

УНИВЕРЗИТЕТ “СВЕТИ КИРИЛ И МЕТОДИЈ” СКОПЈЕ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ СКОПЈЕ

ШКОЛА ЗА ДОКТОРСКИ СТУДИИ



ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

**АСОЦИЈАЦИЈА ПОМЕЃУ ВИРУСНИТЕ ОНКОПРОТЕИНИ Е6 И Е7,
БАКТЕРИСКАТА ВАГИНОЗА И СКВАМОЗНИТЕ ИНТРАЕПИТЕЛНИ ЛЕЗИИ
И СКВАМОЗНИОТ ИНВАЗИВЕН КАРЦИНОМ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА**

Докторанд:

Пом. ас. д-р Драге Дабески

ЈЗУ Универзитетска клиника за гинекологија и акушерство - Скопје

Ментор:

Проф. д-р Драган Даниловски

Институт за епидемиологија и биостатистика со медицинска информатика –
Медицински факултет, Скопје

Скопје, ноември 2017 година

Ss. CYRIL AND METHODIUS UNIVERSITY IN SKOPJE

FACULTY OF MEDICINE

SCHOOL OF DOCTORAL STUDIES



DOCTORAL DISSERTATION

**ASSOCIATION BETWEEN VIRAL ONCOPROTEINS E6 AND E7, BACTERIAL
VAGINOSIS AND SQUAMOUS INTRAEPITHELIAL LESIONS AND SQUAMOUS
INVASIVE CARCINOMA OF THE UTERINE CERVIX**

Doctoral student:

Teaching assistant doctor Drage Dabeski

University Clinic for Gynecology and Obstetrics in Skopje

Mentor:

Professor Dragan Danilovski, M.D., Ph.D.

Institute of Epidemiology and Biostatistics with Medical Informatics of the Medical Faculty
in Skopje

Skopje, November 2017

СОДРЖИНА

АПСТРАКТ.....	1
ABSTRACT.....	4
1.0 ВОВЕД.....	7
1.1 КАРЦИНОМ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА.....	8
1.1.1 ДЕФИНИЦИЈА.....	8
1.1.2 ЕПИДЕМИОЛОГИЈА.....	8
1.1.3 ХИСТОПАТОЛОШКИ ТИПОВИ.....	10
1.2 ИНТРАЕПИТЕЛНИ ЛЕЗИИ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА.....	11
1.2.1 КЛАСИФИКАЦИИ И ТЕРМИНОЛОГИИ.....	11
1.2.2 ПРИРОДА НА ЦЕРВИКАЛНАТА ИНТРАЕПИТЕЛНА НЕОПЛАЗМА.....	17
1.2.3 МЕТОДИ ЗА ДИЈАГНОСТИКА.....	18
1.2.3.1 Цитологија.....	18
1.2.3.2 ХПВ-тестирање.....	20
1.2.3.3 Колпоскопија.....	20
1.2.3.4 Хистопатологија.....	21
1.3 РИЗИК ФАКТОРИ.....	23
1.3.1 ПУШЕЊЕ ЦИГАРИ.....	23
1.3.2 НИЗОК СОЦИО-ЕКОНОМСКИ СТАНДАРД.....	24
1.3.3 ДИЕТА.....	24
1.3.4 РАН ПРВ СЕКСУАЛЕН ОДНОС.....	24
1.3.5 РАНА ПРВА БРЕМЕНОСТ И МУЛТИПАРИТЕТ.....	25
1.3.6 ПОВЕЌЕ СЕКСУАЛНИ ПАРТНЕРИ.....	25
1.3.7 ДОЛГОТРАЈНА УПОТРЕБА НА ОРАЛНИ ХОРМОНСКИ КОНТРАЦЕПТИВНИ СРЕДСТВА.....	26
1.3.8 ИМУНОКОМПРОМИТИРАН СТАТУС.....	26
1.3.9 СЕКСУАЛНО ПРЕНОСЛИВИ БОЛЕСТИ.....	27
1.4 ХУМАН ПАПИЛОМА ВИРУСНА ИНФЕКЦИЈА.....	28
1.4.1 КАРАКТЕРИСТИКИ.....	28
1.4.2 ИСТОРИЈАТ.....	28
1.4.3 ЕПИДЕМИОЛОГИЈА.....	30

1.4.4	ЕТИОЛОГИЈА.....	32
1.4.5	СТРУКТУРА НА ХПВ-ГЕНОМОТ.....	36
1.4.6	ВИРУСНИ ОНКОПРОТЕИНИ Е6 И Е7.....	40
1.4.7	БИОЛОГИЈА НА ХПВ-ИНФЕКЦИЈАТА.....	42
1.4.8	УЛОГА НА ВИРУСНИТЕ ОНКОПРОТЕИНИ Е6 И Е7 ВО ПРОЦЕСОТ НА ХПВ-АСОЦИРАНАТА ЦЕРВИКАЛНА КАРЦИНОГЕНЕЗА.....	45
1.4.9	АСОЦИЈАЦИЈА ПОМЕЃУ ХПВ И СКВАМОЗНИТЕ КЛЕТОЧНИ АБНОРМАЛНОСТИ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА.....	55
1.4.10	МЕТОДИ ЗА ИСПИТУВАЊЕ НА ХПВ.....	59
1.4.10.1	ХПВ-ДНК тестирање.....	62
1.4.10.2	ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирање.....	63
1.5	БАКТЕРИСКА ВАГИНОЗА.....	65
1.5.1	КАРАКТЕРИСТИКИ.....	65
1.5.2	ИСТОРИЈАТ.....	66
1.5.3	ЕТОЛОГИЈА.....	66
1.5.4	ЕПИДЕМИОЛОГИЈА.....	73
1.5.5	РИЗИК-ФАКТОРИ.....	74
1.5.6	БОЛЕСТИ АСОЦИРАНИ СО БАКТЕРИСКАТА ВАГИНОЗА.....	76
1.5.7	АСОЦИЈАЦИЈА ПОМЕЃУ БАКТЕРИСКАТА ВАГИНОЗА И ХПВ-ИНФЕКЦИЈАТА.....	76
1.5.8	АСОЦИЈАЦИЈА ПОМЕЃУ БАКТЕРИСКАТА ВАГИНОЗА И СКВАМОЗНИТЕ КЛЕТОЧНИ АБНОРМАЛНОСТИ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА.....	78
1.5.9	КОНЦЕПТУАЛЕН МОДЕЛ НА ПАТОГЕНЕЗАТА НА БАКТЕРИСКАТА ВАГИНОЗА.....	80
1.5.10	СИМПТОМИ, КОМПЛИКАЦИИ И ДИФЕРЕНЦИЈАЛНА ДИЈАГНОЗА.....	85
1.5.11	МЕТОДИ ЗА ДИЈАГНОСТИКА.....	85
1.5.11.1	Нуџентова метода.....	86
1.5.11.2	Амселови клинички критериуми.....	87
1.5.11.3	Други методи.....	88
2.0	МОТИВ.....	89

3.0 ЦЕЛИ	91
4.0 ХИПОТЕЗИ	93
5.0 МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ	95
5.1 ДИЗАЈН НА СТУДИЈАТА.....	96
5.2 МАТЕРИЈАЛ.....	96
5.3 ПЕРИОД НА РЕАЛИЗАЦИЈА.....	96
5.4 ЛОКАЦИЈА НА СТУДИЈАТА.....	96
5.5 МЕТОДИ.....	97
5.5.1 <i>ЦИТОЛОШКА АНАЛИЗА</i>	97
5.5.2 <i>АНКЕТЕН ПРАШАЛНИК</i>	98
5.5.3 <i>ХИСТОПАТОЛОШКА АНАЛИЗА</i>	98
5.5.4 <i>ХПВ-ДНК ТЕСТИРАЊЕ</i>	99
5.5.5 <i>ХПВ Е6/Е7 иРНК-ТЕСТИРАЊЕ</i>	100
5.5.6 <i>НУЦЕНТОВ СКОР СИСТЕМ</i>	101
6.0 СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА	104
7.0 РЕЗУЛТАТИ	107
7.1 КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПАЦИЕНТКИТЕ	108
7.2 КОРЕЛАЦИЈА ПОМЕЃУ ЦИТОПАТОЛОШКИТЕ И ХИСТОПАТОЛОШКИТЕ РЕЗУЛТАТИ.....	114
7.3 ХПВ-ДНК ТЕСТИРАЊЕ.....	119
7.4 ХПВ Е6/Е7 иРНК-ТЕСТИРАЊЕ.....	133
7.5 СПОРЕДБА ПОМЕЃУ ХПВ ДНК И ХПВ Е6/Е7 иРНК-ТЕСТИРАЊАТА ВО ОДНОС НА ХИСТОПАТОЛОШКАТА ДИЈАГНОЗА.....	139
7.6 НУЦЕНТОВ СКОР СИСТЕМ.....	143
7.7 АСОЦИЈАЦИЈА ПОМЕЃУ ДРУГИТЕ РИЗИК-ФАКТОРИ И СКВАМОЗНИТЕ КЛЕТОЧНИ АБНОРМАЛНОСТИ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА.....	154
8.0 ДИСКУСИЈА	158
8.1 КОРЕЛАЦИЈА ПОМЕЃУ ЦИТОПАТОЛОШКИТЕ И ХИСТОПАТОЛОШКИТЕ РЕЗУЛТАТИ.....	159
8.2 ХПВ-ДНК ТЕСТИРАЊЕ.....	161
8.3 ХПВ Е6/Е7 иРНК-ТЕСТИРАЊЕ.....	163
8.4 СПОРЕДБА ПОМЕЃУ ХПВ-ДНК И ХПВ Е6/Е7 иРНК- ТЕСТИРАЊАТА.....	165

8.5	БАКТЕРИСКА ВАГИНОЗА.....	166
8.6	АСОЦИЈАЦИЈА ПОМЕЃУ ДРУГИТЕ РИЗИК-ФАКТОРИ И СКВАМОЗНИТЕ КЛЕТОЧНИ АБНОРМАЛНОСТИ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА.....	169
9.0	ЗАКЛУЧОЦИ.....	174
10.0	ЛИТЕРАТУРА.....	176
11.0	ПРИЛОЗИ.....	214
11.1	ПРИЛОГ 1.....	215
11.2	ПРИЛОГ 2.....	216
11.3	ПРИЛОГ 3.....	220
11.4	ПРИЛОГ 4.....	221

Докторската дисертација ја посветувам на моите најмили:

АНА, НИНА, МИХАИЛ, МИТКО, ЈЕЛИЦА и СТОЈАН

АПСТРАКТ

ВОВЕД: Перзистентните, високоризични ХПВ-инфекции претставуваат главен ризик фактор за појава на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката. Два најзначајни вирусни онкопротеини во процесот на цервикалната карциногенеза се Е6 и Е7. Прекумерната експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 е асоцирана со појава и прогресија на сквамозните интраепителни лезии на грлото на матката и зголемен ризик од појава на карцином на грлото на матката. Цервикалните цитолошки абнормалности се најдени многу повеќе кај жените со нарушена вагинална флора, што сугерира на можната врска помеѓу бактериската вагиноза и појава на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката. Целта на нашата студија беше да докажеме постоење на асоцијација помеѓу вирусните онкопротеини Е6 и Е7, бактериската вагиноза и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ: Ретроспективна кохортна студија (retrospective cohort study), која вклучи 192 сексуално активни пациентки, на возраст од 20 до 59 години, поделени во две групи: испитувана (128 пациентки) и контролна (64 пациентки). Во студијата не беа вклучени: бремени жени, жени со претходни операции на грлото на матката (конизации, јаглерод двооксид ласерски вапоризации и тотални хистеректомии), со претходни абнормални цитолошки и хистопатолошки наоди на грлото на матката, жени во тек на менструално крварење, жени кои последните шест недели биле или се под локална или системска антибиотска или антивирусна терапија и жени кои последните два дена имале сексуален однос или правеле вагинална тоалета. Студијата беше работена на универзитетските клиници за гинекологија и акушерство и за радиотерапија и онкологија во Скопје и на Институтот за јавно здравје на Република Македонија, во периодот од јануари 2016 година до јуни 2017 година. Кај сите жени направивме: анкета со специфичен прашалник, ХПВ-ДНК тестирање, ХПВ Е6/Е7 и РНК-тестирање, Nugent-ов скор систем, а по индикација, кај сите жени од испитуваната група и колпоскопска цервикална биопсија со ендоцервикална киретажа за хистопатолошка анализа.

РЕЗУЛТАТИ: Цитопатолошки имаше: 13 (10,16%) ASC-US случаи, 7 ASC-H (5,47%) случаи, 31 CIN1 (24,22%) случаи, 20 CIN 2 (15,62%) случаи, 21 CIN 3 (16,41%) случаи,

15 (11,72%) *in situ* сквамозни карциноми и 21 (16,40%) случај со инвазивен сквамозен карцином. Хистопатолошки имаше: 9 (7,03%) случаи со нормален наод, 20 (15,63%) случаи со хроничен вирусен цервицитис, 2 (1,56%) случаи со плоснат кондилом, 19 (14,84%) случаи со лесна дисплазија, 15 (11,72%) случаи со умерена дисплазија, 23 (17,97%) случаи со тешка дисплазија, 16 (12,50%) случаи со *in situ* сквамозен карцином и 24 (18,75%) случаи со инвазивен сквамозен карцином. Анализата на податоците покажа дека постои позитивна корелација помеѓу резултатите од цитопатолошката и хистопатолошката анализа на грлото на матката ($r=0,8484$, $p=0,032732$, $p<0,05$).

ХПВ-ДНК инфекцијата беше детектирана кај 75,00% (96/128) од пациентките во испитуваната група. Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу присуството на ХПВ-ДНК инфекцијата и појавата на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката (хи квадрат тест=4,8204, $p=0,028125$, $p<0,05$). ХПВ-16 беше најчест детектиран генотип (43,75%; 42/96).

ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата беше детектирана кај 60,94% (78/128) од пациентките во испитуваната група. Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу присуството на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 и појавата на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката (хи квадрат тест=10,0967, $p=0,001485$, $p<0,05$).

Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу резултатите од ХПВ-ДНК тестирањето и ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето (хи-квадрат тест=27,3504, $p<0,0001$, $p<0,05$). Конкордантноста помеѓу резултатите од двете тестирања беше умерена (55,47%; $kappa=0,439$; 95%CI: 0,282-0,596).

ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето наспроти ХПВ-ДНК тестирањето беше супериорно во детекција на сквамозните интраепителни лезии од висок степен (92,60%; 50/54 наспроти 83,33%; 45/54) и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката (95,83%; 23/24 наспроти 87,50%; 21/24).

Бактериската вагиноза беше детектирана кај 56 (43,75%) пациентки од испитуваната група. Анализата на податоците покажа дека постои асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и ДНК-ХПВ инфекцијата (хи-квадрат тест=10,836, $p=0,000995$, $p<0,05$) и експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 (хи-квадрат тест=13,0053, $p=0,000311$, $p<0,05$). *Gardnerella vaginalis* беше најфреквентен бактериски морфотип кај пациентките со присутна бактериска вагиноза (96,43%; 54/56).

Анализата на податоците од нашата студија покажа постоење асоцијација помеѓу сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката и понискиот степен на едукација на пациентките ($p=0,0262$), понискиот социјален статус ($p=0,0127$), нередовните гинеколошки контроли ($p=0,0166$), честиот вагинален исцедок ($p=0,0001$), пушењето цигари ($p=0,0043$), долготрајната употреба на орални хормонски контрацептивни средства ($p=0,0186$), раниот прв сексуален однос ($p=0,0291$) и држењето диета ($p=0,0411$) на пациентките.

Најафектирана возрасна група беа пациентките под 30 години.

ЗАКЛУЧОК: Анализата на податоците од нашата студија покажа: дека постои асоцијација помеѓу вирусните онкопротеини Е6 и Е7, бактериската вагиноза и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката, дека вирусните онкопротеини Е6 и Е7 се супериорни биомаркери за детекција на високо-ризичните ХПВ-асоцирани сквамозни интраепителни лезии на грлото на матката и дека ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето е со поголема специфичност и поголема позитивна предиктивна вредност од ХПВ-ДНК тестирањето.

КЛУЧНИ ЗБОРОВИ: ХПВ-ДНК тестирање, ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирање, вирусни онкопротеини Е6/Е7, бактериска вагиноза, сквамозни интраепителни лезии, сквамозен инвазивен карцином.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Persistent, high-risk HPV infections are a major risk factor for the incidence of squamous intraepithelial lesions and squamous invasive cervical cancer. The two most significant viral oncoproteins in the process of cervical carcinogenesis are E6 and E7. Excessive expression of viral oncoproteins E6 and E7 is associated with the onset and progression of squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix and an increased risk of cervical cancer. Cervical cytological abnormalities have been found far more in women with impaired vaginal flora, suggesting a possible relationship between bacterial vaginosis and the incidence of squamous intraepithelial lesions and squamous invasive cervical cancer. The purpose of our study was to prove the existence of an association between viral oncoproteins E6 and E7, bacterial vaginosis and squamous intraepithelial lesions and squamous invasive cervical cancer.

MATERIAL AND METHODS: A retrospective cohort study involving 192 sexually active patients aged 20 to 59, divided into two groups: examined (128 patients) and control (64 patients). The study did not include: pregnant women, women with previous surgery on the uterine cervix (conization, carbon dioxide laser vaporization and total hysterectomy), with previous abnormal cytological and histopathological findings of the cervix, women during menstrual bleeding, women who the last six weeks have been or are under local or systemic antibiotic or antiviral therapy and women who have had sexual intercourse or vaginal toilet in the last two days. The study was conducted at the University Clinics for Gynecology and Obstetrics and Radiotherapy and Oncology in Skopje and the Public Health Institute of the Republic of Macedonia in the period from January 2016 to June 2017. In all women, we made: a questionnaire, HPV DNA testing, HPV E6/E7 mRNA testing, Nugent-score system, and by indication, in all women from the study group and colposcopic cervical biopsy with endocervical curettage for histopathological analysis.

RESULTS: Cytopathologically there were 13 (10.16%) ASC-US cases, 7 ASC-H (5.47%) cases, 31 CIN1 (24.22%) cases, 20 CIN 2 (15.62%) cases, 21 CIN 3 (16.41%) cases, 15 (11.72%) In situ squamous cancers and 21 (16.40%) cases with invasive squamous cell carcinoma. Histopathologically there were 9 (7.03%) cases with normal findings, 20 (15.63%) cases with chronic viral cervicitis, 2 (1.56%) cases with flat condyloma, 19 (14.84%) cases with mild dysplasia, 15 (11.72%) cases with moderate dysplasia, 23 (17.97%) cases with severe dysplasia, 16 (12.50%) cases with In situ squamous cell carcinoma and 24

(18.75%) cases with invasive squamous cell carcinoma. The analysis of the data showed that there is a positive correlation between the results of cytopathological and histopathological analysis of the uterine cervix ($r = 0.8484$, $p = 0.032732$, $p < 0.05$).

HPV DNA infection was detected in 75.00% (96/128) of patients in the investigated group. Data analysis showed an association between the presence of HPV DNA infection and the appearance of squamous intraepithelial lesions and squamous invasive cervical cancer (chi square test=4.8204, $p=0.028125$, $p < 0.05$). HPV-16 was the most commonly detected genotype(43.75%;42/96).

HPV E6/E7 mRNA infection was detected in 60.94% (78/128) of patients in the investigated group. The data analysis showed an association between the presence of viral oncoproteins E6 and E7 and the occurrence of squamous intraepithelial lesions and squamous invasive cervical cancer (chi square test=10.0967, $p=0.001485$, $p < 0.05$).

The data analysis showed an association between the results of HPV DNA testing and HPV E6/E7 mRNA testing (chi-square test=27.3504, $p < 0.0001$, $p < 0.05$). The concordance between the results of both tests was moderate (55.47%; kappa=0.439; 95% CI: 0.282-0.596). HPV E6/E7 mRNA testing versus HPV DNA testing was superior to the detection of high-grade squamous intraepithelial lesions (92.60%; 50/54 versus 83.33%; 45/54) and squamous invasive cervical cancer (95.83%; 23/24 versus 87.50%; 21/24).

Bacterial vaginosis was detected in 56 (43.75%) patients from the investigated group. The analysis of the data showed that there is an association between bacterial vaginosis and DNA HPV infection (chi-square test=10.836, $p=0.000995$, $p < 0.05$) and expression of viral oncoproteins E6 and E7 (chi-square test=13.0053, $p=0.000311$, $p < 0.05$). Gardnerella Vaginalis was the most frequent bacterial morphotype in patients with present bacterial vaginosis (96.43%; 54/56).

The analysis of the data from our study showed the existence of an association between squamous intraepithelial lesions and squamous invasive cervical cancer and lower level of patient education ($p=0.0262$), lower social status ($p=0.0127$), irregular gynecological controls ($p = 0.0166$), frequent vaginal discharge ($p = 0.0001$), cigarette smoking ($p = 0.0043$), long-term use of oral hormonal contraceptives ($p=0.0186$), early first sexual intercourse ($p=0.0291$) and dieting ($p=0.0411$).

The most effective age group were the patients under 30 years of age.

CONCLUSION: The analysis of the data from our study showed that there is an association between viral oncoproteins E6 and E7, bacterial vaginosis and squamous intraepithelial lesions and squamous invasive cervical cancer, that viral oncoproteins E6 and E7 are superior biomarkers for the detection of high-risk HPV associated squamous intraepithelial cervical lesions and that HPV E6/E7 mRNA testing is more specific and a higher positive predictive value than HPV DNA testing.

KEY WORDS: HPV DNA testing, HPV E6/E7 mRNA testing, viral oncoproteins E6/E7, bacterial vaginosis, squamous intraepithelial lesions, squamous invasive carcinoma.

1.0 ВОВЕД

1.1. КАРЦИНОМ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА

1.1.1. ДЕФИНИЦИЈА

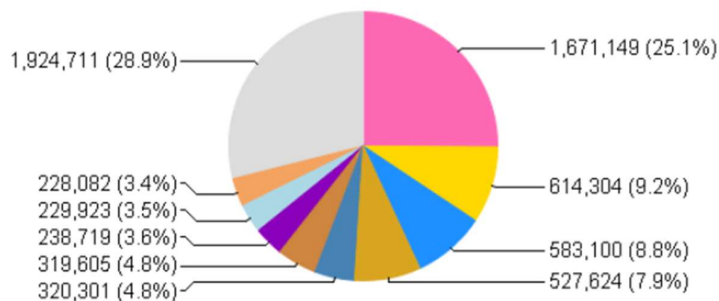
Инвазивниот карцином на грлото на матката се дефинира како пенетрација на базалната мембрана и инфилтрација на стомата на грлото на матката со малигни клетки [1].

1.1.2. ЕПИДЕМИОЛОГИЈА

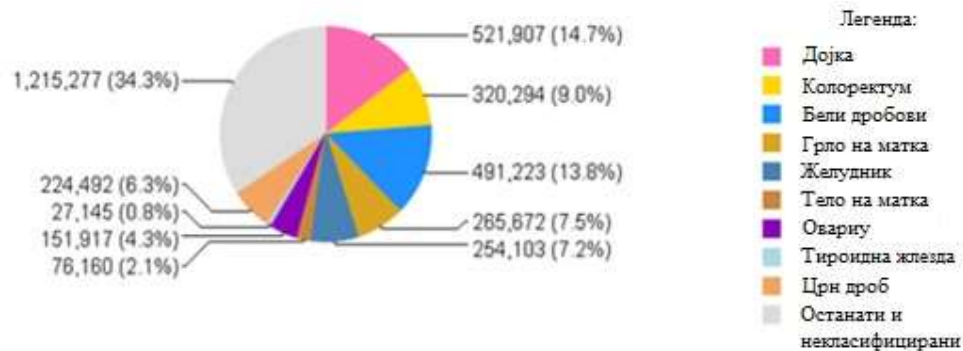
Инвазивниот карцином на грлото на матката е четврт најчест карцином кај жените и седми воопшто, со 527 624 нови случаи и со 265 672 смртни случаи во 2012 година, што е 7,5% од сите смртни случаи од карцином кај жените (Графикон 1) [2].

Графикон 1. Карцином на грлото на матката: инциденца и морталитет во светот [2]

Инциденца



Морталитет



Речиси 9 од 10 (87%) смртни случаи од карцином на грлото на матката се случуваат во помалку економски развиените региони во светот. Со најголема проценета инциденца на карцином на грлото на матката од 80 на 100 000 е регионот Ресифе во Бразил, а со најмала од 3 до 4 на 100 000 е Израел [3].

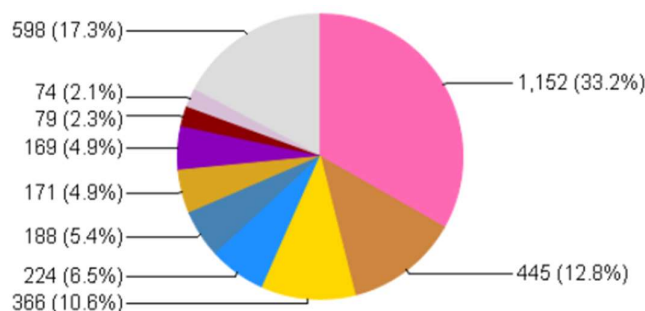
Во Соединетите Американски Држави (САД), карциномот на грлото на матката учествува со приближно 2% од сите смртни случаи од карцином кај жените, со нешто помалку од 13 000 нови случаи секоја година и со 3 000 до 4 000 смртни случаи секоја година. По 55-та година од животот, се откриваат 35% од инвазивните карциноми на грлото на матката и се случуваат 57% од смртните случаи. Со најголема проценета инциденца на карцином на грлото на матката во САД е шпанската популација, со нешто помала африканската а со најмала инциденца е белата раса [4].

Според последните податоци на GLOBOCAN, Македонија со проценета инциденца на карцином на грлото на матката од 12,4 на 100 000 се рангира на 17-то место во Европа, што е блиску до просечната европска, која изнесува 11,4 на 100 000 [5].

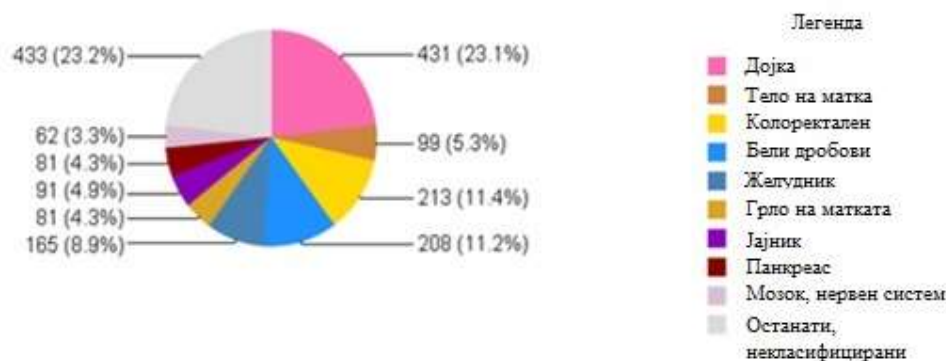
Карциномот на грлото на матката во Македонија е шести најчест карцином кај жените и десети воопшто, со 171 нов случај во 2012 година (Графикон 2) [2].

Графикон 2. Карцином на грлото на матката: инциденца и морталитет во Македонија [2]

Инциденца



Морталитет



1.1.3. ХИСТОПАТОЛОШКИ ТИПОВИ

Сквамозниот карцином на грлото на матката е најчест хистолошки поттип на карцином на грлото на матката. Околу 90% од случаите на карцином на грлото на матката се сквамозни карциноми, 10% се аденокарциноми и мал процент други видови. Макроскопски најчесто е егзофитичен, но може да расте и во ендоцервикалниот канал во ендофитична форма [6].

Kurman, Sarcangin, Herrington и Young, во четвртото издание на Светска здравствена организација класификација на тумори на женски репродуктивни органи од 2014 година, опишуваат различни варијанти на сквамозниот карцином на грлото на матката [7]:

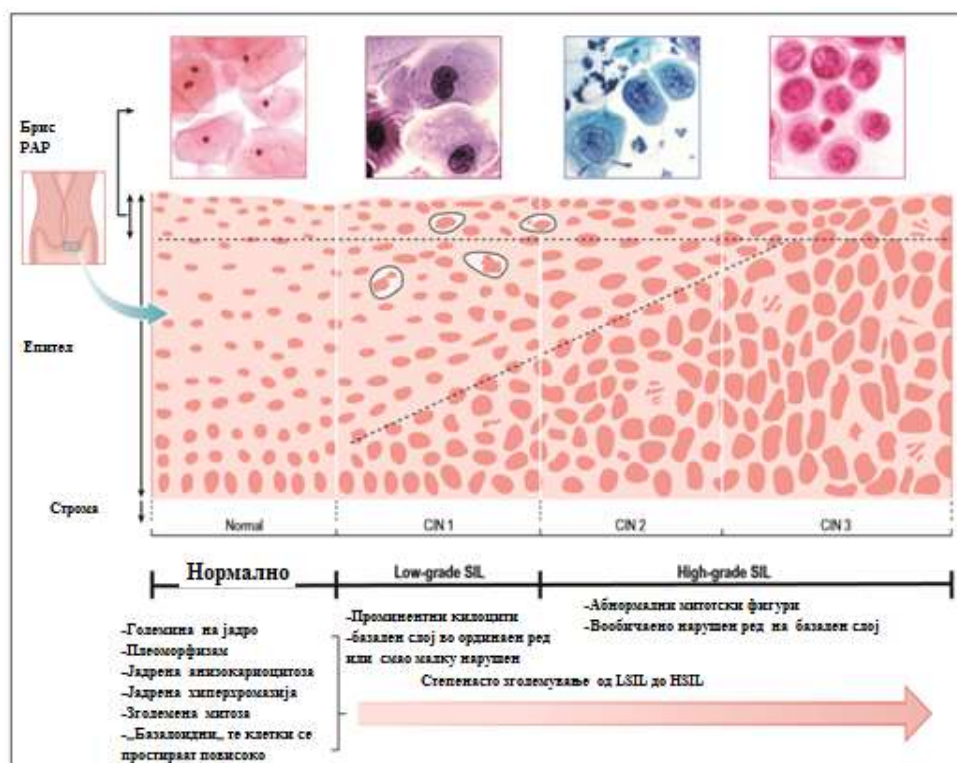
- кератинизирачки,
- некератинизирачки,
- папиларен,
- базалоиден,
- брадавичест,
- верукозен,
- сквамотранзиционален и
- лимфоцитоплазма-сличен

1.2. ИНТРАЕПИТЕЛНИ ЛЕЗИИ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА

1.2.1. КЛАСИФИКАЦИИ И ТЕМИНОЛОГИИ

На појавата на карциномот на грлото на матката му претходат различни форми на интраепителни лезии кои опфаќаат низа прогресивни морфолошки промени (Слика 1) [8], од продуктивна ХПВ-инфекција/лесен степен на дисплазија па до *in situ* карцином [9]. Оваа фаза генерално е асимптоматска и се случува во период од 10 до 20 години [10].

Слика 1. Морфолошки карактеристики и номенклатура на интраепителните лезии на грлото на матката [8]



Легенда: CIN, Cervical Intraepithelial Neoplasia (цервикална интраепителна неоплазма); SIL, Squamous Intraepithelial Lesion (сквамозна интраепителна лезија); Low-grade SIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; High-grade SIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Постојат многу системи кои се користат во различни делови на светот за класифицирање и именување на лезиите на грлото на матката, базирани на цитологија и хистологија (Табела 1). Повеќето употребувани класификациони системи содржат информации за природата на болеста што ги добиле во текот на изминатите неколку децении [11].

Табела 1. Сквამозни интраепителни лезии на грлото на матката: Терминологија за цитолошка и хистолошка интерпретација [11].

Цитолошка класификација (се користи за скрининг)		Хистолошка класификација (се користи за дијагноза)		
ПАП	Бетезда Систем	СЗО описни класификации	CIN	СЗО класификација од 2014 година
Класа I	Нормален наод	Нормален наод	Нормален наод	Нормален наод
Класа II	ASCUS ASC-H	Лесна дисплазија	CIN 1	LSIL
Класа III	LSIL			
Класа III	HSIL	Средна дисплазија	CIN 2	HSIL
Класа III	HSIL	Тешка дисплазија	CIN 3	
Класа IV	HSIL	In situ карцином	CIN 3	
Класа V	Инвазивен карцином	Инвазивен карцином	Инвазивен карцином	Инвазивен карцином

Легенда: CIN, Cervical Intraepithelial Neoplasia (цервикална интраепителна неоплазма); ASCUS, Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (атипични сквამозни клетки со недетерминирано значење); ASC-H, Atypical Squamous Cells cannot exclude a High-grade squamous intraepithelial lesion (атипични сквَامозни клетки кои не исклучуваат сквَامозна интраепителна лезија од висок степен); LSIL, Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion (сквَامозна интраепителна лезија од низок степен); HSIL, High-grade Squamous Intraepithelial Lesion (сквَامозна интраепителна лезија од висок степен); СЗО, Светска здравствена организација

Терминологијата CIN (Cervical Intraepithelial Neoplasia, цервикална интраепителна неоплазма) за прв пат е воведена 1968 година, за да се земе предвид природата на болеста опишана преку различниот степен на дисплазија (почнувајќи од CIN 1/лесен степен на дисплазија, преку CIN 2/умерен степен на дисплазија до CIN 3/тежок степен на дисплазија). CIN класификацијата сеуште се употребува во некои земји за цитолошка интерпретација, иако строго земено, треба да се користи за интерпретација на резултати од микроскопски преглед на ткивни примероци [12].

Корелацијата помеѓу различните цитолошки терминологији за интраепителните лезии на грлото на матката е прикажана во Табела 2.

Табела 2. Корелација помеѓу различни цитолошки терминологији за интраепителните лезии на грлото на матката [12].

Дисплазија терминологија (Reagan,1953)	Оригинална CIN терминологија (Richart,1968)	Бетезда Систем (SIL) терминологија (1991)	Модифицирана CIN терминологија
Нормален наод	Нормален наод	Во рамките на нормални граници, бенигни клеточни промени (инфекција)	Нормален наод
Атипичја	Коилоцитна атипичја, плоснат кондилом, без епителни промени	ASCUS/AGUS L- SIL	CIN од низок степен
Лесна дисплазија или лесна дискариоза	CIN1	L- SIL	CIN од низок степен
Средна дисплазија или средна дискариоза	CIN2	H- SIL	CIN од висок степен
Тешка дисплазија или тешка дискариоза	CIN3	H- SIL	CIN од висок степен
In situ карцином	CIN3	H- SIL	CIN од висок степен
Инвазивен карцином	Инвазивен карцином	Инвазивен карцином	Инвазивен карцином

Легенда: CIN, Cervical Intraepithelial Neoplasia (цервикална интраепителна неоплазма); ASCUS, Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance (атипични сквамозни клетки со недетерминирано значење); L-SIL, Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion (сквамозна интраепителна лезија од низок степен); H-SIL, High-grade Squamous Intraepithelial Lesion (сквамозна интраепителна лезија од висок степен)

Споредбата помеѓу различните цитолошки класификациони терминологији е прикажана во Табела 3.

Табела 3. Споредба на различни цитолошки класификациони терминологији [13]

BSCC 1986	BSCC (предложена нова класификација)	Bethesda-систем 2001	ЕСТР- терминологија	NHRMC - терминологија
Негативна	Негативна	Негативно за интраепителни лезии или малигнитет	Во граници на нормала	Негативна
Несоодветна	Несоодветна	Незадоволително за евалуација	Незадоволително поради :	Незадоволително
Гранични јадрени промени	1. Гранични промени, не е исклучена висок степен на дискариоза 2. Гранични промени во ендоцервикалните клетки 3. Гранични промени, сквамозни неклассифицирани на друго место.	1. Атипични сквамозни клетки ASC-US (со недетерминирано значење) ASC-H (не исклучува HSIL) 2. Атипични ендоцервикални./ ендометријални/ жлездени клетки : поинаку не специфицирани (NOS)- или во прилог на неопластични.	1. Колоцити (без промени сугестибилни за интраепителна неоплазија) 2. Сквамозни клеточни промени (дефинитивно не неопластични но заслужуваат рано повторување) 3. Атипични glandularни клетки (квалифицирани)	1. Низок степен на епителна абнормалност (LGEA) 2. Ниски неспецифични карактеристични промени на ХПВ 3. Инконклузивни (HGEA- не се исклучуваат)
Лесна дискариоза	Низок степен на дискариоза (ги вклучува сите случаи на коилоцитоза со тоа што не е присутен висок степен на дискариоза)	Сквамозна интраепителна лезија од низок степен (LSIL)	Лесна дисплазија (CIN 1)	LGEA- цервикална интраепителна неоплазија 1
Умерена дискариоза	Висок степен на дискариоза	Сквамозна интраепителна лезија од висок степен (HSIL)	Умерена дисплазија (CIN 2)	HGEA- цервикална интраепителна неоплазија 2
Тешка дискариоза	Висок степен на дискариоза	HSIL	1. Тешка дисплазија – (CIN 3) 2. Carcinoma in situ – (CIN 3)	HGEA- цервикална интраепителна неоплазија 3
Тешка дискариоза ?инвазивност	Висок степен на дискариоза ?инвазивност	Сквамоцелуларен карцином	1. Тешка дисплазија ?инвазивност 2. Инвазивен сквамоцелуларен карцином	Карцином
?Гландуларна неоплазија	?Гландуларна неоплазија, Ендоцервикално, Не-цервикално	Ендоцервикален in situ карцином Аденокарцином Ендоцервикален Ендометријален Екстраутерин NOS	Аденокарцином In situ аденокарцином Ендоцервикален Ендометријален Екстраутерин NOS	HGEA In situ аденокарцином Карцином

Легенда: BSCC, British Society for Clinical Cytopathology (Британско здружение за клиничка цитопатологија); ЕСТР, European Community Training Project (Европски проект за обука на заедницата); NHMRC, the National Health and Medical Research Council (Национален здравствен и медицински истражувачки совет)

Бетезда (Bethesda) класификациониот систем (Табела 4) е создаден во 1990 година од страна на Американскиот национален институт за рак. Во овој систем, кој се употребува само за цитолошки извештаи (т.е. за резултати од микроскопски преглед на брис), лезиите CIN 2 и CIN 3 се споени во една група, наречени сквамозни интраепителни лезии од висок степен (HSIL, High grade Squamous Intraepithelial Lesions), бидејќи цитолошки е тешко, ако не е невозможно, да се направи разлика помеѓу CIN 2 и CIN 3, додека пак CIN 1 лезиите се наречени сквамозни интраепителни лезии од низок степен (LSIL, Low-grade Squamous Intraepithelial Lesions). Бетезда системот во 2001 година, сквамозните атипични клеточни промени на грлото на матката ги поделил на: атипични сквамозни клеточни промени со недетерминирано значење (ASC-US, Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance) и атипични сквамозни клеточни промени кои не исклучуваат HSIL (ASC-H, Atypical Squamous Cells, cannot exclude a High grade Squamous Intraepithelial Lesion). Оваа класификација се препорачува од страна на Светската здравствена организација (WHO, World Health Organization) за цитолошки извештаи [14]

Табела 4. Бетезда систем [14]

<p>АДЕКВАТНОСТ НА ПРИМЕРОК</p> <ul style="list-style-type: none">• Задоволителен за евалуација• Незадоволителен за евалуација поради... (наведете причина) <p>ДЕСКРИПТИВНИ ДИЈАГНОЗИ</p> <p>НЕ неопластични</p> <ul style="list-style-type: none">• Негативни за интраепителни лезии или малигнитет <p>Останати</p> <ul style="list-style-type: none">• Ендометријални клетки (кај жени >45) <p>Епителни клеточни абнормалности</p> <p>Сквамозни клетки</p> <ul style="list-style-type: none">• Атипични сквамозни клетки Со недетерминирано значење (ASC-US) Не се исклучува HSIL (ASC-H)• Сквамозна интраепителна лезија од низок степен (LSIL) која опфаќа: HPV/лесна дисплазија/CIN 1• Сквамозна интраепителна лезија од висок степен (HSIL) која опфаќа: средна и тешка дисплазија, CIS/CIN2 и CIN3 Висок степен на сквамозна интраепителна лезија (HSIL) Суспектна за инвазија• Сквамозен инвазивен карцином <p>Гландуларни клетки</p> <ul style="list-style-type: none">• Атипични<ul style="list-style-type: none">• Ендоцерикални клетки• Ендометријални клетки• Гландуларни клетки• Атипични glandуларни/ендоцервикални клетки, наклонети кон неопластични• Ендоцервикален аденокарцинома in situ• Аденокарцином (ендоцервикален, ендометријален, екстраутерин, NOS)

Со цел да се обединат хистолошките терминологиите на ХПВ-асоцираните сквамозни интраепителни лезии на долниот аногенитален тракт, со оглед на биолошкиот аспект на различните фази на ХПВ-инфекцијата и нивниот однос кон експресија на биомаркери, Американското здружение на патолози и Американското здружение за колпоскопија и цервикална патологија со консензус во LAST (Lower Anogenital Squamous Terminology) проектот во 2012 година предложиле класификационен систем од две

нивоа: LSIL и HSIL. LSIL најчесто претставува продуктивна фаза на ХПВ инфекцијата, а HSIL најчесто претставува трансформациона фаза на ХПВ-инфекцијата [15].

Светската здравствена организација во 2014 година во својата Класификација на туморите на грлото на матката ја модифицирала терминологијата на интраепителните лезии на грлото на матката и го заменила терминот CIN со SIL со само два система на градација, слично како LAST-проектот и цитолошката терминологија [16].

Класификацијата на ХПВ-асоцираните интраепителни лезии на грлото на матката е прикажана во Табела 5.

Табела 5. Класификација на ХПВ-асоцираните интраепителни лезии на грлото на матката [17]

Назив	ХПВ категорија на ризик	Споредба на класификациони системи		
		CIN во два степен	Дисплазија/CIS	SIL
Егзофитичен кондилом	Низок ризик	_____	_____	LSIL
Сквамозен папилом	Низок ризик	_____	_____	LSIL
Плоснат кондилом	Низок и висок ризик	_____	_____	LSIL
CIN 1	Низок и висок ризик	CIN од низок степен	Лесна дисплазија	LSIL
CIN 2	Висок ризик	CIN од висок степен	Средна дисплазија	HSIL
CIN 3	Висок ризик	CIN од висок степен	Тешка дисплазија	HSIL
Легенда: CIN, Cervical Intraepithelial Neoplasia (цервикална интраепителна неоплазма); CIS, Carcinoma In Situ (In situ карцином); LSIL, Low grade Squamous Intraepithelial Lesion (сквамозна интраепителна лезија од низок степен); HSIL, High grade Squamous Intraepithelial Lesion (сквамозна интраепителна лезија од висок степен)				

1.2.2 ПРИРОДА НА ЦЕРВИКАЛНАТА ИНТРАЕПИТЕЛНА НЕОПЛАЗМА

Најцитирани статистички податоци за природата на CIN се податоците на Ostor од 1993 година кои се компилација на податоци од сите објавени трудови на оваа тема во периодот од 1952 до 1992, а вклучиле 4504 жени со CIN 1. Според тие податоци: 57% од CIN 1 назадувале во нормала, 32% перзистирале и 11% или напредувале или подоцна биле детектирани како CIN 3, а не биле откриени при почетната евалуација (Табела 6) [18].

Табела 6. Природа на CIN [18]

	Назаднување (%)	Перзистирање (%)	Напредување до CIS (%)	Напредување до инвазија (%)
HPV без CIN	80	15	5	0
CIN 1	57	32	11	1
CIN 2	43	35	22	5
CIN 3	32	<56	-	>12

Легенда: HPV, Human Papillomavirus (хуман папилома вирус); CIN, Cervical Intraepithelial Neoplasia (цервикална интраепителна неоплазма); CIS, Carcinoma in Situ (in situ карцином)

Веројатно најдобра документација за природата на CIN е истражувањето на Holowaty и сор. кое покажало дека 87,8% од интраепителните лезии од лесен степен по десетгодишно следење станале нормални, 2,8% напредувале во CIN 3 и 0,4% напредувале во инвазивен карцином [19].

Природата на однесување на сквамозните интраепителни лезии на грлото на матката од висок степен не е лесно да се предвиди, но фактот што тие може да напредуваат во инвазивен карцином налага активно менаџирање. Вреди да се спомене истражувањето на Loorik и сор. од 2016 година, работено на жени помлади од 25 години, кое покажало спонтанa регресија на CIN 2 кај повеќе од 70% од жените [20].

1.2.3. МЕТОДИ ЗА ДИЈАГНОСТИКА

Цитологија, колпоскопија и хистопатологија се стандардни методи за дијагностицирање на интраепителните лезии на грлото на матката. Ако правилно се комбинираат, тие може да ги детектираат практично сите лезии на грлото на матката [21].

1.2.3.1. Цитологија

Детекцијата со помош на цитологија е релативно едноставна метода, се состои од анализа на примерок од излущени клетки од грлото на матката и обоени со Папаниколау (ПАП) техника. Многу години ПАП-тестот се употребува за откривање на премалигните и малигните заболувања на грлото на матката. Докажан е во пракса, има ниска цена и лесно се употребува [22].

Конвенционалниот ПАП-тест поединечно, одвоено собира клетки од ектоцервикалниот епител со дрвена шпатула, а од ектоцервикалниот епител со cyto-brush четкичка, додека liquid-based ПАП-тестот заедно, во еден акт собира клетки и од екто- и од ектоцервикалниот епител на грлото на матката со помош на cyto-brush четкичка. По фиксирање и боене, цитолошката проценка се врши врз основа на јадрени и цитоплазматски промени. Резултатите се изразуваат со помош на Папаниколау, дисплазија или Бетезда класификациониот систем [23].

Во цитологијата, интерпретирањето на CIN во голема мера е базирано на нуклеарни карактеристики. Бројот на абнормално клетки и релативната нуклеарна површина се зголемуваат со степенот на лезијата. Кај CIN 1 клетките покажуваат малку зголемено јадро (помалку од една третина од вкупната површина на клетката), некои анизокариоза фини гранулации и рамномерно распореден хроматин и блага хиперхромазија. Цитоплазматската граница е добро диференцирана. Кај CIN 2 клетките и јадрата се разликуваат по големина и форма. Нуклеарно-цитоплазматскиот сооднос е зголемен (јадро помалку од половина од клеточната површина). Нуклеарниот хроматин е умерено хиперхроматски и покажува неправилна дистрибуција. Кај CIN 3 нуклеарно-цитоплазматскиот сооднос е висок (јадро од најмалку две третини од клеточната површина). Јадрата се хиперхроматски со грубо гранулиран и неправилно дистрибуиран хроматин. Клетките типични за *in situ* карцином се наредени поединечно или во синцицијални агрегати (нејасни клеточни граници и преклопувачки јадра). Цитоплазмата се јавува или е отсутна; јадрата се кружни до овални [7].

Иако употребата на цитологијата во скринингот значително го намалила морбидитетот и морталитетот од инвазивен карцином на грлото на матката, постои загриженост за ниската сензитивност на цитологијата во откривање на интраепителните лезии на грлото на матката. Цитологијата има висока специфичност (70-95%), но само умерена сензитивност (~50%), што се зголемува со редовни тестирања. Точноста на цитологијата зависи од техниката на земање брис (особено за ектоцервикални клетки) и од интерпретација на наодите. Се поголемата стапка на лажно негативни резултати, особено во дијагностика на преинвазивните лезии на грлото на матката, довела до развој на нови дијагностички методи за скрининг како што е тестирањето за ХПВ-инфекција [24].

1.2.3.2. ХПВ-тестирање

Тестирањето за високоризичните ХПВ-генотипови е предложено со цел да се оптимизира конвенционалниот скрининг. ХПВ-ДНК тестирањето како примарен скрининг-тест е објективен и репродуктабилен. Тој има висока сензитивност (80-100%) за интраепителните лезии на грлото на матката од висок степен, но специфичноста на овој тест е ниска. Неговата позитивна предиктивна вредност значително се зголемува после возраст од 30 години. Но, и покрај сите аргументи за поддршка на ХПВ тестирањето како примарен скрининг за карциномот на грлото на матката, се уште не е достапно поради високата цена. Во моментот ХПВ-тест како примарен тест за скрининг на карциномот на грлото на матката се употребува само во неколку земји (Холандија, Турција). Најмногу се употребува за тријажа на жени со ASC-US и LSIL и следење HSIL после третман [25].

Европските насоки од 2015 година објавени од страна на Европската комисија го поддржуваат примарниот ХПВ-скрининг со интервал од пет години за жени постари од 30 години со излезна возраст за негативни жени на возраст од 60 до 65 години [26]. Оваа препорака е речиси идентична со новата австралиска национална скрининг-програма. Американските насоки од 2016 година се залагаат за котестирање со цитологија и ХПВ-тестирање на секои пет години во истата возрастна група [27].

Поради слабата сензитивност на цитологијата и слабата специфичност на ХПВ-ДНК тестовите особено кај млади жени, постои потреба од порани и помоќни предиктори за детекција и прогресија на високоризичните ХПВ-асоцирани интраепителните лезии на грлото на матката. Вирусните онкопротеини Е6/Е7 се предиктивни биомаркери за детекција на високоризичните ХПВ-асоцирани сквамозни интраепителни лезии на грлото на матката, а ХПВ Е6/Е7 иРНА-тестирањето има поголема специфичност и поголема позитивна предиктивна вредност од ХПВ-ДНК тестирањето [28].

1.2.3.3 Колпоскопија

Колпоскопијата е метод на директен визуелен преглед на грлото на матката преку специјално дизајниран оптички инструмент (колпоскоп) после примена на 3-5% оцетна киселина и Луголов раствор. После примена на оцетна киселина, нормалниот епител останува непроменет, додека абнормалните клетки се обојуваат бело. После примена на Луголов раствор, нормалниот епител се бои махагони-црвено, додека абнормалните

клетки не се бојат. Интензитетот на бојата зависи од степенот на лезијата. Врз основа на обоеноста, границите, површината и цртежот на крвните садови, лезиите се класифицираат како нормални, абнормални или сомнителни [29].

Улогата на колпоскопијата е во дефинирање на големината и ширината на лезијата, откривање на ектоцервикална и вагинална инволвираност, како и постоење на мултицентрични цервикални и вагинални лезии. Покрај тоа, колпоскопијата помага во избор на најсоодветни места за биопсија. Дијагностичката точност на колпоскопијата надминува 80%; во случај на ектоцервикални лезии колпоскопите наоди може да бидат незадоволителни. Комбинација на цитологија и колпоскопија ја зголемува точноста на откривање на карциномот и интраепителните лезии на грлото на матката [30].

1.2.3.4. Хистопатологија

Конечната дијагноза на сквамозните интраепителни лезии на грлото на матката е заснована врз база на хистопатологија. Материјалот од ектоцервикалниот епител се добива со биопсија, а од ектоцервикалниот со киретажа. Во некои случаи дијагнозата е можна со ексцизиона биопсија или со “јамка” ексцизија. Потоа примерокот се обработува во полусериски пресеци и се испитува за присуство на интраепителна лезија. Хистолошкиот извештај треба да содржи запис за димензиите на примерокот и статус на ресекционите линии во однос на интраепителната или инвазивна болест [31].

Хистолошки карактеристики на диференцијација, созревање и стратификација на клетките и нуклеарните абнормалности (големината на јадрата, нуклеарно-цитоплазматскиот однос, интензитетот на нуклеарното бојење и варијациите во нуклеарната големина-анизокариоза, митотични фигури) се користат за да се процени дали има CIN. Оценувањето на CIN се базира на соодносот на дебелина на епителот кој покажува зрели и диференцирани клетки. Кај CIN 1 созревањето е присутно во горните две третини од епителот, а површните клетки содржат променлива, но обично лесна атипичност, која може да вклучи вирусен цитопатски ефект (коилоцитоза). Нуклеарните абнормалности се присутни насекаде но се мали. Митотичните фигури се присутни во базалната третина и не се многубројни. Абнормални форми на митози се ретки. Кај CIN 2 созревањето е присутно во горната половина од епителот, а нуклеарната атипичност е видлива и во горниот и во долниот епителен слој. Митотичните фигури обично се

ограничени на базалните две третини од епителот и може да се видат абнормални форми. Кај CIN 3 созревањето (вклучувајќи и површна кератинизација) може да биде отсутно или ограничено на површната третина од епителот. Нуклеарни абнормалности се означени низ поголемиот дел или целата дебелина на епителот. Митотичните фигури можат да бидат бројни и да се најдат на сите нивоа на епителот, абнормални митози се чести [7].

Во дијагностика и третман на интраепителните лезии на грлото на матката блиската соработка помеѓу цитологот, колпоскопистот и хистопатологот е од најголема важност.

1.3. РИЗИК-ФАКТОРИ

Карциномот и интраепителните лезии на грлото на матката се асоцирани со неколку ризик-фактори. Најчест ризик-фактор е инфекција со хуман папилома вирусот (ХПВ), особено со високоризичните ХПВ-генотипови [32,33]. Истражувањата покажале позитивна корелација на карциномот на грлото на матката со: пушење цигари, низок социоекономски статус, диета, ран прв сексуален однос, рана прва бременост, мултипаритет, промискуитет, долготрајна употреба на орални хормонски контрацептивни средства, имунокомпромитиран статус, бактериска вагиноза и сексуално преносливи болести и фамилијарна историја за карцином на грлото на матката [34,35]. Овие ризик-кофактори во основа ја зголемуваат веројатноста од изложување на високоризичен ХПВ-генотип [36].

1.3.1. ПУШЕЊЕ ЦИГАРИ

Жените кои пушат цигари имаат четири пати поголем ризик од карцином на грлото на матката, отколку непушачите. Дури и жените кои испушиле само 100 цигари во текот на нивниот живот, имаат двојно поголем ризик од карцином на грлото на матката. Ризикот кај жените е поголем под 30-годишна возраст, отколку кај тие над оваа возраст [37].

Составните елементи на чадот од цигарите, вклучувајќи мутагени и карциногенот 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) се детектирани во цервикалната лигавица на пушачите, во дози за 40 до 50 пати поголеми отколку оние во серумот. Пушењето е ризик-фактор за сквамозни интраепителни лезии и сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката идентично и кај ХПВ-позитивните и кај ХПВ-негативните жени. Релативниот ризик за карцином на грлото на матката е за два до четири пати поголем за сегашни или поранешни пушачи во споредба со тие кои никогаш не пушеле цигари [38].

Податоците од 23 епидемиолошки студии, работени на 13 541 жена со карцином на грлото на матката и 23 017 жени без карцином на грлото на матката, покажале сигнификатно поголем ризик за сквамозен карцином на грлото на матката кај пушачите отколку кај непушачите; (RR=1,60; 95% CI: 1,48-1,73) [39]. Нордиската ретроспективна студија од 2009 година покажала ризик од 2,7 за жените со никотин во серумот, после контрола за присуство на ХПВ-16/18 антитела [40].

1.3.2. НИЗОК СОЦИО-ЕКОНОМСКИ СТАНДАРД

Нискиот економски стандард, неможноста за пристап и поврзување на жената со службите за чување и унапредување на здравјето на жената, вклучувајќи ги редовните гинеколошки прегледи, скрининг-програмите и третманот на интраепителните лезии на грлото на матката е можен ризик-фактор за карцином на грлото на матката и неговите интраепителни лезии [41].

1.3.3. ДИЕТА

Диеталната исхрана сиромашна со зеленчук и овошје, особено со жолта и портокалова боја, сиромашна со семкасти и јаткасти плодови, сиромашна со незаситени масни киселини, го зголемува ризикот од интраепителни лезии и од инвазивен карцином на грлото на матката. Од хранливите материи најзначајна улога имаат: бета-каротенот, фолната киселина, лутеинот, витамините А, С, Е, В6 и В12. Кај 67% од жените со карцином на грлото на матката е детектирано ниско ниво на барем еден од овие хранливи материи, додека кај 38% е детектирано ниско ниво на повеќе хранливи материи [42]. Во бразилската студија на Tomita и сор. од 2009 година, била најдена негативна асоцијација помеѓу карциномот на грлото на матката и високото серумско ниво на бета-каротен [43]. Во американската студија на пресек од 2008 година, работена во Бафало на 239 жени со сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката, била најдена асоцијација помеѓу карциномот на грлото на матката и диеталната исхрана сиромашна со алфа и бета каротен, лутеин, фолна киселина и витамините А, С и Е [44].

1.3.4. РАН ПРВ СЕКСУАЛЕН ОДНОС

Сексуалниот однос пред 17-тата година од животот е асоциран со зголемен ризик од интраепителни лезии и од карцином на грлото на матката подоцна во животот. Раниот прв сексуален однос претставува предиктор за бројот на сексуални партнери, додека пак бројот на сексуални партнери е асоциран со ХПВ-инфекција. Во студијата на Jessica Kahn од 2002 година, работена на 560 сексуално активни студентки, средна возраст на првиот сексуален однос е 16,7 (± 1.8) години и била најдена асоцијација помеѓу раниот прв сексуален однос и ХПВ-инфекцијата ($\beta = -0,20$; odds ratio: 0,82; 95% CI: 0,74-0,90) [45]. Податоците од 21 епидемиолошка студија, работени на 5 074 жени со и 16 137 без карцином на грлото на матката, покажале релативен ризик од 3,52 (95% CI: 3,04-

4,08) од карцином на грлото на матката кај жените кои имале прв сексуален однос пред 14-тата година од животот [46].

1.3.5. РАНА ПРВА БРЕМЕНОСТ И МУЛТИПАРИТЕТ

Бремености пред 20-годишна возраст, подоцна во животот, се асоцирани со зголемен ризик од карцином на грлото на матката [47]. Во ретроспективната студија на Crafton и сор., работена на 517 жени со карцином на грлото на матката, во периодот од јануари 2000 година до декември 2011 година, најдена била асоцијација помеѓу карциномот на грлото на матката и неговите интраепителни лезии и паритет повеќе од две, особено повеќе од пет [48]. Во мултицентричната студијата на Munoz и сор. од 2002 година, бил најден релативен ризик од 3,8 од сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката, меѓу жените со пет или повеќе од пет породувања [49]. Во финската студија од 2004 година, работена на 86 978 мултипари, биле детектирани 220 жени со сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката (SIR 1,21; 95% CI: 1,05-1,40) и 178 жени со сквамозна интраепителни лезија од висок степен (SIR 1,37; 95% CI: 1,17-1,58) [50].

1.3.6. ПОВЕЌЕ СЕКСУАЛНИ ПАРТНЕРИ

Со зголемување на бројот на сексуални партнери, како машки така и женски, се зголемува веројатноста за добивање ХПВ-инфекција, а со тоа се зголемува ризикот од сквамозни интраепителни лезии и инвазивен сквамозен карцином на грлото на матката. Податоците од 12 епидемиолошки студии, работени на 8 097 жени со инвазивен сквамозен карцином на грлото на матката, покажале зголемување на ризикот од сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката со зголемување на бројот на сексуални партнери. Кај жените со еден партнер бил најден релативен ризик од 1,00 (0,94-1,06), кај жените со два до пет партнера 2,00 (1,91-2,09), додека кај жените со повеќе од шест партнера релативниот ризик бил 2,98 (2,62-3,4), p-trend<0,001 [51]. Зголемен ризик од ХПВ-инфекција, сквамозни интраепителни лезии и инвазивен сквамозен карцином на грлото на матката, особено е најден кај сексуалните работнички [52].

1.3.7. ДОЛГОТРАЈНА УПОТРЕБА НА ОРАЛНИ ХОРМОНСКИ КОНТРАЦЕПТИВНИ СРЕДСТВА

Употребата на комбинирани орални хормонски контрацептивни средства е асоцирана со зголемен ризик од инвазивен сквамозен карцином на грлото на матката, но се потенцира дека таа асоцијација може да биде како резултат на промени на грлото на матката, како на пример „ектопија” или како резултат на неадекватно регулирање на промените во сексуалното однесување. Долготрајната употребата на орални хормонски контрацептивни средства нема директно влијание на добивање или на перзистирање на ХПВ-инфекцијата, туку има влијание во прогресија на продуктивната ХПВ-инфекција во карцином на грлото на матката [53]. Податоците од 24 епидемиолошки студии, работени на 16 573 жени со карцином на грлото на матката и 35 509 жени без карцином на грлото на матката, покажале дека ризикот од карцином на грлото на матката се зголемува со зголемување на временскиот интервал на употреба на оралните хормонски контрацептивни средства. Релативниот ризик за 5 и над 5 годишна употреба бил 1,90 (95% CI: 1,69-2,31) [54].

Редовен скрининг во согласност со националните протоколи, се препорачува на сите сексуално активни жени кај кои е индицирана употребата на орални хормонски контрацептивни средства. Позитивна историја за интраепителна лезија или ХПВ-инфекција не е контраиндикација за употреба на орална хормонска контрацептивна терапија [55].

1.3.8. ИМУНОКОМПРОМИТИРАН СТАТУС

Податоците од бројни истражувања покажеле зголемен ризик од ХПВ-инфекција, интраепителни лезии и карцином на грлото на матката кај жени со имунодефициентни болести, особено кај жени кои се на имunosупресивна терапија и жени со хуман имунодефициентна вирусна (ХИВ) инфекција [56,57]. Мета-анализата на Grulich и сор. од 2007 година, покажала шест пати поголем ризик од карцином на грлото на матката кај жени со ХИВ-инфекција и два пати поголем ризик кај жени со претходна хируршка трансплантација [58].

1.3.9. СЕКСУАЛНО ПРЕНОСЛИВИ БОЛЕСТИ

Жените инфицирани со два или повеќе ХПВ-генотипа имаат поголем ризик од преканцерозни лезии на грлото на матката, отколку тие со единечна инфекција. Коинфекциите со *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* и *Herpes simplex type-2* вирусот, можат да го зголемат ризикот од карцином на грлото на матката, кај жените со ХПВ-инфекција. Локалното инфективно воспаление може да стимулира цитокини, кои имаат влијание на експресија на ХПВ [59]. Податоците од бразилската студија, работена во периодот од август 2012 година до март 2013 година, на 838 жени, од кои 224 со цитолошки наод на сквамозна интраепителни лезија на грлото на матката и 614 со нормален цитолошки наод, покажала зголемен ризик од сквамозна интраепителни лезија на грлото на матката од висок степен кај жените со високоризичен ХПВ и *Chlamydia trachomatis* (релативен ризик: 5,765; 95% CI: 1,993-16,68, $p=0,0033$), кај жените со високоризичен ХПВ и *Neisseria gonorrhoeae* (релативен ризик: 10,96; 95% CI: 3,065-39,23, $p<0,0001$) и кај жените со високоризичен ХПВ и *Trichomonas vaginalis* (релативен ризик: 5,765, 95% CI: 2,279-14,58, $p<0,0001$) [60].

1.4. ХУМАН ПАПИЛОМА ВИРУС ИНФЕКЦИЈА

1.4.1. КАРАКТЕРИСТИКИ

ХПВ-инфекциите се едни од најчестите сексуално преносливи инфекции со вирусна етиологија [61].

Четириите најзначајни карактеристики на ХПВ-инфекцијата се [62]:

1. Распространета е насекаде меѓу луѓето, се појавуваат речиси кај сите лица од двата пола во одреден период од животот, најчесто ја афектира младата сексуално активна популација;
2. ХПВ инфекцијата е со највисока стапка на фреквенција во раните репродуктивни години;
3. ХПВ инфекциите најчесто се краткотрајни, асимптоматски, спонтано исчезнуваат и само мал процент од нив имаат потреба од третман и
4. Само перзистентните високоризични ХПВ-инфекции претставуваат главен ризик-фактор за појава на сквамозните интраепителните лезии и на сквамозниот инвазивен карциномот на грлото на матката [62].

1.4.2. ИСТОРИЈАТ

Папилома вирусите се откриени во разни видови на поразвиени `рбетници. Хуман папилома вирусите се исклучиво специфични видови, вкрстените инфекции помеѓу различните видови не се случуваат дури ни во експериментални услови. Инфективната природа на човековите брадавици за прв пат била видена во доцните години на 19-от век, кога било покажано дека екстракт од човекови брадавици, инјектиран во луѓе, предизвикува брадавици. Во 1907 година Ciuffo прв претпоставил дека инфективниот причинител на брадавиците е вирус, после можноста да пренесе инфекција низ слободни клеточни филтрати. Наспроти овие рани набљудувања, во тоа време ХП-вирусите не биле проучувани со стандардни вирусолошки методи, бидејќи не биле успешно раширени во култура на ткива или во стандардни животински лаборатории [63-65].

Првите објавени извештаи за поврзаноста на инфективните причинители и карциномите на женскиот генитале тракт датираат од крајот на 19 век. Domenico Rigoni

Stern прв покажал дека жените со повеќе сексуални односи, со повеќе сексуални партнери, имаат поголем ризик за карцином на грлото на матката. Со употребата на електронскиот микроскоп во 1940 година, кога биле видени делови од вирусот првично во брадавиците на кожата, а потоа и во гениталните брадавици, била потврдена вирусната етиологија на овие промени. Типичните цитоморфолошки промени кои асоцирале на ХПВ-инфекција, за прв пат биле документирани од страна на Ауе во 1949 година [66].

Papanicolaou во неговиот атлас објавен во 1954 година, покажал и опишал клеточни промени асоцирани со ХПВ-инфекција [67]. Koss и Durffe во 1956 година, го употребиле терминот „коилоцитна атипичност“ за да ги опишат површните епителни промени на грлото на матката и нивната поврзаност со карциномот на грлото на матката [68]. Ауе во 1960 година за прв пат ја прикажал веројатната вирусна етиологија на диспластично променетите лезии на грлото на матката [69]. Во шеесеттите година од минатиот век се претпоставувало дека постои само еден генотип на ХПВ [70]. Со појавата на молекуларните биолошки методи во седумдесеттите години од минатиот век, биле препознаени повеќе од 70 различни типови на ХПВ [71,72].

Harald zur Hausen во 1976 година ја објавил својата хипотеза за веројатната поврзаност на карциномот на грлото на матката и неговите интраепителни лезии со идентичен причинител (ХПВ), кој предизвикува и хиперпролиферативни промени на гениталниот тракт [73]. Во 1980 година, во биопсии на генитални брадавици бил идентификуван нов генотип на ХПВ кој бил означен како ХПВ-6 [74]. Две години подоцна, во 1982 година од ларингеална брадавица бил изолиран друг генотип на ХПВ, кој бил означен како ХПВ-11 [75]. Од биоптични фрагменти на карцином на грлото на матката во 1984 година биле изолирани генотиповите на ХПВ-16 и -18 [76].

Откривањето на реверзната транскриптаза, на рекомбинантните дезоксирибонуклеински (ДНК) технологии, на информативната рибонуклеинска киселина (иРНК) и на онкогените, отворило ново поглавје во вирусната онкологија [77]. Southern во 1975 година ја опишал хибридизацијата на нуклеинската киселина [78]. Во 1978 година Brahic и Haase ја откриле *in situ* хибридизацијата [79]. Во 1987 година Gupta и сор. за прв пат употребиле имуноцитохемиска проба за презентација на вирусниот геном во вирусно инфицираните диспластични клетки на грлото на матката

[80]. Stoler и Broker во 1986 година ја откриле и први ја употребиле РНК (рибонуклеинска киселина) пробата [81].

Круна на сите досегашни истражувања се откривањето на превентивните вакцини кои станаа комерцијални во 2006 година и Нобеловата награда за физиологија и медицина во 2008 година.

1.4.3. ЕПИДЕМИОЛОГИЈА

Епидемиолошките истражувања покажуваат дека 50% од жените се инфицираат со ХПВ во тек на првите две години од почетокот на сексуалниот живот. Околу 80% од сексуално активните жени до својата 50-годишна возраст ќе добијат генитална ХПВ-инфекција [82,83]. Се смета дека околу 20% од жените се инфицирани со еден или повеќе ХПВ-генотипови. Инфекцијата најчесто исчезнува за неколку месеци, а само 1% од тие жени ќе развијат релевантни, интраепителни лезии или инвазивен карцином на грлото на матката [84,85]. Околу 50% од нив спонтано ќе исчезнат за 6 до 18 месеци од заразувањето, додека 80-90% ќе исчезнат во рок од 2 до 5 години [86,87].

Младата популација на жени, од 18 до 25 година, има највисока стапка на ХПВ-инфекција. По 25-тата година од животот, инциденцата на ХПВ-инфекцијата се намалува, за да по 45-тата година од животот го достигне своето второ највисоко ниво. Неколку студии покажале дека инциденцата на ХПВ-инфекцијата со високоризични ХПВ-генотипови се движи помеѓу 3% и 25% [88].

Точната преваленца тешко може да се утврди, поради големиот број асимптоматски и субклинички инфекции, како и поради тешкото разликување на рецидиви и реинфекции. Процентата глобална преваленца на ХПВ-инфекцијата на грлото на матката кај жени со нормален цитолошки наод е 10-12%, со варијации од 1-26% во зависност од географската припадност и возраста [89]. Кај жените со ХИВ и со нормален цитолошки наод на грлото на матката, ХПВ-инфекцијата е детектирана кај 36% [90].

Мета-анализата на Bruni и сор. од 2010 година, која вклучила 194 студии од пет континенти, работена на еден милион жени со нормален цитолошки наод на грлото на матката, покажала дека со најголема проценета преваленца на ХПВ-инфекција од 24%

е Супсахарска Африка, додека со помала преваленца следат: Јужна Америка и Карибите со 16%, Источна Европа и Југоисточна Азија со 14%. Најниска преваленца од 5% била проценета во Северна Америка, но со значителни варијации помеѓу студиите спроведени во САД; 19 студии покажале ХПВ-преваленци од 3-80%. Истата мета-анализа покажала дека преваленцата на ХПВ-инфекцијата варира во зависност од возраста. Со најголема проценета преваленца од 24% била младата женска популација до 25 годишна возраст. Со нешто помала преваленца била женската популација на возраст од околу 50 години во Средна и Јужна Америка и Западна Африка [89].

Инциденцата и преваленцата на ХПВ-инфекцијата во голема мерка зависи од методата за детекција на ХПВ-инфекцијата и од мострата на населението [91]. Според Trottier проценката на овие параметри врз база на присуство или отсуство на генитални брадавици е груба, додека проценката врз база на детекција на ДНК од ХПВ покажува највисоки стапки (20% кај општата популација и 75% кај адолесцентите и кај ризичната популација). Според него преваленцата на ХПВ инфекцијата кај асимптоматските жени, врз основа на тестот на полимераза верижна реакција (PCR, polymerase change reaction), се движи од 2% до 44%, во различни популации [92].

Периодот на инкубација за ХПВ-инфекцијата варира во голема мера, но е околу 3 месеци. Сепак болест може да се појави после неколку недели или години по изложувањето. Просечниот животен век се движи од 6 до 18 месеци. Степенот и времетраењето на имунитетот не е познат. Се претпоставува дека 50-60% од жените развиваат серумски антители [93].

Неколку кофактори се асоцирани со прогресија на ХПВ-инфекцијата, од кои позначајни се: возраст над 30 години, пушење цигари, мултипаритет, употреба на орални хормонски контрацептивни средства, имunosупресија, бактериска вагиноза и дебелина [94].

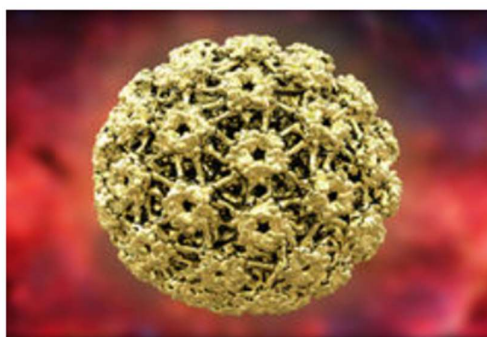
ХПВ-инфекцијата се пренесува со директен контакт кожа-кожа или лигавица-лигавица со инфицирано лице. Најчесто преносот се врши при вагинален или анален секс [95]. Истражувања работени на ХИВ-негативни хетеросексуални двојки, покажале дека најверојатно постојат и други начини на пренесување на ХПВ-инфекцијата; од раце на гениталии и преку вакцинирање, а не е исклучена и можноста преку предмети, долна облека и прибор за лична хигиена. Употребата на презервативите не значи и сигурна заштита од ХПВ-инфекција [96]. ХПВ-инфекцијата е ризик фактор и за орален

карцином, но пренесувањето на ХПВ-инфекцијата по орално-вагинален пат е многу ретка [95]. ХПВ исто така може да се најде во аналниот канал на жената. Независно од серолошкиот ХИВ-статус, аналната ХПВ-инфекција е почеста од ХПВ-инфекцијата на грлото на матката [97,98]. Сепак аналната ХПВ-инфекција побрзо исчезнува од ХПВ-инфекцијата на грлото на матката, особено кај ХИВ-негативните жени [99]. Можен е и вертикален пренос на ХПВ-инфекцијата, од мајка на дете. Истата може да се случи преку амнионската течност или преку родилните патишта на мајката [100].

1.4.4. ЕТИОЛОГИЈА

Хуман папилома вирусите се многу разновидна група вируси кои во тек на изминатите 350 милиони години еволуирале во генотипови специфични на клетката домаќин и на одредени ткива. Показуваат афинитет за плочестиот епител и предизвикуваат инфекции со карактеристичен, необичен природен тек, кој е најчесто субклинички, со можни ретки, ама сериозни последици. Вирусот не влегува во крвта. Повеќе студии укажуваат дека овие вируси се многу стабилни, не ја менуваат клетката домаќин, не се рекомбинираат и не ги менуваат своите геномски организации [101].

Слика 2. Хуман папилома вирус [102]

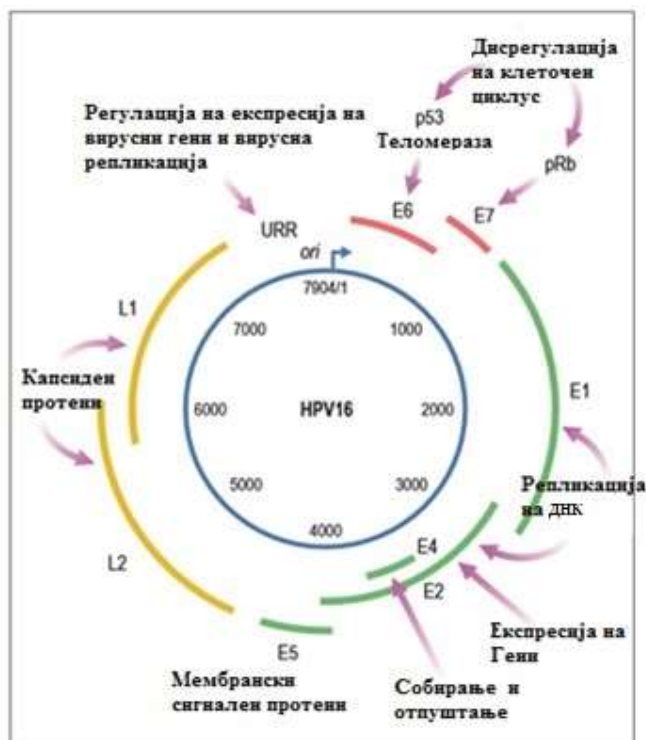


Хуман папилома вирусите се членови на фамилијата Papillomaviridae. Тие се мали, необвиткани вируси, релативно отпорни на топлина, киселини, етер, 70% алкохол и органски растворувачи, со дијаметар од околу 55 nm. Имаат надворешен протеин капсид, составен од 72 капсомери, наредени во икозаедрална симетрија, без липидна мембрана. Геномот им е составен од двојно-верижна кружна ДНК (Слика 2), со приближно 8000 базни парови, со должина од околу 8 kb и релативна молекулска маса на геномот од 3 до 5 милиони далтони. До денес се познати околу 200 генотипови на ХПВ, а секојдневно се откриваат нови, меѓу себе се разликуваат по ДНК-секвенцата. Но, само околу 40 од нив имаат афинитет кон

аногениталниот епител. Групирани се во 49 видови, кои пак се групирани во 5 родови [103].

Организацијата на ХПВ-геномот е прикажана на Слика 3.

Слика 3. Организација на ХПВ-геномот [104].



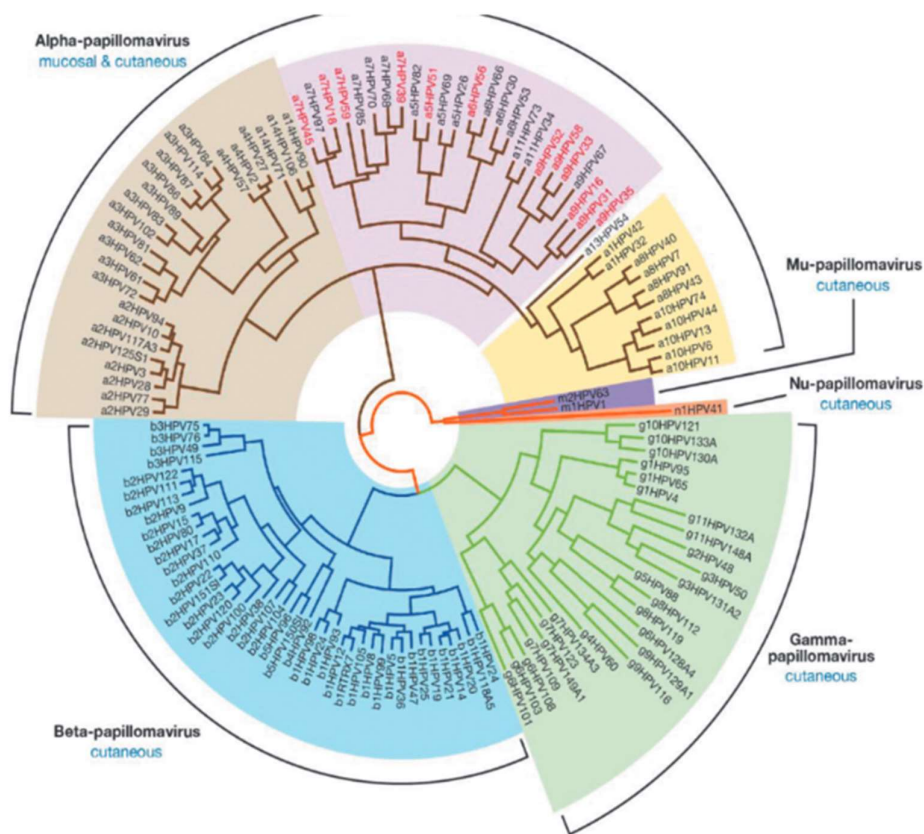
Постои различна поделба на ХПВ и тоа: според генетската сродност, според онкогениот потенцијал и според афинитетот кон одредени ткива. Класификацијата на ХПВ-генотиповите, подтиповите и варијантите се утврдува според нуклеотидната секвенца на генот L1, кој е најстариот конзервиран ген од геномот на ХПВ и декодира капсидни протеини. Различни типови се утврдени со низа разлики на нуклеотидната секвенца повеќе од 10%, подтиповите со низа разлики од 2-

10% и варијантите со низа разлики помали од 2% [105].

Според генетската сродност групирани се во 5 родови: алфа, бета, гама, му и ну.

Доминантен е алфа-родот, кој е асоциран со кожни и мукозни аногенитални инфекции и карциноми. Додека бета, гама, му и ну родовите се асоцирани со бенигни кожни лезии, но тешко се менаџираат кај имунокомпромитирани поединци (Слика 4) [103].

Слика 4. Алфа, бета, гама, му и ну папилома вируси [103]



Легенда: со кафеава боја означени се ниско-ризичните кожни алфа-папилома вируси;
со жолта боја означени се ниско-ризичните мукозни алфа-папилома вируси;
со розева боја означени се високо-ризичните алфа-папилома вируси

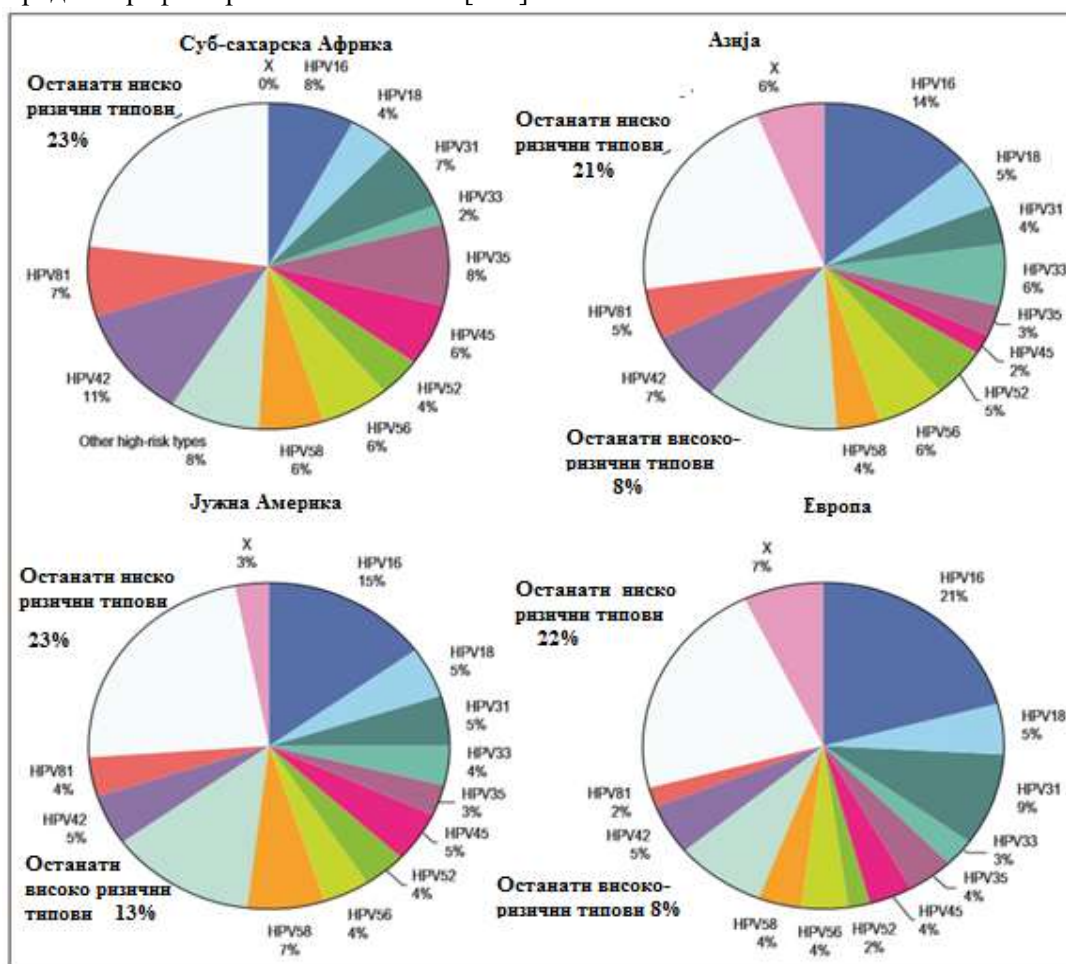
Според онкогениот потенцијал се делат на нискоризични и високоризични. Во нискоризични спаѓаат: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81. Во зависност од нивната асоцијација со карциномот на грлото на матката, Меѓународната агенција за истражување на ракот (IARC, International Agency for Research on Cancer), високоризичните ХПВ-генотипови ги класифицира во две класи: класа 1; силно асоцирани со карциномот на грлото на матката: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 и класа 2; послабо асоцирани со карциномот на грлото на матката: 53, 66, 67, 68, 70, 73, 82 [106].

Во зависност од типот на епителот кој го инфицираат, ХПВ-генотиповите често се нарекуваат како „кожни“ и „мукозни“ типови. Генерално, кожните типови го инфицираат кератинизирачкиот епител (особено кожата на рацете и нозете), додека мукозните типови го инфицираат некератинизирачкиот епител пред се епителот на

аногениталниот тракт, иако тие можат да се најдат и во оралната мукоза, коњуктива и респираторниот тракт [107].

Застапеноста на генопитовите варира во однос на географските регии. ХПВ-16 е најчест генотип, со преваленца од 1,8% кај сите жени и 19,7% меѓу ХПВ-позитивните жени. Дефинирани се пет варијанти за ХПВ-16: европски (Е), азиски (As), азиско-американски (AA), африкански-1 (Af1), африкански-2 (Af2). азиско-американската варијанта има засилена онкогенска активност споредено со Европската, што се должи на зголемената транскрипциска активност [108].

Графикон 3. Преваленца на ХПВ-генотиповите кај жени со нормален цитолошки наод, според географски региони во светот [109].



Во Европа и Северна Америка ХПВ-16 е најчест високоризичен генотип. Во рамките на европската популација ХПВ-16 има преваленца од 21%, по него следат: ХПВ-31 со 9% и ХПВ-18 со 5% (Графикон 3) [109]. Во Европа преваленцата на високоризичните

ХПВ-генотипови варира помеѓу 3% во Грција и Шпанија и околу 15% во Велика Британија и Франција. Кај жените под 25-годишна возраст ХПВ-инфекцијата е позастапена, со пријавена стапка од околу 30% во Велика Британија и Белгија и 45% во Данска. ХПВ-6 е најчестиот нискоризичен генотип на глобално ниво [110].

1.4.5. СТРУКТУРА НА ХПВ-ГЕНОМОТ

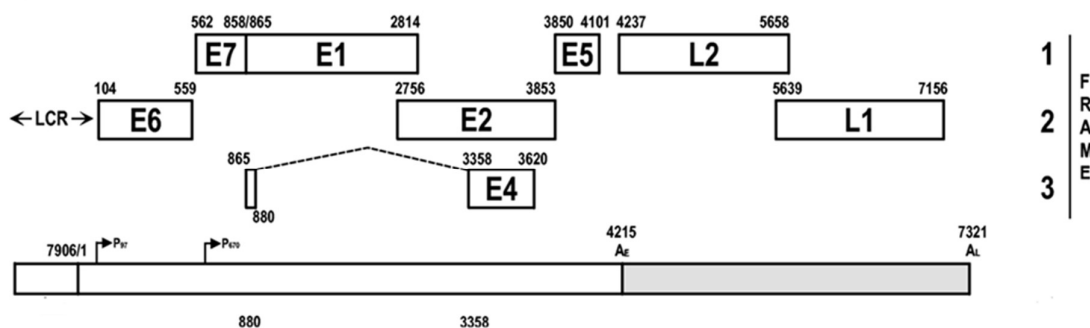
Геномот на ХПВ се состои од три региона (Слика 5) [111]:

1. *Регион на контролни гени (LCR, Long Controlling Region)*, кој е без кодирачки потенцијал и содржи контролни елементи за вирусна транскрипција и репликација. Покрива 10% од ХПВ-геномот. Тој го носи зачетокот на репликација како и врзани места за повеќе транскрипциски фактори кои се важни за регулација на транскрипцијата иницирана од РНК-полимеразата 2 од вирусните рани и доцни промотери. Овој регион се состои од р97 промотер заедно со засилувачки и стивнувачки секвенци кои ја регулираат ДНК-репликацијата со контролирање на транскрипцијата на „раните“ и „доцните“ региони. LCR-регионите содржат најголем степен на варијации во вирусниот геном.
2. *Регион на доцни гени: L1 и L2 (L, Late)*, кои ја кодираат протеинската обвивка околу вирусниот геном. Кај папилома вирусите тие покриваат околу 40% од вирусниот геном, лежат низводно од раниот регион и ги кодираат L1 и L2 „отворените рамки на читање“ (ORF, open reading frame) за транслација на големиот- L1 и малиот- L2 протеин на капсидот.
3. *Регион на регулаторни, рани гени: E1, E2, E4, E5, E6 и E7*, кои ги кодираат протеините вклучени во контрола на репликација на вирусот, експресија на гените и интеракција со клеточните протеини на домаќинот. Регионот на раните гени од ХПВ-геномот окупираат повеќе од 50% од геномот од неговата 5' половина. Другите две ORF, E3 и E8, се наоѓаат исто така во овој регион но само за E8 ORF кај BPV-1 (Bovine Papilloma Virus type 1) и кај ХПВ-31 е докажано дека кодираат протеин, E8[^]E2C фузиониран протеин, кој функционира како негативен регулатор на вирусната транскрипција и репликација. Експресијата на продуктите на раните гени определуваат дали

ХПВ-инфекцијата е активна или латентна, или води кон малигна трансформација [111].

Трите региони кај сите папилома вируси се раздвоени со две полиаденилни места (pA): рани (Poly A-early) и доцни (Poly A-late) места. Генерално секоја ORF кај ХПВ-геномот често се реферира како ген [112].

Слика 5. Струкура на ХПВ-геномот [113]



L1-генот го кодира големиот структурен вирусен капсиден протеин. L1-капсидите составени *in vitro* се основа на профилактичката вакцина против неколку типови на ХПВ [114].

L2-генот го кодира малиот структурен вирусен капсиден протеин. L2 постои во оксидирана состојба во ХПВ, со два конзервирани цистеински остатоци кои формираат интрамолекуларна дисулфидна врска, L2 во соработка со L1 учествува во пакување на вирусната ДНК во вирион. L2 влегува во интеракција со голем број на клеточни протеини за време на инфективниот процес [115].

E1-генот кодира вирусен регулаторен протеин кој иницира вирусна репликација на ДНК. Кодира протеин што се врзува за местото на вирусното потекло на репликација во LCR од вирусниот геном. E1 користи аденозин трифосфат за да врши хеликазна активност која ги раздвојува двете ДНК-нишки и така го приготвува вирусниот геном за репликација со помош на клеточните ДНК-репликациони фактори [116].

E2-генот кодира вирусен регулаторен протеин кој ги контролира репликацијата и транскрипцијата на вирусниот геном. E2-протеинот служи како главен транскрипциски

регулатор за вирусни промотери лоцирани примарно во LCR. Е2 служи како негативен регулатор на експресијата на онкогените Е6 и Е7 кај латентно инфицираните кератиноцити од базалните слоеви. Генетските промени како што е интеграцијата на вирусната ДНК во хромозомот на клетката домаќин, ја инактивираат Е2-експресијата и ја зголемуваат експресијата на Е6 и Е7 онкогените, што резултира со клеточна трансформација и веројатно понатамошна генетска дестабилизација [117].

Е3-генот кодира непознат протеин. За него не се знае со сигурност дали е експресиран во протеин и дали врши некаква функција [113].

Е4-генот кодира протеин кој ја контролира вирусната матурација, изразен во терминално диференцираните кератоцити. Иако Е4-протеините имаат низок степен на експресија за време на раната фаза од вирусната инфекција, експресијата на Е4 драматично се зголемува за време на доцната фаза од инфекцијата. Со други зборови, ознаката „Е” би можела да е погрешна. Е4 учествува во задржување на клетките во G2-фазата од клеточниот циклус [118].

Е5-генот го кодира големиот протеин на трансформација, вклучен во контрола на клеточната пролиферација. Високоризичниот ХПВ Е5-ген се смета за онкоген бидејќи ги трансформира фибробластите и кератиноцитите во ткивните култури, го подобрува бесмртниот потенцијал на Е6 и Е7 и во соработка со Е7 ја стимулира пролиферацијата на човечките примордијални клетки [119].

Е6-генот го кодира големиот онкопротеин на трансформација, асоциран со протеинот 53 (p53), тумор-супресорен протеин и промотор на протеолитична деградација, вклучен во контрола на клеточната пролиферација и кератоцитната диференцијација. Поврзувањето на Е6 со p53 води кон деградација на p53, преку регрутирање на убиквитин лигазата Е6 асоциран протеин (Е6 AP, associated protein) и резултира со инхибиција на транскрипциските регулаторни активности на p53 протеин во клетките на ткивните култури. Е6-протеините од повеќето хумани и анимални папилома вируси се врзуваат и за други клеточни протеини покрај p53 и Е6 AP. Е6 може да се врзе и за PDZ (Post synaptic density protein, Drosophila disc large tumor suppressor, Zonula occludens-1 protein) – домените, куси секвенци кои често се наоѓаат кај сигналните протеини. Структурниот геном на Е6 дозволува интеракција со PDZ-домените на некои

тумор-супресорни гени. Поврзувајќи се за нив предизвикуваат трансформација и прекин на нивната супресорска функција [120].

Е7-генот го кодира големиот протеин на трансформација, асоциран со протеинот ретинобластом (pRB); вклучен во контрола на клеточната пролиферација и кератоцитната диференцијација. Поврзувањето на високоризичниот Е7 со pRb промовира деградација на pRb со посредство на протеазоми и го нарушува капацитетот на pRb за врзување и инактивирање на клеточниот транскрипциски фактор E2F. Е7 учествува во имортализацијата на инфицираните клетки со активирање на теломеразата. Заедно со Е6, Е7 ја превенира клеточната смрт и промовира прогресија на клеточниот циклус. Е6 и Е7 протеините се потребни за опстанок на клеточните линии на карциномот [121].

Е8-генот кодира непознат протеин, кој најверојатно ја контролира репликацијата на вирусната ДНК [113, 122].

ХПВ гените, нивните продукти и функции се прикажани во Табела 7.

Табела 7. ХПВ-гени [123]

Гени	Продукција на протеини и функција
Ран (E) регион	
E1	Вирусен регулаторен протеин кој иницира репликација на вирусна ДНК
E2	Вирусен регулаторен протеин кој ја контролира репликацијата и инхибира или активира рана транскрипција на вирусен геном
E3	Непознато
E4	Доцен вирусен протеин кој ја контролира вирусната матурација, изразена во завршно диференцираните кератиноцити
E5	Главен трансформирачки протеин, предизвикува клеточна пролиферација
E6	Главен трансформирачки онкопротеин, се поврзува со клеточната цел, TP53, тумор-супресорен протеин и промовира негова протеолитичка деградација, предизвикува клеточна пролиферација и пертурбација на кератиноцитна диференцијација
E7	Главен трансформирачки протеин, се поврзува со клеточната цел, pRB, инактивира рестриktivни функции на клеточен циклус, предизвикува клеточна пролиферација и пертурбација на кератиноцитната диференцијација
E8	Непознато, ? ја регулира репликацијата на вирусната ДНК
Доцен (L) регион	
L1	Голем структурен капсиден протеин
L2	Мал структурен капсиден протеин

1.4.6. ВИРУСНИ ОНКОПРОТЕИНИ Е6 И Е7

Два најзначајни вирусни онкопротеини во процесот на цервикалната карциногенеза се Е6 и Е7. Вирусните онкопротеини Е6 и Е7 се вклучени во низа клеточни процеси, од кои најзначајни се: стимулација на клеточната пролиферација, инхибиција на апоптозата, репрограмирање на диференцијацијата и хромозомска нестабилност (Слика 6) [124,125].

Слика 6. Главни настани предизвикани од вирусните онкопротеини Е6 и Е7 [125]



Геномот на ХПВ, во клетките на домаќинот се јавува во јадрото или екстрахромозомски во епизомална форма или интегриран во геномот на клетката домаќин. Епизомалната форма доминира кај сквамозната интраепителна лезија од низок степен (LSIL, Low grade squamous intraepithelial lesion), додека интегрираната форма доминира кај сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката [126].

Во студијата на Cattani од 2009 година, работена на универзитетот во Рим, на 180 колпоскопски цервикални биопсии, најдена е доминација на епизомалната форма кај сквамозните интраепителни лезии од низок степен од 51,4% и доминација на интегрираната форма кај инвазивниот сквамозен карцином на грлото на матката од 100% [127].

Експресијата на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 нормално е контролирана во тек на животниот вирусен циклус, кога вирусната ДНК се реплицира екстрахромозомално. Прекумерната експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 се јавува кога ХПВ-геномот ќе се интегрира во геномот на клетката домаќин [128]. Интеграцијата на вирусниот геном во хуманиот геном доведува до пораст на стабилноста на информативната рибонуклеинска киселина-иРНК (mRNA, messenger Ribonucleic Acid) на Е6 и Е7. иРНК ја пренесува генетската информација од ДНК до рибозомите, клеточни органели во кои се врши синтезата на протеините [129]. Прекумерната експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 е асоцирана со хромозомска нестабилност, со појава и прогресија на интраепителните лезии на грлото на матката и зголемен ризик од појава на цервикален карцином [130-134].

Вирусните онкопротеини Е6 и Е7 се предиктивни биомаркери за детекција и прогресија на високоризичните ХПВ-асоцирани интраепителни лезии на грлото на матката [135-137]. Во студијата на Arguї и сор. од 2013 година, работена на универзитетот во Атина на 849 ХПВ-позитивни жени, онкопротеините Е6/Е7 биле детектирани кај 9,1% од жените со нормален цитолошки наод, кај 40,7% од жените со сквамозна интраепителна лезија на грлото на матката од низок степен и кај 89,3% кај жените со сквамозна интраепителна лезија од висок степен [138].

Во американската студија на Castle и сор., работена на 540 жени, онкопротеините Е6/Е7 биле детектирани кај 8% од жените со нормален цитолошки наод, кај 71% од жените со сквамозна интраепителна лезија од низок степен и кај 87% од жените со сквамозна интраепителна лезија од висок степен [139].

Во норвешката студија на Molden и сор. од 2005 година, работена на 4136 жени, со follow-up од две години била најдена висока специфичност од 88,9% и висока позитивна предиктивна вредност за детекција на сквамозните интраепителни лезии од висок степен од 92,3% на ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето [140].

ХПВ има афинитет спрема кератоцитите. Поединечно ниту Е6 ниту Е7 гените се доволни во контрола на клеточната пролиферација, напротив само комбинација на Е6 и Е7 гените од високоризичните ХПВ-генотипа кодираат онкопротеини кои се доволни за имортализација на нормалните кератоцити. Главни клеточни цели на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 се тумор-супресорните протеини p53 и pRB. Бидејќи ХПВ Е2 е вирусен регулаторен фактор, кој негативно ја регулира експресијата на Е6 и Е7 гените,

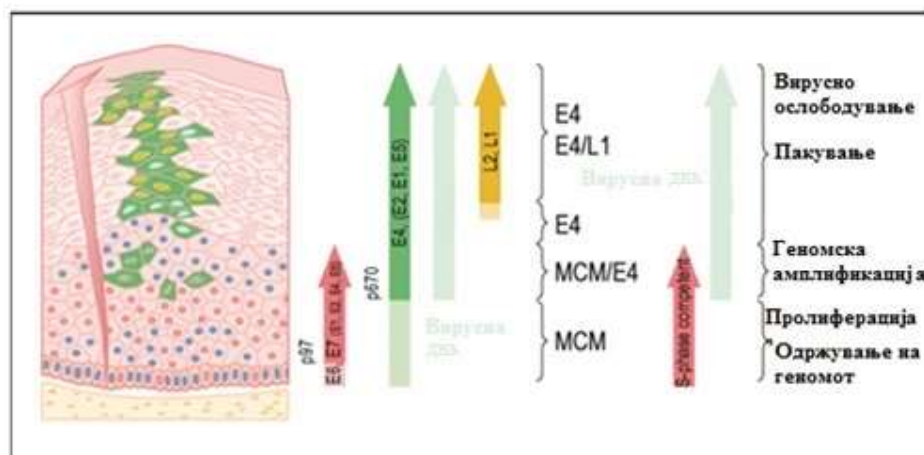
нарушување на Е2 резултира со поттикнување на промотор на Е6 и Е7, што доведува до прекумерна експресија на Е6 и Е7 [141,142].

1.4.7. БИОЛОГИЈА НА ХПВ-ИНФЕКЦИЈАТА

Трите различни фази на ХПВ-инфекцијата кои се карактеризираат со различна вирусна генска експресија, а го одразуваат карактерот на лезијата предизвикана од соодветната ХПВ-инфекција се [143]:

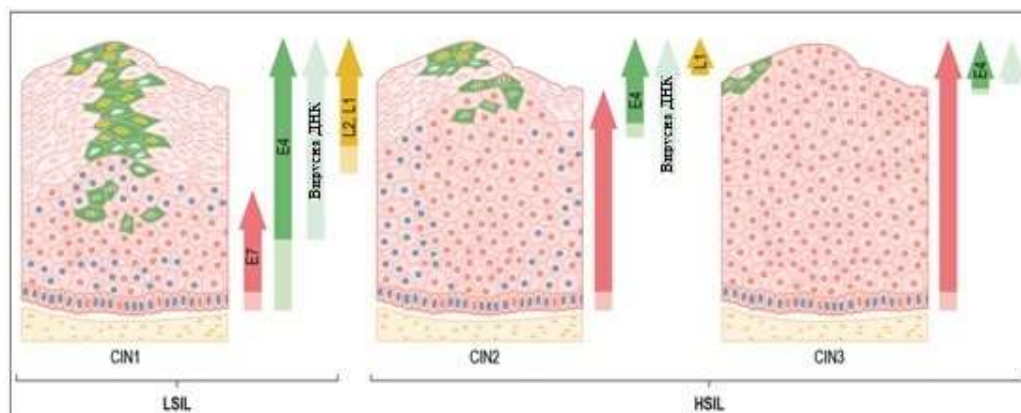
1. *Латентна фаза.* Микро траумите го нарушуваат интегритетот на цервикалната лигавица и на ХПВ му дава пристап до базалниот слој на сквамо-кolumнарната граница на грлото на матката. Точниот механизам на инвазија се уште не е доволно разјаснет, но неколку рецептори, вклучувајќи хепаран сулфат протеоглигани и алфа-6 интегрин се поврзани со овој процес. По инфекција на базалните клетки, вирусот долго време може за перзисира во латентна состојба. Во оваа фаза незначително е намален потенцијалот на клетката домаќин за множење и генерирање на нови клетки. ХПВ-инфекцијата се одржува во базалните кератоцити. Во оваа фаза ХПВ-инфекцијата не предизвикува цитоллиза, воспаление или други оштетувања на ткивото во предел на базалниот слој на епителот. Овие инфекции се латентни, се повлекуваат спонтано и клинички се непрепознатливи.

Слика 7. Експресија на вирусните онкопротеини од ХПВ-инфекција на базалните клетки до созревање на површината на епителот [144]



2. *Продуктивна фаза.* По диференцијација и созревање на клетките, вирусниот геном може да се реплицира, нови вирусни партикли се произведуваат и се пуштаат на површината на епителот. Во рамките на базалните кератоцити, се случуваат две форми на ХПВ-ДНК репликации: репликација на одржување и репликација на вегетативно размножување. Оваа фаза се карактеризира со типични „коилоцити”, клетки кои се морфолошки белег на вирусната продукција. Оваа фаза се карактеризира со незначителна експресија на вирусните Е6 и Е7 гени во базалните клетки (Слика 7), што е доволно само да се дозволи странично ширење на ХПВ-инфицираниот клон клетки. Експресијата на Е6 и Е7 гените во оваа фаза најверојатно е добро контролирана на страна на Е2-генот, кој првично го активира почетокот на генската експресија. Функцијата на Е6 и Е7 продуктите за време на продуктивната ХПВ-инфекција е да ги потурне регулаторните патишта за клеточен раст и да ја модифицира клеточната околина за да ја забрза вирусната репликација. Во оваа фаза геномот на ХПВ во клетката домаќин најчесто се наоѓа во епизомална форма. Имајќи го во предвид фактот дека вирусот се продуцира само во површинскиот слој на инфицираниот епител, тука е многу ограничен контактот помеѓу вирусниот антиген и имунолошкиот систем на клетката домаќин. Со оглед дека акутната инфекција предизвикува само мал број на имунолошки реакции, серумски антитела се забележуваат само во ниски титри во некои од инфицираните лица. Клеточниот имунолошки одговор е слабо активен. Овие инфекции се репликативни. Морфолошки оваа фаза се карактеризира со појава на сквамозни интраепителни лезии на грлото на матката од низок степен (Слика 8).

Слика 8. Експресија на вирусните онкопротеини од почетна ХПВ-инфекција, преку созревање до CIN 1-3 [145]

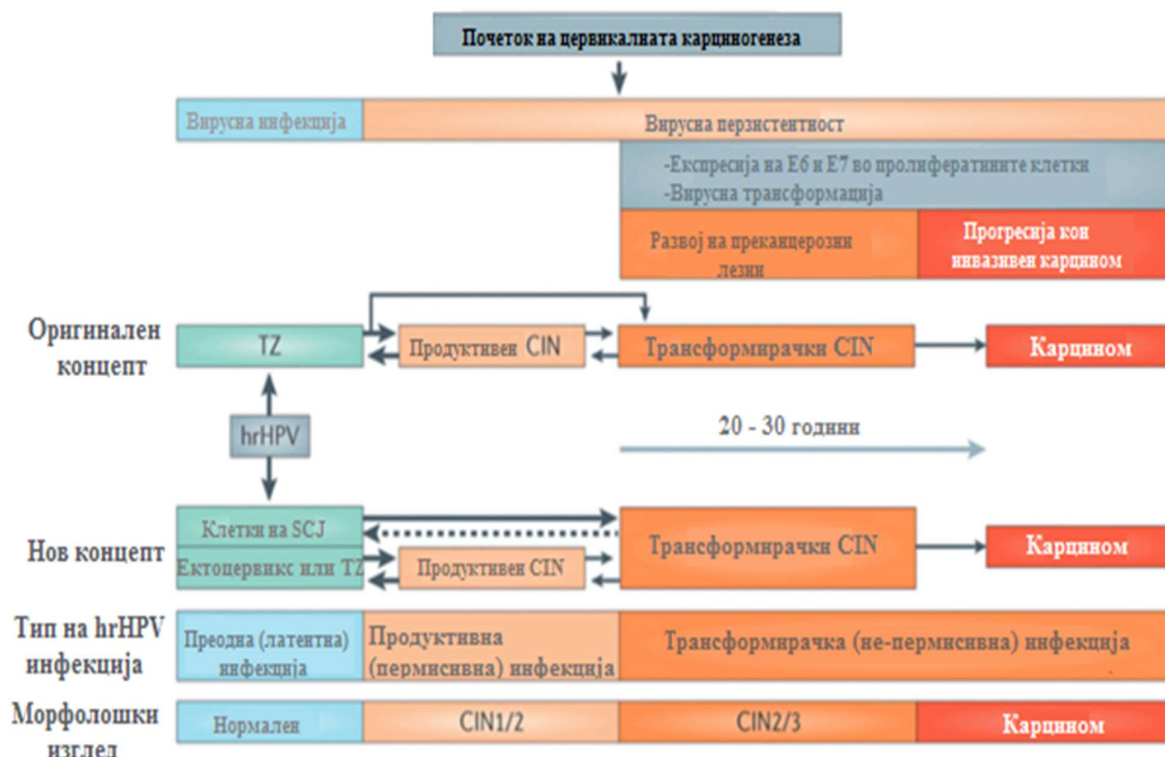


Легенда: CIN, Cervical Intraepithelial Neoplasia (цервикална интраепителна неоплазма); LSIL, Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion (сквамозна интраепителна лезија од низок степен); HSIL, High-grade Squamous Intraepithelial Lesion (сквамозна интраепителна лезија од висок степен); DNA, Deoxyribonucleic Acid (дезоксирибонуклеинска киселина)

3. *Фаза на трансформација.* Најчесто, во оваа фаза геномот на ХПВ се наоѓа интегриран во геномот на клетката домаќин. Се карактеризира со прекумерна експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7, која доведува до хромозомска нестабилност и трансформација на инфекцијата и со силна имунолошка реакција. Кодирањето на вирусната ДНК или РНК полимераза во целост е зависно од ензимите за репликација на домаќинот. Овие инфекции се перзистентни или дерегулаторни. Морфолошки оваа фаза се карактеризира со сквамозни интраепителни лезии на грлото на матката од висок степен (Слика 8). Перзистентните високоризични ХПВ-инфекции се асоцирани со карцином на грлото на матката. Најчесто се асоцирани со ХПВ-генотиповите 16, 18, 31, 33 и 45 [146-150].

Концептуалниот модел на латентна, продуктивна и трансформативна ХПВ инфекција е прикажана на Слика 9.

Слика 9. Концепт на латентна, продуктивна и трансформативна ХПВ инфекција [151]



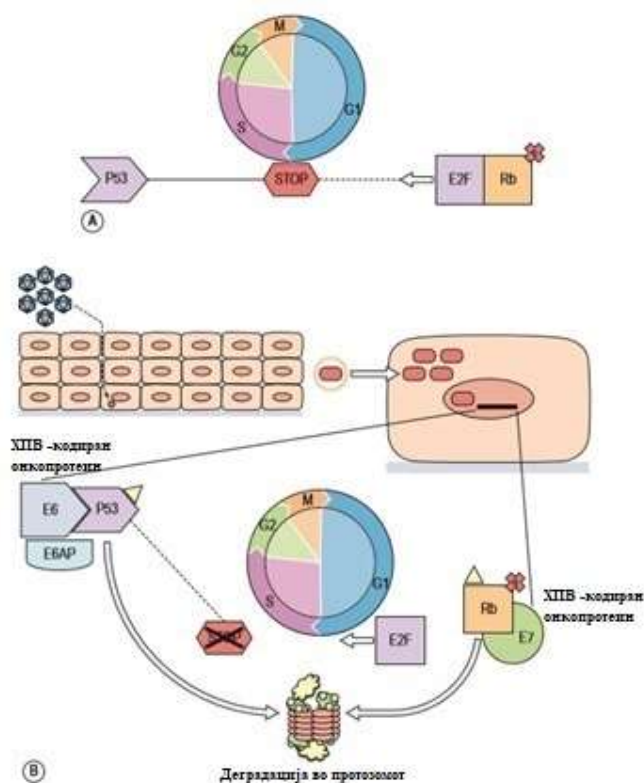
Легенда: CIN, Cervical Intraepithelial Neoplasia (цервикална интраепителна неоплазма); hr HPV, high-risk Human papillomavirus (високо-ризичен хуман папилома вирус); TZ, Transformation Zone (трансформациона зона); SCJ, Squamo-Columnar Junction (сквамо-колумнарна граница)

1.4.8. УЛОГА НА ВИРУСНИТЕ ОНКОПРОТЕИНИ Е6 И Е7 ВО ПРОЦЕСОТ НА ХПВ-АСОЦИРАНАТА ЦЕРВИКАЛНА КАРЦИНОГЕНЕЗА

Во тек на изминатите 20 години направени се базичните истражувања од областа на биохемиската активност на двата најзначајни вирусни онкопротеини: Е6 и Е7, вклучени во процесот на цервикалната карциногенеза.

Улогата на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 во процесот на ХПВ-асоцираната цервикална карциногенеза е прикажана на Слика 10.

Слика 10. А. Контрола на прогресија на клеточниот циклус во нормалните клетки
 В. Инактивација на тумор супресорните гени [152]



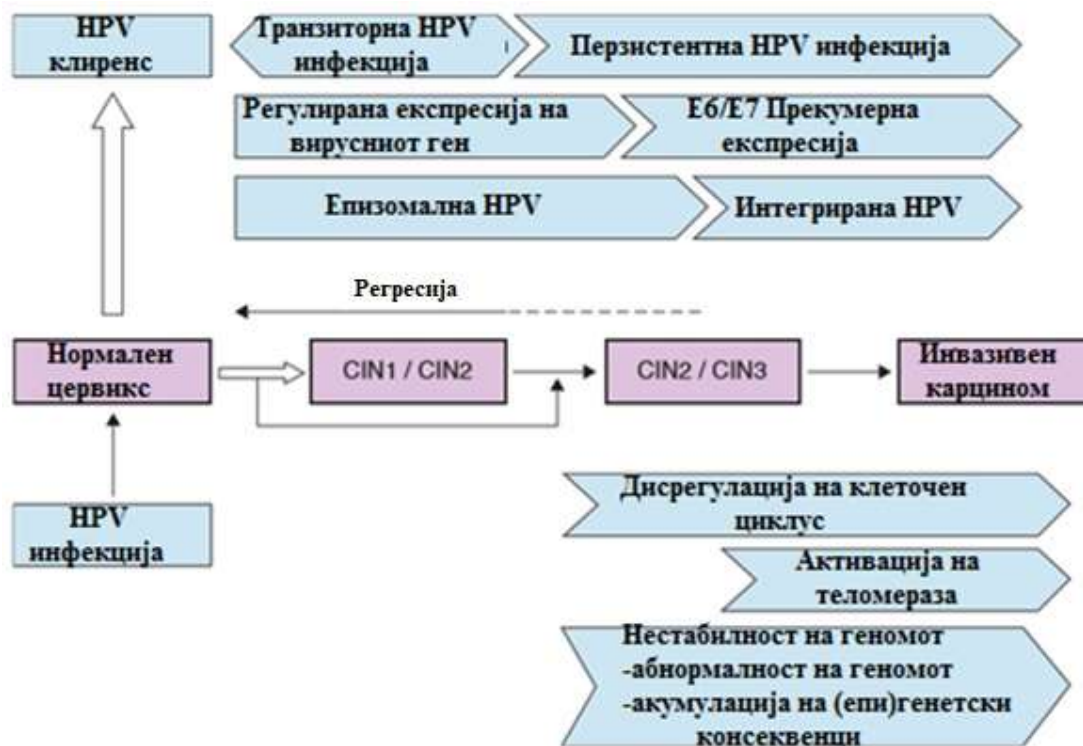
Се покажа дека три главни аспекти ја истакнуваат нивната онкогена активност:

1. Е6-онкопротеинот предизвикува предвремена деградација на p53 тумор-супресорен ген и на тој начин интерферира со неговите проапоптотични функции. Тој ја блокира и внатрешната и надворешната апоптотична патека. Врзувањето на вирусниот Е6 за p53 протеинот, води кон убиквитин зависната деградација на p53. Како последица на тоа, полуживотот на p53 протеинот е скратен од 3 часа на 20 минути редуирајќи ја неговата биолошка функција како инхибитор на клеточната пролиферација. За да се обележи p53 за убиквитинизација, на Е6 му е потребен клеточниот протеин Е6-асоциран протеин (Е6-АР) кој ковалентно го врзува убиквитинот за p53 протеинот. Во неинфицираните епителни клетки, контролираната убиквитин посредувана протеолиза на p53 ја предизвикува mdm-2 (mouse double minute 2 homolog) протеинот. Спротивно на тоа, комплексот Е6-p53-Е6АР во ХПВ-инфицираните клетки ја заменува физиолошката регулациона контрола на p53 од страна на

mdm-2. Независно од Е6АР зависната убиквитин посредувана деградиција на p53 протеинот, вирусните Е6-протеини можат да ја намалат транскрипцијата на p53, попречувајќи ја ефикасноста на ДНК-репарацијата. Е6 е способен и за активација на клеточниот ензим теломераза. Оваа имортализирачка улога на Е6 најверојатно е од клучно значење за развојот на цервикалниот карцином. Ефикасноста на клеточниот одговор кон оштетувањата на ДНК е намалена и се дозволува акумулација на секундарни мутации кои не се проверуваат и поправаат. Е6-онкопротеинот од високоризичните ХПВ-генотипови игра улога и во посредување на клеточната пролиферација независно од Е7-онкопротеинот [153].

2. Е7-онкопротеинот предизвикува дестабилизација на ретинобластом-протеинскиот комплекс и на тој начин им овозможува на клетките да ја избегнат контролата на клеточниот циклус на G1/S фазата на транзиција преку патеката на pRb. Е7-рамката на читање кодира фосфопротеин кој се врзува за клеточните протеини од тумор-супресорската фамилијата на pRb (ретинобластома протеин). pRb заедно со E2F-фамилијата на транскрипциски фактори, ја контролираат транзицијата на клеточниот циклус од G1 во S-фаза. Е7 се врзува за активната форма на pRb и предизвикува негова деградиција, што води кон активација на E2F транскрипциските фактори. Со тоа е овозможена прогресија на клетката во S-фаза од клеточниот циклус по што следува клеточна делба. Физиолошки, E2F активацијата е посредувана од фосфорилацијата на Rb-протеинот. Овој пат е строго регулиран од група на циклин зависни киназа инхибитори, меѓу кои и p16 кој ја блокира ензимската фосфорилација на pRb (циклин зависна киназа). Во клетките со трансформирачка ХПВ-инфекција, регулацијата на Rb-E2F патот е попречен од Е7. Кај цервикалните епителни клетки инфицирани со високо-ризични ХПВ-генотипови, прогресијата низ клеточниот циклус не зависи од факторите на раст, но е стимулирана од Е7-протеинот. Останува нејасно, дали способноста на Е7 да индуцира ДНК-синтеза во различни клетки го рефлектира неуспехот на клетката која експресира Е7, да се повлече од клеточниот циклус или способноста на Е7 да репрограмира диференцирана клетка за повторно да влезе во клеточен циклус [154].
3. Двата гена интерферираат со центрозомаката синтеза и функција, што резултира со неразделување на хромозомите за време на митозата и со нумерички и структурни хромозомски аберации [155,156].

Слика 11. Модел на ХПВ-асоцирана цервикална карциногенеза [157]



Легенда: CIN, Cervical Intraepithelial Neoplasia (цервикална интраепителна неоплазма); HPV, Human Papillomavirus (хуман папилома вирус)

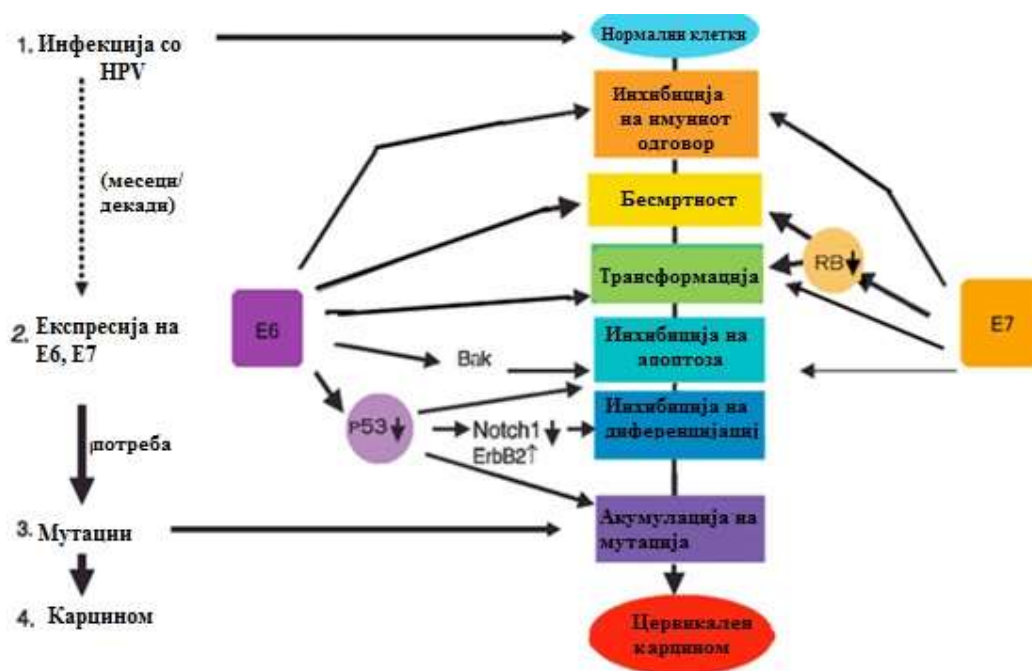
Концептуалниот модел на ХПВ-асоцираната цервикална карциногенеза е прикажан на Слика 11.

Вирусните онкопротеини Е6 и Е7 својата улага во процесот на ХПВ-асоцираната цервикална карциногенеза (Слика 12) ја исполнуваат преку взамен однос со неколку клеточни протеини, чија функција е регулација на клеточната пролиферација и на апоптозата, со тоа предизвикуваат промени на клеточниот циклус и неконтролирана пролиферација [158]:

1. Високоризичен ХПВ онкопротеин Е6 предизвикува нарушување на апоптозата и на клеточната градба преку:
 - Деградација на апоптозата преку промоција на клеточните протеини p53 и проапоптотичниот протеин ВАК (Bcl-2 homologous antagonist killer) [159];

- Промени на клеточниот поларитет, диференцијација и стареење преку поврзување со скелетните протеини на клетката (PDZ domain proteins) [160];
 - Индукција на теломеразната активност преку индукција на експресија на хуманата теломераза реверзна транскриптаза (hTERT, human Telomerase Reverse Transcriptase) [161];
 - Интерференција со митотичката апаратура и индукција на хромозомски промени [162].
2. Високоризичниот ХПВ онкопротеин Е7 предизвикува нарушување на клеточната прогресија и пролиферација преку:
- Индукција на пролиферација преку инактивација на G1/S фазниот прекин:
 - Ослободување на E2F-транскрипторните фактори преку интеракција со протеините pRB, p107 и p130;
 - Поништување на инхибиторите на p21 и p27 на циклин-зависната киназа (CDK, Cyclin Dependent Kinase);
 - Стабилизација на циклин А и D [163];
 - Индукција на дополнителни центрозоми, аберации на митозата;
 - Интерферирање со имунолошкиот одговор преку инхибиција на интерферон одговорните гени [158].

Слика 12. Механизам на делување на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 [159]

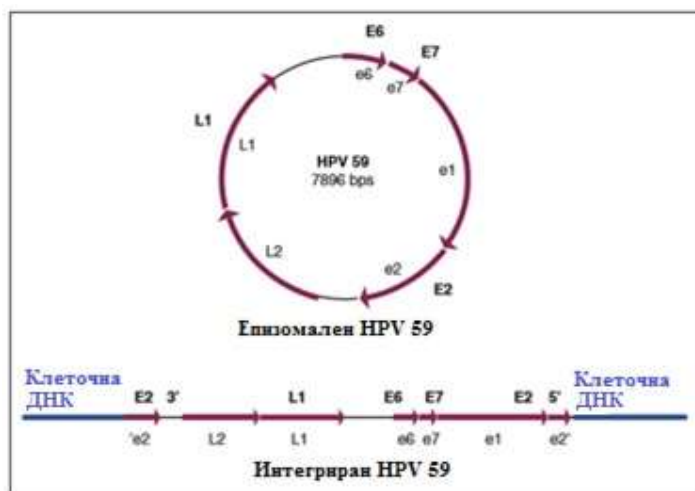


Легенда: p53, p53 tumor suppressor protein (p53 тумор супресор протеин); RB, Retinoblastoma tumor suppressor protein (ретинобластом тумор супресор протеин)

1.4.8.1. Улога на вирусната интеграција во геномот на клетката домаќин

ХПВ-инфекцијата е многу честа, но само мал процент од ХПВ-инфекциите доведуваат до појава на карцином на грлото на матката, кој обично се јавува многу години по инфекцијата. Ова укажува на тоа дека само присуството на ХПВ-инфекцијата не е доволен фактор за појава на карцином на грлото на матката и неговите интраепителни лезии, туку потребни се и дополнителни генетски промени на клетката домаќин. Една таква можна промена е интеграција на ХПВ-геномот во геномот на клетката домаќин [164].

Слика 13. Епизомална и интегрирана форма на ХПВ-59 [165]



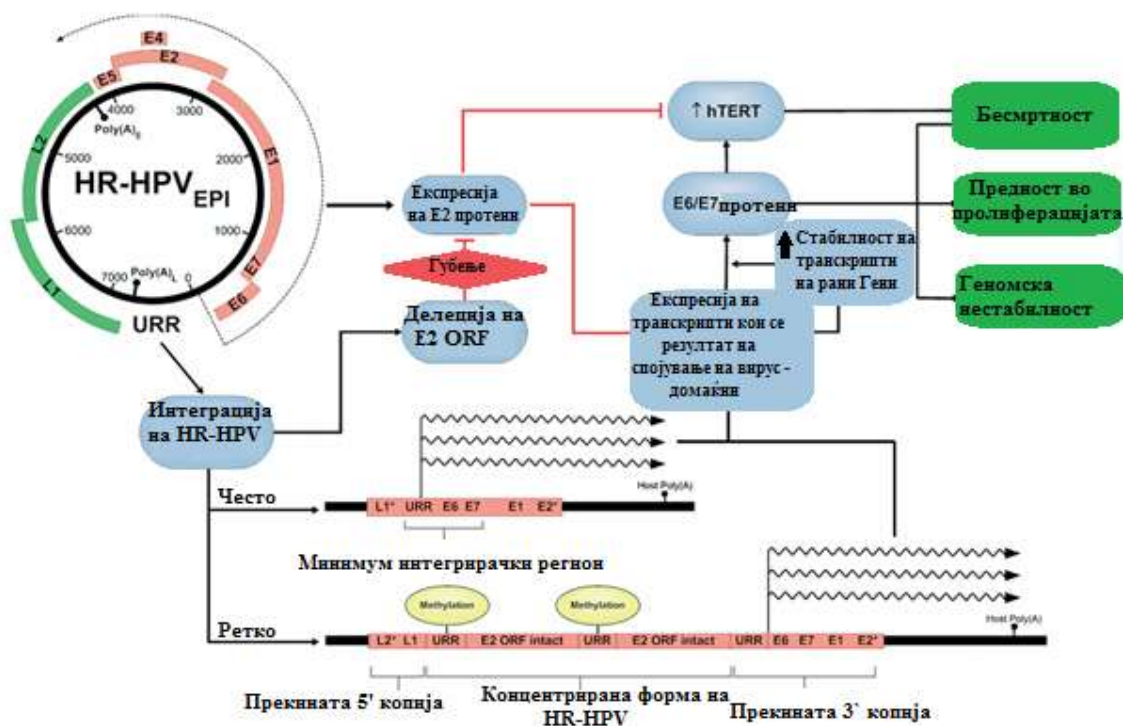
Во почетокот на ХПВ-инфекцијата, геномот на ХПВ постои во кружни, екстрахромозомски копии. По одреден временски период, кој се уште не е познат, вирусниот геном може да се инкорпорира во ДНК на хромозомите на клетката домаќин (Слика 13). Овој

процес се нарекува интеграција и е завршен настан од животниот циклус на ХПВ. Интеграцијата не е нормален дел од животниот циклус на високоризичните ХПВ-генотипови и се карактеризира со делеција на вирусните гени кои се есенцијални за синтеза на инфективен вирус. Така, таа претставува нуспроизвод од вирусната инфекција кој може да дава селективна предност на клетките на домаќинот без видливи предности за вирусот. Во интегрираните вирусните делови, забележано е губење на вирусниот E2-ген, кој може да ја инхибира транскрипцијата од интегрираниот вирусен промотор. Генерално, интеграцијата води кон зголемена експресија и стабилност на транскриптите кои кодираат E6 и E7 онкопротеини, кои ги врзуваат и им ја нарушуваат функцијата на голем број клучни клеточни протеини како што се p53 и pRb. Ваквите ефекти се ограничени на високоризичните ХПВ-генотипови, со што се објаснува биолошката разлика во ризикот од карцином поврзан со високоризичните и нискоризичните генотипови. И експресијата на hTERT (хумана теломераза реверзна транскриптаза) е инхибирана од E2 и активирана од E6, високоризичната ХПВ-интеграција е исто така ефикасен начин за активација на теломеразата и преку кооперативни ефекти со E7 за имортализација на епителни клетки. Високоризичната ХПВ-интеграција е механизам за клеточна имортализација, дерегулирана пролиферација и зголемена геномска нестабилност – клеточни белези кои допринесуваат за развој на малигниот фенотип [166].

Процесот на интеграција е во корелација со преминот од низок во висок степен на сквамозна интраепителна лезија на грлото на матката. ХПВ-интеграцијата корелира со

геномска нестабилност, лоша прогноза и отпорност на третманот. Високоризичните ХПВ-типови имаат поголема способност за интеграција во геномот на домаќинот отколку нискоризичните. Интеграцијата е важен молекуларен настан во ХПВ-индуцираната карциногенеза и таа корелира со тежината на болеста, особено за ХПВ-18. Ова го поткрепува потенцијалното користење на мерењето на ХПВ-интеграцијата како маркер на прогресија во цервикален карцином. Цервикалните карциномски клетки можат да содржат и епизомална и интегрирана ДНК истовремено, иако интеграцијата се случува почесто кај ХПВ-18 отколку кај ХПВ-16 асоцираните карциноми (Слика 14.) [167].

Слика 14. Интеграција на високоризичен ХПВ [167]



Легенда: HR-HPV, High-Risk Human Papillomavirus (високо-ризичен хуман папилома вирус)

Интегрирана форма на ХПВ е најдена во сите човекови хромозоми освен во Y [166]. Местата на интеграција најверојатно не се случајно распределени, имајќи во предвид дека ХПВ интегрира во таканаречени „заеднички кривки места“ (CFSs, Common Fragile Sites) и во блиски локации на клеточните онкогени. Осумдесет и седум CFSs се присутни во геномите на сите поединци и се дистрибуираат низ геномот [168]. CFSs се

приоритетни локации за размена на сестрински хроматид, за транслокации, делеции, интрахромозомски генски амплификации, како и за интеграција на ДНК на онкогени вируси [169]. Од 40-60% од ХПВ-интеграциите се случуваат во или многу блиску до CFSs [170].

Иако вметнатата мутагеност, нарушувањето или дерегулацијата на клеточниот ген со интеграција на ХПВ-геномот, се фактори на ХПВ-индуцираната патогенеза, прегледот на повеќе од 190 ХПВ места на интеграција не покажал постојани целни нарушувања или промени на критичните клеточни гени со интеграција на вирусните секвенци. Повторните интеграции во областа на тумор-релевантните гени се многу ретки. Сепак повторните интеграции се случуваат во или блиску до некои гени релевантни за развојот на туморот [171].

ХПВ-интеграцијата дава последици и за вирусниот и за клеточниот геном. Во случај на вирусот, интеграцијата овозможува зголемена експресија на Е6 и Е7 гените. Вирусните онкопротени Е6 и Е7 секогаш се асоцирани со вирусната интеграција. При вирусната интеграција се случуваат три значајни промени на Е6 и Е7 транскрипцијата [172,173]:

1. ХПВ-геномот се линеаризира помеѓу Е1 и L1 гените. Делециите на вирусната ДНК може да се случат на местото на линеаризација. Постои загуба, со пауза или делеција на вирусниот Е2-ген, кој нормално функционира како регулатор на транскрипцијата на Е6 и Е7 гените.
2. Некои вирусни ДНК-секвенци нормално кодирани во Е6 и Е7 записници, често се избришани после вирусната интеграција. Бидејќи овие вирусни секвенци може да интерферираат со експресија на Е6 и Е7 гените, можно е нивната делеција во тек на вирусната интеграција да игра важна улога во дорегулирање на Е6 и Е7 генската експресија.
3. Полиаденилатните места се секвенци на ДНК кои го означуваат крајот на транскрипцијата. По вирусната интеграција, вирусниот полиаденилатен сигнал не е достапен за Е6 и Е7 генската експресија. Вирусните записници се така направени да можат го користат клеточниот полиаденилатен сигнал [172,173].

1.4.8.2. Геномска нестабилност

Важно е да се спомене дека експресијата на високоризичните ХПВ-онкопротеини Е6 и Е7 може да се случи и на ниво на кератоцити; тие растат во клеточна култура, но не формираат тумори кај животните. Ако овие клетки преминат во клеточна култура, може да станат туморогени. Заради тоа во клетките мора да се случат и други дополнителни промени кои ќе водат до прогресија и малигнитет. Една таква промена е нестабилност на геномот на клетката домаќин, кој се смета за ран чекор во прогресија на ХПВ -социраниот малигнитет. Промени на човековите хромозоми како центрозоми абнормалности и анеуплоидија може да се забележат кај сквамозните интраепителни лезии од висок степен и инвазивниот сквамозен карцином на грлото на матката. Абнормалниот број на центрозоми е асоциран со мултиполарни митози и тетраплоидија кај сквамозните интраепителни лезии на грлото на матката [174, 175].

Високоризичните ХПВ-интеграции асоцирани се со хромозомска нестабилност и прекумерна експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7. Се покажа дека прекумерната експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 предизвикува абнормалности во хромозомите. Е6 и Е7 онкопротеините од високо-ризичните ХПВ генотипови може да индуцираат и митотски абнормалности. Способноста на Е6 да предизвика геномска нестабилност најверојатно се должи на инхибицијата на функцијата на p53, што води кон пореметување на нормалните процеси на ДНК-репарација и последователно, акумулација на генетски промени. Геномската нестабилност индуцирана од Е7 може да се рефлектира врз биогенезата на центрозоми и консеквентни дефекти во сегрегацијата на ќеркинските хромозоми за време на клеточната делба [176].

1.4.8.3. Ограничен онкоген потенцијал на нискоризичните ХПВ

Сите ХПВ се размножуваат во различен дел на сквамозниот епител. Клетките од овој дел најчесто излегуваат од клеточниот циклус. Сепак, ХПВ може да го размножи својот геном или да го заврши својот животен циклус во клетката само во S-фаза. Поради тоа и нискоризичните и високоризичните ХПВ треба да имаат способност да создадат слична на S, животна средина во делот за диференцијација. Тогаш, се поставува прашањето: Зошто ризикот од карцином на грлото на матката е многу пати

поголем после инфекција со високоризичен ХПВ отколку после инфекција со нискоризичен ХПВ? [177].

Причините за разликите помеѓу онкогената активност на високо-ризичните и нискоризичните ХПВ се уште се истражуваат. Сепак три сознанија се јасни:

1. Постојат квантитативни и квалитативни разлики помеѓу онкогените активности на Е7-протеините од високоризичните и од нискоризичните ХПВ-генотипови. Високо-ризичните Е7-протеини го врзуваат протеинот ретинобластом (pRb) и членовите од неговата фамилија: p107 и p130, со многу поголем афинитет отколку нискоризичните Е7-протеини. Можеби уште позначаен е фактот што деградацијата на pRb се случува само при интеракција со високоризичните Е7-протеини. Бидејќи и нискоризичните Е7-протеини можат да предизвикаат синтеза на ДНК во супрабазалниот дел на клетката, значајна активност на високо и нискоризичните ХПВ може да биде способноста за избор и деградација на p130 [178,179].
2. Постојат големи разлики помеѓу високоризичните и нискоризичните ХПВ Е6-протеини. Високоризичните ХПВ Е6-протеини имаат способност за врзување со протеинот 53 (p53) и негова даградација, додека ниско-ризичните ХПВ Е6-протеини ја немаат таа способност [180].
3. Ниско-ризичните ХПВ Е6 и Е7 протеини за разлика од високоризичните ХПВ Е6 и Е7 протеини не предизвикуваат геномска нестабилност [181].

1.4.9. АСОЦИЈАЦИЈА ПОМЕЃУ ХПВ И СКВАМОЗНИТЕ КЛЕТОЧНИ АБНОРМАЛНОСТИ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА

ХПВ е најчест ризик фактор за појава на сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката. И покрај честата изложеност на жените на ХПВ, појавата на карциномот на грлото на матката е релативно ретка. Повеќето сквамозни клеточни абнормалности од низок степен, како што е CIN 1, асоцирани се со бенигна вирусна репликација, спонтано се повлекуваат и немаат потреба од третман. Студии покажале дека CIN 1 кај жените се повлекува кај 70-80% од случаите, додека кај адолесцентите и младите жени кај повеќе од 90% од случаите [182,183]. Спротивно на ова, сквамозните клеточни абнормалности од висок степен, посебно CIN 3, имаат поголем потенцијал за

напредок во инвазивен карцином на грлото на матката, со реферирани стапки на прогресија од 0,2-4% во рок од 12 месеци [184].

Дел од сквамозните интраепителни лезии од висок степен долго време перзистираат или спонтано се повлекуваат, што укажува на тоа дека не сите CIN 3 лезии, особено не сите CIN 2 лезии се преканцерозни лезии [185]. Иако ХПВ-асоцираните преканцерозни лезии на грлото на матката во некои случаи можат брзо да прогредираат во инвазивен карцином, се смета дека просечното време од инфекција со вискоризичен ХПВ-генотип до појава на инвазивен карцином е 25-30 години [186].

CIN 2 има тенденција да биде контроверзна дијагноза. Биолошкото однесување на CIN 2 се уште не е добро разјаснето. Додека едни истражувачи CIN 2 ја третираат како преканцерозна лезија, други тврдат дека CIN 2 лезијата не постои [187]. И покрај ова, пријавената стапка на спонтано повлекување на CIN 2 е помеѓу 15-23%, со до 55% регресија во период од 4-6 години [188].

Прогресијата или регресијата на сквамозните интраепителни лезии на грлото на матката во голема мерка зависи од онкогениот потенцијал на ХПВ и од интегрираноста на неговиот геном во геномот на клетката домаќин. CIN 2 лезиите со присуство на вискоризичен ХПВ-16 и експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7, полесно и побрзо прогредираат, отколку ХПВ-16 негативните и тие со отсуство на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 [189].

1.4.9.1. ХПВ и карцином на грлото на матката

ДНК од ХПВ најдена е кај 99,7% од случаите со карцином на грлото на матката. Во 1996 година Светската здравствена асоцијација (World Health Association) ја признава важноста на ХПВ за цервикалниот карцином [190].

Белгиската мултицентрична студија на Tjalma и сор. од 2015 година, што е дел од европската SCALE студија работена во 12 држави, која вклучила 255 жени со инвазивен сквамозен карцином на грлото на матката, покажала присуство на ДНК од ХПВ кај 237 (92,9%) жени [191].

ХПВ-16 е најчесто детектиран генотип кај случаите со карцином на грлото на матката со околу 50% застапеност, по него следи ХПВ-18 со околу 20% застапеност. Кога на овие два генотипа ќе се додадат генотиповите ХПВ-31,-33,-35,-45,-52,-58, застапеноста

на осумте генотипа е околу 90% кај сите случаи со карцином на грлото на матката на глобално ниво [192].

Ретроспективната студија на De Sanjose и сор., од 2010 година, работена на 10 000 хистопатолошки потврдени случаи на инвазивен сквамозен карцином на грлото на матката, од 38 земји на различни континенти во светот, покажала застапеност на ХПВ-16 и ХПВ-18 кај 71% од жените [193].

Во студијата на Munoz и сор., работена на 1739 пациентки со сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката, единечна ХПВ-инфекција била детектирана кај 1487 (85%) од жените, додека мешана ХПВ-инфекција била детектирана кај 109 (6%) од жените. Кај жените со единечна инфекција најзастапен бил ХПВ-16 со 54,6%, а по него следеле: ХПВ-18 со 11%, ХПВ-45 со 4,4% и ХПВ-31 со 3,4%. Двојна инфекција со ХПВ-16 и ХПВ-18 била детектирана кај 36 (2,1%) жени [194].

Во Американскиот годишен извештај до нацијата за статусот на карциномот во периодот од 1975 до 2009 година, објавен 2013 година, покажано е дека ХПВ асоцираните карциноми чинат 3.3% од сите карциноми кај жените, додека карциномот на грлото на матката чини 53.4% од сите ХПВ асоцирани карциноми кај жените [195].

1.4.9.2. ХПВ и HSIL

Кај жените со сквамозна интраепителна лезија на грлото на матката од висок степен најчесто детектиран генотип е ХПВ-16, но застапеноста на останатите генотипови, вклучувајќи ги ХПВ-18,-31,-33,-45,-58, варира во зависност од географскиот регион [196].

Во студијата на Хiao и сор. од 2016 година, работена на 2207 жени со хистопатолошки наод на HSIL на грлото на матката, ДНК од ХПВ била детектирана кај 2060 (93,3%) жени. Најзастапени ХПВ-генотипови по опаѓачки редослед биле: ХПВ-16,-58,-33,-52 [197].

Полската студија на Nowakowski и сор. од 2015 година, дел од европската SCALE студија, работена во 12 држави, која вклучила 205 жени со сквамозна интраепителна лезија на грлото на матката од висок степен, покажала присуство на ДНК од ХПВ кај 96,1% од жените. Најзастапен бил ХПВ-16 генотипот со 62,8%, следеле: ХПВ-33 со 7,8%, ХПВ-31 со 6,6%, ХПВ-52 со 3,7%, ХПВ-45 со 2,6% и ХПВ-58 со 2,6% [198].

Во австриската студија на Rossler и сор. од 2013 година, работена на 290 жени со HSIL на грлото на матката, ДНК од ХПВ била детектирана кај 206 (71,0%) жени. 60% од лезиите биле асоциран со ХПВ-16 и -18, а 85% со ХПВ-16,-18,-31,-33,-45 [199].

Мета-анализата на Smith и сор. од 2007 година работена на 7 094 жени со HSIL на грлото на матката покажала преваленца на ХПВ-16/-18 од 52%. [200].

Процентот на прогресија на високоризичните ХПВ-асоцирани сквамозни интраепителни лезии од висок степен во карцином на грлото на матката е сеуште мал, се движи во границите од 5-15%. Скоро 50% од ХПВ-16 асоцираните HSIL и 80% од не ХПВ-16 HSIL спонтано регредираат кај младата популација [201].

1.4.9.3. ХПВ и LSIL

Кај жените со сквамозна интраепителна лезија на грлото на матката од низок степен најчесто детектирани се нискоризичните генитипови на ХПВ-6 и -11 и високоризичните генотипа на ХПВ-16 и -18. Нискоризичните ХПВ-6 и -11 генотипови се најзастапени кај гениталните брадавици, а многу малку кај малигните лезии на грлото на матката. Гениталните брадавици и LSIL најчесто се асоцирани со комбинација на ниско и високоризични генотипови на ХПВ [202].

Во студијата на Silveira и сор. од 2015 година, работена на 40 жени со LSIL на грлото на матката, ДНК од ХПВ била детектирана кај 87% (35/40) од случаевите. Кај 76% од жените биле детектирани високоризични генотипови на ХПВ, а кај 24% од жените биле детектирани нискоризични генотипови. Од високоризичните најфреквентен бил ХПВ-16, а од нискоризичните ХПВ-6 [203].

Во студијата на Melinte-Popescu од 2012 година, работена на 83 жени со LGSIL на грлото на матката, од нискоризичните ДНК-ХПВ генотипови најзастапен бил ХПВ-11, по него следеле ХПВ-54,-83,-61, а од високоризичните најзастапен бил ХПВ-16, следеле ХПВ-18,-66,-68 [204].

Во студијата на Ye и сор. од 2017 година, работена на 273 жени ДНК ХПВ-16 и -18 позитивни со хистопатолошки наод на LSIL/CIN 1, со follow-up од две години била детектирана регресија на лезијата кај 190 (69,6%) жени, перзистирање на лезијата кај 37 (13,6%) жени и прогресија на лезијата кај 46 (16,8%) жени [205].

1.4.10. МЕТОДИ ЗА ИСПИТУВАЊЕ НА ХПВ

Бидејќи постојат околу 200 ХПВ-генотипови, од кои барем 40 примарно се наоѓаат во аногениталниот тракт, нивното испитување е комплексно. Сите ХПВ-генотипови се многу слични меѓу себе, тестовите се дизајнираат така што ги таргетираат конзервираните региони од геномот или региони чии секвенци можат да се искористат за разграничување на различни ХПВ-генотипови. Форматот на ХПВ-тестот одредува колку ХПВ генотипови ќе се детектираат, како и ефикасноста на тип специфичната детекција и дискриминација [174].

Присуството на ХПВ може да се докаже од морфолошки, серолошки и клинички наоди [206]. Откривањето на ХПВ главно се базира на детекција на вирусна нуклеинска киселина, ДНК и РНК. Бидејќи ХПВ не може да се култивира, конвенционалните методи на вирусна култура не се применуваат [207]. ХПВ-инфекцијата, во принцип не предизвикува постојана имунолошка реакција, не постои виремија, ХПВ е лош имуноактиватор и поради оваа причина серолошката детекција на антитела против структурните ХПВ-протеини не се сигурна метода за детекција и не се користи во клиничка пракса. Кај продуктивната ХПВ-инфекција, како што се гениталните брадавици, ХПВ може да се открие со помош на електронска микроскопија и имунохистохемиска и имуноцитохемиска детекција на вирусните капсидни протеини L1 и L2. Имунолошката детекција на ХПВ во човековите клетки или ткива е ограничена од три главни причини: 1) „доцните”, капсидни протеини се изразени само кај продуктивната ХПВ-инфекција; 2) честопати „раните” протеини се изразени во мали концентрации во инфицираните ткива и 3) постои недостаток на чувствителни и специфични антитела од висок квалитет против вирусните протеини. Тестовите базирани на оваа метода имаат ниска сензитивност и не прават разлика помеѓу ХПВ-генотиповите. Не ретко и детекцијата на „раните” вирусни протеини е комплицирана заради ниското ниво на експресија во ХПВ-инфицираните клетки или ткива. Антитела против Е6 и Е7 се достапни, но нивната употреба главно е ограничена на *in vitro* тестови [208].

Карактеристиките на тестовите за детекција на карциномот на грлото на матката и неговите прекурзорни лезии се прикажани во Табела 8.

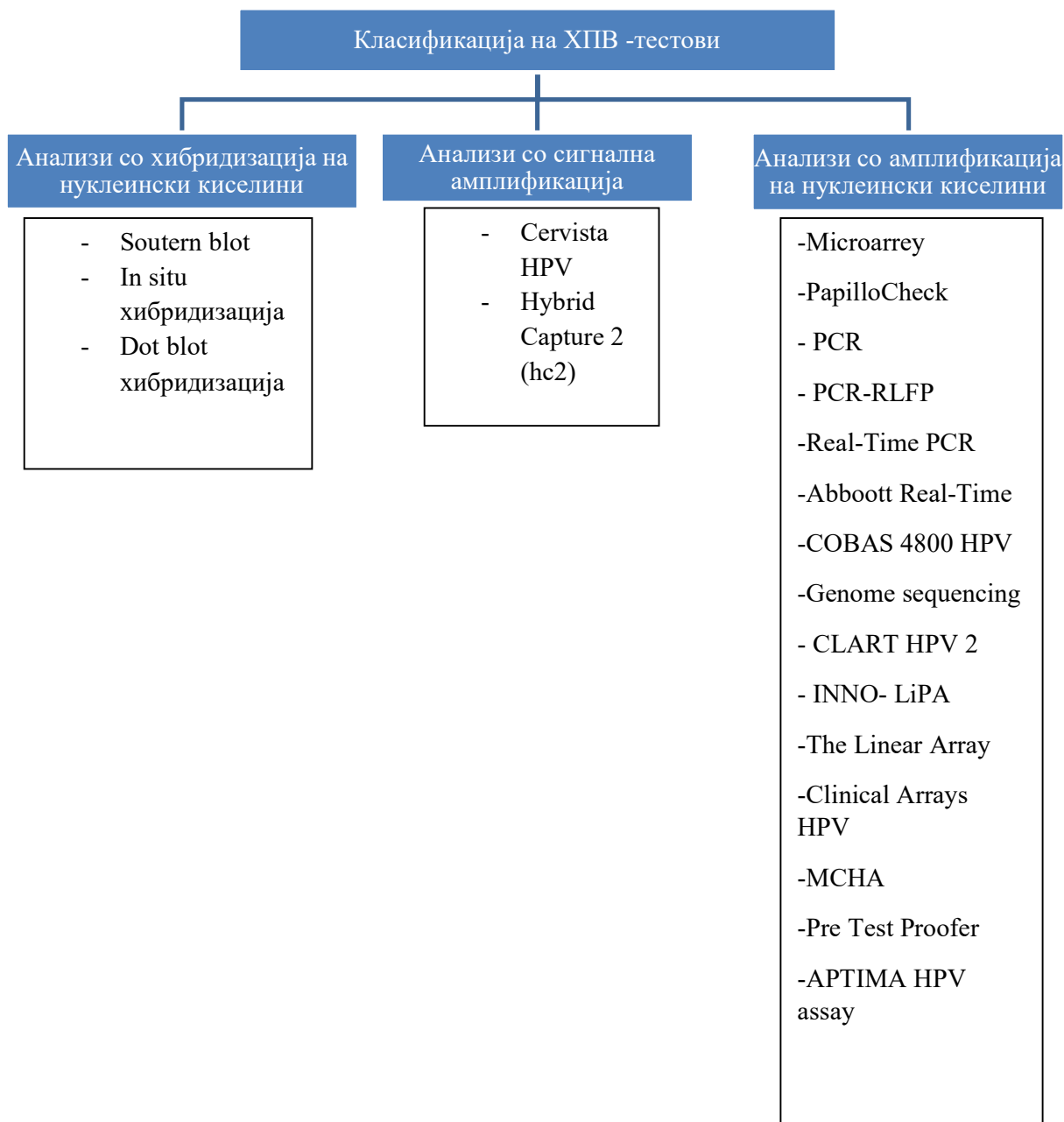
Табела 8. Карактеристики на тестовите за детекција на цервикалниот карцином и неговите прекурзорни лезии [206]

Тест	Сензитивност /специфичност на тестот за CIN 2/3 лезии и цервикален карцином	
	Аналитички	Клинички
БАЗИРАН НА КЛЕТОЧНА МОРФОЛОГИЈА		
РАР брис/ткиво ¹	N.A	ниска/висока
<i>Колпоскопија</i> ¹	N.A	умерена/ниска
<i>Визуелна инспекција</i> ¹	N.A	ниска/ниска
ДЕТЕКЦИЈА НА ПРОТЕИНИ		
<i>Имуноцитохистохемија</i> ²	ниска/висока	ниска/ниска
<i>Електронска микроскопија</i> ²	ниска/висока	ниска/ниска
<i>Western blots</i> ²	ниска/висока	ниска/умерена
ДЕТЕКЦИЈА НА ХПВ-ГЕНОМИ		
<i>Директни методи</i>		
<i>Southern blot</i> ^{2/3}	умерена/висока	умерена/висока
<i>In situ хибридизација</i> ^{2/3}	умерена/умерена	умерена/умерена
<i>Dot blot</i>	ниска/висока	ниска/висока
<i>Сигнална амплификација</i>		
<i>Hibrid capture</i> ^{4/5/6}	висока/висока	висока/висока
<i>Таргентна амплификација</i>		
<i>PCR</i> ^{4/5/6}	висока/висока	многу висока-висока/ висока-умерена
<i>Real time PCR</i> ^{5/6}	многу висока/ висока	многу висока
ДЕТЕКЦИЈА НА АНТИ-ХПВ АНТИТЕЛА		
<i>ELISA пептиди</i>	ниска/ ниска	ниска/ниска
<i>VLP</i>	умерена/ висока	ниска/ниска
<i>Фузирани Е6/7</i>	висока/умерена	ниска-умерена/висока

Легенда: 1, ограничени поради нивната ниска сензитивност; високо зависни за земање и чување ткиво; не може да генотипизираат ХПВ; 2, технички тешки и/или одземаат многу време; 3, бараат ДНК и ткивна презервација; 4, помалку зависни од земање мостри; можат да се направат со сурови примероци; 5, погодни за тестирање во секој поглед и автоматизирани; 6, обезбедуваат информации за вирусната концентрација; N.A, Non Aplicabile (неприменливо)

ХПВ-дијагностиката се базира на молекуларно-биолошки методи кои овозможуваат точна детекција и генотипизација [209]. Во денешно време во употреба се тестови класифицирани во три групи базирани на методите: хибридизација на нуклеински киселини, сигнална амплификација и амплификација на нуклеински киселини. (Слика 15) [210].

Слика 15. Класификација на ХПВ-тестовите [210]



Предностите и слабостите на молекуларните методи за детекција на ХПВ се прикажани во Табела 9.

Табела 9. Предности и слабости на молекуларните методи за детекција на ХПВ [210]

Метод	Предности	Слабости
Хибридизација на нуклеински киселини	Southern blot е златен стандард за ХПВ-геномска анализа. Присуство на ХПВ во асоцијација со морфологија	Ниска сензитивност, трошење на време, релативно големи количини на прочистена ДНК
		Southern blot и хибридизација не користат деградирана ДНК
Сигнална амплификација	Квантитативна	Лиценцирани и патентирани технологии
	FDA одобрен тест (hc2)	Не е дизајниран за индивидуално генотипирање
	Ниска лажно-позитивна стапка	
	Висока сензитивност за генотипизација	
Амплификација на нуклеински киселини	Флексибилна технологија (вирусен внес и генотип)	Ниски амплификациони сигнали на некои ХПВ генотипови
	Многу висока сензитивност	Контаминација со претходно амплифициран материјал може да доведе до лажно-позитивен резултат
	Мултипни анализи	

Легенда: ХПВ, хуман папилома вирус; ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина; FDA, Food and Drug Administration (Администрација за храна и лекови); hc2, Hibrid Capture® 2

1.4.10.1. ХПВ ДНК-тестирање

Поголемиот број комерцијални тестови за детекција на ДНК од ХПВ, базирани се на две основни молекуларно-биолошки методи [210]:

1) Полимераза верижна реакција (PCR)

PCR е техника која се користи во молекуларната биологија за амплификација на една или неколку копии од сегмент на ДНК низ неколку редови, генерирајќи илјадници до милиони идентични копии од одредената ДНК-секвенца. Тој е лесен,

евтин и сигурен начин за постојана репликација на фокусирани сегменти на ДНК, концепт кој се применува во голем број области во модерната биологија и сродните науки [211] и

2) Хибридизација

Хибридизацијата е процес во кој два полинуклеотидни ланци по принципот на комплементарност на нивните азотните бази се поврзуваат со водородни врски. Во процесот на хибридизација комплекси наречени хибриди се формирани од страна на молекули со слични, комплементарни секвенци [212].

Шест главни клинички примени на ХПВ-ДНК тестирањето се:

1. Тријажа на жени со ASC-US и LSIL;
2. Следење на жени со абнормални скрининг-резултати кои се негативни на колпоскопија и/или биопсија;
3. Предвидување на терапевтски исход после третман на интраепителна лезија;
4. Како примарен скрининг-тест [213];
5. Добивање информација за постоење на одредени генотипови на ХПВ [214] и
6. Одредување на преваленцата на одредени генотипови на ХПВ на регионално, државно или глобално ниво [89].

1.4.10.2. ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирање

ХПВ-ДНК тестовите детектираат само присуство на ХПВ-инфекција. Врз база на овие тестови не може да се заклучи дали се работи за минлива (80%) или долготрајна/перзистентна (20%) ХПВ-инфекција [215].

ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестовите ја одредуваат онкогената активност на вирусот и претставуваат добар клинички биомаркер за предикција и детекција на директниот ризик од развој на карцином на грлото на матката [216].

Постојат две комерцијално достапни техники [217]:

- 1) Амплификација базирана на секвенци на нуклеинска киселина - Nucleic Acid Sequence-Based Amplification (NASBA)

NASBA-технологијата е сензитивен transcription-based amplification system (TAS) за специфична репликација на нуклеински киселини *in vitro*. Се користи за детекција на Е6/Е7 вирална иРНК од 5 генотипови. Предност на оваа техника е тоа што комплетната амплификациона реакција се изведува на 41°C. Вклучени се три ензими во оваа хомогена изотермална реакција: реверзна транскриптаза (Reverse Transcriptase, RT), рибонуклеаза Х (Ribonuclease H RNase H) и Т7 ДНК зависна РНК-полимераза (T7 DNA dependent RNA polymerase, DdRp) [218] и

2) Транскрипциски посредувана амплификација (Transcription-Mediated Amplification, TMA)

ТМА се користи за детекција на Е6/Е7 вирална иРНК од 14 ХПВ-генотипови. Тестот вклучува три главни чекори, кои се одвиваат во една реакциона тубичка: „заробување“ на таргетот, амплификација на таргетот со ТМА и детекција на амплификационите продукти со Hybridization Protection Assay (HPA). Користи два ензима: РНК полимераза и реверзна транскриптаза [219].

Пет најзначајни предности на ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестовите над ХПВ-ДНК тестовите се:

1. Тие се посспецифични, неинвазивни тестови;
2. Имаат поголема медицинска предиктивна вредност (поголемо прогностичко значење) во однос на тестовите за детекција на ХПВ-ДНК [220];
3. Подобро корелираат со цитологијата и хистологијата [221];
4. Директно го детектираат нивото на изразување (експресија) на онкогените ХПВ Е6 и Е7 (иРНК) и
5. Истовремено детектираат, диференцираат и типизираат високо-ризични ХПВ генотипови 16, 18, 31, 33 и 45 [222].

1.5. БАКТЕРИСКА ВАГИНОЗА

1.5.1. КАРАКТЕРИСТИКИ

Бактериската вагиноза е пореметување во составот на вагиналната флора кое доведува до намалување на бројот на водород пероксид продуцирачките лактобацили и преминација на разновидни анаеробни бактерии [223].

Бактериската вагиноза не се смета за тешко заболување. Не се смета ниту за класична инфекција заради отсуство на знаците на воспаление. Уште се води полемика околу тоа како да се означи, како променета вагинална состојба или како вагинален синдром [224]. Она за што се согласуваат поголемиот број истражувачи е тоа дека бактериската вагиноза претставува промена на микроекологијата на долниот женски генитален тракт, така што микроорганизмите кои во тек на репродуктивниот период на жената постојат во мал број во вагината, почнуваат да надвладуваат над лактобацилите [225].

Составот на вагиналната флора кај жените со бактериска вагиноза значително се разликува од оние со нормална флора. Прво обележје кое се воочува е преминација на аеробни и анаеробни бактерии во вагиналниот секрет на жените со бактериска вагиноза. Кај жените со нормална вагинална флора се наоѓаат помалку од 10^7 бактерии по грам секрет, додека кај жените со бактериска вагиноза се изолираат повеќе од 10^{11} бактерии по грам секрет [226]. Кај жените со бактериска вагиноза се наоѓаат повеќе грам-негативни аеробни и анаеробни бактерии во однос на оние со нормална вагинална флора. Меѓутоа е невозможно да се издвои една од тие бактериски врсти како причинител на бактериската вагиноза имајќи во предвид дека сите тие се наоѓаат и во составот на вагиналната флора на здрави жени, иако во многу помали количини [227].

Иако бактериската вагиноза за прв пат е опишана во 1895 година, во фокусот на внимание, како голема загриженост за гениталното здравјето на жените, е во раните осумдесетти години од минатиот век. Во меѓувреме, бактериската вагиноза не најде место во јадрото арсенал од синдроми кои се лекуваат од страна на медицинскиот персонал, ниту пак е дадено соодветно задоволително патофизиолошко објаснување. Таа се уште претставува сериозен проблем како за лекарите така и за истражувачите на нејзината етиологија. Во денешно време таа бара поголема и подетална истрага. Брзиот развој на молекуларно-биолошките методи го олеснуваат детектирањето на бактериската вагиноза [228].

1.5.2. ИСТОРИЈАТ

Првиот опис на нормална бактериска вагинална флора е објавен во 1892 година од страна на Doderlein [229]. Неговата студија, ги содржи и првите објавени илустрации на бактерии кои подоцна биле наречени Doderlein-ови бацили. Овие факултативно анаеробни грам-позитивни бактерии се покаже дека се дел од една група на бактерии наречени лактобацили, а во бактериската токсономија [230] тие се класифицирани во родот *Lactobacillus*. Во 1895 година Kronig прикажал „подвижни стапчиња”, за кои верувал дека нормално постојат во вагината на бремените жени. Ова бил највероватно првиот опис на бактеријата која денес е позната под името *Mobiluncus species* [231,232]. Во 1913 година Curtis прв изолирал криви анаеробни бактерии од жена со пуерперална треска. Наредната година тој објавиле дека во нормалната вагинална содржина доминираат лактобацили и дека присуството на анаеробни бактерии е во корелација со вагиналниот исцедок [233]. Оваа промена на вагиналната флора била објавена и во 1921 година од страна на Schroder. Тој направил поделба на вагиналниот исцедок на три типа: 1) вагинален исцедок во кој доминираат лактобацили, 2) вагинален исцедок кој содржи мешавина на лактобацили и други бактерии и 3) вагинален исцедок кој не содржи лактобацили. Подоцна терминот „неспецифичен вагинитис” бил употребен за да биде опишан овој синдром [234].

Во 1955 година Gardner и Duke ја изолирале бактеријата *Haemophilus vaginalis* подоцна наречена *Gardnerella vaginalis*. Gardner и Duke опишале синдром кој го нарекле *Haemophilus vaginalis vaginitis* [235]. Истражувањата на Totten и Hillier покажале дека и вагиналниот секрет на здрави жени содржи *Gardnerella vaginalis* но во помали концентрации [236,230]. Во 1984 година, на вториот меѓународен состанок за синдроми, за прв пат е воведен и дефиниран поимот бактериска вагиноза, кој за брзо време бил универзално прифатен [237].

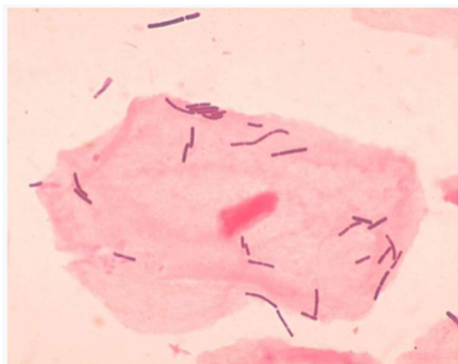
1.5.3. ЕТИОЛОГИЈА

Бактериската вагиноза е полимикробна, примарно анаеробна инфекција, порано викана “неспецифичен вагинитис”, или вагинитис придружен со *Gardnerella vaginalis*. Последица е на нарушена рамнотежа помеѓу различни типови на бактерии во вагината. Наместо нормална преобладација на лактобацили, во вагината можат да се најдат различни типови на микроорганизми, како што се: *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus*

species, Prevotella species, Bacteroides, Peptostreptococcus, Mycoplasma hominis и Ureaplasma urealyticum [238].

Lactobacillus

Слика 16. Лактобацил



Лактобацилите (Слика 16) се грам-позитивни, факултативно анаеробни или микроаерофилни, стапчести, неспорогени бактерии. Тие се голем дел од групата на млечнокиселински бактерии (го конвертираат шеќерот во млечна киселина). Претставуваат значајна компонента на флората на голем број на органски системи кај човекот [239].

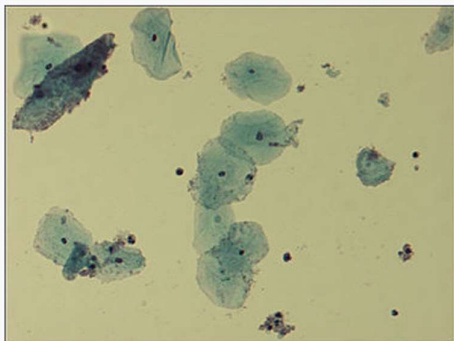
Женскиот генитален тракт е еден од главните колонизаторски делови на човековата микробиота. Кај околу 70% од жените лактобацилите се доминантен вид на бактерија во вагиналната флора. Овој процент варира во зависност од географската и расната припадност [240].

Родот *Lactobacillus* содржи повеќе од 180 видови поделени во три групи (облигатно хемоферментативни, факултативно хетероферментативни и облигатно хетероферментативни) и опфаќа широк спектар на организми [241].

Симбиозата помеѓу вагиналните лактобацили и жената домаќин е под силно влијание на хормоните кои циркулираат во организмот на жената, кои пак го стимулираат вагиналниот епител да продуцира гликоген [242]. Вагиналните лактобацили го метаболизираат гликогенот до млечна киселина, која во голема мерка е одговорна за нормална рН на вагина (<4,5) [243].

Gardnerella vaginalis

Слика 17. *Gardnerella vaginalis*



Gardnerella е род на грам-променливи, факултативно анаеробни бактерии, од кои *Gardnerella vaginales* (Слика 17) е единствениот вид, првично изолиран од Leopold во 1953 година. Тие се мали, не спорогени, не подвижни кокобацили. Растат како мали, кружни, конвексни, сиви колонии на чоколаден агар, како

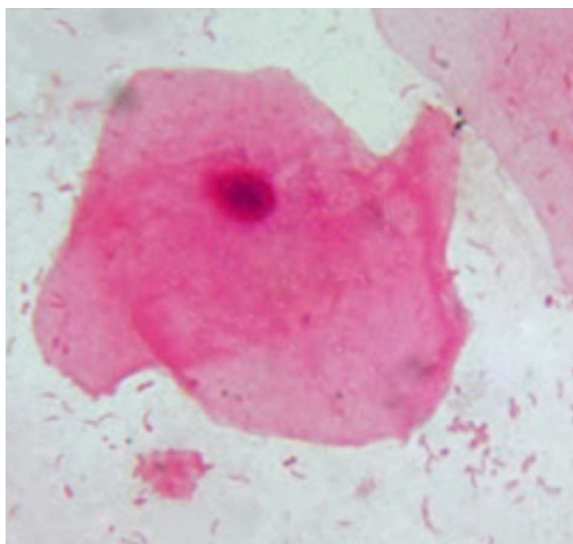
и на НВТ (Human Blood Tween) агар. Селективен медиум за *Gardnerella vaginalis* е colistin-oxolinic киселина крвен агар [244].

Gardnerella vaginalis заедно со други бактериски видови, најчесто анаеробни, се детектира кај жените со бактериска вагиноза. Се наоѓа скоро кај сите жени со бактериска вагиноза и кај околу 50% од жените со нормална вагинална флора. Показува висока сензитивност (100%) и ниска специфичност (49%) за бактериска вагиноза. Освен од вагинална култура, од која и најчесто се детектира, таа може да се изолира и од примероци на крв, урина и фаринкс. Имаат грам-позитивен клеточен ѕид кој е многу тенок, па поради тоа под микроскоп може да се појави и како грам-позитивна и како грам-негативна [245].

Gardnerella vaginalis продуцира токсин наречен вагинолизин, кој ги афектира само хуманите клетки. *In vivo*, цитолитичката активност на вагинолизинот се смета дека ја зголемува достапноста на хранливите материи за *Gardnerella vaginalis*. IgA-антитела против вагинолизинот биле откриени и поврзани со мукозалниот имунолошки одговор за време на бактериска вагиноза. Ензимите протеаза и сијалидаза често ја придружуваат *Gardnerella vaginalis*. Тие предизвикуваат ексфолијација на вагиналните епителни клетки [246,247].

Mobiluncus species

Слика 18. *Mobiluncus species* [248]



Mobiluncus (Слика 18) е род на грам-негативни, анаеробни, во вид на прачка бактерии. Родот содржи два вида: *Mobiluncus curtisii* и *Mobiluncus mulieris*. Иако овој видови поседуваат клеточен сид со структурна сличност со други грам-позитивни клеточни сидови, по грам овие бактерии можат да бидат обоени или грам-негативни или грам-променливи [248].

Овие микроорганизми се наоѓаат во вагината на жените, особено во комбинација со *Gardnerella vaginalis* кај случаите со бактериска вагиноза. Детектиран е кај 50% од случаите со бактериска вагиноза [249].

Prevotella species

Слика 19. *Prevotella species*



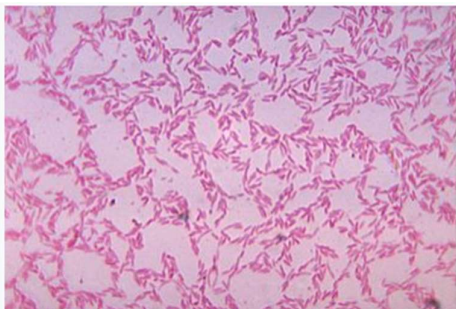
Prevotella (Слика 19) е род на грам-негативни, плеоморфни, неподвижни, стапчести бактерии, кои претходно биле класифицирани како *Bacteroides*. Се наоѓаат во усната празнина и во вагината. Во усната празнина асоцирани се со инфекции на перидонтот и горните респираторни патишта, додека во вагината асоцирани се со бактериската вагиноза

заедно со *Gardnerella vaginalis*. Продуцираат полиамини, вклучувајќи и путресцин, кадаверин и триметиламин [250]. *Prevotella species* детектиран е кај 58% од жените со бактериска вагиноза [251].

Prevotella може да биде и причина за stomачни инфекции кај децата, ревматоиден артритис и остеомиелитис [252].

Bacteroides

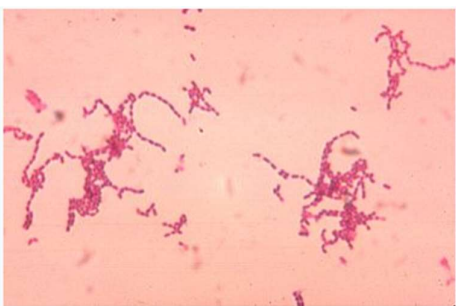
Слика 20. *Bacteroides*



Bacteroides (Слика 20) е род од грам-негативни, облигаторно анаеробни, неспорогени, подвижни или неподвижни бактерии [253]. Играат фундаментална улога во гастроинтестиналниот тракт во процесот на разложување на сложените молекули. Може да се изолираат од вагиналниот исцедок, заедно со *Gardnerella vaginalis* кај бактериската вагиноза. Најпознат species на бактериодите е *Prevotella species* [254].

Peptostreptococcus

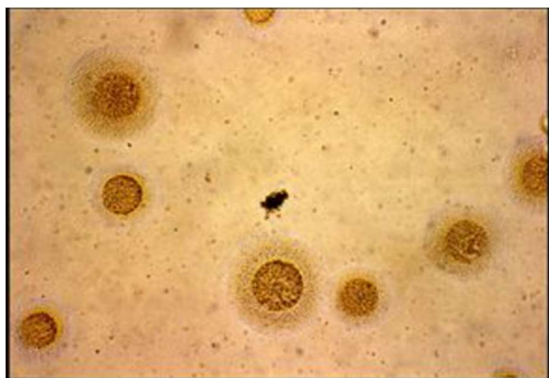
Слика 21. *Peptostreptococcus*



Peptostreptococcus (Слика 21) е род на анаеробни, грам-позитивни, неспорогени бактерии. Тие се мали, топчести бактерии кои може да се најдат во кратки синцири, во парови или поединачно. Обично се движат со помош на влакненца. *Peptostreptococcus* се бавнорастечки бактерии со зголемена отпорност на антимикробни лекови [255]. Тие се нормални жители на долниот репродуктивен тракт на жената [256].

Mycoplasma hominis

Слика 22. *Mycoplasma hominis*

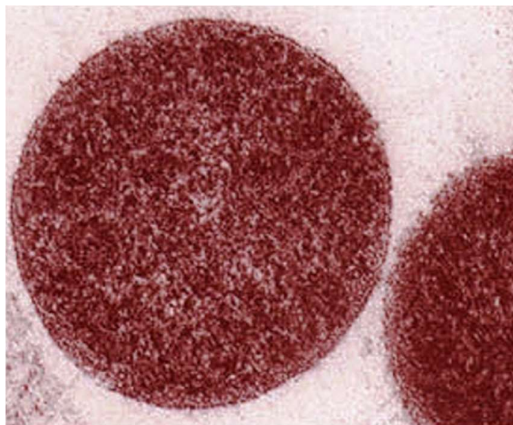


Mycoplasma hominis (Слика 22) е вид на бактерија од родот *Mycoplasma*. Имаат способност да навлезат во внатрешноста на човековите клетки. Заедно со уреоплазмите се најмалите живи слободни микроорганизми. Немаат клеточен ѕид и не се бојат по Грам.

Mycoplasma hominis е асоцирана со пелвична инфламаторна болест, машка неплодност и бактериска вагиноза. Расте на гликоза агар медиум во рок од 24-48 часа [257].

Ureaplasma urealyticum

Слика 23. *Ureaplasma urealyticum*



Ureaplasma urealyticum (Слика 23) е бактерија од фамилијата *Mycoplasmataceae* која се наоѓа во урогениталниот тракт на луѓето. Познати се шест видови, а за нивен раст потребен е холестерол. Карактеристика на родот е дека тие вршат уреа хидролиза. Често се поврзани со микоплазмите. Немаат клеточен ѕид поради тоа се отпорни на пеницилини, а се сензитивни на тетрациклини и еритромицин.

Овој микроорганизам може да живее во нормалната флора на долниот женски репродуктивен тракт [258].

1.5.3.1. Вагинална микробиота кај здрави асимптоматски жени

Врската помеѓу здравјето, болеста и човековата микробиота е „брзодвижечка” и спорна област на истражување, а разбирањето на варијациите во составот на флората кај поединците го проширува нашето разбирање за патофизиологијата на различните

болест кои влијаат на многу телесни системи. Во случајот со женскиот репродуктивен тракт, здравјето најчесто се поврзувало со ниска микробна разновидност и доминација од само еден или неколку видови на *Lactobacillus* [259,260]. Подоцна биле идентификувани новите членови на вагиналната микробиота: *Atopobium* и *Lactobacillus iners* [261,262].

Ravel и сор. во 2011 година, во нивната историска студија работена на вагинални примероци собрани од 396 етнички разновидни жени во репродуктивен период, анализирани користејќи секвенционирање на бактериски 16S рНК-гени базирани на Roche 454 FLX, идентификувале вкупно 282 таксони и користејќи хиерархиско токсономско групирање, вагиналниот микробиолошки профил на секоја жена го класифицирале во една од петте категории на типови на микробни заедници (Табела 10). Типовите I, II, III и V се карактеризираат со доминација на *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus iners* и *Lactobacillus jensensii* и имаат тенденција да имаат ниска разновидност и рамномерност на видовите. Спротивно на тоа типот IV, обично е ослободен од *Lactobacillus species* и наместо тоа е збогатен со строги анаеробни видови, често асоцирани со бактериската вагиноза, вклучувајќи: *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella species*, *Mobiluncus species*, *Megashera* и *Sneathia* [263].

Табела 10. Микробни заедници [263]

	Тип на микробна заедница	pH (Potential of hydrogen)
I	<i>Lactobacillus crispatus</i>	4,0
II	<i>Lactobacillus gasseri</i>	5,0
V	<i>Lactobacillus jensensii</i>	4,7
III	<i>Lactobacillus iners</i>	4,4
IV-A	Скромни нивоа на <i>Lactobacillus crispatus</i> , <i>Lactobacillus iners</i> и други <i>Lactobacillus species</i> Со ниски пропорции на <i>Streptococcus</i> , <i>Anaerococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> и <i>Fingoldia</i>	
IV-B	Релативно високи нивоа на <i>Atopobium</i> , <i>Gardnerella</i> , <i>Mobiluncus</i> , <i>Peptoniphilus</i> , <i>Sneathia</i> , <i>Prevotella</i>	5,3
Бактериска вагиноза	Полимикробна Зголемена разновидност и бактериско оптоварување	>4.5

1.5.4. ЕПИДЕМИОЛОГИЈА

Точната преваленца на бактериската вагиноза се уште е енигма. Процентата преваленца на бактериската вагиноза варира во зависност од географската припадност, етничката припадност, социо-економскиот статус, мострата на испитуваната женска популација и методологијата на истражување. Обично се движи во границите од 4-33% во економски поразвиените земји во светот, додека во земјите во развој процентата преваленца на бактериската вагиноза кај небремените жени варира од 20-58% [264,265]. Тај и сор. во 2012 година рапортирале за преваленца од 20-49% кај жените со низок социо-економски статус, 45-55% кај афро-американските жени, 20-30% кај азиските жени и 5-15% кај жените од Кавказ [266].

Во шведската судија на Larson и сор. од 2003 година, базирана на Нуцентовата (Nugent) метода, работена на 1 176 жени, бактериската вагиноза била детектирана кај 49 (4,2%) жени [267].

Во австралиската студија на Smart и сор. од 2004 година, работена на 15 567 жени, процентата преваленца на бактериската вагиноза била 5,7% [268].

Во британската студија на Morris и сор., базирана на Амселовите (Amsel) клинички критериуми, работена на 8 989 жени, бактериската вагиноза била детектирана кај 12,9% од жените [269].

Индиската студија на Modak и сор. од 2010 година, базирана на Нуцентовата метода, работена на 213 жени, покажала преваленца од 24% [270].

Кубанската студија на Martinez-Martinez и сор. од 2013 година, работена на 101 жена, покажала преваленца на бактериската вагиноза од 36,6%, базирана на Амселовите клинички критериуми и 28,7% базирана на Нуцентовата метода [271].

Во големото американска истражување на националното здравје и исхрана, спроведено во периодот од 2001-2004 година, на 3 739 сексуално активни жени на возраст од 14 до 49 години, врз база на Нуцентовата метода детектирана е бактериска вагиноза кај скоро една третина од испитуваната популација (29,2%; 95% CI: 27,2-31,3) и преваленца 3,13 пати поголема кај афроамериканските жени во споредба со жените од белата раса [272].

1.5.5. РИЗИК-ФАКТОРИ

Најчести ризик-фактори за појава на бактериската вагиноза се:

1. Чест вагинален исцедок

Во студијата на Brotman и сор. од 2008 година била прикажана позитивна корелација помеѓу честиот вагинален исцедок и бактериската вагиноза (RR=1,21 [95% CI: 1,08-1,38]) [273]. Во студијата на Ness и сор., работена на 1200 жени, бил детектиран зголемен ризик од бактериска вагиноза кај жените со чест вагинален исцедок (OR=2,1; RR=1,9; 95% CI: 1,3-3,1) [274]. Но проспективната студија на Klebanoff и сор од 2006 година, работена на 48 жени со чест вагинален исцедок, не покажала разлика во вагиналната флора на жените, меѓу оние кои престанале да имаат исцедок после осум недели и оние кои продолжиле да имаат исцедок [275].

2. Пушење цигари

Во студијата на Smart и сор. од 2004 година била прикажана позитивна корелација помеѓу пушењето цигари и бактериската вагиноза (trend $\chi^2=20,30$, 1 df, $p<0,0001$) [268]. Пушењето цигари, најверојатно преку супресија на растот на хидроген пероксидаза-продуцирачките лактобацили, го зголемува ризикот за бактериска вагиноза [276].

3. Расна припадност

Повеќе истражувања покажале дека процентот на застапеност на бактериската вагиноза кај жените од црната раса е поголем отколку кај жените од белата раса. Ова најверојатно се должи на разликите во вагиналната флора кај жените од црната и белата раса, на генетските фактори кои влијаат на мукозниот имунитет или метаболитичките патишта, како и на влијанието на различните хигиенски навики. Истражувањето на Ness и сор. од 2003 година покажало многу поголема преваленца на бактериската вагиноза кај жените од црната (44%) отколку кај жените од белата (25%) раса [277].

4. Сексуална активност

Бактериската вагиноза е многу почеста кај жените кои се сексуално активни отколку кај жените кои немале сексуален однос. Во студијата на Yen и сор., работена на 1 938 млади жени, проценетата преваленца на бактериската вагиноза кај жените кои биле сексуално активни била 28%, во споредба со 18% кај оние кои никогаш немале сексуален однос. Истата студија покажала

заштитен ефект од бактериска вагиноза на оралните хормонски контрацептивни средства ($p=0,013$) [278].

5. *Сексуален однос со нов партнер и со поголем број на машки сексуални партнери*

Во студијата на Schwebke и сор. од 2005 година, секс со нов партнер бил значаен ризик-фактор за бактериска вагиноза ($RR=1,74$; 95% CI: 1,05-2,87). Истата студија покажала позитивна корелација помеѓу зголемениот број на машки сексуални партнери и бактериската вагиноза ($RR=1,04$; 95% CI: 0,94-1,16) [279]. Во follow-up студијата на Ness и сор. од 2006 година, работена на 1193 жени, следени во период од три години, на интервал од 6 до 12 месеци, било покажано дека 20% од жените без бактериска вагиноза биле позитивни за бактериска вагиноза на следната посета и истражување [280].

6. *Секс со жена и орален секс*

Истражувањето на Marrazzo и сор. од 2002 година покажало поголема преваленца на бактериска вагиноза кај жените кои имале секс со жена (80,25%). Истото истражување покажало зголемен ризик од бактериска вагиноза кај жените кои често имаат орален секс ($p=0,001$) [281].

7. *Незаштитен вагинален однос и употреба на интраутерина влошка*

Бактериската вагиноза е почеста кај жените со незаштитен вагинален сексуален однос, отколку кај жените кои употребуваат механички контрацептивни средства. Follow-up студијата на Hutchinson и сор. од 2007 година, работена на 871 жени со зголемен ризик од сексуално преносливи болести, покажала дека постојаната употреба на кондоми (10 од 10 сексуални односи) е асоцирана со намалена фреквенција на бактериска вагиноза ($OR=0,55$ [95% CI: 0,35-0,88]) [282]. Истражувањето на Josesoef и сор. од 2001 година покажало висока стапка на бактериска вагиноза кај жените со интраутерина влошка [283].

8. *Пореметен менструален циклус*

Жените со пореметен менструален циклус имаат поголем ризик од бактериска вагиноза отколку жените со нормален менструален циклус. Ова највероватно се должи на пореметената циклична секреција на естроген и прогестерон, која може да се појави кај жените со бактериска вагиноза. Во истражувањето на Eichenbach и сор. детектирана е поголема преваленца на бактериска вагиноза кај жените со инсуфициентен менструален циклус отколку кај жените со нормален менструален циклус [284].

9. Хроничен стрес

Истражувањето на Culhane и сор. од 2002 година покажало позитивна асоцијација помеѓу хроничниот стрес и бактериската вагиноза (OR=6,7; 95% CI: 1,6-27,8) [285].

1.5.6. БОЛЕСТИ АСОЦИРАНИ СО БАКТЕРИСКАТА ВАГИНОЗА

Истражувањата покажале значајна поврзаност помеѓу бактериската вагиноза и хуманиот вирус на имунодефициенција (ХИВ) [286,287]. Во студијата на Francis и сор., работена на 1 027 сексуални работнички во Уганда, во периодот од 2008-2011 година, бактериската вагиноза била детектирана кај 573 (56%) сексуални работнички. Била детектирана асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и ХИВ-позитивните жени (OR=1,94; 95% CI: 1,54-2,44) [288]. Во истражувањето на Cu-Uvin и сор. била покажана позитивна асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и експресија на ХИВ тип 1 РНК во женскиот генитален тракт [289].

Бактериската вагиноза може да биде асоцирана со *Chlamydia* и *Gonorrhoea*. Студијата на Bautista и сор., работена во периодот од 2006-2012 година на 37 149 *Chlamydia trachomatis* позитивни и 4 987 *Neisseria gonorrhoeae* позитивни жени од американската војска, покажала зголемен ризик од бактериска вагиноза кај жените со хламидија (RR=1,51; 95% CI: 1,47-1,55) и гонореја (RR=2,42; 95% CI: 2,27-2,57) [290].

Асоцијација е детектирана и помеѓу бактериската вагиноза и *Herpes simplex* вирусот тип 2 [291]. Проспективната студија на Cherpes и сор. покажала 2,1 пати зголемен ризик од бактериска вагиноза кај жените инфицирани со *Herpes simplex* вирусот тип 2 [292].

1.5.7. АСОЦИЈАЦИЈА ПОМЕЃУ БАКТЕРИСКАТА ВАГИНОЗА И ХПВ-ИНФЕКЦИЈАТА

Односот помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ е предмет на дебата до ден-денес. За разлика од ХПВ-инфекцијата, бактериската вагиноза е асоцирана со големи промени на вагиналната средина. Бидејќи жените со бактериска вагиноза поседуваат вагинална флора сиромашна со лактобацили, нивните промени во вагиналниот екосистем можат да обезбедат биолошко однесување за зголемен ризик или реактивација на ХПВ инфекцијата. Малку се знае за тоа како се менува вагиналната средина под влијание на

бактериската вагиноза и како вагиналната мукоза станува добра подлога за ХПВ, или обратно како ХПВ-инфекцијата влијае на бактериската вагиноза [293].

Неколку хипотези даваат објаснување за можната врска помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ-инфекцијата:

1. Кај жените со отсутна бактериска вагиноза водород пероксид-продуцирачките лактобацили доминираат во вагиналната микрофлора и се дел од главните механизми за одбрана. Губењето на овие заштитни микроорганизми и други промени во вагиналната флора, може да го олесни опстанокот на други сексуално преносливи агенси и се фактор на ризик за развој на вагинална инфекција [294]. Познато е дека жените со бактериска вагиноза се подложни на стекнување инфекција со *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, ХИВ и *Herpes simplex* вирусот тип 1 и 2 [295]. Покрај тоа бактериската вагиноза е асоцирана со намалено ниво на секреторен леукоцитен протеаза инхибитор во вагиналниот секрет, кој пак може да ја блокира ХПВ-инфекцијата *in vitro*. Покажано е дека бактериската вагиноза пропагира вирусна репликација и вагинална доминација на *Herpes simplex* вирусот, со што дополнително го подобрува ширењето на сексуално преносливите инфекции [296].
2. Друга хипотеза го истакнува значењето на муцин-деградирачките ензими кои се зголемени во вагиналниот секрет на жените со бактериска вагиноза. Овие ензими, како сијалидазите, пролидазите и путресциногените имаат голема улога во деградација на муциногенот кој го обложува епителот на грлото на матката, предизвикувајќи микро гребаници или измени на епителните клетки. Таквите ензими може да ја промовираат вирулентноста преку уништување на заштитната мукозна бариера и оттука ја зголемуваат осетливоста на грлото на матката на ХПВ-инфекција со олеснување на прилепување, освојување и инкорпорирање на вирусниот геном во геномот на клетката домаќин [297].
3. Едно од хипотезите може да бидат и индивидуалните разлики во имунолошката одбрана. Можно е бактериската вагиноза како кофактор да е вклучена во стекнување или повторно активирање на ХПВ-инфекција преку влијание на имунолошката рамнотежа во рамките на грлото на матката како резултат на промени во производството на фактори, како што се цитокини (интерлеукин-1, интерлеукин-10). Активирањето на мукозниот имунолошки систем претставува критичен одговор против микроорганизмите кои го колонизираат гениталниот

тракт. Регрутирањето и активирањето на неутрофилите се смета за главна вродена имунолошка реакција против микробиолошки инфекции на вагиналната мукоза. Кај асимптоматските жени обично неутрофилите се релативно отсутни на ПАП-тестовите гледани под микроскоп [298].

Степенот на асоцијацијата помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ-инфекцијата варира во епидемиолошките студии, останува контроверзна, дава спротивставени резултати и се движи од отсуство на било каква асоцијација [299] до силно позитивна асоцијација [300].

Во студијата на Verteramo и сор., работена на 857 жени во периодот од 2000-2006 година на Универзитетот во Рим, била покажана позитивна корелација помеѓу ХПВ и *Chlamydia trachomatis* и *Ureaplasma urealyticum*. Во истата студија не била детектирана асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ (OR=1,71; 95% CI: 0,98-2,98; p=0,06) [301].

Во кинеската студија на Liu и сор. од 2016 година, работена на 4 290 жени, била покажана силна асоцијација помеѓу ХПВ-инфекцијата и бактериската вагиноза и *Chlamydia trachomatis* [302].

Асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ (HR=1,41; 95% CI:1,25-1,9) била детектирана и во истражувањето на Watts и сор., работено на 2 229 жени [303].

1.5.8. АСОЦИЈАЦИЈА ПОМЕЃУ БАКТЕРИСКАТА ВАГИНОЗА И СКВАМОЗНИТЕ КЛЕТОЧНИ АБНОРМАЛНОСТИ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА

Цервикалните цитолошки абнормалности се најдени многу повеќе кај жените со нарушена вагинална флора, што сугерира на можната врска помеѓу бактериската вагиноза и интраепителните лезии и карциномот на грлото на матката [304,305].

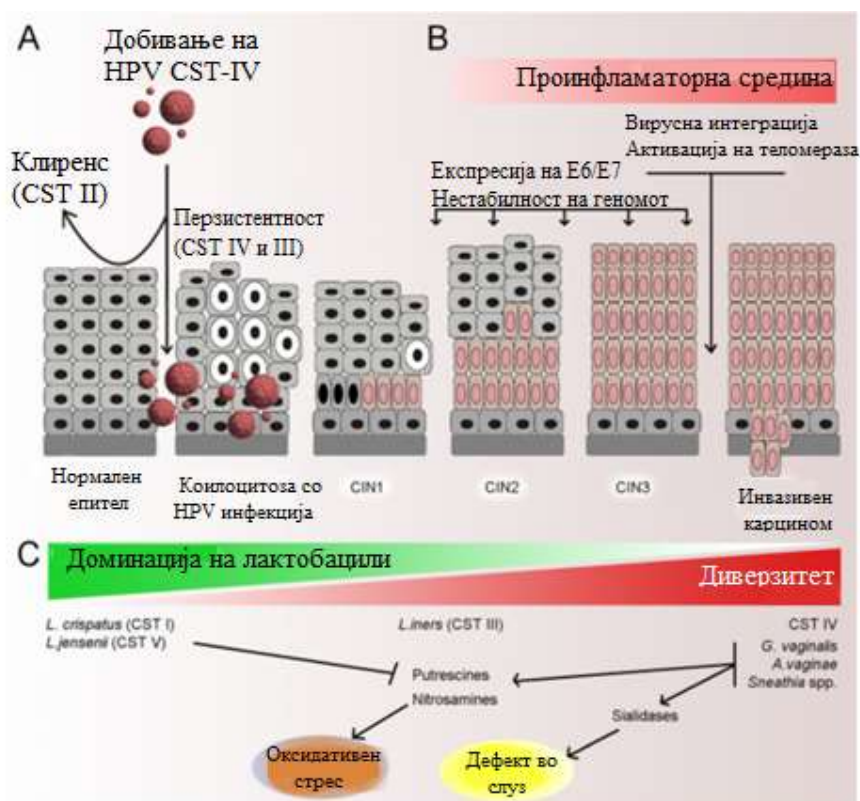
Во големата холандска студија на Klomp и сор., работена во периодот од 1991-2006 година на 800 498 асимптоматски жени кои учествувале во холандската национална цервикална цитолошка скрининг-програма, била покажана позитивна асоцијација помеѓу инфекција со *Gardnerella vaginalis* и интраепителните лезии на грлото на матката (OR=10,3; 95% CI: 6,6-16,1) [306].

Во истражувањето на Lu и сор. од 2015 година, работено на 3 502 жени била покажана позитивна асоцијација помеѓу бактериската вагиноза, ХПВ и интраепителните лезии и инвазивниот карцинома на грлото на матката ($p < 0.001$) [307].

Асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и интраепителните лезии на грлото на матката (OR=1,51; 95% CI: 1,24-1,83) покажала и белгиската мета-анализа на Gillet и сор. од 2012 година, која вклучила 329 статии и 19 студии [308].

Потенцијалните механизми кои ја асоцираат вагиналната флора со сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката се прикажани на Слика 24.

Слика 24. Потенцијални механизми кои ја асоцираат вагиналната флора со сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката [309]



Легенда: CIN, Cervical Intraepithelial Neoplasia (цервикална интраепителна неоплазма); CST, Community State Type (тип на микробна заедница); HPV, Human Papillomavirus (хуман папилома вирус)

А. Најверојатно вагиналната микробиота е асоцирана со добивање и перзистирање на ХПВ-инфекцијата. Типот II на микробна заедница е асоциран со најбрз клиренс на акутната ХПВ-инфекција.

В. Дисбиозата може да резултира со проинфламаторно опкружување, кое може да овозможи неколку неопходни чекори во вирусната трансформација, вклучувајќи експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7, геномска нестабилност, вирусна интеграција и активирање на теломеразите кои се неопходни во процесот на карциногенезата.

С. Повисок диверзитет (разновидност) со ниско ниво на *Lactobacillus species* е асоциран со зголемен ризик од CIN. Посебни видови асоцирани со висок диверзитет на вагиналната микробиота може да продуцираат сијалидази кои предизвикуваат дефекти на цервикалната лигавица, како и производство на биолошки амини кои се одговорни за оксидативниот стрес, најверојатно клучен механизам во карциногенезата. Одредени видови на *Lactobacillus species* можат да ги исчистат овие амини и затоа нивното присуство може да го намали ризикот од оксидативно оштетување [309].

1.5.9. КОНЦЕПТУАЛЕН МОДЕЛ НА ПАТОГЕНЕЗАТА НА БАКТЕРИСКАТА ВАГИНОЗА

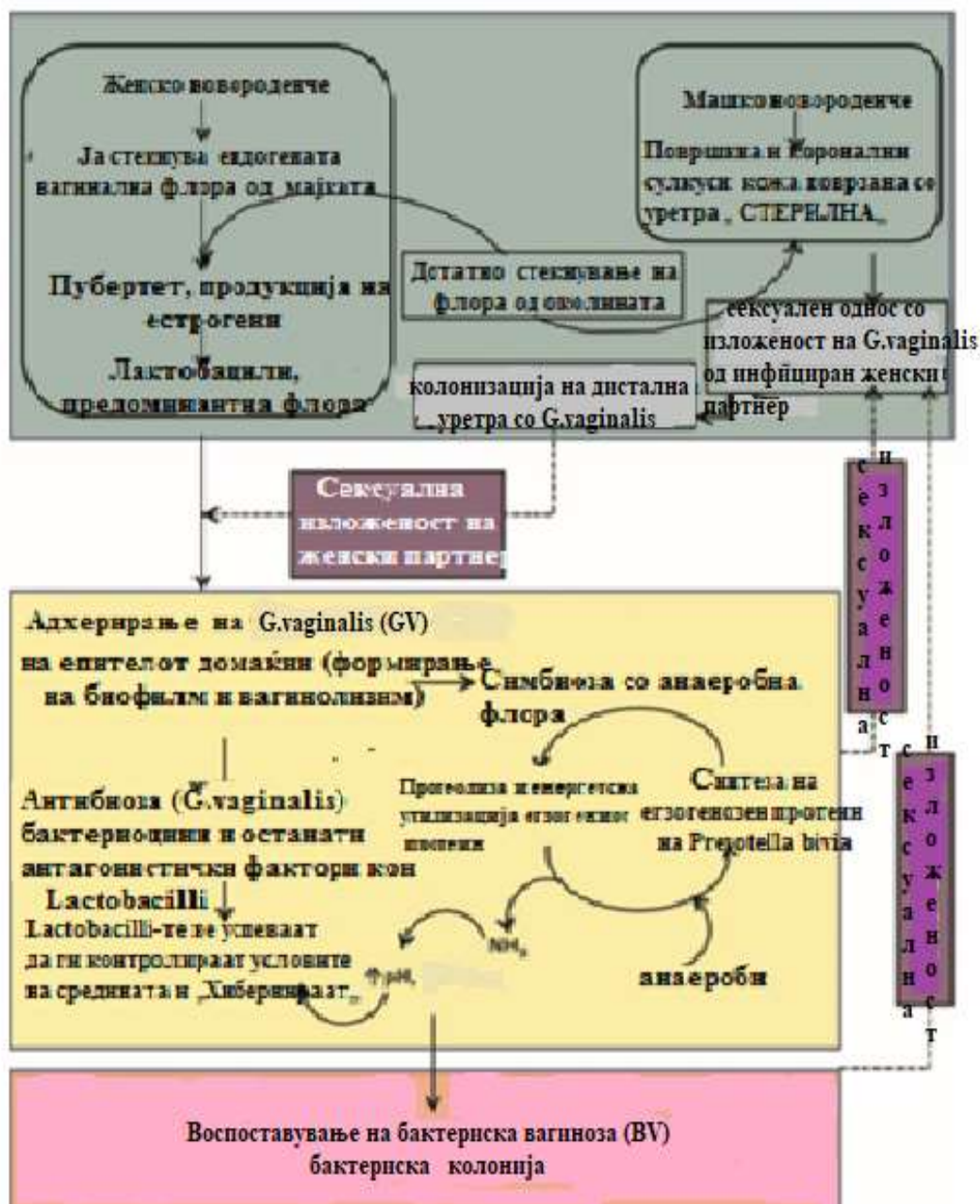
Вагиналната флора се стекнува кратко време по раѓањето од мајката и од еколошката средина. Во истражувањето на Hill и сор., работено на девојки пред пубертет, било покажано присуство на анаеробни микроорганизми во вагиналниот флуор на поголем дел од девојките, но не било покажано присуство на *Gardnerella vaginalis* од култура и покрај тоа што била специјално барана [310]. Во пубертетот со продукција на естрогени, вагиналната флора трпи промени и настанува доминација на лактобацили. Естрогените промовираат депонирање на гликоген во вагиналниот епител, кој за возврат се користи како извор на храна од страна на сахаролитичките лактобацили. Создавањето на млечна киселина и на крајните метаболитички продукти доведува до намалување на $pH < 4.5$. Лактобацилите го зголемуваат редукцио-оксидативниот потенцијал на вагината, со што го кочи растот на домородните анаероби [311].

Епидемиолошките податоци даваат силна поддршка на сексуалниот пренос на *Gardnerella vaginalis* [312]. *Gardnerella vaginalis* е најдена во вагиналниот секрет кај блиску 100% од жените со клинички дијагностицирана бактериска вагиноза [313]. Други често ја поврзуваат бактериската вагиноза со поголем број микроорганизми во вагиналната флора, претежно анаеробни бактерии [314]. Некои истражувања покажале присуство на *Gardnerella vaginalis* кај жените кои не ги исполнуваат клиничките

критериуми за бактериска вагиноза. Овие студии сепак не се ригорозни во нивната дефиниција за нормална или оптимална вагинална флора и не земаат во предвид дека постојат жени кои ниту ги исполнуваат критериумите за бактериска вагиноза ниту дефиницијата за нормална вагинална флора [315]. Teixeira и сор. детектирале *Gardnerella vaginalis* кај 17,6% од жените без бактериска вагиноза, но нема документација дали овие жени имале барем еден од Амселовите клинички критериуми или оптимален Нудентскор од 0-3 [316]. Слично на ова, Burton и сор. покажале присуство на *Gardnerella vaginalis* кај 19% од испитуваните жени без бактериска вагиноза, но не прикажале Нудентскор [317]. Позитивен наод на *Gardnerella vaginalis* кај овие жени без клинички доказ за бактериска вагиноза или интермедијарен наод на вагинална флора, претставува асимптоматска инфекција која може да се најде кај сите сексуално преносливи болести. Се уште постојат спротивставени ставови околу тоа дали *Gardnerella vaginalis* е дел од нормалната вагинална флора или не. Ако *Gardnerella vaginalis* е дел од нормалната вагинална флора, се очекува таа да биде присутна кај сите жени и кај жените пред пубертет [310].

Концептуалниот модел на патогенезата на бактериската вагиноза е прикажан на Слика 25.

Слика 25. Концептуален модел на патогенезата на бактериската вагиноза [318]



1.5.9.1. Прилепување на *Gardnerella vaginalis* за епителните клетки на домаќинот: прв чекор во освојување

Испитувањата на вагиналните биопсии покажале дека бактериската вагиноза е „биофилм“ заедница прилепена на вагиналниот епител и дека *Gardnerella vaginalis* е доминантна компонента од масата на заедницата [319]. Почетните чекори на воспоставување на инфекција вклучуваат прилепување за рецепторите на епителот на

домаќинот, производство на цитотоксични субстанции специфични за клетката домаќин и формирање „биофилм“ заедница. Во случај на *Gardnerella vaginalis*, производство на вагинолизин, односно холестерол зависен цитолизин е специфичен за човековите клетки и шифрира пора-формирачки токсин кој се врзува за CD59 човековиот комплементарен молекул. Овој цитотоксин помага во прилепување на *Gardnerella vaginalis* на епителните клетки домаќини [246]. Последниве неколку години истражувачите ги испитуваат вирулентните фактори на *Gardnerella vaginalis* во споредба со другите бактерии асоцирани со бактериската вагиноза. Patterson и сор. ги истражувале прилепувањето, формирањето „биофилм“ и цитотоксичноста *in vitro* на *Gardnerella vaginalis* видовите изолирани од жени со бактериска вагиноза како и други бактерии асоцирани со бактериската вагиноза, вклучувајќи *Prevotella* и *Mobiluncus*. Тие покажале дека, од сите овие микроорганизми, само *Gardnerella vaginalis* ги демонстрирале трите вирулентни фактори и посочиле дека другите микроорганизми може да бидат релативно авирулентни опортунисти кои колонизираат по започнувањето на инфекцијата со *Gardnerella vaginalis* [320]. Истражувањето на Machado и сор. покажало дека *in vitro*, меѓу бактериите асоцирани со бактериска вагиноза, *Gardnerella vaginalis* имала најголем капацитет за прилепување на епителните клетки во присуство на *Lactobacillus crispatus* [321].

1.5.9.2. Механизми на инфекција

Последователно на почетното прилепување на клетката домаќин, бактериите се размножуваат и формираат „биофилм“ заедница како средство за иден опстанок. Сијалидазите кои се продукт на одредени видови на *Gardnerella vaginalis*, може да го зголемат производството на „биофилмови“ преку своите муциназни активности [247]. *In vitro* покажано е дека „биофилмовите“ на *Gardnerella vaginalis* се далеку повеќе толерантни на млечна киселина и водороден пероксид произведени од страна на лактобацилите, отколку што се планктон формите на *Gardnerella vaginalis* [322]. Откако оваа критична маса на бактерии е присутна, се случуваат бактериски „меѓуразговори“, дозволувајќи им на бактериите ефикасно да управуваат со својата нова заедница [323]. Во исто време, тоа е потребно за патогените се вклучат во „хемиска“ војна со автохтоните видови. Во случај на бактериска вагиноза, автохтоните видови се лактобацилите [324]. Докажано е дека одредени видови на лактобацили се способни за производство на инхибиторни соединенија или бактерицини, кои се активни против *Gardnerella vaginalis*. Спротивно на ова, покажано е дека и *Gardnerella vaginalis*

произведува бактерицини против лактобацилите [325]. Конкуренцијата помеѓу Лактобацилите и *Gardnerella vaginalis* најдобро е покажана во тек на менструалниот циклус. *Gardnerella vaginalis* доминира за време на менструалното крварење, што укажува на конкуренција за железо како супстрат за бактерии [326].

1.5.9.3. Синдром на бактериска вагиноза – симбиоза во вагиналната флора

Gardnerella vaginalis како факултативен анаероб, може да го толерира оксидо-редукциониот потенцијал на нормалната вагинална флора за разлика од строгите анаероби. Покрај тоа, таа е протеолитичка бактерија која произведува аминокиселини преку нејзиниот метаболизам [310]. Показано е дека *Prevotella bivia*, како строг анаероб, користи аминокиселини како извор на гориво и како резултат на тоа произведува амонијак, кој пак се користи од страна на *Gardnerella vaginalis*. Симбиотскиот однос помеѓу *Gardnerella vaginalis* и строгите анаероби е еден од механизмите со кои *Gardnerella vaginalis* го помага растот на анаеробните бактерии во вагината. Покрај тоа, симбиотскиот однос, со производство на амонијак предизвикува промени на повеќе алкална рН, што е непријатна за лактобацилите [327]. *In vitro* истражувањата покажале дека додавањето на анаеробни бактерии на „биофилм“ заедницата на *Gardnerella vaginalis* го помага нејзиниот раст. Овие симбиотски односи се одговорни за микробиолошките наоди кои ја дефинираат бактериската вагиноза како и типичните вагинални знаци: визуелизација на „патоказни“ (clue) клетки и amino-мирис, кои произлегуваат од метаболитичките нуспроизводи на зголеменит број на анаеробни бактерии асоцирани со бактериската вагиноза [328].

1.5.9.4. Генетски разлики кај Gardnerella vaginalis

Генетското секвенционирање покажало разлики во вирулентните фактори помеѓу видовите на *Gardnerella vaginalis* [328]. Harwich и сор. ги истражувале вирулентните фактори на *Gardnerella vaginalis* од жени со бактериска вагиноза и од жени без бактериска вагиноза. Сугерирале дека може да има комензални и патогени видови на *Gardnerella vaginalis* [329]. Истражувањето на Ahmed и сор. од 2012 година, работено на 17 клинички изолати на *Gardnerella vaginalis*, сугерира дека е можно да има повеќе видови на *Gardnerella vaginalis*, кои можат да се поделат во четири класи [330].

1.5.10 СИМПТОМИ, КОМПЛИКАЦИИ И ДИФЕРЕНЦИЈАЛНА ДИЈАГНОЗА

Бактериската вагиноза во 50-75% од случаите е асимптоматска. Најчести знаци и симптоми на бактериската вагиноза се [331]:

- Тенок, сив, бел или зелен вагинален исцедок,
- Вагинален исцедок со мирис на риба,
- Вагинално чешање и
- Печење при мокрење.

Најчести компликации на бактериската вагиноза се [332]:

- Пелвична воспалителна болест,
- Инфекции после хистеректомија, киретажа и други гинеколошки операции,
- Инфекции на уринарниот тракт,
- Инфертилитет и
- Зголемен ризик од сексуално преносливи болести.

Диференцијално дијагностички во предвид доаѓаат [228]:

- Аеробен вагинитис,
- Атрофичен вагинитис и
- Променета вагинална флора.

1.5.11. МЕТОДИ ЗА ДИЈАГНОСТИКА

Поголемиот број бактериски инфекции се дијагностицираат со култивирање на испитуваниот примерок, откривање на специфични антигени или на бактериски нуклеински киселини или со некоја серолошка метода која детектира постоење на специфични антители. Препознавање на бактериската врста во испитуваниот примерок е најчесто неопходен критериум за дијагностицирање на инфекциите. Сето ова не важи за дијагностика на бактериската вагиноза бидејќи не постои еден етиолошки агенс одговорен за нејзино појавување. Иако постојат клинички и микробиолошки дијагностички критериуми, сеуште се води дебата околу т.н. „златен стандард“ за компарација и точна дијагностика на бактериската вагиноза [333].

Клиничката дијагноза често ја поставува клинички лекар, најчесто гинеколог [334]. Некои симптоми, како што се засилено лачење секрет, променет мирис на секретот или промена на секретот после сексуален однос, може да посочи на бактериска вагиноза, но не се специфични и потврдни, бидејќи може да се јават и кај други вагинални инфекции (трихомонијаза) [335]. Истражувањата кои ја испитувале корелацијата помеѓу симптомите и микробиолошката дијагноза, покажале дека засилениот вагинален секрет најчесто бил последица на бактериска вагиноза и трихомонијаза, додека чешањето најчесто постоело кај жените со вагинална кандидијаза [336].

Во клиничката пракса, најчесто применувани методи за дијагностика на бактериската вагиноза се Нуцентовата метода (Нуцентовиот скор систем) и Амселовите клинички критериуми [331,337].

1.5.11.1. Нуцентова метода

Во лабораторија, Нуцентовиот скор систем е сигурен, удобен и ефикасен метод за дијагностика на бактериската вагиноза [338,339] и се смета за „златен стандард“ тест во дијагностицирањето на бактериската вагиноза [340,341] поради поголемата сензитивност (93-97%) и репродуктибилност од Амселовите критериуми [342,343].

Директен препарат обоен по Грам за дијагностицирање на неспецифичен вагинитис се користи уште од 1965 година. Dunkelberg уште тогаш испитал 300 вагинални препарати на присуство на „патоказни“ клетки во групите на жени со нормална вагинална флора, жени со кандидијаза, трихомонијаза и *Haemophilus vaginalis* вагинитис [344].

Mazzulli и сор. и Nugent и сор. покажале дека постојат три бактериски морфотипа кои се со најголем степен на репродуктибилност: *Lactobacillus* морфотип (големи грам-позитивни бацили), *Gardnerella* и *Bacteroides* морфотип (мали грам-негативни или грам-варијабилни бацили) и *Mobiluncus* морфотип (закривени грам-негативни или грам-варијабилни бацили). Овие три бактериски морфотипа вклучени се во систем на бодување (0-10 бодови) кој се употребува во дијагностицирање на бактериската вагиноза [345,346].

Предност на овој систем на бодување е тоа што ја категоризира вагиналната флора како: нормална (каде доминираат лактобацили; скор 0-3), интермедијарна (мешана флора; скор 4-6) и како бактериска вагиноза (скор ≥ 7) [333]. Жените со мешана

вагинална флора имаат лесно покачена вредност на вагиналната рН, неколку „патоказни“ клетки и многу слаб амински мирис на вагиналниот секрет, што создаваат потешкотии во поставувањето на дијагноза. Тие често имаат гонороеична и хламидијална инфекција или вагинална трихомонијаза и склони се кон добивање на бактериска вагиноза [347].

1.5.11.2. Амселови критериуми

Најшироко прифатени клинички критериуми во дијагностика на бактериската вагиноза се Амселовите критериуми. Постојат четири такви критериуми (1-4), а бактериската вагиноза се дијагностицира кога се исполнети барем три од нив [348]:

1. *Типичен вагинален секрет.* Секретот типичен за бактериска вагиноза е редок, хомоген и со оскудна, средно обилна или обилна количина. На симпозиумот за бактериска вагиноза одржан во Стокхолм 1984 година, Амселовите критериуми се меѓународно прифатени, а вагиналниот секрет е означен како „редок и хомоген“. Сензитивноста и специфичноста на овој критериум во дијагностика на бактериската вагиноза се движи во границите од 59-91% [349].
2. *Вагинален рН > 4.5.* Мерењето на вагиналниот рН е многу лесно со помош на рН-индикаторска хартија. Со оглед дека сензитивноста на тестот е висока (скоро 100%), а специфичноста ниска (50-70%), може да се заклучи дека кога вредноста на рН < 4.5, бактериската вагиноза може да се исклучи, но кога е рН > 4.5 бактериската вагиноза е позитивна само кај околу половина од испитаничките [350].
3. *Тест на мирис (калиум хидроксид, КОН-тест).* Pheifer и сор. во 1978 година први објавиле резултати за постоење типичен мирис на вагиналниот секрет, кој потсеќа на мирисот на риба, е се засилува со додавање на 10% КОН. Неколку години подоцна во секретот на жените со бактериска вагиноза откриен е диаминот, а преовладувале путресцин и кадаверин. Овие материи постојат во неиспарлив облик, а стануваат испарливи при алкална рН, оддавајќи типичен мирис на риба. Во истражувањата што се објавени овој критериум покажува висока сензитивност (91-95%) и специфичност (61-100%) [351].
4. *„Патоказни“ клетки.* Постоењето на т.н. „патоказни“ клетки е еден од најобјективните критериуми. Во студијата на Amsel и сор. од 1983 година „патоказните“ клетки се најдени кај повеќе од 90% од жените со бактериска

вагиноза. Доколку овие клетки се гледаат на нативен препарат од вагиналниот секрет, сензитивноста на оваа метода е 80,7%, а специфичноста 94,3% [352].

Интерпретацијата на Амселовите критериуми честопати е тешка, бидејќи некои фактори кои немаат врска со бактериската вагиноза (скорешни сексуални односи, менструација или поголема количина на цервикален секрет) можат да влијаат на појавата на некој од критериумите. Исто така, детекцијата на аминскиот мирис е субјективна бидејќи постојат личности кои не реагираат на тој мирис. Утврдувањето на „патоказните“ клетки зависи од квалитетот на микроскопот, адекватноста на примерокот и искуството на микроскопистот [353].

1.5.11.3. Други методи за дијагностицирање на бактериската вагиноза во клиничката пракса

А) *Боене по Папаниколау.* Оваа метода покажала сензитивност од 90% и специфичност од 97% во дијагностицирањето на бактериската вагиноза [354].

Б) *Методи на култивирање.* Со помош на оваа метода *Gardnerella vaginalis* може да се изолира кај 83-94% од жените со клиничка дијагноза за бактериска вагиноза, но и кај 36-55% од жените без клинички знаци за бактериска вагиноза [344].

В) *Дијагностички тестови врз база на откривање на бактериските производи.* Овие тестови се врз база на детекција на амините, сукцинилната киселина, пролин-аминопептидазите и сијалидазите. Тие се објективни, брзи и не бараат посебна лабораториска опрема [238].

Г) *Гасно-течна хроматографија.* Оваа метода покажала добра корелација со клиничката дијагноза за бактериска вагиноза. Сензитивноста на оваа метода во откривање на пореметениот однос помеѓу сукцинатите и лактатите е голема [238].

Д) *Молекуларна дијагностика.* Имајќи во предвид дека методите на хибридизација и амплификација на бактериските нуклеински киселини завземаат се поголем примат во дијагностицирањето на многу инфекции, направен е обид за воведување на овие методи во дијагностицирање на бактериската вагиноза. Предности на овие методи над конвенционалните се тоа што се посепцифични, откриваат и мал број бактерии во примерокот и се објективни. Проблем со воведување на молекуларната дијагностика на бактериската вагиноза во пракса е фактот што не постои само еден етиолошки агенс во појава на бактериската вагиноза [355].

2.0 МОТИВ

Причините кои не поттикнуа да ја истражуваме поврзаноста помеѓу вирусните онкопротеини Е6 и Е7, бактериската вагиноза и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката се: неговата актуелност, сериозност и голема распространетост во нашата средина, како и неговата недоволна истраженост кај нас и недоволниот број на научни трудови.

3.0 ЦЕЛИ

Целите на студијата се:

1. Да докажеме постоење на асоцијација помеѓу ХПВ-ДНК инфекцијата и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката;
2. Да докажеме постоење на асоцијација помеѓу вирусните онкопротеини Е6/Е7 и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката;
3. Да докажеме постоење на асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката;
4. Да ја одредиме поврзаноста помеѓу ХПВ-ДНК инфекцијата и бактериската вагиноза;
5. Да ја одредиме поврзаноста помеѓу вирусните онкопротеини Е6 и Е7 и бактериската вагиноза;
6. Да докажеме дека вирусните онкопротеини Е6/Е7 се предиктивни биомаркери за детекција на високоризичните ХПВ-асоцирани сквамозни интраепителни лезии на грлото на матката;
7. Да докажеме дека ХПВ Е6/Е7 и РНК-тестирањето има поголема специфичност и поголема позитивна предиктивна вредност од ХПВ-ДНК тестирањето;
8. Да ги детектираме и типизираме генопитовите на ХПВ, кои се најчести причинители на интраепителни лезии и на инвазивен карцином на грлото на матката;
9. Да ги детектираме најчестите бактериски морфотипови на бактериската вагиноза;
10. Да ги детектираме другите ризик-фактори на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката;
11. Да ги одредиме преваленциите на ХПВ-инфекцијата и бактериската вагиноза;
12. Да ја одредиме најафектираната возрастна група.

4.0 ХИПОТЕЗИ

За полесно достигнување на целите, ги формулиравме следните тентативни, емпириски проверливи хипотези:

X1. Постои асоцијација помеѓу вирусните онкопротеини Е6/Е7, бактериската вагиноза и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката.

X2. Постои позитивна корелација помеѓу ХПВ-инфекцијата и бактериската вагиноза.

X3. Вирусните онкопротеини Е6/Е7 се супериорни биомаркери за детекција на високоризичните ХПВ-асоцирани сквамозни интраепителни лезии на грлото на матката.

X4. ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето има поголема специфичност и поголема позитивна предиктивна вредност од ХПВ-ДНК тестирањето.

5.0 МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

5.1 . ДИЗАЈН НА СТУДИЈАТА

Студијата претставува ретроспективна кохортна студија (retrospective cohort study).

5.2 . МАТЕРИЈАЛ

Материјал претставуваат 192 пациентки на возраст од 20 до 59 години, поделени во две групи: испитувана и контролна.

5.2.1. ИСПИТУВАНА ГРУПА

Испитуваната група вклучи 128 сексуално активни жени со абнормален цервикален цитолошки наод, односно наод на ПАП-тест, кој покажува постоење на сквамозна интраепителна лезија или сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката.

5.2.2. КОНТРОЛНА ГРУПА

Контролната група вклучи 64 сексуално активни жени со нормален цервикален цитолошки наод, односно ПАП тест.

5.2.3. КРИТЕРИУМИ ЗА ИСКЛУЧУВАЊЕ

Во студијата не беа вклучени: бремени жени, жени со претходни операции на грлото на матката (конизации, јаглерод двооксид ласерски вапоризации и тотални хистеректомии), со претходни абнормални цитолошки и хистопатолошки наоди на грлото на матката, жени во тек на менструално крварење, жени кои последните шест недели биле или се под локална или системска антибиотска или антивирусна терапија и жени кои последните два дена имале сексуален однос или правеле вагинална тоалета.

5.3. ПЕРИОД НА РЕАЛИЗАЦИЈА

Студијата беше спроведена во периодот од јануари 2016 година до јуни 2017 година.

5.4. ЛОКАЦИЈА НА СТУДИЈАТА

Студијата е работена на универзитетските клиници за гинекологија и акушерство и за радиотерапија и онкологија во Скопје и на Институтот за јавно здравје на Република Македонија во Скопје.

Студијата е одобрена од Етичката комисија за истражување на луѓе при УКИМ - Медицински факултет во Скопје (Прилог 1).

Сите пациентки претходно потпишаа Формулар за информираност (Прилог 2) и Формулар за согласност (Прилог 3).

5.5. МЕТОДИ

Кај сите жени се направени: анкета со специфичен прашалник, ХПВ-ДНК тестирање, ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирање, Нуцентов скор систем, а по индикација, кај сите жени од испитуваната група и колпоскопска цервикална биопсија со ендocerвикална киретажа за хистопатолошка анализа.

5.5.1. ЦИТОЛОШКА АНАЛИЗА

Сите примероци за цитолошка анализа беа земени со помош на Thin Prep ПАП-тест и обработени во цитолошката лабораторија на Универзитетската клиника за гинекологија и акушерство во Скопје од страна на цитопатолог. Цитолошките резултати беа класифицирани според ревидираната Bethesda класификација [356,357], како: атипични сквамозни клетки со недетерминирано значење (ASC-US, Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance); атипични сквамозни клетки кои не исклучуваат сквамозна интраепителна лезија од висок степен (ASC-H, Atypical Squamous Cells cannot exclude a High-grade squamous intraepithelial lesion); сквамозна интраепителна лезија од низок степен (LSIL, Low grade Squamous Intraepithelial Lesion, CIN 1, Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 1); сквамозна интраепителна лезија од висок степен (HSIL-High grade Squamous Intraepithelial Lesion, CIN 2, Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2, CIN 3, Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 3, CIS, Carcinoma In Situ) и сквамозен инвазивен карцином.

Прв чекор во ПАП-тестирањето беше земање и колектирање на цитолошкиот материјал. Материјалот за цитолошка анализа беше земен со посебна „сина“ cyto brush четкичка, која истовремено собира материјал од егзоцервикс и од ендocerвикс и истиот беше колектиран во специјални пластични колектори за Thin Prep ПАП тест (Hologic, USA) кои содржат 20 ml PreservCyt раствор. На секој колектор беше запишано името и презимето на жената и амбулантскиот број.

Втор чекор беше изработка на микроскопскиот препарат во три фази: правење размаска, фиксирање на размаската и бојење на размаската. Правењето размаска беше спроведено во автоматска единица за изработка на размаски (Hologic USA-Thin Prep 2000 Processor), во која беа ставени колекторот со земениот материјал, обележано микроскопско предметно стакленце и специјален (Т 2000) филтер. Принципот на работа на компјутеризираниот процесор се состои во дисперзија, собирање и пренос на клетките од колектираниот примерок на микроскопското предметно стакленце. Потребно време за изработка на една размаска беше 60-90 секунди. Направената размаска потоа 7-10 минути беше ставена во фиксатив (96% етанол), после што беше 45 минути боена во апарат за автоматско бојење (Merck Mirostainer DS 50, USA). Обоената размаска беше покриена со покровен медиум (isobutyl methacrylate, Neo-Mount, Merck, Germany) и покровно стакленце.

Трет чекор во ПАП тестирањето беше микроскопирање на препаратите со помош на оптички микоскоп (Olympus BH-2, USA).

5.5.2. АНКЕТЕН ПРАШАЛНИК

Прашалникот е слободно дизајниран и содржи прашања за демографските карактеристики на жените, социјалниот статус, економскиот статус, гинеколошката и репродуктивна историја, за сексуалниот статус и за ризик-факторите (Прилог 4).

5.5.3. ХИСТОПАТОЛОШКА АНАЛИЗА

Примероците за хистопатолошка анализа беа земени на Универзитетската клиника за гинекологија и акушерство во Скопје и беа обработени на Универзитетската клиника за онкологија и радиотерапија во Скопје, на Одделот за хистопатологија и клиничка цитологија, од страна на искусен патолог. Според морфологијата детерминирана во биоптичните примероци, цервикалните наоди беа карактеризирани како: нормален наод (неспецифичен цервицитис); сквамозна интраепителна лезија од низок степен (LSIL, Low grade Squamous Intraepithelial Lesion) - лесен степен на дисплазија, плоснат кондилом (flat condyloma), акуминатен кондилом, хронично ХПВ-вирусно воспаление на грлото на матката (cervicitis chronica virosa); сквамозна интраепителна лезија од висок степен (HSIL, High grade Squamous Intraepithelial Lesion) - умерен и тежок степен на дисплазија, *in situ* сквамозен карцином и инвазивен сквамозен карцином (Carcinoma planocellulare cervicis uteri invasivum) [7].

5.5.4. ХПВ-ДНК ТЕСТИРАЊЕ

Материјалот за ХПВ-ДНК тестирање беше земен од грлото на матката со помош на „сина“ четкичка (cytobrush) и беше обработен во Лабораторијата за ХПВ-тестирање на Универзитетската клиника за гинекологија и акушерство во Скопје. За детекција и типизација на ХПВ беа употребувани тестови кои ги користат методите на мултипла полимераза верижна реакција (Multiplex PCR, Polymerase Chain Reaction) и реверзна хибридизација. Резултатите од ХПВ ДНК тестот беа анализирани и прикажани врз основа на наодот на присуство или отсуство на ДНК од ХПВ и одредениот генотипот [358].

Прв чекор во ХПВ-ДНК тестирањето беше изолација на ДНК од колектираните клетки. Материјалот беше ставени во епендорфи од по 1,5 ml. Во секој епендорф прво беше додаден 200 µl ткивно-лизирачки пуфер и потоа и 20 µl протеиназа К. Смесата беше инкубирана во водена бања на 60 °C, 1-3 часа. Епендорфите беа кратко центрифугирани, им беше додаден 200 µl посебен врзувачки пуфер (binding buffer) и повторно инкубирани 10 минути на 60 °C. По центрифугирањето им беше додаден 100µl Isopropranol и лизатот беше префрлен во посебни туби (binding column tube) од по 2 ml. Тубите беа неколку пати центрифугирани доколку лизатот не поминуваше целосно низ колонките за филтрација. Помеѓу центрифугирањата беа додавани по 500 µl посебен пуфер за перење (washing buffer), во кои беше додаден 96% етанол. Смесата беше префрлена во нови епендорфи од по 1,5 ml. Следеше елуција со посебен пуфер (elution buffer) загреан на 60 °C, инкубација 5 минути на собна температура и центрифугирање. На крај на процедурата колонките беа фрлени а епендорфите со ДНК беа центрифугирани и чувани на -20°C.

Втор чекор беше детекција на ХПВ-ДНК со помош на полимераза верижна реакција (PCR, Polymerase Chain Reaction). За да се провери квалитетот и интегритетот на изолираната ДНК односно на присутниот инхибитор, за секој примерок прво беше направена реакција на размножување на специфичните почетници (прајмери) за бета-глобин PC04 и GH20. Користени беа три пара почетници (прајмери), заеднички, за поголем број на типови на ХПВ: дегенерирани почетници (прајмери) Mu09/Mu11 и СР1/СР11 G и Gr5/6+. Сите примероци беа спроведени низ сите реакции со почетниците (прајмери), специфични за високоризични и нискоризични генотипови на ХПВ.

Трет чекор беше генотипизација со помош на реверзна хибридизација. Тоа е метода која се темели на хибридизација на специфичните ДНК-проби кои се имобилизирани на нитроцелулозни или најлонски траки. Дизајниран е сет почетници (SPF 10) со цел размножување на дел од L1 генот на вирусната ДНК. Продуктот на амплификација со SPF почетници е со големина од 65 bp и овозможува детекција на 28 нови генотипови. Денатурираните биотинизирани продукти на PCR се хибридизираат со специфични олигонуклеотидни проби кои се имобилизирани како паралелни линии на мембранските стрипови. После хибридизацијата и испирање со стрептавидин, се додава коњугирана алкална фосфатаза, која се врзува за биотинизирани хибриди, кои се претходно формирани. Инкубацијата со BCIP (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate) /NBT (nitro blue tetrazolium) хромоген дава виолетови преципитати и резултатите се интерпретираат визуелно.

5.5.5. ХПВ Е6/Е7 иРНК-ТЕСТИРАЊЕ

Материјалот за ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирање беше земен од грлото на матката со помош на „сина“ четкичка (cytobrush) на Клиниката за гинекологија и акушерство во Скопје и беше обработен во Лабораторијата за вирусологија на Институтот за јавно здравје на Република Македонија во Скопје од страна на вирусолог. Беа употребувани тестови кои ја користат методата на полимераза верижна реакција во реално време (Real-Time PCR, Polymerase Chain Reaction). Резултатите беа анализирани и прикажани квалитативно, дали има присуство или отсуство на ХПВ Е6/Е7 онкопротеини [359].

1. Материјал

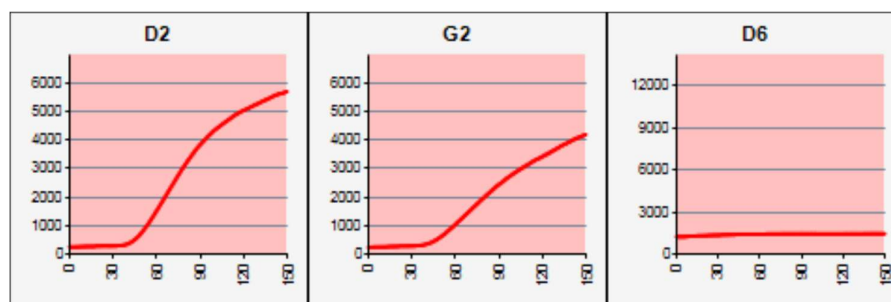
Како материјал за детекција на ХПВ Е6/Е7 онкогена иРНК, беше користена РНК изолирана од цервикалниот брис, потопен во транспортен вирусен медиум (фосфатен пуфер). Изолацијата на вирусната РНК беше направена со примена на комерцијалниот тест на NiClisense nucleid acid isolation test (Biomerieux) со следење на препораките на производителот.

2. Метода

Методата за детекција е базирана на примена на NASBA (Nucleic Acid Sequence Based Assay) технологија и беше изведена Easy Q Nuclisens платформата. Детекцијата беше изведена со примена на тестот PreTeck HPV Proofer, NorChip AS, Norway. Тестот овозможува квалитативна молекуларна детекција на иРНК од онкогените Е6 и Е7 на 5-те најчести ХПВ-генотипови: -16,-18,-31,-33,-45. Изведбата на тестирањето беше следна:

1. Во готови стрип-тубички со веќе спремена мешавина за реакција се додаваше изолираната нуклеинска киселина, одеше на инкубација прво на 65 °C, 5 min, па потоа на 41 °C, 2 min. Понатаму во тубичките со примерокот и мешавината од почетници и дополнителни реагенси се додаваше по 5µl ензим – реверзна транскриптаза. Вака подготвените примероци одеа во апаратот на изотермални услови од 41 °C, 150 min.
2. По завршување на програмата за детекција следува софтверска обработка на добиените резултати (Слика 26).

Слика 26. Приказ на резултат по софтверска обработка од апаратот. На сликата D2 и G2 е прикажан позитивен резултат за соодветниот тип на ХПВ вклучен во реакцијата, а на D6 е прикажан негативен резултат.



5.5.6. НУЦЕНТОВ СКОР СИСТЕМ

За изработка и интерпретација на Нуцентовиот скор систем [346] беше земен вагинален секрет од задниот форникс на вагината со помош на стерилно, на едниот крај памучно, брис стапче, а вагината беше екартирана со стерилен, нелубрикантен спекулум на Универзитетската клиника за гинекологија и акушерство во Скопје. Тој беше обработен во Лабораторијата за микробиологија на Институтот за јавно здравје на Република Македонија во Скопје од страна на микробиолог. Беше направен препарат на предметно стакленце обоен по Грам и анализиран на светлосен микроскоп

Olympus BH-2 (САД) на 1000 пати зголемување на видното поле. Се детектира присуство или отсуство на нормална бактериска вагинална флора, се детектираа најчестите бактериски морфотипови (*Lactobacilli*, *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides*, *Mobiluncus*, *Prevotella*) и се изработи Нуцентов скор систем (Табела 11), врз база на кој беше дијагностицирана бактериската вагиноза. Интерпретацијата на Нуцентовиот скор (Табела 12) одеше по следниот редослед: скор од 0-3, значи присуство на нормална вагинална флора (доминација на *Lactobacilli*-негативен за бактериска вагиноза) (Слика 27); скор од 4-6, значи редукција на нормална вагинална флора (негативен за бактериска вагиноза) и скор од 7-10, во согласност со Нуцентовите критериуми, значи доминација на патогена вагинална флора (позитивен за бактериска вагиноза) (Слика 28), „златен стандард“ за постоење на бактериска вагиноза.

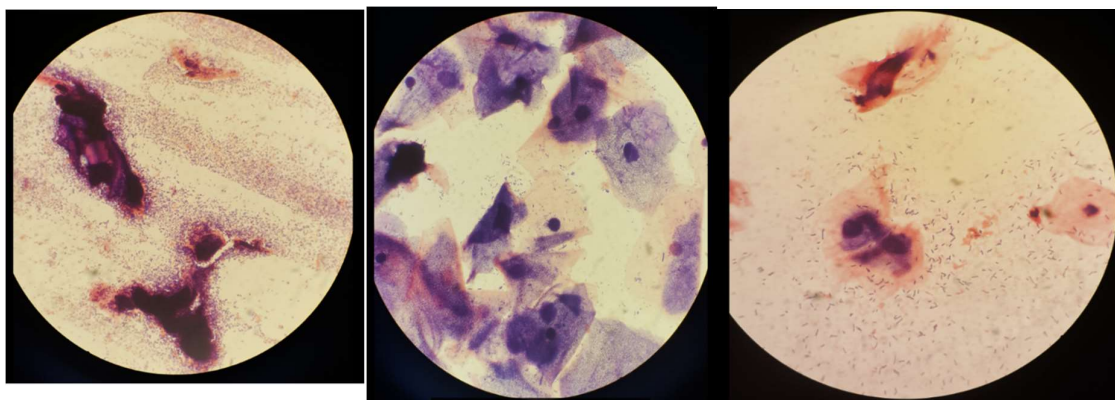
Табела 11. Нуцентов скор систем

Лабораториско испитување на вагиналниот примерок и детерминација на НУЦЕНТОВИОТ СКОР						
Број на ЛАКТОБА - CILLI во видното поле	Бодови	Број на GARDNERELLA, BACTEROIDES во видното поле	Бодови	Број на MOBILUNCUS, PREVOTELLA во видното поле	Бодови	НУЦЕНТ -ОВ СКОР
> 30	0	0	0	0	0	0
5 - 30	1	<1	1	<1	1	3
1 - 4	2	1 - 4	2	1 -4	1	5
<1	3	5 - 30	3	5 - 30	2	8
0	4	>30	4	>30	2	10

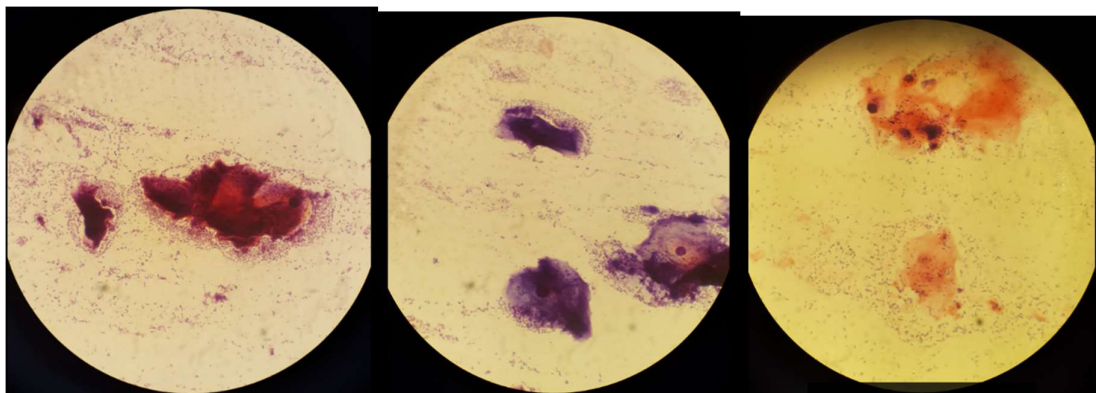
Табела 12. Интерпретација на Нуцентовиот скор

Интерпретација на НУЦЕНТОВИОТ СКОР	
Ако НУЦЕНТОВИОТ СКОР е:	
0 - 3	Нормална вагинална флора
4 - 6	Редуцирана вагинална флора
≥ 7	Постои бактериска вагиноза

Слика 27. Микроскопски приказ на нормална вагинална флора



Слика 28. Микроскопски приказ на бактериска вагиноза



6.0 СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА

Податоците беа внесени во стандарден софтвер за база на податоци (Excel). Статистичката анализа на формираните статистички серии беа спроведени со статистичкиот програм Статистички пакет за општествени науки (SPSS - Statistical Package for Social Sciences), верзија 23.0 и се состои од дескриптивна и аналитичка фаза.

Дескриптивната фаза се состоеше од анализа на структурата на статистичките серии и испитување на нормалноста на дистрибуциите на податоците во нумерички серии.

Структурата на статистичките серии беше анализирана како што следува:

Структурата на статистичките серии со атрибутивни белези беше анализирана со одредување на пропорции и стапки.

Структурата на нумеричките белези беше анализирана со одредување на мерки на централна тенденција (средни вредности - аритметичка средина, медијана и модус) и мерки на дисперзија (стандардна девијација).

Процената на нормалноста на нумеричките серии се направи со помош на хи-квадрат тест.

Аналитичката фаза се состои од следните постапки:

Анализа на односи (постоење на асоцијација) меѓу две серии со атрибутивни варијабли се направи со помош на хи-квадрат тест и тоа за постоење на асоцијација помеѓу: ХПВ-ДНК инфекцијата и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката; онкогениот потенцијал на ХПВ и цитопатолошкиот и хистопатолошкиот степен на лезијата на грлото на матката; вирусните онкопротеини Е6/Е7 и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката; вирусните онкопротеини Е6/Е7 и цитопатолошкиот и хистопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката; резултатите од ХПВ-ДНК и ХПВ Е6/Е7 и РНК-тестирањата; бактериската вагиноза и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката; бактериската вагиноза и цитопатолошкиот и хистопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката; бактериската вагиноза и ХПВ-ДНК инфекцијата, бактериската вагиноза и вирусните онкопротеини Е6 и Е7; другите ризик-фактори и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката.

Анализа на односи меѓу две серии со нумерички варијабли (корелација) се направи со помош на регресиона анализа и коефициент на линеарна корелација и тоа за корелација помеѓу резултатите од цитопатолошката и хистопатолошката анализа.

Тестирањето на разликите меѓу споредуваните групи (нивните дистрибуции, аритметички средини и пропорции) се направи со помош на Student-ов t-тест и тоа за модалитетите: карактеристики на пациентките од испитуваната и контролната група; ХПВ-ДНК позитивни и ХПВ-ДНК негативни; високоризични ХПВ-ДНК и нискоризични ХПВ-ДНК; инциденците на вирусната инфекција од испитуваната и контролната група; единечни ХПВ-ДНК инфекции и мешани ХПВ-ДНК инфекции; присуство на вирусни онкопротеини Е6/Е7 и отсуство на вирусни онкопротеини Е6/Е7; присуство на бактериска вагиноза и отсуство на бактериска вагиноза.

Конкордантноста помеѓу резултатите од ХПВ-ДНК и ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањата беше проценета со користење на Cohen's kappa статистика: k вредност $<0,20$ значеше лоша конкордантност, k вредност од $0,20$ до $0,40$ значеше доволна конкордантност, k вредност од $0,41$ до $0,60$ значеше умерена конкордантност, k вредност од $0,61$ до $0,80$ значеше добра конкордантност и k вредност $>0,80$ значеше многу добра конкордантност.

Релативниот ризик од сквамозни интраепителни лезии и сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката беше проценет со пресметување на соодносот на веројатности (OR, Odds Ratio) со 95% интервал на доверба (CI, Confidence Interval), користејќи логистичка регресија.

Статистички значајни се сметаа податоците кај кои p вредноста беше $<0,05$.

Резултатите се прикажани табеларно и графички.

7.0 РЕЗУЛТАТИ

7.1. КАРАКТЕРИСТИКИ НА ПАЦИЕНТКИТЕ

Во студијата беа вклучени 192 пациентки, поделени во две групи: испитувана (ИГ=128 пациентки) и контролна група (КГ=64 пациентки) на возраст од 20 до 59 години. Дистрибуцијата на пациентките според возрастни групи е прикажана во Табела 13.

Табела 13. Дистрибуција на пациентките според возрастни групи

Возрасна група	Испитувана		Контролна	
	Број	(%)	Број	(%)
20-29	28	(21,87)	13	(20,31)
30-39	38	(29,69)	22	(34,38)
40-49	30	(23,44)	18	(28,12)
50-59	32	(25,00)	11	(17,19)
Вкупно	128	(100)	64	(100)

Просечната возраст на пациентките од испитуваната група беше $40,50 \pm 10,85$ години, а просечната возраст на пациентките од контролната група беше $39,34 \pm 9,70$ години (Графикон 4).

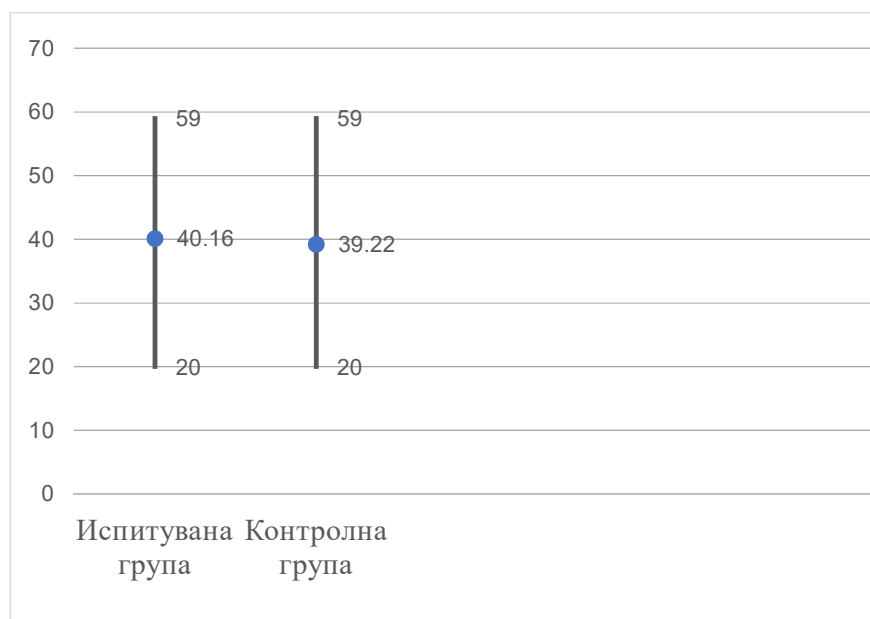
Според t-тестот процентуалната разликата помеѓу просечната возраст помеѓу двете групи е статистички несигнификантна за $p > 0,05$ ($p = 0,4722$, $t = 0,7204$, 95%CI: -2,01-4,32) (Табела 14).

Табела 14. Приказ на просечната возраст и t-тест

Возраст	Просек ИГ	Просек КГ	t-тест	p	Број ИГ	Број КГ	Стандардна девијација	Стандардна девијација
	40,50	39,34	0,7204	0,4722	128	64	10,85	9,70

Легенда: ИГ, испитувана група; КГ, контролна група

Графикон 4. Приказ на просечната возраст на пациентките во двете групи



Табела 15. Демографски карактеристики

	Испитувана група (n=128)		Контролна група (n=64)		Вкупно (n=192)	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
Образование						
без основно	0	(0)	0	(0)	0	(0)
средно	23	(17,97)	17	(26,56)	40	(20,83)
вишо/високо	81	(63,28)	28	(43,75)	109	(56,77)
	24	(18,75)	19	(29,69)	43	(22,40)
Брачна состојба						
мажена	112	(87,50)	55	(85,94)	165	(85,94)
немажена	16	(1,50)	9	(14,06)	27	(14,06)
Националност						
македонска	90	(70,31)	40	(62,50)	130	(67,71)
албанска	15	(11,72)	14	(21,87)	29	(15,10)
турска	3	(2,34)	4	(6,25)	7	(3,65)
ромска	4	(3,13)	1	(1,56)	5	(2,60)
влашка	5	(3,91)	2	(3,13)	7	(3,65)
српска	9	(7,03)	2	(3,13)	11	(5,73)
бошњачка	2	(1,56)	1	(1,56)	3	(1,56)
Вероисповед						
христијанска	104	(81,25)	44	(68,75)	148	(77,08)
муслиманска	24	(18,75)	20	(31,25)	44	(22,92)

Легенда: n, број

Демографските карактеристики на пациентките во испитуваната и контролната група се прикажани во Табела 15. Според t-тестот процентуалната разлика помеѓу модалитетите основно/средно и вишо/високо образование помеѓу испитуваната и контролната група е статистички сигнификантна за $p < 0,05$ ($p = 0,0218$, $t = 6,6652$, 95%CI: 18,2758-84,8442). Статистичка сигнификантност за $p < 0,05$ е детектирана и помеѓу процентуалните разлики помеѓу модалитетите: мажена и немажена ($p = 0,0002$, $t = 66,5765$, 95%CI: 68,6938-78,1862); македонска и албанска националност ($p = 0,0163$, $t = 7,7473$, 95%CI: 22,0580-77,1620); македонска и останатите националности ($p = 0,0067$, $t = 12,1654$, 95%CI: 32,0640-67,1560) и христијанска и муслиманска вероисповед ($p = 0,0299$, $t = 5,6569$, 95%CI: 11,9696-88,0304).

Социо-економските карактеристики на пациентките во испитуваната и во контролната група се прикажани во Табела 16.

Табела 16. Социо-економски карактеристики

	Испитувана група (n=128)		Контролна група (n=64)		Вкупно (n=192)	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
Социјални						
домаќинка	46	(35,94)	27	(42,19)	73	(38,02)
студентка	2	(1,56)	0	(0)	2	(1,04)
работничка	51	(39,84)	17	(26,56)	68	(35,42)
академско лице	20	(15,63)	19	(29,69)	39	(20,31)
пензионер	9	(7,03)	1	(1,56)	10	(5,21)
Економски						
вработена	77	(60,16)	36	(56,25)	113	(58,85)
невработена	51	(39,84)	28	(43,75)	79	(41,15)

Легенда: n, број

Според t-тестот процентуалната разликата помеѓу модалитетите домаќинка и пензионер помеѓу двете групи е статистички сигнификантна за $p < 0,05$ ($p = 0,0140$, $t = 8,3726$, 95%CI: 16,9019-52,6381). Статистичка сигнификантност за $p < 0,05$ е детектирана и помеѓу процентуалните разлики помеѓу модалитетите вработена и невработена ($p = 0,0272$, $t = 5,9354$, 95%CI: 4,5141-28,3059).

Гинеколошките и репродуктивните карактеристики на пациентките во испитуваната и во контролната група се прикажани во Табела 17.

Табела 17. Гинеколошки и репродуктивни карактеристики

	Испитувана група (n=128)		Контролна група (n=64)		Вкупно (n=192)	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
Гинеколошки контроли						
еднаш годишно	50	(39,06)	34	(53,13)	84	(43,75)
повеќе пати	19	(14,84)	12	(18,75)	31	(16,15)
ретко	59	(46,10)	18	(28,12)	77	(40,10)
Чест вагинален исцедок						
да	68	(53,13)	14	(21,88)	82	(42,71)
не	60	(46,87)	50	(78,12)	110	(57,29)
Употреба на контрацептиви средства						
кондом	5	(3,91)	8	(12,50)	13	(6,77)
спирала	3	(2,34)	1	(1,56)	4	(2,08)
орални	30	(23,44)	6	(9,38)	36	(18,75)
не	90	(70,31)	49	(76,56)	139	(72,40)
Фамилијарна анамнеза за карцином на грло на матка						
да	10	(7,81)	6	(9,38)	16	(8,33)
не	118	(92,19)	58	(90,62)	176	(91,67)
Родено деца						
0	25	(19,53)	20	(31,25)	45	(23,44)
1	12	(9,37)	9	(14,06)	21	(10,94)
2-3	85	(66,41)	32	(50,00)	117	(60,94)
≥4	6	(4,69)	3	(4,69)	9	(4,68)
Родено прво дете						
пред 17 год.	21	(16,41)	9	(14,06)	30	(15,63)
после 17 год.	107	(83,59)	55	(85,94)	162	(84,37)

Легенда: n, број

Според t-тестот процентуалната разликата помеѓу модалитетите употреба и неупотреба на хормонски орални контрацептивни средства помеѓу испитуваната и контролната група е статистички сигнификантна за $p < 0,05$ ($p = 0,0088$, $t = 10,6055$, 95%CI: -65,8852-27,8547). Статистичка сигнификантност за $p < 0,05$ е детектирана и помеѓу процентуалните разлики помеѓу модалитетите: позитивна и негативна фамилијарна анамнеза за карцином на грлото на матката ($p = 0,0002$, $t = 74,5930$, 95%CI: -87,5866-78,0333), родено и неродено деца ($p = 0,0272$, $t = 5,9392$, 95%CI: 13,5627-84,8773) и родено прво дете пред и после 17-та година ($p = 0,0006$, $t = 41,8427$, 95%CI: -76,6797-62,3803).

Табела 18. Сексуални карактеристики

	Испитувана група (n=128)		Контролна група (n=64)		Вкупно (n=192)	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
Прв сексуален однос						
пред 17-год.	48	(37,50)	14	(21,87)	62	(32,29)
17-21 год.	65	(50,78)	40	(62,50)	105	(54,69)
после 21-год.	15	(11,72)	10	(15,63)	25	(13,02)
Сексуални партнери последните 6 месеци						
1	108	(84,37)	59	(92,19)	167	(86,98)
2-4	20	(15,63)	5	(7,81)	25	(13,02)
≥5	0	(0)	0	(0)	0	(0)

Легенда: n, број

Сексуалните карактеристики на пациентките во испитуваната и во контролната група се прикажани во Табела 18. Според t-тестот процентуалната разлика помеѓу модалитетите прв сексуален партнер пред 17-та година и прв сексуален партнер после 17-та година помеѓу двете групи е статистички сигнификантна за $p < 0,05$ ($p = 0,0072$, $t = 11,5642$, 95%CI: 68,8426-98,1246). Статистичка сигнификантност за $p < 0,05$ е детектирана и помеѓу процентуалната разлика помеѓу модалитетите еден сексуален партнер и 2-4 сексуални партнери помеѓу двете група ($p = 0,0052$, $t = 13,8455$, 95%CI: 52,7682-100,3518).

Табела 19. Навики на пациентките

	Испитувана група (n=128)		Контролна група (n=64)		Вкупно (n=192)	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
Пушење цигари						
<10	20	(15,63)	5	(7,81)	25	(13,02)
10-20	42	(32,81)	15	(23,44)	57	(29,69)
>20	10	(7,81)	2	(3,12)	12	(6,25)
не	56	(43,75)	42	(65,63)	98	(51,04)
Пиеење алкохол						
ретко	9	(7,03)	4	(6,25)	13	(6,77)
често	2	(1,56)	1	(1,56)	3	(1,56)
не	117	(91,41)	59	(92,19)	176	(91,67)
Употреба на лекови						
да	25	(19,53)	11	(17,19)	36	(18,75)
не	103	(80,47)	53	(82,81)	156	(81,25)
Диета						
да	42	(32,81)	12	(18,75)	54	(28,13)
не	86	(67,19)	52	(81,25)	138	(71,87)

Легенда: n, број

Навиките на пациентките во двете групи се прикажани во Табела 19. Според t-тестот процентуалната разликата помеѓу модалитетите пиеење и непиеење алкохол помеѓу испитуваната и контролната група е статистички сигнификантна за $p < 0,05$ ($p = 0,0001$, $t = 151,5747$, 95%CI: -85,9731- -81,2269). Статистичка сигнификантност за $p < 0,05$ е детектирана и помеѓу процентуалните разлики помеѓу модалитетите: употреба и неупотреба на лекови ($p = 0,0007$, $t = 38,2442$, 95%CI: -70,3993- -56,1607) и држење и недржење диета ($p = 0,0396$, $t = 4,8723$, 95%CI: -91,2166 - -5,6634).

7.2. КОРЕЛАЦИЈА ПОМЕЃУ ЦИТОПАТОЛОШКИТЕ И ХИСТОПАТОЛОШКИТЕ РЕЗУЛТАТИ

Дистрибуцијата на пациентките според цитопатолошката дијагноза во испитуваната група е прикажана во Табела 20.

Табела 20. Дистрибуција на пациентките според цитопатолошката дијагноза

Испитувана група Цитопатолошка дијагноза	Број	(%)
ASC-US	13	(10,16)
ASC-H	7	(5,47)
LSIL CIN 1	31	(24,22)
HSIL CIN 2	20	(15,62)
CIN 3	21	(16,41)
In situ сквамозен карцином	15	(11,72)
Инвазивен сквамозен карцином	21	(16,40)
Вкупно	128	(100)

Легенда: ASC-US, атипични сквамозни клетки со недетерминирано значење; ASC-H, атипични сквамозни клетки кои не исклучуваат сквамозна интраепителна лезија од висок степен; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен; CIN, цервикална интраепителна неоплазма

Цитопатолошки, имаше: 13 (10,16%) случаи на ASC-US, 7 (5,47%) случаи на ASC-H, 31 (24,22%) случаи на LSIL, 56 (43,75%) случаи на HSIL и 21 (16,40%) случај на инвазивен сквамозен карцином на грлото на матката.

Хистопатолошки, имаше: 9 (7,03%) случаи со нормален наод, 41 (32,03%) случаи со LSIL, 54 (42,19%) случаи со HSIL и 24 (18,75%) случаи со инвазивен сквамозен карцином на грлото на матката (Табела 21).

Табела 21. Дистрибуција на пациентките според хистопатолошката дијагноза

Испитувана група Хистопатолошка дијагноза	Број	(%)
Нормален наод (неспецифичен цервицитис)	9	(7,03)
LSIL лесна дисплазија плоснат кодилом (Flat condyloma)	19 2	(14,84) (1,56)
хронично вирусно воспаление на грлото на матката (cervicitis chronica virosa)	20	(15,63)
HSIL умерена дисплазија тешка дисплазија in situ сквамозен карцином	15 23 16	(11,72) (17,97) (12,50)
Инвазивен сквамозен карцином	24	(18,75)
Вкупно	128	(100)

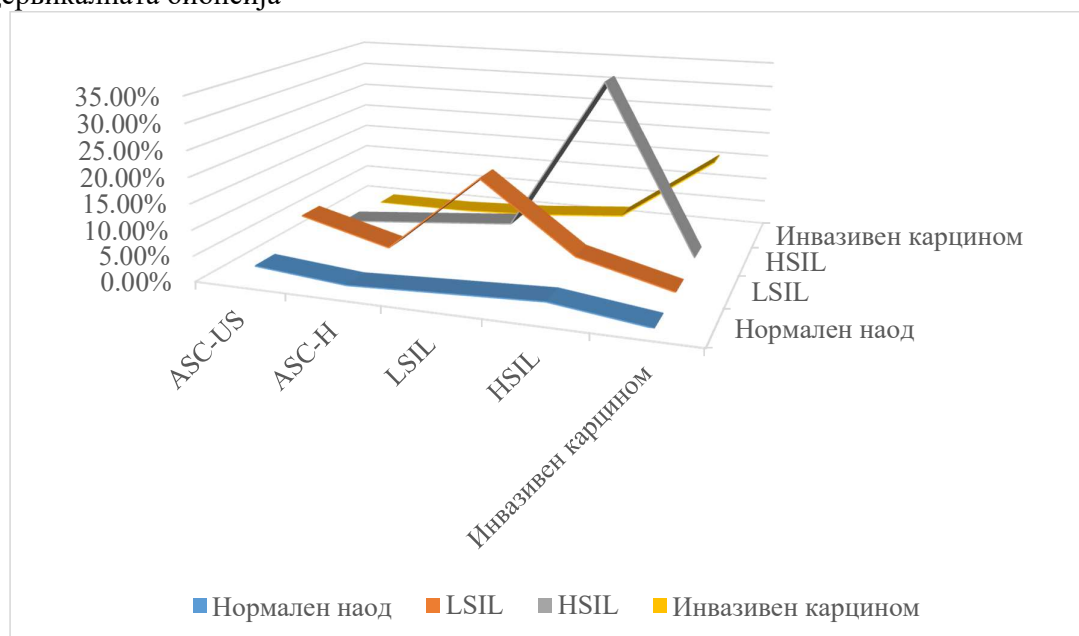
Легенда: LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен;
HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Табела 22. Корелација помеѓу резултатите од цервикалната цитологија и цервикалната биопсија

Цитопатолошка дијагноза	Испитувана група Хистопатолошка дијагноза				Вкупно Број (%)
	Нормален наод	LSIL	HSIL	Инвазивен сквамозен карцином	
	Број (%)	Број (%)	Број (%)	Број (%)	
ASC-US	3 (2,34)	9 (7,03)	1 (0,78)	0 (0)	13(10,16)
ASC-H	1 (0,78)	3 (2,34)	3 (2,34)	0 (0)	7 (5,47)
LSIL	2 (1,57)	23 (17,97)	5 (3,91)	1 (0,78)	31(24,22)
HSIL	3 (2,34)	6 (4,69)	44 (34,38)	3 (2,34)	56(43,75)
Инвазивен сквамозен карцином	0 (0)	0 (0)	1 (0,78)	20 (15,63)	21(16,40)
Вкупно	9 (7,03)	41 (32,03)	54 (42,19)	24 (18,75)	128 (100)

Легенда: ASC-US, атипични сквамозни клетки со недетерминирано значење; ASC-H, атипични сквамозни клетки кои не исклучуваат сквамозна интраепителна лезија од висок степен; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Графикон 5. Корелација помеѓу резултатите од цервикалната цитологија и цервикалната биопсија



Легенда: ASC-US, атипични сквамозни клетки со недетерминирано значење; ASC-H, атипични сквамозни клетки кои не исклучуваат сквамозна интраепителна лезија од висок степен; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Анализата на податоците покажа дека постои позитивна корелација помеѓу резултатите од цитопатолошката и хистопатолошката анализа на грлото на матката ($r=0,8484$, $p=0,032732$, $p<0,05$) (Табела 22 и Графикон 5).

Кога беа вклучени сите цитолошки сквамозни клеточни абнормалности на грлото на матката, сензитивноста на ПАП-тестот за LSIL и повисоките степени на лезија на грлото на матката беше 92,97% (119/128), додека лажно-позитивноста беше 7,03% (9/128). Кога беа исклучени ASC-US и ASC-H сензитивноста беше 95,37% (103/108) а лажно-позитивноста 4,63% (5/108). Не можевме да ја пресметаме сензитивноста, специфичноста и негативната предиктивна вредност за групите, бидејќи немаше вистински негативни или лажно негативни групи; не беше направена колпоскопска биопсија и едноцервикална киретажа на пациентките од контролната група. Корелацијата беше пресметана со користење на позитивната предиктивна вредност (ППВ) според нашите податоци од студијата.

Табела 23. Позитивна предиктивна вредност на цито-хистопатолошките групи

Цитопатолошка дијагноза	Хистопатолошка дијагноза	Позитивна предиктивна вредност
LSIL	LSIL	0,74
HSIL	HSIL	0,79
Инвазивен карцином	Инвазивен карцином	0,95

Легенда: LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен;
HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Цито-хистопатолошката корелација се зголемува паралелно со степенот на ППВ и е 95,24% за инвазивен сквамозен карцином, 78,57% за HSIL и 74,19% за LSIL (Табела 23).

Цито-хистопатолошката споредба на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката покажа дека позитивната предиктивна вредност на ПАП-тестот се зголемува со зголемување со степенот на лезија на грлото на матката и е 76,93% за ASC-US, 85,71% за ASC-H, 93,55% за LSIL, 94,64% за HSIL и 94,25% за LSIL+HSIL (Табела 24).

Табела 24. Позитивна предиктивна вредност на цитопатолошките групи

Цитопатолошка дијагноза	Позитивна предиктивна вредност
ASC-US	0,77
ASC-H	0,86
LSIL	0,94
HSIL	0,95
LSIL+HSIL	0,94

Легенда: ASC-US, атипични сквамозни клетки со недетерминирано значење; ASC-H, атипични сквамозни клетки кои не исклучуваат сквамозна интраепителна лезија од висок степен; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

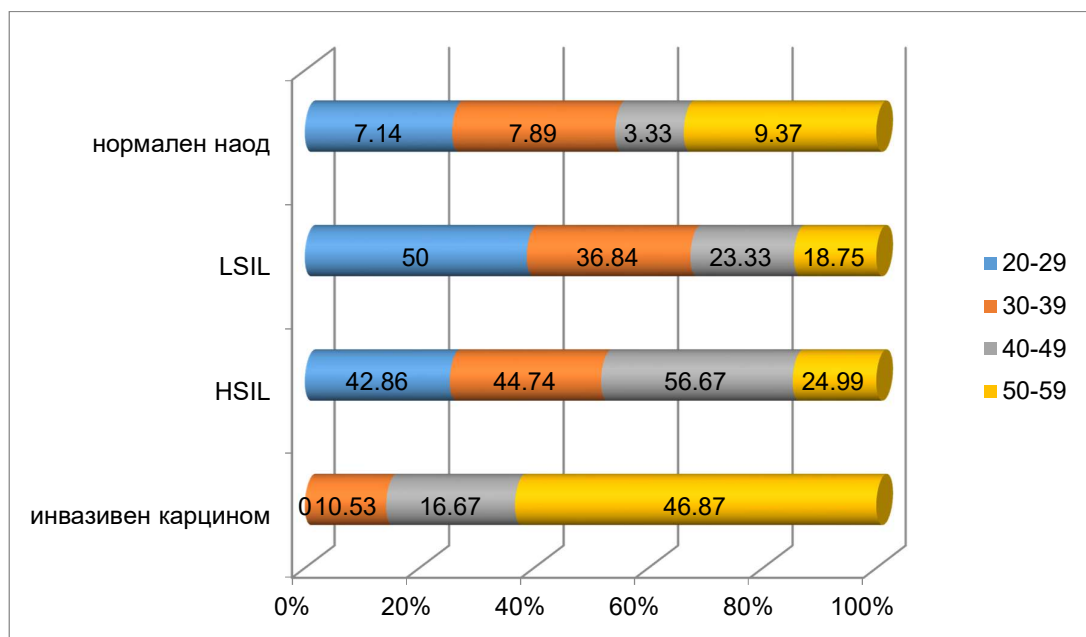
Дистрибуцијата на резултатите од хистопатолошката анализа во испитуваната група според возрасни групи е прикажана во Табела 25 и Графикон 6.

Табела 25. Дистрибуција на хистопатолошките наоди според возрастни групи

Хистопатолошки наод	Возрасна група							
	20-29		30-39		40-49		50-59	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
Нормален наод	2	(7,14)	3	(7,89)	1	(3,33)	3	(9,37)
LSIL	14	(50,00)	14	(36,84)	7	(23,33)	6	(18,75)
HSIL	12	(42,86)	17	(44,74)	17	(56,67)	8	(24,99)
Инвазивен сквамозен карцином	0	(0)	4	(10,53)	5	(16,67)	15	(46,87)
Вкупно	28	(21,87)	38	(29,69)	30	(23,44)	32	(25,00)

Легенда: LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен;
HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Графикон 6. Дистрибуција на хистопатолошките наоди според возрастни групи



Легенда: LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен;
HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Анализата на податоците покажаат пораст на хистопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката паралелно со порастот на возраста (хи-квадрат тест=28,8427, $p=0,000689$, $p<0,05$). LSIL беше најфрекветна кај пациентките на возраст од 20-29 години (14/28), HSIL кај пациентките на возраст од 40-49 години (17/30) и инвазивниот сквамозен карцином на грлото на матката кај пациентките на возраст од 50-59 години (15/32).

7.3. ХПВ-ДНК ТЕСТИРАЊЕ

7.3.1. ИСПИТУВАНА ГРУПА

Дистрибуцијата на ХПВ-ДНК инфекцијата кај 128 пациентки од испитуваната група во однос на цитопатолошката дијагноза е прикажана во Табела 26.

Табела 26. Дистрибуција на ХПВ-ДНК инфекцијата во однос на цитопатолошката дијагноза

ХПВ-ДНК инфекција	Испитувана група Цитопатолошка дијагноза							
	ASC-US (n=13)	ASC-H (n=7)	LSIL (n=31)	HSIL (n=56)			Инвазивен сквамозен карцином (n=21)	Вкупно (n=128)
			CIN1 (n=31)	CIN2 (n=20)	CIN3 (n=21)	In situ сквамозен карцином (n=15)		
n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
ХПВ-ДНК негативни	7 (53,85)	3 (42,86)	9 (29,03)	4 (20,00)	4 (19,05)	3 (20,00)	2 (9,52)	32 (25,00)
ХПВ ДНК позитивни	6 (46,15)	4 (57,14)	22 (70,97)	16 (80,00)	17 (80,95)	12 (80,00)	19 (90,48)	96 (75,00)
ВР-ХПВ ДНК позитивни	0 (0)	3 (42,86)	12 (38,71)	11 (55,00)	17 (80,95)	12 (80,00)	18 (85,71)	73 (57,03)
НР-ХПВ ДНК позитивни	4 (30,77)	1 (14,28)	4 (12,90)	2 (10,00)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	11 (8,59)
ВР и НР ХПВ ДНК позитивни	2 (23,08)	0 (0)	6 (19,35)	3 (15,00)	0 (0)	0 (0)	1 (4,76)	12 (9,37)

Легенда: n, број; CIN, цервикална интраепителна неоплазма; ASC-US, атипични сквамозни клетки со недетерминирано значење; ASC-H, атипични сквамозни клетки кои не исклучуваат сквамозна интраепителна лезија од висок степен; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен; ВР-ХПВ ДНК, високо-ризичен хуман папилома вирус дезоксирибонуклеинска киселина; НР-ХПВ ДНК, ниско-ризичен хуман папилома вирус дезоксирибонуклеинска киселина

Анализата на податоците покажа пораст на присуството на ХПВ-ДНК инфекцијата паралелно со зголемување на цитопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката. Од 46,15% (6/13) кај ASCUS, 57,14% (4/7) кај ASC-H, 70,97% (22/31) кај LSIL, 80,36% (45/56) кај HSIL до 90,48% (19/21) кај инвазивниот сквамозен карцином (хи-квадрат тест=10,7682, p=0,029296, p<0,05).

Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу онкогениот потенцијал на вирусот и цитопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката (хи-квадрат тест=23,8298, $p=0,000086$, $p<0,05$).

Дистрибуцијата на ХПВ-ДНК инфекцијата кај 128 пациентки од испитуваната група во однос на хистопатолошката дијагноза е прикажана во Табела 27.

Табела 27. Дистрибуција на ХПВ-ДНК инфекцијата во однос на хистопатолошката дијагноза

ХПВ-ДНК инфекција	Испитувана група Хистопатолошка дијагноза								
	Нормален наод (n=9)	LSIL (n=41)			HSIL (n=54)			Инвазивен сквамозен карцином (n=24)	Вкупно (n=128)
		Хроничен вирусен цервицитис (n=20)	Плоснаг кондилом (n=2)	Лесна дисплазија (n=19)	Умерена дисплазија (n=15)	Тешка дисплазија (n=23)	In situ сквамозен карцином (n=16)		
n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
ХПВ-ДНК негативни	5(55,56)	7(35,00)	0(0)	8(42,10)	3(20,00)	4(17,39)	2(12,50)	3(12,50)	32(25,00)
ХПВ-ДНК позитивни	4(44,44)	13(65,00)	2(100)	11(57,89)	12(20,00)	19(82,61)	14(87,50)	21(87,50)	96(75,00)
ВР-ХПВ ДНК позитивни	1(11,11)	3(15,00)	0(0)	6(31,58)	11(73,33)	17(73,91)	14(87,50)	20(83,33)	72(56,25)
НР-ХПВ ДНК позитивни	2(22,22)	8(40,00)	1(50,00)	3(15,79)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	14(10,94)
ВР и НР ХПВ-ДНК позитивни	1(11,11)	2(10,00)	1(50,00)	2(10,53)	1(6,67)	2(8,70)	0(0)	1(4,17)	10(7,81)

Легенда: n, број; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен; ВР-ХПВ ДНК, високо-ризичен хуман папилома вирус дезоксирибонуклеинска киселина; НР-ХПВ ДНК, ниско-ризичен хуман папилома вирус дезоксирибонуклеинска киселина

ХПВ-ДНК инфекцијата беше детектирана кај 75,00% (96/128) од испитуваните пациентки. Анализата на податоците покажа пораст на ХПВ-инфекцијата, паралелно со зголемувањето на хистопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката. Најнизок процент имаше кај LSIL 63,41% (26/41), со зголемување на 83,33% (45/54) кај HSIL и 87,50% (21/24) кај инвазивниот сквамозен карцином (хи-квадрат тест=7,0506, $p=0,029443$, $p<0,05$).

Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу присуството на ХПВ-ДНК инфекцијата и појавата на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката (хи-квадрат тест=4,8204, $p=0,028125$, $p<0,05$).

Односот помеѓу преваленцијата на високоризични и нискоризични ХПВ-ДНК позитивни беше 56,25%:10,94% (односно 75,00%:14,58% помеѓу ХПВ-ДНК позитивните пациентки).

Анализата на податоците покажа пораст на присуството на високоризични ХПВ-ДНК паралелно со зголемувањето на хистопатолошкиот степен на лезијата, од 21,95% (9/41) кај LSIL, преку 77,78% (42/54) HSIL и до 83,33% (20/24) кај инвазивниот сквамозен карцином.

Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу онкогениот потенцијал на вирусот и хистопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката (хи-квадрат тест=31,5089, $p=0,00001$, $p<0,05$).

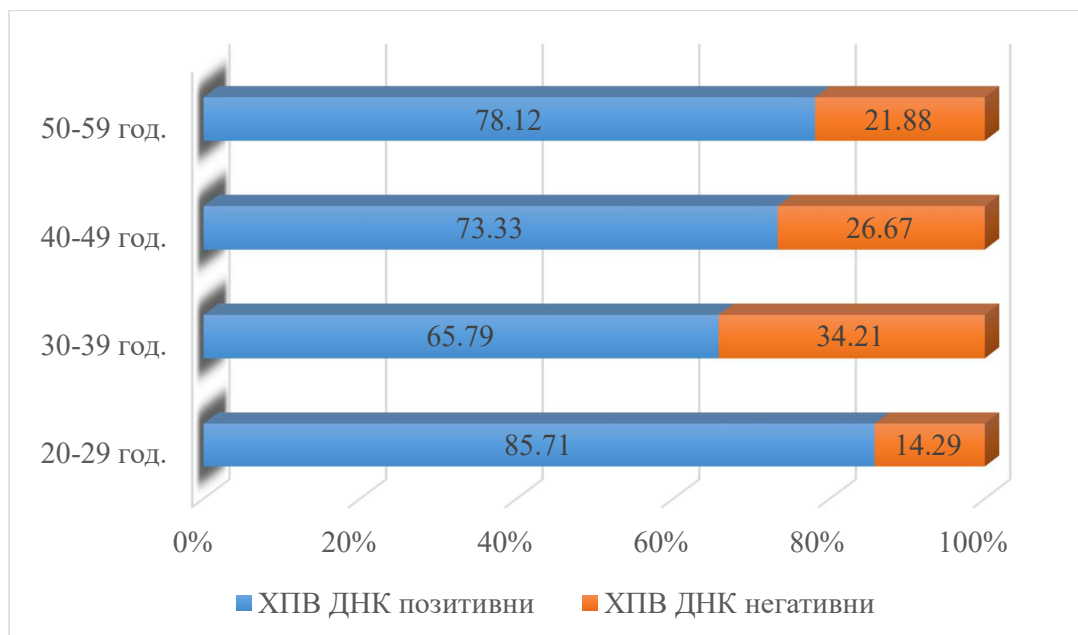
Инциденцата на ХПВ-ДНК инфекцијата изнесуваше: 85,71% (24/28) кај пациентки на возраст од 20-29 години; 65,79% (25/38) од 30-39 години; 73,33% (22/30) од 40-49 години; 78,12% (25/32) кај пациентки на возраст од 50-59 години (Табела 28 и Графикон 7).

Табела 28. Дистрибуција на ХПВ-ДНК инфекцијата според возрастни групи кај 128 пациентки

ХПВ-ДНК инфекција	Возрасна група							
	20-29		30-39		40-49		50-59	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
ХПВ-ДНК позитивни	24	(85,71)	25	(65,79)	22	(73,33)	25	(78,12)
ХПВ-ДНК негативни	4	(14,29)	13	(34,21)	8	(26,67)	7	(21,88)
Вкупно	28	(21,87)	38	(29,69)	30	(23,44)	32	(25,00)

Легенда: ХПВ, хуман папилома вирус; ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина

Графикон 7. Фреквенција на ХПВ-ДНК инфекцијата според возрастни групи кај 128 пациентки



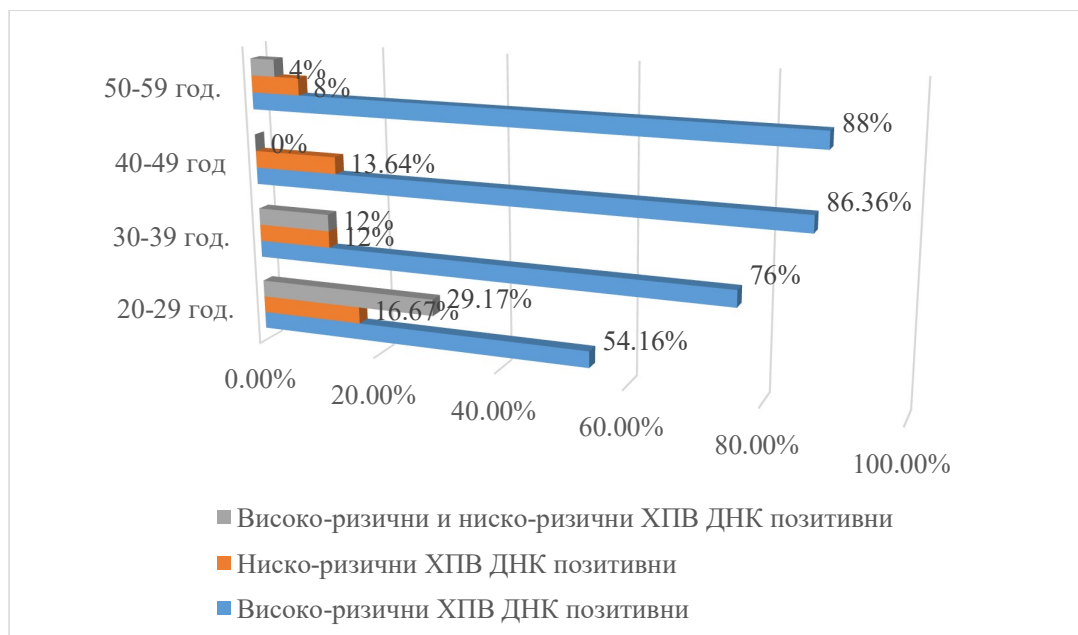
Детектирана беше правопрпорционална корелација помеѓу возраста и појавата на високоризичните ХПВ-ДНК инфекции и обратнопрпорциона корелација помеѓу возраста и појавата на нискоризичните и мешаните ХПВ-ДНК инфекции (Табела 29 и Графикон 8).

Табела 29. Дистрибуција на ХПВ-ДНК инфекцијата според онкогениот потенцијал на вирусот и возраста кај 96 ХПВ-ДНК позитивни пациентки

Онкоген потенцијал на вирусот	Возрасна група							
	20-29		30-39		40-49		50-59	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
ВР-ХПВ ДНК позитивни	13	(54,16)	19	(76,00)	19	(86,36)	22	(88,00)
НР-ХПВ ДНК позитивни	4	(16,67)	3	(12,00)	3	(13,64)	2	(8,00)
ВР и НР ХПВ ДНК позитивни	7	(29,17)	3	(12,00)	0	(0)	1	(4,00)
Вкупно	24	(25,00)	25	(26,04)	22	(22,92)	25	(26,04)

Легенда: ВР, високо-ризичен; НР, ниско-ризичен; ХПВ, хуман папилома вирус; ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина

Графикон 8. Фреквенција на ХПВ ДНК инфекцијата според онкогениот потенцијал на вирусот и возраста кај 96 ХПВ ДНК позитивни пациентки



Единечна ХПВ-ДНК инфекција беше детектирана кај 42,97% (55/128) од сите пациентки (односно кај 57,29% од ХПВ-ДНК позитивните пациентки). Најчеста беше единечната ХПВ-ДНК инфекција со високоризичен ХПВ: 53,12% (51/96).

Мешаната ХПВ-ДНК инфекција беше детектирана кај 32,03% (41/128) од сите пациентки (односно кај 42,71% од ХПВ-ДНК позитивните пациентки). Најчеста коинфекција беше високоризичен - високоризичен ХПВ: 22,45% (22/96). Коинфекција со вискоризичен - нискоризичен ХПВ беше најдена кај 11,46% (11/96), а коинфекција со нискоризичен - нискоризичен ХПВ беше детектирана кај 8,16% (8/96). Во однос на хистопатолошката дијагноза, преваленцата на мешаните ХПВ-ДНК инфекции беше: 75,00% (3/4) кај нормален наод, 61,54% (16/26) кај LSIL, 33,33% (15/45) кај HSIL и 33,33% (7/21) кај инвазивен сквамозен карцином (Табела 30).

Табела 30. Дистрибуција на единечни и мешани ХПВ-ДНК инфекции во однос на хистопатолошката дијагноза кај 96 ХПВ-ДНК позитивни пациентки

Тип на ХПВ-ДНК инфекција	Испитувана група Хистопатолошка дијагноза								
	Нормален наод (n=4)	LSIL (n=26)			HSIL (n=45)			Инвазивен сквамозен карцином (n=21)	Вкупно (n=96)
		Хроничен вирусен цервицитис (n=13)	Плоенат кондилом (n=2)	Лесна дисплазија (n=11)	Умерена дисплазија (n=12)	Тешка дисплазија (n=19)	In situ сквамозен карцином (n=14)		
n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Единечна инфекција	1(25,00)	7(53,85)	0(0)	3(27,27)	6(50,00)	13(68,42)	11(78,57)	14(66,67)	55(57,29)
Единечна ВР-ХПВ	1(25,00)	4(30,77)	0(0)	2(18,18)	6(50,00)	13(68,42)	11(78,57)	14(66,67)	51(53,12)
Единечна НР-ХПВ	0(0)	3(23,08)	0(0)	1(9,09)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(4,17)
Мешана инфекција	3(7,00)	6(46,15)	2(100)	8(72,73)	6(50,00)	6(31,58)	3(21,43)	7(33,33)	41(42,71)
Мешана ВР-ВР ХПВ	0(0)	0(0)	0(0)	4(36,36)	5(41,67)	4(21,05)	3(21,43)	6(28,57)	22(2,92)
Мешана ВР-НР ХПВ	1(25,00)	2(15,38)	1(50,00)	3(27,27)	1(8,33)	2(10,53)	0(0)	1(4,76)	11(11,46)
Мешана НР-НР ХПВ	2(50,00)	4(30,77)	1(50,00)	1(9,09)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8(8,33)

Легенда: n, број; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен; ВР-ХПВ ДНК, високо-ризичен хуман папилома вирус дезоксирибонуклеинска киселина; НР-ХПВ ДНК, ниско-ризичен хуман папилома вирус дезоксирибонуклеинска киселина

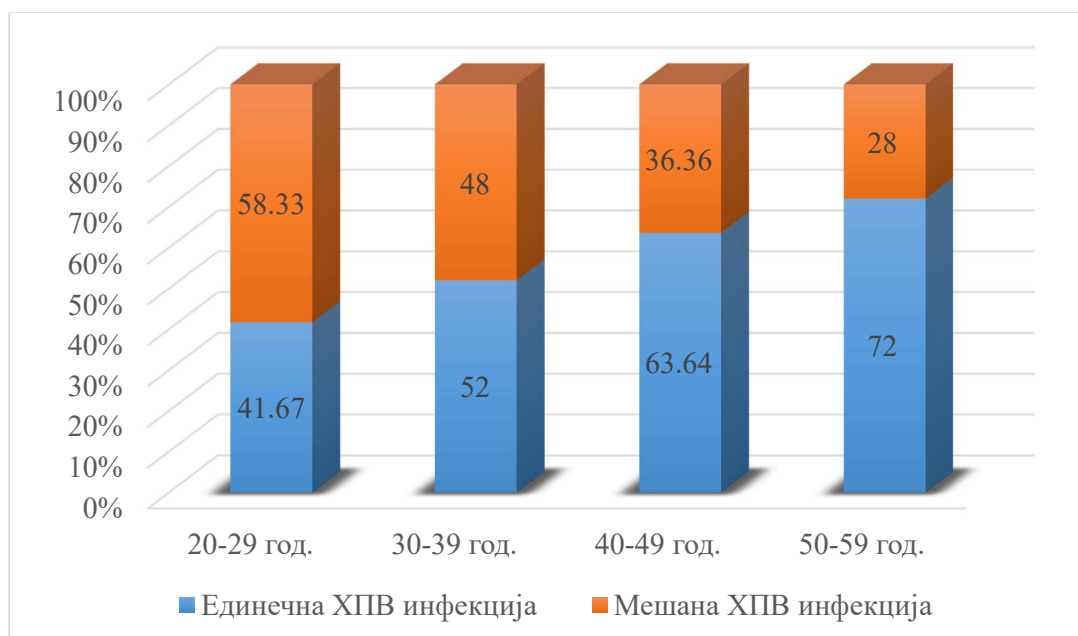
Анализата на податоците покажа дека мешаните ХПВ-инфекции се најфреквентни кај пациентките под 30-годишна возраст (58,33%; 14/24) (Табела 31 и Графикон 9).

Табела 31. Дистрибуција на единечни и мешани ХПВ-ДНК инфекции според возрастни групи кај 96 ХПВ-ДНК позитивни пациентки

ХПВ-ДНК инфекција	Возрасна група							
	20-29		30-39		40-49		50-59	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
Единечна ХПВ- ДНК инфекција	10	(41,67)	13	(52,00)	14	(63,64)	18	(72,00)
Мешана ХПВ- ДНК инфекција	14	(58,33)	12	(48,00)	8	(36,36)	7	(28,00)
Вкупно	24	(25,00)	25	(26,04)	22	(22,92)	25	(25,00)

Легенда: ХПВ, хуман папилома вирус; ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина

Графикон 9. Фреквенција на единечни и мешани ХПВ-ДНК инфекции според возрастни групи кај 96 ХПВ-ДНК позитивни пациентки



Со ХПВ-ДНК типизацијата беа типизирани вкупно 20 ХПВ-ДНК генотипа, од кои 15 високоризични (ХПВ ДНК -16, -18, -31, -33, -35, -39, -45, -52, -53, -56, -58 -59, -66, -68 и -73) и 5 нискоризични (-6, -11, -40, -42 и -61). Преваленцијата на 20-те ХПВ-ДНК генотипа кај единечните и мешаните ХПВ-ДНК инфекции во однос на хистопатолошката дијагноза е прикажана во Табела 32.

Табела 32. Преваленца на ХПВ-ДНК генотиповите во однос на хистопатолошката дијагноза

ХПВ-ДНК генотип	Тип на ХПВ-ДНК инфекција	Испитувана група								
		Хистопатолошка дијагноза								
		Нормален наод (n=4)	LSIL (n=26)			HSIL (n=45)			Инвазивен сквамозен карцином (n=21)	Вкупно (n=96)
			Хроничен вирусен цервицитис (n=13)	Плоскаг кондилом (n=2)	Лесна дисплазија (n=11)	Умерена дисплазија (n=12)	Тешка дисплазија (n=19)	In situ сквамозен карцином (n=14)		
n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		
16	Единечна Мешана	1(25,00) 0(0)	0(0) 1(7,69)	0(0) 0(0)	0(0) 3(27,27)	4(33,33) 3(25,00)	9(47,37) 3(15,79)	5(35,71) 3(21,43)	6(28,57) 4(19,05)	25(26,04) 17(17,71)
18	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(9,09)	0(0) 1(8,33)	0(0) 2(10,53)	0(0) 0(0)	3(14,28) 3(14,28)	3(3,12) 7(7,29)
31	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(9,09)	1(8,33) 1(8,33)	3(15,79) 1(5,26)	3(21,43) 2(14,29)	1(4,76) 2(9,52)	8(8,33) 7(7,29)
33	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 1(7,69)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 2(16,77)	1(5,26) 0(0)	1(7,14) 0(0)	0(0) 2(9,52)	2(2,08) 5(5,21)
35	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	1(7,69) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 2(18,18)	0(0) 1(8,33)	0(0) 1(5,26)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	1(1,04) 4(4,17)
39	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(9,09)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(1,04)
45	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	1(8,33) 0(0)	0(0) 0(0)	2(14,29) 0(0)	4(19,05) 2(9,52)	7(7,29) 2(2,08)
52	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	1(7,69) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(9,09)	0(0) 1(8,33)	0(0) 2(10,53)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	1(1,04) 4(4,17)
53	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(50,00)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(1,04)
56	Единечна Мешана	0(0) 1(25,00)	1(7,69) 0(0)	0(0) 0(0)	1(9,09) 1(9,09)	0(0) 0(0)	0(0) 1(5,26)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	2(2,08) 3(3,12)
58	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(8,33)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(1,04)
59	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 2(18,18)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 2(2,08)
66	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	1(7,69) 0(0)	0(0) 0(0)	1(9,09) 1(9,09)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	2(2,08) 1(1,04)
68	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(9,09)	0(0) 1(8,33)	0(0) 1(5,26)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 3(3,12)
73	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(9,09)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(7,14)	0(0) 0(0)	0(0) 2(2,08)
6	Единечна Мешана	0(0) 2(50,00)	1(7,69) 4(30,77)	0(0) 2(100)	0(0) 4(36,36)	0(0) 0(0)	0(0) 1(5,26)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	1(1,04) 13(13,54)
11	Единечна Мешана	0(0) 2(50,00)	1(7,69) 4(30,77)	0(0) 1(50,00)	0(0) 1(9,09)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	1(1,04) 8(8,33)
40	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 1(7,69)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(8,33)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 2(2,08)
42	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	1(7,69) 0(0)	0(0) 0(0)	1(9,09) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(4,76)	2(2,08) 1(4,76)
61	Единечна Мешана	0(0) 1(25,00)	0(0) 1(7,69)	0(0) 1(50,00)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(5,26)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 4(4,17)

Легенда: ХПВ, хуман папилома вирус; ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Меѓу високоризичните ХПВ-ДНК генотипови, ХПВ-16 беше најчест (43,75%; 42/96), а потоа, по опаѓачки редослед, следуваа: ХПВ-31 (15,62%; 15/96), ХПВ-18 (10,41%; 10/96), ХПВ-45 (9,37%; 9/96), ХПВ-33 (7,29%; 7/96), ХПВ -35, -52 и -56 (со по 5,21%; 5/96) итн. Меѓу нискоризичните ХПВ-ДНК генотипови, најчест беше ХПВ-6 (14,58%; 14/96), а потоа ХПВ-11 (9,37%; 9/96). ХПВ-16 беше најзастапен кај пациентките со HSIL и инвазивен сквамозен карцином, додека ХПВ-6 кај пациентките со LSIL.

7.3.2. КОНТРОЛНА ГРУПА

Дистрибуцијата на ХПВ-ДНК инфекцијата кај 64 пациентки од контролната група со нормален цитолошки наод (ПАП-тест) на грлото на матката е прикажана во Табела 33.

Табела 33. Дистрибуција на ХПВ-ДНК инфекцијата во однос на цитолошката дијагноза

ХПВ-ДНК инфекција	Контролна група Цитолошка дијагноза нормален наод (n=64)	
	n	(%)
ХПВ-ДНК негативни	56	(87,50)
ХПВ-ДНК позитивни	8	(12,50)
ВР-ХПВ ДНК позитивни	6	(9,38)
НР-ХПВ ДНК позитивни	0	(0)
ВР и НР ХПВ ДНК позитивни	2	(3,12)

Легенда: n, број; ВР-ХПВ ДНК, високо-ризичен хуман папилома вирус дезоксирибонуклеинска киселина; НР-ХПВ ДНК, ниско-ризичен хуман папилома вирус дезоксирибонуклеинска киселина

ХПВ-ДНК беше детектирана кај 12,50% (8/64) од пациентките.

Се регистрира статистички сигнификатна поврзаност помеѓу модалитетите ХПВ-ДНК позитивни и ХПВ-ДНК негативни помеѓу испитуваната и контролната група (хи-квадрат тест=67,1329, $p < 0,00001$, $p < 0,05$).

Според t-тестот процентуалната разлика помеѓу модалитетите ХПВ-ДНК позитивни и ХПВ-ДНК негативни помеѓу испитуваната и контролната група е статистички несигнификантна за $p > 0,05$ ($p = 0,8039$, $t = 0,2828$, $95\%CI: -202,6521-177,6521$).

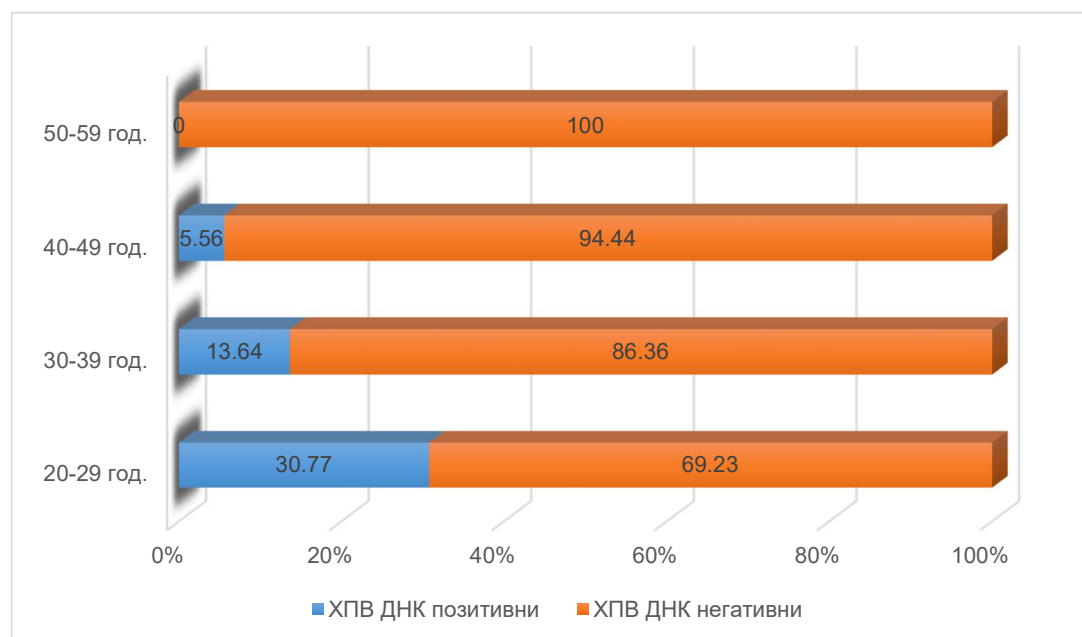
Шест пациентки (9,38%) беа високоризични ХПВ-ДНК позитивни, а две (3,12%) високоризични и нискоризични ХПВ-ДНК позитивни. Според t-тестот процентуалната разлика помеѓу модалитетите високоризични ХПВ-ДНК позитивни и нискоризични ХПВ-ДНК позитивни помеѓу испитуваната и контролната група е статистички не сигнификантна за $p > 0,05$ ($p = 0,3737$, $t = 1,1363$, $95\%CI: -76,1979-130,8079$).

Слика 34. Дистрибуција на ХПВ-ДНК инфекцијата според возрастни групи кај 64 пациентки

ХПВ-ДНК инфекција	Возрасна група							
	20-29		30-39		40-49		50-59	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
ХПВ-ДНК позитивни	4	(30,77)	3	(13,64)	1	(5,56)	0	(0)
ХПВ-ДНК негативни	9	(69,23)	19	(86,36)	17	(94,44)	11	(100)
Вкупно	13	(20,31)	22	(34,37)	18	(28,13)	11	(17,19)

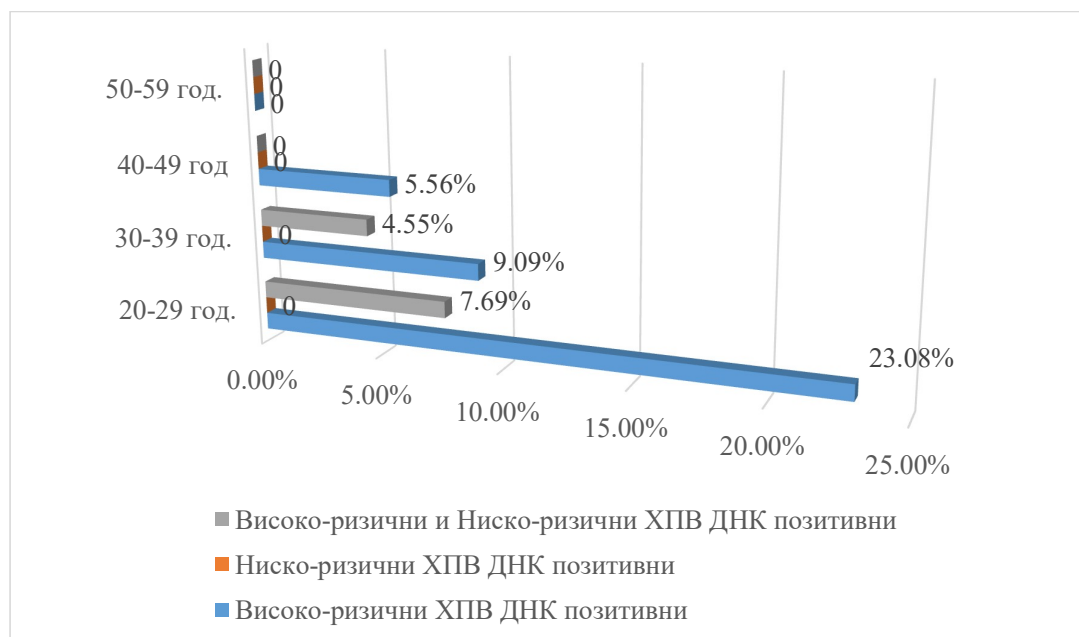
Легенда: ХПВ, хуман папилома вирус; ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина

Графикон 10. Фреквенција на ХПВ-ДНК инфекцијата според возрастни групи кај 64 пациентки



Инциденцата на вирусната инфекција изнесуваше: 30,77% (4/13) кај пациентките на возраст од 20 до 29 години; 13,64% (3/22) од 30 до 39 години; 5,56% (1/18) кај пациентките на возраст од 40 до 49 години (Слика 34 и Графикон 10). Според t-тестот процентуалната разлика помеѓу инциденците на вирусната инфекција помеѓу испитуваната и контролната група е статистички сигнификантна за $p < 0,05$ ($p = 0,0002$, $t = 8,0032$, 95%CI: 43,9084-82,5816).

Графикон 11. Фреквенција на ХПВ-ДНК инфекцијата според онкогениот потенцијал на вирусот и возраста кај 8 ХПВ-ДНК позитивни пациентки



Детектирана беше обратнопропорционална корелација помеѓу возраста и појавата на високоризичните ХПВ-ДНК инфекции и појавата на мешаните ХПВ-ДНК инфекции.

Единечна ХПВ-ДНК инфекција беше детектирана кај 7,81% (5/64) од сите пациентки (односно кај 62,50% од ХПВ-ДНК позитивните пациентки). Сите пет случаи беа единечната ХПВ-ДНК инфекција со високоризичен ХПВ.

Мешаната ХПВ-ДНК инфекција беше детектирана кај 4,69% (3/64) од сите пациентки (односно кај 37,50% од ХПВ-ДНК позитивните пациентки). Најчеста коинфекција беше високоризичен - нискоризичен ХПВ: 25,00% (2/8). Коинфекција со вискоризичен - високоризичен ХПВ беше најдена кај 12,50% (1/8), додека коинфекција со нискоризичен - нискоризичен ХПВ не беше детектирана (Табела 35).

Според t-тестот процентуалната разлика помеѓу модалитетите единечна и мешана ХПВ-ДНК инфекција помеѓу испитуваната и контролната група е статистички несигнификантна за $p > 0,05$ ($p = 0,7821$, $t = 0,3157$, $95\%CI: -88,7874-102,8474$).

Табела 35. Дистрибуција на единечни и мешани ХПВ-ДНК инфекции кај 8 ХПВ-ДНК позитивни пациентки со нормален цитолошки наод

Тип на ХПВ-ДНК инфекција	Контролна група Цитолошка дијагноза Нормален наод (Број=8)	
	Број	(%)
Единечна инфекција	5	(62,50)
Единечна ВР-ХПВ ДНК	5	(62,50)
Единечна НР-ХПВ ДНК	0	(0)
Мешана инфекција	3	(37,50)
Мешана ВР-ВР ХПВ ДНК	1	(12,50)
Мешана ВР-НР ХПВ ДНК	2	(25,00)
Мешана НР-НР ХПВ ДНК	0	(0)

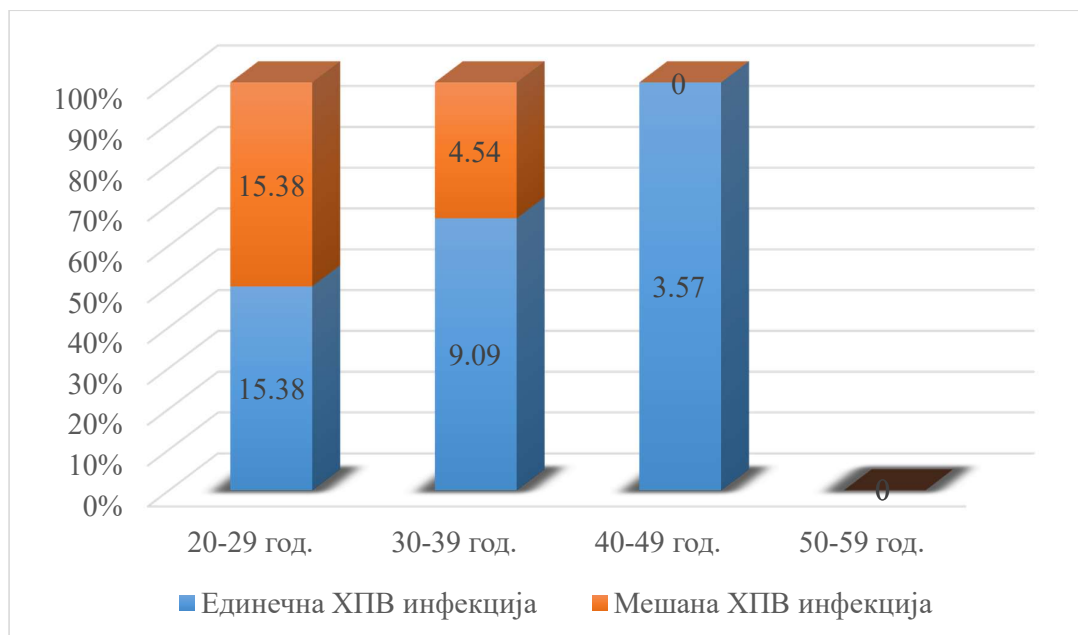
Анализата на податоците покажа дека мешаните ХПВ-инфекции се најфреквентни кај пациентките под 30-годишна возраст (15,38%; 2/13) (Табела 36 и Графикон 12).

Табела 36. Дистрибуција на единечни и мешани ХПВ-ДНК инфекции според возрастни групи кај 8 ХПВ-ДНК позитивни пациентки

ХПВ-ДНК инфекција	Возрасна група							
	20-29		30-39		40-49		50-59	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
Единечна ХПВ- ДНК инфекција	2	(15,38)	2	(9,09)	1	(3,57)	0	(0)
Мешана ХПВ- ДНК инфекција	2	(15,38)	1	(4,55)	0	(0)	0	(0)
Вкупно	4	(50,00)	3	(37,50)	1	(12,50)	0	(0)

Легенда: ХПВ, хуман папилома вирус, ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина

Графикон 12. Фреквенција на единечни и мешани ХПВ-ДНК инфекции според возрастни групи кај 8 ХПВ-ДНК позитивни пациентки



Со ХПВ-ДНК типизацијата беа типизирани вкупно 9 ХПВ-ДНК генотипа, од кои 7 високоризични (ХПВ ДНК -16, -18, -35, -39, -52, -58 и -68) и 2 нискоризични (-6 и -42). Преваленцијата на 9-те ХПВ-ДНК генотипа кај единечните и мешаните ХПВ-ДНК инфекции во однос на цитолошката дијагноза е прикажана во Табела 37.

Табела 37. Преваленца на ХПВ-ДНК генотиповите во однос на цитолошката дијагноза

ХПВ-ДНК генотип	Тип на инфекција	Контролна група Цитолошка дијагноза Нормален наод ХПВ-ДНК позитивни (n=8)	
		Број	(%)
16	Единечна	2	(25,00)
	Мешана	1	(12,50)
18	Единечна	0	(0)
	Мешана	1	(12,50)
35	Единечна	0	(0)
	Мешана	1	(12,50)
39	Единечна	1	(12,50)
	Мешана	0	(0)
52	Единечна	0	(0)
	Мешана	1	(12,50)
58	Единечна	2	(25,00)
	Мешана	0	(0)
68	Единечна	0	(0)
	Мешана	1	(12,50)
6	Единечна	0	(0)
	Мешана	1	(12,50)
42	Единечна	0	(0)
	Мешана	1	(12,50)

Легенда: ХПВ, хуман папилома вирус; ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина

Меѓу високоризичните ХПВ-ДНК генотипови, ХПВ-16 беше најчест (37,50%; 3/8), а потоа, по опаѓачки редослед, следуваа: ХПВ-58 (25,00%; 2/8), ХПВ-18, -35, -39, -52 и -68 (со по 12,50%; 1/8). Меѓу нискоризичните ХПВ-ДНК генотипови беа ХПВ-6 и ХПВ-42 (со по 12,50%; 1/8).

7.4. ХПВ Е6/Е7 иРНК-ТЕСТИРАЊЕ

7.4.1. ИСПИТУВАНА ГРУПА

Дистрибуцијата на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата кај 128 пациентки од испитуваната група во однос на цитопатолошката дијагноза е прикажана во Табела 38.

Табела 38. Експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 во однос на цитопатолошката анализа

Вирусни онкопротеини Е6 и Е7	Испитувана група Цитопатолошка дијагноза							
	ASC-US (n=13)	ASC-H (n=7)	LSIL (n=31)		HSIL (n=56)		Инвазивен сквамозен карцином (n=21)	Вкупно (n=128)
			CIN1 (n=31)	CIN2 (n=20)	CIN3 (n=21)	In situ сквамозен карцином (n=15)		
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Присуство	1 (7,69)	3 (42,86)	9 (29,03)	12 (60,00)	19 (90,48)	14 (93,99)	20 (95,24)	78 (60,94)
Отсуство	12 (92,31)	4 (57,14)	22 (70,97)	8 (40,00)	2 (9,52)	1 (6,67)	1 (4,76)	50 (39,06)

Легенда: n, број; ASC-US, атипични сквамозни клетки со недетерминирано значење; ASC-H, атипични сквамозни клетки кои не исклучуваат сквамозна интраепителна лезија од висок степен; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен; CIN, цервикална интраепителна неоплазма

Анализата на податоците покажа пораст на присуството на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата паралелно со зголемување на цитопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката; од 7,69% (1/13) кај ASCUS, 42,86% (3/7) кај ASC-H, 29,03% (9/31) кај LSIL, 80,36% (45/56) кај HSIL до 95,24% (20/21) кај сквамозниот инвазивен карцином (хи-квадрат тест=48,953, $p < 0,00001$, $p < 0,05$).

Дистрибуцијата на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата кај 128 пациентки од испитуваната група во однос на хистопатолошката дијагноза е прикажана во Табела 39.

Табела 39. Експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 во однос на хистопатолошката дијагноза

Вирусни онкопротеини Е6 и Е7	Испитувана група Хистопатолошка дијагноза								
	Нормален наод (n=9)	LSIL (n=41)			HSIL (n=54)			Инвазивен сквамозен карцином (n=24)	Вкупно (n=128)
		Хроничен вирусен цервицитис (n=20)	Плоснаг кондиллом (n=2)	Лесна дисплазија (n=19)	Умерена дисплазија (n=15)	Тешка дисплазија (n=23)	In situ сквамозен карцином (n=16)		
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Присуство	1(11,11)	1(5,00)	0(0)	3(15,79)	14(93,33)	21(91,30)	15(93,75)	23(95,83)	78(60,94)
Отсуство	8(88,89)	19(95,00)	2(100)	16(84,21)	1(6,67)	2(8,7)	1(6,25)	1(4,17)	50(39,06)

Легенда: n, број; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата беше детектирана кај 60,94% (78/128) од испитуваните пациентки. Анализата на податоците покажа пораст на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата, паралелно со зголемувањето на хистопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката. Најнизок процент имаше кај LSIL 9,76% (4/41), со зголемување на 92,59% (50/54) кај HSIL и 95,83% (23/24) кај инвазивниот сквамозен карцином (хи-квадрат тест=82,7796, $p<0,00001$, $p<0,05$).

Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу присуството на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 и појавата на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката (хи квадрат тест=10,0967, $p=0,001485$, $p<0,05$).

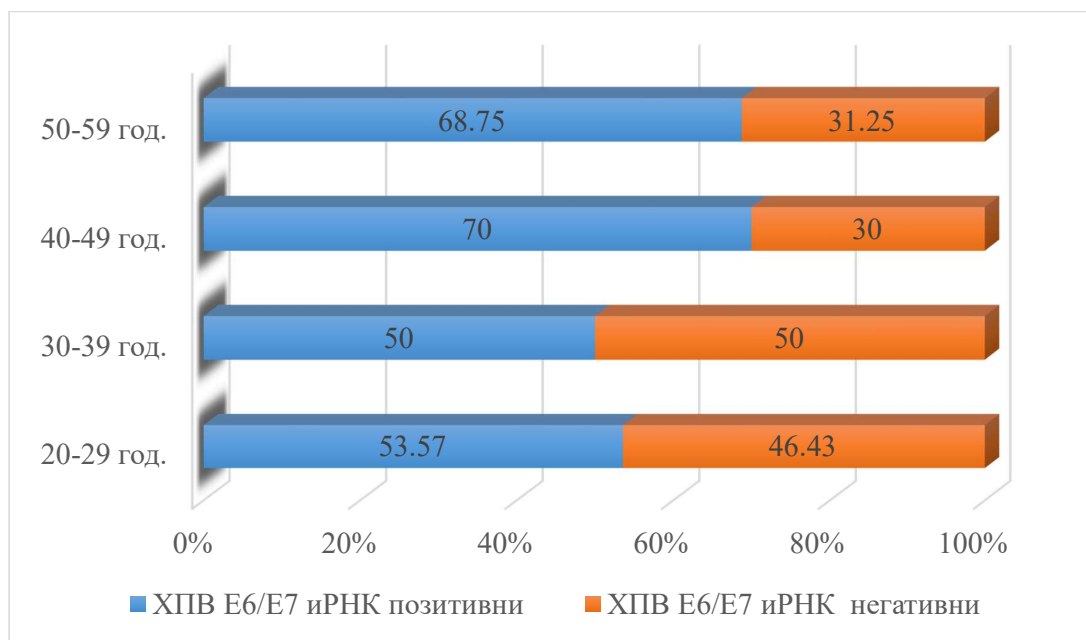
Инциденцата на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата изнесуваше: 53,57% (15/28) кај пациентки на возраст од 20 до 29 години; 50,00% (19/38) од 30 до 39 години; 70,00% (21/30) од 40 до 49 години; 68,75% (22/32) кај пациентки на возраст од 50 до 59 години (Табела 40 и Графикон 13).

Слика 40. Дистрибуција на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата според возрастни групи кај 128 пациентки

ХПВ Е6/Е7 иРНК- инфекција	Возрасна група							
	20-29		30-39		40-49		50-59	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
ХПВ Е6/Е7 иРНК позитивни	15	(53,57)	19	(50,00)	21	(70,00)	22	(68,75)
ХПВ Е6/Е7 иРНК негативни	13	(46,43)	19	(50,00)	9	(30,00)	10	(31,25)
Вкупно	28	(21,87)	38	(29,69)	30	(23,44)	32	(25,00)

Легенда: ХПВ, хуман папилома вирус; иРНК, информативна рибонуклеинска киселина

Графикон 13. Фреквенција на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата според возрастни групи кај 128 пациентки



Единечна ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција беше детектирана кај 44,53% (57/128) од сите пациентки (односно кај 73,08% од ХПВ Е6/Е7 иРНК-позитивните пациентки).

Мешана ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција беше детектирана кај 16,41% (21/128) од сите пациентки (односно кај 26,92% од ХПВ Е6/Е7 иРНК-позитивните пациентки) (Табела 41).

Табела 41. Дистрибуција на единечни и мешани ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекции во однос на хистопатолошката дијагноза кај 78 пациентки

Тип на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција	Испитувана група Хистопатолошка дијагноза								
	Нормален наод (n=1)	LSIL (n=4)			HSIL (n=49)			Инвазивен сквамозен карцином (n=23)	Вкупно (n=78)
		Хроничен вирусен цервицитис (n=1)	Плоснаг кондилом (n=0)	Лесна дисплазија (n=3)	Умерена дисплазија (n=14)	Тешка дисплазија (n=21)	In situ сквамозен карцином (n=15)		
n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Единечна	1(100)	1(100)	0(0)	1(33,33)	10(71,43)	17(80,95)	11(73,33)	16(69,57)	57(73,08)
Мешана	0(0)	0(0)	0(0)	2(66,67)	4(28,57)	4(19,05)	4(26,67)	7(30,43)	21(26,92)

Легенда: n, број; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Со ХПВ Е6/Е7 иРНК-типизацијата беа типизирани 5 високоризични ХПВ-генотипа (ХПВ -16, -18, -31, -33 и -45). Преваленцијата на 5-те ХПВ Е6/Е7 иРНК-генотипа кај единечните и мешаните ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекции во однос на хистопатолошката дијагноза е прикажана во Табела 42.

Табела 42 Преваленца на Е6/Е7 иРНК од ХПВ-генотиповите:-16,-18,-31,-33,-45 во однос на хистопатолошката дијагноза

ХПВ РНК-генотип	Тип на инфекција	Испитувана група Хистопатолошка дијагноза								
		Нормален наод (n=1)	LSIL (n=4)			HSIL (n=49)			Инвазивен сквамозен карцином (n=23)	Вкупно (n=78)
			Хроничен вирусен цервицитис (n=1)	Плоснат кондилом (n=0)	Лесна дисплазија (n=3)	Умерена дисплазија (n=14)	Тешка дисплазија (n=21)	In situ сквамозен карцином (n=15)		
n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		
16 Единечна Мешана	1(100)	1(100)	0(0)	1(33,33)	4(28,57)	11(52,38)	5(33,33)	6(26,09)	29(37,18)	
	0(0)	0(0)	0(0)	1(33,33)	4(28,57)	3(14,28)	4(26,67)	4(17,39)	16(20,51)	
18 Единечна Мешана	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(4,76)	0(0)	4(17,39)	5(6,41)	
	0(0)	0(0)	0(0)	1(33,33)	3(21,43)	3(14,28)	2(13,33)	4(17,39)	13(16,67)	
31 Единечна Мешана	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(14,28)	3(14,28)	3(20,03)	1(4,35)	9(11,54)	
	0(0)	0(0)	0(0)	1(33,33)	0(0)	1(4,76)	2(13,33)	2(8,69)	6(7,69)	
33 Единечна Мешана	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(7,14)	1(4,76)	1(6,67)	0(0)	3(3,85)	
	0(0)	0(0)	0(0)	1(33,33)	1(7,14)	1(4,76)	0(0)	2(8,69)	5(6,41)	
45 Единечна Мешана	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(21,4)	1(4,76)	2(13,33)	5(21,74)	11(14,10)	
	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(8,69)	2(2,56)	

Легенда: n, број; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Меѓу високоризичните ХПВ Е6/Е7 иРНК-генотипови, ХПВ-16 беше најчест (57,69%; 45/78), а потоа, по опаѓачки редослед, следуваа: ХПВ-18 (23,08%; 18/78), ХПВ-31 (19,23%; 15/78), ХПВ-45 (16,66%; 13/78) и ХПВ-33 (10,26%; 8/78).

7.4.2. КОНТРОЛНА ГРУПА

Дистрибуцијата на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата кај 64 пациентки од контролната група со нормален цитолошки наод (ПАП-тест) на грлото на матката е прикажана во Табела 43.

Табела 43. Еспресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 во однос на цитолошката дијагноза

Вирусни онкопротеини Е6 и Е7	Контролна група Цитолошка дијагноза Нормален наод (n=64)	
	Број	(%)
Присуство	2	(3,12)
Отсуство	62	(96,88)

ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата беше детектирана кај две (3,12%) пациентки од контролната група. Едната на возраст од 25 години, а другата на возраст од 28 години. Едната, ХПВ-ДНК позитивна на ХПВ ДНК-тестирањето со типизиран ХПВ-16 генотип, а другата ХПВ-ДНК негативна. Кај двете пациентки со ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето беше детектиран и типизиран ХПВ-16 генотип.

Се регистрира статистички сигнификантна поврзаност помеѓу модалитетите ХПВ Е6/Е7 иРНК присуство и ХПВ Е6/Е7 иРНК отсуство помеѓу испитуваната и контролната група (хи-квадрат тест=58,6714, $p < 0,00001$, $p < 0,05$).

Според t-тестот процентуалната разлика помеѓу модалитетите ХПВ Е6/Е7 иРНК присуство и ХПВ Е6/Е7 иРНК отсуство помеѓу испитуваната и контролната група е статистички несигнификантна за $p > 0,05$ ($p = 0,4721$, $t = 0,8791$, 95%CI: -211,8535-139,9735).

7.5 СПОРЕДБА ПОМЕЃУ ХПВ-ДНК И ХПВ Е6/Е7 ИРНК-ТЕСТИРАЊАТА ВО ОДНОС НА ХИСТОПАТОЛОШКАТА ДИЈАГНОЗА

Табела 44. Споредба помеѓу ХПВ-ДНК тестирањето и ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето во однос на хистопатолошката дијагноза

Хистопатолошка дијагноза		ХПВ ДНК-тестирање				ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирање				совпаѓање (concordance)		p	Cohen kappa (k)	95% CI
		ХПВ ДНК позитивни		ХПВ ДНК негативни		ХПВ Е6/Е7 иРНК позитивни		ХПВ Е6/Е7 иРНК негативни		n	(%)			
		n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)					
Нормален наод (n=9)		4	(44,44)	5	(55,56)	1	(11,11)	8	(88,89)	1	(11,11)	0,444	0,270	-0,191 – 0,731
LSIL (n=41)	Хроничен вирусен цервицитис (n=20)	13	(65,00)	7	(35,00)	1	(5,00)	19	(95,00)	1	(5,00)	1,000	0,055	-0,056 – 0,166
	Плоснат кондилом (n=2)	2	(100)	0	(0)	0	(0)	2	(100)	0	(0)	0,333	0,000	0,000 – 0,000
	Лесна дисплазија (n=19)	11	(57,89)	8	(42,11)	3	(15,79)	16	(84,21)	3	(15,79)	0,228	0,240	-0,020 – 0,500
HSIL (n=54)	Умерена дисплазија (n=15)	12	(80,00)	3	(20,00)	14	(93,33)	1	(6,67)	12	(80,00)	0,200	0,444	-0,152 – 1,000
	Тешка дисплазија n=(23)	19	(82,61)	4	(17,39)	21	(91,30)	2	(8,7)	19	(82,61)	0,0237	0,623	0,160 – 1,000
	In situ сквамозен карцином (n=16)	14	(87,50)	2	(12,50)	15	(93,75)	1	(6,25)	14	(87,50)	0,125	0,623	-0,006 – 1,000
Инвазивен сквамозен карцином (n=24)		21	(87,50)	3	(12,50)	23	(95,83)	1	(4,17)	21	(87,50)	0,125	0,467	-0,132 – 1,000
Вкупно (n=128)		96	(75,00)	32	(25,00)	78	(60,94)	50	(39,06)	71	(55,47)	<0,001	0,439	0,282 – 0,596

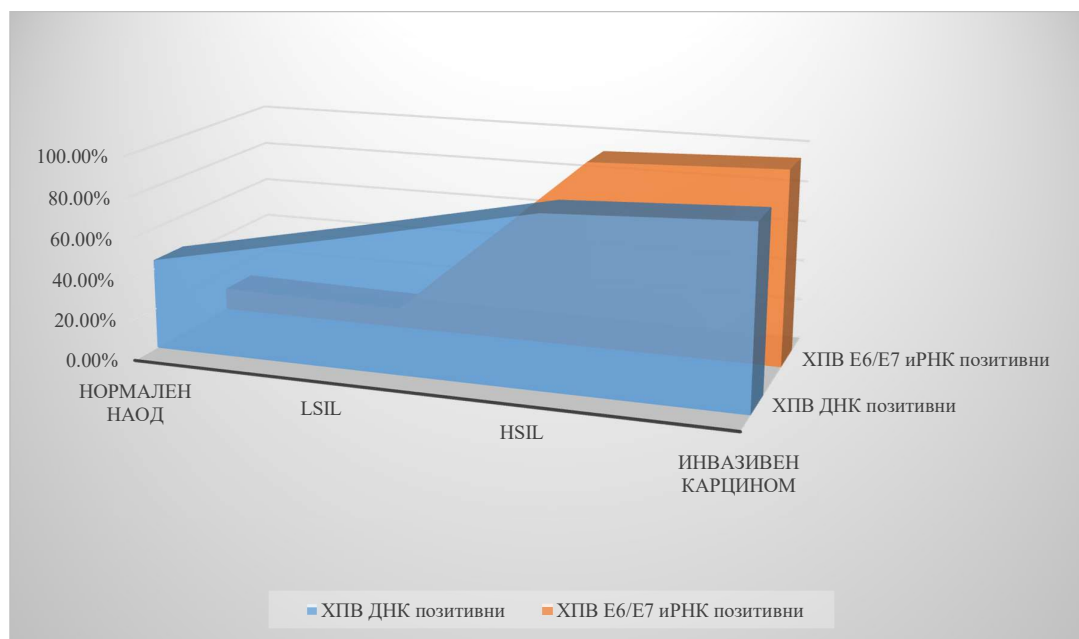
Легенда: n, број; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен; CI, интервал на доверба

Седум ХПВ-ДНК негативни пациентки, на ХПВ Е6/Е7 иРНК тестирањето беа позитивни, додека пак 25 ХПВ-ДНК позитивни пациентки, беа ХПВ Е6/Е7 иРНК негативни. Од вкупно 128 пациентки во испитуваната група 71 (55,47%) беа ХПВ позитивни на двете тестирања.

Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу резултатите од ХПВ-ДНК тестирањето и ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето (хи-квадрат тест=27,3504, $p < 0,0001$, $p < 0,05$). Конкордантноста помеѓу резултатите од двете тестирања беше умерена (55,47%; kappa=0,439; 95%CI: 0,282-0,596).

ХПВ-ДНК тестирањето во однос на ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето, беше супериорно во детекција на сквамозните интраепителни лезии од низок степен (63,41%; 26/41 наспроти 9,76%; 4/41), додека пак ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето беше супериорно во детекција на сквамозните интраепителни лезии од висок степен (92,60%; 50/54 наспроти 83,33%; 45/54) и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката (95,83%; 23/24 наспроти 87,50%; 21/24) (Графикон 14).

Графикон 14. Споредба помеѓу ХПВ ДНК тестирањето и ХПВ Е6/Е7 иРНК тестирањето во однос на хистопатолошката дијагноза



Легенда: n, број; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Анализата на податоците од двете тестирања покажа: добра конкордантност помеѓу резултатите од пациентките со тешка дисплазија (82,61%; κ ра=0,623) и in situ сквамозен карцином на грлото на матката (87,50%; 0,636), умерена конкордантност помеѓу оние со умерена дисплазија (80,00%; κ ра=0,444) и инвазивен сквамозен карцином на грлото на матката (87,50%; κ ра=0,467), доволна конкордантност помеѓу оние со лесна дисплазија (15,79%; κ ра=0,240) и нормален хистопатолошки наод на грлото на матката (11,11%; κ ра=0,270) и лоша конкордантност помеѓу резултатите од пациентките со хроничен вирусен цервицит (5,00%; κ ра=0,055) и плоснат кондилом (0%; κ ра=0,000).

Табела 45. Сензитивност и специфичност на ХПВ-ДНК и ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањата во однос на хистопатолошката дијагноза

Тестирање	Сензитивност			Специфичност		
	Процентна вредност	95%CI	(%)	Процентна вредност	95%CI	(%)
ХПВ-ДНК	0,7731	0,6854-0,8427	77,31	0,5555	0,2265-0,8466	55,56
ХПВ Е6/Е7 иРНК	0,6471	0,5535-0,7309	64,71	0,8888	0,5067-0,9942	88,89

Легенда: ХПВ, хуман папилома вирус; ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина; иРНК, информативна рибонуклеинска киселина; CI, интервал на доверба

Табела 46. Позитивна предиктивна вредност на ХПВ-ДНК и ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањата во однос на хистопатолошката дијагноза

Хистопатолошка дијагноза	Позитивна предиктивна вредност (%)	
	ХПВ-ДНК тестирање	ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирање
LSIL	63,41	9,76
HSIL	83,33	92,59
Инвазивен сквамозен карцином	87,50	95,83

Легенда: ХПВ, хуман папилома вирус; ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина; иРНК, информативна рибонуклеинска киселина; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Точноста на ХПВ-ДНК тестирањето беше 75,78%, додека точноста на ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето беше 66,41%. ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето имаше поголема специфичност (88,89% наспроти 55,56%) (Табела 45) и поголема позитивна предиктивна вредност кај HSIL+сквамозен инвазивен карцином (93,59% наспроти 84,61%) (Табела 46) од ХПВ-ДНК тестирањето.

Табела 47. Дистрибуција на ХПВ-генотиповите детектирани со ХПВ-ДНК и ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањата кај 128 пациентки

ХПВ гено- тип	ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирање				ХПВ-ДНК тестирање				Детектиран генотип со двете тестирања	р	Cohen капа (к)	95%CI	
	Присуство		Отсуство		Присуство		Отсуство						
	п	(%)	п	(%)	п	(%)	п	(%)					
16	45	(35,16)	83	(64,84)	42	(32,81)	86	(67,19)	40	(31,25)	<0,0001	0,878	0,791- 0,966
18	18	(14,06)	110	(85,94)	10	(7,81)	118	(92,19)	9	(7,03)	<0,0001	0,603	0,384- 0,822
31	15	(11,72)	113	(88,28)	15	(11,72)	113	(88,28)	14	(10,94)	<0,0001	0,924	0,821- 1,000
33	8	(6,25)	120	(93,75)	7	(5,47)	121	(94,53)	6	(4,69)	<0,0001	0,788	0,555- 1,000
45	13	(10,16)	115	(89,84)	9	(7,03)	119	(92,97)	9	(7,03)	<0,0001	0,802	0,614- 0,989
16/18	13	(10,16)	115	(89,84)	7	(5,47)	121	(94,53)	7	(5,47)	<0,0001	0,677	0,438- 0,916

Легенда: ХПВ, хуман папилома вирус; ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина; иРНК, информативна рибонуклеинска киселина; CI, интервал на доверба

Анализата на податоците од двете тестирања покажа: многу добра конкордантност помеѓу резултатите од пациентките со ХПВ-16 и ХПВ-31, добра конкордантност помеѓу оние со ХПВ-33, ХПВ-45 и ХПВ-16/18 и умерена конкордантност помеѓу резултатите од пациентките со ХПВ-18 (Табела 47).

7.6. НУЏЕНТОВ СКОР СИСТЕМ

7.6.1. ИСПИТУВАНА ГРУПА

Табела 48. Дистрибуција на бактериската вагиноза во однос на цитопатолошката дијагноза

Бактериска вагиноза	Испитувана група Цитопатолошка дијагноза							
	ASC-US (n=13)	ASC-H (n=7)	LSIL (n=31)	HSIL (n=56)			Инвазивен сквамозен карцином (n=21)	Вкупно (n=128)
			CIN1 (n=31)	CIN2 (n=20)	CIN3 (n=21)	In situ сквамозен карцином (n=15)		
n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Присуство	1 (7,69)	4 (57,14)	12 (38,71)	7 (35,00)	11 (52,38)	7 (46,67)	14 (66,67)	56 (43,75)
Отсуство	12 (92,31)	3 (42,86)	19 (61,29)	13 (65,00)	10 (47,62)	8 (53,33)	7 (33,33)	72 (56,25)

Легенда: n, број; CIN, цервикална интраепителна неоплазма; ASC-US, атипични сквамозни клетки со недетерминирано значење; ASC-H, атипични сквамозни клетки кои не исклучуваат сквамозна интраепителна лезија од висок степен; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Од вкупно 128 пациентки, бактериската вагиноза беше најдена кај 56 (43,75%) пациентки.

Анализата на податоците покажа пораст на присуството на бактериската вагиноза паралелно со зголемување на цитопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката; од 7,69% (1/13) кај ASCUS, 38,71% (12/31) кај LSIL, 46,03% (29/63) кај HSIL до 66,67% (14/21) кај сквамозниот инвазивен карцином (хи-квадрат тест=12,198, $p=0,015938$, $p<0,05$).

Дистрибуцијата на бактериската вагиноза во однос на хистопатолошката дијагноза кај 128 пациентки од испитуваната група е прикажана во Табела 49.

Табела 49. Дистрибуција на бактериската вагиноза во однос на хистопатолошката дијагноза

Бактериска вагиноза	Испитувана група Хистопатолошка дијагноза								
	Нормален наод (n=9)	LSIL (n=41)			HSIL (n=54)			Инвазивен сквамозен карцином (n=24)	Вкупно (n=128)
		Хроничен вирусен цервицитис (n=20)	Плоснаг кондилом (n=2)	Лесна дисплазија (n=19)	Умерена дисплазија (n=15)	Тешка дисплазија (n=23)	In situ сквамозен карцином (n=16)		
n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Присуство	1(11,11)	5(25,00)	1(50,00)	7(36,84)	7(46,67)	11(47,23)	9(56,25)	15(62,50)	56(43,75)
Отсуство	8(88,89)	15(75,00)	1(50,00)	12(63,16)	8(53,33)	12(52,77)	7(43,75)	9(37,50)	72(56,25)

Легенда: n, број; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

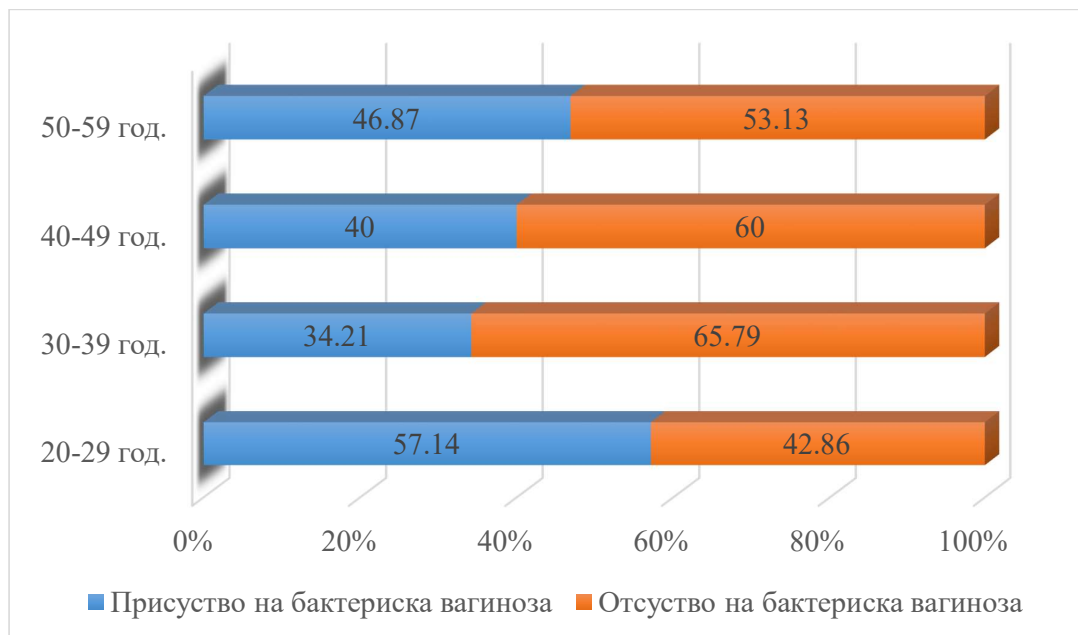
Анализата на податоците покажа пораст на бактериската вагиноза, паралелно со зголемувањето на хистопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката. Најнизок процент имаше кај LSIL 31,71% (13/41), со зголемување на 50,00% (27/54) кај HSIL и 62,50% (15/24) кај инвазивниот сквамозен карцином (хи-квадрат тест=6,3434, $p=0,041932$, $p<0,05$).

Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу присуството на бактериската вагиноза и појавата на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката (хи квадрат тест=4,1906, $p=0,040649$, $p<0,05$).

Табела 50. Дистрибуција на бактериската вагиноза според возрастни групи кај 128 пациентки

Бактериска вагиноза	Возрасна група							
	20-29		30-39		40-49		50-59	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
Присуство	16	(57,14)	13	(34,21)	12	(40,00)	15	(46,87)
Отсуство	12	(42,86)	25	(65,79)	18	(60,00)	17	(53,13)
Вкупно	28	(21,87)	38	(29,69)	30	(23,44)	32	(25,00)

Графикон 15. Фреквенција на бактериската вагиноза според возрастни групи кај 128 пациентки



Анализата на податоците покажа дека бактериската вагиноза е најфреквентна кај пациентките под 30-годишна возраст (57,14%; 16/28) (Табела 50 и Графикон 15).

Асоцијацијата помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ ДНК инфекцијата е прикажана во Табела 51.

Од вкупно 128 пациентки, кај 50 (39,06%) пациентки беше истовремено најдено присуство на бактериска вагиноза и ХПВ-ДНК инфекција. Од вкупно 96 ХПВ-ДНК позитивни пациентки, бактериската вагиноза беше присутна кај 50 (52,08%) пациентки, а отсуство на бактериска вагиноза беше нотирано кај 46 (47,92%) од ХПВ-ДНК позитивните пациентки.

Анализата на податоците покажа дека постои асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и ДНК-ХПВ инфекцијата (хи-квадрат тест=10,836, $p=0,000995$, $p<0,05$).

Табела 51. Асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ-ДНК инфекцијата

ХПВ-ДНК инфекција	Испитувана група				Вкупно	
	Бактериска вагиноза					
	Присуство		Отсуство		n	(%)
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Присуство	50	(52,08)	6	(18,75)	56	(43,75)
Отсуство	46	(47,92)	26	(81,25)	72	(56,25)
Вкупно	96	(100)	32	(100)	128	(100)

Легенда: n, број; ХПВ, хуман папилома вирус; ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина

Преваленцата на 15-те ХПВ-ДНК генотипа кај единечните и мешаните ХПВ-ДНК инфекции кај 50 пациентки со бактериска вагиноза е прикажана во Табела 52.

Табела 52. Преваленца на ХПВ-ДНК генотиповите кај 50 пациентки со бактериска вагиноза

ХПВ-ДНК генотип	Тип на инфекција	Испитувана група		Вкупно	
		Бактериска вагиноза (n=50)		n	(%)
		n	(%)	n	(%)
16	Единечна	17	(34,00)	28	(56,00)
	Мешана	11	(22,00)		
18	Единечна	2	(4,00)	8	(16,00)
	Мешана	6	(12,00)		
31	Единечна	4	(8,00)	10	(20,00)
	Мешана	6	(12,00)		
33	Единечна	0	(0)	4	(8,00)
	Мешана	4	(8,00)		
35	Единечна	0	(0)	2	(4,00)
	Мешана	2	(4,00)		
42	Единечна	1	(2,00)	2	(4,00)
	Мешана	1	(2,00)		
45	Единечна	2	(4,00)	4	(8,00)
	Мешана	2	(4,00)		
52	Единечна	1	(2,00)	2	(4,00)
	Мешана	1	(2,00)		
53	Единечна	0	(0)	1	(2,00)
	Мешана	1	(2,00)		
56	Единечна	1	(2,00)	1	(2,00)
	Мешана	1	(2,00)		
58	Единечна	0	(0)	1	(2,00)
	Мешана	1	(2,00)		
68	Единечна	0	(0)	1	(2,00)
	Мешана	1	(2,00)		
6	Единечна	0	(0)	5	(10,00)
	Мешана	5	(10,00)		
11	Единечна	0	(0)	2	(4,00)
	Мешана	2	(4,00)		
61	Единечна	0	(0)	2	(4,00)
	Мешана	2	(4,00)		

Легенда: ХПВ, хуман папилома вирус; ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина

Меѓу високо-ризичните ХПВ-ДНК генотипови, ХПВ-16 беше најчест (56,00%; 28/50), а потоа, по опаѓачки редослед, следуваа: ХПВ-31 (20,00%; 10/50), ХПВ-18 (16,00%; 8/50), ХПВ-33 и -45 (со по 8,00%; 4/50), ХПВ-35, -42 и -52 (со по 4,00%; 2/50) итн. Меѓу нискоризичните ХПВ-ДНК генотипови, најчест беше ХПВ-6 (10,00%; 5/50), а потоа ХПВ-11 и ХПВ-61 (со по 4,00%; 2/50).

Бактериската вагиноза беше детектирана кај 28 (56,00%) пациентки со единечна ХПВ-ДНК инфекција и кај 22 (44,00%) пациентки со мешана ХПВ-ДНК инфекција.

Асоцијацијата помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата кај 128 пациентки од испитуваната група е прикажана во Табела 53.

Табела 53. Асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и вирусните онкопротеини Е6 и Е7

Вирусни онкопротеини Е6 и Е7	Испитувана група				Вкупно	
	Бактериска вагиноза					
	Присуство		Отсуство		n	(%)
n	(%)	n	(%)			
Присуство	44	(56,41)	12	(24,00)	56	(43,75)
Отсуство	34	(43,59)	38	(76,00)	72	(56,25)
Вкупно	78	(100)	50	(100)	128	(100)

Од вкупно 128 пациентки, кај 44 (34,37%) пациентки беше истовремено најдено присуство на бактериска вагиноза и ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција. Од вкупно 78 ХПВ Е6/Е7 иРНК позитивни пациентки, бактериската вагиноза беше присутна кај 44 (56,41%) пациентки, а отсуство на бактериска вагиноза беше нотирана кај 34 (43,59%) од ХПВ Е6/Е7 иРНК позитивните пациентки.

Анализата на податоците покажа дека постои асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 (хи-квадрат тест=13,0053, $p=0,000311$, $p<0,05$).

Преваленцијата на 5-те високо-ризични ХПВ Е6/Е7 иРНК-генотипа кај 44 пациентки со бактериска вагиноза е прикажана во Табела 54.

Табела 54. Преваленца на Е6/Е7 иРНК од ХПВ генотиповите 16,18, 31, 33 и 45 кај 44 пациентки со бактериска вагиноза

ХПВ-ДНК генотип	Тип на инфекција	Испитувана група Бактериска вагиноза (n=50)		Вкупно	
		n	(%)	n	(%)
16	Единечна	18	(40,91)	28	(63,64)
	Мешана	10	(22,73)		
18	Единечна	2	(4,55)	11	(25,00)
	Мешана	9	(20,45)		
31	Единечна	5	(11,36)	10	(22,72)
	Мешана	5	(11,36)		
33	Единечна	1	(2,27)	5	(11,36)
	Мешана	4	(9,09)		
45	Единечна	4	(9,09)	6	(13,64)
	Мешана	2	(4,55)		

Легенда: ХПВ, хуман папилома вирус; ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина; n, број

Меѓу високоризичните ХПВ Е6/Е7 иРНК-генотипови, ХПВ-16 беше најчест (63,64%; 28/44), а потоа, по опаѓачки редослед, следуваа: ХПВ-18 (25,00%; 11/44), ХПВ-31 (22,72%; 10/44), ХПВ-45 (13,64%; 6/44) и ХПВ-33 (11,36%; 5/44).

Бактериската вагиноза беше детектирана кај 30 (68,18%) пациентки со единечна ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција и кај 14 (31,82%) пациентки со мешана ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција.

Табела 55. Дијагноза на бактериската вагиноза со Нуцентов скор

Нуцентов скор Бодови	Број	(%)
0 - 3	53	(41,41)
4 - 6	19	(14,84)
7 - 10	56	(43,75)
Вкупно	128	(100)

Интерпретацијата на Нуцентовиот скор покажа дека од вкупно 128 пациентки во испитуваната група, 53 (41,41%) пациентки беа со нормална вагинална флора, 19 (14,84%) со редукција на нормалната вагинална флора и 56 (43,75%) пациентки со присутна бактериска вагиноза (Табела 55).

Дистрибуцијата на најчестите бактериските морфотипови кај 128 пациентки од испитуваната група е прикажана во Табела 56.

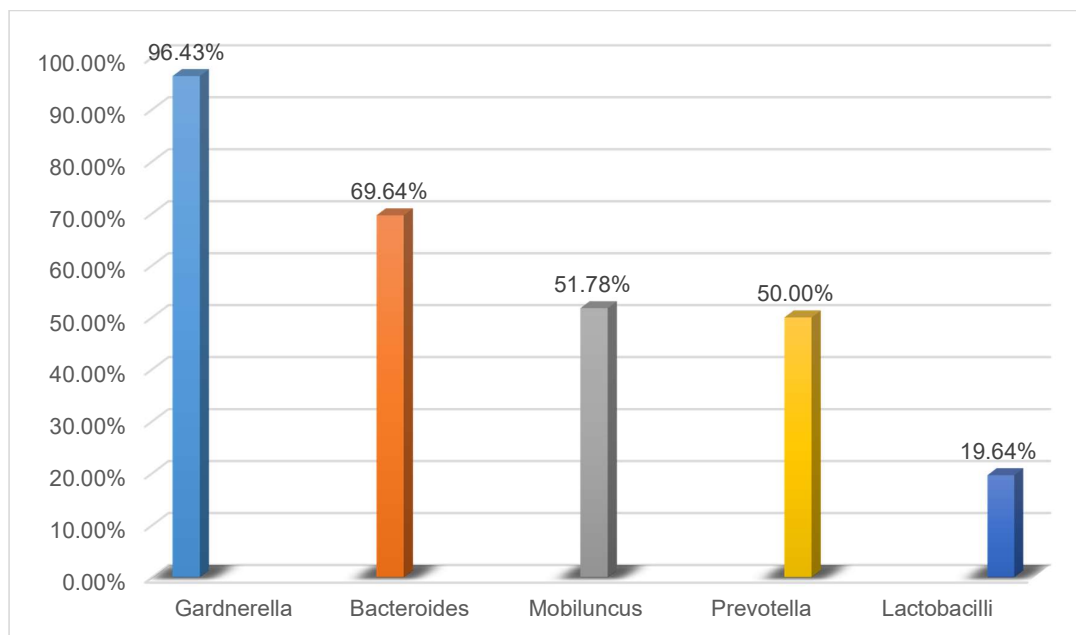
Табела 56. Дистрибуција на бактериските морфотипови кај 128 пациентки

Бактериски морфотип	Со бактериска вагиноза (n=56)		Без бактериска вагиноза (n=72)	
	n	(%)	n	(%)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	54	(96,43)	18	(25,00)
<i>Bacteroides species</i>	39	(69,64)	15	(20,83)
<i>Mobiluncus species</i>	29	(51,78)	8	(11,11)
<i>Prevotella species</i>	28	(50,00)	7	(9,72)
<i>Lactobacillus species</i>	11	(19,64)	60	(83,33)

Легенда: n, број

Gardnerella vaginalis беше најфреквентен бактериски морфотип кај пациентките со присутна бактериска вагиноза (54/56), а *Lactobacillus species* кај пациентките со отсутна бактериска вагиноза (60/7) (Табела 56).

Графикон 16. Фреквенција на бактериските морфотипови кај 56 жени со бактериска вагиноза



Најчест бактериски морфотип на бактериската вагиноза беше *Gardnerella vaginalis* (96,43%; 54/56), а потоа, по опаѓачки редослед, следуваа: *Bacteroides species* (69,64%; 39/56), *Mobiluncus species* (51,78%; 29/56), *Prevotella species* (50,00; 28/56) и *Lactobacillus species* (19,64%; 11/56) (Графикон 16).

7.6.2. КОНТРОЛНА ГРУПА

Дистрибуцијата на бактериската вагиноза кај 64 пациентки со нормален цервикален цитолошки наод (ПАП-тест) е прикажана во Табела 57.

Табела 57. Дистрибуција на бактериската вагиноза кај 64 пациентки со нормален цитолошки наод

Бактериска вагиноза	Контролна група Цитолошка дијагноза Нормален наод (n=64)	
	n	(%)
Присуство	8	(12,50)
Отсуство	56	(87,50)

Легенда: n, број

Бактериската вагиноза беше детектирана кај 8 (12,50%) пациентки.

Се регистрира статистички сигнификантна поврзаност помеѓу модалитетите присуство на бактериска вагиниза и отсуство на бактериска вагиноза помеѓу испитуваната и контролната група (хи-квадрат тест=18,75, $p < 0,000015$, $p < 0,05$).

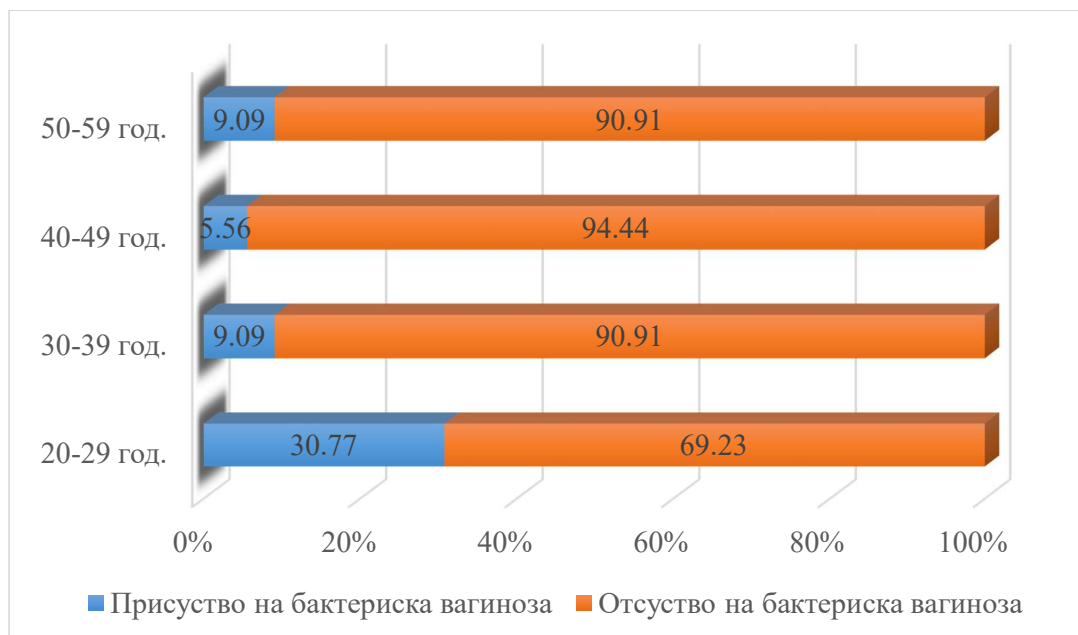
Според t-тестот процентуалната разлика помеѓу модалитетите присуство на бактериска вагиноза и отсуство на бактериска вагиноза помеѓу испитуваната и контролната група е статистички несигнификантна за $p > 0,05$ ($p = 0,1863$, $t = 1,9799$, 95%CI=-138,8260-54,3260).

Анализата на податоците покажа дека бактериската вагиноза е најфреквентна кај пациентките под 30-годишна возраст (30,77%; 4/13) (Табела 58 и Графикон 17).

Табела 58. Дистрибуција на бактериската вагиноза според возрастни групи кај 64 пациентки

Бактериска вагиноза	Возрасна група							
	20-29		30-39		40-49		50-59	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
Присуство	4	(30,77)	2	(9,09)	1	(5,56)	1	(9,09)
Отсуство	9	(69,23)	20	(90,91)	17	(94,44)	10	(90,91)
Вкупно	13	(20,31)	22	(34,37)	18	(28,13)	11	(17,19)

Графикон 17. Фреквенција на бактериската вагиноза според возрасни групи кај 64 пациентки



Асоцијацијата помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ-ДНК инфекцијата е прикажана во Табела 59.

Од вкупно 64 пациентки, кај 4 (6,25%) пациентки беше истовремено најдено присуство на бактериска вагиноза и ХПВ-ДНК инфекција. Од вкупно 8 ХПВ-ДНК позитивни пациентки, бактериската вагиноза беше присутна кај 4 (50,00%) пациентки, а отсуство на бактериска вагиноза беше нотирана кај 4 (50,00%) од ХПВ-ДНК позитивните пациентки.

Анализата на податоците покажа дека постои асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и ДНК-ХПВ инфекцијата (хи-квадрат тест=11,7551, $p=0,000607$, $p<0,05$).

Табела 59. Асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ-ДНК инфекцијата

ХПВ-ДНК инфекција	Контролна група Бактериска вагиноза				Вкупно	
	Присуство		Отсуство		n	(%)
	n	(%)	n	(%)		
Присуство	4	(50,00)	4	(7,14)	8	(12,50)
Отсуство	4	(50,00)	52	(92,86)	56	(87,50)
Вкупно	8	(100)	56	(100)	64	(100)

Легенда: n, број; ХПВ, хуман папилома вирус; ДНК, дезоксирибонуклеинска киселина

Асоцијацијата помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата кај 64 пациентки од контролната група е прикажана во Табела 60.

Табела 60. Асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и вирусните онкопротеини Е6 и Е7

Вирусни онкопротеини Е6 и Е7	Контролна група Бактериска вагиноза				Вкупно	
	Присуство		Отсуство		n	(%)
	n	(%)	n	(%)		
Присуство	2	(25,00)	0	(0)	2	(3,13)
Отсуство	6	(75,00)	56	(100)	62	(96,87)
Вкупно	8	(100)	56	(100)	64	(100)

Легенда : n, број

Од вкупно 64 пациентки, кај 2 (3,12%) пациентки беше истовремено најдено присуство на бактериска вагиноза и ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција. Од вкупно 8 ХПВ Е6/Е7 иРНК позитивни пациентки, бактериската вагиноза беше присутна кај 2 (25,00%) пациентки, а отсуство на бактериска вагиноза беше нотирана кај 6 (75,00%) од ХПВ Е6/Е7 иРНК позитивните пациентки.

Од вкупно 64 пациенки во контролната група, 38 (59,38%) пациентки беа со нормална вагинална флора, 18 (28,12%) со редукција на нормалната вагинална флора и 8 (12,50%) пациентки со присутна бактериска вагиноза (Табела 61).

Табела 61. Дијагноза на бактериската вагиноза со Нуцентов скор

Нуцентов скор Бодови	Број	(%)
0 - 3	38	(59,38)
4 - 6	18	(28,12)
7 - 10	8	(12,50)
Вкупно	64	(100)

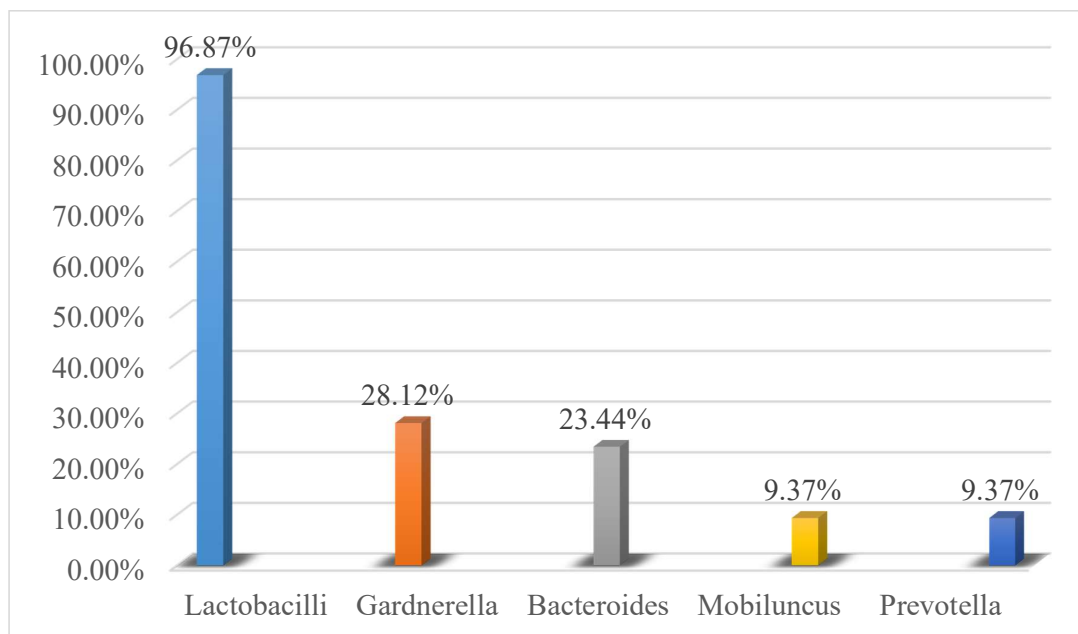
Најчест бактериски морфотип детектиран кај пациентките со нормален цервикален цитолошки наод беше *Lactobacillus species* (96,87%; 62/64), а потоа, по опаѓачки редослед, следуваа: *Gardnerella vaginalis* (28,12%; 18/64), *Bacteroides species* (23,44%; 15/64) и *Mobiluncus species* и *Prevotella species* (со по 9,37%; 6/64) (Табела 62 и Графикон 18).

Табела 62. Дистрибуција на бактериските морфотипови кај 64 пациентки со нормален цервикален цитолошки наод

Бактериски морфотип	Нормален цервикален цитолошки наод (n=64)	
	број	(%)
<i>Lactobacillus species</i>	62	(96,87)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	18	(28,12)
<i>Bacteroides species</i>	15	(23,44)
<i>Mobiluncus species</i>	6	(9,37)
<i>Prevotella species</i>	6	(9,37)

Легенда: n, број

Графикон 18. Фреквенција на бактериските морфотипови кај 64 пациентки со нормален цервикален цитолошки наод



7.7. АСОЦИЈАЦИЈА ПОМЕЃУ ДРУГИТЕ РИЗИК-ФАКТОРИ И СКВАМОЗНИТЕ КЛЕТОЧНИ АБНОРМАЛНОСТИ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА

Табела 63. Демографски и социо-економски ризик фактори

	ИГ (n=128)	КГ (n=64)	Вкупно (n=192)	Odds Ratio (OR)	95%CI- (Confidence Interval)	p
	Број (%)	Број (%)	Број (%)			
Возраст						
20-39	66 (51,56)	35 (54,69)	101 (52,60)	0,88	0,483-1,610	0,6801
40-59	62 (48,44)	29 (45,31)	91 (47,40)	1,00		
Образование						
основно	23 (17,97)	17 (26,56)	40 (20,83)	1,07	0,449-2,554	0,8769
средно	81 (63,28)	28 (43,75)	109(56,77)	2,29	1,093-4,797	0,0262
вишо/високо	24 (18,75)	19 (29,69)	43 (22,40)	1,00		
Брачна состојба						
мажена	110(85,94)	55 (85,94)	165(85,94)	1,00		
немажена	18 (14,06)	9 (14,06)	27 (14,06)	1	0,422-2,371	1
Вероисповед						
христијанска	104(81,25)	44 (68,75)	148(77,08)	0,51	0,255-1,012	0,0522
муслиманска	24 (18,75)	20 (31,25)	44 (22,92)	1,00		
Социјални						
домаќинка	55 (42,97)	28(43,75)	83 (43,23)	1,69	0,790-3,642	0,1737
работничка	51 (39,84)	17(26,56)	68 (35,42)	2,59	1,137-5,903	0,0127
академско лице	22 (17,19)	19(29,69)	41 (21,35)	1,00		
Економски						
вработена	77 (60,16)	36 (56,25)	113(58,85)	1,00		
невработена	51 (39,84)	28 (43,75)	79 (41,15)	0,85	0,464-1,563	0,6033

Легенда: ИГ, испитувана група; КГ, контрола група; n, број; OR, коефициент на сооднос; CI, интервал на доверба

Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката и пациентките со завршено средно образование (хи-квадрат тест=4,9377, p=0,0262, p<0,05, со релативен ризик од 2,29), во однос на пациентките со виш/висок степен, како и асоцијација со пациентките со понизок социјален статус (работнички) (хи-квадрат тест=5,2667, p=0,0127, p<0,05, со релативен ризик од 2,59), во однос на пациентките со повисок социјален статус (академско лице) (Табела 63).

Асоцијацијата помеѓу одредени гинеколошко-репродуктивните ризик-фактори и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката е прикажана во Табела 64.

Табела 64. Гинеколошко-репродуктивни ризик-фактори

	ИГ (n=128)	КГ (n=64)	Вкупно (n=192)	Odds Ratio (OR)	95%CI- (Confidence Interval)	p
	Број (%)	Број (%)	Број (%)			
Гинеколошки контроли						
да	69 (53,90)	46(81,88)	115 (59,90)	1,00		
не	59 (46,10)	18(28,12)	77 (40,10)	2,18	1,145-4,1704	0,0166
Чест вагинален исцедок						
да	68 (53,13)	14(21,88)	82 (42,71)	4,05	2,0366-8,0444	0,0001
не	60 (46,87)	50(78,12)	110 (57,29)	1,00		
Употреба на хормонски орални контрацептивни средства						
да	30 (23,44)	6 (9,37)	36 (18,75)	3,00	1,162-7,5358	0,0186
не	98 (76,56)	58 (90,63)	156 (81,25)	1,00		
Фамилијарна анамнеза за карцином на грло на матка						
да	10 (7,81)	6 (9,38)	16 (8,33)	0,82	0,2839-2,3641	0,7083
не	118(92,19)	58(90,62)	176 (91,67)	1,00		
Родено деца						
≤ 2	102(79,69)	55 (85,94)	157 (81,77)	1,00		
≥ 3	26 (20,31)	9 (14,06)	35 (18,23)	0,56	0,682-3,5578	0,2899
Родено прво дете						
пред 17 год.	21 (16,41)	9 (14,06)	30 (15,63)	1,20	0,5147-2,7146	0,6714
после 17 год.	107(83,59)	55(85,94)	162 (84,37)	1,00		

Легенда: ИГ, испитувана група; КГ, контрола група; n, број; OR, коефициент на сооднос; CI, интервал на доверба

Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу нередовните гинеколошки контроли (хи-квадрат тест=5,7351, p=0,0166, p<0,05, со релативен ризик од 2,18), честиот вагинален исцедок (хи-квадрат тест=17,0288, p=0,0001, p<0,05, со релативен ризик од 4,05), долготрајната (повеќе од 5 години) употреба на оралните хормонски контрацептивни средства (хи-квадрат тест=5,5385, p=0,0186, p<0,05 со релативен ризик од 3,00) и сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката.

Табела 65. Сексуални ризик-фактори

	ИГ (n=128)	КГ (n=64)	Вкупно (n=192)	Odds Ratio (OR)	95%CI- (Confidence Interval)	p
	Број (%)	Број (%)	Број (%)			
Прв сексуален однос						
пред 17-г.	48 (37,50)	14 (21,87)	62 (32,29)	2,14	1,0723-4,2821	0,0291
после 17-г.	80 (62,50)	50 (78,13)	130(67,71)	1,00		
Број на сексуални партнери						
1	108(84,37)	59 (92,19)	167 (86,98)	1,00		
>1	20 (15,63)	5 (7,81)	25 (13,02)	2,18	0,7801-6,1214	0,1294

Легенда: ИГ, испитувана група; КГ, контрола група; n, број; OR, коефициент на сооднос; CI, интервал на доверба

Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу раниот (пред 17-та година) прв сексуален однос (хи-квадрат тест=4,7643, p=0,0291, p<0,05, со релативен ризик од 2,14) и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката (Табела 65).

Асоцијацијата помеѓу одредени животни навики и сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката е прикажана во Табела 66.

Табела 66. Животни навики како ризик-фактори

	ИГ (n=128)	КГ (n=64)	Вкупно (n=192)	Odds Ratio (OR)	95%CI- (Confidence Interval)	p
	Број (%)	Број (%)	Број (%)			
Пушење цигари						
да	72 (56,25)	22 (34,37)	94 (48,96)	2,45	1,3165-4,5762	0,0043
не	56 (43,75)	42 (65,63)	98 (51,04)	1,00		
Пиенење алкохол						
да	11 (8,59)	5 (7,81)	16 (8,33)	1,11	0,3684-3,3412	0,8625
не	117 (91,41)	59 (92,19)	176 (91,67)	1,00		
Употреба на лекови						
да	25 (19,53)	11 (17,19)	36 (18,75)	1,17	0,5346-2,5581	0,6985
не	103 (80,47)	53 (82,81)	156 (81,25)	1,00		
Диета						
да	42 (32,81)	12 (18,75)	54 (28,13)	2,11	1,0218-4,3832	0,0411
не	86 (67,19)	52 (81,25)	138 (71,87)	1,00		

Легенда: ИГ, испитувана група; КГ, контрола група; n, број; OR, коефициент на сооднос; CI, интервал на доверба

Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу пушењето на цигари (хи-квадрат тест=8,1702, p=0,0043, p<0,05, со релативен ризик од 2,45), диеталната исхрана (хи-квадрат тест=4,1739, p=0,0411, p<0,05, со релативен ризик од 2,11) и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката.

8.0 ДИСКУСИЈА

8.1. КОРЕЛАЦИЈА ПОМЕЃУ ЦИТОПАТОЛОШКИТЕ И ХИСТОПАТОЛОШКИТЕ РЕЗУЛТАТИ

Не постојат специфични клинички карактеристики или симптоми кои укажуваат на присуство на интраепителна лезија на грлото на матката. Почетната дијагноза обично се прави со цитолошка анализа на примерок од ПАП-тест. При колпоскопија, по апликација на 3-5% оцетна киселина, заради денатурација на протеините, местата суспектни за сквамозна интраепителна лезија на грлото на матката, се визуализираат како бели зони, додека пак после апликација на Луголов јоден раствор, местата суспектни за сквамозна интраепителна лезија на грлото на матката, не се бојат махагони црвено, заради отсуство на гликоген во клетките. Конечната дијагноза, сепак, се потврдува само со хистопатолошки преглед на биоптирани примероци или примероци на ексцизирани ткива. Точна хистопатолошка дијагноза е клучен фактор во одлуката за лекување или нелекување на индивидуален пациент [10].

Анализата на податоците од нашата студија покажа дека постои позитивна корелација помеѓу резултатите од цитопатолошката и хистопатолошката анализа на грлото на матката ($p=0,033$), што кореспондира со резултатите од српската студија на Сосиќ Гордана и сор. од 2014 година ($p=0,036$) [360]. Во студијата на Anschau Fernando и Guimaraes Goncalves од 2011 година, прикажана е умерена конкордантност ($\kappa=0,558$) помеѓу резултатите од цитопатолошката и хистопатолошката анализа на грлото на матката [361].

Процентот на пациентки со цитопатолошка дијагноза за ASC-US во нашата студија беше релативно низок (10,16%). Хистопатолошката дијагноза покажа: нормален наод кај 3 (23,08%) пациентки, LSIL кај 9 (69,23%) пациентки и HSIL кај една (7,69%) пациентка. Овие резултати кореспондираат со резултатите од истражувањето на Massad и сор. од 2001 година, каде хистопатолошката анализа покажала нормален наод кај 30,00% од пациентките со ASC-US и постоење на сквамозна интраепителна лезија на грлото на матката кај 70,00% од пациентките [362].

Во нашата студија дијагнозата ASC-H содржи 35% од сите атипични сквамозни клеточни промени на грлото на матката. Релативно висок процент (85,71%) од нив беа со хистопатолошка дијагноза за постоење на сквамозна интраепителна лезија. Во истражувањата на Chivukula и сор. од 2006 година и Министерството за здравство на Република Србија од 2013 година, кај 30-40% од случаите со ASC-H, била

дијагностицирана SIL, од кои 25-50% биле со умерена или тешка дисплазија на грлото на матката [363,364].

Од вкупно 31 пациентка со цитопатолошка дијагноза LSIL, хистопатолошката анализа во нашата студија докажа постоење на LSIL кај 23 (74,19%) пациентки, што е во согласност со податоците од српската студија на Миленковиќ и сор. од 2012 година, која покажала дека приближно 30% од LSIL наодите се „лажно позитивни“ [365].

Истражувањата покажуваат дека, со цитопатолошки HSIL-наод, повеќе од 50% од пациентките ќе имаат умерена дисплазија или потежок степен на сквамозна интраепителна лезија, а околу 2% ќе имаат инвазивен карцином [364]. Податоците, исто така, покажуваат дека помеѓу 20% и 30% од HSIL-наодите не се дијагностицирани со цервикална цитологија [365]. Нашата студија покажа дека 78,57% (44/56) од пациентките имаат HSIL, а 5,36% (3/56) имаат инвазивен карцином. Нашата студија исто така покажа дека 19,64% (11/56) од HSIL-наодите не биле дијагностицирани со ПАП-тестот како HSIL.

Од вкупно 21 цитопатолошки наод за сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката, 20 (95,24%) беа хистопатолошки потврдени, а еден беше тешка дисплазија, што е во согласност со студијата на Saha и Thapa од 2005 година [366].

Во нашата студија, кога беа вклучени сите цитолошки сквамозни клеточни абнормалности на грлото на матката, сензитивноста на ПАП-тестот за LSIL и повисоките степени на лезија на грлото на матката беше 92,97% (119/128), додека лажно-позитивноста беше 7,03% (9/128), а кога беа исклучени ASC-US и ASC-H сензитивноста беше 95,37% (103/108) а лажно-позитивноста беше 4,63% (5/108). Во турската студија на Abali и сор. од 2011 година, кога биле вклучени сите цитолошки сквамозни клеточни абнормалности на грлото на матката, сензитивноста на ПАП-тестот за LSIL и повисоките степени на лезија на грлото на матката била 56,95%, додека лажно-позитивноста била 43,04% (9/128), а кога биле исклучени ASC-US и ASC-H сензитивноста била 77,31% а лажно-позитивноста била 22,68% [367].

LSIL беше најфрекветна кај пациентките на возраст од 20-29 години (50,00%; 14/28). Асоцијација ($p=0,001$) помеѓу LSIL и помладата возраст била прикажана во американското истражување на Ramzan и сор. од 2014 година [368].

8.2. ХПВ-ДНК ТЕСТИРАЊЕ

Перзистентните високоризични ХПВ-инфекции се најчести ризик-фактори за појава на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката. 75% од сексуално активната популација, во тек на својот живот, била во контакт со еден или повеќе ХПВ-генотипови [369].

Раната детекција и третманот на интраепителните лезии на грлото на матката може да бидат клучни во превенцијата на цервикалниот карцином [370].

Во зависност од географската припадност, испитуваната популација и користениот метод, фреквенцијата на ХПВ-генотиповите во различните цервикални лезии значително варира.

Во оваа студија ХПВ-ДНК инфекцијата беше детектирана кај 75,00% од пациентките во испитуваната група и кај 12,50% од пациентките во контролната група. Овој релативно висок процент на ХПВ-ДНК инфекција кај пациентките со сквамозна интраепителна лезија и сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката кореспондира со некои претходно објавени студии [371-374]. Детектираната преваленца од 12,50% на ХПВ-ДНК инфекцијата на грлото на матката кај пациентките со нормален цитолошки наод во нашата студија е во согласност со проценетата глобална преваленца од 10-12%, со варијации од 1-26% во зависност од географската припадност и возраста [89]. Британската мета-анализа на Anderson и сор. од 2013 година, работена на жени со нормален цервикален цитолошки наод покажала преваленца на ХПВ-ДНК инфекцијата од 12,00% [375]. Проценета преваленца од 11,2% кај жените со нормален цервикален цитолошки наод прикажана е во кинеската студија на Вао и сор. од 2008 година, работена на 2 902 жени [376]. Идентична преваленца (11,1%) прикажана е во чилеанската студија на Balandi и сор. од 2014-2015 година [377].

ХПВ-16 беше најчест генотип со 43,75%. Покрај ХПВ-16 најзастапени генотипови беа: ХПВ-31 (15,62%), ХПВ-6 (14,58%), ХПВ-18 (10,41%), ХПВ-45 и ХПВ-11 (со по 9,37%), ХПВ-33 (7,29%) и ХПВ-35, -52, -56 (со по 5,21%).

Во ретроспективната студија на Андоновска Ј. од 2014 година работена на 7 411 жени, детектирана е следнава дистрибуција на најзначајните генотипови: ХПВ-16 (23,39%), ХПВ-31 (10,68%), ХПВ-53 (10,60%) и ХПВ-18 (6,19%) [378]. Во студијата на Стојановска В. и сор. од 2009 година, работена на 6 988 пациентки, детектирана е

следнава дистрибуција на најзастапени генотипови: ХПВ-16 (32,1%), ХПВ-31 (14%), ХПВ-53 (12,6%), ХПВ-18 (9,9%), ХПВ-58 (5%) итн. [379]. Додека во студијата на Дувлис С. од 2000 година работена на пациентки од Македонија, детектирана е следнава дистрибуција на најзастапени генотипови: ХПВ-16 (27,5%), ХПВ-31 (13,1%), ХПВ-66 (10,3%), ХПВ-6 (9,4%), ХПВ-18 (8,4%) итн. [380].

И во четирите студии најзастапени се ХПВ-16 и ХПВ-31, но, има отстапувања околу дистрибуцијата на останатите најчести ХПВ-генотипови.

Во оваа студија најдена е значајна поврзаност помеѓу присуството на ХПВ-ДНК инфекцијата и појавата на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката ($p=0,028125$). Високиот процент на високо-ризични ХПВ-ДНК генотипови кај тешката дисплазија (73,91%), кај *in situ* сквамозниот карцином (87,50%) и сквамозниот инвазивен карцином (83,33%), уште еднаш ја потврдува силната поврзаност помеѓу онкогениот потенцијал на вирусот и развојот на сквамозните интраепителните лезии и сквамозниот инвазивен карциномите на грлото на матката ($p<0.00001$). Односот помеѓу високоризичните и нискоризичните ХПВ-генотипови кај ХПВ-ДНК позитивните пациентки беше 75,00%:14,58%. Во шпанската студијата на Garcia-Garcia од 2010 година тој однос е 79,80%:19,70% [381].

Високиот процент на ХПВ-16 кај тешката дисплазија (63,16%), кај *in situ* сквамозниот карцином (57,14%) и кај инвазивните сквамозни карциноми (47,62%), го издвојува ХПВ-16 како високоризичен генотип со најголем онкоген потенцијал.

Во оваа студија мешана ХПВ-ДНК инфекција беше најдена кај 32,03% од испитуваните пациентки, односно кај 42,71% од ХПВ-ДНК позитивните. Овој процент на застапеност на мешаните ХПВ-ДНК инфекции кореспондира со претходно објавените студии на: Sandri и сор. од 2009 година (43,00%) [382], Cuschieri и сор. од 2001 година (43,30%) [383] и Vujosevic и сор. од 2012 година (42,00%) [384].

Во однос на возраста, највисока фреквенција на ХПВ-ДНК инфекција беше најдена кај пациентките под 30 години (85,71%), додека најниска кај пациентките на возраст од 30 до 39 години (65,79%). Нашите резултати кореспондираат со резултатите на некои претходно објавени студии: во италијанската студија на Agodi и сор. од 2009 година, највисока фреквенција на ХПВ-ДНК инфекција била детектирана кај пациентките до 25-годишна возраст (73,2%) [385]; американската студија на Evans од 2006 година, прикажала највисока фреквенција на ХПВ-ДНК инфекцијата кај пациентките под 30-

годишна возраст (96,00%; 458/475) [386]; идентичен процент на ХПВ-ДНК инфекција (96,00%), прикажала и студијата на Nagigi и сор. од 2012 година, работена на 3 058 американски жени на возраст од 18 до 39 години [387]. Во групата пациентки под 30-годишна возраст детектирана е и највисока фреквенција на мешана ХПВ-инфекција (58,33%). Овие високи фреквенции кај младата популација може да се објаснат со нивното сексуално однесување, односно промискуитетот. Во српската студија на Ковачевиќ Г. и сор. од 2016 година, работена на студентки од универзитетот во Нови Сад, мешаната ХПВ-инфекција била детектирана кај 49,4% [388]. Релативно високи проценти на мешаната ХПВ-инфекција кај младата популација биле детектирани и во бугарските студии на Grozdanov P. од 2014 година (63,00%) [389]. и Kovachev S. од 2013 година (53,00%) [390], како и во романската студија на Moga M. од 2014 година (54,93%) [391].

8.3. ХПВ Е6/Е7 иРНК-ТЕСТИРАЊЕ

Според познатата преваленца на ХПВ-генотиповите во инвазивните карциноми на грлото на матката, повеќе од 80% од потенцијалните случаи можат да бидат откриени од страна на PreTect HPV-Proofер анализата. Според IARC-анализата на 3 085 инвазивни карциноми на грлото на матката, петте најчести генотипови на ХПВ биле, со опаѓачки редослед на фреквенција, ХПВ-16,-18,- 45, -31 и -33. Овие генотипови биле откриени во 82,9% од случаите [192]. Преовладува консензус дека е потребна регулаторна експресија на вирусните онкопротеини Е6/Е7 за иницијација и прогресија на интраепителните лезии на грлото на матката. Детекцијата на онкогената активност на ХПВ преку детекција на транскриптите на иРНК може да биде подобар индикатор за ХПВ-инфекција, поврзана со зголемен ризик од прогресија кон карцином, отколку детекцијата на ХПВ-ДНК [140,392,393].

Во нашата студија високоризичната ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција беше детектирана кај 60,94% од пациентките во испитуваната група и кај 3,12% од пациентките во контролната група. Овој релативно висок процент на високоризична ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција кај пациентките со сквамозна интраепителна лезија и сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката кореспондира со некои претходно објавени студии; шпанската студија на Fontecha и сор., работена во периодот од 2007 до 2014 година, покажала ХПВ Е6/Е7 иРНК-позитивитет кај 68,29% од жените кои за прв пат биле

ХПВ Е6/Е7 иРНК тестирани [394], португалската студија на Oliveira и сор. од 2013 година, работена на 554 жени, детектирала експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 кај 55,10% од испитуваните жени [395], во италијанската студија на Cattani и сор. од 2009 година, работена на 400 ХПВ-ДНК позитивни жени, 61,20% од жените биле ХПВ Е6/Е7 иРНК позитивни [396], турската студија на Tuncu и сор. од 2017 година, покажала експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 кај 55,60% од жените со абнормален цервикален цитолошки наод [397]. Норвешката студија на Trope A. и сор. од 2009 година покажала експресија на вирусните онкопротеини Е6/Е7 кај 3,30% од пациентките со нормален цервикален цитолошки наод [398]. Во турската студија на Tezcan и сор. од 2014 година, работена на 476 жени со нормален цервикален цитолошки наод, високо-ризичната ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција била детектирана кај 12 (2,50%) жени [399].

Анализата на податоците од нашата студија покажа пораст на присуството на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата паралелно со зголемување на цитопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката ($p < 0,00001$). Пораст на присуството на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата паралелно со зголемување на цитопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката е детектиран и во холандската студија на Rijkaart и сор. од 2012 година ($p = 0,01$) [400], бразилската студија на Casagrande и сор. од 2015 година ($p < 0,001$) [401] и корејската студија на Munkhdelger J. и сор. од 2014 година ($p < 0,001$) [402].

Анализата на податоците од нашата студија покажа и пораст на присуството на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата паралелно со зголемување на хистопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката ($p < 0,00005$). Пораст на присуството на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата паралелно со зголемување на хистопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката е детектиран и во кинеската студија на Liu и сор. од 2013 година [403] и студијата на Baron и сор. од 2015 година ($p < 0,01$) [404].

Во оваа студија најдена е значајна поврзаност помеѓу вирусните онкопротеини Е6 и Е7 и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката ($p = 0,001485$). Односот помеѓу единечна и мешана ХПВ Е6/Е7 иРНК инфекција беше 44,53%:16,41%. Овој сооднос кореспондира со соодносот на некои претходно објавени студии: во италијанската студија на Cattani и сор. од 2009 година, соодносот помеѓу единечната и мешаната ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција бил 38,90%:16,10% [396]; во турската студија на Tuncu и сор. од 2017 година, тој сооднос бил 35,80%:19,75%

[397]; додека пак во норвешката студија на Tjore и сор. од 2009 година, работена на 643 жени со HSIL, тој сооднос бил 58,80%:15,00% [398].

ХПВ-16 беше најчест генотип со 57,69%. А потоа, по опаѓачки редослед следуваа: ХПВ-18 (23,08%), ХПВ-31 (19,23%), ХПВ-45 (16,66%) и ХПВ-33 (10,26%). ХПВ-16 и -18 како најчести генотипови се детектирани и во шведската студија на Andersson E. и сор. од 2011 година (47,00% и 18,00%) [217] и Fontecha и сор. од 2016 година (68,29% и 12,25%)[394].

ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата беше најчеста кај пациентките на возраст од 40 до 49 години (70,00%; 21/30), како и во студијата на Wang и сор. од 2015 година [405].

8.4. СПОРЕДБА ПОМЕЃУ ХПВ-ДНК И ХПВ Е6/Е7 иРНК-ТЕСТИРАЊАТА

Анализата на податоците од нашата студија покажа асоцијација помеѓу резултатите од ХПВ-ДНК тестирањето и ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето ($p < 0,0001$). Асоцијација помеѓу резултатите од ХПВ-ДНК тестирањето и ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето била детектирана и во бугарската студија на Doganov A. и сор. од 2012 година [406].

Конкордантноста помеѓу резултатите од двете тестирања беше умерена (55,47%; $\kappa = 0,439$; 95%CI: 0,282-0,596). Норвешката студија на Tjore и сор. од 2009 година, работена на 643 жени со HSIL-наод на ПАП-тестот, покажала конкордантност од 63,80% помеѓу резултатите од ХПВ-ДНК и ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањата [398]. Во грчката студија на Spathis и сор. од 2012 година, работена на 1 173 жени на Универзитетската клиника во Јанина, била детектирана конкордантност од 71,60% помеѓу резултатите од ХПВ-ДНК и ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањата [407]. Босанската студија на Salimovic-Besic од 2013 година, работена на 105 жени со абнормален цервикален цитолошки наод, покажала конкордантност од 56,00% помеѓу резултатите од ХПВ-ДНК и ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањата, со низок ХПВ Е6/Е7 иРНК-позитивитет кај жените со цитолошки наод на ASC-US на ПАП-тестот [408].

Резултатите од нашата студија покажаа дека ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето е со поголема специфичност (88,89%) и поголема позитивна предиктивна вредност (93,59%) од ХПВ-ДНК тестирањето. Поголема специфичност (50,00%) и поголема позитивна предиктивна вредност (62,00%) на ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето покажала и студијата на Duvlis S. и сор. од 2015 година работена на скрининг-група од 413

македонски жени [409], како и некои други претходно објавени студии; студијата на Cattani и сор. од 2009 година, работена на 180 жени, покажала поголема специфичност (72,70%) на ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето од ХПВ-ДНК тестирањето (56,20%) [396], во корејската студија на Munkhdelger и сор. од 2014 година, работена на 188 жени со сквамозна интраепителна лезија на грлото на матката, ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето било со поголема специфичност од ХПВ-ДНК тестирањето (85,00% наспроти 40,83%) [402]. Не можевме да ја пресметаме негативната предиктивна вредност во нашата студија, бидејќи немавме хистопатолошки резултати од пациентките со нормален цервикален цитолошки наод.

8.5. БАКТЕРИСКА ВАГИНОЗА

Бактериската вагиноза е чест вагинален синдром во репродуктивниот период на жената. Може да биде асоцирана со повеќе акушерски и гинеколошки компликации, како што се: предвремено породување, хориоамнионитис, ендометритис после царски рез, пелвична инфламаторна болест, постоперативни инфекции по хистеректомија и со абнормален наод на грлото на матката [223,264].

Во нашата студија бактериската вагиноза беше детектирана кај 43,75% од пациентките во испитуваната група и кај 12,50% од пациентките во контролната група. Овој процент на бактериска вагиноза кај пациентките со сквамозна интраепителна лезија и сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката кореспондира со некои претходно објавени студии; во студијата на Saixeta и сор. од 2015 година, работена на 251 жена со абнормален цервикален цитолошки наод, бактериската вагиноза била детектирана кај 103 (41,00%) жени [300], во американската студија на Vehbakht и сор. од 2002 година, во групата на жени со интраепителна лезија на грлото на матката, бактериската вагиноза била детектирана кај 49,02% од пациентките [410], италијанската студија на Vetrano и сор. од 2007 година, работена на 504 жени со диспластични промени на грлото на матката, прикажала преваленца од 41,67% [411]. Во студијата на Discacciati и сор. од 2006 година, кај пациентките со нормален цервикален цитолошки наод, бактериската вагиноза била детектирана кај 12,00% од жените [412]. Преваленцата на бактериската вагиноза од 12,2% била прикажана во студијата на Kero и сор. од 2017 година, работена на 329 жени со нормален ПАП-тест [413].

Во нашата студија најголем процент на бактериска вагиноза од 57,14%, беше најден кај младата популација под 30-годишна возраст. Ова најверојатно се должи на начинот на сексуално однесување (промискуитет) на младата популација. Висок процент на бактериска вагиноза кај младата популација е најден и во некои претходно објавени студии: во данската скрининг-студија на Klorin и сор. од 2008 година, била детектирана бактериска вагиноза од 67,40% кај младата популација [306]; бразилската студија на Murta и сор. од 2000 година, покажала постоење на бактериска вагиноза од 64,10% (250/390) кај жените под 30-годишна возраст, со позитивен наод на ПАП-тест за постоење на сквамозна интраепителна лезија на грлото на матката [414].

ХПВ-инфекцијата игра голема улога во промена на вагиналната средина, помагајќи го развојот на бактериската вагиноза. Од друга страна пак жените со бактериска вагиноза се поосетливи на добивање и реактивација на ХПВ-инфекција [415]. Многу студии презентираат спротивставени резултати во однос на асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ-инфекцијата. Во нашата студија беше најдена асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ-ДНК инфекцијата ($p=0,000995$), како во некои претходно објавени студии; италијанската студија на Verteramo и сор., работена на универзитетот во Рим во периодот од 2000 до 2006 година на 266 ХПВ ДНК позитивни жени и 591 ХПВ-ДНК негативни жени, детектирала поголем процент на бактериска вагиноза кај ХПВ-ДНК позитивните (8,60%) отколку кај ХПВ-ДНК негативните жени (5,20%) [301], во бразилската студија на Campos и сор. од 2012 година, работена на 173 жени, поделени во две групи: испитувана и контролна, била најдена асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ-инфекцијата ($p<0,001$; $OR=24,76$; $95\%CI: 1,770-2,437$) [416]. Студиите на Nam и сор. од 2009 година [417] и на Zheng и сор. од 2010 година [418], покажале дека не постои асоцијација ($p>0,05$) помеѓу бактериската вагиноза и ХПВ-ДНК инфекцијата кај жени со сквамозни клеточни абнормалности на грлото на матката.

Во нашата студија од вкупно 128 пациентки, кај 50 (39,06%) пациентки беше истовремено најдено присуство на бактериска вагиноза и ХПВ-ДНК инфекција. ХПВ-16 беше најчест генотип (56,00%).

Голям број претходно објавени студии презентираат различна поврзаност помеѓу бактериската вагиноза и сквамозните интраепителните лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката. Асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и

сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката, како во нашата студија ($p=0,040649$), најдена е и во некои претходно објавени студии; италијанската студија на Vetrano и сор. од 2007 година, работена на 504 жени со сквамозна интраепителна лезија на грлото на матката, покажала позитивна корелација помеѓу бактериската вагиноза и сквамозните интраепителни лезии на грлото на матката ($p<0,0001$) [411], белгиската мета-анализа на Gillet и сор. од 2012 година покажала асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и цервикалната интраепителна неоплазма ($OR=1,51$; $95\%CI: 1,24-1,83$) [308], позитивна корелација помеѓу бактериската вагиноза и сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката покажале корејските студии на Nam и сор. од 2009 година ($p=0,043$) [417] и на Oh и сор. од 2015 година ($p=0,007$) [419]. Во студијата на Антоуска и сор., бактериската вагиноза е најдена повеќе кај подгрупата на жени со малигни лезии на грлото на матката (6,3%) отколку во подгрупата со бенигни лезии на грлото на матката (2,1%) [420]. Повеќе хипотези ја објаснуваат поврзаноста помеѓу бактериската вагиноза и интраепителните лезии на грлото на матката. Една од нив претпоставува дека, кај жените со бактериска вагиноза во пораст се муцин деградационите ензими. Овие ензими, како што се сијалидазите (неураминидази), имаат главна улога во деградиција на заштитниот слој на цервикалниот епител, предизвикуваат микроабразии или промени на епителните клетки што доведува до уништување на заштитната мукозна бариера [421].

Во нашата студија беше најдена поврзаност помеѓу бактериската вагиноза и степенот на лезија на грлото на матката ($p=0,041932$). Поврзаност помеѓу бактериската вагиноза и степенот на лезија на грлото на матката е детектирана во студијата на Roeters и сор. од 2009 година ($p<0,05$) со $OR:7-12$ за HSIL [304]; во холандската студијата на Verbruggen и сор. од 2006 година ($OR:1,62$; $95\%CI: 1,10-2,38$), како и во корејската студија на Oh и сор. од 2015 година ($p<0,0001$) [419].

Анализата на податоците од нашата студија покажа дека постои асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 ($p=0,000311$).

Најчест бактериски морфотип на бактериската вагиноза кај пациентките со сквамозни клеточни абнормалности на грлото на матката беше *Gardnerella vaginalis* (96,43%), а потоа, со опаѓачки редослед следуваа: *Bacteroides species* (61,64%), *Mobiluncus species* (51,78%), *Prevotella species* (50,00%) и *Lactobacillus species* (19,64%). Во парагвајската студија на Mongelos P. и сор. од 2015 година, работена на 181 жена со сквамозни

клеточни абнормалности на грлото на матката, *Gardnerella vaginalis* била детектирана кај 96,5% од жените [422]. Сличен процент (95,00%) на *Gardnerella vaginalis* бил прикажан во босанската студија на Numanovic F. и сор. од 2008 година, работена на 200 сексуално активни жени од кантонот Тузла [423]. Во корејската студија на Oh и сор. од 2015 година, *Bacteroides species* бил детектиран кај 64,28% од пациентките со CIN [419]. Турската студија на Bahar H. од 2005 година, нотирала фреквенција од 49,00% на *Mobiluncus species* кај жените со бактериска вагиноза [424]. Додека пак, во американската студија на Srinivasan и сор. од 2012 година, процентот на *Lactobacillus species* жените со бактериска вагиноза бил 17,9% [313].

Во нашата студија, најчест бактериски морфотип, детектира кај пациентките со нормален цервикален цитолошки наод беше *Lactobacillus species* (96,87%), а потоа, по опаѓачки редослед следуваа: *Gardnerella vaginalis* (28,12%), *Bacteroides species* (23,44%) и *Mobiluncus* и *Prevotella species* (со по 9,37%). Овие резултати кореспондираат со некои претходно објавени студии; во американската студија на Livengood и сор. од 2009 година, *Gardnerella vaginalis* била детектирана кај 96,00% (20/21) од жените со нормален цервикален цитолошки наод [294], студијата на Nzomo и сор. од 2013 година, работена на 193 жени на возраст од 18 до 49 години со нормален ПАП-тест, покажала присуство на следните бактериски морфотипови по опаѓачки редослед: *Gardnerella vaginalis* (67,70%), *Bacteroides species* (23,00%) и *Mobiluncus species* (9,30%) [425].

8.6. АСОЦИЈАЦИЈА ПОМЕЃУ ДРУГИТЕ РИЗИК-ФАКТОРИ И СКВАМОЗНИТЕ КЛЕТОЧНИ АБНОРМАЛНОСТИ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА

Анализата на податоците од нашата студија покажа постоење асоцијација помеѓу сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката и понискиот степен на едукација ($p=0,0262$) на пациентките, понискиот социјален статус ($p=0,0127$), нередовните гинеколошки контроли ($p=0,0166$), честиот вагинален исцедок ($p=0,0001$), пушењето цигари ($p=0,0043$), долготрајната употреба на орални хормонски контрацептивни средства ($p=0,0186$), раниот прв сексуален однос ($p=0,0291$) и држењето диета ($p=0,0411$) на пациентките.

Нашата студија покажа дека пониското ниво на едукација за 2,29 пати (OR=2,29; 95%CI: 1,093-4,797) го зголемува ризикот за појава на сквамозни клеточни абнормалности на грлото на матката. Асоцијација помеѓу интраепителните лезии и карциномот на грлото

на матката и пониското ниво на едукација на жените покажана е и во турската студија на Sogukrmar и сор. од 2013 година, работена на 4 319 жени [426].

Релативниот ризик за сквамозни клеточни абнормалности на грлото на матката, кај пациентките со понизок социјален статус беше 2,59 (OR=2,59; 95%CI: 1,137-5,503). Во египетската студија на El-Moselhy и сор. од 2016 година, релативниот ризик бил 3,42 (OR=3,42; 95%CI: 1,93-6,07) [427]. Идентичен релативен ризик е детектирана и во романската студијата на Irimie и сор. од 2011 година [428].

Пушењето цигари е еден од почестите ризик-фактори за појава на сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката. Поврзаноста помеѓу катранот и карциномот на грлото на матката е покажана уште во 1950 година. Нашата студија покажа дека пушењето цигари за 2,45 пати го зголемува ризикот за појава на сквамозни клеточни абнормалности на грлото на матката (OR=2,45; 95%CI=1,3165-4,5762). Асоцијација помеѓу сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката и пушењето цигари, детектирана е и во некои претходно објавени студии: британската студија на Collins и сор. од 2010 година, работена на 1 485 жени, покажала дека пушењето цигари за 2,21 пати го зголемува ризикот за појава на сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката (HR=2,21; 95%CI: 1,19-4,12, p-trend=0,008) [429]; во студијата на Gadducci и сор. од 2011 година прикажана е асоцијација помеѓу пушењето цигари и сквамозните интраепителни лезии на грлото на матката (p<0,05), со релативен ризик од 2,50 [430], како и во бразилската студија на Fedrizzi и сор. од 2015 година, работена на 55 жени со хистопатолошка дијагноза за SIL (p=0,027) [431].

Релативниот ризик за сквамозни клеточни абнормалности на грлото на матката, кај пациентките кои употребувале орални хормонски контрацептивни средства подолго од 5 години беше 3,00. Во индиската студија на Geetha и Santhy од 2013 година, работена на 200 жени со сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката, релативниот ризик бил 2,45 (OR=2,45; 95%CI: 1,054-3,92) [432], додека пак во индонезиската студија на Paramita и сор. од 2010 година, релативниот ризик бил 4,21 (OR=4,21; 95%CI: 1,81-9,78) [433].

Нашата студија покажа дека раниот прв сексуален однос пред 17-тата година од животот за 2,14 пати го зголемува ризикот за појава на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката (OR=2,14; 95%CI:

1,0723-4,2821). Асоцијација помеѓу сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката и раниот прв сексуален однос, детекрирана е и во турската студија на Reis и сор. од 2011 година (OR=58,07; 95%CI: 27,88-120,95) [434], како и во студијата на Utoo и сор. од 2017 година (OR=0,80; 95%CI: 0,30-2,70) [435].

Анализата на податоците од нашата студија покажа и асоцијација помеѓу сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката и диетата (OR=2,11; 95%CI: 1,0218-4,3832). Студијата на Seo и сор. од 2016 година, работена на 65 жени со CIN и 72 контролни жени без CIN, покажала зголемен ризик за CIN кај жените кои биле на диетална исхрана (OR=3,44; 95%CI: 1,11-10,70; p=0,03) [436]. Кинеската студија на Wang и сор. од 2017 година, покажала асоцијација помеѓу сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката и диетата (p<0,001) [437].

Анализата на податоците од нашата студија покажа непостојење асоцијација помеѓу сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката и возраста на пациентките (p=0,6801), брачната состојба (p>0,05), раната прва бременост (p=0,6714), мултипаритетот (p=0,2899), поголемиот број сексуални партнери (p=0,1294), пиењето алкохол (p=0,8625) и фамилијарната анамнеза за карцином на грлото на матката (0,7083).

Нашата студија покажа дека возраста над 40 години не го зголемува ризикот за појава на сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката (OR=0,88; 95%CI=0,483-1,610). Египетската студија на El-Moselhy и сор. од 2016 година, работена на 86 жени со инвазивен карцином на грлото на матката и 200 жени без инвазивен карцином на грлото на матката, на возраст од 35 до 71 година, покажала ризик за појава на инвазивниот карцином на грлото на матката од 0,46 (OR=0,46; 95%CI: 0,25-0,86) кај жените под 40-годишна возраст, од 0,72 (OR=0,72; 95%CI: 0,42-1,26) кај жените од 40 до 50 годишна возраст и од 3,35 (OR=3,35; 95%CI: 1,83-6,15) кај жените над 50-годишна возраст [427].

Во нашата студија не беше најдена асоцијација помеѓу брачната состојба и сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката (OR=1; 95%CI: 0,422-2,371). Процентот на мажени во испитуваната и во контролната група беше идентичен (85,94%). Нашите резултати кореспондираат со резултатите на мексиканската студија на Flores и сор. од 2008 година, работена на 595 ХПВ-позитивни жени на возраст од 20 до 80 години, во која процентот на жените со партнер во испитуваната и во

контролната група бил 7,50% наспроти 7,00%, а релативниот ризик за HSIL и инвазивен карцином на грлото на матката бил 1,02 ($p=0,973$; $OR=1,02$; $95\%CI: 0,42-2,5$) [438].

Во нашата студија не беше најдена асоцијација помеѓу раната прва бременост (под 17 годишна возраст) и сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката ($OR=1,20$; $95\%CI: 0,5147-2,7146$). Јапонската студија на Yoshikawa и сор., работена на 167 жени со хистопатолошки наод за постоење на сквамозна интраепителна лезија на грлото на матката, покажала зголемен ризик за CIN кај ХПВ-позитивните жени со прва бременост пред 21-година од животот ($OR=4,42$; $95\%CI: 1,17-16,70$) [439].

Во студијата не детектиравме асоцијација помеѓу сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката и пациентките со родено 3 или повеќе од 3 деца ($p=0,2899$; $OR=0,56$; $95\%CI: 0,682-3,5578$). Американската студија на Shields и сор. од 2004 година, работена на 235 жени со инвазивен сквамозен карцином на грлото на матката и 486 жени без инвазивен сквамозен карцином на грлото на матката, детектирала зголемен ризик од карцином на грлото на матката кај жените со родено 5 или повеќе од 5 деца ($OR=2,0$; $95\%CI: 1,0-3,9$) [440]. Турската студија на Sogukpınar и сор. од 2013 година, работена на 1 637 жени на возраст од 15 до 49 години, покажала асоцијација помеѓу сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката и мултипаритетот ($p<0,05$). Процентот на жените со 3 или повеќе од 3 бремености бил 43,80% (504/1637) [441].

Нашата студија не покажа зголемен ризик за сквамозни клеточни абнормалности на грлото на матката кај жените со повеќе од еден сексуален партнер ($p=0,1294$; $OR=2,18$; $95\%CI: 0,7801-6,1214$). Зголемен ризик за CIN кај жените со повеќе од еден сексуален партнер покажала студијата на Utoo и сор. од 2017 година ($OR=1,76$; $95\%CI: 0,5-6,7$) [435].

Анализата на податоците од нашата студија покажа непостоење на асоцијација помеѓу појавата на сквамозните клеточни абнормалности на грлото на матката и пиењето алкохол ($p=0,8625$; $OR=1,1$; $95\%CI: 0,5346-2,5581$) и позитивната фамилијарна анамнеза за карцином на грлото на матката ($p=0,7083$; $OR=0,56$; $95\%CI: 0,2839-2,3641$). Египетската студија на El-Moselhy и сор. од 2016 година, покажала зголемен ризик за карцином на грлото на матката кај жените кои често пијат алкохол ($OR=4,34$) и кај

жените со позитивна фамилијарна анамнеза за карцином на грлото на матката (OR=14,93) [427].

Нашата студија има и недостатоци. Во студијата, материјал претставуваат 192 пациентки, поделени во две групи: испитувана и контролна, што најверојатно е релативно мал број на пациентки. Доколку во студијата беа вклучени поголем број пациентки во двете групи, најверојатно ќе добиевме поточни и статистички посигнификантни резултати. Колпоскопска биопсија со ендоцервикална киретажа на грлото на матката за хистопатолошка анализа беше направена строго по индикација, само на пациентките од испитуваната група; доколку истата ја направевме и на пациентките од контролната група, ќе добиевме вистински негативни или лажно негативни резултати и ќе можевме да ги пресметаме сензитивноста, специфичноста и негативната предиктивна вредност.

Во нашата студија, за детекција и ХПВ-ДНК типизација користевме материјал земен од грлото на матката со помош на cytobrush четкичка. Доколку користевме примероци од цервикални биопсии ќе добиевме поефикасна амплификација и субсеквентно појасни бандови, како резултат на повисока концентрација на ДНК, а со тоа и поточно ХПВ-ДНК тестирање.

Нашата студија покажа дека ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето е супериорно во однос ХПВ-ДНК тестирањето во детекција на високоризичните ХПВ-асоцирани сквамозни клеточни абнормалности на грлото на матката и праќа порака за поскоро воведување на оваа метода во нашата земја, како пософистицирана, со поголема специфичност и поголема позитивна предиктивна вредност од ХПВ-ДНК тестирањето.

Оваа студија може да претставува база за понатамошно испитување на поголема група на пациентки со нормален и абнормален цитолошки наод на грлото на матката, како и за follow-up на ХПВ Е6/Е7 иРНК-позитивните жени со нормален или граничен цитолошки статус на грлото на матката.

9.0 ЗАКЛУЧОЦИ

Резултатите од нашата студија потврдија дека:

- постои асоцијација помеѓу ХПВ-ДНК инфекцијата и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката,
- постои асоцијација помеѓу вирусните онкопротеини Е6/Е7 и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката,
- постои асоцијација помеѓу бактериската вагиноза и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката,
- постои асоцијација помеѓу понискиот степен на едукација на пациентките, нередовните гинеколошки контроли, честиот вагинален исцедок, пушењето цигари, долготрајната употреба на орални хормонски контрацептивни средства, раниот прв сексуален однос, држењето диета и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката,
- постои позитивна корелација помеѓу ХПВ-ДНК инфекцијата и бактериската вагиноза,
- постои позитивна корелација помеѓу вирусните онкопротеини Е6/Е7 и бактериската вагиноза,
- вирусните онкопротеини Е6/Е7 се супериорни биомаркери за детекција на високоризичните ХПВ-асоцирани сквамозни интраепителни лезии на грлото на матката,
- ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето е со поголема специфичност и поголема позитивна предиктивна вредност од ХПВ-ДНК тестирањето,
- ХПВ-16 е најчест детектиран генотип кај сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката,
- *Gardnerella vaginalis* е најчест бактериски морфотип на бактериската вагиноза,
- Најафектирана возрастна група се пациентките под 30-годишна возраст,
- ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето и Нудентовиот скор систем се одлични дијагностички методи во неинвазивната дијагностика на пациентките со високоризични ХПВ-асоцирани сквамозни интраепителни лезии на грлото на матката и со бактериска вагиноза, тие можат да се употребат во менаџирање на овие пациентки, како и за follow-up и за посоодветен третман.

10.0 ЛИТЕРАТУРА

1. Alvero R, Ferri FF. Cervical cancer. In: Ferri FF, editor. Ferri's Clinical Advisor. 1st ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2017. p. 260-261.
2. Stewart BW, Wild CP, editors. World Cancer Report 2014. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2014.
3. Mathew A, George PS. Trends in incidence and mortality rates of squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of cervix-worldwide. Asian Pac J Cancer Prev. 2009; 10:645-650.
4. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics 2015. CA Cancer J Clin. 2015; 65:5-29.
5. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int J Cancer. 2015; 136(5):359-86.
6. Scott M. The pathology of cervical cancer. In: Ayhan A, Reed N, Gulterin M, Dursun P, editors. Textbook of Gynaecological Oncology. 3rd ed. Ankara, Turkey: Gunes Publishing; 2016. p. 376-380.
7. Kurman RJ, Carcangin ML, Herrington CS, Young RH, editors. World Health Organization Classification of Tumors of Female Reproductive Organs. 4th ed. Lyon, France: IARC Press; 2014.
8. Herrington CS, Baak JPA, Mutter L. Cervical squamous intraepithelial lesions. In: Mutter GL, Prat J, editors. Pathology of the female reproductive tract. 3rd ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2014. p. 200-231.
9. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin No99: Management of abnormal cervical cytology and histology. Obstet Gynecol. 2008; 112(6); 1419-1444. Reaffirmed 2010.
10. Martin CM, O'Leary JJ. Histology of cervical intraepithelial neoplasia and the role of biomarkers. In: Arul Kumaran S, editor. Best Practice & Research: Clinical Obstetrics & Gynaecology. 25th ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2011. p. 605-615.
11. Broutet N, O'Neal Eckert L, Ullrich A, Bloem P, editors. Comprehensive Cervical Cancer Control: A guide to essential practice. 2nd ed. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2014.
12. Kesic V. Cervical Pre-Invasive Disease. In: Ayhan A, Reed N, Gultekin M, Dursun P, editors. Textbook in Gynaecological Oncology. 3rd ed. Ankara, Turkey: Gunes Publishing; 2016. p. 329-335.

13. Denton KJ, Desai M. Cervical Screening Programmes. In: Gray W, Kocjan G, editors. Diagnostic Cytopathology. 3rd ed. Oxford, England: Churchill Livingstone; 2010 .p. 599-608.
14. Bergeron C. Cervicovaginal Cytology: Normal and abnormal cells and adequacy of specimens. In: Ayhan A, Reed N, Gultekin M, Dursun P, editors. Textbook in Gynaecological Oncology. 3rd ed. Ankara, Turkey: Gunes Publishing; 2016. p. 336-342.
15. Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henky MR, Luff RD. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. JLTGTD 2012. p. 205-242.
16. Stoler M, Bergeron C, Colgan TJ, Ferenczy A, Herrington CJ, Loening T. Squamous cell tumors and precursors. In: Kurman RJ, Carcangin ML, Herrington CS, Young RH, editors. World Health Organization Classification of Tumors of Female Reproductive Organs. Lyon, France: IARC Press; 2014. p. 1-12.
17. Tavassoli FA, Devilee P, editors. World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Tumors of the Breast and Female Genital Organs. Lyon, France: IARC Press; 2003.
18. Ostor AG. Natural history of CIN: a critical review. Int J Gynecol Pathol. 1993; 12:186-192.
19. Holowaty P, Miller AB, Rohan T, To T. Natural history of dysplasia of the uterine cervix. J Natl Cancer Inst. 1999; 91:252-258.
20. Loopik DL, Doucette S, Bekkers RL, Bentley JR. Regression and progression predictors of CIN 2 in women younger than 25 years. J Low Genit Tract Dis. 2016; 20(3):213-217.
21. Almote M, Hernandez ML, Cuzick J. New Technologies for Cervical Cancer Screening. In: Ayhan A, Reed N, Gultekin M, Dursun P, editors. Textbook in Gynaecological Oncology. 3rd ed. Ankara, Turkey: Gunes Publishing; 2016. p. 236-246.
22. Cuzick J, Bergeron C, Von Knebel Doeberitz M, Gravitt P, Jeronimo J, Lorincz AT. New technologies and procedures for cervical cancer screening. Vaccine. 2012; 30(5):107-16.

23. Klug SJ, Neis KJ, Harlfinger W, Malter A, Konig J, Spieth S. A randomized trial comparing conventional cytology to liquid-based cytology and computer assistance. *Int J Cancer*. 2013; 132(12):2849-57.
24. De May M, editor. *Practical principles of Cytopathology*. Revised edition. Chicago, Illinois, USA: American Society for Clinical Pathology Press; 2007.
25. European Commission. *European Guidelines for Quality Assurance in Cervical Cancer Screening*. 2nd ed. Luxembourg: Office for Official Publishing of the European Communities; 2008.
26. Von KL, Arbyn M, De Vuyst H, Dillner J, Dillner L, Franceschi S. *European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening. Summary of the supplements on HPV screening and vaccination*. *Papillomavirus Research*. 2015.
27. ACOG. *Practice Bulletin No. 157 Summary. Cervical Cancer Screening and Prevention*. *Obstet Gynecol*. 2016; 127(1):185-187.
28. McPherson R, Pincus M, editors. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 23rd ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2017.
29. Tuggy M, Garcia J. *Colposcopy Examination*. In: Tuggy M, Garcia J, editors. *Atlas of Essential Procedures*. 1st ed. Philadelphia, USA: Elsevier Saunders; 2011. p. 123-127.
30. Spitzer M. *Colposcopy: Pitfalls and Tricks of the Trade*. *Colposcopy: Principles and Practice*. 2nd ed. Philadelphia, USA: Saunders; 2008. p. 521-530.
31. Tallitsch RB, Guastaferrri RS. *Female Reproductive System*. In: Tallitsch RB, Guastaferrri RS, editors. *HISTOLOGY: An Identification manual*. 1st ed. Illinois, USA: Mosby; 2009. p. 209-226.
32. Bosch FX, Lorinez A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol*. 2002; 55(4):244-265.
33. Cantor SB, Athinson EN, Cardenas-Turanzas M, Benedet JL, Follen M, Mac Aulay C. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a meta-analysis. *Acta Cytol*. 2005; 49(4):405-415.
34. Singh K, Balega J. *Cancer of the uterine cervix*. In: Shaw RW, Luesley D, Monga A, editors. *Gynaecology*. 4th ed. Oxford, England: Churchill Livingstone; 2011. p. 582-598.
35. Jhingran A, Russell AH, Seiden MV, Duska LR, Goodman AK, Lee SI, Digumarthy SR, Fuller AF. *Cancers of the cervix, vulva and vagina*. In: Niederhuber JE, Armitose JO, Doroshow JH, Kastan MB, Tepper JE, editors. *Abelff's Clinical Oncology*. 5th ed. Philadelphia, USA: Saunders; 2014. p. 1534-1574.

36. Hacker NF. Cervical dysplasia and cancer. In: Hacker NF, Gambone JC, Hobel CJ, editors. *Hacker & Moore's Essentials of Obstetrics and Gynecology*. 6th ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2016. p. 429-439.
37. Rakel RE, Houston T. Nicotine addiction. In: Rakel RE, Rakel DP, editors. *Textbook of Family Medicine*. 9th ed. Philadelphia, USA: Saunders; 2016. p. 1133-1151.
38. U.S. Departments of Health and Human Services, 2006. U.S. Departments of Health and Human Services: The health consequences of involuntary exposure to tobacco smoke: a report of the Surgeon General. Atlanta: U.S. Departments of Health and Human Services, 2006.
39. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer, 2006. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer: Carcinoma of the cervix and tobacco smoking: collaborative reanalysis of individual data on 13 541 women with carcinoma of the cervix and 23 017 women without carcinoma of the cervix from 23 epidemiological studies. *Int J Cancer*. 2006; 118:1481-1495.
40. Капеу AS, Luostarinen T, Jellum E. Is smoking an independent risk factor for invasive cervical cancer? A nested case-control study within Nordic biobanks. *Am J Epidemiol*. 2009; 169(4):480-488.
41. Ball JW, Dains JE, Flynn JA, Solomon BS, Stewart RW. Female Genitalia. In: Ball JW, Dains JE, Flynn JA, Solomon BS, Stewart RW, editors. *Seidel's Guide to Physical Examination*. 8th ed. St. Louis, Missouri: 2015. p. 415-465.
42. Hudson T, Murray MT. Cervical Dysplasia. In: Pizzorno JE, Murray MT, editors. *Textbook of Natural Medicine*. 4th ed. St. Louis, Missouri; 2013. p. 1285-1292.
43. Tomita L, Filho A, Costa M. Diet and serum micronutrients in relation to cervical neoplasia and cancer among low-income Brazilian women. *Int J Cancer*. 2009; 126:703-714.
44. Ghosh C, Baker J, Moysich K. Dietary intakes of selected nutrients and food groups and risk of cervical cancer. *Nutrition and Cancer*. 2008; 60:331-341.
45. Kahn JA, Rosenthal SL, Succop PA, Ho GY, Burk RD. Mediators of the association between age of first sexual intercourse and subsequent human papillomavirus infection. *Pediatrics*. 2002; 109(1):E5.
46. Plummer M, Peto J, Franceschi S. Time since first intercourse and the risk of cervical cancer. *Int J Cancer*. 2012; 130(11):2638-2644.
47. Smith RP. Cervical Cancer. In: Smith RP, editor. *Nitter's Obstetrics and Gynaecology*. 2nd edition. Philadelphia, USA: Saunders; 2008. p. 257-259.

48. Crafton S, Nekkanti S, Lynch C, Cohn DE, Fowler JM, Copeland LJ, O'Malley DM, Salani R, Backes FJ, Eisenhauer EL. Documentation of pregnancy risk assessment and pregnancy among women presenting for gynecologic oncology consultation. *Int J Gynecol Cancer*. 2016; 26(1):35-42.
49. Munoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, Shah KV, Meijer CJ, Bosch FX. International Agency for Research on Cancer Multicentric Cervical Cancer Study G (2002). Role of party and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet*. 2002; 359:1093-1101.
50. Hinkula M, Pukkala E, Kyronen P, Laukkanen P, Koskela P, Paavonen J, Lehtinen M, Kauppila A. A population-based study on the risk of cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia among grand multiparous women in Finland. *Br J Cancer*. 2004; 90(5):1025-9.
51. International Collaboration of Epidemiologic Studies of Cervical Cancer (ICESCC), 2007. International Collaboration of Epidemiologic Studies of Cervical Cancer (ICESCC): Comparison of risk factors for invasive squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the cervix: Collaborative reanalysis of individual data on 8 097 women with squamous cell carcinoma and 1374 women with adenocarcinoma from 12 epidemiological studies. *Int J Cancer*. 2007; 120:885-891.
52. Hong Y, Zhang C, Li X, Lin D, Liu Y. HPV and cervical cancer related knowledge, awareness and testing behaviors in a community sample of female sex workers in China. *BMC Public Health*. 2013; 13:696.
53. Glasier A. Contraception. In: Jameson JL, De Groot LJ, Kretser DM, Giudice LC, Grossman AB, Melmed S, Potts JT, Weir GC, editors. *Endocrinology: Adult and Pediatric*. 7th ed. Philadelphia, USA: Saunders; 2016. p. 2297-2309.
54. International Collaboration of Epidemiological Studies on Cervical Cancer: Collaborative reanalysis of data from 16 573 women with and 35 509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *Lancet*. 2007; 370:1609-1621.
55. Centers for disease control and prevention: U.S. Medical Eligibility Criteria for Contraceptive Use, 2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2010; 59:1-86.
56. Vodicka EL, Babigumira JB, Mann MR, Kosgei RJ, Lee F, Mugo NR, Okech TC, Sakr SR, Garrison LP, Chung MH. Costs of integrating cervical cancer screening at an HIV clinic in Kenya. *Int J Gyneaeol Obstet*. 2017; 136(2):220-228.
57. Sansone M, Saccone G, Migliucci A, Saviano R, Capone A, Maruotti GM, Bruzzese D, Martinelli P. Screening for cervical carcinoma in HIV-infected women: Analysis of

- main risk factors for cervical cytology abnormalities. *J Obstet Gynaecol Res.* 2016. Doi: 10.1111/jog.13225.
58. Grulich AE, Von Leeuwen MT, Falster MO, Vojdic CM. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis. *Lancet.* 2007; 370:59-67.
59. Vermund SH, Bhatta MP, Sahasrabudhe VV. Papillomavirus infections. In: Cohen J, Opal SM, Powderly WG, editors. *Infectious Disease.* 3rd ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2010. p. 649-657.
60. De Abreu AL, Malaguti N, Souza RP, Uchimura NS, Ferreira EC, Pereira MW, Carvalho MD, Pelloso SM, Bonini MG, Gimenes F, Consolaro ME. Association of human papillomavirus, *Neisseria Gonorrhoeae* and *Chlamydia Trachomatis* co-infections on the risk on high-grade squamous intraepithelial cervical lesion. *Am J Cancer Res.* 2016; 6(6):1371-83.
61. Pirrota M, Ung L, Stein A, Mast TC. The psychosocial burden of human papillomavirus related disease and screening interventions. *Sex Transm Infect.* 2009; 85:508-513.
62. Sweet RL, Gibbs RS. *Infectious disease of the female genital tract.* Philadelphia, USA: Wolters Kluwer Health. Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
63. Ciuffo G. Imnesto positivo con filtrato di verruca volgare. *G Ital Mal Veneree.* 1907; 48:12-17.
64. Doorbar J, Quint W, Banks L. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine.* 2012; 30(5):55-70.
65. Bonnez W. *Guide to Genital HPV Diseases and Prevention.* New York, USA: Informa Healthcare Publishers; 2009.
66. Ayre JE. The vaginal smear; precancer cell studies using a modified technique. *Am J Obstet Gynecol.* 1949; 58:1205-1219.
67. Papanicolaou G. *Atlas of exfoliative cytology.* Cambridge, MA: Harvard University Press; 1954: color plate A-IV.
68. Koss LG, Durfee GR. Unusual patterns of squamous epithelium of the uterine cervix: cytologic and pathologic study of koilocytotic atypia. *Ann NY Acad Sci.* 1956; 63:1245-61.
69. Ayre JE. Role of the halo cell in cervical cancerigenesis. A virus manifestation in premalignancy? *Obstet Gynecol.* 1960; 15:481-91.

70. Rowson KE, Maky BW. Human Papova (wart) virus. *Bacterial Rev.* 1967; 31:110-131.
71. Orth G, Favre M, Groissant O. Characterization of a new type of human papillomavirus that causes skin wart. *J Virol.* 1977; 24:108-120.
72. Gissman L, Pfister H, Zur Hausen H. Human papillomaviruses: characterization of four different isolates. *J Virol.* 1982; 44:393-400.
73. Zur Hausen H. Condylomata acuminata and human genital cancer. *Cancer Res.* 1976; 36:794.
74. Gissmann L, zur Hausen H. Partial characterization of viral DNA from human genital warts (Condylomata acuminata). *Int J Cancer.* 1980; 25(5):605-9.
75. Gissmann L, Diehl V, Schultz-Coulon HJ. Molecular cloning and characterization of human papillomavirus DNA derived from a laryngeal papilloma. *J Virol.* 1982; 44(1):393-400.
76. Boshart M, Gissmann L, Ikenberg H. A new type of papillomavirus DNA, its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. *EMBO J.* 1980; 3(5):1151-7.
77. Howley PM. Infectious Agents and Cancer. In: Mendelsohn J, Gray JW, Howley PM, Israel MA, Thompson CB, editors. *The molecular Basis of Cancer.* 4th ed. Philadelphia, USA: Saunders; 2015. p. 79-101.
78. Southern EM. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol.* 1974; 98:503-17.
79. Brahic M, Haase AT. Detection of viral sequences of low reiteration frequency by in situ hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1978; 75:6125-9.
80. Gupta JW, Gupta PK, Rosenshein N. Detection of human papillomavirus in cervical smears. A comparison of in situ hybridization, immunocytochemistry and cytopathology. *Acta Cytol.* 1987; 31:387-96.
81. Stoler M, Broker T. In situ hybridization detection of human papillomavirus DNA and messenger RNA in genital condylomas and a cervical carcinoma. *Hum Pathol.* 1986; 17:1250-8.
82. Pierce CM, Menezes LJ, Paskett ED, Giuliano AR. Prevention of invasive cervical cancer in the United States: past, present and future. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012; 21(9):1402-8.
83. Schiffman M, Castle PE, Jeronimo J, Rodriguez AC, Wacholder S. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet.* 2007; 370:890-907.

84. Castle PE, Rodriquez AC, Burk RD. Short term persistence of human papillomavirus and risk of cervical precancer and cancer: population based cohort study. *BMJ*. 2009; 339-569.
85. Dunne EF, Unger ER, Sternberg M. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA*. 2007; 297(8):813-9.
86. Castle PE, Solomon D, Schiffman M, Wheeler CM. Human papillomavirus type 16 infections and 2-year absolute risk of cervical precancer in women with equivocal or mild cytological abnormalities. *J Natl Cancer Inst*. 2005; 97:1066.
87. Moore EE, Danielewski JA, Garland SM. Clearance of human papillomavirus in women treated for cervical dysplasia. *Obstet Gynecol*. 2011; 117:101.
88. Lau S, Franco EL. Management of low-grade cervical lesions in young women. *CMAJ*. 2005; 173(7):771-4.
89. Bruni L, Diaz M, Castellsague X, Ferrer E, Bosch FX, de Sanjose S. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis*. 2010; 202(12):1789-99.
90. De Sanjose S, Diaz M, Castellsague X, Clifford G, Bruni L, Munoz N. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2007; 7(7):453-9.
91. Baseman JG, Koutsky LA. The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Viral*. 2005; 32:16-24.
92. Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine*. 2006; 24:1-15.
93. Plummer M, Schiffman M, Castle PE, Maucort-Boulch D, Wheeler CMA. 2-year prospective study of human papillomavirus persistence among women with a cytological diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance or low-grade squamous intraepithelial lesion. *J Infect Dis*. 2007; 195:1582-1589.
94. Frazer IH, Lowy DR, Schiller JT. Prevention of cancer through immunization: prospect and challenges for the 21st century. *Eur J Immunol*. 2007; 37:48-55.
95. Burchell AN, Winer RL, de Sanjose S, Franco EL. Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine*. 2006; 24(3):52-61.
96. Hernandez BY, Wilkens LR, Zhu X, Thompson P, Mc Duffie K, Shvetsov YB. Transmission of human papillomavirus in heterosexual couples. *Emer Infect Dis*. 2008; 14(6): 888-94.

97. Goodman MT, Shvetsov YB, Mc Duffie K, Wilkens LR, Zhu X, Ning L. Acquisition of anal human papillomavirus infection in women: the Hawaii HPV Cohort study. *J Infect Dis.* 2008; 197(7):957-66.
98. Kojic EM, Cu-Uvin S, Conley L, Bush T, Onyekwuluje J, Swan DC. Human papillomavirus infection and cytologic abnormalities of the anus and cervix among HIV-infected women in the study to understand the natural history of HIV/AIDS in the era of effective therapy (the SUN study). *Sex Trans Dis.* 2010.
99. Shvertsov YB, Hernandez BY, Mc Duffie K, Wilkens LR, Zhu X, Ning L. Duration and clearance of anal human papillomavirus infection among women: the Hawaii HPV cohort study. *Clinical infectious disease: an official publication of the infectious diseases of America.* 2009; 48(5):536-46.
100. Monk BJ, Tewari KS. The spectrum and clinical sequelae of human papillomavirus infection. *Gynecol Oncol.* 2007; 107:6-13.
101. Doorbar J, Egawa N, Griffin H, Kranjec C, Murakami I. Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Rev Med Virol.* 2015; 1:2-23.
102. Gupta PK, McGrath C. Microbiology, Inflammation and Viral Infections. In: Bibbo M, Wilbur DC, editors. *Comprehensive Cytopathology.* 4th ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2015. p. 82-118.
103. Bzhalava D, Eklund C, Dillner J. International standardization and classification of human papillomavirus types. *Virology.* 2015; 476:341-4.
104. Trimble CL, Katzenellenbogen R. Biology of Cervical Squamous Neoplasia. In: Mutter GL, Prat J, editors. *Pathology of the female reproductive tract.* 3rd ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2014. p. 188-199.
105. De Villiers E, Fauquete C, Broker TR. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 2004; 324:17-27.
106. Bouvard V, Baan R, Straif K. A review of human carcinogens-part B: biological agents. *Lancet Oncol.* 2009; 10(4):321-322.
107. De Villiers EM. Cross-roads in the Classification of Papillomaviruses. *Virology.* 2013; 445:2-10.
108. Cuzick J, Clavel C, Patry KU, Meijer CJ, Hoyer H, Ratnam S. Overview of the European and North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening. *Int J Cancer.* 2006; 119(5):1095-101.
109. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Munoz N, Snijders PJ, Vaccarella S. Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the

- International Agency for Research on Cancer. HPV prevalence surveys: a pooled analysis. *Lancet*. 2005; 366(9490):991-8.
110. De Vuyst H, Clifford G, Li N, Franceschi S. HPV infection in Europe. *Eur J Cancer*. 2009; 45(15):2632-9.
111. Zheng ZM, Baker CC. Papillomavirus genome structure, expression and post-transcriptional regulation. *Front Biosci*. 2006; 11:2286-302.
112. Grahovac B, Simat M, Krasevic M. Humani papilloma virus i karcinom cerviksa- imunopatogeneza i molekularna dijagnostika. *Medix*. 2005; 58:67-71.
113. Lobo RA, Gershenson DM, Lentz GM, Valea FA, editors. *Comprehensive Gynecology*. 7th ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2017.
114. Lazarczyk M, Cassonet P, Pons C. The EVER proteins as a natural barrier against papillomaviruses: a new insight into the pathogenesis of human papillomavirus infections. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2009; 73:348-370.
115. Pang CL, Thierry F. Human papillomavirus proteins as prospective therapeutic targets. *Microb Pathog*. 2013; 58:55-65.
116. Kadaja M, Silla T, Ustav E. Papillomavirus DNA replication: from initiation to genomic instability. *Virology*. 2009; 384:360-368.
117. Conway MJ, Mayers C. Replication and assembly of human papillomaviruses. *J Dent Res*. 2009; 88:307-317.
118. Klingelutz AJ, Roman A. Cellular transformation by human papillomavirus lesions learned by comparing high and low-risk viruses. *Virology*. 2012; 424:77-98.
119. Rautava J, Syrjanen S. Biology of human papillomavirus infections in head and neck carcinogenesis. *Head Neck Pathol*. 2012; 6:3-15.
120. Bonne W. Papillomavirus. In: Richman RD, Whitley RJ, Hayden FG, editors. *Clinical Virology*. 3rd ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2009. p. 603-644.
121. Garcea RL, di Maio D, editors. *The Papillomaviruses*. New York, USA: Springer; 2007.
122. Collen BN, Nash GJ, Kenneth AA. Human papillomaviruses. In: Cherry JD, Harrison GJ, Kaplan SL, Steinbach WJ, Hotez PJ, editors. *Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. 7th ed. Philadelphia, USA: Saunders; 2014. p. 1871-1887.
123. Nash CB, Harrison GJ, Alexander KA. Human Papillomaviruses. In: Cherry JD, Harrison GJ, Kaplan SL, Steinbach WJ, Hotez PJ, editors. *Feigin's and Charry's*

- Textbook of Pediatric Infections Disease. 7th ed. Philadelphia, USA: Saunders; 2014. p. 1871-1887.
124. Duensing S, Munger K. The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins independently induce numerical and structural chromosome instability. *Cancer Res.* 2002; 62:7075-82.
125. Munger K, Baldwin A, Edwards KM, Hayakawa H, Nguyen CL. Mechanisms of human papillomavirus induced oncogenesis. *J Virol.* 2004; 78:11451-11460.
126. Dell G, Gaston K. Human papillomaviruses and their role in cervical cancer. *Cell Mol Life Sci.* 2001; 58:1923-42.
127. Cattani P. Clinical performance of human papillomavirus E6 and E7 mRNA testing for high-grade lesions of the cervix. *J Clin Microbiol.* 2009; 47:3895-4019.
128. Ganguly N, Parihar SP. Human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins as risk factors for tumorigenesis. *J Biosci.* 2009; 34:113-123.
129. Jeon S, Lambert PF. Integration of human papillomavirus type 16 DNA into the human genome leads to increased stability of E6 and E7 mRNAs: implications for cervical carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92:1654-1658.
130. Pett M, Coleman N. Integration of high-risk human papillomavirus: a key event in cervical carcinogenesis? *J Pathol.* 2007; 212:356-367.
131. Kottaridi C, Tsiodras S, Spathis A, Chranioti A, Pappas A. Clinical performance of human papillomavirus E6/E7 mRNA flow cytometric assay compared to human papillomavirus DNA typing. *Anal Quant Cytol Histol.* 2011; 33:305-310.
132. Narimatsu R, Patterson BK. High-throughput cervical cancer screening using intracellular human papillomavirus E6 and E7 mRNA quantification by flow cytometry. *Am J Clin Pathol.* 2005; 123:716-723.
133. Molden T, Kraus I, Karlsen F, Skomedal H, Hagmar B. Human papillomavirus E6/E7 mRNA expression in women younger than 30 years of age. *Gynecol Oncol.* 2006; 100:95-100.
134. Coquillard G, Palao B, Patterson BK. Quantification of intracellular HPV E6/E7 mRNA expression increases the specificity and predictive value of cervical cancer screening compared to HPV DNA. *Gynecol Oncol.* 2011; 120:89-93.
135. Yim EK, Park JS. Biomarkers in cervical cancer. *Biomark insights.* 2006; 1:215-225.
136. Burger EA, Kornor H, Klemp M, Lauvrak V, Kristiansen IS. HPV mRNA test for the detection of cervical intraepithelial neoplasia: a systematic review. *Gynecol Oncol.* 2011; 12:430-438.

137. Ressler S, Scheiden R, Dreier K, Laich A, Muller-Holzner E, Pircher H, Morandelli D, Stein I, Viertler HP, Santer FR, Widschwendter A, Even J, Durr PJ, Capesius C, Zwerschke W. High-risk human papillomavirus E7 oncoprotein detection in cervical squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2007; 13(23):7067-72.
138. Argyri E, Tsimplaki E, Daskalopoulou D, Stravopodis JD, Kouikoglou O, Terzakis E, Panotopoglou E. E6/E7 mRNA expression of high-grade HPV types in 849b Greek women. *Anticancer Res.* 2013; 33(9):4007-11.
139. Castle PE, Dockter J, Giachetti G, Garcia FER, McCormick MK. A cross-sectional study of a prototype carcinogenic human papillomavirus E6/E7 messenger RNA assay for detection of cervical precancer and cancer. *AACR.* 2007; 13:2599-2605.
140. Molden T, Kraus I, Karsen F, Skomedal H, Nygar JF, Hagmar B. Comparison of human papillomavirus messenger RNA and DNA detection: a cross-sectional study of 4136 women >30 years of age with a 2-year follow-up of high-grade squamous intraepithelial lesion. *Cancer Epidemiol.* 2005; 14:367-372.
141. Hawley PM, Schiller JT, Lowy DR. Papillomaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Virology.* 6th ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. p. 1663-1703.
142. Moody CA, Laimins LA. Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer.* 2010; 10:550-560.
143. Bibbo M, Wilbur DC, editors. *Comprehensive Cytopathology.* Philadelphia, USA: Saunders; 2015.
144. Doorbar J. The Papillomavirus life cycle. *J Clin Virol.* 2005; 32(1):7-15.
145. Doorbar J. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clin Sci Lond.* 2006; 110(5):525-541.
146. Vinokurova S, von Knebel Doederitz M. Differential methylation of the HPV 16 upstream regulatory region during epithelial differentiation and neoplastic transformation. *PLoS ONE.* 2011; 6(9):e24451.
147. Conesa-Zamora P. Immune response against virus and tumor in cervical carcinogenesis: treatment strategies for avoiding the HPV-induced immune escape. *Gynecol Oncol.* 2013; 131(2):480-8.
148. Groves IJ, Coleman N. Pathogenesis of human papillomavirus-associated mucosal disease. *J Pathol.* 2015; 235(4):527-38.
149. Bergeron C. Cervicovaginal cytology: normal and abnormal cells and adequacy of specimens. In: Ayhan A, Reed N, Gultekin M, Dursun P, editors. *Textbook in*

- Gynaecological Oncology. 3rd ed. Ankara, Turkey: Gunes Publishing; 2016. p. 336-342.
150. Rositch AF, Koshiol J, Hudgens MG, Razzaghi H, Backes DM, Pimenta JM. Patterns of persistent genital human papillomavirus infection among women worldwide: a literature review and meta-analysis. *Int J Cancer*. 2013; 13(6):1271-85.
151. Anagnostopoulos A, Green JA. HPV and Cervical Carcinogenesis. In: Ayhan A, Reed N, Gultekin M, Dursun P, editors. *Textbook in Gynaecological Oncology*. 3rd ed. Ankara, Turkey: Gunes Publishing; 2016. p. 201-206.
152. Wang ZX, Peiper S. HPV detection techniques. In: Bibbo M, Wilbur DC, editors. *Comprehensive Cytology*. 4th ed. Philadelphia, USA: Elsevier Saunders; 2015. p. 926-932.
153. Howie HL, Katzenellenbogen RA, Galloway DA. Papillomavirus E6 proteins. *Virology*. 2009; 384(2):324-34.
154. Huh K, Zhou X, Kayakawa H. Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein associates with the cullin 2 ubiquitin ligase complex, which contributes to degradation of the retinoblastoma tumor suppressor. *J Virol*. 2007; 81(18):9737-47.
155. Duensing S, Duensing A, Crum CP. Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein-induced abnormal centrosome synthesis is an early event in the evolving malignant phenotype. *Cancer Res*. 2001; 61(6):2356-60.
156. Korzeniewski N, Treat B, Duensing S. The HPV-16 E7 oncoprotein induces centriole multiplication through deregulation of Polo-like kinase 4 expression. *Mol Cancer*. 2011; 10:61.
157. Gustafson KS, Clark DP. *Molecular Cytopathology*. In: Tubbs RR, Stoler MH, editors. *Cell and tissue based molecular pathology: a volume in the foundations in diagnostic pathology series*. 1st ed. Philadelphia, USA: Churchill Livingstone; 2009. p. 167-180.
158. Von Knebel Doeberitz M, Wentzensen N. The cell: Basic Structure and Function, and Molecular Basis of Neoplasia. In: Babblo MB, Wilbur DC, editors. *Comprehensive Cytopathology*. 4th ed. Philadelphia, USA: Saunders; 2015. p. 3-21.
159. Thomas M, Banks L. Inhibition of Bak-induced apoptosis by HPV-18 E6. *Oncogene*. 2008; 17(23):2943-54.
160. Kranjec C, Banks L. A systematic analysis of human papillomavirus (HPV) E6 PDZ substrate identifies MAGI-1 as a major target of HPV type 16 (HPV-16) and HPV-18 whose loss accompanies disruption of tight junctions. *J Virol*. 2011; 85(4):1753-64.

161. Meeker AK, de Marzo AM. Recent advances in telomere biology: implications for human cancer. *Curr Opin Oncol*. 2004; 16:32-38.
162. Schaeffer AJ, Nguyen M, Liem A. E6 and E7 oncoproteins induce distinct patterns of chromosome aneuploidy in skin tumors from transgenic mice. *Cancer Res*. 2004; 64:538-546.
163. Bischof O, Necerddine K, Dejean A. Human Papillomavirus oncoprotein E7 targets the promyelocytic leukemia protein and circumvents cellular senescence via the Rb and p53 tumor suppressor pathways. *Mol Cell Biol*. 2005; 25:1013-1024.
164. Ramanakumar AV, Goncalves O, Richardson H, Tillier P, Ferenczy A, Coutlee F. Human papillomavirus type 16, 18, 31, 45 DNA loads and HPV-16 integration in persistent and transient infections in young women. *BMC infect Dis*. 2010; 10:326.
165. Mutter GL, Prae J, editors. *Pathology of the female reproductive tract*. 3rd ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2014.
166. Wentzensen N, Vinokurova S, von Knebel Doeberitz M. Systematic review of genomic integration of human papillomavirus genomes in epithelial dysplasia and invasive cancer of the female lower genital tract. *Cancer Res*. 2004; 64(11):3878-84.
167. Hopman AH, Smedts F, Dignef W. Transition of high-grade cervical intraepithelial neoplasia to micro-invasive carcinoma is characterized by integration of HPV 16/18 and numerical chromosome abnormalities. *J Pathol*. 2004; 202:23-33.
168. Thorland EC, Myers SL, Gostout BS. Common fragile sites are preferential targets for HPV 16 integrations in cervical tumors. *Oncogene*. 2003; 22:1225-1237.
169. Yu T, Ferber MJ, Cheung TH. The role of viral integration in the development of cervical cancer. *Cancer Gen Cytogen*. 2005; 158:27-34.
170. Harris CP, Lu XY, Narayan G. Comprehensive molecular cytogenetic characterization of cervical cancer cell lines. *Genes Chromosomes Cancer*. 2003; 36:233-241.
171. Bequet-Romero M, Lopez-Ocejo O. Angiogenesis modulators expression in culture cell lines positives for HPV-16 oncoproteins. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000; 277:55-61.
172. Vinther J, Rosenstjerne MW, Kristiansen K. The 3 region of human papillomavirus type 16 early mRNAs decrease expression. *BMC Infect Dis*. 2005; 5:83.
173. Roman A, Spartz H, Brown DR. Human Papillomaviruses and Mechanisms of Oncogenesis. In: Apgar BS, Brotzman GL, Spitzer M, editors. *Colposcopy, Principles and Practice*. 2nd ed. Philadelphia, USA: Saunders; 2008. p. 21-33.

174. Duensing S, Munger K. Centrosome abnormalities, genomic instability and carcinogenic progression. *Biochim Biophys Acta*. 2001; 1471:81-88.
175. Pett MR, Alazawi WO, Roberts I. Acquisition of high-level chromosomal instability is associated with integration of human papillomavirus type 16 in cervical keratinocytes. *Cancer Res*. 2004; 64:1359-1368.
176. Egawa N, Egawa K, Griffin H, Doorbar J. Human Papillomaviruses; Epithelial Tropisms and the Development of Neoplasia. *Viruses*. 2015; 7(7):3863-90.
177. Moscicki AB, Schiffman M, Kjaer S. Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine*. 2006; 24(3):42-51.
178. Banerjee NS, Genovese NJ, Noya F. Conditionally activated E7 proteins of high-risk and low-risk human papillomaviruses induce S phase in postmitotic, differentiated human keratinocytes. *J Virol*. 2006; 80:6517-6524.
179. Zhang B, Chen W, Roman A. The E7 proteins of low-risk and high-risk human papillomaviruses share the ability to target the pRB family member p130 for degradation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103:437-442.
180. Thomas MC, Chiang CM. E6 oncoprotein represses p53-dependent gene activation via inhibition of protein acetylation independently of inducing p53 degradation. *Mol Cell*. 2005; 17:251-264.
181. Duensing S, Lee LY, Duensing A. The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins cooperate to induce mitotic defects and genomic instability by uncoupling centrosome duplication from the cell division cycle. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97:10002-10007.
182. Moscicki AB, Shiboski S, Hills NK. Regression of low-grade squamous intraepithelial lesions in young women. *Lancet*. 2004; 364:167-883.
183. Cox JT, Schiffman M, Solomon D. Prospective follow-up suggests similar risk of subsequent cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 among women with cervical intraepithelial neoplasia grade 1 or negative colposcopy and directed biopsy. *Am J Obstet Gynecol*. 2003; 188:1406-1412.
184. Goldie SJ, Kohli M, Grima D. Projected clinical benefits and cost-effectiveness of a human papillomavirus 16/18 vaccine. *J Natl Cancer Inst*. 2004; 96:604-615.
185. Schiffman M, Rodriguez AC. Heterogeneity in CIN 3 diagnosis. *Lancet Oncol*. 2008; 9:404-406.

186. Rodriguez AC, Schiffman M, Herrero R. Longitudinal study of human papillomavirus persistence and cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3: critical role of duration of infection. *J Natl Cancer Inst.* 2010; 102: 315-324.
187. Wright JTC, Massad LS, Dunton CJ. 2006 American Society for Colposcopy and Cervical Pathology-sponsored Consensus Conference. 2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. *J Low Genit Tract Dis.* 2007; 11:223-239. Erratum in: *J Low Genit Tract Dis.* 2008; 12:63.
188. Castle PE, Schiffman M, Wheeler CM, Solomon D. Evidence for frequent regression of cervical intraepithelial neoplasia grade 2. *Obstet Gynecol.* 2009; 113:18-25.
189. Moscicki AB, Ma Y, Wibbelsman C. Rate of and risk for regression of cervical intraepithelial neoplasia 2 in adolescents and young women. *Obstet Gynecol.* 2010; 116:1373-1380.
190. Zur Hausen H. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer.* 2002; 2(5):342-350.
191. Tjalma WAA, Trinh XB, Rosenlund M, Maker AP, Kridelka F, Rosillon D, Van Dam PA, Collas De Souza, Holl K, Simon P, Jenkins D. A cross-sectional, multicenter, epidemiological study on human papillomavirus (HPV) type distribution in adult women diagnosed with invasive cervical cancer in Belgium. *Facts Views Vis Obgyn.* 2015; 7(2):101-108.
192. Munoz N, Bosch FX, Castelsague X, Diaz M, de Sanjose S, Hammouda D. Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen? The international perspective. *Int J Cancer.* 2004; 111(2):278-85.
193. De Sanjose S, Quint WG, Alemany L. Retrospective International Survey and HPV Time Trends Study Group. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol.* 2010; 14(11):1048-56.
194. Munoz N, Bosch FX, Sanjose S. International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003; 348(6):518-27.
195. Jemal A, Simard EP, Dorelli C, Noone AM, Watson M, Schiffman M. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer 1975-2009, featuring the burden and trends in

- Human Papillomavirus (HPV) – associated cancers and HPV coverage levels. *J Natl Cancer Inst.* 2013; 105(3):175-201.
196. Clifford GM, Rana RK, Franceschi S. Comparison of HPV Type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer J.* 2003; 89:101-5.
197. Xiao M, Xu Q, Li H, Gao H, Bie Y, Zhang Z. Prevalence of human papillomavirus genotypes among women with high-grade cervical lesions in Beijing, China. *Medicine.* 2016; 95(3):2555.
198. Nowakowski A, de Souza SC, Jach R, Rosillon D, Ksiazek A, Holl K. HPT-type distribution and reproducibility of histological diagnosis in cervical neoplasia in Poland. *Pathol Oncol Res.* 2015; 21(3):703-11.
199. Rossler L, Reich O, Horvat R, de Souza SC, Holl K, Joura EA. Human papillomavirus in high-grade cervical lesions: Austrian data of a European multicenter study. 2013; 125(19-20):591-9.
200. Smith JS, Lindsay L, Hoots B. Human papillomavirus type distribution in invasive cervical cancer and high-grade cervical lesions: a meta-analysis update. *Int J Cancer.* 2007; 121:621-632.
201. Moscicki AB, Ma Y, Farhat S. Redetection of cervical HPV 16 in women with a previous history of HPV 16. *J Infect Dis.* 2013; 208(3):403-412.
202. Moscicki AB. Human Papillomaviruses. In: Kliegman RM, Stanton BF, Geme JW, Schor NF, editors. *Nelson Textbook of Pediatrics.* 20th ed. Philadelphia, USA: Elsevier; 2016. p. 1618-1622.
203. Silveira FA, Almeida G, Furtado YL, Cavalcanti S, Silva KS, Maldonado P, Carvalho MG. The association of HPV genotype with the regression, persistence or progression of low-grade squamous intraepithelial lesions. *Exp Mol Pathol.* 2015; 99(3):702-6.
204. Melinte-Popescu A, Costachescu G. The degree of agreement between HPV testing, PAP smear and colposcopy in cervical dysplasia diagnosis. *Rev Med Chir Soc Med Nat.* 2012; 116(2):536-9.
205. Ye J, Cheng B, Cheng YF, Yao YL, Xie X, Lu WG, Cheng XD. Prognostic value of human papillomavirus 16/18 genotyping in low-grade cervical lesions preceded by mildly abnormal cytology. *J Zhejiang Univ Sci.* 2017; 18(3):249-255.
206. Villa LL, Denny L. Methods for detection of HPV infection and its clinical utility. *Int J Gyn Obst.* 2006; 94:71-80.

207. Porras C, Bennett C, Safaeian M, Coseo S, Rodriguez AC, Gonzalez P. Costa Rica HPV vaccine trial (CVT) group: determinants of seropositivity among HPV-16/18 DNA positive young women. *BMC Infect Dis.* 2010; 10:238.
208. Wright TCJ, Stoler MH, Behrens CM. The ATHENA human papillomavirus study: desing, methods and baseline results. *Am J Obstet Gynecol.* 2012; 206(1):46.
209. Shen-Gunther J, Yu X. HPV molecular assays: defining analytical and clinical performance characteristics for cervical cytology specimens. *Gynecol Oncol.* 2011; 123:263-271.
210. Abreu ALP, Souza RP, Gimenes F, Consolaro MEL. A review of methods for detect human papillomavirus infection. *Virology Journal.* 2012; 9:262.
211. Avashia G. Polymerase Chain Reaction. *Journal of Investigative Dermatology.* 2013; 133:1-4.
212. Mendez-Pena JE, Sadow PM, Nose V, Hoang MP. RNA chromogenic in situ hybridization assay with clinical autometed platform is a sensivive method in detecting high-risk human papillomavirus in squamous cell carcinoma. *Hum Pathol.* 2017; 63:184-189.
213. Cuzick J, Arbyn M, Sankaranarayanan R, Tsu V, Ronco G, Mayrand MH. Overview of human papillomavirus-based and other novel options for cervical cancer screening in developed and developing countries. 2008; 26:29-41.
214. Pannier-Stockman C, Segard C, Bannamar S, Gondrry J, Boulanger JC, Sevestre H. Prevalence of HPV genotypes determined by PCR and DNA sequencing in cervical specimens from French women with or without abnormalities. *J Clin Virol.* 2008; 42:353-360.
215. Rosenblatt S, Wroclawski ER, Lucon AM, Pereyra EAG, editors. *HPV in Clinical Practice.* Sao Paulo: Atheneu; 2005.
216. Hwang SJ, Shroyer KR. Biomarkers of Cervical Dysplasia and Carcinoma. *Journal of Oncology.* 2012; 2012:9
217. Andersson E, Karrberg C, Radberg T, Blomqvist L, Zetterqvist BM, Ryd W, Lindh M, Horal P. Type-Specific Human Papillomavirus E6/E7 mRNA Detection by Real-Time PCR Improves Identification of Cervical Neoplasia. *J Clin Microbiol.* 2011; 49:11.
218. Bohmer A, Schildgen V, Lusebrink J, Ziegler S, Tillmann RL, Kleines M, Schildgen O. Novel application for isothermal nucleic acid sequence-based amplification (NASBA). *J Virol Methods.* 2009; 158(1-2):199-201.

219. Munson E, Kroegel L, Balzer S, Amrhein R, Munson KL, Mapierala M, Hudspeth R, Dillon PJ. Comparison of commercial hybridization and automated transcription-mediated amplification modalities for detection high-risk human papillomavirus nucleic acid. *J Clin Microbiol.* 2014; 52(1):331-4.
220. Coquillard G, Palao B, Patterson BK. Quantification of intracellular HPV E6/E7 mRNA expression increases the specificity and positive predictive value of cervical cancer screening compared to HPV DNA. *Gynecol Oncol.* 2011; 120(1):89-93.
221. Sorbye SW, Arbyn M, Fismen S, Gutteberg TJ, Mortensen. HPV E6/E7 mRNA Testing Is More Specific than Cytology in Post-Colposcopy Follow-Up of Women with Negative Cervical Biopsy. *PLoS ONE.* 2011; 6(10):e26022.
222. Kraus I, Molden T, Holm R, Lie AK, Karlsen F. Presence of E6 and E7 mRNA from Human Papillomavirus Types 16, 18, 31, 33 and 45 in the Majority of Cervical Carcinomas. *J Clin Microbiol.* 2006; 44:1310–1317.
223. Gad GFM, El-Adawy AR, Mohammed MS, Ahmed AF, Mohammed HA. Evaluation of different diagnostic methods of bacterial vaginosis. *IOSP-JDMS.* 2014; 13:15-23.
224. Djukic S, Opavski N, Mijac V, Ranin L. Current knowledge of bacterial vaginosis. *Srp Arh Celok Lek.* 2011; 139(5-6):402-8.
225. Djukic S. Bakterijska vaginoza u trudnoci. Beograd: Univerzitet u Beogradu; 2000.
226. Forsum U, Holst E, Larsson PG, Vasques A, Jakobsson T, Mattsby-Baltzer I. Bacterial vaginosis-a microbiological and immunological enigma. *APMIS.* 2005; 113:81-90.
227. Yan DH, Lu Z, Su RJ. Comparison of main *Lactobacillus* species between women and women with bacterial vaginosis. *Chin Med J.* 2009; 122:2748-51.
228. Eriksson K. Bacterial Vaginosis: Diagnosis, Prevalence and Treatment. Linkoping, Sweden: Unitryck; 2011.
229. Doderlein A. Das Scheidensekret und seine Bedeutung fur das Puerperalfieber. Leipzig, Germany: Verlag von Eduard Besold; 1892.
230. Hillier S. Normal Genital Flora. In: Holmes K, Sparling P, Stamm W, Wasserheit J, Corey L, Cohen M, Watts D, editors. Sexually transmitted diseases. New York: The McGraw-Hill Company; 2008.
231. Hjelm E, Hallen A, Forsum U, Wallin J. Anaerobic curved rods in vaginitis. *Lancet.* 1981; 1354-1357.
232. Spiegel C, Roberts M. Curved Rods from the Human Vagina. *Int J System Bacter.* 1984; 34:177-184.

233. Curtis AH. On the etiology and bacteriology of leucorrhoea. *Surg Gynecol Obstet.* 1914; 18:299-306.
234. Schroder R. Zur Pathogenese und Klinik des vaginalen Fluors. *Zentralbl Gynakol.* 1921; 38:1350-1361.
235. Gardner HL, Dukes CD. Haemophilus vaginalis vaginitis. A newly defined specific infection previously classified "nonspecific" vaginitis. *Am J Obstet Gynecol.* 1955; 69:962-976.
236. Totten PA, Amsel R, Hale J, Piot P, Holmes KK. Selective differential human blood bilayer media for isolation of Gardnerella Vaginalis. *J Clin Microbio.* 1982; 15:141-147.
237. Mardh PA, Taylor-Robinson D. Bacterial Vaginosis. *Scand J Urol Nephrol.* 1984; Suppl.86.
238. Verstraelen H, Ver Helst R. Bacterial vaginosis: an update on diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2009; 7:1109-1124.
239. Makarova K, Slesarev A, Wolf Y, Sorokin A, Mirkin B, Koonin E, Pavlov A, Pavlova N. Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Natl Acad Sci USA.* 2006; 103(42):15611-6.
240. Bing Ma, Forney LJ, Rawel J. Vaginal Microbiome: Rethinking Health and Disease. *Ann Rev Microbiol.* 2012; 66(1):371-389.
241. Basharat Z, Yasmin A. Survey of compound microsatellites in multiple Lactobacillus genomes. *Can J Microbiol.* 2015; 61(12):898-902.
242. Hay P. Life in the littoral zone: lactobacilli losing the plot. *Sex Transm Infect.* 2005; 81:100-102.
243. Donati L, Di VA, Nucci M, Quagliozzi L, Spagnuolo T, Labianca A, Bracaglia M, Ianniello F, Caruso A, Paradisi G. Vaginal microbial flora outcome of pregnancy. *Arch Gynecol Obstet.* 2010; 281:589-600.
244. Khan FZ. Microbial infections in females of childbearing age and therapeutic interventions. *Raw Med J.* 2011; 36(3):178-181.
245. Harwich MD, Alves JM, Buck GA, Strauss JF, Pattersol JL, Oki AT, Girerd PH, Jefferson KK. Drawing the line between commensal and pathogenic Gardnerella Vaginalis through genome analysis and virulence studies. *BMC Genomics.* 2010; 11:375.

246. Gelber SE, Aguilar JL, Lewis KLT, Ratner AJ. Functional and Phylogenetic Characterization, the Human-Specific Cytolysin from *Gardnerella Vaginalis*. *J Bacteriol.* 2008; 190(11):3896-3903.
247. Santiago LS, Deschaght GP, El Aila N, Kiama TN, Verstraelen H, Jefferson KK, Temmerman M, Vaneechoutte M. *Gardnerella Vaginalis* comprises three distinct genotypes of which only two produce sialidase. *Am J Obstet Gynecol.* 2011; 204:450.e1-450.e7.
248. Clark N, Tal R, Sharma H, Segars J. Microbiota and Pelvic Inflammatory Disease. *Sem Rep Med.* 2014; 32(1):43-49.
249. Schwebke JR, Lawing LF. Prevalence of *Mobiluncus* Species among women with and without bacterial vaginosis as detected by polymerase chain reaction. *Sex Transm Dis.* 2001; 28(4):195-9.
250. Tanaka S, Yoshida M, Marakami Y. The relationship of *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* and *Prevotella melaninogenica* in the supragingival plaque of children, caries and oral malodor. *J Clin Pediatr Dent.* 2008; 32(3):195-200.
251. Fredricks DN, Fiedler TL, Marrazzo JM. Molecular identification of bacteria associated with bacterial vaginosis. *N Engl J Med.* 2005; 353:1899-1911.
252. Lukens JR, Gurung P, Vogel P, Johnson GR, Carter RA, McGoldrick DJ, Bandi SR, Calabrese CR, Walle LV. Dietary modulation of the microbiome affects autoinflammatory disease. *Nature.* 2014; 516(7530):246-249.
253. Madigan M, Martinko J, editors. *Brock Biology of Microorganisms*. 11th ed. New York: Prentice Hall; 2005.
254. Wexler HM. Bacteroides: the good, the bad and the nitty-gritty. *Clin Microbiol Rev.* 2007; 20(4):593-621.
255. Ryan KJ, Ray CG, editors. *Sherris Medical Microbiology*. 4th ed. New York: McGraw Hill; 2004.
256. Hoffman B. *Williams Gynecology*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 2012.
257. Mastromarino P, Vitali B, Mosca L. Bacterial vaginosis: a review on clinical trials with probiotics. *New Microbiologica.* 2013; 36:229-238.
258. Wilson M. *Microbial Inhabitants of Humans: Their Ecology and Role in Health and Disease*. Cambridge: Cambridge University Press; 2005.
259. Liu MB, XU SR, He Y, Deng GH, Sheng HF, Huang XM, Ouyang CY, Zhou HW. Diverse vaginal microbiomes in reproductive-age women with vulvovaginal candidiasis. *PLoS One.* 2013; 8(11):e79812.

260. Oakley BB, Fiedler TL, Marrazzo JM, Fredricks DN. Diversity of human vaginal bacterial communities and associations with clinically defined bacterial vaginosis. *Appl Environ Microbiol.* 2008; 74:4898-4909.
261. Burton JP, Reid G. Evaluation of the vaginal bacterial flora of 20 postmenopausal women by direct (Nugent score) and molecular (polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis) techniques. *J Infect Dis.* 2002; 186:1770-1780.
262. Zhou X, Bent SJ, Schneider MG, Davis CC, Islam MR, Forney L. Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. *Microbiology.* 2004; 150:2565-2573.
263. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, Mcculle SL. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2011; 108(1):4680-4687.
264. Morris M, Nicoll A, Simms I. Bacterial vaginosis: a public health review. *Br J Obstet Gynaecol.* 2001; 108:439-50.
265. Rao PS, Devi S, Shriyan A, Rajaram MK, Chandra J. Diagnosis of bacterial vaginosis in a rural setup : Comparison of clinical algorithm, smera scoring and culture by semiquantitative technique. *Indian J Med Microbiol.* 2004; 22: 47-50.
266. Taj Y, Nasir D, Kahkashan N, Anjum A. Sensitivity and specificity of rapid clinical diagnostic test for bacterial vaginosis and its analytical value. *J Dow Uni Health Sci.* 2012; 6(3):91-94.
267. Larsson PG, Carlsson B, Fahraeus L, Jakobsson T, Forsum U. Diagnosis of bacterial vaginosis: need for validation of microscopic image area used for scoring bacterial morphotypes. *Sex Transm Infect.* 2004; 80:63-67.
268. Smart S, Sinal A, Mindel A. Social and sexual risk factors for bacterial vaginosis. 2004; 80:58-62.
269. Morris MC, Rogers PA, Kinghorn GR. Is bacterial vaginosis a sexually transmitted infection? *Sex Transm Inf.* 2001; 77:63-68.
270. Modak T, Arora P, Agnes C, Ray R, Goswami S, Ghosh P, Das NK. Diagnosis of bacterial vaginosis in cases of abnormal vaginal discharge: comparison of clinical and microbiological criteria. *J Infect Dev Ctries.* 2011; 5(5):353-360.
271. Martinez-Martinez W, Calderon-Badia B, Cruz-Lage L. Comparison of diagnostic methods for bacterial vaginosis. *AJMR.* 2014; 8(12):1360-1367.

272. Allsworth JE, Peipert JF. Prevalence of bacterial vaginosis: 2001-2004 National Health and Nutrition Examination Survey data. *Obstet Gynecol.* 2007; 109:114-120.
273. Brotman RM, Klebanoff MA, Nansel TR. A longitudinal study of vaginal douching and bacterial vaginosis – a marginal structural modeling analysis. *Am J Epidemiol.* 2008; 168:188-96.
274. Ness RB, Hillier SL, Richter HE. Douching in relation to bacterial vaginosis, lactobacilli and facultative bacteria in the vagina. *Obstet Gynecol.* 2002; 100:765.
275. Klebanoff MA, Andrews WW, Yu KF. A pilot study of vaginal flora changes with randomization to cessation of douching. *Sex Transm Dis.* 2006; 33:610-613.
276. Mijac VD, Dukic SV, Opavski NZ. Hydrogen peroxide producing lactobacilli in women with vaginal infections. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006; 129:69-76.
277. Ness RB, Hillier S, Richter HE. Can known risk factors explain racial differences in the occurrence of bacterial vaginosis? *J Natl Med Assoc.* 2003; 95:201-12.
278. Yen S, Shafer MA, Moncada J. Bacterial vaginosis in sexually experienced and non-sexually experienced young women entering the military. *Obstet Gynecol.* 2003; 102:927-933.
279. Schwebke JR, Desmond R. Risk factors for bacterial vaginosis in women at high risk for sexually transmitted disease. *Sex Transm Dis.* 2005; 32:654-658.
280. Ness RB, Kip KE, Soper DE. Variability of bacterial vaginosis over 6- to 12- month intervals. *Sex Transm Dis.* 2006; 33:381-385.
281. Marrazzo JM, Koutsky LA, Eschenbach DA, Agnew K, Stine K, Hillier SL. Characterization of vaginal flora and bacterial vaginosis in women who have sex with women. *J Infect Dis.* 2002; 185:1307-13.
282. Hutchinson KB, Kip KE, Ness RB. Condom use and its association with bacterial vaginosis and bacterial vaginosis-associated vaginal microflora. *Epidemiology.* 2007; 18(6):702-8.
283. Josesoef M, Karundeng A, Runtupalit C, Moran J, Lewis J, Ryan C. High rate of bacterial vaginosis among women with intrauterine devices in Manado, Indonesia. *Contraception.* 2001; 64:169-172.
284. Eschenbach DA, Thwin SS, Patton DL. Influence of the normal menstrual cycle on vaginal tissue, discharge and microflora. *Clin Infect Dis.* 2000; 30:901-7.
285. Culhane JF, Rauh V, McCollum KF, Elo IT, Hogan V. Exposure to chronic stress and ethnic differences in rates of bacterial vaginosis among pregnant women. *Am J Obstet Gynecol.* 2002; 187:1272-6.

286. Chehoud C, Stieh DJ, Bailey AG, Laughlin AL, Allen SA, McCotter KL, Sherrill-Mix SA, Hope TJ, Bushman FD. Associations of the vaginal microbiota with HIV infection, bacterial vaginosis and demographic factors. *AIDS*. 2017; 31(7):895-904.
287. Alcaide ML, Chisembele M, Malupande E, Rodriquez VJ, Fischl MA, Arheart K, Jones DL. A bio-bihaveoral intervention to decrease intravaginal practices and bacterial vaginosis among HIV infected Zambian women, a randomized pilot study. 2017; 17(1):338.
288. Francis SC, Looker C, Vandepitte J, Bukonya J, Mayanja Y, Nakubulwa S, Hughes P, Hayes RJ, Weiss HA, Grosskurth H. Bacterial vaginosis among women at high risk for HIV in Uganda: high rate of recurrent diagnosis despite treatment. *Sex Transm Infect*. 2016; 92:142148.
289. Cu-Uvin HC, Hogan JW, Caliendo AM. Association between bacterial vaginosis and expression of human immunodeficiency virus type 1 RNA in the female genital tract. *Clin Infect Dis*. 2001; 33:894-896.
290. Bautista CT, Wurapa EK, Sateren WB, Morris SM, Hollingsworth BP, Sanchez JL. Association of Bacterial Vaginosis with Chlamydia and Gonorrhoea among women in U.S. army. *Am J Prev Med*. 2017; 52(5):632-639.
291. Cherpes TL, Melan MA, Kant JA. Genital tract shedding of herpes simplex virus type 2 in women: effects of hormonal contraception, bacterial vaginosis and vaginal group Streptococcus colonization. *Clin Infect Dis*. 2005; 40:1422-8.
292. Cherpes TL, Meyn LA, Krohn MA. Association between acquisition of herpes simplex virus type 2 in women and bacterial vaginosis. *Clin Infect Dis*. 2003; 37:319-325.
293. Gillet E, Meys JFA, Verstraelen H, Bosire C, De Sutter P, Temmerman M, Broeck DV. Bacterial vaginosis is associated with uterine cervical human papillomavirus infection: a meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2011; 11:10.
294. Livengood CH. Bacterial vaginosis: an overview for 2009. *Rev Obstet Gynecol*. 2009; 2:28-37.
295. Wiesenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA. Bacterial vaginosis is a strong predictor of Neisseria Gonorrhoeae and Chlamydia Trachomatis infection. *Clin Infect Dis*. 2003; 36:663-668.
296. Allsworth JE, Lewis VA, Peipert JF. Viral sexually transmitted infections and bacterial vaginosis: 2001-2004 National Health and Nutrition Examination Survey data. *Sex Transm Dis*. 2008; 35:791-796.

297. Wiggins R, Hicks SJ, Soothill PW, Millar MR, Corfield AP. "Mucinas and sialidases: their role in the pathogenesis of sexually transmitted infections in the female genital tract". *Sex Transm Infect.* 2001; 77(6):402-408.
298. Huh WK. Human papillomavirus infection: a concise review of natural history. *Obstet Gynecol.* 2009; 114:139-143.
299. Vieira-Baptista P, Lima-Silva J, Pinto C, Saldanha C, Beires J, Martinez-de-Oliveira J, Donders G. Bacterial vaginosis, aerobic vaginitis, vaginal inflammation and major PAP smear abnormalities. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2016; 35(4):657-64.
300. Caixeta RC, Ribeiro AA, Segatti KD, Saddi VA, Figueiredo Alves RR, Dos Santos Carneiro MA, Rabelo-Santos SH. Association between the human papillomavirus, bacterial vaginosis and cervicitis and the detection of abnormalities in cervical smears from teenage girls and young women. *Diagn Cytopathol.* 2015; 43(10):780-5.
301. Verteramo R, Pierangeli A, Mancini E, Calzolari E, Bucci M, Osborn J, Nicosia R, Chiarini F, Antonelli G, Degener AM. Human Papillomaviruses and genital co-infections in gynaecological outpatients. *BMC Infect Dis.* 2009; 9:16.
302. Liu J, Liu W, Liu Y, Zhou X, Zhang Z, Sun Z. Prevalence of microorganisms co-infections in human papillomavirus infected women in Northern China. *Arch Gynecol Obstet.* 2016; 293(3):595-602.
303. Watts DH, Fazzari M, Minkoff H. Effects of bacterial vaginosis and other genital infections on the natural history of human papillomavirus infection in HIV-1-infected and high-risk HIV-1-uninfected women. *J Infect Dis.* 2005; 191:1129-1139.
304. Roeters AM, Boon ME, Van Haften M, Vernooij F, Bontekoe TR. Inflammatory events as detected in cervical smears and squamous intraepithelial lesions. *Diagn Cytopathol.* 2009; 38:85-93.
305. Verbruggen BS, Boon ME, Boon LM. Dysbacteriosis and squamous (pre)neoplasia of immigrants and Dutch women as established in population-based cervical screening. *Diagn Cytopathol.* 2006; 34:377-381.
306. Klomp JM, Boon ME, Van Haften M, Heintz PM. Cytologically diagnosed *Gardnerella Vaginalis* infection and cervical (pre)neoplasia as established in population-based cervical screening. *Am J Obstet Gynecol.* 2008; 199:480.
307. Lu H, Jiang PC, Zhang XD, Hou WD, Wei ZH, Lu JQ, Zhang H, Xu GH, Chen YP, Ren Y, Wang L, Zhang R, Han Y. Characteristics of bacterial vaginosis infection in cervical lesions with high-risk human papillomavirus infection. *Int J Clin Exp Med.* 2015; 8(11):21080-8.

308. Gillet E, Meys JFA, Verstraelen H, Verhelst R, De Sutter P, Temmerman M, Broeck DV. Association between Bacterial Vaginosis and Cervical Intraepithelial Neoplasia: Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE*. 2012; 7(1):45201.
309. Mitra A, MacIntyre DA, Marchesi JR, Lee YS, Bennett PR, Kyrgiou M. The vaginal microbiota, human papillomavirus infections and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next? *Microbiome*. 2016; 4:58.
310. Hill GB, St Claire KK, Gutman LT. Anaerobes predominate among the vaginal microflora of prepubertal girls. *Clin Infect Dis*. 1995; 20(2):269-70.
311. Holmes KK, Chen KCS, Lipinski CM, Eschenbach DA. Vaginal redox potential in bacterial vaginosis (non-specific vaginitis). *J Infect Dis*. 1985; 152:379-82.
312. Muzny CA, Schwebke JR. Gardnerella Vaginalis: still a prime suspect in the pathogenesis of bacterial vaginosis. *Curr Infect Dis Reports*. 2013; 15:130-5.
313. Srinivasan S, Hoffman NG, Morgan MT. Bacterial communities in women with bacterial vaginosis: high resolution phylogenetic analysis reveal relationships of microbiota to clinical criteria. *PloS One*. 2012; 7:37818.
314. Srinivasan S, Fredricks DN. The human vaginal bacterial biota and bacterial vaginosis. *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2008; 2008:750479.
315. Shipitsyna E, Roos A, Datcu R. Composition of the vaginal microbiota in women of reproductive age-sensitive and specific molecular diagnosis of bacterial vaginosis is possible? *PloS One*. 2013; 8:60670.
316. Teixeira GS, Carvalho FP, Arantes RM. Characteristics of Lactobacillus and Gardnerella vaginalis from women with or without bacterial vaginosis and their relationships in gnotobiotic mice. *J Med Microbiol*. 2012; 61:1074-81.
317. Burton JP, Cadieeux PA, Reid G. Improved understanding of the bacterial vaginal microbiota of women before and after probiotic insillation. *Appl Environ Microbiol*. 2003; 69:97-101.
318. Schwebke JR, Muzny CA, Josey W. Role of Gardnerella Vaginalis in the Pathogenesis of Bacterial Vaginosis: a Conceptual Model. *J Infect Dis*. 2014; 210(3):338-343.
319. Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V. Adherent biofilms in bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol*. 2005; 106:1013-23.
320. Patterson JL, Stull-Lane A, Girerd PH, Jefferson KK. Analysis of adherence, biofilm formation and cytotoxicity suggests a greater virulence potential of Gardnerella

- vaginalis relative to other bacterial vaginosis-associated anaerobes. *Microbiology*. 2010; 156:392-9.
321. Machado A, Jefferson KK, Cerca N. Interactions between *Lactobacillus crispatus* and bacterial vaginosis (BV)-associated bacterial species in initial attachment and biofilm formation. *Int J Mol Sci*. 2013; 14:12004-12.
322. Patterson JL, Girerd PH, Karjane NW, Jefferson KK. Effect of biofilm phenotype on resistance of *Gardnerella vaginalis* to hydrogen peroxide and lactic acid. *Am J Obstet Gynecol*. 2007; 197:170 e1-7.
323. Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol*. 2001; 55:165-99.
324. Branco KM, Nardi RM, Moreira JL. Identification and in vitro production of *Lactobacillus* antagonists from women with or without bacterial vaginosis. *Braz J Med Biol Res*. 2010; 43:338-44.
325. Teixeira GS, Soares-Brandao KL, Branco KM. Antagonism and synergism in *Gardnerella vaginalis* strains isolated from women with bacterial vaginosis. *J Med Microbiol*. 2010; 59:891-7.
326. Jarosik GP, Land CB, Duhon P, Chandler RJ, Mercer T. Acquisition of iron by *Gardnerella vaginalis*. *Infect Immun*. 1998; 66:5041-7.
327. Pybus V, Onderdonk AB. Evidence for a commensal, symbiotic relationship between *Gardnerella vaginalis* and *Prevotella bivia* involving ammonia: potential significance for bacterial vaginosis. *J Infect Dis*. 1997; 175:406-13.
328. Yeoman CJ, Yildirim S, Thomas SM. Comparative genomics of *Gardnerella vaginalis* strains reveals substantial differences in metabolic and virulence potential. *PloS One*. 2010; 5:12411.
329. Harwich MD, Alves JM, Buck GA. Drawing the line between commensal and pathogenic *Gardnerella vaginalis* through genome analysis and virulence studies. *BMC Genomics*. 2010; 11:375.
330. Ahmed A, Earl J, Retchless A. Comparative genomic analysis of 17 clinical isolates of *Gardnerella vaginalis* provide evidence of multiple genetically isolated clades consistent with subspeciation into genovars. *J Bacteriol*. 2012; 194:3922-37.
331. Decherney AH, Nathan L, Laufer N, Kapil A, editors. *Obstetrics & Gynecology*. 11th ed. New York: McGraw-Hill; 2013.
332. Marrazzo JM. Vaginal biofilms and bacterial vaginosis: of mice and women. *J Infect Dis*. 2013; 207(10):1481-1483.

333. Forsum U, Hallen A, Larsson PG. Bacterial vaginosis – a laboratory and clinical diagnostics enigma. *APMIS*. 2005; 113:153-61.
334. Sisovic J, Georgijevic A, Djukic S, Vidakovic S, Pervulov M, Bujko M. Kolposkopski nalaz kod zena sa bakterijskom vaginozom. *Jugosl Ginekol Perinatol*. 2001; 1-2:21-5.
335. Georgijevic A, Sisovic J, Djukic S, Bujko M. Colposcopic and cytologic findings among women with abnormal vaginal flora. *J Low Genit Tract Dis*. 2002; 6(3):155-61.
336. McClelland RS, Richardson BA, Hassan WM, Graham SM, Kiarie M, Baeten JM. Prospective study of vaginal bacterial flora and other risk factors for vulvovaginal candidiasis. *J Infect Dis*. 2009; 199:1883-90.
337. Simoes JA, Discacciati MG, Brolazo EM, Portugal PM, Dini DV. Clinical diagnosis of bacterial vaginosis. *Int J Gynaecol Obstet*. 2006; 94:28-32.
338. Mohanty S, Sood S, Kapil A, Mittal S. Interobserver variation in the interpretation of Nugent scoring method for diagnosis of bacterial vaginosis. *Indian J Med Res*. 2010; 131:88-91.
339. Zarakolu P, Sahin Hodoglugil NN, Aydin F, Tosun I, Gozalan A, Unal S. Reliability of interpretation of gram-stained vaginal smears by Nugent's scoring system for diagnosis of bacterial vaginosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2004; 48:77-80.
340. Gutman RE, Peipert JF, Weitzen S, Blume J. Evaluation of clinical methods for diagnosing bacterial vaginosis. *Obstet Gynaecol*. 2005; 105:551-556.
341. Sha BE, Chen HY, Wang QJ, Zariffard MR, Cohen MH, Spear GT. Utility of Amsel Criteria, Nugent Score and Quantitative PCR for *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis* and *Lactobacillus* spp. for Diagnosis of Bacterial Vaginosis in Human Immunodeficiency Virus-Infected Women. *J Clin Microbiol*. 2005; 43:4607-4612.
342. Rangari Amit A, Parmjit S, Sharma V. Comparison of the Amsel's composite clinical criteria and Nugent's criteria for diagnosis of bacterial vaginosis: A step towards preventing mis-diagnosis. *J Ad Res Bio Sci*. 2013; 5(1):37-44.
343. Menard JP, Mazouni C, Fenollar F, Raoult D, Boubli L, Bretelle F. Diagnostic accuracy of quantitative real-time PCR assay versus clinical and Gram stain identification of bacterial vaginosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2010; 29(12):1547-1552.
344. Hillier SL. Diagnostic microbiology of bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol*. 1993; 169:455-9.

345. Mazzulli T, Simor AE, Low DE. Reproducibility of interpretation of Gram-stained vaginal smears for the diagnosis of bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol.* 1990; 28(7):1506-8.
346. Nugent RP, Krohn MJ, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991; 29:297-301.
347. Huang M, Wang JH. Gram stain as a relapse predictor of bacterial vaginosis after metronidazole treatment. *J Microbiol Immunol Infect.* 2005; 38:137-40.
348. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med.* 1983; 74:14-22.
349. Rouse AG, Gil KM, Davis K. Diagnosis of bacterial vaginosis in the pregnant patient in an acute care setting. *Arch Gynecol Obstet.* 2009; 279:545-9.
350. Mania-Pramanik J, Kerkar SC, Mehta PB, Potdar S, Salvi VS. Use of vaginal pH in diagnosis of infections and its association with reproductive manifestations. *J Clin Lab Anal.* 2008; 22:375-9.
351. Honest H, Bachmann LM, Knox EM, Gupta JK, Kleijnen J, Khan KS. The accuracy of various tests for bacterial vaginosis in predicting preterm birth: a systematic review. *BJOG.* 2004; 111:409-22.
352. Stampler KM, Lieberman A, Fraga M, Cohen A, Herman A. Vaginal wet mounts on asymptomatic adolescent females; are they beneficial? *J Pediatr Gynecol.* 2008; 21:227-30.
353. Georgijevic A, Djukic S, Bujko M. Bacterial vaginosis. Epidemiology and risk factors. *Srp Arh Celok Lek.* 2000; 128(1-2):29-33.
354. Heller DS, Pitsos M, Scurnick J. Does the presence of vaginitis on a Pap smear correlate with clinical symptoms in the patient? *J Reprod Med.* 2008; 53:429-34.
355. Brotman RM, Ravel J. Ready or not: the molecular diagnosis of bacterial vaginosis. *Clin Infect Dis.* 2008; 47:44-6.
356. Zerat L. La nouvelle terminologie de Bethesda: quels changements? *Rev Prat Gynecol Obstet. Numero Special.* 2002; 3-10.
357. Solomon D, Davey D, Kurman R. The 2001 Bethesda System. Terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA.* 2002; 287:2114-19.
358. Franco EL. Primary screening of cervical cancer with human papillomavirus tests. *J Natl Cancer Inst Monog.* 2003; 31:89-96.

359. Andersson E, Karrberg C, Radberg T, Blomqvist L, Zetterqvist BM, Ryd W, Lindh M, Horal P. Type-specific human papillomavirus E6/E7 mRNA detection by Real-Time PCR improves identification of cervical neoplasia. *J Clin Microbiol.* 2011; 49(11):3794-9.
360. Sobic MG, Babic G, Dimitrijevic A, Mitrovic S, Varjadic M. Correlation between cervical cytology and histopathological cervical biopsy findings according to the Bethesda System. *Ser J Exp Clin Res.* 2014; 15(4):205-216.
361. Anschau F, Guimaraes Goncalves MA. Discordance between cytology and biopsy histology of the cervix: what to consider and what to do. *Acta Cytol.* 2011; 55(2):158-62.
362. Massad LS, Collins YC, Meyer PM. Biopsy correlates of abnormal cervical cytology classified using the Bethesda system. *Gynecol Oncol.* 2001;82(3):516-22.
363. Chivukula M, Shidham VB. ASC-H in Pap test-definitive categorization of cytomorphological spectrum. *Cytojournal.* 2006; 3(1):14.
364. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije, Republička stručna komisija za izradu i implementaciju vodiča dobre kliničke prakse . Nacionalni vodič dobre kliničke prakse za dijagnostifikovanje i lečenje raka grlića materice. Klinički vodič 12/14. Beograd: Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije. 2013.
365. Milenkovic V, Sparic R, Dotlic J, Tulic L, Mirkovic L, Milenkovic S, Atanackovic J. Reliability and relationship of colposcopic, cytological and histopathological findings in the diagnostic process. *Vojnosanitetski Pregled.* 2012; 69(10):869-873.
366. Saha R, Thapa M. Correlation of cervical cytology with cervical histology. *KUMJ.* 2005; 3(3):222-4.
367. Abali R, Bacanakgil BH, Celik S, Aras O, Koca P, Boran B, Dursun N. Histopathological correlation of squamous cell abnormalities detected on cervical cytology. *Turk Patoloji Derg.* 2011; 27(2):144-8.
368. Ramzan A, Meneses T, Sharifian M, Ren X, Yan L, Barr N, Liu S. Clinical factors that predict discrepancy between cervical cytology and colposcopically directed biopsies. *IJGORM.* 2014; 135(2):388-388.
369. Vieira L, Almeida A. The cytology and DNA detection by the Papillo Check test in the diagnosis of human papillomavirus infection. *Eur J Microbiol Immunol.* 2013; 3(1):61-7.

370. Vrtacnik Bokal E, Rakar S, Mozina A, Poljak M. Human papillomavirus in relation to mild dyskaryosis in conventional cervical cytology. *Eur J Gynaec Oncol.* 2005; 60:7-12.
371. Mazarico E, Gonzalez-Bosquet E. Prevalence of infection by different genotypes of human papillomavirus in women with cervical pathology. *Gynecol Oncol.* 2012; 125(1):181-5.
372. Pista A, de Oliveira CF, Lopes C, Cunha MJ; CLEOPATRE Portugal Study Group. Human papillomavirus type distribution in cervical intraepithelial neoplasia grade 2/3 and cervical cancer in Portugal: a CLEOPATRE II Study. *Int J Gynecol Cancer.* 2013; 23(3):500-6.
373. Pretet JL, Jacquard AC, Saunier M, Clavel C, Dachez R, Gondry J, Pradat P, Soubeyrand B, Leocmach Y, Mouglin C, Riethmuller D; EDiTH study group. Human papillomavirus genotype distribution in low-grade squamous intraepithelial lesions in France and comparison with CIN2/3 and invasive cervical cancer: the EDiTH III study. *Gynecol Oncol.* 2008; 110(2):179-84.
374. Sjoeborg KD, Trope A, Lie AK, Jonassen CM, Steinbakk M, Hansen M, Jacobsen MB, Cuschieri K, Eskild A. HPV genotype distribution according to severity of cervical neoplasia. *Gynecol Oncol.* 2010; 118(1):29-34.
375. Anderson L, O'Rourke M, Jamison J, Wilson R, Gavin A. Prevalence of human papillomavirus in women attending cervical screening in the UK and Ireland: new data from northern Ireland and a systematic review and meta-analysis. *J Med Virol.* 2013; 85(2):295-308.
376. Bao YP, Li N, Smith JS, Qiao YL. Human papillomavirus type-distribution in the cervix of Chinese women: a meta-analysis. *Int J STD AIDS.* 2008; 19(2):106-11.
377. Balanda M, Quiero A, Vergara N, Espinoza G, Martin HS, Rojas G, Ramirez E. Prevalence of human papillomavirus infection among women presenting for cervical cancer screening in Chile, 2014-2015. *Med Microbio Immunol.* 2016; 205(6):585-594.
378. Andonovska J. Genotyping distribution and prevalence of the HPV infection in Macedonia. *Int J Infect Dis.* 2014; 21(1):398.
379. Стојановска В, Панов С, Башеска Н, Јосифовска С, Димитров Г, Петановски З, Стојковски Ј, Хаци-Лега М. Преваленција и дистрибуција на хуман папилома вирус инфекција кај клинички суспектни цервикални лезии. *Мак Мед Преглед.* 2009;63(1):17-24.

380. Дувлис С. Генотипизација на хуман папилома вирус (ХПВ) кај женската популација во Република Македонија. Магистерски труд. Универзитет Св. Кирил и Методиј, Интердисциплинарни постдипломски студии по молекуларна биологија и генетско инженерство, Скопје 2000.
381. Garcia-Garcia JA, Perez-Valles A, Martorell M, Gomez B, Gomez-Cabrero D, Soler F, Calabuiq C. Distribution of human papillomavirus types in women from Valencia, Spain, with abnormal cytology. *Acta Cytol.* 2010; 54(2):159-64.
382. Sandri MT, Riggio D, Salvatici M, Passerin R, Zorzino L, Boveri S, Radice D, Spolti N, Sideri M. Typing of human papillomavirus in women with cervical lesions: prevalence and distribution of different genotypes. *J Med Virol.* 2009; 81(2):271-7.
383. Cuschieri KS, Cubie HA, Whitley MW, Seagar AL, Arends MJ, Moore C, Gilkisson G, McGoogan E. Multiple high risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population. *J Clin Pathol.* 2004; 57(1):68-72.
384. Vujosevic D, Vuksanovic V, Poljak M, Jokmanovic N. Human papillomavirus genotype spectrum in studied group of Montenegrin women. *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2012; 55(3):130-2.
385. Agodi A, Barchitta M, La Rosa N, Cipresso R, Guarnaccia M, Castiglione MG, Ettore G, Travali S. Human papillomavirus infection: low-risk and high-risk genotypes in women in Catania, Sicily. *Int J Gynecol Cancer.* 2009; 19(6):1094-8.
386. Evans MF, Adamson CS, Papillo JL, St John TL, Leiman G, Cooper K. Distribution of human papillomavirus types in Thin Prep Papanicolaou tests classified according to the Bethesda 2001 terminology and correlations with patient age and biopsy outcomes. *Cancer.* 2006; 106(5):1054-64.
387. Hariri S, Unger ER, Powell SE, Bauer HM, Bennett NM, Bloch KC, Nicolai LM, Schafer S, Steinau M, Markovitz LE; HPV-IMPACT Working Group. Human papillomavirus genotypes in high-grade cervical lesions in the United States. *J Infect Dis.* 2012; 206(12):1878-86.
388. Kovačević G, Jovanović-Galović A, Petrović V, Vinarž Z, Marinković G, Brašanac B, Milošević V. Human papillomavirus infection prevalence in female university students in Novi Sad, Serbia. *Srp Arh Celok Lek.* 2016; 144(5-6):300-306.
389. Grozdanov P, Zlatkov V, Ganchev G, Karagiosov I, Toncheva D, Galabov AS. HPV prevalence and type distribution in women with normal or abnormal Pap smear in Bulgaria. *J Med Virol.* 2014; 88(11):1905-10.

390. Kovachev S, Slavov V, Slavova K. Prevalence of human papillomavirus infection in women in some cities and regions of Bulgaria. *J Med Virol.* 2013; 85(9):1577–84.
391. Moga MA, Irimi, M, Oanta A, Pascu A, Burtea V. Type-specific Prevalence of Human Papillomavirus by Cervical Cytology among Women in Brasov, Romania. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014; 15(16):6887–92.
392. Lie AK, Risberg B, Borge B, Sandstad B, Delabie J, Rimala R, Onsrud M, Thoresen S. DNA- versus RNA-based methods for human papillomavirus detection in cervical neoplasia. *Gynecol Oncol.* 2005; 97: 908–915.
393. Molden T, Nygard JF, Kraus I, Karlsen F, Nygard M, Skare GB, Skomedal H, Thoresen SO, Hagmar B. Predicting CIN2+ when detecting HPV mRNA and DNA by PreTect HPV-Proofer and consensus PCR: a 2-year follow-up of women with ASCUS or LSIL Pap smear. *Int J Cancer.* 2005; 114:973–976.
394. Fontecha N, Basaras M, Hernaez S, Andia D, Cisterna R. Assessment of human papillomavirus E6/E7 oncogene expression as cervical disease biomarker. *BMC Cancer.* 2016; 16:852.
395. Oliveira A, Verdasca N, Pista A. Use of the NucliSENS EasyQ HPV assay in the management of cervical intraepithelial neoplasia. *J Med Virol.* 2013; 85(7):1235-1241.
396. Cattani P, Siddu A, D'Onghia S, Marchetti S, Santangelo R, Vellone VG, Zannoni GF, Fadda G. RNA (E6 and E7) assay versus DNA (E6 and E7) assay for risk evaluation for women infected with human papillomavirus. *J Clin Microbiol.* 2009; 2136-2141.
397. Tuney I, Altay A, Ergunay K, Onder SC, Usubutun A, Salman M, Bozdayi G, Karabulut E, Badur OS, Yuce K, Pinar A. HPV types and E6/E7 mRNA expression in cervical samples from Turkish women with abnormal cytology in Ankara, Turkey. *Turk J Med Sci.* 2017; 1508-155.
398. Trope A, Sjoborg K, Eskild A, Cuschieri K, Eriksen T, Thoresen S, Steinbakk M, Laurak V, Jonassen CM, Westerhagen U, Jacobsen MB, Lie AK. Performance of human papillomavirus DNA and mRNA testing strategies for women with and without cervical neoplasia. *J Clin Microbiol.* 2009; 47(8):2458-2464.
399. Tezcan S, Ozgur D, Ulger M, Aslan G, Gurses I, Serin MS, Giray BG, Dilek S, Emekdas G. Human papillomavirus distribution and E6/E7 oncogene expression in Turkish women with cervical cytological findings. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014; 15(9):3997-4003.
400. Rijkaart DC, Heideman DAM, Coupe VMN, Brink AATP, Verhejen RNM, Skomedal H, Karlsen F, Morland E, Snijders PJF, Meijer CJLM. High-risk human

- papillomavirus (hrHPV) E6/E7 mRNA testing by PreTect HPV-Proofer for detection of cervical high-grade intraepithelial neoplasia and cancer among hrHPV DNA-positive women with normal cytology. *J Clin Microbiol.* 2012; 50(7):2390-2396.
401. Casagrande DC, Ribalta JCL, Leite KAPF, Schimidt M, Speck NMG. Expression of messenger RNA of oncoproteins E6 and E7 of human papillomavirus in women negative oncotoc cytologies, epithelial squamous atypical of undefined significance and low-grade intraepithelial lesions. *Open J Obstet Gynecol.* 2015; 5:36-43.
402. Munkhdelger J, Choi Y, Lee D, Kim S, Kim G, Park S, Choi E, Jin H, Lee H, Park KH. Comparison of the performance of the NucliSENS EasyQ HPV E6/E7 mRNA assay and HPV DNA chip for testing squamous cell lesions of the uterine cervix. *Diagnos Microbiol Inf Dis.* 2014; 422-427.
403. Liu TYL, Xie R, Luo L, Reilly KH, He C, Lin YZ, Chen G, Zheng XW, Zhang LL, Wang HB. Diagnostic validity of human papillomavirus E6/E7 mRNA test in cervical cytological samples. *J Virol Methods.* 2013; 1-6.
404. Baron C, Henry M, Tamalet C, Villeret J, Richet H, Carcopino X. Relationship between HPV 16, 18, 31, 33, 45 DNA detection and quantitation and E6/E7 mRNA detection among a series of cervical specimens with various degrees of histological lesions. *J Med Virol.* 2015; 87(8):1389-96.
405. Wang H, Park S, Lee D, Kim S, Kim G, Park KH, Lee H. Prevalence of type-specific oncogenic human papillomavirus infection assessed by HPV E6/E7 mRNA among women with high-grade cervical lesions. *Int J Infect Dis.* 2015; 37:135-142.
406. Doganov A, Kostova P, Boyanova M, Velcheva D, Tchoncheva V, Mainhard K, Zlatkov V. Application of the RNA-based HPV test in the diagnostics of cervical epithelial changes. *Akush Ginekol.* 2012; 51(3):22-4.
407. Spathis A, Kottaridi C, Chranioti A, Meristoudis C, Chrelias C, Panayiotides IG, Paraskevaidis E, Karakitsos P. mRNA and DNA detection of human papillomaviruses in women of all ages attending two colposcopy clinics. *PLoS One.* 2012; 7(11):e49205.
408. Salimovic-Besic I, Tomic-Cica A, Smailjic A, Hukic M. Comparison of the detection of HPV-16, 18, 31, 33 and 45 by type-specific DNA- and E6/E7 mRNA-based assays of HPV DNA positive women with abnormal Pap smears. *J virol Methods.* 2013; 194(1-2):222-228.
409. Duvlis S, Popovska-Jankovic K, Sarafimovska-Arsova Z, Memeti S, Popeska Z, Plaseska-Karanfilska D. HPV E6/E7 mRNA versus HPV DNA biomarker in cervical

- cancer screening of a group of Macedonian women. *J Med Virol.* 2015; 87(9):1578-1586.
410. Behbakht K, Friedman J, Heimler I, Aroutcheva A, Simoes J. Role of the vaginal microbiological ecosystem and cytokine profile in the promotion of cervical dysplasia: a case-control study. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2002; 10:181-186.
411. Vetrano G, Pacchiarotti A, Lombardi G, Cimellaro V, Verrico M. Correlation between squamous intraepithelial lesions and bacterial vaginosis. *Eur J Gynaecol Oncol.* 2007; 28:310-312.
412. Discacciati MG, Simoes JA, Lopes ES, Silva SM, Montemor EB, Rabelo-Santos SH, Westin MC. Is bacterial vaginosis associated with squamous intraepithelial lesion of the uterine cervix? *Diagn Cytopathol.* 2006; 34(5):323-5.
413. Kero K, Rautava J, Syrjanen K, Grenman S, Syrjanen S. Association of asymptomatic bacterial vaginosis with persistence of female genital human papillomavirus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2017; 36(11):2215-2219.
414. Murta EF, Souza MA, Argujo Junior E, Adad SJ. Incidence of gardnerella vaginalis, candida and human papillomavirus in cytological smers. *Sao Paulo Med J.* 2000; 118:105-8.
415. Cauci S, Guaschino S, Driussi S, De Santo D, Lanzafame P, Quadrifoglio F. Correlation of local interleukin-8 with immunoglobulin A against gardnerella vaginalis hemolysin and with prolidase and sialidase levels in women with bacterial vaginosis. *J Infect Dis.* 2002; 185:1614-20.
416. Campos AC, Murta EF, Michelin MA, Reis C. Evaluation of cytokines in endocervical secretion and vaginal PH from women with bacterial vaginosis or human papillomavirus. *ISRN Obstet Gynecol.* 2012; 2012:7.
417. Nam KH. Association between bacterial vaginosis and cervical intraepithelial neoplasia. *J Gynecol Oncol.* 2009; 1:39-43.
418. Zheng MY, Zhao HL, Di JP, Lin G, Lin Y, Lin X, Zheng MQ. Association of human papillomavirus infection with other microbial pathogen in gynecology. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2010; 45:424-8.
419. Oh, HY, Kim BS, Seo SS, Kong JS, Lee JK, Park SY, Hong KM, Kim HM, Kim MK. The association of uterine cervical microbiota with an increased risk for cervical intraepithelial neoplasia. *Clin Microbiol Infect.* 2015; 21(7):674.
420. Antovska V, Basheska N, Grncarova Z, Aleksioska N. Relationship among bacterial vaginosis, local inflammatory response and presence of cervical intraepithelial

- neoplasia in women with and without human papillomavirus infection. *Korean J Obstet Gynecol.* 2012; 55:468-476.
421. Briselden AM, Moncla BJ, Stevens CE, Hillier SL. Sialidases (neuraminidases) in bacterial vaginosis and bacterial vaginosis-associated microflora. *J Clin Microbiol.* 1992; 30:663-6.
422. Mongelos P, Mendoza LP, Rodriguez-Riveros I, Castro A, Gimenez G, Araujo P, Paez M, Castro W, Basilleti J. Distribution of human papillomavirus (HPV) genotypes and bacterial vaginosis presence in cervical samples from Paraguayan indigenous. *Int J InfecDis.* 2015; 39:44-9.
423. Numanovic F, Hukic M, Gegic M, Nukic M, Delibegovic Z, Pasic S, Cicko E. Bacterial vaginosis presence in sexually active women in Tuzla Canton area. *Bosn J Basic Med Sci.* 2008; 8(4):322-30.
424. Bahar H, Torun MM, Ocer F, Kocazeybek B. Mobiluncus species in gynaecological and obstetric infections: antimicrobial resistance in a Turkish population. 2005; 25(3):268-271.
425. Nzomo J, Waiyaki P, Waihenya R. Bacterial vaginosis and correlates in women of reproductive age in thika, Kenya. *Advances in Microbiology.* 2013; 3:249-254.
426. Sogukpmar N, Saydam BK, Can HO, Hadimli A, Bozkurt OD, Yucel U, Kocak YC, Akmese ZB, Demir D, Ceber E, Ozenturk G. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2013; 14(3):2119-2125.
427. El-Moselhy EA, Borg HM, Atlam SA. Cervical cancer: sociodemographic and clinical risk factors among adult Egyptian females. *Adv Oncol Res Treat.* 2016; 1:1.
428. Irimie S, Vladd M, Mirestean IM, Balacescu O, RusM. Risk factors in a sample of patients with advanced cervical cancer. *Appl Med Informatics.* 2011; 29:1-10.
429. Collins S, Rollason TP, Young LS, Woodman CBJ. Cigarette smoking is an independent risk factors for cervical intraepithelial neoplasia in young women: a longitudinal study. *Eur J Cancer.* 2010; 405-411.
430. Gadducci A, Barsotti C, Cosio S, Domenici L, Genazzani AR. Smoking habit, immune suppression, oral contraceptive use, and hormone replacement therapy use and cervical carcinogenesis: a review of the literature. *Gynecol Edocrinol.* 2011; 27(8):597-604.
431. Fedrizzi EN, Ribeiro AF, de Aguiat FG, Caporal FT, Sommacal LF, Gomes LR. Oncogenic high-risk human papillomavirus detection and evaluation of risk factors in

- the cervical intraepithelial neoplasia. *J Bras Doencas Sex Transm.* 2015; 27(3-4):79-85.
432. Geetha B, Santhy KS. Sexual risk factors for cervical carcinogenesis – a case control study. *Int J Curr Microbiol App Sci.* 2013; 2(8):394-399.
433. Paramita S, Soewarto S, Widodo MA, Sumitro SB. High parity and contraception as risk factors for cervical cancer in East Kilimantan. *Med J Indones.* 2010; 19:268-72.
434. Reis N, Beji NK, Kilic D. Risk factors for cervical cancer: results from a hospital-based case-control study. *Int J Hem Oncol.* 2011; 3(21):153-159.
435. Utoo BT, Utoo PM, Ngwan SD, Anzaku SA, Daniel MA. Cervical intraepithelial neoplasia: prevalence, risk factors, and utilization of screening services among an urban population in Nigeria. *Trop J Obstet Gynaecol.* 2017; 33(3):279-283.
436. Seo SS, Oh HY, Lee JK, Kong JS, Lee DO, Kim MK. Combined effect of diet and cervical microbiome on the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Clin Nutrition.* 2016; 35(6):1434-1441.
437. Wang Z, Wang J, Fan J, Zhao W, Yang X, Wu L, Li D, Ding L, Wang W, Xu J, Stram M, Zhao C, Hao M. Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer in Chinese women: large study in Jiexiu, Shanxi Province, China. *J Cancer.* 2017; 8:924-932.
438. Flores YF, Bishai DM, Shah KV, Lazcano-Ponce E, Lorincz A, Hernandez M, Ferris D, Salmeron J. Risk factors for cervical cancer among HPV positive women in Mexico. *Salud Publica de Mexico.* 2008; 50(1):49-58.
439. Yoshikawa H, Nagata C, Noda K, Nozawa S, Yajima A, Sekija S, Sugimori H, Hirai Y, Kanazawa K, Sugas M, Shimizu H, Kawana T. Human papillomavirus infection and other risk factors for cervical intraepithelial neoplasia in Japan. *BJC.* 1999; 80(3/4):621-624.
440. Shields TS, Brinton LA, Burk RD, Wang SS, Weinstein SJ, Ziegler RG, Studentsov YY, McAdams M, Schiffman M. A case-control study of risk factors for invasive cervical cancer among U.S. women exposed to oncogenic types of human papillomavirus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004; 13(10):1574-82.
441. Sogukpmar N, Saydam BK, Can HO, Hadimli A, Bozkurt OD, Yucel U, Kocak YC, Akmese ZB, Demir D, Ceber E, Ozenturk G. Assessment of cervical cancer risk in women between 15 and 49 years of age: case of Izmir. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2013; 14(3):2119-2125.

11.0 ПРИЛОЗИ

Прилог 1. Одобрение од медико-етичка комисија

Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ во Скопје
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
Република Македонија
Бр. 03 - 5515/4
09.12.2015 год.
СКОПЈЕ

**ЕТИЧКА КОМИСИЈА ЗА
ИСТРАЖУВАЊЕ НА ЛУЃЕ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
ПРИ УКИМ ВО СКОПЈЕ**

На својата XI седница одржана на ден 09.12.2015 година, Етичката комисија за истражување на луѓе при УКИМ-Медицински факултет во Скопје го разгледа поднесокот за изработка на докторска дисертација со наслов: "Асоцијација помеѓу вирусните онкопротеини Е6/Е7, бактериската вагиноза и сквамозните лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката" на барање од д-р Драге Дабески од ЈЗУ УК за гинекологија и акушерство-Скопје.

По разгледувањето на поднесената документација, Комисијата во состав: проф. д-р Бети Зафирова-Ивановска, проф. д-р Соња Алабаковска, проф. д-р Гордана Петрушевска, проф. д-р Даниела Миладинова, проф. д-р Здравко Чакар, доц. д-р Симонида Црвенкова, проф. д-р Емилија Влашки, проф. д-р Александар Стојановиќ, проф. д-р Весна Пејоска-Герасова, проф. д-р Гоце Спасовски, м-р Соња Стамболиева и дипл. прав. Радмила Митановска, го одобри изведувањето на студијата.

Комисијата работи во согласност со директивата 2001/20/ЕС од Европскиот Парламент и Совет од 04.04.2001 година.

Претседател
на Етичката комисија
за истражување на луѓе

Проф. д-р Бети Зафирова-Ивановска



Прилог 2. Формулар за информираност

ФОРМУЛАР ЗА ИНФОРМИРАНОСТ

Наслов на студијата: Асоцијација помеѓу вирусните онкопротеини Е6/Е7, бактериската вагиноза и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката

Име и презиме на истражувачот: Пом. ас.д-р Драге Дабески

Име на институцијата и адреса: ЈЗУ Универзитетска клиника за гинекологија и акушерство во Скопје, Мајка Тереза 17

Име и презиме на пациентот:

Адреса и контакт телефон:

Идентификационен број:

Датум:

Природа на студијата

Доколку имате желба, Ви се отвара можност за учество во студија за рано откривање и дијагностицирање на интраепителните лезии на грлото на матката и на карциномот на грлото на матката и најчестите ризик-фактори за нивна појава. За полесно да се одлучите, потребно е да бидете информирани за користа и ризиците од вашето учество во студијата.

Веќе знаете дека карциномот на грлото на матката е еден од почестите карциноми кај жените. На појавата на карциномот на грлото на матката му претходат различни форми на интраепителни лезии кои опфаќаат низа морфолошки промени, од лесен степен на дисплазија па до *in situ* карцином. Раната детекција на овие интраепителни лезии и нивен третман се клучни во превенција на карциномот на грлото на матката.

Појавата на интраепителните лезии и на карциномот на грлото на матката е мултифакторијална. Најчести ризик-фактори за нивна појава се вирусните и бактериските инфекции, особено инфекциите со хуман папилома вирус и бактериската вагиноза.

ХПВ-инфекцијата е една од најчестите сексуално преносливи инфекции со вирусна етиологија. Најдена е кај 99,7% од случаите на карцином на грлото на матката. Истражувањата покажуваат дека 50% од жените се инфицираат со ХПВ во тек на првите две години од почетокот на сексуалниот живот. Се смета дека околу 20% од жените се инфицирани со еден или повеќе ХПВ генотипови.

Бактериската вагиноза е најчест вагинален синдром во репродуктивниот период на жената. Последица е на нарушена рамнотежа помеѓу различни типови на бактерии во вагината. Во 50% од случаите е асимтоматска. Најдена е поврзаност помеѓу бактериската вагиноза и карциномот на грлото на матката.

Процедури

Докулку се согласите да учествувате во студијата, потребно е да знаете дека ќе Ви бидат направени: анкета со специфичен прашалник, ХПВ-ДНК тестирање, ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирање, Нуцентов скор систем и доколку постои индикација и колпоскопска цервикална биопсија со ендоцервикална киретажа за хистопатолошка анализа.

Прашалникот ќе содржи прашања за вашите демографски карактеристики, за вашиот социјален, економски и сексуален статус, за вашата гинеколошка и репродуктивна историја и за ризик-факторите за појава на интраепителните лезии и на карциномот на грлото на матката.

За ХПВ-ДНК тестирањето, амбулантски, ќе Ви биде земен брис од грлото на матката со помош на четкичка (cytobrush) и истиот ќе биде обработен во Лабораторијата за ХПВ-тестирање на Клиниката за гинекологија и акушерство во Скопје. Ќе добиете резултат за присуство или отсуство на ДНК од ХПВ и доколку постои, ќе Ви биде одреден и генотипот.

За ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето, амбулантски, ќе Ви биде земен брис од грлото на матката со помош на четкичка (cytobrush) и истиот ќе биде обработен во Лабораторијата за вирусологија на Институтот за јавно здравје на Република Македонија во Скопје. Ќе добиете резултат за присуство или отсуство на ХПВ Е6/Е7-онкопротеини.

За изработка и интерпретација на Нуцентовиот скор систем, амбулантски, ќе Ви биде земен вагинален секрет од задниот форникс на вагината со помош на стерилно брис стапче и истиот ќе биде обработен во Лабораторијата за микробиологија на Институтот

за јавно здравје на Република Македонија во Скопје. Ќе добиете резултат за присуство или отсуство на бактериска вагиноза.

Доколку сте во групата со индикација за колпоскопска цервикална биопсија со ендоцервикална киретажа, истата ќе Ви биде направена во Дневната болница на Клиниката за гинекологија и акушерство во Скопје во краткотрајна интравенска анестезија, по претходна подготовка. Материјалот ќе биде обработен на Одделот за хистопатологија и клиничка цитологија на Клиниката за радиотерапија и онкологија во Скопје. Ќе добиете резултат од хистопатолошката анализа.

Пациент

Обврзани сте да известувате за сите промени кои ќе ги почувствувате во тек на студијата, да давате оценка за вашето здравје. Ќе треба да се придржувате до упатствата и процедурите на студијата. Би требало да пријавите секаква промена на било какво хемиско средство, не препишано од лекарот одговорен за студијата во која учествувате.

Ве охрабрувам да поставувате прашања во врска со сите нејаснотии на кои ќе најдете. Доколку имате било каков проблем или Ве интересираат вашите права како пациент, слободно да се обратите и за се ќе бидете известени. Секоја нова информација во врска со студијата ќе Ви биде доставена. Истата може да влијае на вашата желба да го продолжите вашето учество во студијата. Вашата одлука нема негативно да влијае на правата кои ги имате како пациент.

Ризици

Студијата има ризици и несакани ефекти. Може да се јави страв, препотување, лесно срцебиење, губење свест, nelaгодност при земање на вагиналните брисеви. Доколку Ви се прави колпоскопска цервикална биопсија со ендоцервикална киретажа, може да се јават несакани ефекти од примената краткотрајна интравенска анестезија, крварење и инфекција.

Цел на студијата

Целта е да се докаже поврзаноста помеѓу ХПВ-инфекцијата, бактериската вагиноза и интраепителните лезии и карциномот на грлото на матката. Рано да се детектираат и дијагностицираат интраепителните лезии и карциномот на грлото на матката и ризик-

факторите. Од оваа студија ќе имате лична корист, а исто така корист ќе има и општеството. Со учество во студијата добивате право на безбедност, бесплатна и навремена медицинска услуга. Секоја промена која ќе ја почувствувате, ќе биде целосно, во било кое време згрижена. За секој здравствен проблем кој не е директно поврзан со студијата нема да има компензација. Студијата е одобрена од Етичка комисија за истражување на луѓе при УКИМ-Медицински факултет во Скопје.

Основ за учество

Секоја Ваша одлука да ја напуштите студијата, нема да се одрази на вашата здравствена заштита. Учесството во студијата е на доброволна основа. Може без последици во секое време да ја напуштите истата.

Доверливост на податоци

Имате право на приватност на вашите податоци. Вашата медицинска документација може да се прегледува, но со загарантирана анонимност на вашиот идентитет. Личните податоци можат да бидат откриени само со ваша писмена согласност. Доколку се наметне потреба да се соберат дополнителни податоци од вашата медицинска документација, здравствените власти тоа можат да го сторат, без откривање на вашиот идентитет. Податоците ќе ги собира истражувачот. Доколку во иднина се наметне потреба од собирање на дополнителни податоци од вашата медицинска документација, ќе биде барано одобрување од Етичката комисија за истражување на луѓе при УКИМ-Медицински факултет во Скопје.

Изјава на истражувачот и потпис

Јас долупотпишаниот, целосно му ја објаснив природата на истражувањето, целта и ризиците од истата. И понатаму останувам отворен за разјаснување на сите нејаснотии во врска со студијата.

Име и презиме на истражувачот:

Дата на потпис:

Пом. ас. д-р Драге Дабески

Своерачен потпис на истражувачот:

Прилог 3. Формулар за согласност

ФОРМУЛАР ЗА СОГЛАСНОСТ

Изјава на пациентот

Изјавувам дека целосно бев информиран за природата, текот, целта и ризиците од мое учество во студијата. Имам можност во неколку наврати да разговарам со лекарот истражувач. Да поставам прашања, на кои добив одговори, од кои бев задоволен. Имам простор и време да разговарам со мојата фамилија, да се консултирам и да донесам, според мене правилна одлука, да земам учество во оваа студија. Мојата одлука за учество ја потврдувам со мојот личен потпис на формуларот, од кој ќе добијам копија. Не се откажувам од моите легални права. Се согласувам информациите во врска со моето здравје да бидат собрани, доставени и обработени од страна на главниот истражувач. Исто така можат да бидат проследени и понатаму, но со заштита на мојот идентитет. Знам дека доколку се повлечам од студијата, нема да имам никакви негативни последици по мојата здравствена заштита.

Име и презиме на пациентот:

Дата на потпишување:

Своерачен потпис на пациентот:

Прилог 4. Анкетен прашалник

ПРАШАЛНИК

УПАТСТВО ЗА ПОПОЛНУВАЊЕ НА ПРАШАЛНИКОТ

Прашалникот содржи прашања за критериумите за ваше вклучување или исклучување од учество во студијата „Асоцијација помеѓу вирусните онкопротеини Е6/Е7, бактериската вагиноза и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката”, за вашите демографски карактеристики, за социјалниот статус, економскиот статус, сексуалниот статус, за вашата гинеколошка и репродуктивна историја и за ризик-факторите за појава на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката.

Ве молиме внимателно да го прочитате прашалникот и со заокружување или со дополнување, да одговорите искрено и прецизно на понудените прашања.

Ви благодариме на соработката

1. Име и презиме: _____.
2. Адреса на живеење и контакт телефон:

3. Возраст: _____ години
4. Занимање: _____
5. Образование: а) без образование; б) основно; в) средно; г) вишо или високо
6. Брачна состојба: а) мажена; б) немажена; в) разведена; г) вдовица; д) друго
7. Националност: а) македонска; б) албанска; в) турска; г) ромска; д) влашка; г) српска; е) бошњачка; ж) друга
8. Вероисповед: а) христијанска; б) муслиманска; в) друга
9. Социјален статус: а) домаќинка; б) студентка; в) работничка; г) академско лице; д) пензионер; г) друго
10. Економски статус: а) вработена; б) не вработена
11. Дали сте сексуално активни?: а) да; б) не

12. Дали сте бремени?: а) да; б) не
13. Дали претходно сте имале операции на грлото на матката? (конизација, ласерска вапоризација, хистеректомија): а) да; б) не
14. Какви биле вашите претходни ПАП-тестови и хистопатолошки наоди: а) нормални; б) ненормални (со постоење на сквамозна интраепителна лезија или сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката)
15. Дали во моментов имате менструално крварење?: а) да; б) не
16. Дали последниве шест недели сте биле под локална или системска антибиотска или антивирусна терапија?: а) да; б) не
17. Дали последниве два дена сте имале сексуален однос или вагинална тоалета?: а) да; б) не
18. На колку годишна возраст го имавте првиот сексуален однос?: а) пред 17-та година; б) помеѓу 17 и 21 година; в) после 21 година
19. Колку сексуални партнери сте имале последниве шест месеци?: а) еден; б) од два до четири; в) повеќе од четири
20. Колку деца сте родиле?: а) ниедно; б) едно; в) две или три; г) повеќе од три
21. На колку годишна возраст го родивте првото дете?: а) пред 17-та година; б) после 17-та година
22. Дали често имате вагинален исцедок?: а) да; б) не
23. Колку често одите на гинеколог?: а) еднаш годишно; б) повеќе пати во годината; в) ретко
24. Дали пушите цигари?: а) не; б) до 10 цигари дневно; в) од 10 до 20 цигари дневно; г) повеќе од 20 цигари дневно
25. Дали пиете алкохол?: а) не; б) ретко; в) често
26. Дали често употребувате лекови?: а) да; б) не
27. Дали употребувате контрацептивни средства?: а) не; б) кондом; в) спирала; г) орални контрацептиви; д) друго
28. Дали сте на диета?: а) да; б) не
29. Дали имате некое системско заболување?: а) да; б) не
30. Дали некој во вашата фамилијата имал или има карцином на грлото на матката?: а) да; б) не