakupljanje virusa nastaju u odabranim koilocitima. Razlozi zbog kojih dolazi do nakupljanja virusa samo u nekim koilocitima nije poznat.⁷

Svi papilomavirusi imaju jednaku genetičku organizaciju: identificirano je osam do devet šifriranih regija (okvira čitanja), a dijele se u rane (E) i kasne (L). E1 je povezan s DNA replikacijom, E2 je važan modulator virusne transkripcije, a E5 i E6 imaju značajnu ulogu u određivanju stupnja onkogenog rizika papiloma virusa. L1 i L2 šifriraju velike i male proteine kapside koji sudjeluju u kontroli progresije staničnog ciklusa iz G1 u S fazu.⁸ Stanice s normalnim p53 genomom sposobne su odgoditi S fazu nakon oštećenja DNA, a one s promijenjenim p53 genomom mogu ući u S fazu i prije obnove oštećenog DNA.⁹

Promijenjeni p53 genom može sudjelovati u patogenezi cervikalnog karcinoma. Naime, karcinomske stanice često pokazuju abnormalnosti 17. kromosoma u kojem je lociran p53 genom.¹⁰ Onkogeni papiloma virusi tipa 16, 18, 31, 33 i 39 šifriraju dva transformirajuća gena: E6 i E7 proteine, od kojih E6 uzrokuje naglo raspadanje p53 genoma i tako omogućuje progresiju staničnog ciklusa iz G u S fazu.¹¹

Latentnu fazu infekcije nije moguće dijagnosticirati citološkom i histološkom analizom već samo testovima HPV DNA tipizacije. Na uzorku žena koje su imale seksualni kontakt s po povratku iz korejskog rata inficiranim partnerima utvrđeno je da latentna faza infekcije traje od 6 tjedana do 8 mjeseci,¹² vjerojatno ovisno o stupnju onkogenog rizika HPV-a.

Ispitanice i metode

Cilj naših istraživanja bio je usmjeren na prosudbu dosega vrijednosti kolposkopije u detekciji latentne HPV infekcije na cerviksu uterusa.

U razdoblju od 1995.–2002. godine analizirane su dvije skupine ispitanica. U prvoj je bilo 65 žena s urednim citološkim nalazom nakon kombiniranog liječenja cervikalne intraepitelne neoplazije združene s HPV infekcijom. Najmlađa ispitanica prve skupine imala je 21 godinu a najstarija 44 godine. Srednja dob bila je 28,63 godine. U drugoj skupini bile su 52 ispitanice s citološkim nalazom cervikalne intraepitelne neoplazije bez koilocitoze. U toj je skupini najmlađa ispitanica imala 17 godina, a najstarija 29. Srednja životna dob ispitanica druge skupine bila je 22,46 godina.

U obje skupine ispitanica provedene su citološke analize rađene po jedinstvenoj klasifikaciji citoloških nalaza vrata maternice u Hrvatskoj,¹³ videokolposkopske analize i testovi DNA hibridizacije.

Primjenjivana je suvremena međunarodna klasifikacija kolposkopije koja opisuje normalne i abnormalne kolposkopske slike, jačeg ili slabijeg intenziteta, u ili izvan skvamokolumnarne granice, te nezadovoljavajuće nalaze, mješovite nalaze i kolposkopski suspektan inva-

zivni karcinom. Acetobijeljenju je pridana posebna važnost, kao slici gotovo patognomoničnoj za HPV infekciju vrata maternice; opisuju se slike u razini iznad razine te »satelitske lezije«. Ta je klasifikacija postupnik za procjenu stupnja lezije, a temeljena je na morfološkim promjenama koje reflektiraju događanja u dubljim slojevima pločastog epitela ektocerviksa i cilindričnog epitela endocerviksa.¹⁴

Videokolposkopija pruža veću mogućnost analize opaženih promjena na ekranu s povećanjem od 20 do 30 puta. Snimke se pohranjuju u memoriji pa se mogu kontinuirano pratiti usporedni nalazi. Kriteriji za videokolposkopsku prosudbu stupnja lezije temeljeni su na prisustvu acetobijelog epitela, na crtežu krvnih žila i strukturi papila.¹⁵

Rezultati

Od 65 ispitanica prve skupine, s urednim citološkim nalazima učinjenim 3 mjeseca nakon završene kombinirane terapije cervikalne intraepitelne neoplazije združene s HPV infekcijom, u njih 38 (58,46%) test hibridizacije je bio pozitivan. Drugu skupinu činile su 52 ispitanice s cervikalnom intraepitelnom neoplazijom bez koilocitoze u citološkom nalazu. U njih 34 (65,38%) je test hibridizacije bio pozitivan (*tablica 1.*).

U 27 (71,05%) ispitanica prve skupine dijagnosticiran je HPV visoka stupnja onkogenog rizika, a u njih 11 (28,95%) niska rizika. U drugoj skupini od 34 ispitanice u njih 22 (64,70%) testovima hibridizacije nađen je HPV visoka stupnja onkogenog rizika, a u 12 ispitanica (35,30%) niska rizika. Od ukupno 72 ispitanice s DNA pozitivnim nalazom u njih 49 (68,05%) bio je HPV visoka onkogenog rizika, a u 23 (31,95%) niska rizika (*tablica 2.*).

Statističkom provjerom na razini 5% značajnosti nije nađena razlika u učestalosti HPV subtipa visokog onkogenog rizika između prve i druge skupine ispitanica ($\chi^2=10,84$; d.f.=3; $p>7,815$).

Ispitanice obje skupine bile su kolposkopirane. U prvoj skupini selektirano je 38 DNA pozitivnih ispitanica. U njih 23 (60,53%) kolposkopski su nađeni mikrokapilarni crtež, nejednako široki interkapilarni prostori te oskudne tanke krvne žile horizontalnih smjerova (*slika 1. i 2.*).

Uredan kolposkopski nalaz bio je u 15 (39,47%) ispitanica prve skupine te u 6 njih (17,65%) druge skupine. U 23 ispitanice (60,53%) prve skupine te u 28 (82,35%) ispitanica druge skupine kolposkopski je nađen mikrokapilarni crtež s nejednako širokim interkapilarnim prostorima. Od ukupno 72 ispitanice (obje skupine) s pozitivnim testovima hibridizacije u njih 51 (70,83%) nađen je abnormalan kolposkopski nalaz dok je u 21 (29,17%) nalaz bio uredan (*tablica 3.*).

Statističkom provjerom na razini od 5% značajnosti razlika u učestalosti abnormalnih kolposkopskih nalaza između ispitanica s visokim i niskim onkogenim rizikom kreće se na granici statističke značajnosti ($\chi^2=8,64$; d.f.=3; $p=0,05$).

Tablica 1. Rezultati probira primjenom HPV DNK testa hibridizacije
Table 1. Results of the screening by HPV DNA hybridization test

Skupina ispitanica Group of examinees	N	HPV DNA +		HPV DNA –	
		N	%	N	%
I	65	38	58,46	27	41,54
II	52	34	65,38	18	34,62
Ukupno Total	117	72	61,54	45	38,46

I. skupina: ispitanice s urednim citološkim nalazom nakon liječenja CIN-a združenog s HPV infekcijom. II. skupina: ispitanice s citološkim nalazom CIN bez koilocitoze.

I group: the examinees with normal cytologic findings after the therapy of CIN associated with HPV infection. II group: the examinees with cytologic signs of cervical intraepithelial neoplasia without koilocytosis.

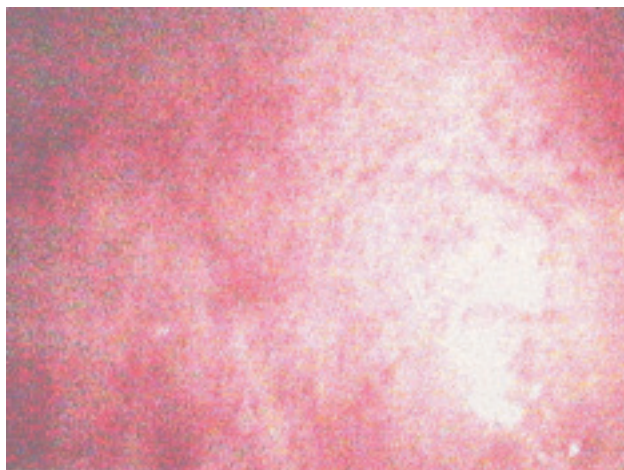
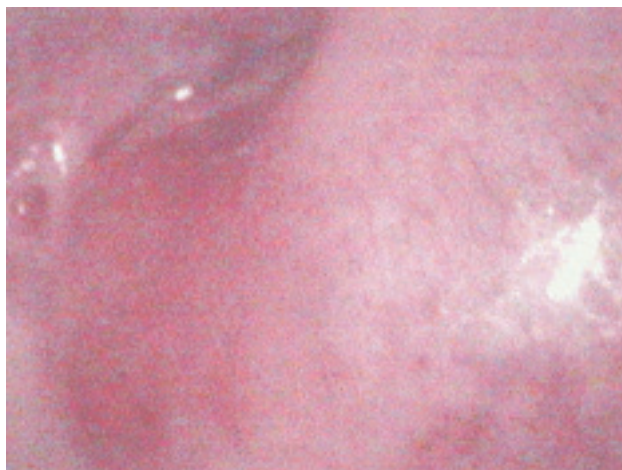
Od ukupno 49 ispitanica s pozitivnim nalazom papiloma virusa iz skupine visoka onkogenog rizika u njih 36 (73,47%) kolposkopski je bio vidljiv mikrokapilarni crtež s nejednako širokim interkapilarnim prostorima. U 13 ispitanica (26,53%) s pozitivnim nalazom HPV-a iz skupine visokog onkogenog rizika kolposkopski je nalaz

Tablica 2. Stupanj onkogenog rizika u 72 HPV-DNA pozitivnih ispitanica
Table 2. The degree of oncogenic risk in 72 HPV-DNA positive examinees

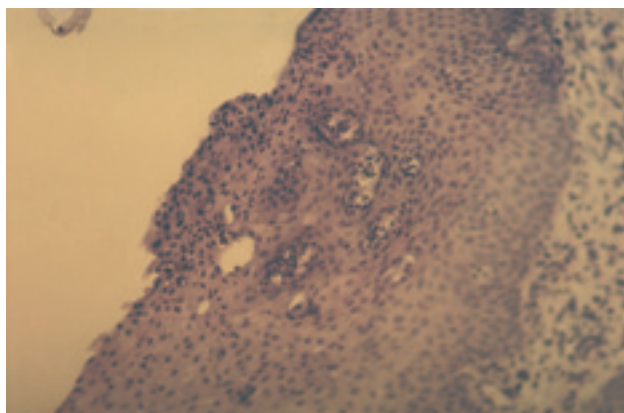
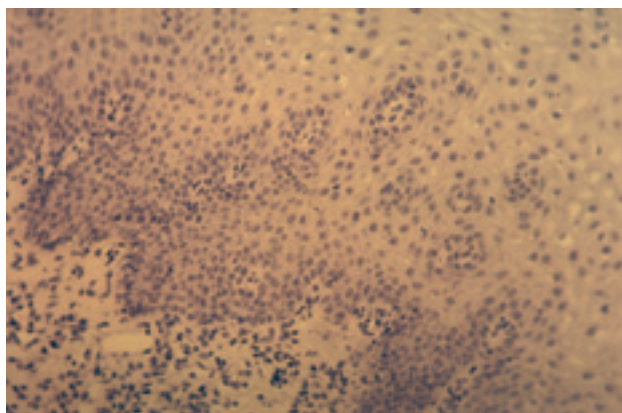
Skupina ispitanica Group of examinees	HPV DNA + Ukupno Total	Visoki rizik High risk		Niski rizik Low risk	
		N	%	N	%
I	38	27	71,05	11	28,95
II	34	22	64,70	12	35,30
Ukupno Total	72	49	68,05	23	31,95

bio uredan. U 23 ispitanice s pozitivnim nalazom HPV-a tipa niskog onkogenog rizika u njih 15 (65,22%) kolposkopski je bio vidljiv mikrokapilarni crtež s nejednako širokim interkapilarnim prostorima, a u 8 njih (34,78%) nalaz je bio uredan (tablica 4.).

Statističkom provjerom na razini od 5% značajnosti razlika u učestalosti abnormalnih kolposkopskih nalaza između ispitanica s visokim i niskim onkogenim rizikom na samoj je granici statističke značajnosti ($\chi^2=8,52$; d.f.=3; $p=0,05$).



Slike 1. i 2. Mikrokapilarni crtež s nejednako širokim interkapilarnim prostorima i jedva naznačenim tankim krvnim žilama
Figures 1. and 2. The microcapillar contours with irregular widths of the intercapillary spaces and fine-caliber vessels poorly formed patterns



Slike 3. i 4. Hiperplazija bazalnih stanica sa celularnom infiltracijom interkapilarnih prostora (Hematoxylin-eosin. Povećanje $\times 150$)
Figures 3. and 4. Basal cell hyperplasia with cellular infiltration of the intercapillary spaces (Hematoxylin and eosin. Original magnification $\times 150$)

Tablica 3. Kolposkopski nalazi u HPV-DNK pozitivnih ispitanica
Table 3. The colposcopic findings in HPV-DNA positive examinees

Skupina ispitanica Groups of examinees	HPV-DNA + Ukupno Total	Abnormalni nalazi Abnormal findings		Normalni nalazi Normal findings	
		N	%	N	%
I	38	23	60,53	15	39,47
II	34	28	82,35	6	17,65
Ukupno Total	72	51	70,83	21	29,17

Tablica 4. Kolposkopski nalazi u odnosu na stupanj HPV DNA rizika u 72 ispitanice

Table 4. The colposcopic findings in relation to degree of HPV DNA risk in 72 examinees

Stupanj onkogenog rizika The degree of oncogenic risk	Ukupno Total	Abnormalni nalazi Abnormal findings		Normalni nalazi Normal findings	
		N	%	N	%
Visoki rizik High risk	49	36	73,47	13	26,53
Niski rizik Low risk	23	15	65,22	8	34,78
Ukupno Total	72	51	70,83	21	29,17

Rasprava

Jedna od većih zapreka u istraživanju odnosa HPV-a i stanica domaćina je nemogućnost uzgoja virusa *in vitro* i utemeljenje biološkog eksperimentalnog modela. Premda je združivanjem keratinocita cerviksa uterusa s HPV tipovima 16 i 18 postignuto produženje životnog vijeka stanica kulture,^{16,17} te su stanice zadržale svoju morfologiju i nisu stvarale tumore u eksperimentalnih glodavaca.¹⁸ Samo mali postotak inficiranih osoba pokazuje progresiju u invazivni karcinom, što dokazuje da su za potpunu ekspresiju onkogenog fenotipa virusa uključeni i drugi činitelji.¹⁹ Progresija od episomalne do produktivne virusne replikacije uglavnom ovisi o tipu virusa i o stanju lokalnog imuniteta žene. Dok je latentna infekcija difuzna, aktivna virusna ekspresija javlja se samo na manjim površinama.²⁰ Analiza transkripcijskih svojstava HPV tipa 16 u karcinomskoj stanici pokazuje da je virusna DNA sinteza različita u odnosu na stupanj CIN-a. Kod benignih lezija i CIN-a niska stupnja pa i u većini CIN-a visoka stupnja virusni genomi sadrže autonomne replikirajuće epizome,^{21,22} dok je kod karcinomskih stanica virusni genom integriran u staničnu DNA.^{23,24}

Različiti tipovi HPV-a imaju selektivni afinitet prema stanicama domaćina. Tako primjerice HPV tip 6 uzrokuje promjene u pločastom epitelu, HPV tip 16 u pločastom i žljezdanom epitelu, a HPV tip 18 najčešće je lociran u žljezdanom epitelu.²⁵ Ta spoznaja ima praktičnu vrijednost za kolposkopski postupnik s obzirom na očekivane promjene, posebice kada je skvamokolumnarna granica izvan dosega kolposkopske vidljivosti.

Životni ciklus HPV-a počinje u bazalnim stanicama pločastog epitela i u latentnoj fazi uzrokuje bazalnu hi-

perplaziju i interkapilarnu celularnu infiltraciju, kao odgovor lokalnog imuniteta. Slijedi rana sinteza proteina, potom episomalna DNA replikacija koja može ostati u latentnoj fazi ili prelazi u produktivnu DNA sintezu.²⁶

Ugradnja HPV tipova 16 i 18 u genom domaćina obično se odvija u E1 i E2 području, pri čemu dolazi do poremećaja represije E6 i E7. Posljedica te ugradnje je stabilna ekspresija samo virusnih gena E6 i E7, koji su glavni transformirajući proteini HPV-a. Ekspresija proteina E6 i E7 različita je u visokorizičnim i niskorizičnim tipovima HPV-a. Naime, proteini E6 i E7 iz skupine HPV tipa 6 i 11 slabo ili uopće ne transformiraju stanice, dok se protein E6 visokorizičnih subtipova veže za tumorski represijski gen p53 i dovodi do njegove razgradnje. Niskorizični HPV tipa 6 i 11 nemaju sposobnost razgradnje p53.²⁷

U rutinskom citološkom skriningu otkriva se od 1,3% do 3% nalaza koji upućuju na HPV infekciju. Testovi HPV DNA hibridizacije u 2–10% negativnih citoloških nalaza pokazali su prisustvo HPV-a.^{28,29} To dokazuje da su mnoge žene nositelji HPV-a u kojima infekcija egzistira u latentnom stanju, a preko 60% te populacije ima normalan citološki nalaz i nema kliničkih znakova HPV infekcije.^{30,31} Neka istraživanja pokazuju da su 10% žena generativne dobi nositelji HPV-a.³²

Cervikalna intraepitelna neoplazija niska stupnja združena s HPV tipovima 6 i 11 ima niski kancerogeni rizik, jer virusi nisu integrirani u kromosomima stanica domaćina već ostaju ekstrakromosomno (episomalno). Neka su istraživanja pokazala da je relativni onkogeni rizik neliječenih CIN-I združen s HPV tipom 16 mnogostruko veći u odnosu na HPV infekciju tipovima 6 i 11.³³ Iskustva nekih autora pokazuju da CIN-I u 26% bolesnica s HPV tipom 16 progredira u CIN-III u razdoblju od 18 mjeseci.³⁴

Naša istraživanja pokazuju da infekcija uzrokovana subtipom visoka onkogenog rizika perzistira u latentnom obliku nakon provedene kombinirane terapije u 71,05% slučajeva, a u subtipa niska onkogenog rizika samo u 28,95% bolesnica. U drugoj skupini ispitanica, s različitim stupnjevima cervikalne intraepitelne neoplazije bez koilocitoze u citološkim nalazima, u 64,70% njih s pozitivnim testovima hibridizacije utvrđen je tip visoka onkogenog rizika, a niska onkogenog rizika u 35,30% ispitanica. Prema tome, latentni oblik HPV infekcije dvostruko je češće uzrokovan subtipom visoka onkogenog rizika nego subtipom niska rizika. To je valjani razlog za detekciju latentne HPV infekcije. Prema našim istraživanjima ugroženi dio populacije žena je u dobi od 17 do 29 godina. Među ispitanicama te skupine u 65,40% je njih testovima hibridizacije utvrđena HPV infekcija premda citološkom analizom nije nađena koilocitoza.³⁵

Latentna HPV infekcija perzistira u 58,46% ispitanica i nakon provedene terapije CIN-a združenog s HPV infekcijom, u kojih je kontrolni citološki nalaz bio uredan. Premda se mnogi zalažu za primjenu HPV DNA tipizacije u probiru potencijalnih bolesnica, u našim uvjetima, zbog visoke cijene, test hibridizacije nije prihvatljiv kao metoda skrininga.³⁶ Prema dijagnostičkom postupniku

citologija i kolposkopija, kao komplementarne metode probira, zajedno imaju visoku dijagnostičku vrijednost posebice u detekciji premalignih lezija vrata maternice.³⁷ Kolposkopija može biti korisna i u presumptivnoj identifikaciji latentne HPV infekcije, jer u 60,53% ispitanica s urednim citološkim nalazima i pozitivnim testovima hibridizacije kolposkopski su bile vidljive promjene, koje su upućivale na moguću latentnu HPV infekciju (mikrokapilarni crtež s nejednako proširenim interkapilarnim prostorima).

Većina cervikalnih intraepitelnih neoplazija niska stupnja regresira u normalni epitel,³⁸ a visoki stupanj CIN-a teži progresiji,³⁹ pa postoji mišljenje da je liječenje CIN-a niska stupnja nepotrebno.⁴⁰ Međutim, naša istraživanja pokazuju da je CIN niska stupnja združen s HPV subtipom visoka onkogenog rizika 2 puta češći, nego s HPV subtipom niska onkogenog rizika. Prema tome, latentna HPV infekcija uzrokovana subtipom visoka onkogenog rizika predstavlja potencijalno produktivnu DNA sintezu koju valja liječiti.

Ciljana kolposkopska biopsija indicirana je u žena s citološkim nalazom CIN-III, jer su većina njih i histološki lezije visoka stupnja. Displazije niska stupnja najučestalije su među abnormalnim citološkim nalazima, a među njima je čak oko 50% histoloških CIN visoka stupnja.⁴¹ To je valjani razlog za provođenje sekundarnog probira s primjenom kolposkopije u detekciji visoka stupnja CIN-a.⁴²

Za daljnju dijagnostiku, na temelju citoloških nalaza, potrebit je kompleksniji pristup, ovisno o stupnju lezije i tipovima HPV-a.^{43,44}

Nakon liječenja klinički i subklinički znaci HPV infekcije mogu nestati, međutim, latentna infekcija može i nadalje perzistirati te ostati kontagiozna za seksualnog partnera.⁴⁵ Naša su istraživanja pokazala da 58,46% ispitanica, nakon liječenja subkliničkog oblika infekcije, s urednim kontrolnim citološkim nalazom, ima pozitivan test hibridizacije. Radi toga korisno je testiranje metodom hibridizacije onih bolesnica koje nakon provedene terapije imaju uredan kontrolni citološki nalaz, bez koilocita, a u kojih kolposkopski nalaz upućuje na vjerojatno postojeću latentnu HPV infekciju.

Sama infekcija HPV-om nije dovoljna za indukciju karcinoma u imunokompetentnih žena. Prema nekim istraživanjima u 1% žena inficiranih s HPV tipovima 16 i 18 nastaje karcinom, a rizik od karcinoma kod HPV tipova 6 i 11 pet do deset puta je manji.⁴⁶

Kolposkopske promjene, mikrokapilarni crtež te nejednako prošireni interkapilarni prostori najvjerojatnije su posljedica bazalne hiperplazije i lokalne limfocitne infiltracije T-limfocitima (*slika 3. i 4.*).

Episomalna HPV infekcija ostaje latentna u stanicama bazalnog sloja, dok se aktivna ekspresija javlja u stanicama parabazalnog sloja.⁴⁷

Kolposkopija je uspješna metoda u prepoznavanju abnormalnog epitela pa se može upotrijebiti posebice u sekundarnom probiru u programu kontrole cervikalnog karcinoma,^{48,49} dakako kao komplementarna metoda s

citologijom i HPV DNA tipizacijom. Kod minimalne ekspresije promjene su difuzne i blage. Vidljive su u obliku sitnih, tankih bijelih polja koja reflektiraju parakeratotski epitel iznad intraepitelnih kapilara. Te promjene daju izgled nježne punktacije,⁵⁰ a za razliku od mikrokapilarnog crteža te su promjene jod negativne.

U nekih bolesnica s dugotrajnom latentnom HPV infekcijom virusna kolonizacija može progredirati u aktivnu virusnu ekspresiju, koja započinje proliferacijom stanica bazalnog sloja, povećava se replikacija virusnih gena u srednjim slojevima i stvaraju se koilociti u maturiranim stanicama supeficijalnog sloja. Takva subklinička infekcija prepoznatljiva je i kolposkopski, a liječenje se provodi lokalnim destruktivnim metodama (kemokauterizacija s Albothyl-koncentratom, krioterapija, elektrokauterizacija, kirurške ekscizije) kojima se mogu odstraniti žarišta abnormalnog epitela, ali episomalna infekcija na širokoj površini ostaje izvan terapijskog doseg. Lokalnom primjenom humanog leukocitnog interferona u obliku vaginaleta moguće je djelovati na područje široke kolonizacije s latentnom HPV infekcijom.^{51,52} Naša ispitivanja pokazuju da u 58,46% bolesnica s urednim kontrolnim citološkim nalazom nakon provedene terapije testovi hibridizacije ostaju pozitivni, a među njima je 71,05% dijagnosticiran HPV visoka onkogenog rizika. Testovima hibridizacije otkriveno je u 10–15% kliničkih zdravih žena prisustvo HPV infekcije u kroničnom, latentnom stanju.^{53,54}

Kolposkopijom se mogu otkriti promjene, koje vjerojatno prate episomalnu HPV infekciju i interakciju između virusa i stanica domaćina. Te promjene su povezane s lokalnom celularnom infiltracijom zbog koje nastaju nejednako prošireni interkapilarni prostori, dok nema pojačanog crteža krvnih žila, koji je znakovit za cervicitis. Kolposkopska presumptivna identifikacija latentne HPV infekcije od koristi je u odabiru bolesnica kojima valja učiniti testove hibridizacije. U naših ispitanica s niskim onkogenim rizikom kolposkopski je nalaz bio podudaran s testovima hibridizacije u 65,22%, a u skupini HPV visoka onkogenog rizika podudarnost nalaza bila je u 73,47% ispitanica.

I kod minimalne ekspresije HPV infekcije ponekad nastaje samo bazalna hiperplazija bez koilocitoze⁵⁵ i u takvim slučajevima kolposkopija pomaže u odabiru bolesnica za testove hibridizacije.

Zaključak

Nakon provedene kombinirane terapije subkliničkog oblika HPV infekcije potrebno je učiniti kolposkopiju i kontrolni test hibridizacije, radi identifikacije moguće latentne infekcije i u pacijentica urednog kontrolnog citološkog nalaza.

U bolesnica ugrožene dobne skupine (17–29 godina) u kojih je citološki dijagnosticirana cervikalna intraepitelna neoplazija bez koilocitoze, indicirani su kolposkopija i test hibridizacije.

Kolposkopski nalaz mikrokapilarnog crteža s nejednako proširenim interkapilarnim prostorima i oskudne sitne

krvne žile mogući su znaci latentne HPV infekcije jer imaju visoki stupanj podudarnosti s testovima hibridizacije.

Literatura

1. Smotkin D. Virology of human papillomavirus. *Clin Obstet Gynecol* 1989;32:117–26.
2. Ferenczy A, Bergeron C, Richart RM. Human papillomavirus DNA in fomites on objects for the management of patients with genital human papillomavirus infections. *Obstet Gynecol* 1989;74:950–4.
3. Bergeron C, Ferenczy A, Richart RM. Underwear: contamination by human papillomavirus. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:25–9.
4. Wright TC Jr, Richart RM. Role of human papillomavirus in the pathogenesis of genital tract warts and cancer. *Gynecol Oncol* 1990;37:151–64.
5. Koutsky LA, Galloolyway DA, Holmes KK. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Epidemiol Rev* 1988;10:122–63.
6. Fletcher S, Norval M. On the nature of the deep cellular disturbances in human papilloma-virus infection of the squamous cervical epithelium. *Lancet* 1983;2:546–9.
7. Stoler MH, Wolinsky SM, Whitbeck A et al. Differentiation-linked human papillomavirus types 6 and 11 transcription in genital condylomata revealed by in situ hybridization with message-specific RNA probes. *Virology* 1989; 172:331–40.
8. Hartwell L. Defects in a cell cycle checkpoint may be responsible for the genomic instability of the cancer cells. *Cell* 1992;21:543–6.
9. Paquette RL, Lee YY, Wilczynski SP et al. Mutations of p53 and human papillomavirus infection in cervical carcinoma. *Cancer* 1993;72:1272–80.
10. Atkin NB, Baker MC. Chromosome 17p loss in carcinoma of the cervix uteri. *Cancer Genet Cytogenet* 1989;37:229–33.
11. Gall SA. Human papillomavirus infection and therapy with interferon. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:1354–9.
12. Barrett TJ, Silbar JD, Mc Ginley JP. Genital warts – a venereal disease. *JAMA* 1954;154:333–4.
13. Audy-Jurković S, Singer Z, Pajtlar M, Dražančić A, Grizelj V. Jedinstvena klasifikacija citoloških nalaza vrata maternice u Hrvatskoj. *Gynaecol Perinatol* 1992;1:185–8.
14. Staffl A, Wilbanks GD. An international terminology of colposcopy: Report on the nomenclature committee of the International Federation of Cervical Pathology and Colposcopy. *Obstet Gynecol* 1991;77:13–4.
15. Reid R, Stanhope R, Herschman BR, Crum CP, Agronow SJ. Genital warts and cervical cancer. IV. A colposcopic index for differentiation subclinical papillomaviral infection from cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Obstet Gynecol* 1984;149:815–23.
16. Pirisi L, Yasumoto S, Feller M, Doniger J, Di Paulo JA. Transformation of human fibroblasts and keratinocytes with human papillomavirus type 16 DNA. *J Virol* 1987;61:1061–6.
17. Woodworth CD, Bowden PE, Doniger J et al. Characterization of normal human exocervical epithelial cells immortalized in vitro by papillomavirus types 16 and 18 DNA. *Cancer Res* 1988;48:4620–8.
18. Shirasawa H, Tomita Y, Kubota K et al. Transcriptional differences of the human papillomavirus type 16 genome between precancerous lesions and invasive carcinomas. *J Virol* 1988;62:1022–7.
19. Zur Hausen H. Human genital cancer: Synergism between two virus infections or synergism between a virus infection and initiating events? *Lancet* 1982;11:1370–2.
20. Reid R. Human papillomaviral infection. The key to rational triage of cervical neoplasia. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1987;14:407–29.
21. Durst M, Kleinheinz A, Holtz M, Grissmann L. The physical state of human papillomavirus type 16 DNA in benign and malignant genital tumors. *J Gen Virol* 1985;66:1515–22.
22. Lehn H, Villa LL, Marziona F et al. Physical state and biological activity of human papillomavirus genomes in precancerous lesions of the female genital tract. *J Gen Virol* 1988;69:187–96.
23. Choo KB, Pan CC, Han SH. Integration of human papillomavirus type 16 into cellular DNA of cervical carcinoma: preferential deletion of the E2 gene and invariable retention of the long control region and the E6/E7 open reading frames. *Virology* 1987;161:259–61.
24. Pater MM, Pater A. Human papillomavirus types 16 and 18 sequences in carcinoma cell lines of the cervix. *Virology* 1985;145:313–8.
25. Jukić S, Babić D, Ilić-Forko J, Hlupić Lj. Karcinom vrata maternice – Patohistološki problemi. *Gynaecol Perinatol* 2001;10(suppl 1):48–51.
26. Ambros RA, Kurman RJ. Current concepts in the relationship of human papilloma virus infection to the pathogenesis and classification of precancerous squamous lesion of the uterine cervix. *Semin Diagn Pathol* 1990;158–72.
27. 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.
28. Reid R, Lavery CR, Coppleson M, Isarangkul W, Hills E. Noncondylomatous cervical wart virus infection. *Obstet Gynecol* 1980;55:476–83.
29. Meisels A, Morin C. Human papillomavirus and cancer of the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 1981;12:S111–3.
30. Wickenden C, Steele A, Malcolm ADB, Coleman DV. Screening for wart virus infection in normal and abnormal cervixes by DNA hybridization of cervical scrapes. *Lancet* 1985;1:65–7.
31. Gompel C, Silverberg SG. U: Gompel C, Silverberg SG (eds.). *Pathology in Gynecology and Obstetrics*, 4. ed. Philadelphia: Lippincott JB, Company, 1994, p. 72–162.
32. Schneider A, Kraus H, Schuhmann R, Gissmann L. Papillomavirus infection of the lower genital tract: detection of viral DNA in gynecological swabs. *Int J Cancer* 1985;35:443–8.
33. Wright TC Jr, Richart RM. Role of human papillomavirus in the pathogenesis of genital tract warts and cancer. *Gynecol Oncol* 1990;37:151–64.
34. Champion MJ, Mc Cance DJ, Cuzick J, Singer A. Progressive potential of mild cervical atypia: prospective, cytological, colposcopic and virological study. *Lancet* 1986;2:237–40.
35. Tuškan N, Tuškan E, Kljajo V, Štajcer Ž, Ivanko-Migalić D. Kombinirana terapija subkličičke infekcije papiloma virusom združene s cervikalnom intraepitelnom neoplazijom. *Gynaecol Perinatol* 2002;11:19–24.
36. Ljubojević N, Babić S, Audy-Jurković S, Ovanin-Rakić A, Grubišić G, Ljubojević-Grgec D. Revidirani dijagnostičko-terapijski

ski postupnik za premaligne bolesti vrata maternice (s osvrtnom na financijsku isplativost). *Gynaecol Perinatol* 2001;10(suppl 1):53–7.

37. Milojković M. Mjesto kolposkopije u programu sekundarne prevencije raka vrata maternice. *Gynaecol Perinatol* 1994;3:61–4.

38. Ostor AG. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 1993;12:186–92.

39. Mc Indoe WA, Mc Lean MR, Jones RW, Mullins PR. The invasive potential of carcinoma in situ of the cervix. *Obstet Gynecol* 1984;64:451–8.

40. Hatch KD, Schneider A, Abdel-Nour NW. An evaluation of human papillomavirus testing for intermediate and high-risk types as triage before colposcopy. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:1150–7.

41. Cuzick J, Terry G, Ho L, Hollingworth T, Anderson M. Typespecific human papillomavirus DNA in abnormal smears as a predictor of high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer* 1994;69:167–71.

42. Reid R, Lorincz AT. Human papillomavirus tests. *Baillieres Clin Obstet Gynecol* 1995;9:65–103.

43. Fahey MT, Irwing L, Macaskill P. Meta-analysis of Pap test accuracy. *Am J Epidemiology* 1995;141:680–9.

44. Raffle AE, Alden B, Mackenzie EFD. Detection rates for abnormal cervical smears: What are we screening for? *Lancet* 1995;345:1469–73.

45. Ferency A. Epidemiology and clinical pathophysiology of condylomata accuminata. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:1331–9.

46. Pfister H. Relationship of papillomaviruses to anogenital cancer. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1987;14:349–61.

47. Jenson AB, Kurman RJ, Lancaster WD. Tissue effects of and response to human papillomavirus infection. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1987;14:397–406.

48. Agronow SJ, Stanhope CR. Genital warts and cervical cancer. V. The tissue basis of colposcopic change. *Am J Obstet Gynecol* 1984;149:293–303.

49. Copleson M. Colposcopic features of papillomaviral infection and premalignancy in female lower genital tract. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1987;14:451–69.

50. Campion MJ. Clinical manifestations and natural history of genital human papillomavirus infection. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1987;14:363–88.

51. Lorincz AT, Temple GF, Patterson JA et al. Correlation of cellular atypia and human papillomavirus deoxyribonucleic acid sequences in exfoliated cells of the uterine cervix. *Obstet Gynecol* 1986;68:508–12.

52. Singer Z, Šooš E, Feichter G. Treatment of cervical intraepithelial neoplasia associated with human papillomavirus by interferon vaginalettes. *Radiol Oncol* 1993;27:321–5.

53. Singer Z, Beck M, Jušić D, Šooš E. Treatment of CIN with HPV infections by interferon vaginalettes. Abstract. 7-th World Congress of Cervical Pathology and Colposcopy, Rome, 1990;190.

54. De Villiers EM, Wagner D, Schneider A et al. Human papillomavirus infections in women with and without abnormal cervical cytology. *Lancet* 1987;2:703–6.

55. Reid R, Greenberg M, Jenson AB et al. Sexually transmitted papillomaviral infections. 1. The anatomic distribution and pathologic grade of neoplastic lesions associated with different viral types. *Am J Obstet Gynecol* 1987; 156:212–22.

Članak primljen: 14. 07. 2003., *prihvaćen:* 5. 10. 2003.

Adresa autora: Dr. Nikola Tuškan, Rakovac 21, 47000 Karlovac