



**УНИВЕРЗИТЕТ „ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП
ФАКУЛТЕТ ЗА МЕДИЦИНСКИ НАУКИ**

**„ЕФИКАСНОСТА НА ТРИХЛОРОЦЕТНАТА КИСЕЛИНА ВО
ТРЕТМАН НА ИНФЕКЦИИ СО HPV (*HUMAN PAPILLOMAVIRUS*)
НА ГРЛО НА МАТКА „
-докторска дисертација-**

Ментор:

Проф. д-р Невенка Величкова

Кандидат:

д-р Анита Морарцалиева Чочкова

Број на индекс: 31153

Штип, март 2023

Комисија за оценка и одбрана

Претседател: Проф. д-р Глигор Димитров

Член: Проф. д-р Зоранчо Петановски

Член: Проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска

За докторска дисертација: Ефикасноста на трихлороцетната киселина во третман на инфекции со HPV (*Human papillomavirus*) на грло на матка

Интерен ментор: Проф. д-р Невенка Величкова

Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ – Штип

Екстерен ментор: Проф. д-р Марјан Стојовски

Медицински факултет, Универзитет “Св.Кирил и Методиј” - Скопје

Научно поле: Гинекологија и акушерство

Научна област: Медицински науки

Датум на одбрана: 15.03.2023

Рецензирани и објавени трудови

Morarcalieva Chochkova A, Velickova N, Kotlarova Poposka S, Dimitrov G, Nakova M. Efficacy of trichloroacetic acid in treatment of HPV related infections of the uterine cervix. *Medicus, International Journal of Medical Sciences of the Association of the Albanian Doctors from Macedonia*, 27 (1). pp. 7-13. ISSN 1409-6366
<https://eprints.ugd.edu.mk/29721>

Morarcalieva Chochkova A, Velickova N, Kotlarova Poposka S, Dimitrov G. Efficiency of trichloroacetic acid in the treatment of subclinical HPV infections of the uterine cervix. *Knowledge – International Journal*, 51 (4). pp. 549-554. ISSN 1857-923X / 2545-4439 online
<https://eprints.ugd.edu.mk/29723>

Morarcalieva Chochkova A, Nakova M, Chochkov B, Miceva M, Milosheska R. Secondary Postpartum Hemorrhage due to Placental Site Vascular Subinvolution as a Diagnostic Challenge in Women with Preserved Uterus, *Albanian J Med Health Sci* 2020 Vol. 54, pp.1-7
https://ajmhs.umed.edu.al/images/ahead-of-print/2020/54/1-Chochova_Final.pdf

Morarcalieva A. , Nakova M., Nikova P, Chochkov B., Velickova N., Georgiev D. Abnormal uterine bleeding as a predictor for endometrial abnormalities, quick diagnosis of premalignant and malignant states and the impact of various risk factors, *Acad Med J* 2022;2(2):78-84

Morarcalieva Chochkova A, Ismaili B, Velickova N, Chochkov B, Nakova M. Application and future perspective of trichloroacetic acid in the treatment of cervical intraepithelial neoplasia after cold knife conization, *Albanian J Med Health Sci* 2023 Vol. 61, pp. 1-6

Содржина

1. Вовед.....	1
1.1. Human papillomavirus (HPV)	5
1.2. HPV геном и протеини.....	7
1.3. Репликација на HPV	9
1.4. Карциногенеза на HPV	10
1.5. Интерреакција на HPV со имуниот систем на домаќинот.....	11
1.6. Ризик фактори за цервикална HPV инфекција и развој на цервикален карцином	13
1.7. Цервикална интраепителијална неоплазија (Cervical intraepithelial neoplasia-CIN).....	14
1.8. Дијагностички тестови	18
1.8.1. Цитолошки методи.....	18
1.8.2. Молекуларни методи.....	20
1.9. Тековни препораки за скрининг за цервикален карцином и скрининг програми на иднината	23
1.10. Менаџирање и третман на цервикалните прекурсорни лезии и цервикален карцином.....	30
1.11. Менаџирање и третман на HPV инфекција	34
2. Мотив.....	43
3. Цели на трудот:.....	44
4. Материјал и методи.....	45
4.1. Дизајн на студијата	45
4.2. Селекција на пациентки	45
4.3. Метод на работа	46
4.4. Статистичка анализа	51

5. Резултати	51
5.1. ИГ 1-група третирана со ТСА.....	52
5.2. ИГ 2-група третирана со инозин	74
5.3. КГ – контролна група	90
6. Дискусија	109
7. Заклучок	118
8. Додадок	121
Користени кратенки	121
9. Користена литература (References)	124

ЕФИКАСНОСТА НА ТРИХЛОРОЦЕТНАТА КИСЕЛИНА ВО ТРЕТМАН НА ИНФЕКЦИИ СО HPV (HUMAN PAPILLOMAVIRUS) НА ГРЛО НА МАТКА

Краток извадок

Целта на студијата е да се потврди ефикасноста на трихлороцетната киселина (ТСА) како потенцијален третман за субклиничките форми на HPV (*Human papillomavirus*) инфекцијата на грло на матка. **Материјал и методи:** Студијата има ретроспективен карактер и во неа се обработени веќе постоечки резултати од 332 испитаници или пациентки со субклиничка инфекција на грлото на матката со HPV, кои беа поделени во 3 групи во зависност од начинот на третирање и обсервирање. Во првата испитувана група се вклучени 172 пациентки третирани со ТСА, во втората испитувана група се вклучени 46 пациентки третирани со инозин и контролна група (КГ) составена од 114 пациентки без терапија. Сите пациентки од контролната и од испитуваните групи се однапред третирани и селектирани во Амбулантата за гинекологија и акушерство во Приватна општа болница “Ремедика” во Скопје. **Резултати:** Во групата од 172 пациентки третирани со ТСА, детектирани се 32 типови на HPV, од кои 14 високоризични, 12 нискоризични и 6 веројатно високоризични типови. Од вкупно 201 високоризични хуман папилома вируси, најголем дел се детектирани кај жени (вкупно 52 или 25.87%) на возраст од 26 до 30 години. Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика во зачестеноста на високоризичните HPV меѓу петте возрасни групи ($p=0.17$). Во групата од 102 пациентки третирани со ТСА кај кои е направен контролен PCR (*Polymerase Chain Reaction*), тест, позитивен исход од третманот се потврди кај 83 (81.37%) пациентки, додека негативен исход кај 19 (18.63%). Возраста на пациентките нема сигнификантно влијание на исходот од ТСА третманот ($p=0.8$). Резултатите од статистичката анализа потврдуваат дека исходот од третманот не е сигнификантно асоциран со ниту еден тип на HPV ($p>0.05$), со исклучок на тип 16 за кој беше потврдена гранична сигнификантност ($p=0.05$). Испитуваната поврзаност помеѓу возраста на пациентките третирани со инозин и степенот на канцерогеност на детектираните вируси беше негативна, што покажува дека повозрасните пациентки се инфицирани со вируси со пониска канцерогеност ($R=-0.21$). Стапката на ефикасност на третманот со инозин е 68.42% и е сигнификантно повисока од стапката на излекувани во КГ, која изнесува 36.45%,

$p=0.0091$. Стапката на ефикасност на третманот со ТСА е 81.37% и е сигнификантно повисока од стапката на излекувани пациенти во КГ, која изнесува 36.45%, ($p<0.0001$). **Заклучок:** Преваленцата на HPV инфекциите, посебно кај помладата популација помеѓу 21 и 30 години е висока. Најзастапени се следниве типови на HPV: 31, 16, 18 и 52. Топичната апликација на 85% ТСА даде статистички сигнификантни резултати во однос на ефикасноста во третманот на субклиничките форми на HPV инфекцијата, споредено со пациентките следени со експектативен манаџмент. Ефикасноста на ТСА во третман на субклиничките HPV инфекции на грло на матка се потврди кај сите возрасни групи и за сите типови на HPV.

Клучни зборови: *Human papillomavirus*, трихлороцетна киселина, субклиничка инфекција, цервикална интраепителијална неоплазија, цервикален карцином, инозин

EFFICACY OF TRICHLOROACETIC ACID IN TREATMENT OF HPV (*HUMAN PAPILOMAVIRUS*) RELATED INFECTIONS OF THE UTERINE CERVIX

Abstract

The aim of the study is to prove the efficacy of trichloroacetic acid (TCA) as a potential treatment for subclinical forms of HPV infection of the cervix. Material and methods: The study has a retrospective character and in it were processed already existing results of 332 subjects or patients with subclinical infection of the cervix with HPV. They were divided into 3 groups depending on the method of treatment and observation. The first study group included 172 patients treated with TCA, the second study group included 46 patients treated with inosine and a control group consisting of 114 patients without therapy. All patients from the control and the examined groups were previously treated and selected in the Dispensary for gynecology and obstetrics at Private General Hospital Remedika in Skopje. Results: In the group of 172 patients treated with TCA, 32 types of HPV were detected, of which 14 were high-risk, 12 were low-risk, and 6 were assumed high-risk types. Out of a total of 201 high-risk human papilloma viruses, most were detected in women aged 26 to 30 years – 52 (25.87%). Statistical analysis did not confirm a significant difference in the frequency of high-risk HPV among the 5 age groups ($p=0.17$). In the group of 102 patients treated with TCA in whom a control PCR was performed, a positive outcome of the treatment was confirmed in 83 (81.37%) patients, while a negative outcome in 19 (18.63%). The age of the patients has no significant influence on the outcome of the TCA treatment ($p=0.8$). The results of the statistical analysis confirm that the outcome of the treatment is not significantly associated with any type of HPV ($p>0.05$), with the exception of type 16 for which borderline significance was confirmed ($p=0.05$). The examined association between the age of the patients treated with inosine and the degree of carcinogenicity of the detected viruses was negative, indicating that in older patients viruses with a lower carcinogenicity were detected ($R=-0.21$). The efficiency rate of inosine treatment is 68.42% and is significantly higher than the cure rate in KG, which is 36.45%, $p=0.0091$. The efficiency rate of TCA treatment is 81.37%, and it is significantly higher than the cure rate in KG, which was 36.45%, ($p<0.0001$). Conclusion: The prevalence of HPV infections, especially among the younger population between 21 and 30 years old, is high. The most prevalent types are HPV 31, 16, 18 and 52. Topical application of 85% TCA gave statistically significant results

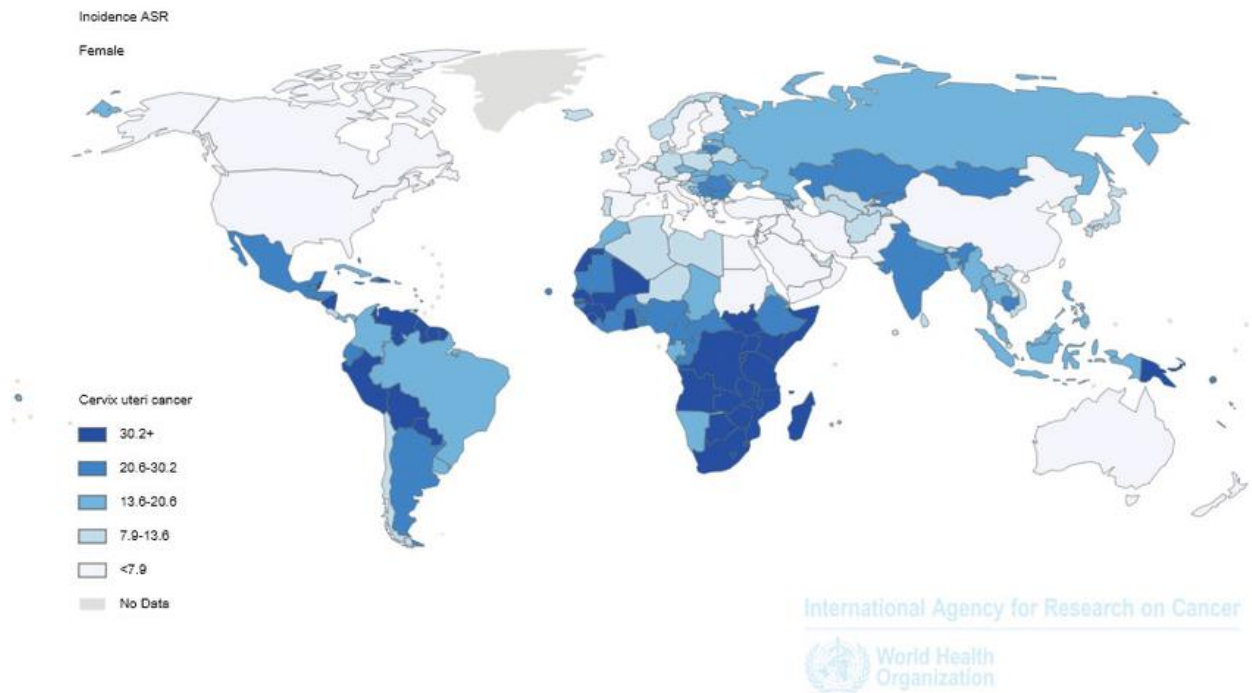
in terms of efficacy in the treatment of subclinical forms of HPV infection, compared to patients followed by expectant management. The efficacy of TCA in the treatment of subclinical HPV infections of the cervix is the same for all age groups and for all HPV types.

Keywords: Human papillomavirus, trichloroacetic acid, subclinical HPV infection, cervical intraepithelial neoplasia, cervical cancer, inosine.

1. Вовед

Хуманиот папилома вирус или HPV (*Human papilloma virus*) е убиквитарен вирус. Постојат над 200 типови на HPV, од кои 40 се со специфичен тропизам за аногениталната регија, додека 14 се високоризични типови. 99,7% од цервикалните карциноми, присутни во хумана популација се причинети од HPV додека 80% припаѓаат на групата високоризични типови на HPV (1). Онкогениот потенцијал на HPV се потврдува во далечната 1972 год. од страна на *Stefania Jablonska* од Полска, која заедно со *Gerard Orth* во Луј Пастер Институтот го потврдиле HPV 5 во примероци од карцином на кожа (2). *Harald zur Hausen et al.* во 1976 год. потврдуваат дека HPV е причина за карцином на грло на матка. Во своите истражувања направени во 1983 год. и 1984 год. за прв пат ги идентификуваат HPV тип 16 и HPV тип 18 во примероци од карцином на грло на матка (3). За овие епохални истражувања и научни достигнувања, овие научници во 2008 год. добиваат Нобелова награда за физиологија од областа на медицината (4).

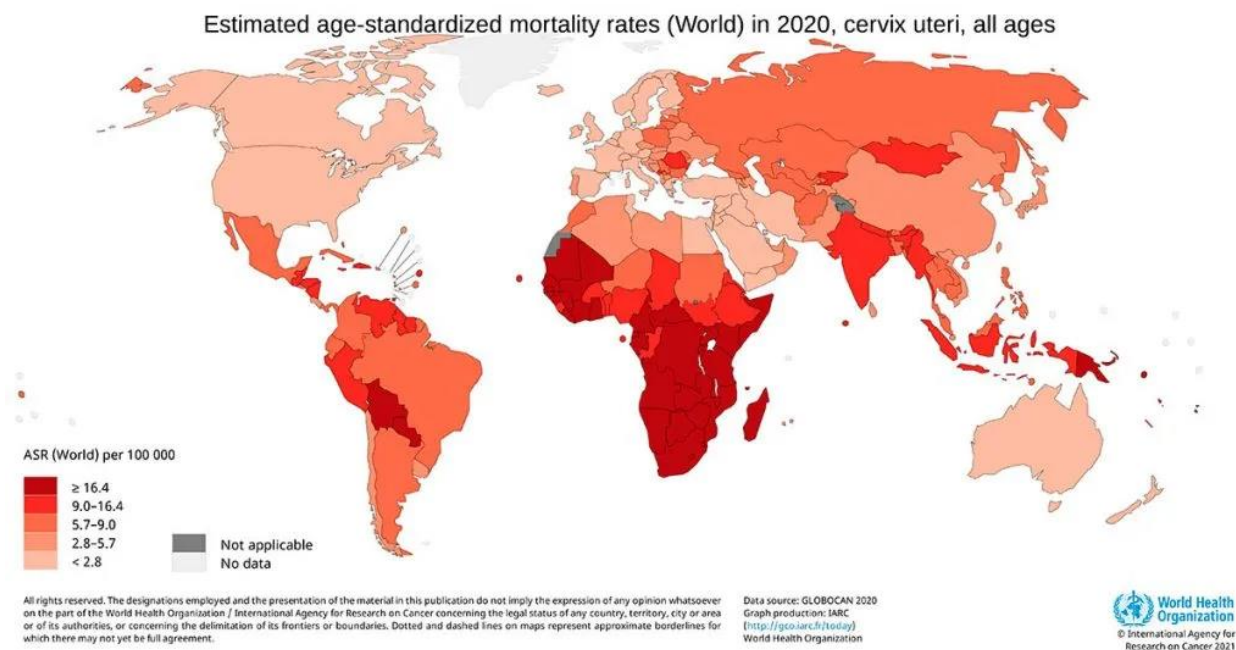
Според извештаите на *Global Cancer Observatory (GLOBOCAN)* од 2020 год., присуството на цервикален карцином на светско ниво се проценува на 604 127 новодијагностицирани случаи што претставува 6,5% од сите карциноми кои се јавуваат кај женската популација (*Sung H et al.* 2021).



Слика 1. Проценета инциденца на цервикален карцином на светско ниво 2020 год . (превземено од IARC- *International agency for research of cancer*).

Figure 1. Cervical cancer around the world, Estimated incidence rates, IARC, 2020

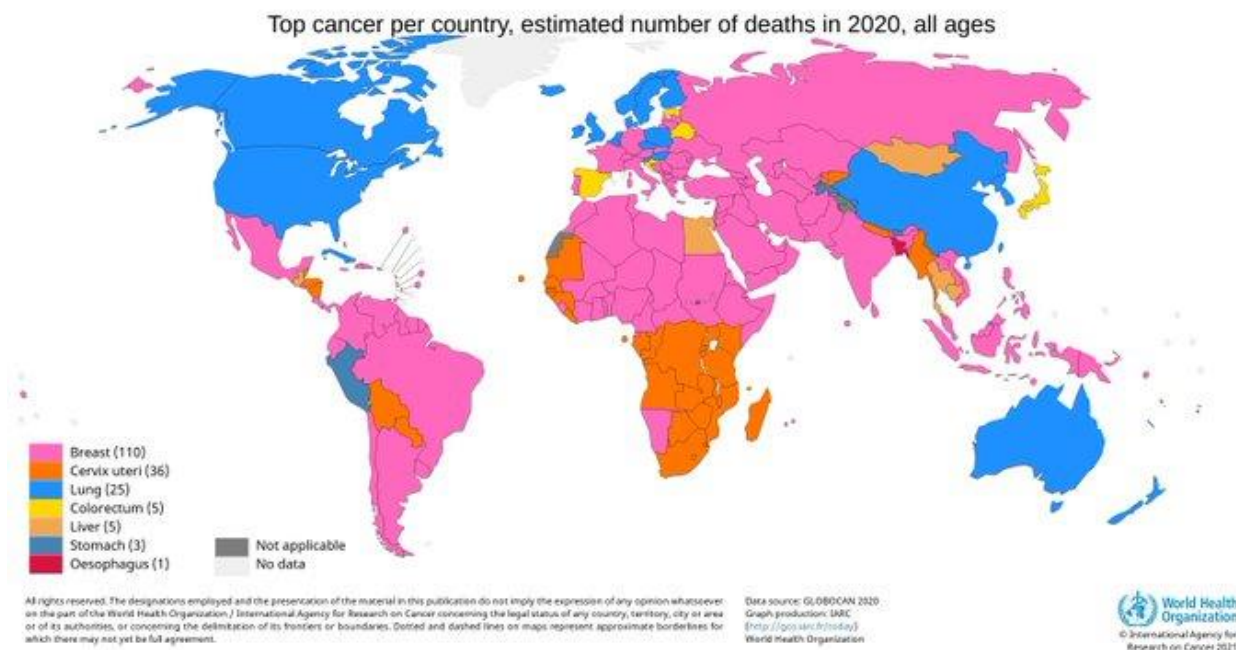
Според податоците на Светската здравствена организација (СЗО) од 2020 год. цервикалниот карцином е причина за смрт на 341 831 жени, од кои 90% се во неразвиените земји. Значителната дискрепанца во инциденцата и стапката на морталитет помеѓу развиените и неразвиените земји, најверојатно се должи на различната преваленца на ризик факторите, ограничениот пристап до здравствени институции и лошо организираните скрининг програми, како и малата покриеност на ризичните групи со скрининг програмите, недостатоците во здравствениот систем и неефективните постапки во скрининг програмите, третманот и следењето на пациентките, додека инциденцата и стапката на морталитет на цервикален карцином во развиените земји е ниска, имајќи ги во предвид добро организираните и сеопфатни скрининг програми.



Слика 2. Процент морталитет од цервикален карцином на светско ниво, 2020 година (превземено од IARC)

Figure 2. Cervical cancer mortality worldwide, IARC, 2020

На глобално ниво (според податоците од 2020год.), по однос на број на смртност или морталитет, цервикалниот карцином се наоѓа на второ место по застапеност кај женската популација веднаш по карциномот на дојка.

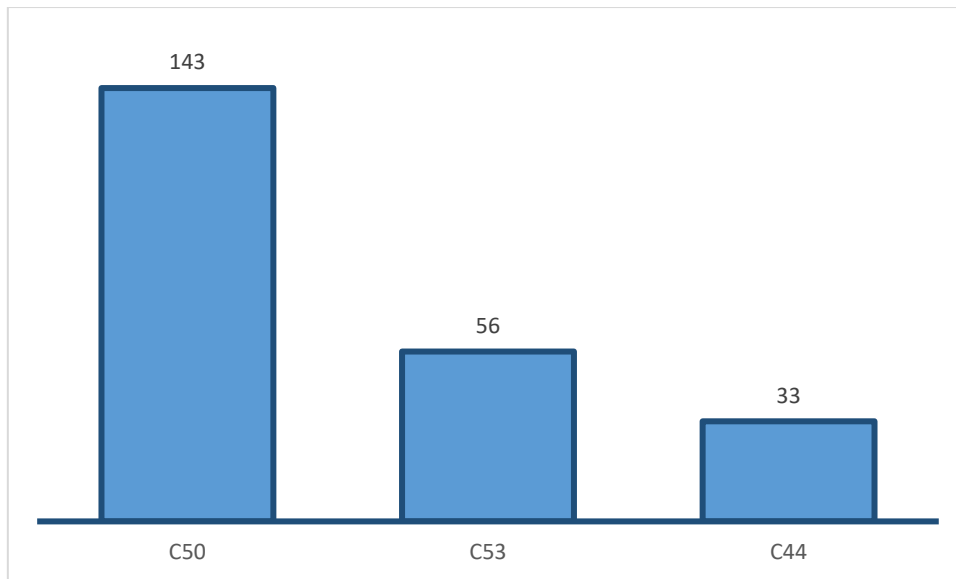


Слика 3. Најчести видови на карциноми, проценето според бројот на смртност во 2020 година, сите возрасти (превземено од IARC)

Figure 3. Top cancer per country, estimated number of deaths in 2020, all ages, IARC

Со оглед на тоа што цервикалниот карцином е превентабилен карцином кој може да се превенира со добро организирани скрининг програми и да се лекува доколку навреме се дијагностицира, ова е поразителен факт за женското репродуктивно здравје (5).

Институтот за јавно здравје на Република Северна Македонија во 2020 год. објави податоци, кои се резултат на десетгодишен мониторинг за морбидитетот и морталитетот кај жените кај кои е дијагностициран карцином на грло на матка, истите потврдуваат зголемен број на потврдени случаи, почнувајќи од 2013 год. до 2019 год. Во 2019 год. се регистрирани 210 новодијагностицирани случаи на карцином на грло на матка и 54 починати (6). Според податоците на Регистарот за рак во Република Северна Македонија, се потврдува дека само во 2020 год. има 152 новодијагностицирани пациентки со карцином на грло на матка, а инциденцата е највисока кај возрасната група од 45 до 50-годишна возраст, додека кај жените на возраст од 35 до 49 год. е втор најчесто дијагностициран карцином (7).



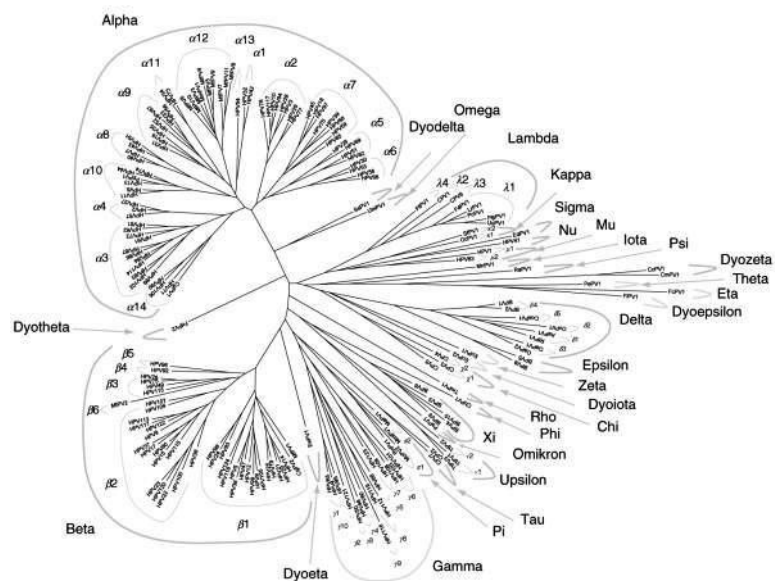
Слика 4. Графички приказ на најчесто дијагностицирани карциноми кај жени на возраст од 35 до 49 години (превземено од Регистар за рак во Р. Северна Македонија)

Figure 4. Chart of most frequently diagnosed cancers in women aged 35 to 49 (Adapted from the Cancer Registry in the Republic of North Macedonia)

Во 2014 год. во нашата држава официјално е донесен Закон за здравствена заштита на женската популација од цервикален карцином и истиот е објавен во Службен весник и врз основа на истиот (преку системот на примарна здравствена заштита) се реализира програмата за скрининг на женска популација на возраст од 24-65 год.

1.1. Human papillomavirus (HPV)

Папиломавирусите спаѓаат во фамилијата *Papillomaviridae*. Тие се вируси со неинкапсулиран затворен циркуларен DNA геном. Таксономијата на фамилијата се базира на присуството на L1 генот и доколку L1 генетската секвенца е најмалку 10% различна од било кој друг претходно потврдено тип на HPV, тогаш се идентификува нов тип на HPV (8). Според *Bernard et al* (2006), фамилијата на *Papillomaviridae* опфаќа 29 родови кои се создадени од 189 папиломавируси од кои 120 се потврдени во хумана популација, 64 кај цицачи, 3 кај птици и 2 кај влечуги (9).



Слика 5. Филогенетско дрво на HPV, базирано на L1 нуклеотидните секвенци на на 189 папиломавируси (Превземено од *Bernard et al*, 2010).

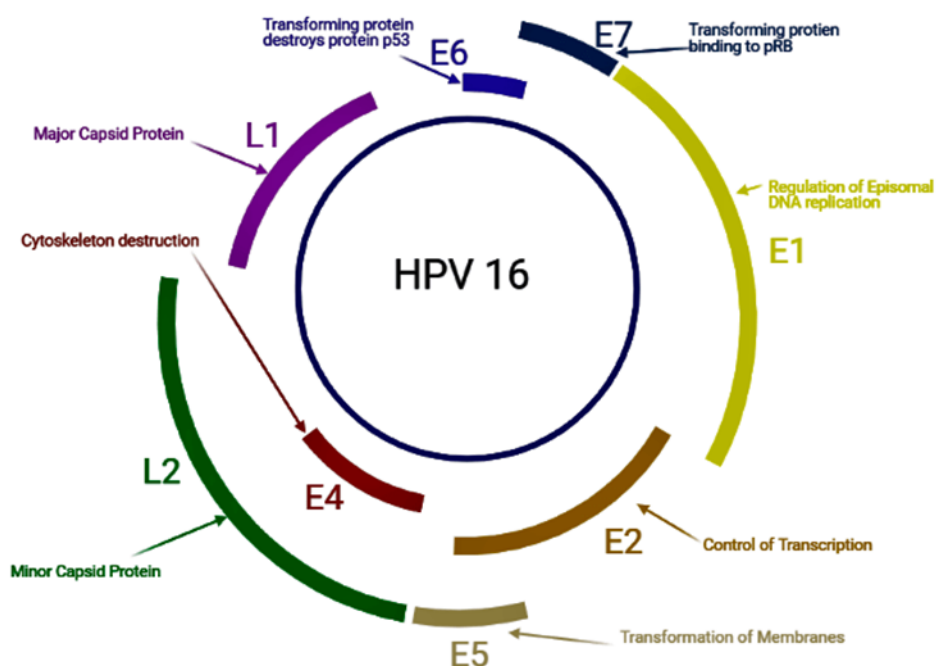
Figure 5. Bayesian phylogenetic tree based on the L1 nucleotide sequences of 189 papillomaviruses (Adapted from *Bernard et al*, 2010)

Денес се регистрирани или потврдени 198 различни типови на HPV, откако беа повлечени 46, 55, 64 и 79 тип на HPV (10). 40-тина од нив покажуваат тропизам за аналната и гениталната регија и кај двата пола (11). Постојат пет класи на HPV Алфа, Бета, Гама, Му и Ну. од кои најважни се Алфа 9 и Алфа 7, поради карциногениот потенцијал што го имаат во себе. Во класата Алфа 9 припаѓаат HPV 16, 35, 31, 52, 67, 33 и 58, додекаво Алфа 7, HPV од тип 18, 68, 39, 70, 85, 59,45, 97 (12).

Според степенот на карциногеност и поврзаноста со карцином на грло на матка постојат 14 високоризични типови на HPV, (тип 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 и 68), типови кои се претпоставува дека се високоризични, (тип 26, 53, 67, 70, 73, 82) и нискоризични типови на HPV (6, 11, 40, 42, 43, 44, и 71) (14). Ниско ризичните типови на HPV се асоцирани со појава на генитални кондиоми и ларингеална папиломатоза, со тоа што тип 6 предоминантно е одговорен за гениталните кондиоми, а тип 11 најчесто се изолира од ларингеалните папиломи. HPV тип 16 и 18 се одговорни за повеќе од 70% од цервикалните карциноми, 25-35% од цервикалните лезии од низок степен и повеќе од 50% од цервикалните лезии од висок степен (13,14).

1.2. HPV геном и протеини

Неинкапулираниот, двојно верижен, циркуларен, DNA геном на HPV има големина од скоро 8 kB (килобазни) парови. Неговите гени енкодираат осум главни протеини, од кои шест се наоѓаат во раниот регион, а два во доцниот регион. Идентифициран е уште еден регион, односно долг контролен или нагорен регулаторен регион. Иако нагорните регулаторни региони (*URR-upstream regulatory region*) немаат читачки генетски секвенци (*ORF- open reading frames*), имаат места за поврзување со протеините E1 и E2 и секвенци за засилување и пригушување.

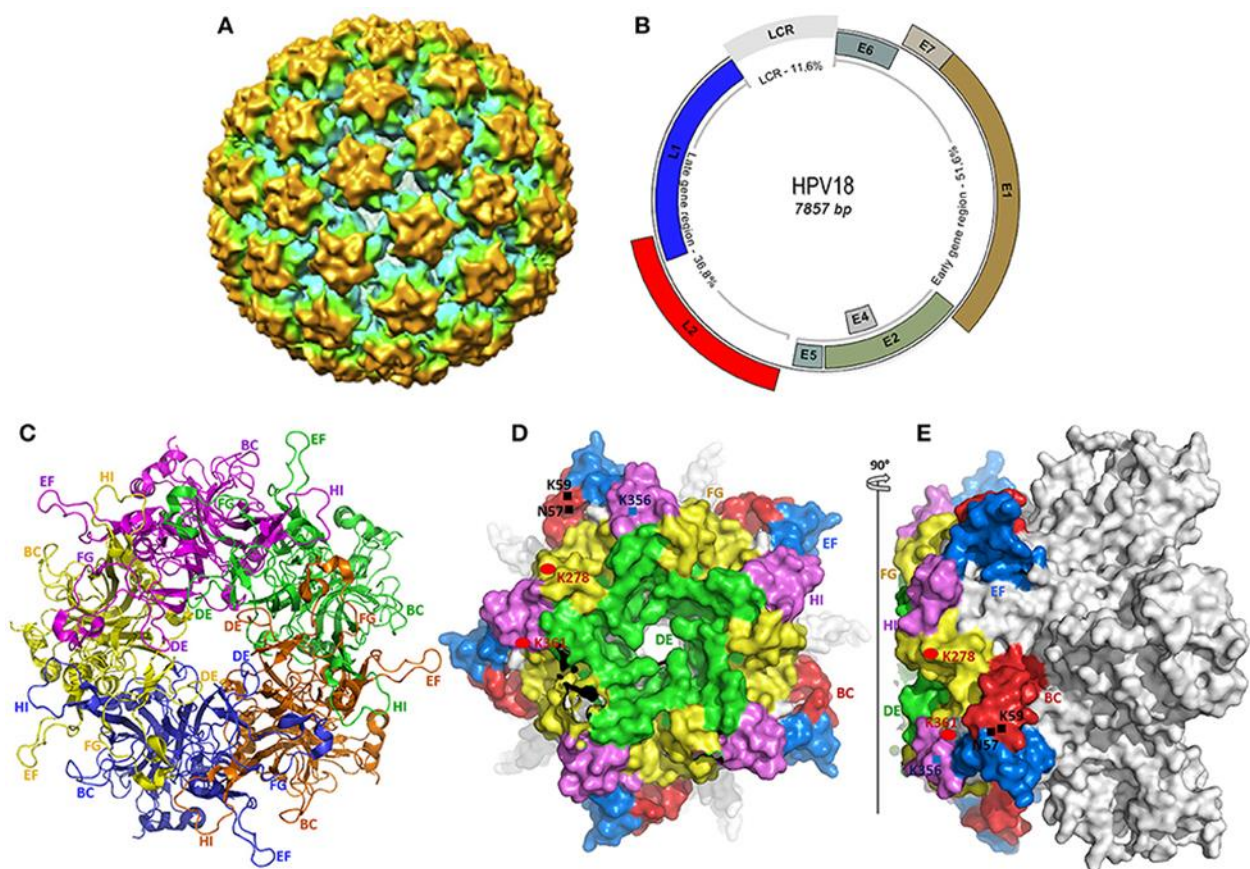


Слика 6. Геномот на HPV (превземено од Clinical laboratory science).

Figure 6. HPV genom, Clinical laboratory science

Раните протеини главно се регулаторни по функција. Протеинот E1 е всушност аденозин трифосфат зависна DNA хеликаза, која помага во репликација на геномот. E2 протеинот освен во геномската репликација има улога и во транскрипција, сегрегација и енкапсулација на вирусните честички. Тој ја регулира клеточната генска експресија, клеточниот циклус и апоптозата. Во ремоделирање на цитокератинската мрежа директно е вклучен E4. Тој го регулира затајувањето на клеточниот циклус и групирањето на вирусот. Имуномодулаторот E5 пак, го контролира клеточниот раст и диференцијацијата на клетките. E6 е онкопротеин. Тој ја инхибира апоптозата и клеточната

диференцијација. Има улога во регулирање на клеточната форма, поларитетот, мобилитетот и сигналната меѓуклеточна комуникација и преку овие механизми има значајна улога во карциногенезата на вирусот и малигна трансформација на клетките. E7 протеинот исто така има важна улога во контрола на клеточниот циклус и малигна трансформација на клетките преку дупликација на центрозомите. Затоа E6 и E7 се најважни онкопротеини, енкодирани во геномот на HPV, кои се многу важни за прогресија на болеста, кај пациенти инфицирани со HPV. Доцните протеини имаат улога во градбата на самиот вирус. L1 е големиот капсиден протеин, а L2 е малиот капсиден протеин кој учествува во продукција на L1 протеин и во склопување на вирусот (15).



Слика 7. Структурен приказ на HPV и L1 протеинот кој се користи како антиген во тековните вакцини. (A) Реконструкција на целата вирусна честичка на HPV18, со помош на крио - електронска микроскопија (B) Презентација на вирусниот геном на α -HPV (HPV 18), конструиран од комплетната геномска секвенца на HPV 18. Прикажани се сите рани и доцни читачки генетски секвенци и долгиот контролен регион во репрезентативна големина (C-E) Кристална структура на

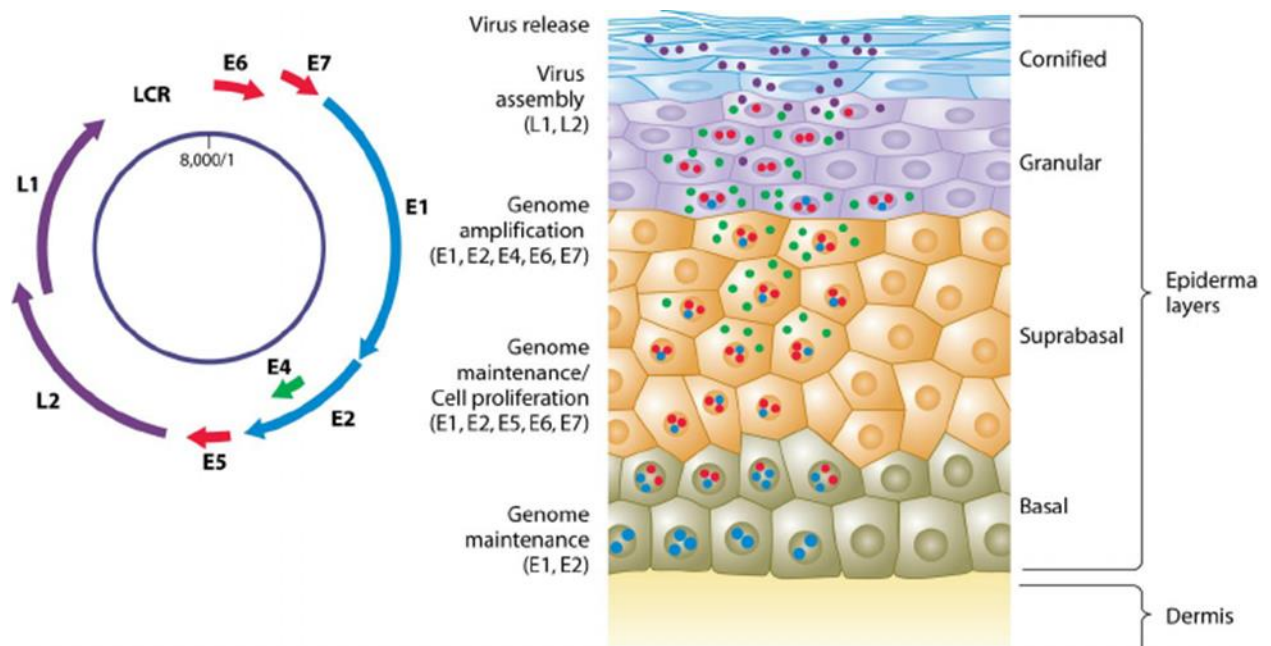
HPV18 L1 пентамерот (C) Прикажан е врвот на јадрената структура на секој L1 мономер во капсомерата, во различни бои, со што се открива секоја површинска јамка која служи како епитоп за неутрализирачките антитела на VLP базираните вакцини (D,E) се прикажува површинската структура (одозгора и од страна), со што се гледа секоја јамка во различни бои и некои специфични места за врзување на хепарин сулфат протеоглигани (HSPG), богати со лизин (K). Јасно се гледаат и варијабилните и константните региони. BC јамката (49-66), DE јамката (169-190), FG јамката (262-291) и HI јамката (348-361) од C до E. (превземено од *Kombe et al. 2021*).

Figure 7. Structural representation of HPV and the L1 protein used as antigen in current vaccines. (A) The cryo-electron microscopy reconstitution of a whole HPV 18 viral particle (B) The viral genome representation of α -HPV (HPV18), constructed from the complete genome sequence of HPV18 . All early and late ORFs, and the long control repeat (LCR) are shown in the respective proportions. (C–E) The crystal structure of HPV18 L1 pentamer (C) shows the top core structure of each L1 monomer in the capsomer in different colors revealing the surface loops serving as epitopes for neutralizing antibodies in VLP-based vaccines. (D,E) show the surface conformation in different views (top and side view), revealing each loop in different colors and some specific heparan-sulfate proteoglycan (HSPG) binding sites rich in lysine (K). Both variable and constant regions are clearly seen. The BC loop (49–66), DE loop (111–155), EF loop (169–190), FG loop (262–291), and HI loop (348–361) are clearly represented in (C–E). (Adapted from *Kombe et al. 2021*).

1.3. Репликација на HPV

Репликацијата на HPV, ексклузивно е поврзана со диференцијацијата на клетките кои тој ги инфицира. Вирусната честичка навлегува во епителните транзиторни амплифицирачки клетки (ТА), преку микроабрази и се врзува најпрво за рецепторите хепарин сулфат протегликан, а како рецептори може да послужат и алфа 6 интегрините. Кога ќе навлезе во клетките, вирусниот геном се транспортира до клеточното јадро, каде започнува негова репликација од околу 20 до 100 копии по клетка. На почеток на инфекцијата се експресираат E1 и E2 раните гени за да постигнат и го одржат бројот на копии на HPV геномот на ниско ниво. Веднаш после инфицирањето се експресираат E6 и E7

онкопротеините кои се во координирана интеракција со нивните партнерски протеини p53 и pRB, соодветно, со чија помош се активира клеточната делба се инхибира апоптозата и се нарушува епителната диференцијација. Со понатамошна амплификација на вирусниот геном се овозможува продукција на голем број на вирусни копии, кои со диференцијација на епителните клетки од базални стем - клетки, патуваат кон површината на ТА- клетките. Конечно по диференцијацијата на клетките, се експресираат и L1 и L2 доцните протеини кои го градат надворешниот дел на вирусниот капсид (16,17).



Слика 8. Животен циклус на HPV (превземено од *Lazarczyk, 2009*)

Figure 8. The HPV life cycle (Adapted from *Lazarczyk, 2009*)

1.4. Карциногенеза на HPV

Интеграцијата на HPV се смета за важен молекуларен настан за HPV индуцирана карциногенеза. Неговата интеграција директно зависи од перзистентноста на инфекцијата и карциногениот потенцијал на вирусот. Нискоризичните типови на HPV остануваат епизомално во клетката. Со тоа го комплетираат нивниот животен циклус и предизвикуваат лезии од низок степен. Додека високоризичните типови имаат способност за интеграција на сопствениот геном во клеточната DNA, со што се пореметува експресијата на гени и на вирусот и на домаќинот. Ваквата абнормална регулација доведува до

континуирана експресија на E6 и E7 онкопротеините кои промовираат клеточен раст и фенотипски карактеристики на клетките компатибилни со карактеристики на лезии од висок степен. Тие играат важна улога во отпочнување на процесот на неоангиогнеза преку координација на ангиогените модулатори како васкуларниот ендотелен фактор за раст (*vascular endothelial growth factor- VEGF*) и интерлеукин 8 (IL8) како активатори и тромбоспондин 1 и маспин, кои се јавуваат како инхибитори на ангиогенезата. E6 и E7 онкогените го индуцираат процесот на епително- мезенхимална транзиција (*epithelial to mesenchymal transition- EMT*), што всушност претставува процес кој е неопходен за инвазија на туморските клетки во крвотокот и метастазирање на други локации во телото (18,19,20).

1.5. Интерреакција на HPV со имуниот систем на домаќинот

HPV има уникатност за евазија на хуманиот имун систем која ја постигнува благодарение на неговите три карактеристики. Во тек на инфекцијата не постои фаза на виремија и имуните клетки не можат да пристапат до вирусните честички. Тој не предизвикува поголеми оштетувања на клетките на домаќинот и на тој начин недостасува соодветен сигнален одговор за инфламација, што овозможува тивка вирусна репликација. Експресијата на онкогените протеини се одржува на ниско ниво, а високо имуногените L1 и L2 капсидни протеини се синтетизираат само на површинските клетки. На овој начин вирусот го избегнува одговорот на вродениот и стекнатиот имунитет на домаќинот, а со тоа го осигурува своето преживување, репликација, дисеминација и перзистенција (21,22).

Компоненти на вродениот имунитет се епителната бариера, комплементот и повеќе клетки кои можат да фагоцитираат и презентираат антигени. Имуниот одговор на HPV инфекцијата на грлото на матка во голема мерка зависи од Лангерхансовите клетки кои ги има во изобилство во трансформационата зона. Тие на својата површина имаат рецептор налик на патарина (*toll like receptor- TLR*) кој ја препознава специјалната мрежа на HPV антигенот и го користи големиот комплекс на хистокомпатибилност (*major histocompatibility complex- MHC*), да го презентира на Т и Б клетките. Но, Лангерхансовите клетки не можат да продуцираат доволно костимулатори, како на пример каскада од

интерферони, а со тоа изостанува и Т- клеточниот одговор. Од друга страна, самата хиперпродукција на Е6 и Е7 протеините предизвикува намалена експресија на TLR9, со што се спречува нормалната презентација на HPV антигенот и се потенцира неговиот карциноген потенцијал. Макрофагите кои се фагоцитни клетки круцијални за имуниот одговор на вродениот имунитет, во микросредина на туморски клетки, наместо да имаат проинфламаторна и антитуморска функција, тие превземаат улога на промотори на туморска клеточна пролиферација и миграција, ангиогенеза и рестрикција на имуната одбрана. Кај клетките на карциномот на грло на матка предизвикан од HPV16, рецепторите на клетките природни убијци (NK) се значително намалени, со што се афицира цитолитичката функционалност. На овој начин HPV го намалува имуниот одговор како дел од вродениот имунитет (23,24,25).

Стектниот имунитет во својот арсенал ги вбројува Т- клетките, кои се делат на Th или Т хелпер, цитотоксични Т клетки (CTL) и регулатрони Т- клетки (Treg) и Б-клетки. Th клетките во однос на нивниот CD4 рецептор се диференцираат на Th1 и Th2 клетки и се разликуваат по антигените кои ги презентираат и костимулаторските сигнали кои ги продуцираат. Имено, Th1 продуцираат предоминатно IL 2, INF γ и лимфотоксин α , со што го активираат клеточно-посредуваниот имунитет. Th2 клетките продуцираат IL4, IL5, IL13, IL25 IL10 и амфирегулин, со што го активираат хуморалниот имунитет. За да се одбрани домаќинот од интрацелуларен или екстрацелуларен напад, мора да постои еквилибриум помеѓу Th1 и Th2 клетките, а при инфекција со HPV овој баланс се нарушува. Кај пациентките со цервикален карцином предизвикан од HPV, превалентен станува профилот на Th2 цитокинската мрежа, додека Th1 клеточниот одговор е намален, што води до супресија на клеточниот имунитет и прогресија на болеста. CTL со помош на експресија на CD8 рецепторот го презентираат антигенот на MHC I, со што се активира клеточниот имунитет, неопходен за клиренс на HPV. Но, HPV развил одбранбен механизам против CTL. Неговиот Е7 протеин врши надолна регулација на експресијата на транспортерот на антиген 1, со што се прескокнува MHC I, а со тоа се супримира презентацијата на HPV како антиген. Начинот на кој што HPV ги супримира Treg се уште не е познат, но се претпоставува дека врши надолна регулација на експресија на CD 80 и CD 86, а со тоа се зголемува продукцијата на ензим кој е цитотоксичен за Т-клетките. Б-клетките одговорни за хуморалниот одговор,

продуцираат антитела кои главно се таргетирани кон L1 капсидниот протеин, но опишани се антитела и против E2, E6, E7 и L2. Најчесто антителата може да се детектираат осум до девет месеци по инфекција со HPV, но, нивните нивоа се многу ниски и неперзистентни (26).

1.6. Ризик фактори за цервикална HPV инфекција и развој на цервикален карцином

Уште во осумдесеттите години направена е асоцијација помеѓу HPV инфекција и карцином на грло на матката. *Walboomers et al.* (1999) во својата студија потврдиле дека 99,7% од случаите- на сквамозен карцином на грло на матка се причинети од HPV (27). Затоа во последните триесет години се истражува карциногениот потенцијал на различните типови на HPV и се класифицирани на високоризични, со висок онкоген потенцијал, нискоризични без онкоген потенцијал и веројатно високотизични типови. Многу ретко, но, постојат исклучоци кога нискоризични типови на HPV се пронајдени во примероци од карцином на грло на матка. Повеќето цервикални лезии предизвикани од HPV, обично транзитираат за дванаесет до триесет и шест месеци, но сепак повеќе фактори влијаат на перзистентноста или транзиторноста на HPV цервикалната инфекција или цервиклана лезија. Посебно важна улога има генетската предиспозиција за полиморфните гени на MHC, како и полиморфни гени на p53, кои се инволвирани во клиренсот на HPV инфекцијата. Генетските варијации на различните типови на HPV, коинфекцијата со повеќе HPV типови, честотата на реинфекција, хормонските нивоа и имуниот одговор, може да ја изменат способноста на домаќинот за клиренс на инфекцијата. *Singh et al.* (2009), во својата студија докажале повисока преваленца на HPV инфекции и карцином на грло на матка, како и неговите прекурсорни лезии кај имунокомпромитирани жени кои се HIV позитивни (28,29,30). Долгогодишното користење на контрацептиви претставува значителен ризик фактор за развој на цервикална лезија од висок степен поради тоа што регулаторниот регион на високоризичните типови на HPV содржи секвенца која може да биде активирана од прогестеронот, кој всушност е активна супстанца на оралните контрацептиви (31). Ризикот се намалува со прекин на конзумација на контрацептивите, а по 10 години се враќа на исто ниво како и и

кај оние жени кои не користеле орални контрацептиви. Пушењето е единствен независен ризик фактор за предизвикување на цервикални лезии од висок степен и неговото дејство се состои од супресија на локалниот имун одговор и мутагената активност на никотинот (32,33). Големиот паритет е ризик фактор за перзистентни HPV инфекции и прогресија во цервикални лезии или карцином. Предложениот механизам е зголеменото ниво на хормоните кои го нарушуваат имуниот одговор за време на бременоста, како и локално оштетување на ткивото на грлото на матка кое се случува за време на вагинално породување (34,35). Бројот на партнери корелира со ризикот од HPV инфекција, меѓутоа е релативно висок и кај жени со само еден партнер, односно 4-20%. За разлика од ова, жените кои немале односи скоро и да немаат HPV инфекции. Интересен е податокот дека односите заштитени со бариерна контрацепција воопшто немаат протективно дејство за трансмисија на HPV инфекција поради мукокутаниот тропизам на HPV, кој може да се пренесе и само со контакт преку кожа (36,37). Херпес симплекс, хламидија и другите сексуално трансмисивни болести повеќе се маркер за изложеност на HPV отколку каузален фактор, но можат да го модулираат имунитетот на домаќинот и да го промовираат онкогениот потенцијал на HPV. Сепак, најсилен доказ постои за улогата на *Chlamidia trachomatis* во цервикалната карциногенеза (38). Пациентките кои се серопозитивни на *Chlamidia trachomatis*, како резултат на претходна инфекција, а се со постојана HPV инфекција, со калкулирање на ризикот од возраста, користење на контрацепција, постоење на HSV2 антитела и број на термински бремености, имаат зголемен ризик за цервикален карцином. Жените со повторувачки инфекции со *Chlamidia trachomatis* кои имаат перзистентна HPV инфекција имаат зголемен ризик и од CIN3. Хроничното цервикално воспаление може да ги поттикне раните фази на карциногенеза преку нефункционален инфламаторен одговор на домаќинот и зголемени нивоа на проинфламаторни цитокини (39).

1.7. Цервикална интраепителијална неоплазија (Cervical intraepithelial neoplasia-CIN)

Во 1973 година, *Richart* го претставил концептот за цервикална интраепителијала неоплазија (*Cervical intraepithelial neoplasia- CIN*), кој укажува дека дисплазијата и карцинома *in situ* се различни фази од прогресија на болеста, но во основа се ист биолошки процес. Според овој систем, премалигните абнормалности се делат на лесна дисплазија (CIN1), средно тешка дисплазија (CIN2) и тешка дисплазија/ карцинома *in situ* (CIN3/CIS) (40). Како што PAP тестот завземал пошироко место како дијагностичка алатка за цервикалните дисплазии, така се наметнала потребата за унифициран систем за читање на цервикалните цитолошки дијагнози. *Bethesda* системот за првпат бил претставен во 1988 година, ревидиран е во 1991 година, а потоа и во 2001, 2004 и 2014 година, со цел да се рedefинира системот за читање на цервикалните брисеви и да се овозможи униформност во дијагностичкиот пристап. Во Република Северна Македонија се уште се практикува ревидираниот *Bethesda*- систем од 2004 година и резултатите се интерпретираат како:

1. Атипични сквамозни клетки (*atypical squamous cells- ASC*), клеточните промени кои може да бидат бенигни, инфламаторни промени како резултат на инфекции или траума, но може да бидат и предвесници на преинвазивна неопластична лезија. Тие се делат на атипични сквамозни клетки со недетерминирано значење (*atypical squamous cells of undetermined significance- ASC-US*) и атипични сквамозни клетки при што не може да се исклучи висок степен на интраепителијалан лезија (HSIL), (*atypical squamous cells- can not exclude high grade squamous intraepithelial lesion- ASC-H*).
2. Сквамозна интраепителијална неоплазија од низок степен (*Low grade squamous intraepithelial lesion- LSIL*),
3. Сквамозна интраепителијална лезија од висок степен (*High grade squamous intraepithelial lesion- HSIL*) и
4. Сквамозен клеточен карцином (*squamous cell carcinoma- SCC*).

За жлездената компонента е вметната категорија атипични glandуларни клетки (*atypical glandular cells- AGC*), и присуството или отсуството на овие клетки треба да се пријавува кај жени над 40 години. Glandуларните абнормалности се делат на AGC, ендцервикален аденокарцином *in situ* (*adenocarcinoma in situ- AIS*), аденокарцином, аденокарцином неспецифициран поинаку и други малигни неоплазми (41)

- I. Тип на примерокот**
1. Конвенционален размаз
 2. liquid-based размаз
- II. Адекватност на размазот**
3. Задоволителен за евалуација
 4. Незадоволителен за евалуација
- III. The Revised Bethesda System 2004.**
5. Нормален наод
 6. Бенигни клеточни промени (види описни дијагнози 8-19)
 7. Епителни клеточни абнормалности (види описни дијагнози од 20-29)
- Описни дијагнози:**
Бенигни клеточни промени
- Инфекции**
8. Trichomonas vaginalis
 9. Габични инфекции (Candida)
 10. Кокоидни бактерии
 11. Бактерии соодветни на Acclinomyces
 12. Клеточни промени што асоцираат на вирусни инфекции
 13. Gardnerella vaginalis
 - Друго
- Реактивни промени**
14. Инфламација (вклучува типична обнова)
 15. Атрофија со инфламација
 16. Постирадијациони промени
 17. Интраутерино контрацептивно средство (IUD)
 18. Гландуларен клеточен статус после хистеректомија
 19. Ендуметријални клетки
- Епителни клеточни абнормалности**
- Плочести клетки**
20. Атипични плочести клетки (Atypical squamous cells - ASC)
 - ASC со недетерминирано значење (ASC - US)
 - ASC не исклучува HSIL (ASC - H)
 21. Плочеста интраепителијална лезија од низок степен - LSIL (HPV, CIN 1) - NPV цервицитис, лесна дисплазија
 22. Плочеста интраепителијална лезија од висок степен - HSIL (CIN 2, CIN 3, CIS) - умерена, тешка дисплазија, Carcinoma in situ
 23. Плочест карцином суспектен за инвазија
 24. Плочест карцином
- Жлездени клетки**
25. Атипични жлездени клетки (Atypical glandular cells - AGC)
 - AGC - ендоцервикални, ендометријални, glandуларни клетки
 - AGC - атипични жлездени клетки, фаворизираат неопластични
 26. Цервикален in situ аденокарцином - Adenocarcinoma in situ (AIS)
 27. Аденикарцином (цервикален, ендометријален, екстраутерин)
 28. Аденикарцином неспецифициран поинаку (Adenocarcinoma NOS)
 29. Други малигни неоплазми
30. Цитохормонскиот наод не е компатибилен со возраста на пациентката
- IV. Препорака**
32. Да се повтори
 33. Контрола по санација на неспецифичниот колпит
 34. Контрола по 4 - 6 месеци
 35. Колпоскопски преглед
 36. Хистолошка верификација
 38. HPV типизација

Цитотехничар I

Цитотехничар II

Лекар

Датум на испраќање

Датум на закажан

преглед

Слика 9. Формулар за репрезентација на PAP тест, *Bethesda* 2004

Figure 9. Pap smear representation form, *Bethesda* 2004

Bethesda 2014 системот има помали додатоци во делот за интерпретација на резултати се со цел да се категоризираат групите на пациентки, да се направи стандардизација на извештајот и да се олесни собирањето и анализата на податоците во лабораториите на глобално ниво (42). *Reagan* класификацијата на цервикалните лезии на лесна дисплазија, умерена дисплазија, тешка

дисплазија и карцинома *in situ* е поддржана од Светската здравствена организација (*World health organization- WHO*). *Papanicolaou*- класификацијата на цитолошки наоди, предоминантно се користи за опишување на цитолошките наоди од пулмоналните примероци и промените ги дели во шест групи:

1. Недијагностички примерок,
2. Негативен за малигнитет,
3. Атипична,
4. Неоплазија (бенигна или нискоризичен карцином),
5. Суспектен за малигнитет и
6. Малигнитет (43).

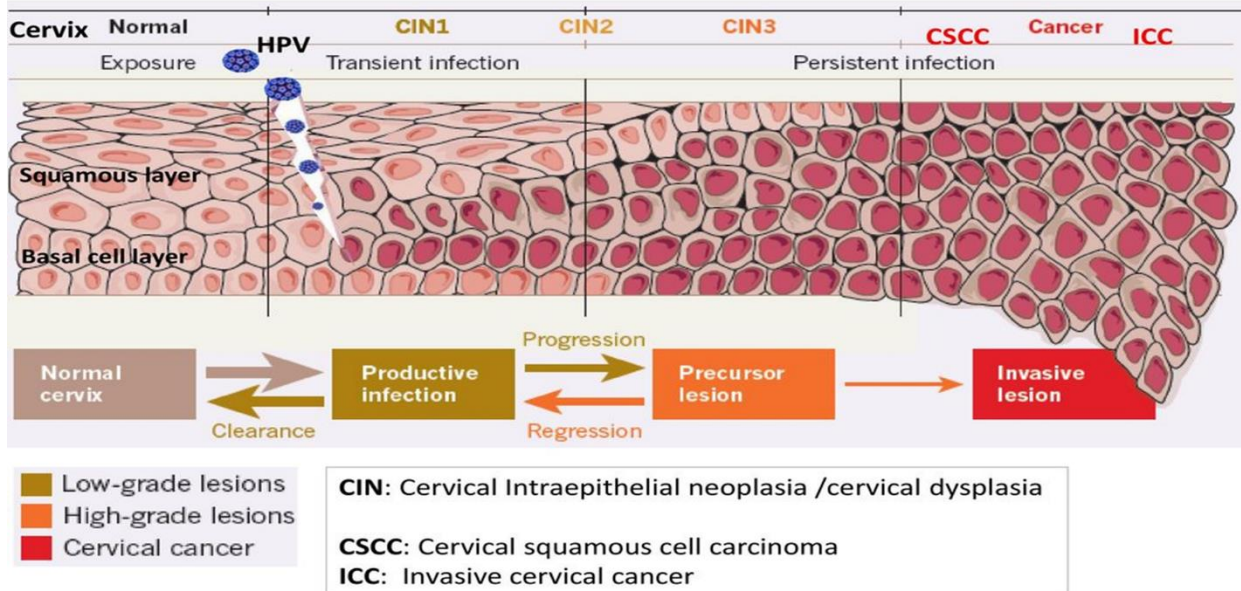
CIN- системот ја опишува пролиферацијата на атипичните сквамозни клетки, кои се видоизменета големина, форма, поларитет, висок митотички индекс и хиперхроматозни јадра. Се додека е инволвирана само долната третина на епителот се работи за CIN1. Кога атипичните клетки ќе пролиферираат во долните две третини од епителот тогаш се работи за CIN2. Доколку е зафатена целата дебелина на епителот тогаш се дијагностицира CIN3/CIS.

Табела 1. Споредба на системите на цитолошка класификација
Table 1. Comparison of cytological classification systems

Светска здравствена организација			
PAPANICOLAOU	Светска здравствена организација	CIN	Bethesda систем
I недијагностички примерок	нормален	Нормален	Нормален
II негативен за малигнитет	атипичен		Инфекции, рекативни промени ASQ – US, ASC-H
III атипична	лесна дисплазија	CIN I	LSIL
IV неоплазија (бенигна или нискоризичен карцином)	средна до тешка дисплазија и CIS	CIN II CIN III	HSIL

V суспектен за малигнитет	инвазивен карцином	инвазивен карцином	SCC
VI малигнитет			AGC

Biology of HPV infection



Слика 10. Биологија на HPV инфекцијата (превземено од Crow 2012)

Figure 10. Biology of HPV infection (Crow 2012)

1.8. Дијагностички тестови

1.8.1. Цитолошки методи

Корисноста на ексфолијативната цитологија, за рана детекција на цервикален карцином била претставена уште во 1920 година од *Babes* и *Paranicolau* (44). PAP тестот се состои од колектирање на суперфицијалниот слој на трансформационата зона на цервиксот и негова анализа од цитопатолог. Со него се идентифицираат абнормални клетки од трансформационата зона на цервиксот, но не ја прикажува структурата на ткивото. Сензитивноста на PAP тестот е 70%. Иако се користи како средство за систематски скрининг, некои случаи на цервикална дисплазија може да останат недијагностицирани и да прогредираат во цервикален карцином. Затоа неговата употреба е преобладавајќа како средство за скрининг, отколку дијагностичка алатка. Треба

да се земе во предвид високоваријабилната стапка на сензитивност на PAP тестот. Според *Sorbye et al.* стапката на специфичност и сензитивност на PAP тестот во детекција на цервикалните лезии изнесува 77,4% и 81,3%, соодветно (45). Конвенционалниот PAP тест има стапка на сензитивност од 48% до 57% (46). За да можат да се избегнат лажно- негативните резултати, PAP тестот треба да биде задолжителен. Кога грлото на матката изгледа абнормално и покрај нормален наод на PAP тест, треба да се направи биопсија на цервикс за да се исклучи присуството на цервикална интраепителијална неоплазија кај жените со макроскопски архитектонски промени. Сепак точноста на PAP тестот за дијагноза на цервикалните преканцерозни лезии останува на ниско ниво. За да се намали стапката на недијагностицирани цервикални неоплазии, колпоскопски водената цервикална биопсија треба да биде асоцирана со PAP тестот кај жени со макроскопски видливи архитектонски цервикални промени (47).

Цитологија базирана на течен медиум (*liquid based cytology*- LBC) е уште еден метод кој е претставен во 90-те години од минатиот век. Земените клетки се суспендираат во течен медиум и потоа се подготвува препарат. Во 1996 година од страна на FDA беа одобрени *ThinPrep* и *SurePath*. Објавени се многу контроверзни резултати во однос на сензитивноста и специфичноста на методот, посебно кога се споредуваат со сензитивноста и специфичноста на конвенционалниот PAP тест. *Pankaj et al.* (2018) објавија дека LBC е супериорен метод над конвенционалниот PAP тест (48). *Zarchi et al.* (2013) ги демантираат сите овие студии објавувајќи резултати од споредбата на PAP тестот, LBC и колпоскопија, со што не е најдена значителна разлика во сензитивноста и специфичноста на LBC, наспроти PAP тестот (49).

За да се намали стапката на потреба за колпоскопии и поефикасно да се детектираат преканцерозните лезии, се истражуваат биомаркери кои се високоспецифични и сензитивни. P16/ki67 цитологијата со двојно боење е алтернативен метод за скрининг на цервикален карцином. P16 е важен регулатор на клеточниот циклус и има улога на тумор- супресор ген. Надолна регулација на експресијата на p16, го зголемува ризикот за цервикален карцином. Ki67 пак е маркер за клеточна пролиферација, кој има можност за предикција на малигниот потенцијал на туморот и важен показател за прогнозата и предикцијата на однесувањето на многу тумори. P16/Ki67 коекспресијата

предизвикува дерегулација на клеточниот циклус, предизвикана од HPV. Детекцијата на овој биомаркер може да послужи да се предвиди HPV посредуваната клеточна трансформација кон цервикална лезија од висок степен. Сензитивноста на p16/Ki 67 дуалното боење е пониска од HPV DNA тестот, а специфичноста му е иста како и на LBC. Како и да е, P16/Ki67 дуалното боење се користи за тријажа на инфицираните со HPV, ASC-US и LSIL, а покажа и дека може да ја подобри дијагностичката точност на HSIL и цервикален карцином (50).

1.8.2. Молекуларни методи

Молекуларните методи се поверодостојни и посензитивни методи за детекција на HPV, поради тоа што самиот вирус не може да се култивира *in vitro*. Се базираат на изолирање на DNA на HPV или во поново време RNA на HPV од цервикални или вагинални примероци.

Молекуларните техники се делат на техники што не користат амплификација, како нуклеински киселини, проба тестот и оние кои користат амплификација, како полимераза верижна реакција (*Polymerase chain reaction-PCR*). Амплификационите техники понатаму се делат на:

1. Таргет амплификација, при што есејот ја амплифицира таргетираната нуклеинска киселина, пр. PCR методата.
2. Единечна амплификација, при која сигналот генериран од секоја проба се засилува со помош технологија на проба со соединение или проба со разгранет ланец.
3. Амплификација на проба, при која самата молекула на пробата се амплифицира (на пример, лигаза верижната реакција).

Досега, за детектирање на HPV се користат техниките на единечна и таргет амплификација. Некои технологии имаат можност и за евидентирање на вирусното преоптеретување, но се уште не е докажана неговата поврзаност со прогресија на болеста.

Техниката на единечна амплификација за детекција на HPV ја вклучува техниката на хибридно фаќање и пристап на гранење на DNA. Техниката хибридно фаќање (*Hybrid capture- HC*), развиена од *Digene Corporation*, детектира таргет нуклеински киселини користејќи единечна амплификација, за да овозможи сензитивност која може да се спореди со таргетираниот метод на

амплификација. Истата, има развиено два есеја, *Hybrid capture tube test* и *Hybrid capture II*, кои детектираат високоризични типови на HPV. Двата теста се одобрени од FDA (2003). Тестовите на хибридизација се изведуваат на тој начин што клетките земен од цервикален или вагинален примерок во пуфер за екстракција, за да се ослободи и денатурира таргетираната DNA. Таргетираната DNA се комбинира со специфична RNA проба за да се креира RNA-DNA хибрид, кој се детектира на солидна фаза со помош на антитело специфично за тој хибрид. Ваквите детектирани DNA-RNA хибриди се обележуваат со антитело, кое поврзано со алкална фосфатаза. Потоа хемилуминисцентен супстрат продуцира светло кое се мери со луминометар и светлината се изразува во релативни светлосни единици (*relative light units- RLU*). Количината на светлина е правопрпорционална на количината на таргетираната DNA во оригиналниот примерок (51). *Schifman et al.* (2000) евалуирајќи ја употребата на тестовите за хибридизација за идентификација на жените кои најверојатно имаат цервикална дисплазија од висок степен или карцином, потврдиле дека HPV тестирањето детектира 88.4% од тешките цервикални дисплазии и карциномите на грло на матка со специфичност од 89%. Оваа метода е посензитивна од PAP тестот со 88,4% наспроти 77,7% на PAP тестот за детекција на дисплазиите од висок степен и цервикален карцином, но помалку специфична, 89% наспроти 94% на PAP тестот. Авторите заклучуваат дека тестот може да биде вметнат како алатка за скрининг на цервикален карцином (52).

DNA таргет амплификација е лабораториска процедура која удвојува фрагменти на DNA од таргетирана секвенца од ген и така овозможува концентрирани примероци на определена генетска секвенца. Најчесто применуван метод е PCR (*Polymerase Chain Reaction*). PCR исто така е најприменуван метод за детекција на HPV, но нејзината цена се уште ја лимитира широката распространетост и импрегнирање во примарен скрининг за цервикален карцином. Оваа технологија бара циклична реакција во три чекори. Микс од хемикалии, вклучувајќи ги и неопходните каталици и ензими, се ставаат во сад, кој се става во термоциклер и отпочнува биохемискиот процес. Со секој термален циклус, се удвојува количината на DNA. На пример, за речиси 1 час, во 20 термални циклуси може да се продуцираат милион копии. Специфичните својства на PCR е тоа што може да детектира многу мали

количини на DNA од HPV, во строго контролирани лабораториски услови со цел да се намали контаминацијата и лажно- позитивните резултати (53).

Неамплификационите техники ретко се користат како алатки во скрининг програми за карцином на грло на матка поради ниската сезитивност, долгото време за изработка, потребата за искусни техничари и потребната лабораториска опрема и реагенси. Популарни техники се *Southern blot* и *Dot blot* хибридизацијата кои претежно се користат за изолирање на нови типови на вируси. Кај *Southern blot* техниката се екстрахира HPV геномот од примерокот, се расплетува DNA ланецот со помош на ензими, продуктот се интегрира во гел кој потоа подлежи на електрофореза и на крајот се сепарираат DNA фрагменти врз основа на нивната големина. Овие фрагменти се префрлаат во нитроцелулозна мембрана и се хибридизираат со HPV геномски проби. Ваквите проби се одбележуваат со радиоизотопи. Ако се детектираат означени DNA хибриди, значи HPV е присутен во дадениот примерок.

Dot blot техниката користи слична постапка, но овде нема електрофореза. *In situ* хибридизацијата користи техника за хибридизација на интактна DNA од инфицираните клетки. Се изведува на предметно стакло, така што најпрво се прочистува и денатурира DNA и се користат антителиа кои се врзуваат за DNA фрагментите на HPV. Потоа се додаваат ензими кои ги обојуваат присутните DNA фрагменти од HPV и истите се гледаат под микроскоп (53).

Human papillomavirus E6/E7 messenger ribonucleic acid (HPV E6/E7 mRNA) тестот ја детерминира онкогената активност на вирусот и претставува добар клинички биомаркер за детекција и предикција на ризикот за развој на цервикален карцином. Најважните предности на HPV E6/E7 mRNA тестовите, во однос на HPV DNA тестовите се повисоката специфичност, неинвазивноста, имаат поголема медицинска предиктивна вредност и имаат повисока прогностичка сигнификантност. Корелацијата помеѓу цитолошкиот и хистолошкиот наод и HPV E6/E7 mRNA тестовите е висока. Тестот директно ги експресира нивоата на E6 и E7 mRNA и во исто време ги диференцира и типизира високоризичните типови на HPV. Тестот се изведува во три чекори. Најпрво, се изолира вирусната RNA со помош на нуклеиназа тест за изолација на нуклеински киселини, па се детектира вирусната RNA со есеј базиран на секвенци на нуклеински киселини (*Nucleic acid sequence based assay- NASBA*) и потоа се врши квалитативна молекуларна детекција на mRNA на E6 и E7

онкогените за специфичните високоризични HPV типови (54). Во моментот FDA има одобрено три HPV E6/E7 mRNA тестови, меѓу кои *Aptima* и *Quantivirus* може да детектираат 14 високоризични HPV типови и *PreTect Proofet* кој може да детектира само пет високоризични HPV типови (55). Истражувањата од NTCC2 студијата покажаа дека како примарен скрининг тест E6/E7 mRNA има слична сензитивност за детекција на CIN3+. Ако се користи како примарен тест, би пропуштил 3% од сите CIN3+, со намалување на позитивноста од 22% во однос на HPV DNA тестот. Специфичноста за CIN2 му е 94,5%, а за CIN3 96,9%. Тоа значи дека неговата позитивна стапка е помала во однос на HPV DNA тестот и дека има помалу недијагностицирани CIN3+ лезии. Со соодветна тријажа со p14/ki67 ќе се намали бројот на непотребни колпоскопии (56). *Arbyn et al.* (2018) кои во својата студија ги евалуирале сензитивноста и специфичноста за детекција на CIN2+ и CIN3+, на HPV DNA и HPV RNA тестот заклучиле дека сензитивноста на HPV RNA тестот не е различна од онаа на HPV DNA тестот, но дека има повисока специфичност (57).

Во поново време се зборува и за DNA метилацијата како предиктор за прогресија на болеста поврзана со HPV инфекција. Во моментот достапни се тестови за метилација на HPV DNA за 12 високоризични HPV типови (16, 8, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59). Се работи за есеј за секвенционирање од идната генерација (*Next generation sequencing assay- NGS*) кој прави квантитативна обработка на CpG специфични места за метилација L1 и L2 гените, на високоризичните HPV типови. *Clarke et al.* забележале висока асоцијација помеѓу зголемената метилација и CIN3/CIS. Според нив DNA метилацијата е генерален феномен во транзиција на HPV инфекцијата во цервикална преканцероза. Се препорачува негова употреба за проценка на прогресија на HPV поврзаните болести се додека не се поедностави неговата изработка (58).

1.9. Тековни препораки за скрининг за цервикален карцином и скрининг програми на иднината

Традиционален метод за скрининг на жените за цервикален карцином е PAP тестот или Папаниколау тест. Кога резултатите од цитолошкиот наод се позитивни, дијагнозата се потврдува со колпоскопија и пациентката се упатува на биопсија, со што се поставува хистолошка дијагноза, неопходна за

планирање на понатамошниот менаџмент и третман. Во земјите со ефективни скрининг програми кои се базираат на цитолошки методи, со овој метод доаѓа до петкратно намалување на стапката на морталитет од цервикален карцином во последните 50 години. Но, ваквиот модел не бил успешен во земјите со ниска и средна развиеност. Поновите скрининг тестови вклучуваат инспекција со помош на оцетна киселина (*visual inspection with acetic acid- VIA*) и молекуларни тестови, кои се погодни за употреба во било какви услови. Неколку големи студии, спроведени во Европа и САД, укажуваат на повисока сензитивност на молекуларните методи како алатка за спроведување на скрининг програмите, во однос на цитолошките методи. VUSA- Screen study потврдува повисока сензитивност на HPV DNA тестот во однос на цитолошките методи, 91,9% наспроти 64,6%, за детекција на CIN3+. HPV DNA тестот покажал 3,1% пониска специфичност за детекција на CIN3, во споредба со цитолошките методи, но истите имаат 27,3% повисока сензитивност. Поради високата сензитивност, а пониската специфичност, се препорачува позитивните HPV резултати да подлежат на тријажа со цитолошки методи, за да се исклучат лажно позитивните резултати. Пациентките кои ќе имаат позитивен HPV-DNA тест и позитивен цитолошки наод се упатуваат на колпоскопија. Во оваа студија ризикот за CIN3+, со негативен HPV DNA тест, бил многу низок, 0,06%, во споредба со цитолошките методи или 0,26%. Исто така и ризикот за CIN3+ кај жените со HPV DNA позитивен тест и нормален PAP тест бил 5,22%, во споредба со жените кај кои и двата теста биле позитивни, 42,2%. Заклучокот од студијата е дека HPV DNA тестот во комбинација со PAP тестот како тријажа за HPV DNA позитивните жени над 30 години, е ефикасен пристап за идентифисирање на жените со CIN3+ (59).

Во големата студија POBASCAM (*population-based randomized controlled trial for implementation of hrHPV testing in cervical screening*), во која се следеле пациентките пет години, конечниот резултат покажал дека при второто скринирање при кое сите жени биле скринирани со котестирање, HPV DNA и цитолошки методи, CIN3 цервикални лезии биле помалку детектирани во експерименталната група, односно групата која примарно биле скринирана со котест, во однос на контролната група на жени скринирани со цитолошки методи. Истото е потврдено и за детекција на цервикален карцином. Студијата препорачува HPV DNA тестирањето да почне од 30-годишна возраст, бидејќи

нема значителна разлика помеѓу контролната и експерименталната група во однос на детекцијата на CIN3 и CIN2 кај жени од 29 до 33 и жени од 34 до 56 годишна возраст (60). Студијата ATHENA (*Addressing the Need for Advanced HPV Diagnosis*) е голема проспективна студија спроведена во САД, со вклучени 47 208 пациентки, во која се евалуирал примарниот HPV DNA тест за детекција на CIN и цервикален карцином и истата препорачува HPV DNA како примарен тест за скрининг кај жени над 25-годишна возраст. Сензитивноста за детекција на CIN3+, котестот и HPV DNA тестот била 47,8%, 61,7% и 76,1%, соодветно, а специфичноста 97,1%, 94,6% и 93,5%, соодветно (61).

Револуционерна ера на скринингот отпочнува во 2014 година, кога FDA го одобри HPV DNA тестот како примарен тест за скрининг за цервикален карцином кај жени над 25 години. Денес постојат повеќе насоки од етаблирани институции за спроведување на скрининг програмите кои се адаптирани на демографските, етнологските и економските можности на секоја земја. Американскиот колеџ за акушерство и гинекологија (*American college of obstetricians and gynecologists- ACOG*), заедно со Американското здружение за колпоскопија и цервикална патологија (*American society for colposcopy and cervical pathology- ASCCP*) и Здружението за гинеколошка онкологија (*Society of gynecologic oncology- SGO*) се придружија кон препораките на работната група на превентивната служба на САД (*US Preventive service task force- USPSTF*). Заклучоците од повеќе студии и програми упатуваат на тоа дека скринингот за цервикален карцином кај жени со средно висок ризик и возраст над 30 години да се прави на секои 5 години примарно со HPV DNA тест, само со цитолошки методи на секои 3 години или со котест на секои 5 години. Според претходните насоки, скринингот треба да отпочне на 21 година, а пациентките од 21 до 29 години треба да се следаат само со цитолошки методи на секои 3 години. Кај жените над 65 години кај кои претходните три цитолошки, два котеста или два HPV DNA теста се негативни, во претходните 10 години, скринингот се прекинува. Жените кои подлегале на тотална абдоминална хистеректомија поради друга причина, освен цервикална патологија, друг тест не треба да се прави (62).

Американското друштво за рак (*American cancer society- ACS*) во своите препораки за скрининг за цервикален карцином од 2020 година, го истакнува проблемот со лимитираната достапност на HPV DNA тестот во руралните средини и земјите со ниска и средна развиеност. Затоа во нивните препораки се

уште стои дека цитолошките методи се клучен метод за скрининг на цервикален карцином, иако се препорачува во иднина да се заменат цитолошките методи како алатки за скрининг и да се користат молекуларните методи (63).

СЗО во 2021 година објави сопствени насоки за скрининг и третирање на цервикален карцином. Тие препорачуваат два пристапи:

1. Скринирај и третирај или *screen and treat approach*, според кој одлуката за третман се базира само на прелимарниот скрининг тест .

2. Скринирај, направи тријажа и третирај пристап, според кој одлуката да се пристапи кон третман зависи од вториот тест кој се прави како тријажен на веќе позитивниот примарен скрининг тест.

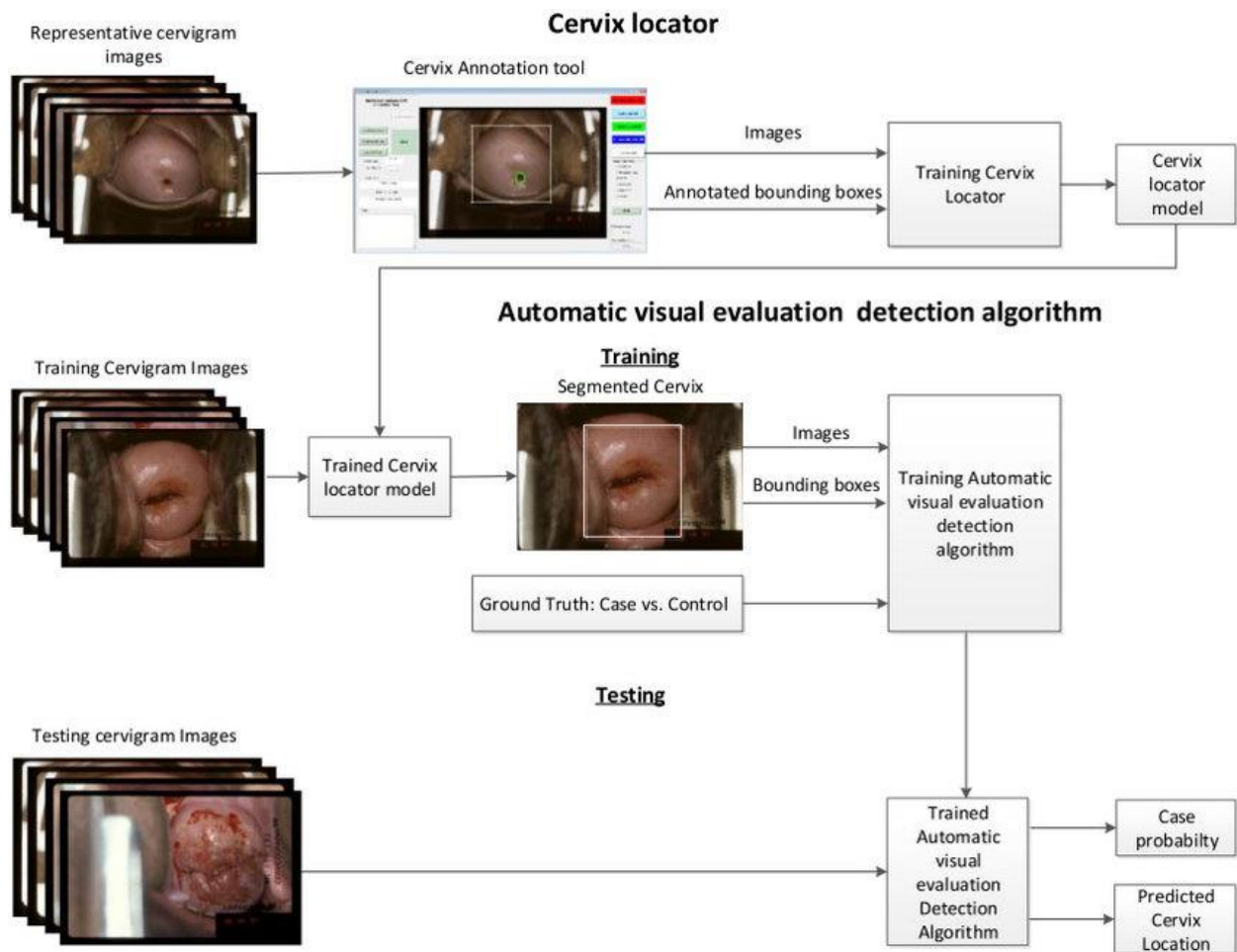
СЗО силно препорачува да се користи HPV DNA тестот како примарен скрининг тест, наместо VIA или цитолошки методи. Таму каде што постои воспоставена скрининг програма врз база на цитологија, истата да продолжи се дури не се имплицира HPV DNA тестот како примарен скрининг тест, а таму каде што се користи VIA, што побрзо да се замени со цитологија или HPV DNA тест. Условна препорака важи за *screen and treat approach*, кај кој HPV DNA е примарен скрининг тест, како и за *screen, triage and treat approach*, да се користат колпоскопијата, VIA, цитологијата или делумната генотипизација како тријажни тестови. Условно, скринингот треба да започне на 30-годишна возраст, а треба да заврши на 50-годишна возраст, ако последните два скрининг теста на жената се негативни. Приоритет за скринирање треба да им се даде на жените од 30 до 49-годишна возраст, но доколку жените од 50 до 65 години никогаш не биле скринирани, треба исто така да се скринираат. СЗО препорачува како примарен скрининг тест да се користи HPV DNA тестот во интервал од 5 до 10 години. На местата каде што не е достапен овој тест за широка употреба, треба да се продолжи со цитологијата или VIA како скрининг тестови, на интервал од 3 години. Доколку примарниот HPV DNA тест бил позитивен, а цитолошкиот наод негативен, СЗО препорачува да се направи нов HPV DNA по 24 месеци и ако е негативен да се продолжи со регуларното скринирање. Жените кои имаат цитолошки наод како примарен скрининг тест, а имаат нормална колпоскопија, треба да се ретестираат по 12 месеци со HPV DNA и ако се негативни да продолжат со регуларниот скрининг. Жените кои се веќе третирани поради хистолошки докажан CIN2, CIN3, аденокарцинома *in situ* или поради позитивен скрининг тест, треба да се ретестираат со HPV DNA тест по 12 месеци и ако е

негативен да продолжат со регуларен скрининг (64). Целта на овие препораки е да се подобрат националните стратегии за скрининг и третман, за да се спречи настанувањето на цервикален карцином.

Свесноста за превентивноста на цервикалниот карцином и ефикасноста на широко распространетите и сеопфатни скрининг програми, посебно во развиените земји е на толку високо ниво, што веќе се направени пилот проекти и анализирани првични студии за самоколектирање на материјал за HPV тест. Иако колектирањето од страна на клиничар, се уште претставува златен стандард за детекција на преканцерозните лезии на цервикс, поради поголемата веројатност за правилно колектирање на самите ексфолирани клетки со потекло од цервикс, а не од вагина како што е случај со самоколектираните примероци, сепак на голема врата се отвара дискусија за оправданоста на скрининг програми врз база на самоколектирани примероци. Самоколектирањето на примероци за скрининг на цервикален карцином се разгледува како алтернатива, бидејќи има потенцијал за заштеда од трошоци на здравствениот систем и се избегнува прегледот со спекулум, кој е непријатен за жените (65). *Arbyn et al. (2018)* ја споредиле релативната точност на HPV тестот за високоризичните типови на самоколектирани примероци и примероци колектирани од клиничар. Целокупната средна сензитивност била 0,85 (95% CI, 0,80-0,89) за CIN2 и 0,86 (95% CI, 0,76-0,98) за CIN3, а релативната специфичност 0,96 (95% CI, 0,93-0,98) за CIN2 на самоколектираните примероци наспроти примероците колектирани од клиничар. HPV DNA тестовите се подеднакво сензитивни и многу малку понеспецифични за детекција на CIN2, кај самоколектираните примероци во однос на примероците колектирани од клиничар (66). Врз основа на оваа и многу други додатни студии, се размислува за скрининг за цервикален карцином со самоколектирани примероци врз база на HPV RNA тест. *Senkomago et al. (2018)*, во својата студија тестирале 350 сексуални работнички од 18 до 50 годишна возраст со HPV RNA и HPV DNA тест, со самоколектирање на примерок и примерок земен од клиничар. За период од 24 месеци биле дијагностицирани 22 случаеви со CIN2 од кои 82% биле HPV позитивни, тестирани со HPV RNA тест, со примерок колектиран од клиничар, а 77% биле HPV позитивни, тестирани со HPV RNA тест, земен со самоколектирање. Нема значајна разлика во стапката на дијагностицирање на

CIN2 и во двата случаevi и затоа идејата за скрининг на цервикален карцином со самоколектирање на примерок и обработен со HPV RNA тест, е издржана (67).

Артефициелната интелигенција има влијание на многу научни дисциплини, вклучувајќи ја и медицината. На неодамнешниот конгрес на ISUOG (*International society of ultrasound in obstetrics and gynecology*) беше претставена улогата на артефициелната интелигенција во скринирање на феталниот мозок од страна на *Crispi et al.* што претставува можна иднина на објективизирање на феталните скринизии. Како што се зголеми моќта на компјутерскиот софтвер, се намали големината на компјутерскиот хардвер и се подобри капацитетот за електронско зачувување на податоци, станува возможно да се направи точен систем за препознавање на слики, кој ќе може да инкорпорира сеопфатен систем за менаџирање на клинички податоци и слики. Дури и со адекватна обука, визуелната инспекција на цервиксот како високо субјективна метода би била можна, вклучувајќи го детерминирањето на трансформационата зона и дијагностичките впечатоци. Траењето на обуката за стекнување знаење и искуство со кое клиничарот може да започне самостојна пракса е шест до осумнаесет месеци и се изведува само во големи клинички центри. Со ова техника, во суштина би се овозможило компјутерот сам да ја препознае абнормалноста, преку детектирање на релевантни слики од претходно регистрирани или препознаени аномалии. Со ова би се олесниле тријажните пристапи и давањето на здравствени услуги (68).



Слика 11. Системска архитектура на автоматизирианиот евалуационен алгоритам (превземено од *Hu et al*, 2019)

Figure 11. System architecture of the automated visual evaluation algorithm used by *Hu et al*. (2019).

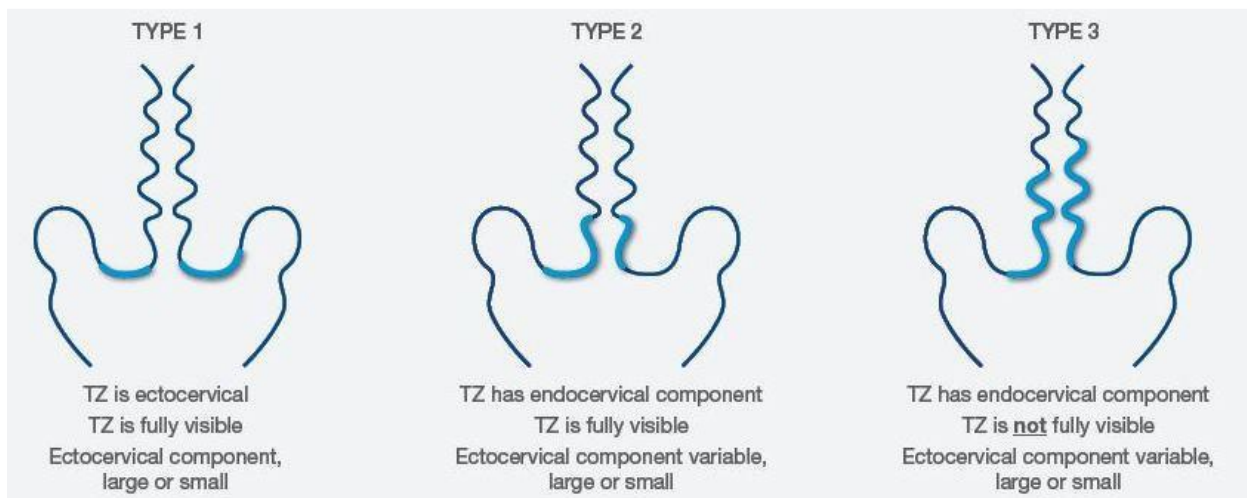
Во нашата земја со Законот за здравствена заштита од 2015 година, донесена е програма за превенција на кацином на грло на матка која опфаќа скрининг на популација каде целна група се жени на 24-60 годишна возраст, во траење од три години. Скринингот се основа во земање на PAP тестови и обработка на истите со цел да се намали инциденцата на карцином на грло на матка и смрноста кај жените кои боледуваат од оваа болест. Најновата стратегија на Националната комисија за унапредување на скринингот и рана детекција на рак на грло на матка во 2022 год. предвидува воведување на *online* апликација со која секоја жена на возраст од 36-45 год. (која не направила PAP тест во последните три години) ќе може да направи бесплатен PAP тест. Со цел здравствената услуга да стигне до секоја жена, во тек е проект за мобилни

гинеколошки услуги, при што ангажирани се субспецијалисти од јавните здравствени установи да направат прегледи во мобилните гинеколошки амбуланти (согласно нивната проценка се прави PAP тест, ехо, земање брис, советување). За првпат во 2020 год. Министерство за Здравство на Република С. Македонија, одвојува средства за пилот проект: HPV базиран скрининг, при што во 2021 год. во соработка со матичните гинеколози од целата држава и Клиника за гинекологија и акушерство, спроведен е пилот проектот во кој се вклучени 1000 пациентки. Ваквите резултати ќе послужат како добра основа за унапредување на постоечкиот скрининг базиран на цитолошки методи, кон скрининг базиран на молекуларни методи. Со тоа скринингот за цервикален карцином во нашата земја ќе се адаптира на препораките на водечките светски здравствени организации и установи. Карциномот на грло на матка е превентивна болест која може рано да се детектира и лекува со помош на сеопфатни скрининг програми. Нивната важност и значење е огромно поради рана детекција на HPV инфекциите, нивен третман и спроведување на вакцинацијата како превентивна метода (69,70). Целта на цитолошките скрининг програми не е да се детектираат пациентки заболени од карцином, туку да се детектираат пациентки со интраепителни неоплазии или уште подобро инфицирани од високоризични типови на HPV и брзо да се дејствува на ова ниво.

1.10. Менаџирање и третман на цервикалните прекурсорни лезии и цервикален карцином

Успешната редукција на инциденцата и морталитетот од цервикален карцином, зависи од соодветно менаџирање, следење и третман на жените кои биле позитивни на скринингот за цервикален карцином. Жените со преканцерозни лезии се третираат за да се превенира инвазивен цервикален карцином. Третманот на преканцерозните лезии може да следи после добиените резултати од колпоскопски водената биопсија или како дел од *screen and treat* пристапот. Достапни се две главни категории на техники за третман, и тоа деструктивни и ексцизионални. Целта е да се ерадицираат преканцерозните лезии на цервиксот со најмала можна стапка на морбидитет. Третманот на цервикалниот карцином вклучува радикална операција и можна радиотерапија. Изборот на третман најмногу зависи од типот на трансформационата зона и

типот на лезија која е дијагностицирана. Доколку трансформационата зона е целосно видлива ектоцервикално и припаѓа на тип 1 TZ, во тој случај деструктивните техники се можна опција за терапија, како и едноставната ексцизија. Но, доколку се работи за широка трансформациона зона која е вовлечена во ектоцервикс и не е целосно видлива тогаш треба да се размислува за примена на ексцизионите техники. Со аблативните техники епителот на трансформационата зона се уништува и затоа не треба да се практикуваат кога суспектноста за малигнитет е висока (71).



Слика 12. Опис на категориите на трансформационите зони (превземено од Cancer Council Australia, 2016)

Figure 12. Description of transformation zone categories. Cancer Council Australia (2016)

Кај пациентките со CIN1 и претходен резултат на LSIL или ASCUS со помош на PAP тестот, кои се позитивни на HPV 16/18, се препорачува котест за една година. Ако претходниот PAP тест е со HSIL или ASC H, тогаш може да се размислува за ексцизиона техника или котестирање по 12 и 24 месеци. Кај пациентките кои две години имаат презистентен CIN1, треба да се направи ексцизиона техника (72). Препорачани техники за третман на CIN2 и CIN3 се LLETZ или конизација доколку колпоскопијата е задоволувачка, незадоволувачка или има рекурентен или ектоцервикален CIN2 или CIN3. Кај овие пациентки се препорачува котестирање дванаесет и дваесет и четири месеци по третманот. По еден негативен котест, ретестирањето е на три годишни интервали. Доколку се повтори абнормален тест, се препорачува колпоскопски водена биопсија за додијагностика. Доколку тестовите се

негативни, скринингот кај ваквите жени се продолжува дваесет години по операцијата. За жените со рекурентен или перзистентен CIN2 и CIN3, прифатливо е да се направи повторна дијагностичка ексцизија или хистеректомија (73).

Најчесто употребувани деструктивни или аблативни техники се криохирургија или криокаутеризација, криотерапија и термална коагулација (наречена и термална аблација или ладна коагулација). Криохирургијата е многу популарна во последниве години и е често користена во *screen and treat* пристапот како метод за третирање. Негативната страна на оваа метода е што набавката на CO₂ е прилично скапа. Криохирургијата го уништува ткивото, смрзнувајќи го на -20°C, со помош на метална сонда. Поголема стапка на успех има кога се употребува ерадикација на лезија на трансформациона зона тип 1, отколку за големи лезии кои се шират на сите четири квадранти на трансформационата зона. За разлика од криохирургијата, термалната коагулација користи топлина за деструкција на ткивото. Сондата се загрева на 100-120°C, што предизвикува интрацелуларно вриење и клеточна некроза. Постигнува деструкција на ткивото во дебелина од 4-7mm. Стапката на успешност е слична како и на криохирургијата, но е полесна за изведување и има помала стапка на компликации. Се изведува за две минути, не бара анестезија, не влијае на понатамошниот фертилитет.

Постојат неколку начини за ексцизија на трансформационата зона кои вклучуваат хистеректомија, конизација, ласерска конизација и широка ексцизија на трансформационата зона со јамка (*large loop excision of the transformation zone- LLETZ*) или процедура за електрохируршка ексцизија со јамка (*loop electrosurgical excision procedure- LEEP*). Хистеректомијата е радикална операција која се користи за третман на цервикален карцином, но не треба да се употребува за третман на CIN. Хистеректомијата нема предност во однос на локалната ексцизија на цервикалните лезии за нивниот третман, но може да биде недоволна терапија ако неочекувано добиеме резултат за постоење на инвазивна болест. После едноставна хистеректомија невозможно е да се понуди соодветен радиотерапевтски режим, како и радикална хистеректомија. Конизацијата е најстариот метод кој широко се користи за ексцизија на цервикалните лезии. Со техниката се отстранува голем цел од ткивото, оставајќи голем цервикален дефект. Процедурата се изведува под општа анестезија и се

користат сутури за постигнување на хемостаза. Истата е поврзана со повеќе компликации како на пример примарна и секундарна хеморагија, цервикална стеноза и цервикална инкомпетентност. Претставува третман на избор за glandularна или микроинвазивна болест, иако нема предности пред LLETZ или ласерската ексцизија, а е асоцирана со поголем број на компликации во понатамошните бремености. LLETZ/LEEP вклучува ексцизија на трансформационата зона со употреба на нисковолтажна дијатермична јамка и може да се изведе под локална анестезија. Таа е соодветна процедура за повеќето пациентки со CIN кои имаат мала или средно голема трансформациона зона. Се постигнува комплетна ексцизија на трансформационата зона во дебелина 5-7mm, а дијатермијата ќе предизвика и оштетување на ткивото и некроза во следните 2-3mm. Краткорочни компликации на LLETZ вклучуваат лесно вагинално крварење, благ дискомфорт и мало количество на вагинален исцедок. Многу често има потреба од тип 3 ексцизија за трансформациона зона од тип 3, кај која е суспектна лезија на цервиксот од висок степен. Овој тип на ексцизија бара општа анестезија и е пропратен со повисока стапка на долгорочни компликации по однос на идните бремености. За постигнување на соодветна ерадикација се користат алтернативни методи на ексцизија со помош на права жица (*strait wire excision of the transformational zone- SWETZ*) или со помош на игла (*needle excision of the transformational zone- NETZ*). Друга можност е LEEP со горна капа, која се изведува во два чекори. Првиот чекор е стандардната техника за LEEP, по која следи втора ексцизија на преостанатиот дел од ендocerвиксот, со јамка со помала димензија. Оваа процедура може да ја намали стапката на некомплетна ексцизија кај жени со трансформациона зона тип 3. 10% од жените третирани поради цервикални лезии со деструктивните или ексцизионите методи имаат резидуална болест. Токму од тие причини, сите пациентки после третман треба да бидат мониторирани. Овие жени имаат поголем ризик за развој на цервикален карцином од 2-5 пати кој најчесто е резултат на нередовни контроли.

Аденокарциномот *in situ* е прекурсор на аденокарциномот на цервикс. Колпоскопската проценка на glandularните дисплазии е помалку точна, во однос на сквамозните лезии. Повеќето glandularни болести имаат ендocerвиклна компонента и поради неможноста да се утврди степенот на висина на лезијата во ендocerвикланиот канал, за нивна ексцизија се

употребува ексцизија на трансформационата зона со права жица, конизација или ласерска конизација. Конзервативно менаџирање на AIS е оправдано кај жени кои може да доаѓаат на редовни контроли или кај жени кај кои не е завршена репродукцијата, а потоа треба да се размислува за хистеректомија.

Инвазивниот цервикален карцином се третира со радикална хистеректомија и евалуација на дренирачките лимфни жлезди, а доколку се работи за напреден стадиум се применува соодветна радио и хемотерапија. Техниките на конизација и трахелектомија може да им бидат понудени на жени со понизок стадиум на болеста, доколку сакаат да го зачуваат фертилитетот (74,75,76).

1.11. Менаџирање и третман на HPV инфекција

Според насоките на CDC (*Center for disease control and prevention*) за сексуално трансмисивни болести од 2021 год., третманот на HPV се ограничува на макроскопски видливите лезии во аногениталната регија или патолошки преканцерозните лезии на цервиксот. Субклиничката генитална HPV инфекција најчесто спонтано се повлекува, па не се препорачува специфична антивирусна терапија. Пациентките кои имаат аногенитална HPV инфекција треба да се советуваат дека ова е многу честа инфекција и дека најголем број на сексуално активните личности се соочуваат со HPV инфекција во тек на животот, но можно е и никогаш да не бидат свесни за тоа. Обично двата партнери се инфицирани, но, никогаш не може да се докаже кој од партнерите ја пренел инфекција или дека некој од партнерите е инволвиран во сексуални односи надвор од врската. Доколку инфекцијата е перзистентна, ризикот за развој на генитални брадавици, преканцерози и карцином на цервикс, анус, penis, вулва, вагина, глава и врат, се поголеми. Пациентките треба да се советуваат да прекинат со пушење, бидејќи пушењето е кофактор за развој на преканцерози и карцином. HPV типовите кои причинуваат генитални брадавици се различни од типовите кои предизвикуваат карциноми. HPV инфекцијата се пренесува со сексуален контакт, вагинален орален или анален, па дури и секс без пенетрација. Во ретки случаи забележана е и вертикална трансмисија на HPV од мајка на дете. Постојат третмани за компликациите од вирусот, но не и специфична терапија за вирусот. HPV инфекцијата не влијае на фертилитетот на жената, но одредени

преканцерози на цервикс може да бараат соодветен третман кој може да предизвика проблеми со зачнувањето на бременост или терминско донесување на зрело бебе. Не постои HPV тест кој може да го прогнозира текот на инфекцијата и да детерминира која HPV инфекција ќе регредира, а која ќе резултира со преканцероза или карцином. Но постојат HPV тестови кои можат да го претпостават ризикот од прогредирање на инфекцијата (77).

Третманот на субклиничката форма на HPV инфекцијата е многу контроверзна тема и тема за широка дебата. Земајќи ја во предвид високата инциденца на цервикален карцином на глобално ниво, разумно е да се направи обид за лекување на сите форми на HPV инфекција, за да се превенира развој на цервикален карцином. Поради високата инциденца на спонтанa регресија на HPV инфекцијата и недостатокот на специфичен антивирусен лек, многу експерти ги менаџираат овие пациентки конзервативно и ги лекуваат интраепителните цервикални неоплазии.

Во 2015 година Македонското здружение за цервикална патологија и колпоскопија, Здружението за Хуман папиломавирус на Р. Северна Македонија и Здружението на гинеколози и опстетричари на Р. Северна Македонија, излезе со заеднички став за третирање и на двата партнери инфицирани со HPV, што се базира на тогашните најнови истражувања. Во 2021 год. препораките се ревидирани. Многу од гинекологите во нашата земја, делумно или целосно, сеуште го практикуваат овој протокол, кој во целосната верзија наидува на релативен отпор од пациентките поради големиот недостиг на унифициран терапевтски агенс кој би ги заменил многубројните лекови кои треба да се аплицираат перорално или вагинално.



ПРЕПОРАКИ ПРИ ГЕНИТАЛНА ИНФЕКЦИЈА СО ХУМАН ПАПИЛОМА ВИРУС (ХПВ)

1. VAG. BETADINE X 1 НАВЕЧЕР, 14 ДЕНА (ПОСЛЕ МЕНЗЕС) ВО ТЕК НА 3 ЦИКЛУСИ
 2. КОНТРОЛА НА СЕКОИ 4 МЕСЕЦИ - КОЛПОСКОПИЈА СО ПАП
(3 ПАТИ ГОДИШНО) ВО ПРВИТЕ ДВЕ ГОДИНИ
 3. СЕКСУАЛНИ ОДНОСИ СО КОНДОМ ДО НЕГАТИВИЗИРАЊЕ НА ХПВ тестот!
 4. ЗА МАШКИОТ ПАРТНЕР - ИЗМИВАЊЕ СО 10% РАСТВОР ВЕТАДИНЕ
НАДВОРЕШНО НА ГЕНИТАЛИИТЕ ПОСЛЕ СЕКОО ТУШИРАЊЕ ВО ПЕРИОД ОД 6 НЕДЕЛИ
 5. ПРЕСТАНОК (ЗАБРАНА) ЗА ПУШЕЊЕ ЦИГАРИ!
 6. ДИЈЕТЕТСКИ РЕЖИМ на исхрана (ДНЕВНО):
 - beta-Carotene 3 x 10.000 IU
 - Vitamin C 2 gr.
 - Vitamin E 2 x 400 IU
 - Vitamin D3 2000 IU
 - Folic acid (фолна киселина) 10 mgr.
 - Quercetin 2 x 250 mg
 - Green tea capsules (зелен чај) околу 300 mgr.
 - Zinc 30 mgr.
 - Selen 4 x 50 mcg (200 mcg)
- Задолжителен внес на храна (ДНЕВНО):
- Овошје >100gr
 - Зеленчук > 100gr
 - морков (сиров) 200 gr.
 - масло од пченични нукулци (wheat germ oil) 2 x 340 mg

Се препорачува:

- имуномодулаторот **Coriolus Versicolor** (биомаса): 2 пати по 3 таблети (500mg) дневно, за подобрување на имунитетот и имуностимулација
- **Inosine acedoben dimepranol (IAD)** - за подобрување на имунитетот и лекување на клиничките симптоми: 3x2 таблети 14 последователни дена во месецот, со 2 недели пауза(во циклус од 6 месеци), кај двата партнери

References:

1. Памплон – Роџер Хорхе, Живејте здрав живот, Феникс, Скопје 2008
2. Dietary requirements and daily allowances – American Institute of Health, 2018
3. Vaccarella S, Franceschi S, Herrero R, Munoz N, Snijders PJ, Clifford GM, Smith JS, Lazcano-Ponce E, Sukvirach S, Shin HR, de Sanjose S, Molano M, et al. Sexual behavior, condom use, and human papilloma virus: pooled analysis of the IARC human papilloma prevalence surveys. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15:326-33.
4. Димитров Го. Постоперативен ризик од цервикална интраепителиална неоплазма (CIN), Медицински факултет, Скопје, 2014
5. Maggini S, Wintergerst ES, Beveridge S, Hornig DH. Selected vitamin and trace elements support immune function by strengthening epithelial and cellular and humoral immune responses. *Br J Nutr.* 2007; 98(Suppl 1):S29-S35.
6. Piyathitake C.J. Update on micronutrients and cervical dysplasia. *Ethn Dis.* 2007 Spring; 17 (2 Suppl 2):S2-14-7.
7. Bogdanova J. Coriolus versicolor--innovation in prevention of oncogynecological diseases, especially HPV. *Akush Ginekol (Sofia).* 2008;47 Suppl 3:51-3.
8. Couto S., Evaluation of Coriolus versicolor, *Supplementation in HPV patients, 2007 Clinical Journal of Mycology, Vol. 2, Ed. 1:2-2*
9. Georgala S, Katoulis AC, Befon A, Georgala C, Rigopoulos D. Oral inosiplex (ISOPRINOSINE) in the treatment of cervical condylomata acuminata: a randomised placebo-controlled trial. *BJOG.* 2006 Sep; 113(9):1088-91.
10. Davidson-Parker J et al. Immunotherapy of genital warts with inosine pranobex (Isoprinosine) and conventional treatment: double blind, placebo controlled study. *Genitourinary Medicine, 64: 383-386, 1998*
11. Ayumi Ono, Masafumi Koshiyama, Miwa Nakagawa, Yumiko Watanabe, Eri Ikuta, Keiko Seki and Makiko Oowaki. The Preventive Effect of Dietary Antioxidants on Cervical Cancer Development. *Medicina* 2020,56,0604.
12. Vahedpoor Z, Jamilian M, Bahmani F, Aghadavod E, Karamali M, Kashanian M, et al. Effects of Long-Term Vitamin D Supplementation on Regression and Metabolic Status of Cervical Intraepithelial Neoplasia: a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Horm Cancer.* 2017 Feb;8(1):58-67.
13. Clemente-Soto AF, Salas-Vidal E, Milan-Pacheco C, Sánchez-Carranza JN, Peralta-Zaragoza O, González-Maya L. Quercetin induces G2 phase arrest and apoptosis with the activation of p53 in an E6 expression-independent manner in HPV-positive human cervical cancer-derived cells. *Mol Med Rep.* 2019 Mar;19(3):2097-106.



МАКЕДОНСКО ЗДРУЖЕНИЕ
ЗА ЦЕРВИКАЛНА ПАТОЛОГИЈА
И КОЛПОСКОПИЈА

ЗДРУЖЕНИЕ ЗА ХУМАН
ПАПИЛОМА ВИРУС НА
МАКЕДОНИЈА

ЗДРУЖЕНИЕ НА ГИНЕКОЛОЗИ
И ОПСТЕТРИЧАРИ НА
МАКЕДОНИЈА

Слика 13. Препораки при генитална инфекција со хуман папиломавирус (HPV), 2021

Figure 13. Recommendations for genital human papillomavirus (HPV) infection, 2021

Ahn et al. (2003) покажаа убедливи докази за антикарциногената активност на полифенолите, како епигалокатехин 3 галат (EGCG) со потекло од зелениот чај, куркуминот со потекло од куркумата и ресвератрол по потекло од грозјето.

EGCG е најистражуваниот антиоксидант, за кој многу студии велат дека има ефект на CaSki клеточната линија на карциномот на грло предизвикан од HPV16. Тој има антипролиферативен ефект, бидејќи индуцира апоптоза, затајување на клеточниот циклус и ја видоизменува генската експресија *in vitro* (78). Ресвератролот има важна улога во апоптозата, инхибиција на MMP во CaSki клеточната линија на клетките на цервикланиот карцином и супресијата на ангиогената активност *in vitro* (79). *Myung et al.* (2011) во метаанализа на 22 случај контролирани студии нашле дека витамин Б12, витамин Ц, витамин Е, бета каротен, фолатите и леукопен имаат ефект на спречување на цервикален карцином. Витаминот А и селен немаат ваков ефект (80).

Дури и традиционалната кинеска медицина се базира на проучување и примена на методи за ерадикација на HPV инфекцијата. Најстудиран метод е пајтелинг, за кој третман има подготвена специјален раствор со кој се изведува пајтелингот. Се аплицира вагинално веднаш после завршување на менструалниот циклус, три дена во три наврати од циклусот. Значи третманот трае вкупно 12 дена, со по 4 дена пауза помеѓу сесијата од по три третмани. *Tao et al.* (2017) во својата студија споредиле HPV DNA позитивни пациентки со субклиничка инфекција и HPV DNA позитивни со присутен CIN и пациентки со направен LEEP поради CIN, кои се со субклиничка HPV DNA докажана инфекција и пациентки со направен LEEP, а HPV DNA позитивни со резидуален CIN и контролна група на нетретирани пациентки. Заклучокот од студијата е дека сероконверзијата на HPV инфицираните и во двете групи, пациентките со направен LEEP и оние кои не се третирани, е многу повисок после третманот пајтелинг, отколку кај контролната група, а за дванаесет месеци HPV инфекцијата од сите типови на вируси покажала 100% регресија, освен инфекцијата со HPV тип 16, чија регресија по 12 месеци изнесувала 85,7%. Според нив пајтелингот може да го забрза клиренсот на HPV инфекцијата и регресијата на цервикалните лезии (81).

Во деведесеттите години се зборувало за фотодинамска терапија со 5 аминолевулинска терапија (*5 aminolevulinic acid based photodynamic therapy- ALA-PDT*), како метод кој користи фотосензибилизатор, односно 5 аминолевулинска киселина и светлосна радијација, односно црвена светлина, како можен третман на HPV инфекциите. Делотворноста на овој метод е докажана во третирање на кожните канцерози и преканцерози. Се смета дека дејствува micro RNA 143 (miR

143) и Bcl2/Bax сигналните патишта. ALA- PDT ја редуцира пролиферацијата, ја зголемува цитотоксичноста и индуцира апоптоза на HeLa клетките на хуманиот цервикален карцином (82). *Hu et al.*(2018) во нивната студија докажале дека ALA-PDT ефективно го елиминира HPV и значително го редуцира вирусното оптеретување по три циклуси од терапијата. Стапката на негативни HPV DNA теста била повисока кај пациентки со субклиничка форма на HPV инфекцијата отколку кај пациентки со генитални брадавици, по еден циклус од терапијата (83). Но, и овој третман има сопствени ограничувања поради анатомијата на женските генитални органи и поставеноста на цервиксот длабоко во вагината, со што се отежнува на зраците на црвената светлина да стигнат и да го остварат своето дејство.

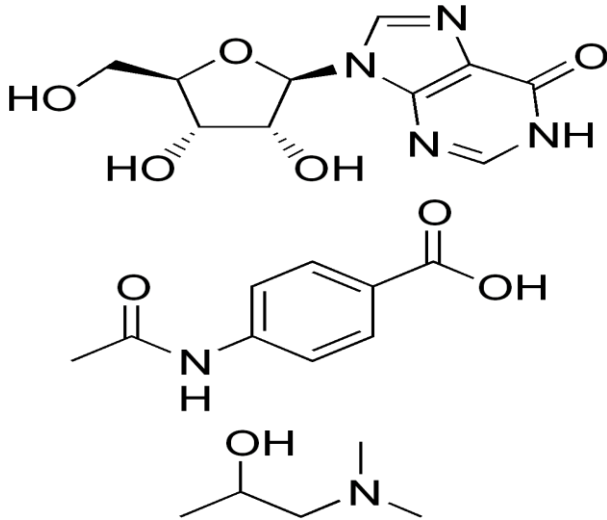
Употребата на топичен 5 флуороурацил за третман на HPV инфекциите е исто така контроверзна. Тој е хемотерапевтик кој ја инхибира DNA синтезата на клетката. Се докажал како моќно средство во третман на CIN2, кај пациентките кои сакаат да ги заобиколат ексцизионите методи, заради избегнување на понатамошни компликации при забременување но, потфрлил во третманот на цервикалните HPV инфекции, каде неговата ефикасност била два пати помала отколку онаа на плацебо групата која имала спонтанa регресија на HPV инфекцијата (84,85). Неговата примена е асоцирана со многу несакани ефекти од типот на болка и хронични улцери, кои се намалуваат ако се аплицира со цервикална капа. Во овој случај забележан е и зголемен клиренс на HPV (86). Интерферонот, преку инхибиција на репликацијата на HPV има антивирусно, имунорегулаторно и антитуморско дејство и игра главна улога во одговорот на вродениот имун одговор против вирусните инфекции. Имунолошката терапија со интерферон може да биде ветувачка терапија за третман на сите видови на HPV инфекција, субклиничка, клиничка или латентна. Во многу студии се потврдил како ефикасен третман во лекување на цервикланите неоплазии, па дури и со ефект на застој на раст на туморските цервикални клетки, но, се уште неговата ефикасност во третманот на субклиничките и латентните HPV инфекции, не е докажана. *Shi et al.* (2018) ја искombинирале неговата употреба со фотодинамична терапија. Во својата студија добиле резултати кои укажуваат на поголема стапка на клиренс на високодозниот интерферонски режим во комбинација со црвена светлина, во однос на нискодозниот интерферонски режим со комбинација со црвена светлина. Оваа студија сугерира дека висока

доза на интерферон во комбинација со фотодинамична терапија е безбеден и ефективен метод за третирање на субклиничките форми на HPV инфекцијата (87).

Имиквамод е агонист на рецепторот како патарина 7 (*toll like receptor 7*), кој го модифицира имуниот одговор. Механизмот на неговото дејство се оставрува преку стимулација на одговорот на вродениот и стекнатиот имунитет, што доведува до инфламаторна клеточна инфилтрација на полето на кое што делува, по што следува апоптоза на инфицираните клетки. Тој нема директно антивирусно дејство. *Tapilskaya et al.* (2015) го истражувале ефектот на имиквамод во третман на субклиничките и клиничките форми на перзистентен цервикален HPV и постигнале комплетен HPV клиренс кај 60,7% од пациентките. Оваа студија ја поддржува изводливоста и прифатливоста на овој агенс како терапија за субклинички и клинички форми на HPV инфекција (88).

Инозин ацедобен димепранол е активна супстанца која се користи за лекување на вирусни инфекции. Се смета дека функционира по принципот на стимулирање на имунолошкиот систем во борба со вирусот и има антивирусен ефект. Се користи за вирусни респираторни инфекции, повторувачки генитален херпес, повторувачки херпес симплекс на усните, херпес зостер, варичела, морбили, заушки, вирусен хепатит, генитални брадавици и други инфекции предизвикани од HPV, инфективна моноклеоза и други инфекции предизвикани од цитомегаловирус, субакутен склеротичен паненцефалит. Не треба да се употребува доколку пациентката има постоечка алергија на инозин, боледува од гихт или има зголемено ниво на мочна киселина. Посебно внимание треба да се обрне на пациентките кои имаат гихт или зголемено ниво на мочна киселина, имаат историја на камења во бубрези или мочен меур, имаат бубрежна дисфункција, ако се на долготрајно лекување со инозитол или пројават алергиска реакција на истиот. Дозирањето за возрасни лица е 50mg/kg-100mg/kg, даден орално во 3-4 еднакво поделени дози во тек на денот. Вообичаено се дава 3g дневно, 2 таблети, 3 пати на ден, максимум до 4g, 2 таблети 4 пати на ден. Во многу чести несакани ефекти од инозин се вбројува, привремено покачување на нивото на мочна киселина во крвта и урината. Чести несакани ефекти се покачување на хепаталните ензими, зголемено присуство на уреа во крвта, кожен исип, чешање, болки во зглобовите, повраќање, лошење, стомачна болка, замор, слабост, главоболка, вртоглавица. Невообичаени

несакани ефекти се: дијареа, констипации, поспаност, несоница, нервоза, полиурија. Во несакани ефекти со непозната фреквентност спаѓаат абдоминална болка, отекување на лицето, усните, очите или грлото, уртикарија, алергиска реакција, црвенило на кожата. Инозинот е во форма на капсули или сируп и треба да се чува на температура до 25°C (89).



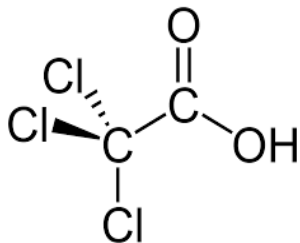
Слика14. Хемиска формула на инозин ацедобен димепранол

Figure 14. Chemical formula of inosine acedoben dimepranol

Инозин ацедобен димепранол е синтетички пурин дериват кој содржи 3:1 сол на *p*-ацетоминобензоична киселина од *N,N*-диметил-амино-2-пропанол и β - полиморф од β - аномер од инозин. Во многу земји е регистриран како Имуновир, Изопринозин, Вируксан, Иносиплекс, Метизопринол и Инозин Пранобекс. Тој ги стимулира Th1 клеточниот одговор, кој се карактеризира со продукција на проинфламаторни цитокини од митиген и антиген активираните клетки. Индуkcијата на IL2 и INF- γ , ја активира матурацијата и диференцијацијата на Т-лимфоцитите и лимфопродуцентниот одговор. Инозинот ја модулира функцијата на Т лимфоцитите и клетките природни убијци, Т8 супресорските клетки и Т4 клетките помошнички и го зголемува нивото на IgG и површинските рецептори на клетките за комплементот. Врши нагорна регулација на IL2, INF- γ и TNF α , а надолна регулација на IL4, IL5 и IL10. Ја супримира синтезата и транслационата способност на лимфоцитната mRNA и ја инхибира синтезата на вирусната RNA преку, инозин медирана инклузија на оротична киселина во полирибозомите, го супримира фаќањето на поладенилната киселина од страна на вирусната mRNA и врши молекуларно препознавање и скоро три пати го зголемува дензитетот на интрамембранските плазматски партикли. Инозинот на

хуморалниот имунитет влијае преку активација на Б лимфоцитна трансформација во плазма клетки и продукција на антитела. Тој исто така стимулира продукција на одредени имуни медијатори, промоција на Th1 клетките и инхибиција на Th2 клетките (90). Постојат повеќе студии кои ја докажуваат ефикасноста на инозинот во подобрување на клиренсот на HPV. *Budanov et al.* во својата студија потврдиле стапка на клиренс на HPV од 68%, по три циклуси на третман со инозин, со пауза од 10 дена, а пациентките биле ретестирани со HPV DNA метода 60 дена по третманот (91). *Eliseeva et al.* (2012) ја истражувале стапката на ремисија на HPV, кај пациенти со HPV асоцирани болести кај нетретирана група, група третирана со рутински третман, група третирана со монотерапија со инозин и група со комбиниран третман од инозин и рутински третман. Стапката на ремисија била, 22,6%, 35,5%, 54,8% и 84,2%, соодветно. Заклучокот е дека изопринозинот е ефективен третман за HPV инфекција и како монотерапија во однос на контролната група, но стапката на ремисија се подобрува во комбинација со рутинскиот третман (92).

Трихлороцетната киселина (TCA) е јака киселина која настанува со хемиска реакција помеѓу хлорин и оцетна киселина, во присуство на соодветен катализатор. Во клиничката хемија и биохемија се користи како преципитант на макромолекули, вклучувајќи протеини, DNA и RNA.



Слика 15. Хемиска формула на трихлороцетна киселина

Figure 15. Chemical formula of trichloroacetic acid

TCA е одобрена од FDA во 2016 година. Примарно се употребува во козметиката за хемиски пилинг на лузни од акни, мелазма, ксантелазми, третирање на аногенитални кондилони и кожни израстоци. Таа предизвикува преципитација и денатурација на протеините. Може да се најде во концентрација од 10-90% (93). TCA е хемиски агенс кој може да се најде во водата за пиење и во базените за пливање. Нема епидемиолошки докази за ризик од појава на каков било карцином кај луѓе асоциран со употреба на TCA, иако студиите на

гљувци и стаорци укажуваат на хепатотоксичност и нефротоксичност, доколку се ингерира во високи дози. Таа е брзоресорптивен агенс и по дермален и по орален пат, што е докажано во студиите направени врз база на водата за пиење и базените за пливање кои се дезинфицираат со дезинфициенси со ТСА. Полуживотот на ТСА во плазмата е скоро 50 часа и овој долг полуживот се должи на екстензивното врзување за плазма протеините. Повеќе студии на животни и луѓе покажале дека метаболизирањето на ТСА оди бавно преку бубрезите, екскретирајќи се во урината. За да ја испитаат генотоксичноста *Mackay et al.* (1995) направиле *in vitro* тест за хромозомски аберации на култивирани хумани лимфоцити и увиделе дека ТСА може да направи хромозомско оштетување на хуманата DNA во концентрации од 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ до 3500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, преку значително редуцирање на рН на медиумот (94), додека на линија на хумани лимфобласти, ТСА нема ефект на раскинување на нишките на DNA. Испитуван е и епигенетскиот ефект на хумани клетки, кој вклучува промени во метилацијата на целата DNA или на одредени гени, експресија на афицираните гени и активноста на DNA метилтрансферазите, но нема податоци за алтерации во DNA метилацијата (95). Ефектот на преципитација на протеините бил испитуван на четири протеински групи, лизозими, фактор за раст на фибробластите, јаглородната анхидраза и телешки серумски албумини. Формите на кривите на денатурацијата на протеините немале разлика во однос на физичко-хемиските својства на протеините. Профилот на протеини на кој дејствува ТСА, не зависи од нивното потекло и големина, но се докажало дека во помала мера нејзиното дејство е малку посилено на врзаните протеини, отколку на слободните протеини на еукариотските клетки. Во слободни протеини најчесто спаѓаат протеините гласници неопходни за регулирање на процесите на животниот циклус на една клетка. Механизмот на дејство на ТСА е преку преципитација на клеточните протеини и на тој начин се скврчува и одлупува клетката (96). *Nuranna et al.* (2022) ја испитувале продорната моќ на ТСА на здравото ткиво на цервиксот, за да можат да докажат дали нејзината апликација на ткиво инфицирано со HPV или афицирано од HPV асоцирана лезија, би била ефикасна и делотворна. Тие заклучиле дека ТСА прави некротична површина на суперфицијалниот слој и епителна ерозија по целата дебелина. Средната дебелина на деструкција на епителот била 1,16 \pm 0,01mm на предната усна и 1,01 \pm 0,06mm на задната усна. Единечна топична апликација на ТСА е во можност да го уништи здравото

цервикално ткиво со дебелина подлабока отколку средната дебелина до која продира CIN3 лезијата во сквамозниот епител (97). *Geisler et al.* (2016) во својата студија, TCA ја аплицирале кај пациентки со интраепителни неоплазии од висок степен (CIN 2-3) и интраепителни неоплазии од низок степен (CIN 1). Следена е стапката на регресија од лезија од висок во низок степен и ремисија на лезиите и стапката на клиренс на вирусот, со следење на цитолошки, хистолошки и молекуларни параметри. Авторите заклучиле дека има висока стапка на регресија, ремисија и HPV клиренс, 8 недели по топчна апликација на 85% трихлороцетна киселина и може да се дава како третман за пациентки со дијагностициран CIN (98). Проспективната студија TRICIN, спонзорирана од Здравствениот фонд во Линц, Австрија, која е започната во 2020 година и е во втора фаза, на конгресот на ESGO (*European society of gynecological oncology*) 2022 год., објави апстракт со прелиминарни резултати. Третирани се 102 пациентки со еднократна топчна апликација на 85% TCA, со конфирмирани лезии од градус CIN I, CIN II и HPV инфицирани пациентки. Комплетната хистолошка ремисија по 3 месеци била 76,5%, додека после 6 месеци 78,4%, што е многу повисока од стапката на спонтанa ремисија која изнесува 55%. Стапката на клиренс на HPV 16,18 и другите високоризични типови е 76,5%, 91,7%, 68,7%, по шест месеци од третманот, соодветно (99). Третманот со TCA претставува изводлив и ефективен нехируршки пристап за третман на субклиничка HPV инфекција и цервикални лезии.

2. Мотив

Иако HPV инфекциите се најчести жени од 20 до 30-годишна возраст, после две години кај 60% од пациентките имаат способност да транзитираат. Времетраењето на HPV инфекцијата е од исклучителна важност за понатамошното лекување и третман од причини што колку подолго е присутен HPV, толку поголем е ризикот за подолготрајно лечење на инфекцијата и поверојатна е прогресијата кон повисоки форми на цервикални лезии. Веројатноста за перзистентност на високоризичните типови е многу поголема во споредба со перзистенција на нискоризичните типови, од тие причини не е изненадување нивната способност за рецидив. Затоа многу е важно да се продолжи периодот без вирусно оптеретување. Оправданоста за третирање на

HPV кај жени над 30 години има смисол поради зголемување на инциденцата на цервикален карцином кај жените над 30 години (со достигнување на пик кај жените на околу 55-годишна возраст). Фаворизирањето на локално-аплицираната терапија наспроти системската имуностимулативна и антиоксидативна терапија доаѓа од самиот животен циклус на вирусот кој практично е невидлив за домаќинот и не предизвикува никаков имун одговор. Од тие причини дејствувањето со терапија на локално ниво за негова ерадикација е од исклучителна важност. Во последните неколку години посебно е актуелна топичната апликација на 85% ТСА, во лекувањето на HPV инфицираните пациентки и истата дава особено надеж и ветувачки резултати во комплетниот клиренс на вирусот и долготрајната ремисија кај самите пациентки. Принципот на нејзиното дејствување претставува процес на денатурација и преципитација на клеточните протеини, со што се одлупува површинскиот слој на цервикалниот епител над базалната мембрана, кој е посебно засегнат од HPV. На тој начин се овозможува реепителизација на цервикалниот епител со неинфицирани клетки и со тоа се ослободува епителот од дополнително вирусно оптеретување. Крајната цел од ваквиот третман е намалување на стапката за ризик од цервикална интраепителијална неоплазија и нејзино прогредирање кон микроинвазивен карцином. Во таа насока и со овој единствен и клучен императив како мотив за оваа студија, се одлучивме за истражување во прилог на испитување на ефикасноста на ТСА, во третман на HPV инфекцијата.

3. Цели на трудот:

Цел на оваа студија е да се утврди:

- ефикасноста на ТСА во третманот на инфекциите на грло на матка со HPV;
- клиренсот на HPV кај испитаниците после третманот со ТСА, во споредба со испитаниците кои не се третирани;
- биодиверзитетот на HPV кај испитаниците;
- застапеноста на високоризичните, нискоризичните и веројатно високоризичните типови на HPV, фреквенцијата на HPV по тип кај одредени возрасни групи;
- идеалното време за ретестирање за HPV, после третманот со ТСА;

- возрасната група кај која третманот со ТСА има најголем бенефит;
- можните компликации поврзани со третманот со ТСА;
- процентот или нивото на комплетна епителизација на грлото на матка по третманот со ТСА;
- оправданоста на третманот на HPV инфекциите на грло на матка со ТСА;
- исходот од HPV инфекцијата на грло на матка на контролната група испитаници.

4. Материјал и методи

4.1. Дизајн на студијата

Студијата има ретроспективен карактер и во неа се вклучени 172 пациентки третирани со ТСА поради субклиничка инфекција на грлото на матката со HPV, како и контролна група од 114 испитаници кои не се третирани со ТСА, а се со потврдена цервикална HPV инфекција на грло на матка, со помош на DNA молекуларен метод. Пациентките кои се третирани со ТСА се на возраст од 21 до 65 год. Пациентките се селектирани во Амбулантата за гинекологија и акушерство во Приватна општа болница “Ремедика”, Скопје. Во студијата е испочитуван Законот за заштита на личните податоци како и Правилникот на Комитетот за етички прашања при Факултетот за медицински науки во Штип.

4.2. Селекција на пациентки

Кај пациентките од контролната група забележана е личната анамнеза, како и евентуална историја на гинеколошки заболувања. Кај сите нив е земен цервикален брис со *cytobrush* за HPV типизација, кој е изработен во акредитирана молекуларна лабораторија. Пациентките со HPV инфекција, се повикувани на контролни прегледи со цел следење на исходот од инфекцијата со HPV, со сите расположливи дијагностички методи кои во моментот се потребни, по проценка на специјалист гинеколог (задолжително HPV DNA тест, а по потреба и PAP тест, колпоскопија, биопсија).

Исто така и кај пациентките од испитуваната група забележана е личната анамнеза, евентуална мината историја на гинеколошки заболувања, земен е

цервикален брис со *cytobrush* за HPV типизација. Кај сите пациентки од експонираната група, следени се и субјективното чувство за степенот на болка при третманот со ТСА и повикани се на контролен преглед се со цел утврдување на епителизација на грлото на матката и ретестирање за HPV инфекцијата, како одговор на применетата терапија.

Инклузиони критериуми: вклучени се пациентки над 21 години кои се сексуално активни.

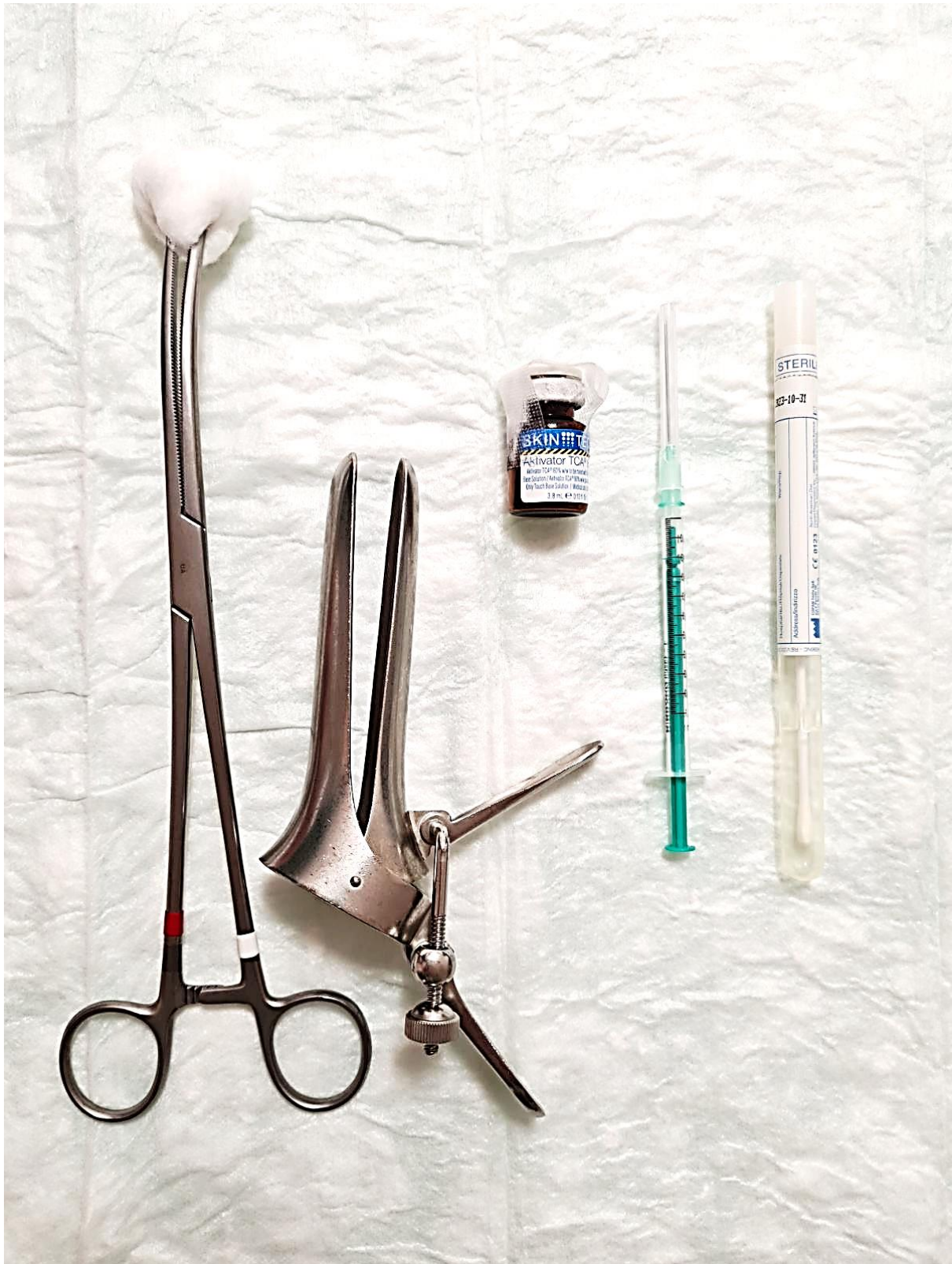
Ексклузиони критериуми: Во студијата не се вклучени пациентки со потврдена интраепителна неоплазија од низок или висок степен или цервикален карцином, трудници, малолетници, пациентки оперирани поради цервикален карцином или цервикална интраепителина неоплазија и пациентки кои не се јавиле на повикот за контролен преглед.

4.3. Метод на работа

За сите испитаници или пациенти, како во контролната така и од испитуваната група користен е прашалник за земање на лична анамнеза, како и евентуална историја на гинеколошки заболувања. Од сите испитаници е земен цервикален брис со *cytobrush* за HPV типизација кој е изработен во акредитирана молекуларна лабораторија и потврден со PCR тест. Пациентките од контролната група се повикувани на контролни прегледи за повторување на PAP тестот и ретестирање за HPV типизација секоја година, со цел следење на исходот од цервикалната инфекцијата со HPV. По потреба правени се други дијагностички иследувања, како колпоскопија и биопсија и поставување на конечна дијагноза со цел пристапување кон соодветен третман. Пациентките во контролната група се менаџирани со експектативен пристап најмалку две години. Пациентките, кај кои не постоела индикација за оперативен третман или постоела желба за перорална имуностимулативна или топично аплицираната терапија, се следени и до 5 години.

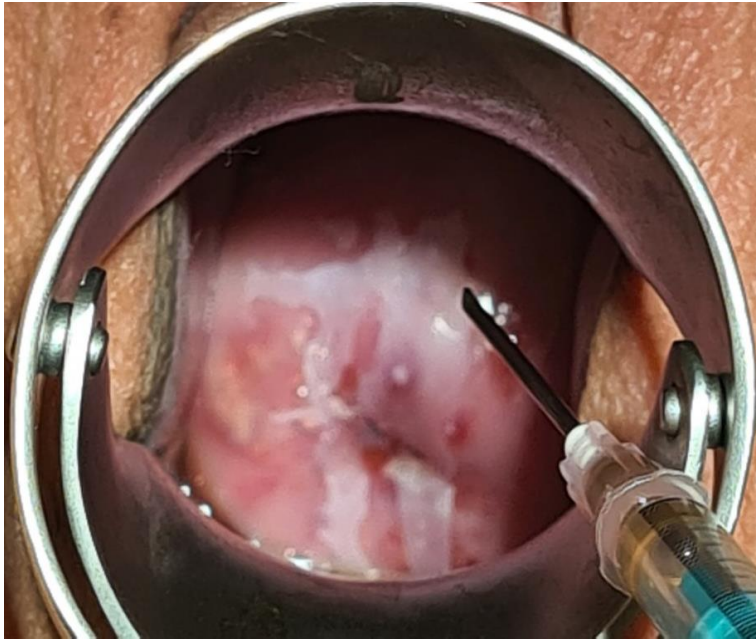
Пациентките од испитуваната група, со потрден позитивен HPV DNA тест се третирани со ТСА. Постапка: Најнапред се разоткрива грлото на матката со помош на спекулум и со шприц се аплицира 0,2ml 85% ТСА на ниво во трансформационата зона од цервиксот. Бидејќи самата киселина има низок вискозитет потребно е да се внимава да не прсне на здраво ткиво кое може да

биде хемиски коагулирано. Вишокот на киселина кое паѓа на спекулумот се собира со памучно тупферче. Малиот остаточен дел од киселината се вбризгува во ендocerвиксот и на тој начин се третира и каудалниот дел од ендocerвикс. Се остава трансформационата зона комплетно да побели, што укажува на коагулација на клеточните протеини. После извесно време ваквите инфицирани епителни клетки се денудираат и се овозможува пилинг на грлото на матката, по кој следи реепителизација со нови здрави клетки. Кај сите пациентки е следен степенот на болка во тек на апликацијата и по апликацијата на TCA. Пациентките се повикани на контролен преглед за утврдување на реепителизација на грлото на матка и контролна HPV типизација со цел утврдување на клиренсот на вирусот.



Слика 16. Сет за изведување на пилинг на цервикс со TCA

Figure 16. Set for performing peeling of the cervix with TCA



Слика 17. Аплицирање на ТСА на трансформационата зона
Figure 17. Applying TCA to the transformation zone

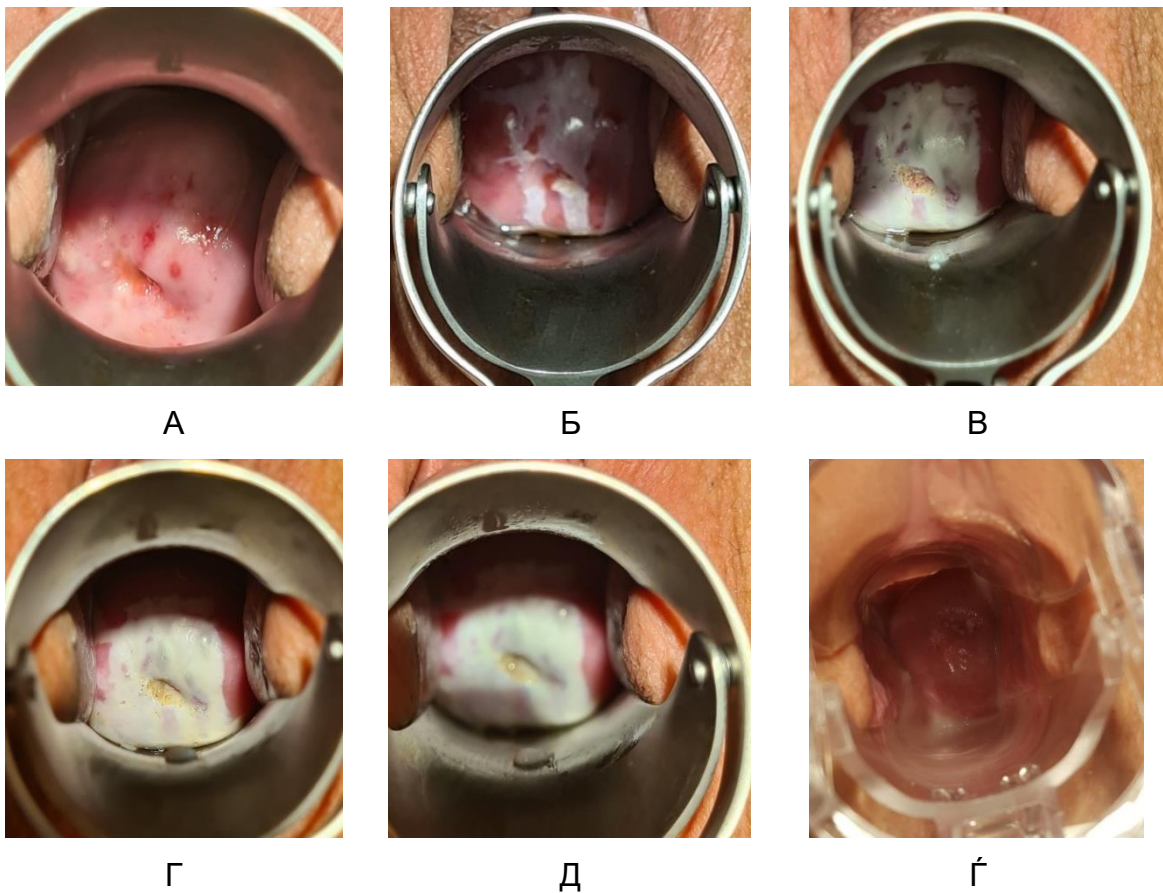


Слика 18. Третирање на каудалниот дел од цервиксот со ТСА
Figure 18. Treatment of the caudal part of the cervix with TCA



Слика 19. Собирање на остатокот од киселина со памучно тупферче

Figure 19. Collecting remaining acid with a cotton swab



Слика 20. Третман на цервикс со субклиничка HPV инфекција со топична 85% TCA (а) цервикс инфициран со HPV (б) 20 секунди по апликација (в) 40 секунди

по апликација (г) 60 секунди по апликација (д) 80 секунди по апликација (ѓ) 2 месеци по третманот.

Figure 20. Treatment of subclinical HPV infection of the cervix with topical 85% TCA. (а) HPV infected cervix (б) 20 seconds after the application (в) 40 seconds after the application (г) 60 seconds after the application (д) 80 seconds after the application (ѓ) 2 months after the treatment.

4.4. Статистичка анализа

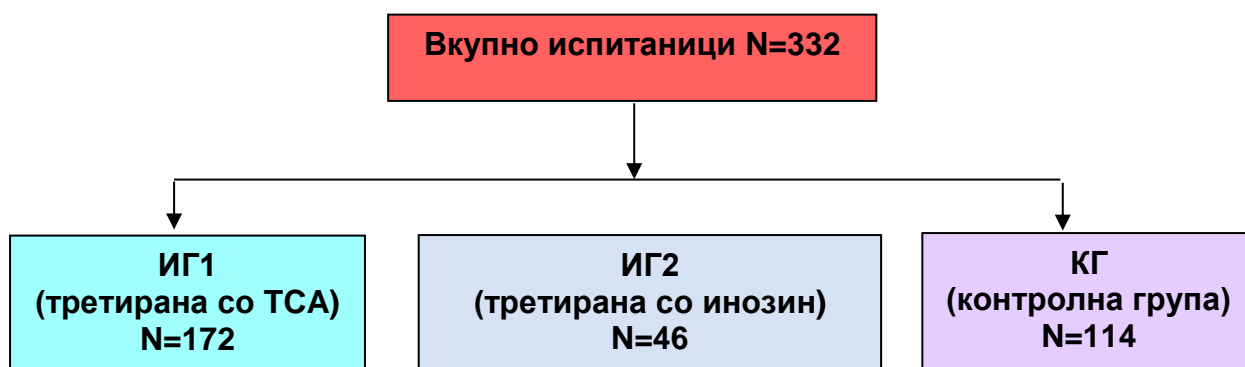
Статистичката анализа на податоците добиени од истражувањето беше направена со статистичкиот програм SPSS 23,0. Kolmogorov-Smirnov тест и Shapiro Wilk's тест беа користени за тестирање на нормалноста на дистрибуцијата на податоците.

Категориските (атрибутивни) варијабли се прикажани со апсолутни и релативни броеви. Нумеричките (квантитативни) варијабли се прикажани со просек, стандардна девијација, минимални и максимални вредности. За компарирање на категориските варијабли беа користени непараметарски тестови за независни примероци (Chi-square test, Fisher exact test). За компарирање на квантитативните варијабли беа користени параметарски и непараметарски тестови за независни примероци, во зависност од симетричноста на податоците (Student t-test, Mann-Whitney test.).

5. Резултати

Во истражувањето беа вклучени вкупно 332 испитаници, пациентки со субклиничка инфекција на грлото на матката со HPV, кои беа поделени во 3 групи во зависност од начинот на третирање:

Во првата испитувана група (ИГ1) беа вклучени 172 пациентки кои беа третирани со ТСА, во втората испитувана група (ИГ2) беа вклучени 46 пациентки кои беа третирани со инозин, и контролна група (КГ) составена од 114 пациентки без никаква терапија (слика 21).



Слика 21. Дијаграм за класификација на испитаниците

Figure 21. Flow diagram presenting classification of the respondents

5.1. ИГ 1-група третирана со ТСА

Во првата испитувана група партиципираа 172 испитаници, пациентки третиран со ТСА поради субклиничка инфекција на грлото на матката со HPV. Пациентките беа на возраст од 21 до 53 години, со просечна возраст од 32.2 ± 7.5 години. Најмногу (40) или 23,26%, беа застапени пациентки на возраст од 26-30 год., споредено со пациентки (вкупно 38) помлади од 25 години и на возраст од 31 до 35 години, вкупно 38 или 22.09%, (табела 2).

Во оваа група доминираа (126 или 73.26%) пациентки кај кои беше детектирана инфекција со HPV тип 1, (табела 2).

Табела 2. Карактеристики на ИГ1

Table 2. Characteristics of EG1

ИГ 1	
Варијабла	
возраст (mean \pm SD) (min- max)	(32.2 \pm 7.5) (21 – 53)
возрасни групи n(%)	
<25	38 (22.09)
26 – 30	40 (23.26)
31 – 35	38 (22.09)
36 – 40	27 (15.69)

≥41	29 (16.86)
број на HPV n(%)	
1	126 (73.26)
2	29 (16.86)
3	12 (6.98)
4	3 (1.74)
5	2 (1.16)

ИГ1 (третирана со ТСА)

Во табела 3 прикажана е дистрибуцијата на пациентките од ИГ1 во однос на детектираниот/те типови на HPV. Се забележува дека пациентките (18 од нив или 10.46%) најчесто беа инфицирани со HPV тип 31, 15 пациентки или 8.72% со HPV тип 16, 13 пациентки (7.56%) со HPV тип 35, и 10 пациентки или 5.81% со HPV тип 18.

Табела 3. Застапеност на типовите HPV во ИГ1

Table 3. Representation of HPV types in EG1

ИГ 1					
Тип HPV	n(%)	Тип HPV	n(%)	Тип HPV	n(%)
6	1 (0.58)	31,35,16,18	1 (0.58)	58,73	1 (0.58)
16	15 (8.72)	35,34,42,66,68	1 (0.58)	59	4 (2.33)
16,18	2 (1.16)	16,31,6,54	1 (0.58)	62	2 (1.16)
16,31	1 (0.58)	40	2 (1.16)	62,72	1 (0.58)
16,51	1 (0.58)	45	7 (4.07)	66	8 (4.65)
16,59	1 (0.58)	45,56	1 (0.58)	68	3 (1.74)
16,66	1 (0.58)	45,68	1 (0.58)	73	2 (1.16)
18	10 (5.81)	51	5 (2.91)	82	3 (1.74)
18,16	1 (0.58)	51,61	1 (0.58)	86	1 (0.58)
18,82	1 (0.58)	52	7 (4.07)	66,39,33	1 (0.58)
30	1 (0.58)	52,34	1 (0.58)	18,31,44	1 (0.58)
31	18 (10.46)	52,56	1 (0.58)	52,26,6	1 (0.58)
31,11	1 (0.58)	52,58	1 (0.58)	31,52,58	1 (0.58)
31,35	1 (0.58)	52,59	1 (0.58)	16,58,59,53,56	1 (0.58)

31,41	1 (0.58)	52,73	1 (0.58)	31,73,6	1 (0.58)
31,52	1 (0.58)	53	5 (2.91)	18,59,68	1 (0.58)
31,59	1 (0.58)	56	6 (3.49)	31,56,53	1 (0.58)
33	4 (2.33)	56,42	1 (0.58)	52,59,56	1 (0.58)
33,51	1 (0.58)	58	3 (1.74)	39,18,58,56	1 (0.58)
33,73	1 (0.58)	58,16	1 (0.58)	18,16,45	1 (0.58)
35	13 (7.56)	52,59,82	1 (0.58)	31,39,52	1 (0.58)
39	6 (3.49)	58,51,59	1 (0.58)	Вкупно	172
39,59	1 (0.58)	58,43	1 (0.58)		

ИГ1 (третирана со ТСА)

Во табела 4 прикажана е дистрибуцијата на пациентките од ИГ1 во однос на застапеноста на високоризични, нискоризични и веројатно високоризични типови на HPV, како и нивни комбинации.

Согласно прикажаната дистрибуција во табела 4,

- кај најголем дел (109) од пациентките или кај 63.37%, беше детектиран еден тип на високоризичен HPV ;
- кај 17 (9.88%), пациентки со два високоризични типови ;
- 12 (6.98%) пациентки со еден веројатно високоризичен тип на HPV;
- 7 (4.07%) пациентки со три високоризични типови ;
- 6 (3.49%) пациентки со еден нискоризичен тип;
- помал процент на пациентки беа заразени со различни комбинации на вируси со различен степен на ризик .

Табела 4. Дистрибуција на пациентките во однос на канцерогеноста на HPV во ИГ1

Table 4. Distribution of patients in relation to the carcinogenicity of HPV in EG1

ИГ 1	n(%)
Високоризичен	109 (63.37)
високоризичен, високоризичен	17 (9.88)
високоризичен,нискоризичен	5 (2.91)
високоризичен,веројатно високоризичен	5 (2.91)
Нискоризичен	6 (3.49)

нискоризичен, нискоризичен	1 (0.58)
веројатно високоризичен	12 (6.98)
високоризичен, високоризичен, високоризичен	7 (4.07)
високоризичен, високоризичен, нискоризичен	1 (0.58)
високоризичен, високоризичен, високоризичен, високоризичен, веројатно високоризичен	1 (0.58)
високоризичен, високоризичен, веројатно високоризичен	2 (1.16)
високоризичен, високоризичен, високоризичен, високоризичен	2 (1.16)
високоризичен, веројатно високоризичен, нискоризичен	2 (1.16)
високоризичен, високоризичен, нискоризичен, нискоризичен	1 (0.58)
високоризичен, високоризичен, високоризичен веројатно високоризичен, нискоризичен	1 (0.58)
Вкупно	172

ИГ1 (третирана со ТСА)

Во групата од 172 пациентки третирани со ТСА вкупно беа детектирани 32 типови на HPV, од кои 14 високоризични, 12 нискоризични и 6 веројатно високоризични. Вкупно беа изолирани, односно детектирани 242 хуман папилома вируси, од кои 201 (83.06%) високоризични, 19 (7.85%) нискоризични и 22 (9.09%) веројатно високоризични (табела 5).

Во групата високоризични типови на HPV најголема фреквенција на јавување имаа HPV тип 31 и 16, детектирани кај 31(18.02%) и 27(15.7%) пациентки, соодветно; повисока фреквенција на јавување беше регистрирана и за високоризичните типови 18 и 52, детектирани кај 19(11.05%) и 18(10.46%) пациентки, соодветно.(табела 5). Нискоризичните типови на HPV имаа мала фреквенција на зачестеност, меѓу нив најчесто беа детектирани HPV тип 6 кај 4(2.32%) пациенти и HPV тип 62 – кај 3(1.74%) пациенти (табела 5). Во групата веројатно високоризични типови на HPV најголема фреквенција на јавување имаа HPV тип 53 и 73, детектирани кај 7(4.07%) и 6(3.49%) пациентки, соодветно (табела 5).

Табела 5. Дистрибуција на високоризични, нискоризични и веројатно високоризични HPV во ИГ1

Table 5. Distribution of high-risk, low-risk and assumed high-risk HPV in EG1

ИГ 1					
Високоризични		Нискоризични		Веројатно	
Тип HPV	n(%)	Тип HPV	n(%)	Тип HPV	n(%)
58	11 (6.39)	86	1(0.58)	26	1(0.58)
68	6(3.49)	62	3(1.74)	73	6(3.49)
56	13(7.56)	43	1(0.58)	82	5(2.91)
39	10(5.81)	61	1(0.58)	30	1(0.58)
16	27(15.7)	72	1(0.58)	34	2(1.16)
18	19(11.05)	6	4(2.32)	53	7(4.07)
31	31(18.02)	11	1(0.58)		
33	7(4.07)	40	2(1.16%)		
35	16(9.3)	41	1(0.58)		
51	9(5.23)	54	1(0.58)		
52	18(10.46)	44	1(0.58)		
45	10(5.81)	42	2(1.16)		
66	11(6.39)				
59	13(7.56)				
Вкупно 14 типа	201/242	Вкупно 12 типа	19/242	Вкупно 6 типа	22/242

ИГ1 (третирана со TCA)

Во табела 6, табела 7 и табела 8 прикажана е просечната возраст на пациентките од ИГ1 во однос на детектираните високоризични, нискоризични и веројатно високоризични типови HPV.

Во групата третирана со TCA најмала просечна возраст имаа пациентките инфицирани со HPV тип 58 (28.0 ± 6.6), додека пациентките инфицирани со HPV тип 33 беа во просек најстари (36.6 ± 6.7) (табела 6). На граница на статистичка сигнификантност беше разликата во просечната возраст на пациентките со и без HPV тип 58, пациентките инфицирани со овој тип беа просечно помлади од пациентките кои не беа инфицирани со овој тип (28.0 ± 6.6 наспроти 32.5 ± 7.4 , $p=0.054$). Статистичка несигнификантна беше разликата во просечната возраст на пациентките со и без сите останати високоризични типови на HPV ($p>0.05$) (табела 6).

Табела 6. Просечна возраст на пациентките од ИГ1 со високоризични типови HPV

Table 6. Average age of EG1 patients with high-risk HPV types

ИГ 1 (високоризични HPV)					
Тип HPV		статистички параметри (возраст/години)			p-value
		n	mean \pm SD	min- max	
58	Да	11	28.0 \pm 6.6	21 – 42	t=1.94 p=0.054
	Не	161	32.5 \pm 7.4	21 – 53	
68	Да	6	33.8 \pm 10.1	24 – 48	t=0.5 p=0.59
	Не	166	32.1 \pm 7.4	21 – 53	
56	Да	13	32.1 \pm 6.9	22 – 45	t=0.06 p=0.95
	Не	159	32.0 \pm 7.5	21 – 53	
39	Да	10	31.4 \pm 6.6	25 – 44	t=0.35 p=0.73
	Не	162	32.2 \pm 7.5	21 – 53	
16	Да	27	32.5 \pm 7.3	22 – 45	t=0.2 p=0.83
	Не	145	32.1 \pm 7.5	21 – 53	
18	Да	19	30.2 \pm 7.3	22 – 47	t=1.2 p=0.22
	Не	153	32.4 \pm 7.5	21 – 53	
31	Да	31	33.5 \pm 7.5	21 – 46	t=1.1 p=0.27
	Не	141	31.9 \pm 7.5	21 – 53	
33	Да	7	36.6 \pm 6.7	24 – 43	t=1.6 p=0.114
	Не	165	32.0 \pm 7.5	21 – 53	
35	Да	16	33.3 \pm 7.6	23 – 49	t=0.6 p=0.532
	Не	156	32.1 \pm 7.5	21 – 53	
51	Да	9	31.3 \pm 6.4	23 – 45	t=0.35 p=0.72
	Не	163	32.2 \pm 7.5	21 – 53	
52	Да	18	31.1 \pm 9.6	21 – 53	t=0.65 p=0.516
	Не	154	32.3 \pm 7.2	21 – 49	
45	Да	10	32.50 \pm 9.1	22 – 48	t=0.13 p=0.89
	Не	162	32.2 \pm 7.4	21 – 53	
66	Да	11	33.45 \pm 7.4	25 – 44	t=0.6 p=0.57
	Не	161	32.11 \pm 7.5	21 – 53	
59	Да	13	29.61 \pm 5.8	22 – 40	t=1.3 p=0.19

	Не	159	32.41 ± 7.6	21 – 53	
--	----	-----	-------------	---------	--

ИГ1 (третирана со ТСА); t(Student t-test)

Во групата пациентки со нискоризични типови на HPV, најмладите 2 пациентки беа на возраст од 21 година и беа инфицирани со HPV тип 43 и 41, најстарата пациентка беше на возраст од 37 години и беше инфицирана со HPV тип 44. Споредбата на возраста на пациентките со нискоризични типови беше статистички анализирана само за типовите 62 и 6 и истата беше статистички несигнификантна ($p > 0.05$) (табела 7).

Табела 7. Просечна возраст на пациентките од ИГ1 со нискоризични типови HPV

Table 7. Average age of EG1 patients with low-risk HPV types

ИГ 1 (нискоризични HPV)					
Тип HPV		статистички параметри (возраст)			p-value
		N	mean ± SD	min- max	
86	да	1	32	32	
	не	171	32.2 ± 7.5	21 – 53	
62	да	3	30.7 ± 8.6	23 – 40	t=0.36 p=0.72
	не	169	32.2 ± 7.5	21 – 53	
43	да	1	21.0	21	
	не	171	32.3 ± 7.4	21 – 53	
61	да	1	31.0	31	
	не	171	32.2 ± 7.5	21 – 53	
72	да	1	29.0	29.0	
	не	171	32.2 ± 7.5	21 – 53	
6	да	4	31.2 ± 6.4	22 – 37	t=0.26 p=0.8
	не	168	32.2 ± 7.5	21 – 53	
11	да	1	31.0	31	
	не	171	32.2 ± 7.5	21 – 53	
40	да	2	25.5 ± 4.9	22 – 29	
	не	170	32.3 ± 7.5	21 – 53	
41	да	1	21.0	21	
	не	171	32.3 ± 7.4	21 – 53	
54	да	1	33.0	33	
	не	171	32.2 ± 7.5	21 – 33	
44	да	1	37.0	37	
	не	171	32.2 ± 7.5	21 – 53	
	да	2	27.5 ± 2.1	26 – 29	

42	не	170	32.2 ± 7.5	21 – 29	
----	----	-----	------------	---------	--

ИГ1 (третирана со ТСА); t(Student t-test)

Во групата пациентки со веројатно високоризични типови на HPV, најмладите 2 пациентки беа на просечна возраст од 23.5 ± 3.5 години и беа инфицирани со HPV тип 73, најстарата пациентка беше на возраст од 37 години и беше инфицирана со HPV тип 26. Споредбата на возраста на пациентките со веројатно високоризични типови беше статистички анализирана само за HPV тип 73, 82 и 53 и истата беше статистички несигнификантна ($p > 0.05$) (табела 8).

Табела 8. Просечна возраст на пациентките од ИГ1 со веројатно високоризични типови HPV

Table 8. Average age of IG1 patients with assumed high-risk HPV types

ИГ 1 (веројатно високоризични HPV)					
Тип HPV		статистички параметри (возраст)			p-value
		N	mean ± SD	min- max	
26	да	1	37.0	37	
	не	171	32.2 ± 7.5	21 – 53	
73	да	6	31.8 ± 7.8	21 – 41	t=0.12 p=0.91
	не	166	32.2 ± 7.5	21 – 53	
82	да	5	31.0 ± 7.7	24 – 42	t=0.36 p=0.72
	не	167	32.2 ± 7.5	21 – 53	
30	да	1	35.0	35	
	не	171	32.2 ± 7.5	21 – 53	
34	да	2	23.5 ± 3.5	21 – 26	
	не	170	32.3 ± 7.4	21 – 26	
53	да	7	32.7 ± 5.4	23 – 40	t=0.19 p=0.85
	не	165	32.2 ± 7.5	21 – 53	

ИГ1 (третирана со ТСА); t(Student t-test)

Во табела 9 прикажана е дистрибуцијата на високоризичните типови HPV меѓу петте анализирани возрасни групи во ИГ1.

HPV тип 58 и тип 52 беа најчесто застапени во возрасната група на пациентки помлади од 25 години, и тоа кај 4(10.53%) и 7(18.42%) пациентки соодветно; HPV тип 68, 56,16,18 и 45 беше регистриран во возрасната група од

26 до 30 год. и тоа кај 2(5%), 4(10%), 8(20%), 7(17.5%) и 4(10%) пациентки соодветно. HPV тип 39, 31 и 51 беше регистриран во возрастната група од 31- 35 год. и тоа кај 3(7.89%), 9(23.68%) и 3(7,89%), соодветно; додека HPV типовите 33, 35, 66 и 59 во возрастната група од 36 - 40 год., кај 2(7.41%), 5(18.52%) и 3(11.11%), соодветно (табела 9).

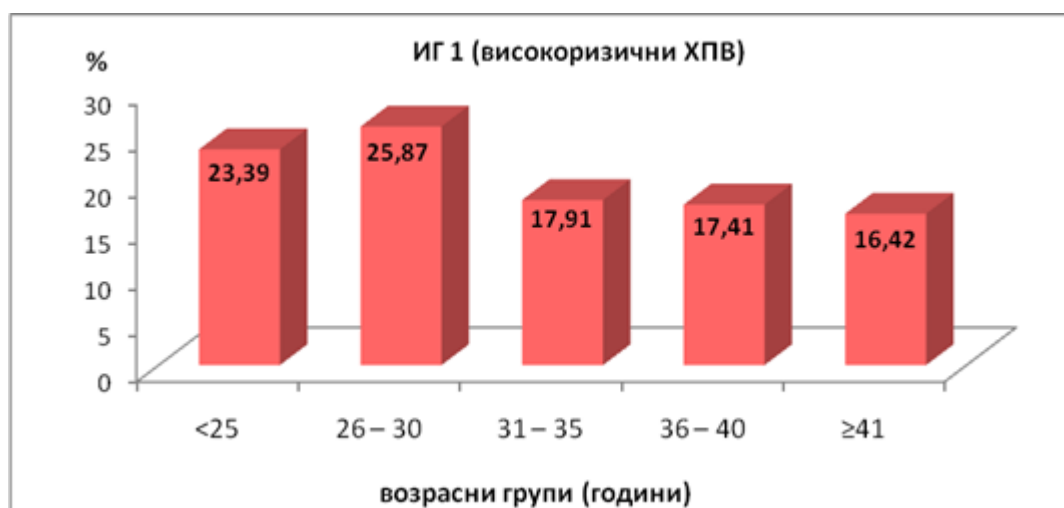
Пациентките на возраст под 25 години, на возраст од 26-30год., 31-35год., 36-40год. и постари од 41 год. не се разликуваа сигнификантно во однос на дистрибуцијата на сите високоризични типови HPV ($p>0.05$) (табела 9). Од вкупно 201 високоризични хуман папилома вируси, најголем дел беа детектирани кај жени на возраст од 26-30 год. или кај 52(25.87%) пациентки, следени од HPV детектирани во возрастната група помлади од 25 год. или кај 45(23.39%) пациентки. Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика во зачестеноста на високоризичните HPV меѓу петте возрастни групи ($p=0.17$) (табела 9, слика 22).

Табела 9. Возрастни групи на пациентките од ИГ1 со високоризични типови HPV
Table 9. Age groups of EG1 patients with high-risk HPV types

ИГ 1 (високоризични HPV)								
Тип HPV		возрасни групи(години)						p-value
		n	<25	26 – 30	31 – 35	36 – 40	≥41	
58	Да	11	4 (10.53)	4 (10)	1 (2.63)	1 (3.7)	1 (3.45)	$X^2=3.6$ $p=0.46$
	Не	161	34 (89.47)	36 (90)	37 (97.37)	26 (96.3)	28 (96.55)	
68	Да	6	1 (2.63)	2 (5)	1 (2.63)	0	2 (6.9)	$X^2=2.4$ $p=0.66$
	Не	166	37 (97.37)	38 (95)	37 (97.37)	27 (100)	27 (93.1)	
56	Да	13	2 (5.26)	4 (10)	3 (7.89)	2 (7.41)	2 (6.9)	$X^2=0.65$ $p=0.96$
	Не	159	36 (94.74)	36 (90)	35 (92.11)	25 (92.59)	27 (93.1)	
39	Да	10	2 (5.26)	3 (7.5)	3 (7.89)	1 (3.7)	1 (3.45)	$X^2=1.0$ $p=0.9$
	Не	162	36 (94.74)	37 (92.5)	35 (92.11)	26 (96.3)	28 (96.5)	
16	Да	27	5 (13.16)	8 (20)	4 (10.53)	5 (18.52)	5 (17.24)	$X^2=1.7$ $p=0.79$
	Не	145	33 (86.84)	32 (80)	34 (89.47)	22 (81.48)	24 (82.76)	
18	Да	19	6 (15.79)	7 (17.5)	1 (2.63)	3 (11.11)	2 (6.9)	$X^2=5.8$ $p=0.21$
	Не	153	32 (84.21)	33 (82.5)	37 (97.37)	24 (88.89)	27 (93.1)	
31	Да	31	6 (15.79)	3 (7.5)	9 (23.68)	6 (22.22)	7 (24.14)	$X^2=5.0$ $p=0.29$
	Не	141	32 (84.21)	37 (92.5)	29 (76.32)	21 (77.78)	22 (75.86)	
33	Да	7	1 (2.63)	0	2 (5.26)	2 (7.41)	2 (6.9)	$X^2=3.4$ $p=0.49$
	Не	165	37 (97.37)	40 (100)	36 (94.74)	25 (92.59)	27 (93.1)	
	да	16	3 (7.89)	4 (10)	2 (5.26)	5 (18.52)	2 (6.9)	

35	Не	156	35 (92.11)	36 (90)	36 (94.74)	22 (81.48)	27 (93.1)	$X^2=3.8$ $p=0.44$
51	Да	9	1 (2.63)	3 (7.5)	3 (7.89)	1 (3.7)	1 (3.45)	$X^2=1.8$ $p=0.77$
	Не	163	37 (97.37)	37 (92.5)	35 (92.11)	26 (96.3)	28 (96.55)	
52	Да	18	7 (18.42)	3 (7.5)	2 (5.26)	2 (7.41)	4 (13.79)	$X^2=4.6$ $p=0.325$
	Не	154	31 (81.58)	37 (92.5)	36 (94.74)	25 (92.59)	25 (86.21)	
45	Да	10	2 (5.26)	4 (10)	1 (2.63)	1 (3.7)	2 (6.9)	$X^2=2.3$ $p=0.68$
	Не	162	36 (94.74)	36 (90)	37 (97.37)	26 (96.3)	27 (93.1)	
66	Да	11	1 (2.63)	4 (10)	1 (2.63)	3 (11.11)	2 (6.9)	$X^2=3.7$ $p=0.45$
	Не	161	37 (97.37)	36 (90)	37 (97.37)	24 (88.89)	27 (93.1)	
59	Да	13	4 (10.53)	3 (7.5)	3 (7.89)	3 (11.11)	0	$X^2=3.3$ $p=0.5$
	Не	159	34 (89.47)	37 (92.5)	35 (92.11)	24 (88.89)	29 (100)	
вк	Да	201	45 (23.39)	52(25.87)	36(17.91)	35(17.41)	33(16.42)	$X^2=6.4$ $p=0.17$

ИГ1 (третирана со ТСА); X^2 (Chi-square test)



Слика 22. Графички приказ на возрасни групи на пациентките од ИГ1 со високоризични типови HPV

Figure 22. Chart showin the age groups of EG1 patients with high-risk HPV types

Во табела 10 прикажана е дистрибуцијата на нискоризичните типови на HPV меѓу петте анализирани возрасни групи во ИГ1 .

Во возрасната група помлади од 25 години беа детектирани следниве типови на HPV (поединичено само кај по една пациентка): тип 62, 43,6, 40 и 41 (табела 10).

Во возрасната група од 26 до 30 години беа детектирани следниве типови на HPV : тип 62 кај една пациентка, тип 72 кај една пациентка, тип 40 кај една

пациентка, и тип 42 кај две пациентки. Во возрастната група од 31 до 35 години беа детектирани следниве типови на HPV: тип 86 кај една пациентка, тип 61 кај една пациентка, тип 6 кај две пациентки, тип 11 кај една пациентка и тип 54 кај една пациентка (табела 10). Во возрастната група од 36 до 40 години беа детектирани следниве типови на HPV, поединечно само кај една пациентка, соодветно, тип 62, 6 и 44 (табела 10). Во возрастната група над 40 години не беа детектирани нискоризични HPV (табела 10).

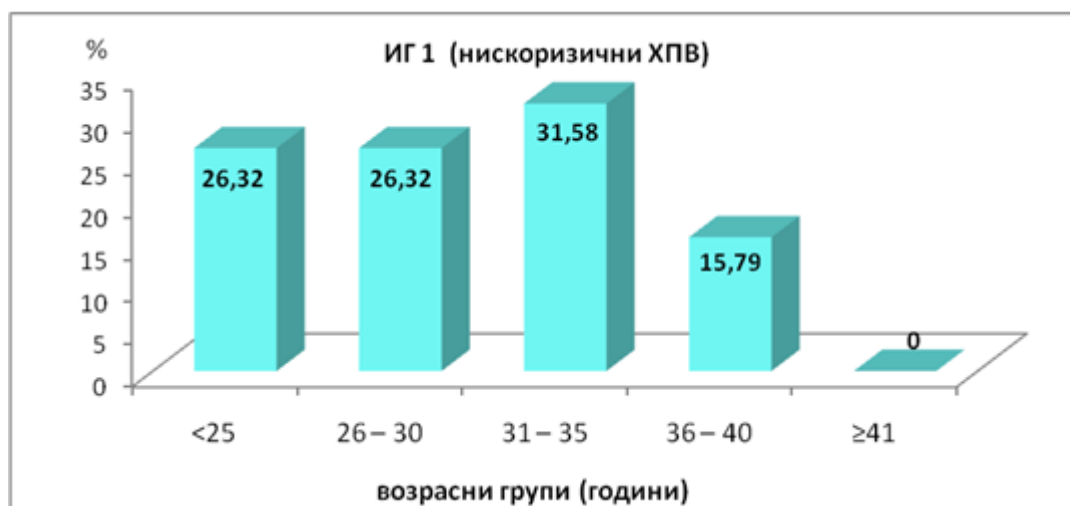
Возрастите групи на пациентки (на возраст под 25 год., 26-30, 31-35, 36-40 и постари од 41 год.) не се разликуваа сигнификантно во однос на зачестеноста сите нискоризичните типови HPV ($p > 0.05$) (табела 10). Од вкупно 19 нискоризични хуман папилома вируси, 6 од нив (31.58%) беа детектирани кај жени на возраст од 31-35 год., 5(26.32%) во возрастните групи помлади од 25 години и 5 од 26-30 год., соодветно, додека 3(15.79%) во возрастната група од 36-40 год. Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика во зачестеноста на нискоризичните HPV меѓу 5-те возрастни групи ($p = 0.2$) (табела 10, слика 23).

Табела 10. Возрасни групи на пациентките од ИГ1 со нискоризични типови HPV
Table 10. Age groups of EG1 patients with low-risk HPV types

ИГ 1 (нискоризични HPV)								
Тип HPV		возрасни групи(години)						p-value
		N	<25	26 – 30	31 – 35	36 – 40	≥41	
86	да	1	0	0	1 (2.63)	0	0	$X^2=3.5$ $p=0.47$
	не	171	38 (100)	40 (100)	37 (97.37)	27 (100)	29 (100)	
62	да	3	1 (2.63)	1 (2.5)	0	1 (3.7)	0	$X^2=2.1$ $p=0.72$
	не	169	37 (97.37)	39 (97.5)	38 (100)	26 (96.3)	29 (100)	
43	да	1	1 (2.63)	0	0	0	0	$X^2=3.55$ $p=0.47$
	не	171	37 (97.37)	40 (100)	38 (100)	27 (100)	29 (100)	
61	да	1	0	0	1 (2.63)	0	0	$X^2=3.55$ $p=0.47$
	не	171	38 (100)	40 (100)	37 (97.37)	27 (100)	29 (100)	
72	да	1	0	1 (2.5)	0	0	0	$X^2=3.32$ $p=0.51$
	не	171	38 (100)	39 (97.5)	38 (100)	27 (100)	29 (100)	
6	да	4	1 (2.63)	0	2 (5.26)	1 (3.7)	0	$X^2=3.3$ $p=0.5$
	не	168	37 (97.37)	40 (100)	36 (94.74)	26 (96..3)	29 (100)	
11	да	1	0	0	1 (2.63)	0	0	$X^2=3.55$ $p=0.47$
	не	171	38 (100)	40 (100)	37 (97.37)	27 (100)	29 (100)	
40	да	2	1 (2.63)	1 (2.5)	0	0	0	$X^2=2.4$ $p=0.65$
	не	170	37 (97.37)	39 (97.5)	38 (100)	27 (100)	29 (100)	
41	да	1	1 (2.63)	0	0	0	0	$X^2=3.55$ $p=0.47$
	не	171	37 (97.37)	40 (100)	38 (100)	27 (100)	29 (100)	

54	да	1	0	0	1 (2.63)	0	0	$X^2=3.55$ $p=0.47$
	не	171	38 (100)	40 (100)	37 (97.37)	27 (100)	29 (100)	
44	да	1	0	0	0	1 (3.7)	0	$X^2=5.4$ $p=0.248$
	не	171	38 (100)	40 (100)	38 (100)	26 (96.3)	29 (100)	
42	да	2	0	2 (5)	0	0	0	$X^2=6.7$ $p=0.15$
	не	170	38 (100)	38 (95)	38 (100)	27 (100)	29 (100)	
вк	да	19	5(26.32)	5(26.32)	6(31.58)	3(15.79)	0	$X^2=6.0$ $p=0.2$

ИГ1 (третирана со ТСА); X^2 (Chi-square test)



Слика 23. Графички приказ на возрасни групи на пациентките од ИГ1 со нискоризични типови HPV

Figure 23. Chart showing the age groups of EG1 patients with low risk HPV type

Во табела 11 прикажана е дистрибуцијата на веројатно високоризичните типови HPV меѓу петте анализирани возрасни групи во ИГ1 .

Во возрасната група помлади од 25 год. беа детектирани следниве типови на HPV: тип 73 кај две пациентки, тип 82 кај две пациентки, тип 34 кај една пациентка и тип 53 кај една пациентка (табела 11). Во возрасната група од 26 до 30 години беа детектирани следниве типови на HPV: тип 82 кај една пациентка, тип 34 кај една пациентка и тип 53 кај една пациентка (табела 11). Во возрасната група од 31 до 35 год. беа детектирани следниве типови на HPV: тип 73 кај две пациентки, тип 30 кај една пациентка, и тип 53 кај три пациентки (табела 11). Во возрасната група од 31 до 35 год. беа детектирани следниве типови на HPV: тип 73 кај две пациентки, тип 30 кај една пациентка и тип 53 кај три пациентки (табела 11).

Во возрастната група од 36-40 год. беа детектирани следниве типови на HPV: тип 26 кај една пациентка, тип 73 кај една пациентка, тип 82 кај една пациентка, и тип 53 кај две пациентки (табела 11). Во возрастната група од 40 год. и постари од 40 год. беа детектирани следниве типови на HPV: тип 73 кај една пациентка, и тип 82 кај една пациентка (табела 11). Возрасните групи на пациентки (на возраст под 25 години, 26-30, 31-35, 36-40 и постари од 41 година) не се разликуваа сигнификантно во однос на зачестеноста на сите веројатно високоризични типови HPV ($p>0.05$) (табела 11).

Од вкупно 22 веројатно високоризични хуман папилома вируси, 6(27.27%) од нив беа детектирани кај жени помлади од 25 год. и 6 кај пациентки од 31 до 35 год., 5(22.73%) на возраст од 36-40 год. и кај 2(9.09%) пациентки постари од 40год. Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика во зачестеноста на веројатно високоризичните HPV меѓу 5-те возрасни групи ($p=0.56$) (табела 11, слика 24).

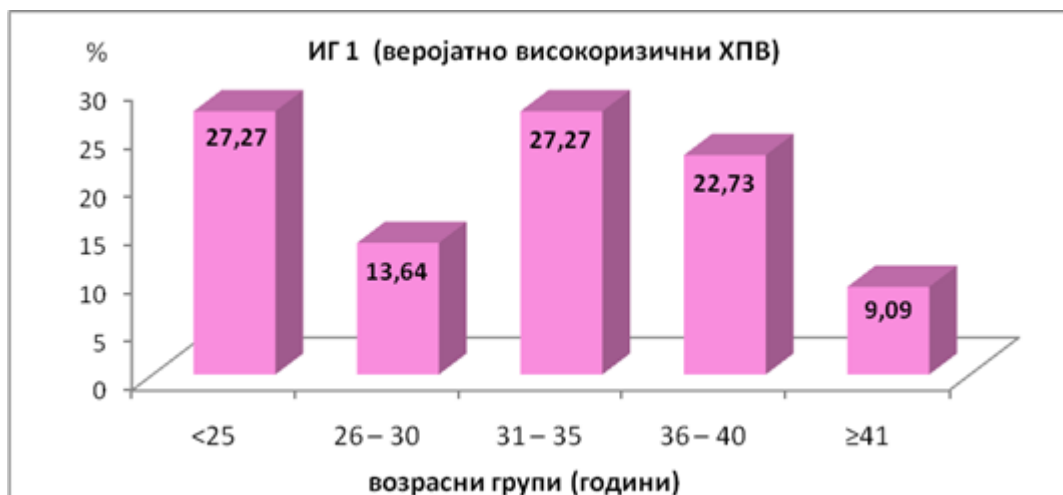
Табела 11. Возрасни групи на пациентките од ИГ1 со веројатно високоризични типови HPV

Table 11. Age groups of EG1 patients with assumed high-risk HPV types

ИГ 1 (веројатно високоризични HPV)								
Тип HPV	возрасни групи(години)							p-value
	N	<25 n(%)	26 – 30 n(%)	31 – 35 n(%)	36 – 40 n(%)	≥41 n(%)		
26 3	Да	1	0	0	0	1 (3.7)	0	$X^2=5.4$ $p=0.25$
	Не	171	38 (100)	40 (100)	38 (100)	26 (96.3)	29 (100)	
73 3	Да	6	2 (5.26)	0	2 (5.26)	1 (3.7)	1 (3.45)	$X^2=2.16$ $p=0.71$
	Не	166	36 (94.74)	40 (100)	36 (94.74)	26 (96.3)	28 (96.55)	
82 3	Да	5	2 (5.26)	1 (2.5)	0	1 (3.7)	1 (3.45)	$X^2=1.99$ $p=0.74$
	Не	167	36 (94.74)	39 (97.5)	38 (100)	26 (96.3)	28 (96.55)	
30 3	Да	1	0	0	1 (2.63)	0	0	$X^2=3.55$ $p=0.47$
	Не	171	38 (100)	40 (100)	37 (97.37)	27 (100)	29 (100)	
34 3	Да	2	1 (2.63)	1 (2.5)	0	0	0	$X^2=2.44$ $p=0.65$
	Не	170	37 (97.37)	39 (97.5)	38 (100)	27 (100)	29 (100)	
	да	7	1 (2.63)	1 (2.5)	3 (7.89)	2 (7.41)	0	

53 3	Не	165	37 (97.37)	39 (97.5)	35 (92.11)	25 (92.59)	29 (100)	$X^2=3.88$ $p=0.42$
вк	Да	22	6(27.27)	3(13.64)	6(27.27)	5(22.73)	2(9.09)	$X^2=3.0$ $p=0.56$

ИГ1 (третирана со ТСА); X^2 (Chi-square test)



Слика 24. Графички приказ на возрасни групи на пациентките од ИГ1 со веројатно високоризични типови HPV

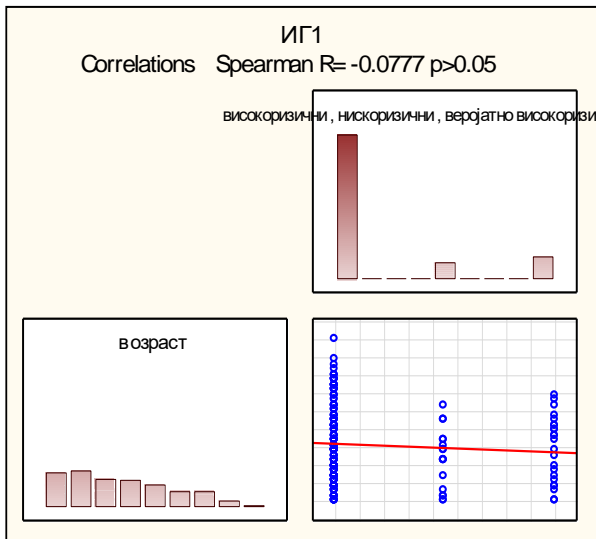
Figure 24. Chart showing the age groups of EG1 patients with assumed high-risk HPV type

Испитуваната поврзаност помеѓу возраста на пациентките третирани со ТСА и степенот на канцерогеност на детектираните вируси беше негативна, односно индиректна, што покажува дека кај постарите пациентки беа детектирани вируси со пониска канцерогеност, и обратното ($R=-0.0777$). Но, корелацијата беше статистички несигнификантна, односно незначајна ($p=0.28$) (табела 12, слика 25).

Табела 12. Корелација меѓу возраста и степен на канцерогеност на HPV во ИГ1
Table 12. Correlation between age and degree of HPV carcinogenicity in EG1

ИГ1	Spearman R	t(N-2)	p-value
возраст & степен на карциногеност	-0,0777	-1,08	0,28

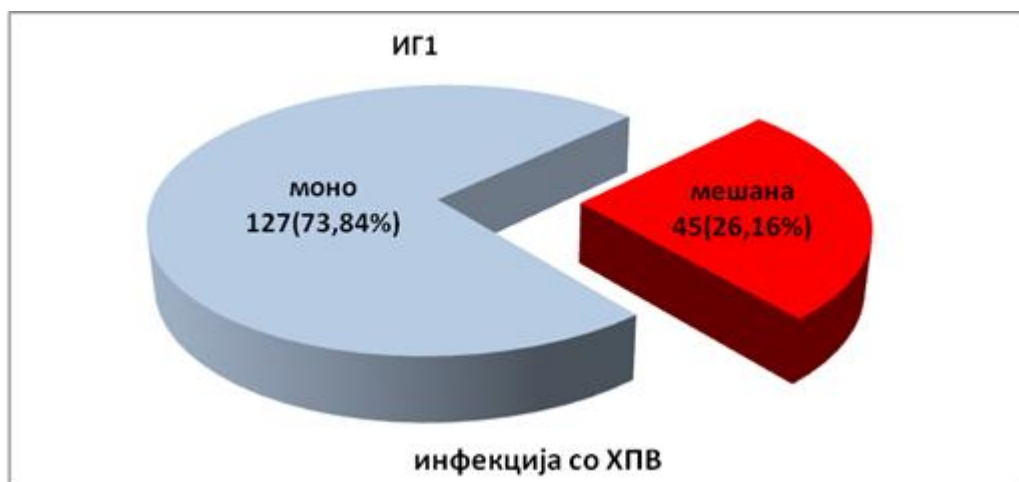
ИГ1 (третирана со ТСА); R(Spearman correlations)



Слика 25. Графички приказ на корелацијата меѓу возраста и степенот на канцерогеност во ИГ1

Figure 25. Chart showing the correlationa between age and degree of HPV carcinogenicity in EG1

Пациентките од ИГ1 најчесто беа инфицирани со еден тип HPV–127(73.84%), кај останатите 45(26.16%) пациентки инфекцијата беше мешана, односно предизвикана од повеќе типови на хуман папилома вирус. (слика 26)



Слика 26. Графички приказ на пациентките од ИГ1 според тип на инфекција со HPV

Figure 26. Chart showing EG1 patients according to type of HPV infection

Во сите возрасни групи во ИГ1 доминираа пациентки со HPV инфекција предизвикана со еден тип на HPV или 26(68.42%), 27(67.5%), 31(81.58%), 19(70.37%) и 24(82.76%), во 5-те возрасни групи, соодветно. (табела 13) Дистрибуцијата на пациентки со моно или мешана HPV инфекција меѓу петте возрасни групи беше статистички несигнификантна ($p=0.41$) (табела 13).

Табела 13. Возрасни групи кај пациентките од ИГ1 во однос на типот на инфекција со HPV

Table 13. Age groups in EG1 patients in relation to the type of HPV infection

ИГ 1							
Инфекција	возрасни групи						p-value
	n	<25 n(%)	26 – 30 n(%)	31 – 35 n(%)	36 – 40 n(%)	≥41 n(%)	
Моно	127	26 (68.42)	27 (67.5)	31 (81.58)	19 (70.37)	24 (82.76)	$X^2=3.95$ $p=0.41$
Мешана	45	12 (31.58)	13 (32.5)	7 (18.42)	8 (29.63)	5 (17.24)	

ИГ1 (третирана со TCA); X^2 (Chi-square test)

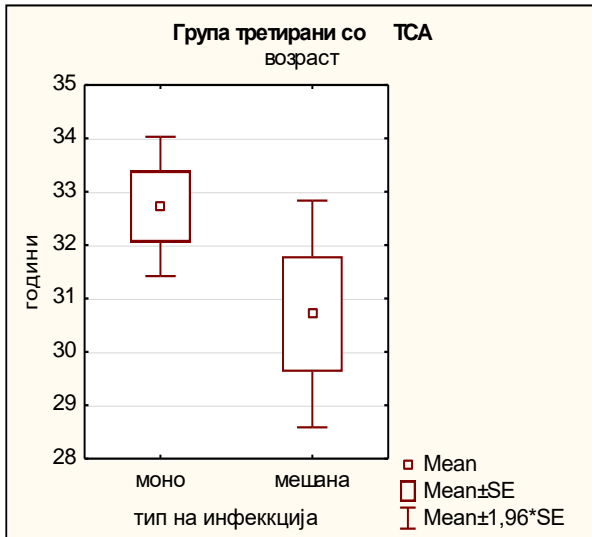
Пациентките од ИГ1 инфицирани со еден тип HPV беа несигнификантно постари од пациентките инфицирани со повеќе типови (32.7 ± 7.5 наспроти 30.7 ± 7.3 ; $p=0.12$). (табела 14, слика 27)

Табела 14. Просечна возраст на пациентките од ИГ1 во однос на типот на инфекција со HPV

Table 14. Average age of EG1 patients in relation to the type of HPV infection

ИГ 1				
Инфекција	статистички параметри (возраст)			p-value
	N	mean \pm SD	min- max	
Моно	127	32.72 ± 7.5	21 – 53	$t=1.56$ $p=0.12$
Мешана	45	30.71 ± 7.3	21 – 48	

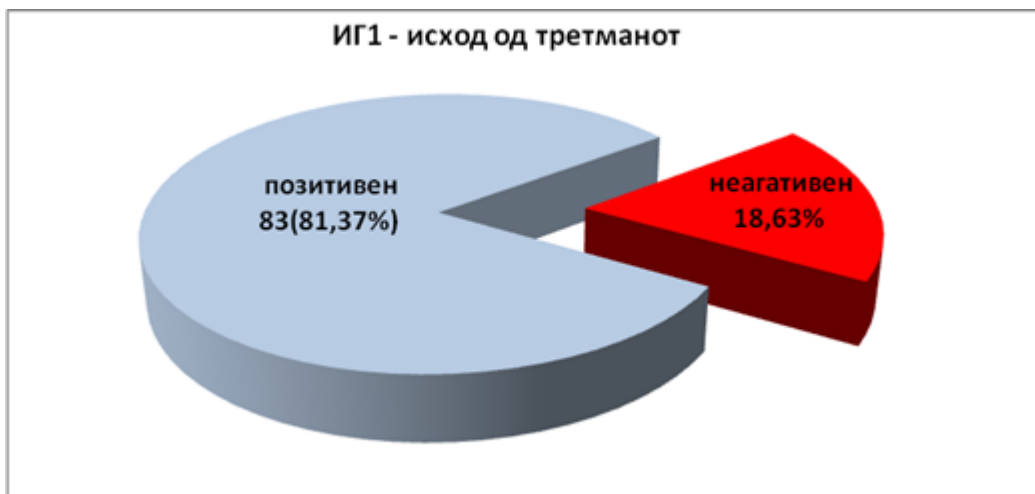
ИГ1 (третирана со TCA); t (Student t-test)



Слика 27. Графички приказ на просечната возраст на пациентките од ИГ1 во однос на типот на инфекција со HPV

Figure 27. Chart showing Table average age of IG1 patients in relation to the type of HPV infection

Во групата од 102 пациентки третирани со ТСА кај кои беше направен контролен PCR, позитивен исход од третманот имаа 83(81.37%) пациентки, негативен исход имаа 19(18.63%), односно стапката на ефикасност на третманот беше 81.37% (слика 28).



Слика 28. Графички приказ на дистрибуција на пациентките од ИГ1 според исходот од третманот

Figure 28. Graphic representation of distribution of IG1 patients according to treatment outcome

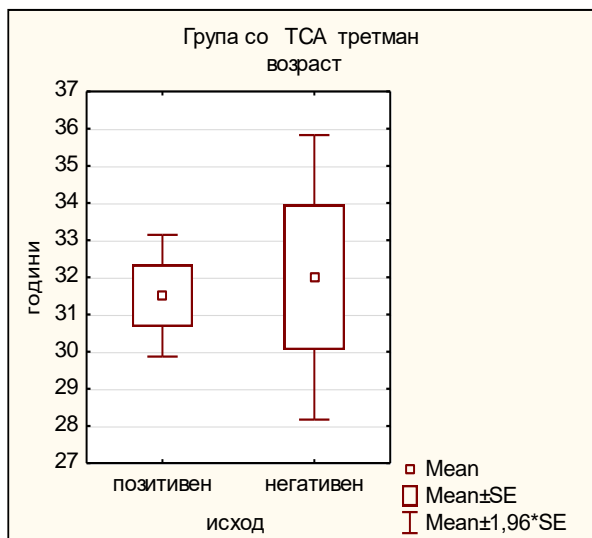
Возраста на пациентките немаше сигнификантно влијание на исходот од ТСА третманот ($p=0.8$). Пациентките со негативен исход беа во просек незначајно постари од пациентките со позитивен исход (32.0 ± 8.5 години наспроти 31.5 ± 7.6 години). (табела 15, слика 29)

Табела 15. Просечна возраст на пациентките од ИГ1 според исходот од третманот

Table 15. Average age of EG1 patients according to treatment outcome

ИГ 1				
Исход	статистички параметри (возраст)			p-value
	N	mean \pm SD	min- max	
Позитивен	83	31.51 \pm 7.6	21 – 53	t=0.25 p=0.80
Негативен	19	32.0 \pm 8.5	22 – 48	

ИГ1 (третирана со ТСА); t(Student t-test)



Слика 29. Графички приказ на просечната возраст на пациентките од ИГ1 според исходот од третманот

Figure 29. Chart showing average age of EG1 patients according to treatment outcome

Тестираната разлика во дистрибуцијата на пациентки со позитивен и негативен исход во зависност од припадноста на возрастната група беше статистички несигнификантна ($p=0.57$). Исходот од третманот со ТСА не се разликуваше значајно меѓу петте анализирани возрастни групи (табела 16).

Исходот од третманот беше негативен кај 6(23.08%) пациентки помлади од 25 год., 5(19.23%) пациентки на возраст од 26-30 год., 1(5.26%) пациентки на возраст од 31-35 год., 3(23.08%) пациентки на возраст од 36-40 год., 4(22.22%) пациентки на возраст постари од 40 години. Стапката на ефикасност од ТСА третманот изнесуваше 76.92%, 80.77%, 94.74%, 76.92% и 77.78%, во возрастните групи, соодветно од најмладата до најстарата возрастна група (табела 16).

Табела 16. Возрастни групи на пациентките од ИГ1 според исходот од третманот
Table 16. Age groups of EG1 patients according to treatment outcome

ИГ 1							
Исход	Возрасни групи						p-value
	N	<25 n(%)	26 – 30 n(%)	31 – 35 n(%)	36 – 40 n(%)	≥41 n(%)	
Негативен	19	6(23.08)	5 (19.23)	1 (5.26)	3 (23.08)	4 (22.22)	$X^2=2.9$ $p=0.57$
Позитивен	83	20 (76.92)	21 (80.77)	18 (94.74)	10 (76.92)	14 (77.78)	

ИГ1 (третирана со ТСА); X^2 (Pearson Chi-square)

Во табела 17 прикажани се резултатите од исходот со ТСА третманот за одделните типови на HPV.

Во групата пациентки инфицирани со високоризични HPV, исходот од третманот беше негативен кај 6(35.29%) пациентки инфицирани со тип 16, кај 3(27.27%) пациентки инфицирани со тип 18, 2(12.5%) пациентки инфицирани со тип 31, по една (25%) пациентка инфицирани со тип 68, тип 39, тип 58, тип 33, тип 35, тип 52, тип 66 и тип 59 (табела 17, слика 30).

Стапката на ефикасност на третманот беше најниска за типот 16 (64.71%), следено од стапките на ефикасност за типот 18 (72.73%), типовите 68 и 33 (75%), типовите 66 и 59 (85.71%), типовите 39, 58, 31 (87.5%), типовите 35, 52 (90%), и типовите 56, 51, 45 и 51, кај кои стапката на успешност на третманот беше 100%. (табела 17, слика 30). Стапката на ефикасност за нискоризичните типови на HPV беше 100% (табела 17). Во групата пациентки инфицирани со веројатно високоризични HPV, исходот од третманот беше негативен кај една пациентка

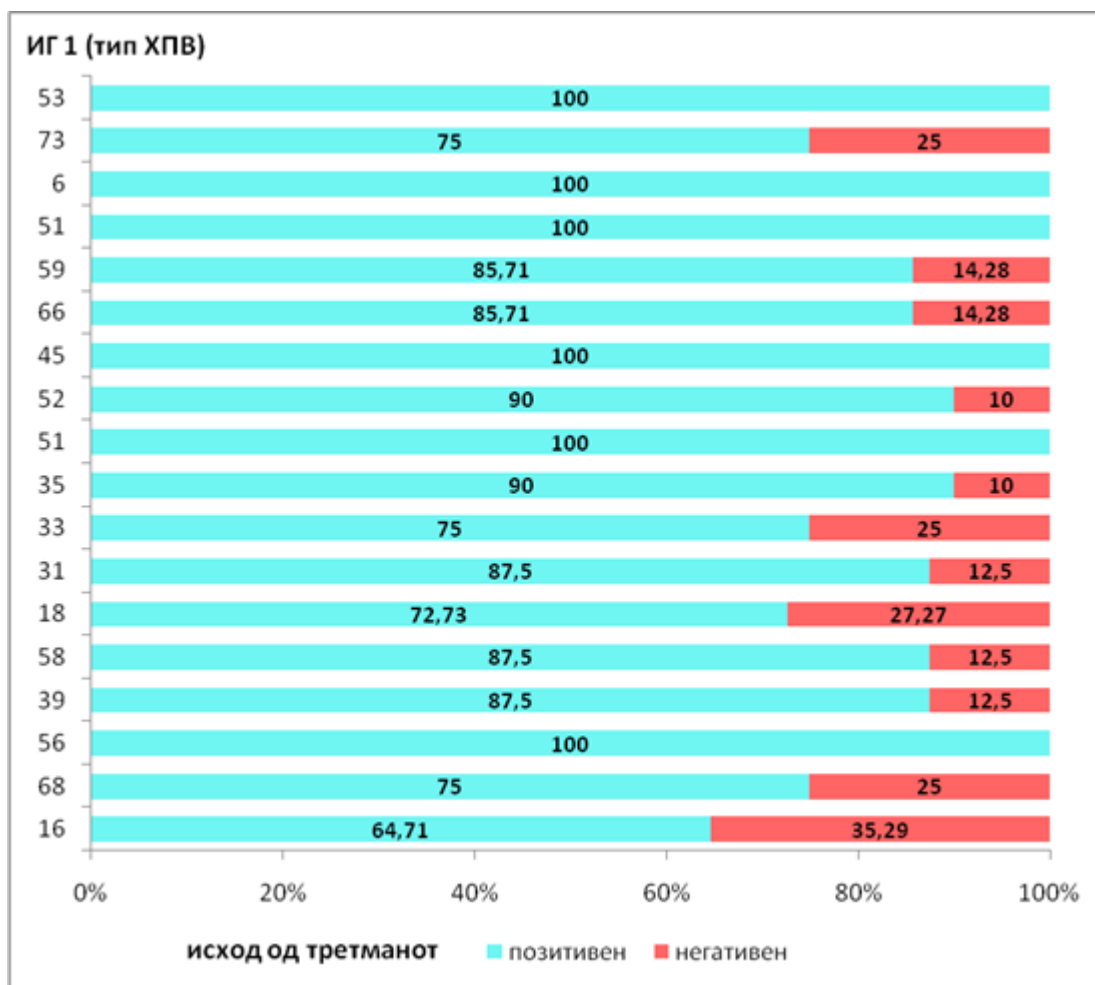
инфицирана со HPV тип 73. Стапката на ефикасност за веројатно високоризичните типови на HPV беше 75% за типот 73 и 100% за типот 53 (табела 17). Резултатите од статистичката анализа покажаа дека исходот од третманот не беше сигнификантно асоциран со ниту еден тип на HPV ($p > 0.05$), со исклучок на тип 16 за кој беше потврдена гранична сигнификантност за $p = 0.05$ (табела 17).

Табела 17. Исход кај пациентките од ИГ1 во однос на типот на HPV

Table 17. Outcome in EG1 patients in relation to HPV type

ИГ 1 (високоризични HPV)						
Тип HPV	Почеток	контролен PCR			нема контрола	p-value
		контрола	излекувани	неизлекувани		
високоризични HPV						
16	27	17	11(64.71)	6(35.29)	10	$p=0.053$
68	6	4	3(75)	1(25)	2	$p=0.74$
56	13	7	7(100)		6	
39	10	8	7(87.5)	1(12.5)	2	$p=0.64$
58	11	8	7(87.5)	1(12.5)	3	$p=0.64$
18	19	11	8(72.73)	3(27.27)	8	$p=0.435$
31	31	16	14(87.5)	2(12.5)	15	$p=0.49$
33	7	4	3(75)	1(25)	3	$p=0.74$
35	16	10	9(90)	1(10)	6	$p=0.46$
51	9	7	7(100)		2	
52	18	10	9(90)	1(10)	8	$p=0.46$
45	10	8	8(100)		2	
66	11	7	6(85.71)	1(14.28)	4	$p=0.76$
59	13	7	6(85.71)	1(14.28)	6	$p=0.76$
51	9	7	7(100)		2	
нискоризични HPV						
6	4	3	3(100)		1	
веројатно високоризични HPV						
73	6	4	3(75)	1(25)	2	$p=0.74$
53	7	4	4(100)		3	

ИГ1 (третирана со TCA); p (difference test)



Слика 30. Графички приказ на исходот кај пациентките од ИГ1 во однос на типот на HPV

Figure 30. Chart showing the outcome in EG1 patients in relation to HPV type

Исходот од третманот со ТСА не се разликуваше сигнификантно меѓу пациентките инфицирани со еден тип или повеќе типови на HPV ($p=0.22$). (табела18). Негативен исход презентираа 11(15.49%) пациентки со моноинфекција и 8(25.81%) пациентки со мешана HPV инфекција (табела 18). Стапката на ефикасност беше несигнификантно повисока кај пациентките инфицирани со еден тип (84.51% наспроти 74.19%) (табела 18).

Табела 18. Исход кај пациентките од ИГ1 во однос на типот на инфекција со HPV

ИГ 1			
Инфекција	Исход		p-value
	n	позитивен	

		n (%)	n (%)	
Моно	71	60 (84.51)	11 (15.49)	X ² =1.51 p=0.22
Мешана	31	23 (74.19)	8 (25.81)	

ИГ1 (третирана со ТСА); X² (Pearson Chi-square)

Исходот од третманот со ТСА не зависеше сигнификантно од бројот на HPV (p=0.11). Истиот беше негативен кај 10(14.49%) пациентки заразени со еден тип на HPV, 3(16.67%) пациентки заразени со два типа на HPV и кај 6(54.55%) пациентки заразени со 3 три типа на HPV (табела 19).

Табела 19. Исход кај пациентките од ИГ1 во однос на бројот на HPV

Table 19. Outcome in EG1 patients in relation to the number of HPV

ИГ 1				
Број на HPV	Исход			p-value
	n	позитивен n (%)	негативен n (%)	
0	1	1 (100)	0	Z=1.6 p=0.115
1	69	59 (85.51)	10 (14.49)	
2	18	15 (83.33)	3 (16.67)	
3	11	5 (45.45)	6 (54.55)	
4	2	2 (100)	0	
5	1	1 (100)	0	

ИГ1 (третирана со ТСА); Z(Mann-Whitney U Test)

Најголем дел од пациентките или 35(42.17%), (со позитивен исход од третманот) го направиле контролниот PCR по 2 месеци од третманот со ТСА –следени со 21(25.3%) пациентка со контролен PCR по 4 месеци од третманот – (табела 20, слика 31).

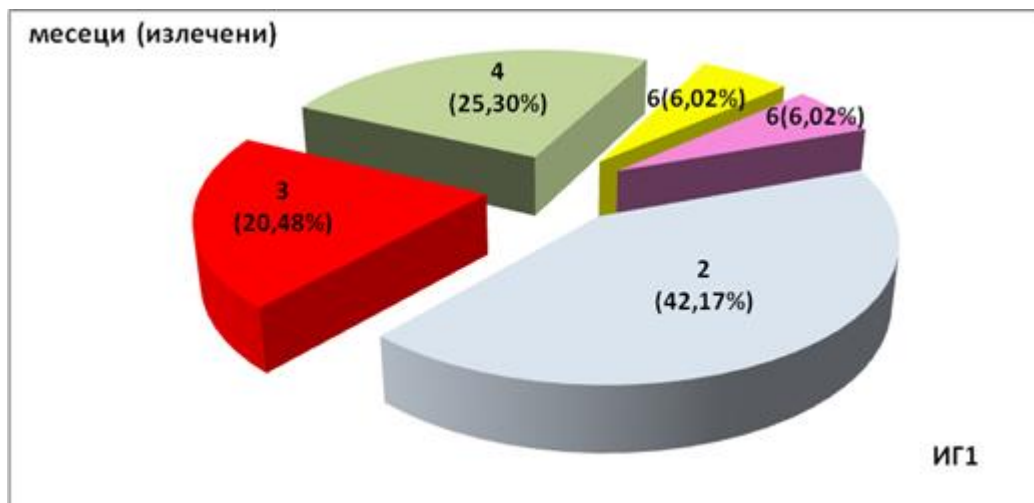
За p<0.0001 се потврди статистички сигнификантна разлика во дистрибуцијата на пациентките во однос на времето за кое дошло до нивно негативизирање со HPV. Значајно највисока стапка на ефикасност од ТСА третманот беше регистрирана кај пациентките кај кои контролата беше направена два месеци по третманот (табела 20).

Табела 20. Исход кај пациентките од ИГ1 во однос на времето на контролниот преглед

Table 20. Outcome in EG1 patients in relation to the time of the control examination

ИГ 1		
месеци (излечени)	n (%)	p-value
2	35 (42.17)	X ² =37.78 p=0.00000
3	17 (20.48)	
4	21 (25.3)	
6	5 (6.02)	
12	5 (6.02)	

ИГ1 (третирана со ТСА); X² (Pearson Chi-square)



Слика 31. Графички приказ на исходот кај пациентките од ИГ1 во однос на времето на контролниот преглед

Figure 31. Chart showing outcome in EG1 patients in relation to the time of the control examination

5.2. ИГ 2-група третирана со инозин

Во втората испитувана група партиципираа 46 испитанички, пациентки третирани со имуностимулатор поради субклиничка инфекција на грлото на матката со HPV. Пациентките беа на возраст од 21-51 години, со просечна возраст од 31.4 ± 7.4 години.

Во оваа група, возрасната група на пациентки од 26 до 30 год. беше најчесто застапена (со 13 или 28.26% пациентки), споредена со пациентките на

возраст помала од 25 год. вкупно 12 или 26.09% (табела 21). Пациентките најчесто (34 или 73.91%) беа инфицирани со еден тип на HPV (табела 21).

Табела 21. Карактеристики на ИГ2

Table 21. Characteristics of EG2

ИГ2	
Варијабла	
возраст (mean \pm SD) (min- max)	(31.4 \pm 7.4) (21 – 51)
возрасни групи n(%)	
<25	12 (26.09)
26 – 30	13 (28.26)
31 – 35	7 (15.22)
36 – 40	7 (15.22)
\geq 41	7 (15.22)
број на HPV n(%)	
1	34 (73.91)
2	11 (23.91)
3	1 (2.17)

ИГ2 (третирана со имуностимулатори)

Во табела 22 прикажана е дистрибуцијата на пациентките од ИГ2, третирани со инозин, во однос на детектираниот/те типови на HPV. Пациентките најчесто беа инфицирани со HPV тип 16, 7(15.22%) пациентки и тип 31, детектиран кај 6(13.04%) пациентки.

Табела 22. Застапеност на типовите HPV во ИГ2

Table 22. Representation of HPV types in EG2

ИГ2					
Тип HPV	n(%)	Тип HPV	n(%)	Тип HPV	n(%)
6	1 (2.17)	31,33	1 (2.17)	56,67	1 (2.17)
6,8	1 (2.17)	33	1 (2.17)	58	2 (4.35)
11	1 (2.17)	35	4 (8.69)	59,44	1 (2.17)
16	7 (15.22)	39	1 (2.17)	66	1 (2.17)
16,59	1 (2.17)	51	1 (2.17)	68	1 (2.17)
16,68	1 (2.17)	51,82	1 (2.17)	71	1 (2.17)
16,82	1 (2.17)	52,58	1 (2.17)	82	1 (2.17)
18	3 (6.52)	54	1 (2.17)	82,18	1 (2.17)
26	1 (2.17)	56	1 (2.17)	18,52,56	1 (2.17)
31	6 (13.04)	56,58	1 (2.17)		

ИГ2 (третирана со имуностимулатори)

Во табела 23 прикажана е дистрибуцијата на пациентките од ИГ2 во однос на застапеноста на високоризични, нискоризични и веројатно високоризични типови на HPV, како и нивни комбинации.

Согласно прикажаната дистрибуција, пациентките најчесто беа инфицирани со:

- еден тип на високоризичен HPV – 28(60.87%) пациентки;
- еден тип нискоризичен тип HPV - 4(8.69%) пациентки;
- еден тип веројатно високоризичен HPV - 2(4.35%) пациентки;

По зачестеност на HPV, 5(10.87%) пациентки се инфицирани со два типа високоризични HPV.

Табела 23. Дистрибуција во однос на канцерогеноста на HPV во ИГ2

Table 23. Distribution in relation of carcinogenicity of HPV in EG2

ИГ2	n(%)
Високоризичен	28 (60.87)
високоризичен, високоризичен	5 (10.87)
високоризичен , нискоризичен	1 (2.17)
високоризичен , веројатно високоризичен	3 (6.52)
нискоризичен	4 (8.69)
нискоризичен , нискоризичен	1 (2.17)
веројатно високоризичен	2 (4.35)
веројатно високоризичен , високоризичен	1 (2.17)
високоризичен, високоризичен, високоризичен	1 (2.17)
Вкупно	46

ИГ2 (третирана со имуностимулатори)

Во оваа група од 46 пациентки третирани со имуностимулатори беа детектирани вкупно 22 типови на HPV, од кои 13 високоризични, 7 нискоризични и 6 веројатно високоризични. Вкупно беа изолирани, односно детектирани 59 хуман папилома вируси, од кои 45 (77.97%) високоризични, 7(11.86%) нискоризични и 6(10.17%) веројатно високоризични (табела 24). Во групата високоризични типови на HPV најголема фреквенција на јавување имаа HPV тип 16 и тип 31 и истите беа детектирани кај 10(21.74%) и 7(15.22%) пациентки,

соодветно; повисока фреквенција на јавување беше регистрирана и за високоризичниот HPV тип 18, детектиран кај 5(10.87%) пациентки (табела 24).

Нискоризичните и високоризичните типови на HPV имаа помала фреквенција на јавување, почесто беше детектиран HPV тип 82 од групата веројатно високоризични, потврден кај 4(8.69%) пациентки (табела 24).

Табела 24. Дистрибуција на високоризични, нискоризични и веројатно високоризични HPV во ИГ2

Table 24. Distribution of high-risk, low-risk and assumed high-risk HPV in IG2

ИГ2					
Високоризични		Нискоризични		веројатно високоризични	
Тип HPV	n(%)	Тип HPV	n(%)	Тип HPV	n(%)
68	2 (4.35)	71	1 (2.17)	67	1 (2.17)
66	1 (2.17)	54	1 (2.17)	26	1 (2.17)
33	2 (4.35)	44	1 (2.17)	82	4 (8.69)
35	4 (8.69)	6	2 (4.35)		
39	1 (2.17)	8	1 (2.17)		
51	2 (4.35)	11	1 (2.17)		
52	2 (4.35)				
56	4 (8.69)				
58	4 (8.69)				
59	2 (4.35)				
16	10 (21.74)				
18	5 (10.87)				
31	7 (15.22)				
Вкупно 13 типа	46 /59	Вкупно 6 типа	7/59	Вкупно 3 типа	6/59

ИГ2 (третирана со имуностимулатори)

Возраста на пациентките од ИГ2 не беше сигнификантно асоцирана со фреквенцијата на инфицираност со високоризичните, нискоризичните и веројатно високоризичните типови на хуман папилома вирус.

Во табела 25 прикажана е дистрибуцијата на високоризичните типови на HPV меѓу 5-те анализирани возрасни групи. Најфреквентниот HPV тип 16 беше најчесто застапен во возрасната група помлади од 25 год. кај 5(41.67%) пациентки, вториот по зачестеност тип 31 беше најчесто потврден во возрасната група од 31-35 год., кај 3(42.86%) пациентки (табела 25).

Пациентките на возраст под 25 години, 26-30, 31-35, 36-40 и постари од 41 година не се разликуваа сигнификантно во однос на зачестеноста сите високоризични типови HPV ($p>0.05$) (табела 25).

Од вкупно 46 високоризични HPV,

- најголем дел (13 или 28.26%), беа детектирани кај жени на возраст од 26 до 30 години;
- во возрастната група помлади од 25 години, кај 10(21.74%) пациентки;
- возрастната група од 31 до 35 години и возрастните групи од 36 до 40 години 9(19.56%) пациентки;
- постари од 40 години кај 7(15.22%) пациентки.

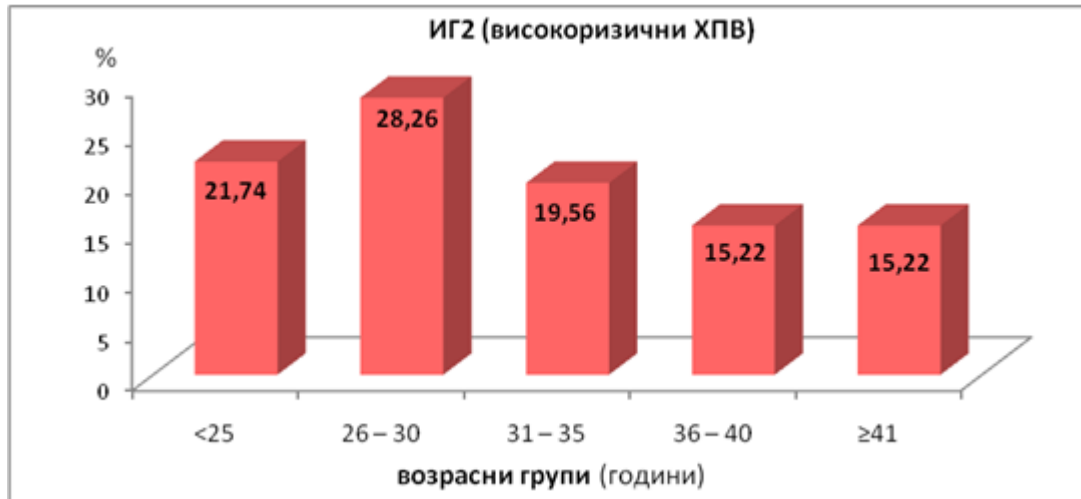
Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика во зачестеноста на високоризичните HPV меѓу петте возрастни групи ($p=0.61$) (табела 25, слика 32).

Табела 25. Возрастни групи на пациентките од ИГ2 со високоризични типови HPV
Table 25. Age groups of EG2 patients with high-risk HPV types

ИГ2 (високоризични HPV)								
Тип HPV	возрасни групи(години)							p-value
	N	<25 n(%)	26 – 30 n(%)	31 – 35 n(%)	36 – 40 n(%)	≥41 n(%)		
68	да	2	0	1 (7.69)	0	0	1 (14.29)	¹ p=0.85
	не	44	12 (100)	12 (92.31)	7 (100)	7 (100)	6 (85.71)	
66	да	1	0	1 (7.69)	0	0	0	¹ p=1.0
	не	45	12 (100)	12 (92.31)	7 (100)	7 (100)	7 (100)	
33	да	2	1 (8.33)	1 (7.69)	0	0	0	¹ p=1.0
	не	44	11 (91.67)	12 (92.31)	7 (100)	7 (100)	7 (100)	
35	да	4	1 (8.33)	0	1 (14.29)	1 (14.29)	1 (14.29)	¹ p=0.57
	не	42	11 (91.67)	13 (100)	6 (85.71)	6 (85.71)	6 (85.71)	
39	да	1	1 (8.33)	0	0	0	0	¹ p=0.72
	не	45	11 (91.67)	13 (100)	7 (100)	7 (100)	7 (100)	
51	да	2	0	1 (7.69)	0	1 (14.29)	0	¹ p=0.85
	не	44	12 (100)	12 (92.31)	7 (100)	6 (85.71)	7 (100)	
52	да	2	0	1 (7.69)	1 (14.29)	0	0	¹ p=0.85
	не	44	12 (100)	12 (92.31)	6 (85.71)	7 (100)	7 (100)	
56	да	4	0	1 (7.69)	2 (28.57)	0	1 (14.29)	¹ p=0.28
	не	42	12 (100)	12 (92.31)	5 (71.43)	7 (100)	6 (85.71)	
58	да	4	1 (8.33)	2 (15.38)	0	0	1 (14.29)	¹ p=0.86
	не	42	11 (91.67)	11 (84.62)	7 (100)	7 (100)	6 (85.71)	
59	да	2	0	1 (7.69)	0	1 (14.29)	0	¹ p=0.85
	не	44	12 (100)	12 (92.31)	7 (100)	6 (85.71)	7 (100)	
16	да	10	5 (41.67)	3 (23.08)	0	1 (14.29)	1 (14.29)	¹ p=0.3

	не	36	7 (58.33)	10 (76.92)	7 (100)	6 (85.71)	6 (85.71)	
18	да	5	1 (8.33)	0	2 (28.57)	1 (14.29)	1 (14.29)	¹ p=0.29
	не	41	11 (91.67)	13 (100)	5 (71.43)	6 (85.71)	6 (85.71)	
31	да	7	0	1 (7.69)	3 (42.86)	2 (28.57)	1 (14.29)	¹ p=0.068
	не	39	12 (100)	12 (92.31)	4 (57.14)	5 (71.43)	6 (85.7)	
вк	да	46	10(21.74)	13(28.26%)	9(19.56)	7(15.22)	7(15.22)	X ² =2.7 p=0.61

ИГ2 (третирана со имуностимулатори);X²(Chi-square test);¹p(Fisher's exact test)



Слика 32. Графички приказ на возрастни групи на пациентките од ИГ2 со високоризични типови HPV

Figure 32. Chart showing age groups of EG2 patients with high- risk HPV types

Во табела 26 прикажана е дистрибуцијата на нискоризичните типови HPV меѓу 5-те анализирани возрастни групи .

Пациентките на возраст под 25 год., 26-30, 31-35, 36-40 и постари од 41 година не се разликуваа сигнификантно во однос на зачестеноста на сите нискоризичните типови HPV ($p > 0.05$) (табела 26). Од вкупно 7 нискоризични HPV, 2(28.57%) беа детектирани кај жени помлади од 25 год., 4(57.14%) кај жени на возраст од 26 до 30 години, и еден во возрастната од 36-40 год. Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика во зачестеноста на нискоризичните HPV меѓу 5-те возрастни групи ($p = 0.09$) (табела 26, слика 33).

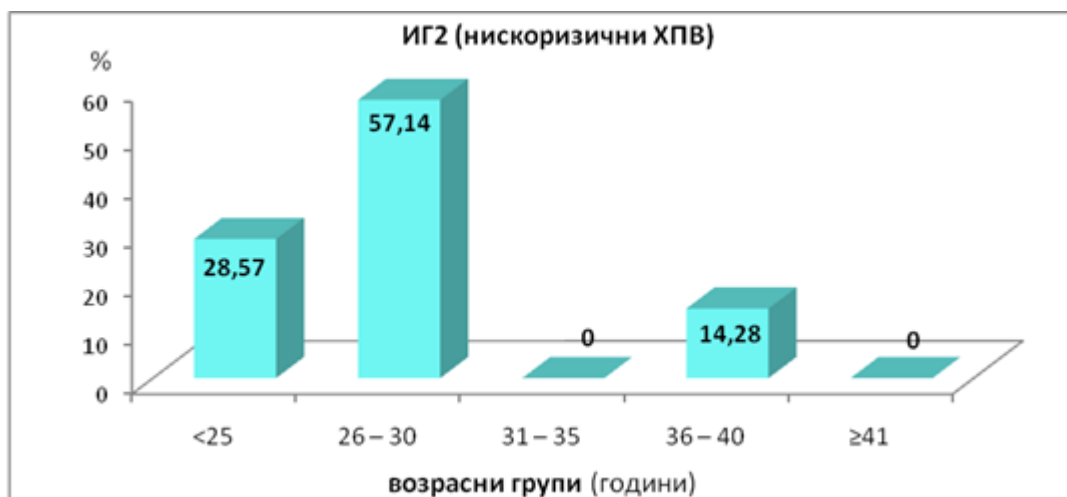
Табела 26. Возрастни групи на пациентките од ИГ2 со нискоризични типови HPV

Table.26 Age groups of EG2 patients with low-risk HPV types

ИГ2 (нискоризични HPV)		
	возрасни групи(години)	p-value

Тип HPV	N	<25 n(%)	26 – 30 n(%)	31 – 35 n(%)	36 – 40 n(%)	≥41 n(%)	
71	да	1	0	1 (7.69)	0	0	¹ p=1.0
	не	45	12 (100)	12 (92.31)	7 (100)	7 (100)	
54	да	1	1 (8.33)	0	0	0	¹ p=0.72
	не	45	11 (91.67)	13 (100)	7 (100)	7 (100)	
44	да	1	0	0	0	1 (14.29)	¹ p=0.46
	не	45	12 (100)	13 (100)	7 (100)	6 (85.71)	
6	да	2	1 (8.33)	1 (7.69)	0	0	¹ p=1.0
	не	44	11 (91.67)	12 (92.31)	7 (100)	7 (100)	
8	да	1	0	1 (7.69)	0	0	¹ p=1.0
	не	45	12 (100)	12 (92.31)	7 (100)	7 (100)	
11	да	1	0	1 (7.69)	0	0	¹ p=1.0
	не	45	12 (100)	12 (92.31)	7 (100)	7 (100)	
вк	да	7	2(28.57)	4(57.14)	0	1(14.28)	X ² =8.0 p=0.09

ИГ2 (третирана со имуностимулатори); X²(Chi-square test); ¹p(Fisher's exact test)



Слика 33. Графички приказ на возрастни групи на пациентките од ИГ2 со нискоризични типови

Figure 33. Chart showing age groups of EG1 patients with low-risk HPV types

Во табела 27 прикажана е дистрибуцијата на веројатно високоризичните типови HPV меѓу петте анализирани возрастни групи .

Најфреквентниот тип на HPV, тип 82 беше застапен во двете најмлади возрастни групи кај 2(16.67%) и 2(15.385) соодветно пациентки (табела 27).

Пациентките на возраст под 25 години, 26-30, 31-35, 36-40 и постари од 41 година не се разликуваа сигнификантно во однос на дистрибуцијата на сите веројатно

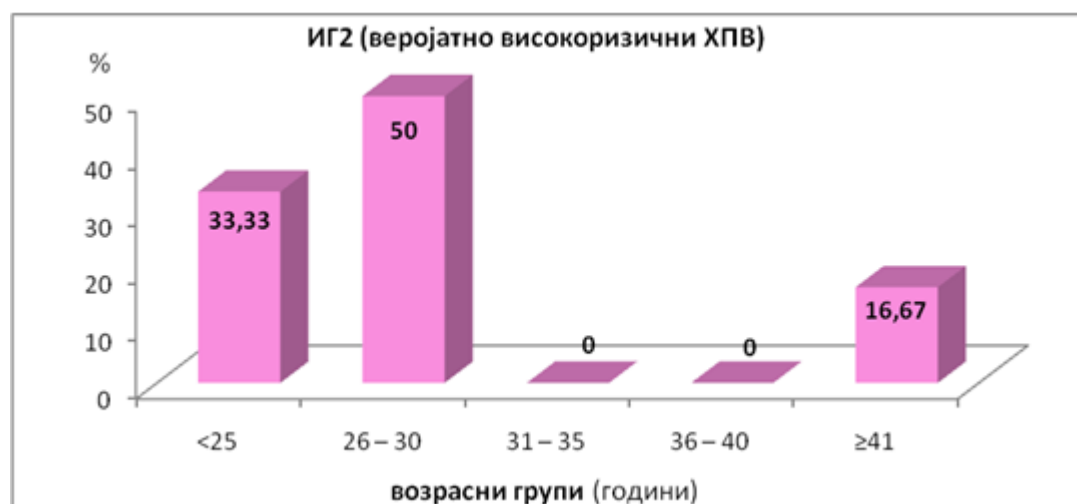
високоризични типови на HPV ($p>0.05$) (табела 27). Од вкупно 6 веројатно високоризични хуман папилома вируси, 2(33.33%) беа детектирани кај жени помлади од 25 години, 3(50%) од 31 до 35 години, и една на возраст од 40 години и постари. Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика во зачестеноста на веројатно високоризичните HPV меѓу петте возрасни групи ($p=0.22$) (табела 27, слика 34).

Табела 27. Возрасни групи на пациентките од ИГ2 со веројатно високоризични типови HPV

Table 27. Age groups of EG2 atients with assumed high-risk HPV types

ИГ2 (веројатно високоризични HPV)								
Тип HPV	возрасни групи(години)						p-value	
	N	<25 n(%)	26 – 30 n(%)	31 – 35 n(%)	36 – 40 n(%)	≥41 n(%)		
67	да	1	0	1 (7.69)	0	0	0	¹ p=1.0
	не	45	12 (100)	12 (92.31)	7 (100)	7 (100)	7 (100)	
26	да	1	0	0	0	0	1 (14.29)	¹ p=0.46
	не	45	12 (100)	13 (100)	7 (100)	7 (100)	6 (85.71)	
82	да	4	2 (16.67)	2 (15.38)	0	0	0	¹ p=0.63
	не	42	10 (83.33)	11 (84.62)	7 (100)	7 (100)	7 (100)	
вк	да	6	2(33.33)	3(50)	0	0	1(16.67)	$X^2=5.7$ $p=0.22$

ИГ2 (третирана со имуностимулатори); X^2 (Chi-square test);¹p(Fisher's exact test)



Слика 34. Графички приказ на возрасни групи на пациентките од ИГ1 со веројатно високоризични типови HPV

Figure 34. Chart showing age groups of EG2 atients with assumed high-risk HPV types

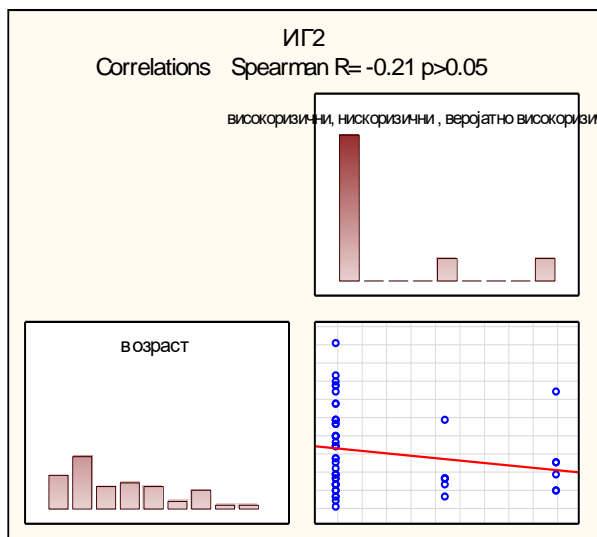
Испитуваната поврзаност помеѓу возраста на пациентките третирани со инозин и степенот на канцерогеност на детектираните вируси беше негативна, односно индиректна, што покажува дека кај постарите пациентки беа детектирани вируси со пониска канцерогеност и обратното ($R=-0.21$). Но, статистичка сигнификантност за оваа корелација не беше потврдена ($p=0.14$) (табела 28, слика 35).

Табела 28. Корелација меѓу возраст и степен на канцерогеност во ИГ2

Табле 28. Correlation between age and the degree of carcinogenicity in EG2

ИГ2	Spearman R	t(N-2)	p-value
возраст & степен на карциногеност	-0,2101	-1,5	0.14

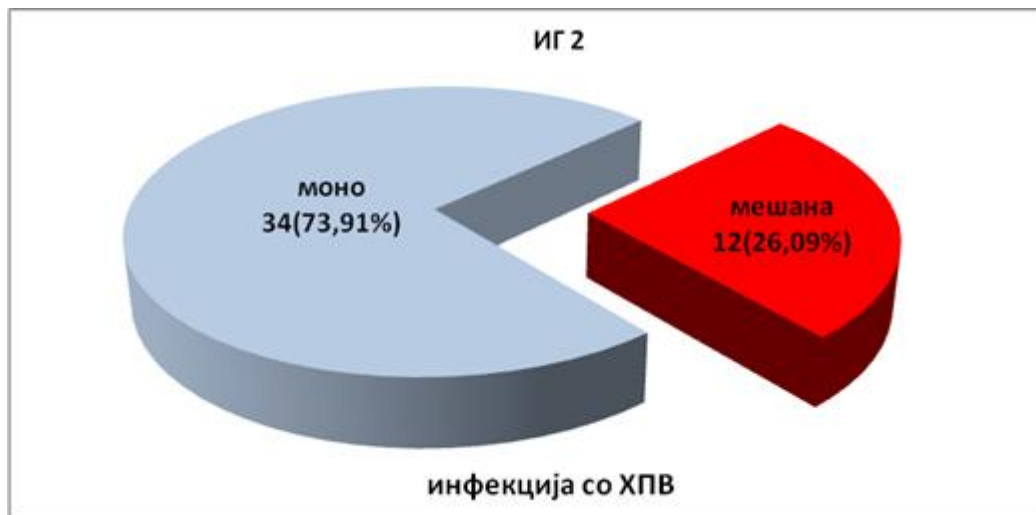
ИГ2 (третирана со имуностимулатори); R(Spearman correlations)



Слика 35. Графички приказ на корелацијата меѓу возраста и степенот на канцерогеност во ИГ2

Figure 35. Chart showing correlation between age and the degree of carcinogenicity in EG2

34 (73.91%) пациентки од ИГ2 најчесто беа инфицирани со еден тип HPV , кај останатите 12 (26.09%) пациентки инфекцијата беше мешана, односно предизвикана од повеќе типови на HPV (слика 36).



Слика 36. Графички приказ на пациентките од ИГ2 според тип на инфекција со HPV

Figure 36. Chart showing EG2 patients according to type of HPV infection

Пациентките од сите возрасни групи третирани со имуностимулатор најчесто беа инфицирани со еден тип HPV –10(83.33%), 6(46.15%), 6(85.71%), 6(85.71%) и 6(85.71%) пациентки во петте возрасни групи, соодветно (табела 29). Дистрибуцијата на пациентки со моно или мешана HPV инфекција меѓу петте возрасни групи беше статистички несигнификантна ($p=0.12$) (табела 29).

Табела 29. Возрасни групи кај пациентките од ИГ2 во однос на типот на инфекција со HPV

Table 29. Age groups of EG2 patients according to type of HPV infection

ИГ2							
Инфекција	возрасни групи						p-value
	n	<25 n(%)	26 – 30 n(%)	31 – 35 n(%)	36 – 40 n(%)	≥41 n(%)	
Моно	3 4	10 (83.33)	6 (46.15)	6 (85.71)	6 (85.71)	6 (85.71)	$X^2=7.3$ $p=0.12$
Мешана	1 2	2 (16.67)	7 (53.85)	1 (14.29)	1 (14.29)	1 (14.29)	

ИГ2 (третирана со имуностимулатори); X^2 (Chi-square test)

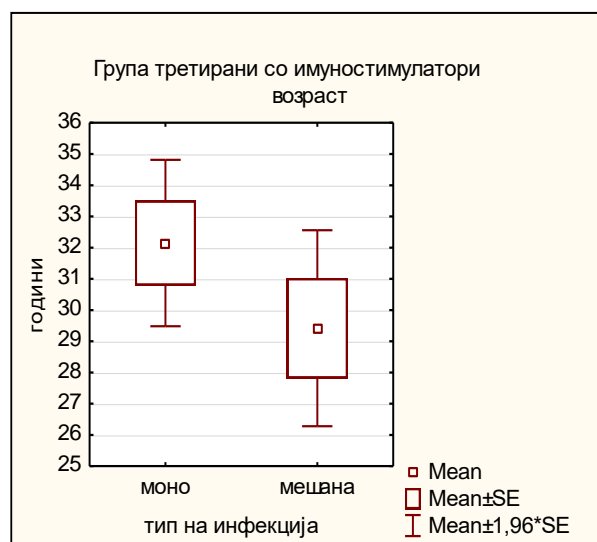
Просечната возраст на пациентките од ИГ2 инфицирани со еден тип HPV беше 32.1 ± 7.9 години, 29.4 ± 5.5 години беше просечната возраст на пациентките инфицирани со повеќе типови, без статистичка сигнификантна разлика ($p=0.28$) (табела 30, слика 37).

Табела 30. Просечна возраст на пациентките од ИГ2 во однос на типот на инфекција со HPV

Table 30. Average age of EG2 patients in relation of HPV type infection

ИГ2				
Инфекција	статистички параметри (возраст)			p-value
	n	mean \pm SD	min- max	
Моно	34	32.15 ± 7.9	21 – 51	t=1.1 p=0.28
Мешана	12	29.42 ± 5.6	24 – 42	

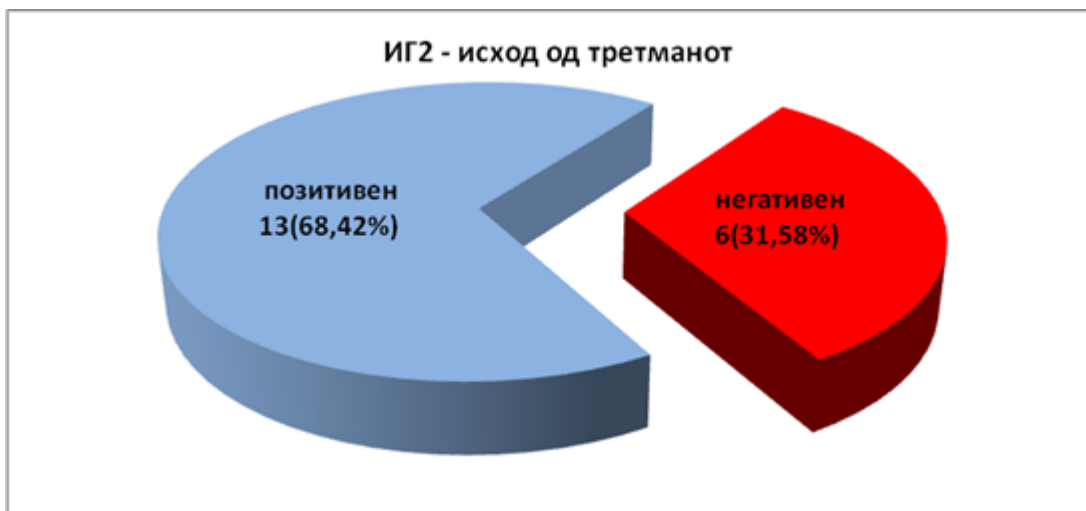
ИГ2 (третирана со имуностимулатори): t(Student t-test)



Слика 37. Графички приказ на просечната возраст на пациентките од ИГ2 во однос на типот на инфекција со HPV

Figure 37. Chart showing average age of EG2 patients in relation of HPV type infection

Во групата од 19 пациентки кај кои беше направен контролен PCR , позитивен исход од третманот со инозин имаа 13(68.42%) пациентки, негативен исход имаа 6(31.58%), односно стапката на ефикасност на третманот беше 68.42% (слика 38).



Слика 38. Графички приказ на дистрибуција на пациентките од ИГ2

Figure 38. Chart showing distribution of EG2 patients according to the treatment outcome

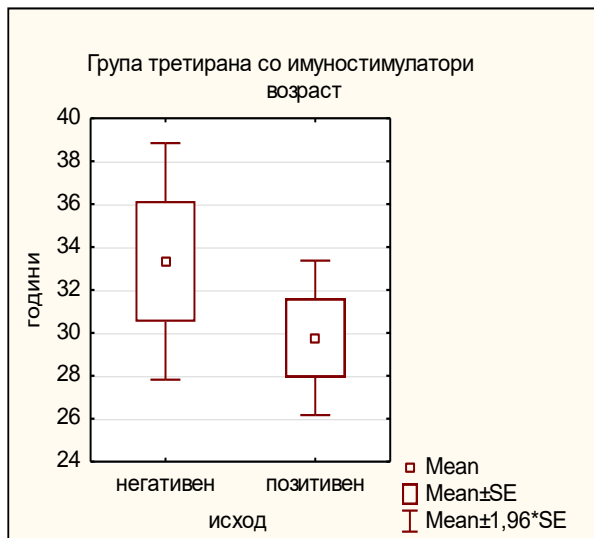
Во групата пациентки третирани со инозин, просечната возраст на пациентките со негативен исход беше несигнификантно поголема од пациентките со позитивен исход (33.3 ± 6.9 години наспроти 29.8 ± 6.6 години), $p=0.3$ (табела 31, слика 39).

Табела 31. Просечна возраст на пациентките од ИГ2 според исходот од третманот

Table 31. Average age of EG2 patients according to treatment outcome

ИГ2				
Исход	статистички параметри (возраст)			p-value
	N	mean \pm SD	min- max	
Негативен	6	33.33 ± 6.9	25 – 44	t=1,08 p=0.296
Позитивен	13	29.77 ± 6.6	21 – 42	

ИГ2 (третирана со инозин); t(Student t-test)



Слика 39. Графички приказ на просечната возраст на пациентките од ИГ2 според исходот од третманот

Figure 39. Chart showing average age of EG2 patients according to treatment outcome

Тестираната разлика во дистрибуцијата на пациентки со позитивен и негативен исход во зависност од припадноста на возрастната група беше статистички несигнификантна ($p=0.6$). Исходот од третманот со имуностимулатори не се разликуваше значајно меѓу петте анализирани возрастни групи (табела 32). Исходот од третманот беше негативен кај една (16.67%) пациентка помлада од 25 години, една (20%) пациентка на возраст од 26 до 30 години, две (66.67%) пациентки на возраст од 31 до 35 години, една (33.33%) пациентка на возраст од 36 до 40 години, една (50%) пациентка на возраст од 40 години и постари (табела 32). Стапката на ефикасност од третманот со инозин изнесуваше 83.33%, 80%, 33.33%, 66.67% и 50%, во возрастните групи, соодветно од најмладата до најстарата возрастна група (табела 32).

Табела 32. Возрасни групи на пациентките од ИГ2 според исходот од третманот
Table 32. Age groups of EG2 patients according to the treatment outcome

ИГ2							p-value
Исход	возрасни групи						
	n	<25 n(%)	26 – 30 n(%)	31 – 35 n(%)	36 – 40 n(%)	≥41 n(%)	
негативен	1	1 (16.67%)	1 (20%)	2 (66.67%)	1 (33.33%)	1 (50%)	
позитивен	3	0	2 (66.67%)	1 (33.33%)	0	0	

Негативен	6	1 (16.67)	1 (20)	2 (66.67)	1 (33.33)	1 (50)	p=0.6
Позитивен	13	5 (83.33)	4 (80)	1 (33.33)	2 (66.67)	1 (50)	

ИГ2 (третирана со имуностимулатори); p(Fisher's exact test)

Во табела 33 прикажани се резултатите од исходот со третманот со инозин за одделните типови на HPV.

Во групата пациентки инфицирани со високоризични типови на HPV, исходот од третманот беше негативен кај една од една пациентки инфицирани со тип 68, една од две пациентки инфицирани со тип 58, една од три пациентки инфицирани со тип 31, една од една пациентки инфицирани со тип 35, и една од две пациентки инфицирани со тип 51 (табела 33, слика 40).

Третманот беше ефикасен кај сите 3 пациентки инфицирани со типот 16, пациентката инфицирана со тип 56, една од две пациентки инфицирани со тип 58, пациентката инфицирана со тип 18, две од три пациентки инфицирани со тип 31, пациентката инфицирана со тип 33, една од две пациентки инфицирани со тип 35, една од две пациентки инфицирани со тип 51, и пациентката инфицирана со тип 52 (табела 33, слика 40). Третманот беше ефикасен кај сите пациентки инфицирани со нискоризични и веројатно високоризични типови на HPV (табела 33, слика 40). Резултатите од статистичката анализа покажаа дека исходот од третманот не беше сигнификантно асоциран со ниту еден тип на HPV ($p > 0.05$), со исклучок на тип 16 за кој беше потврдена гранична сигнификантност за $p = 0.05$ (табела 33).

Табела 33. Исход кај пациентките од ИГ1 во однос на типот на HPV

Table 33. Outcome of EG2 patients in relation of HPV type

ИГ2					
контролен PCR					
Тип HPV	почеток	контрола	излекувани	неизлекувани	нема контрола
високоризични HPV					
16	10	3	3 (100)		7
68	2	1		1 (100)	1
56	4	1	1 (100)		3
66	1	0			1
59	2	0			2

58	4	2	1 (50)	1 (50)	2
18	5	1	1 (100)		4
31	7	3	2 (66.67)	1 (33.33)	4
33	2	1	1 (100)		1
35	4	2	1 (50)	1 (50)	2
39	1	1		1 (100)	
51	2	2	1 (50)	1 (50)	
52	2	1	1 (100)		1
нискоризични HPV					
6	2	1	1 (100)		1
8	1	0			1
11	1	0			1
44	1	0			1
54	1	0			1
71	1	0			1
веројатно вискоризични HPV					
26	1	1	1 (100)		
67	1	0			1
82	4	2	2 (100)		2

ИГ2 (третирана со инозин)



Слика 40. Графички приказ на исходот кај пациентките од ИГ2 во однос на типот на HPV

Figure 40. Chart showing treatment outcome of EG2 patients in relation to HPV type

Исходот од третманот со инозин не се разликуваше сигнификантно меѓу пациентките инфицирани со еден или повеќе типови на HPV ($p=0.52$) (табела 34).

Негативен исход од третманот имаа 6 (37.5%) пациентки заразени со еден тип на HPV (табела 34).

Табела 34. Исход кај пациентките од ИГ2 во однос на типот на инфекција со HPV

Table 34. Outcome in EG2 patients in relation to type of HPV infection

ИГ2				
Инфекција	Исход			p-value
	n	позитивен n (%)	негативен n (%)	
Моно	16	10 (62.05)	6 (37.5)	p=0.52
Мешана	3	3 (100)	0	

ИГ2 (третирана со инозин); p(Fisher's exact test)

Исходот од третманот со инозин не зависеше сигнификантно од бројот на HPV ($p=0.46$). (табела 35). Исходот беше негативен кај 6(37.5%) пациентки заразени со 1 тип HPV. (табела 35)

Табела 35. Исход кај пациентките од ИГ2 во однос на бројот на HPV

Table 35. Outcome in EG2 patients in relation of number of HPV

ИГ 1				
Број на HPV	Исход			p-value
	n	позитивен n (%)	негативен n (%)	
1	16	10(62.5)	6(37.5)	Z=0.7 p=0.46
2	2	2(100)	0	
3	1	1(100)	0	

ИГ2 (третирана со инозин); Z(Mann-Whitney U Test)

5.3. КГ – контролна група

Во контролната група партиципираа 114 испитанички, пациентки со субклиничка инфекција со HPV на грло на матка, кои не беа третирани. Просечната возраст на пациентките беше 31.9 ± 6.6 години, најмладата пациентка беше на возраст од 21 година, најстарата пациентка имаше 53 години. (табела 36). Пациентките (31 или 27.19%) најчесто беа на возраст од 26 до 30 години (табела 36). Во оваа група доминираа пациентки кај кои беше детектирана инфекција со еден тип на HPV – 99(86.84%) (табела 36).

Табела 36. Карактеристики на КГ

Table 36. Characteristics of KG

КГ	
Варијабла	
возраст (mean \pm SD) (min- max)	(31.9 \pm 6.6) (21 – 53)
возрасни групи n (%)	
<25	22 (19.3)
26 – 30	31 (27.19)
31 – 35	25 (21.93)
36 – 40	22 (19.3)
\geq 41	14 (12.28)
број на HPV n (%)	
1	99 (86.84)
2	10 (8.77)
3	5 (4.39)

КГ (контролна група)

Во табела 37 прикажана е дистрибуцијата на пациентките од КГ во однос на детектираниот/те типови на HPV. Се забележува дека вкупно 15 пациентки или 13.66% најчесто беа инфицирани со високоризичниот HPV тип 16, додека со веројатно високоризичниот HPV тип 53 беа инфицирани 10 или 8.72% пациентки.

Табела 37.Застапеност на типовите HPV во КГ

Table 37. Representation of HPV types in KG

КГ					
Тип HPV	n(%)	Тип HPV	n(%)	Тип HPV	n(%)
6	3 (2.63)	45,82	1 (0.88)	67	1 (0.88)
11	5 (4.39)	51	2 (1.75)	68	1 (0.88)
16	15 (13.16)	52	4 (3.51)	71	3 (2.63)
18	5 (4.39)	52,53	1 (0.88)	72	2 (1.75)
31	6 (5.26)	52,73	1 (0.88)	73	1 (0.88)
31,81	1 (0.88)	53	10 (8.77)	81	2 (1.75)
33	6 (5.26)	55	1 (0.88)	82	1 (0.88)
34	1 (0.88)	56	2 (1.75)	84	3 (2.63)
35	7 (6.14)	56,53	1 (0.88)	86	1 (0.88)
39	1 (0.88)	56,68	1 (0.88)	18,51,42	1 (0.88)
40	3 (2.63)	58	3 (2.63)	16,31,56	1 (0.88)
42	1 (0.88)	59	3 (2.63)	52,26,6	1 (0.88)
45	3 (2.63)	61	2 (1.75)	16,70	1 (0.88)
45,56	1 (0.88)	62,72	1 (0.88)	40,11,89	1 (0.88)
45,58	1 (0.88)	66	1 (0.88)	6,24,58	1 (0.88)

КГ (контролна група)

Во табела 38 прикажана е дистрибуцијата на пациентките од КГ во однос на застапеноста на високоризични, нискоризични и веројатно високоризични типови на HPV, како и нивни комбинации.

Согласно прикажаната дистрибуција, кај повеќе од половината пациентки беше детектиран еден тип на високоризичен HPV – 59(51.75%). Потоа по зачестеност следат пациентки инфицирани со еден тип нискоризичен HPV – 27(23.68%) и со еден тип на веројатно високоризичен HPV– 13(11.4%) (табела 38).

Табела 38. Дистрибуција на пациентките во однос на канцерогеноста на HPV во КГ

Table 38. Distribution of KG patients in relation of carcinogenicity of HPV

КГ	n(%)
Високоризичен	59 (51.75)
високоризичен, високоризичен	3 (2.63)
високоризичен, нискоризичен	1 (0.88)
високоризичен, веројатно високоризичен	5 (4.38)
Нискоризичен	27 (23.68)
нискоризичен, нискоризичен	1 (0.88)

веројатно високоризичен	13 (11.40)
високоризичен, високоризичен, нискоризичен	1 (0.88)
високоризичен, високоризичен, високоризичен	1 (0.88)
нискоризичен, нискоризичен, нискоризичен	1 (0.88)
високоризичен, нискоризичен, веројатно високоризичен	1 (0.88)
високоризичен, нискоризичен, нискоризичен	1 (0.88)
Вкупно	114

КГ (контролна група)

Во контролната група од 114 пациентки вкупно беа детектирани 35 типови на HPV, од кои 14 високоризични, 14 нискоризични и 7 веројатно високоризични. Вкупно беа изолирани, односно детектирани 134 хуман папилома вируси, од кои 78 (58.21%) високоризични, 36(26.87%) нискоризични и 20(14.93%) веројатно високоризични (табела 39). Во групата високоризични типови на HPV најголема фреквенција на јавување имаше HPV тип 16, детектиран кај 17(14.91%) пациентки, во групата нискоризични типови најголема фреквенција имаше HPV тип 11, детектиран кај 6 (5.26%) пациентки, во групата веројатно високоризични типови на HPV најголема фреквенција на јавување имаше тип 53, детектиран кај 12(10.53%)пациентки (табела 39).

Табела 39. Дистрибуција на високоризични, нискоризични и веројатно високоризични HPV во КГ

Table 39. Distribution of high-risk, low-risk and assumed high-risk HPV types in KG

Инозин					
Високоризични		Нискоризични		Веројатно високоризични	
Тип HPV	n(%)	Тип HPV	n(%)	Тип HPV	n(%)
66	1 (0.88)	42	2 (1.75)	26	1 (0.88)
68	2 (1.75)	24	1 (0.88)	70	1 (0.88)
51	3 (2.63)	71	3 (2.63)	82	2 (1.75)
52	7 (6.14)	72	3 (2.63)	73	2 (1.75)
56	6 (5.26)	84	3 (2.63)	67	1 (0.88)
58	5 (4.39)	86	1 (0.88)	53	12 (10.53)
59	3 (2.63)	89	1 (0.88)	34	1 (0.88)
33	6 (5.26)	55	1 (0.88)		
31	8 (7.02)	61	2 (1.75)		
16	17 (14.91)	62	1 (0.88)		
18	6 (5.26)	81	3 (2.63)		
35	7 (6.14)	6	5 (4.38)		
39	1 (0.88)	11	6 (5.26)		

45	6 (5.26)	40	4 (3.51)		
вкупно 14 типа	78/134	Вкупно 14 типа	36/134	Вкупно 7 типа	20/134

КГ (контролна група)

Во табела 40 прикажана е дистрибуцијата на високоризичните типови HPV меѓу петте анализирани возрасни групи .

Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика меѓу пациентките од различните возрасни групи (под 25 години, од 26 до 30, од 31 до 35, од 36 до 40 и постари од 41 година), во однос на зачестеноста на детектираните високоризични типови HPV тип 66, 68, 51, 52, 56, 58, 59, 31, 16, 18, 35, 39 и 45 ($p > 0.05$), додека разликата во однос на зачестеноста на високоризичниот HPV тип 33 се потврди како статистички сигнификантна ($p = 0.011$). Овој вирус имаше значајно почеста фреквенција на детектирање во најстарата возрасна група во однос на возрасните групи од 26 до 30 години и од 31 до 35 години ($p = 0.026$, $p = 0.0398$, соодветно) (табела 40).

Од вкупно 78 високоризични хуман папилома вируси детектирани во КГ,

- најголем дел беа кај жени на возраст од 26 до 30 години или вкупно кај 28(35.9%) ;
- во возрасните групи 31-35 и 36-40 години кај 14(17.95%) жени;
- возрасната група помлади од 25 години кај 12(15.38%) жени ;
- постари од 41 година кај 10(10.12.82%) жени.

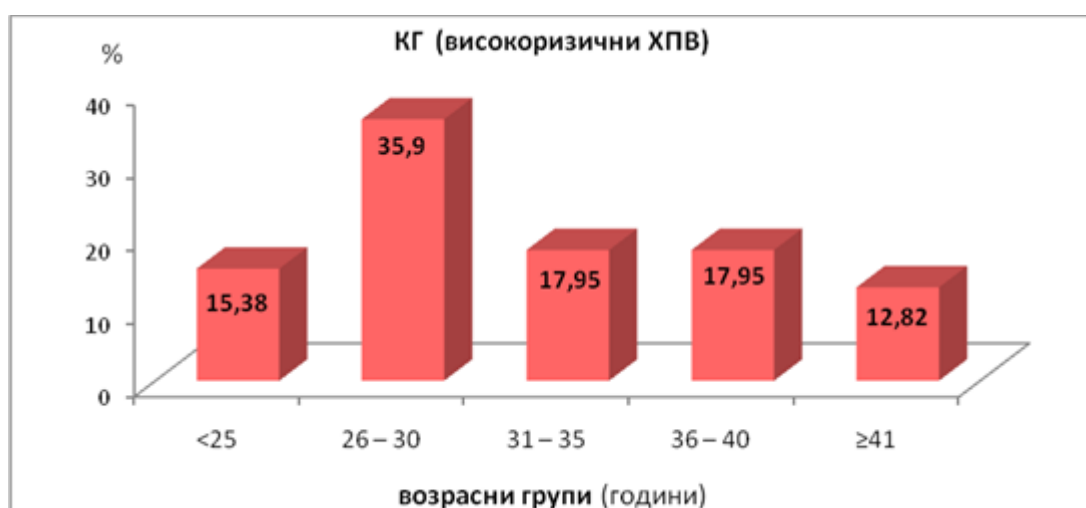
Почестата застапеност на високоризичните HPV кај пациентките од КГ на возраст од 26 до 30 години во однос на останатите возрасни групи и статистички се потврди како сигнификантна($p = 0.011$), (табела 40, слика 41).

Табела 40. Возрасни групи на пациентките од КГ со високоризични типови HPV
Table 40. Age groups of KG patients with high-risk HPV types

КГ (високоризични HPV)								
Тип HPV	возрасни групи(години)							p-value
	N	<25 n(%)	26 – 30 n(%)	31 – 35 n(%)	36 – 40 n(%)	≥41 n(%)		
66 1	да	1	1 (4.55)	0	0	0	0	p=0.51
	не	113	21 (95.45)	31 (100)	25 (100)	22 (100)	14 (100)	
68 1	да	2	0	1 (3.23)	0	1 (4.55)	0	p=0.88
	не	112	22 (100)	30 (96.77)	25 (100)	21 (95.45)	14 (100)	

51	да	3	0	2 (6.45)	1 (4)	0	0	p=0.796
1	не	110	21 (100)	29 (93.55)	24 (96)	22 (100)	14 (100)	
52	да	7	2 (9.09)	3 (9.68)	1 (4)	0	1 (7.14)	p=0.63
1	не	107	20 (90.91)	28 (90.32)	24 (96)	22 (100)	13 (92.86)	
56	да	6	0	2 (6.45)	2 (8)	2 (9.09)	0	p=0.63
1	не	108	22 (100)	29 (93.55)	23 (92)	20 (90.91)	14 (100)	
58	да	5	1 (4.55)	1 (3.23)	0	3 (13.64)	0	p=0.23
1	не	109	21 (95.45)	30 (96.77)	25 (100)	19 (86.36)	14 (100)	
59	да	3	0	0	2 (8)	0	1 (7.14)	p=0.11
1	не	111	22 (100)	31 (100)	23 (92)	22 (100)	13 (92.836)	
33	да	6	2 (9.09)	0	0	1 (4.55)	3 (21.43)	*p=0.011
1	не	108	20 (90.91)	31 (100)	25 (100)	21(95.45)	11(78.57)	
31	да	8	0	4 (12.9)	2 (8)	0	2 (14.29)	p=0.14
1	не	106	22 (100)	27 (87.1)	23 (92)	22 (100)	12 (85.71)	
16	да	17	3 (13.64)	9 (29.03)	3 (12)	1 (4.55)	1 (7.14)	p=0.15
1	не	97	19 (86.36)	22 (70.97)	22 (88)	21 (95.45)	13 (92.86)	
18	да	6	0	4 (12.9)	2 (8)	0	0	p=0.14
1	не	108	22 (100)	27 (87.1)	23 (92)	22 (100)	14 (100)	
35	да	7	2 (9.09)	1 (3.23)	1 (4)	2 (9.09)	1 (7.14)	p=0.82
1	не	107	20 (90.91)	30 (96.77)	24 (963)	20 (90.91)	13 (92.86)	
39	да	1	0	0	0	1 (4.55)	0	p=0.51
1	не	113	22 (100)	31 (100)	25 (100)	21 (95.45)	14 (100)	
45	да	6	1 (4.55)	1 (3.23)	0	3 (13.64)	1 (7.14)	p=0.27
1	не	108	21 (95.45)	30 (96.77)	25 (100)	19 (86.36)	13 (92.86)	
вк	да	78	12(15.38)	28(35.9)	14(17.95)	14(17.95)	10(12.82)	X ² =13.0 p=0.011

КГ (контролна група) ; X²(Chi-square test), p(Fisher's exact test), *p<0.05



Слика 41. Графички приказ на возрасни групи на пациентките од КГ со високоризични типови HPV

Figure 41. Chart showing age groups of KG patients with high-risk HPV type

Во табела 41 прикажана е дистрибуцијата на нискоризичните типови HPV меѓу 5-те анализирани возрасни групи од контролната група .

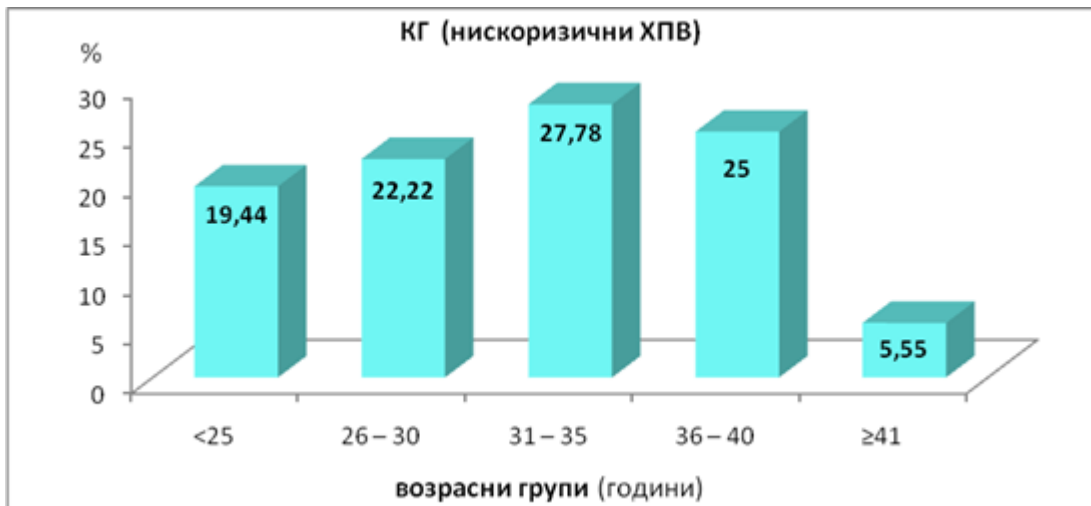
Пациентките на возраст под 25 години, 26-30, 31-35, 36-40 и постари од 41 година не се разликуваа сигнификантно во однос на дистрибуцијата на сите нискоризичните типови HPV ($p > 0.05$) (табела 41). Од вкупно 36 нискоризични хуман папилома вируси, 7(19.44%) беа детектирани кај жени помлади од 25 год., 8 (22.22%) кај жени на возраст од 26-30 год., 10 (27.78%) кај жени на возраст од 31-35 год., 9 (25%) кај жени на возраст од 36 до 40 години и 2 (5.55%) кај жени на возраст постари од 40 год. Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика во зачестеноста на нискоризичните HPV меѓу петте возрасни групи ($p=0.25$) (табела 41, слика 42).

Табела 41. Возрасни групи на пациентките од КГ со нискоризични типови HPV
Table 41. Age groups of KG patients with low-risk HPV type

КГ (нискоризични HPV)								
Тип HPV	возрасни групи(години)						p-value	
	N	<25 n(%)	26 – 30 n(%)	31 – 35 n(%)	36 – 40 n(%)	≥41 n(%)		
42 2	Да	2	0	2 (6.45)	0	0	0	p=0.42
	Не	112	22 (100)	29 (93.55)	25 (100)	22 (100)	14 (100)	
24 2	Да	1	0	0	0	1 (4.55)	0	p=0.51
	Не	113	22 (100)	31 (100)	25 (100)	21 (95.45)	14 (100)	
71 2	Да	3	1 (4.55)	1 (3.23)	0	0	1 (7.14)	p=0.57
	Не	111	21 (95.45)	30 (96.77)	25 (100)	22 (100)	13 (92.86)	
72 2	Да	3	0	2 (6.45)	1 (4)	0	0	p=0.75
	Не	111	22 (100)	29 (93.55)	24 (96)	22 (100)	14 (100)	
84 2	Да	3	1 (4.55)	0	1 (4)	1 (4.55)	0	p=0.8

	Н е	111	21 (95.45)	31 (100)	24 (96)	21 (95.45)	14 (100)	
86 2	Д а	1	0	0	0	1 (4.55)	0	p=0.51
	Н е	113	22 (100)	31 (100)	25 (100)	21 (95.45)	14 (100)	
89 2	Д а	1	0	0	1 (4)	0	0	p=0.73
	Н е	113	22 (100)	31 (100)	24 (96)	22 (100)	14 (100)	
55 2	Д а	1	1 (4.55)	0	0	0	0	p=0.51
	Н е	113	21 (95.45)	31 (100)	25 (100)	22 (100)	14 (100)	
61 2	Д а	2	1 (4.55)	0	0	1 (4.55)	0	p=0.5
	Н е	112	21 (95.45)	31 (100)	25 (100)	21 (95.45)	14 (100)0	
62 2	Д а	1	0	1 (3.23)	0	0	0	p=1.0
	Н е	113	22 (100)	30 (96.77)	25 (100)	22 (100)	14 (100)	
81 2	Д а	3	0	1 (3.23)	1 (4)	0	1(7.14)	p=0.7
	Н е	111	22 (100)	30 (96.77)	24 (96)	22 (100)	13 (92.86)	
6 2	Д а	5	0	0	2 (8)	3 (13.64)	0	p=0.052
	Н е	109	22 (100)	31 (100)	23 (92)	19 (86.36)	14 (100)	
11 2	Д а	6	2 (9.09)	1 (3.23)	2 (8)	1 (4.55)	0	p=0.815
	Н е	108	20 (90.91)	30 (96.77)	23 (92)	21 (95.45)	14 (100)	
40 2	Д а	4	1 (4.55)	0	2 (8)	1 (4.55)	0	p=0.52
	Н е	110	21 (95.45)	31 (100)	23 (92)	21 (95.45)	14 (100)	
ВК	Д а	36	7(19.44)	8(22.22)	10(27.78)	9(25)	2(5.55)	$\chi^2=5.4$ p=0.25

КГ (контролна група) ; χ^2 (Chi-square test), p(Fisher's exact test)



Слика 42. Графички приказ на возрасни групи на пациентките од КГ со нискоризични типови HPV

Figure 42. Chart showing age groups of KG patients with low-risk HPV type

Во табела 42 прикажана е дистрибуцијата на веројатно високоризичните типови HPV меѓу петте анализирани возрасни групи од контролната група.

Дистрибуцијата на сите детектирани веројатно високоризични типови HPV не беше сигнификантно различна во зависност од возраста на пациентките, односно меѓу пациентките на возраст под 25 години, од 26-30год., 31-35, од 36-40год. и повеќе од 40 год ($p>0.05$) (табела 42). Од вкупно 20 веројатно високоризични хуман папилома вируси, 4(20%) беа детектирани во возрасните групи помлади од 25 год. и од 36-40 год., 3 (15%) во возрасната група од 26 до 30 години, 7 (35%) во возрасната група од 31-35 год. и 2(10%) во возрасната група постари од 40 години. Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика во зачестеноста на веројатно високоризичните HPV меѓу петте возрасни групи ($p=0.48$) (табела 42, слика 43).

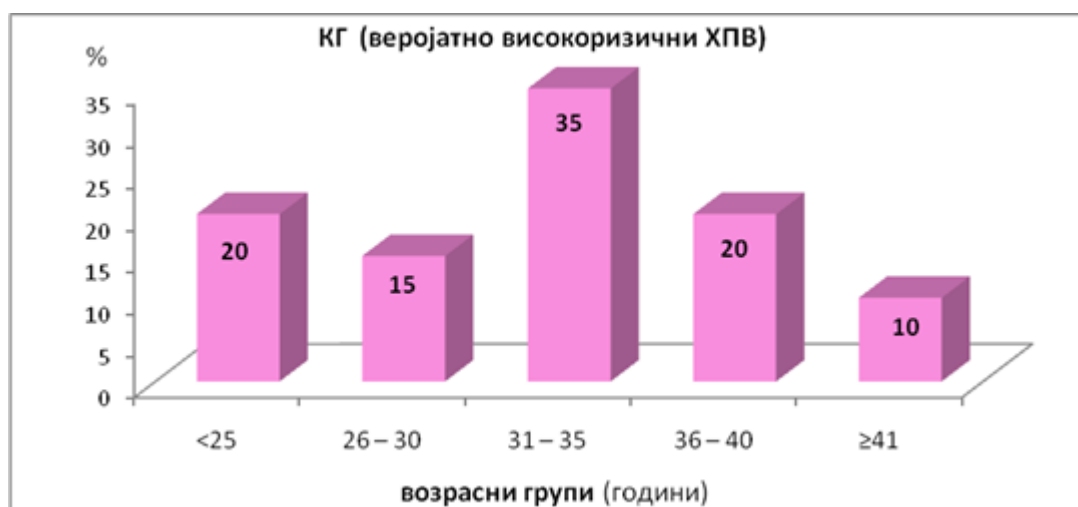
Табела 42. Возрасни групи на пациентките од КГ со веројатно високоризични типови HPV

Table 42. Age groups of KG patients with assumed high-risk HPV type

КГ (веројатно високоризични HPV)							
Тип HPV	возрасни групи(години)						p-value
	N	<25 n(%)	26 – 30 n(%)	31 – 35 n(%)	36 – 40 n(%)	≥41 n(%)	
да	1	0	0	1 (4)	0	0	$p=0.73$

263	не	113	22 (100)	31 (100)	24 (96)	24 (96)	14 (100)	
703	да	1	0	0	1 (4)	0	0	p=0.73
	не	113	22 (100)	31 (100)	24 (96)	22 (100)	14 (100)	
823	да	2	0	0	1 (4)	1 (4.55)	0	p=0.67
	не	112	22 (100)	31 (100)	24 (96)	21 (95.45)	14 (100)	
733	да	2	1 (4.55)	0	1 (4)	0	0	p=0.67
	не	112	21 (95.45)	31 (100)	24 (96)	22 (100)	14 (100)	
673	да	1	0	1 (3.23)	0	0	0	p=1.0
	не	113	22 (100)	30 (96.77)	25 (100)	22 (100)	14 (100)	
533	да	12	3 (13.64)	2 (6.45)	3 (12)	2 (9.09)	2 (14.29)	p=0.89
	не	102	19 (86.36)	29 (93.55)	22 (88)	20 (90.91)	12 (85.71)	
343	да	1	0	0	0	1 (4.55)	0	p=0.51
	не	113	22 (100)	31 (100)	25 (100)	21 (95.45)	14 (100)	
вк	да	20	4(20)	3(15)	7(35)	4(20)	2(10)	X ² =3.5 p=0.48

КГ (контролна група) ; X²(Chi-square test), p(Fisher's exact test)



Слика 43. Графички приказ на возрасни групи на пациентките од КГ со веројатно високоризични типови HPV

Figure 43. Chart showing age groups of KG patients with assumed high-risk HPV type

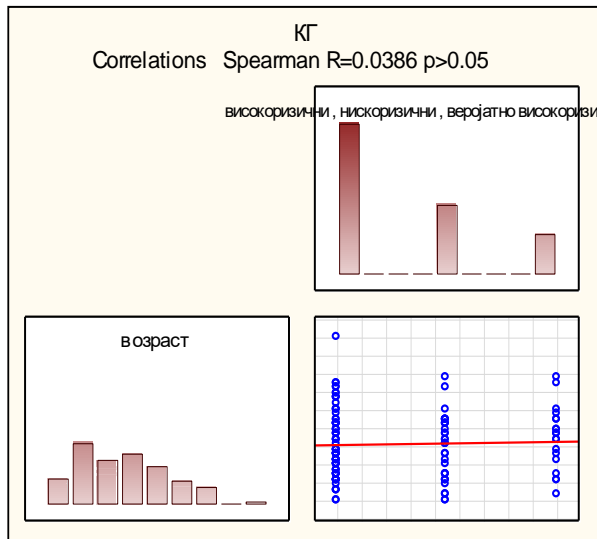
Испитуваната поврзаност помеѓу возраста на пациентките од КГ и степенот на канцерогеност на детектираните вируси беше статистички несигнификантна, односно незначајна ($R=-0.777, p=0.67$) (табела 43, слика 44).

Табела 43. Корелација меѓу возраста и степенот на канцерогеност во КГ

Table 43. Correlation between age and carcinogenicity in KG

КГ	Spearman R	t(N-2)	p-value
возраст & степен на карциногеност	0.0386	0,43	0.67

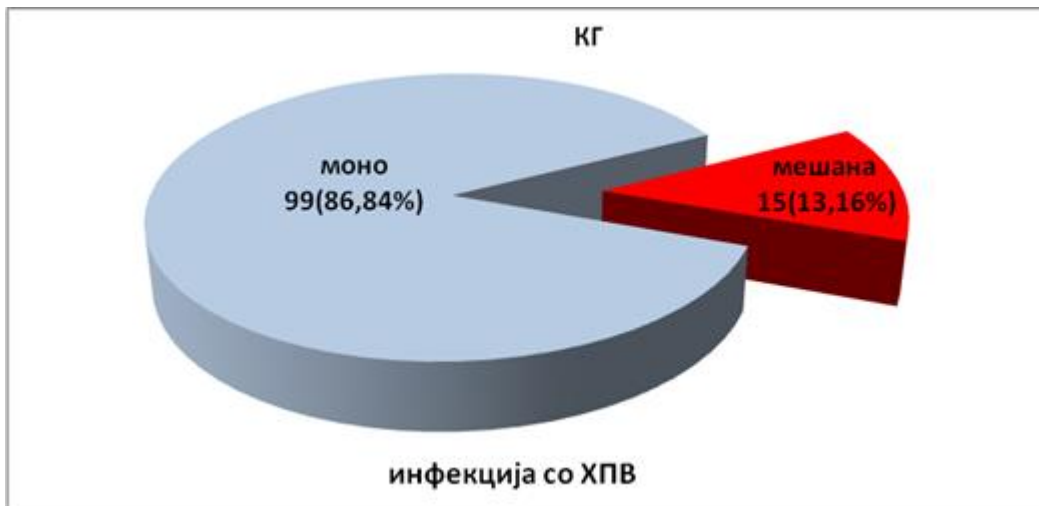
КГ (контролна група): R(Spearman correlations)



Слика 44. Графички приказ на корелацијата меѓу возраста и степенот на канцерогеност во КГ

Figure 44. Chart showing correlation between age and carcinogenicity in KG

Кај мнозинството на пациентки од КГ или кај 99(86.84%) беше потврден еден тип на HPV. Мешана инфекција, односно повеќе типови на HPV беа потврдени кај 15 (13.16%) пациентки (слика 45).



Слика 45. Графички приказ на пациентките од КГ според типот на инфекција со HPV

Figure 45. Chart showing KG patients according to type of HPV infection

Пациентките од КГ од сите возрасни групи најчесто беа инфицирани со еден тип HPV– 21(95.45%), 25(80.65%), 21(84%), 18(81.82%), соодветно во возрасните групи помлади од 25 год., од 26-30 год., од 31-35 год., од 36-40 год., и сите 14 пациентки постари од 41 год (табела 44). Дистрибуцијата на пациентки со моно или мешана HPV инфекција меѓу петте возрасни групи беше статистички несигнификантна ($p=0.26$) (табела 44).

Табела 44. Возрасни групи кај пациентките од КГ во однос на типот на инфекција со HPV

Table 44. Age groups in KG patients in relation to type of HPV infection

КГ							
Инфекција	возрасни групи						p-value
	N	<25 n(%)	26 – 30 n(%)	31 – 35 n(%)	36 – 40 n(%)	≥41 n(%)	
Моно	99	21 (95.45)	25 (80.65)	21 (84)	18 (81.82)	14 (100)	$\chi^2=5.25$ $p=0.26$
Мешана	15	1 (4.55)	6 (19.35)	4 (16)	4 (18.18)	0	

КГ (контролна група) ; χ^2 (Chi-square test)

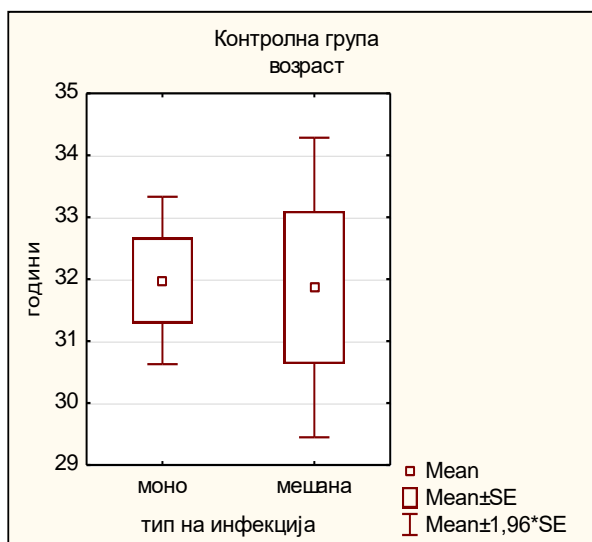
Пациентките од КГ инфицирани со еден тип HPV и пациентките инфицирани со повеќе типови HPV имаа во просек слична возраст (31.9 ± 6.8 наспроти 31.8 ± 4.8 ; $p=0.95$) (табела 45, слика 46).

Табела 45. Просечна возраст на пациентките од КГ во однос на типот на инфекција со HPV

Table 45. Average age of KG patients in relation to type of HPV infection

КГ				
Инфекција	статистички параметри (возраст)			p-value
	n	mean \pm SD	min- max	
Моно	99	31.98 ± 6.9	21 – 53	t=0.06 p=0.95
Мешана	15	31.87 ± 4.8	25 – 40	

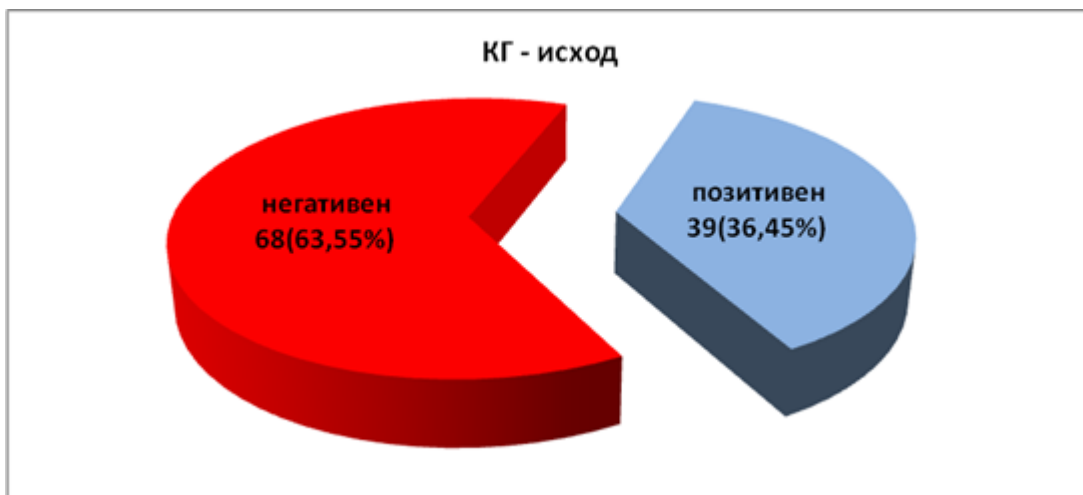
КГ (контролна група); t(Student t-test)



Слика 46. Графички приказ на просечната возраст на пациентките од КГ во однос на типот на инфекција со HPV

Figure 46. Chart showing average age of KG patients in relation to type of HPV infection

Во групата од 107 пациентки од КГ кај кои беше направен контролен PCR, позитивен исход имаа 39 (36.45%) пациентки, негативен исход имаа 68(63.55%), односно стапката на самоизлекување беше 36.45% (слика 47).



Слика 47. Графички приказ на дистрибуција на пациентките од КГ според исходот

Figure 47. Chart showing distribution of KG patients according to outcome

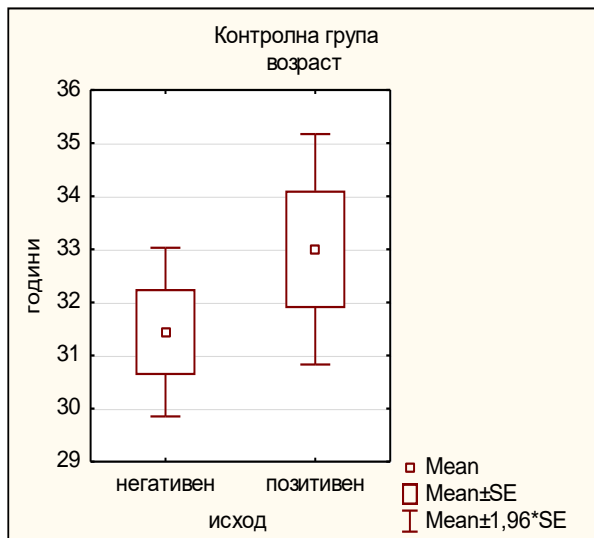
Возраста на пациентките од КГ немаше сигнификантно влијание на резултатот од контролниот PCR по две години од поставената дијагноза ($p=0.25$). Пациентките со негативен тест беа во просек незначајно постари од пациентките со позитивен тест, односно од пациентките кои се уште имаа инфекција со HPV (33.0 ± 6.9 години наспроти 31.4 ± 6.7 години) (табела 46, слика 48).

Табела 46. Просечна возраст на пациентките од КГ според исходот

Table 46. Average age of KG patient according to outcome

КГ				
Исход	статистички параметри (возраст)			p-value
	n	mean \pm SD	min- max	
негативен	68	31.44 ± 6.7	21 – 53	t=1.15 p=0.254
позитивен		33.0 ± 6.9	21 – 45	

КГ (контролна група); t(Student t-test)



Слика 48. Графички приказ на просечната возраст на пациентките од КГ според исходот

Figure 48. Chart showing average age of KG patients according to outcome

Пациентките од КГ со позитивен и негативен исход не се разликуваа сигнификантно во зависност од припадноста на возрастната група ($p=0.23$) (табела 24). Самоизлекувањето беше негативно кај 14(63.64%) пациентки помлади од 25 год., 22 (81.48%) пациентки на возраст од 26-30 год., 13 (56.52%) пациентки на возраст од 31-35 год., 11(52.38%) пациентки на возраст од 36 до 40 год., 8(57.14%) пациентки постари од 40 год. (табела 24). Стапката на самоизлекувани изнесуваше 36.36%, 18.52%, 43.48%, 47.62% и 42.86%, во возрастните групи, соодветно од најмладата до најстарата возрастна група (табела 24).

Табела 47. Возрасни групи на пациентките од КГ според исходот

Table 47. Age groups of KG patients according to outcome

КГ							
Исход	возрасни групи						p-value
	N	<25 n(%)	26 – 30 n(%)	31 – 35 n(%)	36 – 40 n(%)	≥41 n(%)	
Позитивен	68	14 (63.64)	22 (81.48)	13 (56.52)	11 (52.38)	8 (57.14)	$X^2=5.62$
Негативен	39	8 (36.36)	5 (18.52)	10 (43.48)	10 (47.62)	6 (42.86)	$p=0.23$

КГ (контролна група); X^2 (Chi-square test)

Во табела 48 прикажани се резултатите од исходот од инфекцијата со одделните типови на HPV кај пациентките од КГ.

Во групата пациентки кај кои беше потврден високоризичен тип на HPV, по две години следење инфицирани беа двете пациентки со HPV тип 68, 2(66.67%) пациентки инфицирани со HPV тип 51,4 (66.67%) пациентки инфицирани со HPV тип 56, сите 5 пациентки инфицирани со тип HPV 58, 2 (66.67%) пациентки инфицирани со HPV тип 59, 5 (83.33%) пациентки инфицирани со HPV тип 33, 7 (87.5%) пациентки инфицирани со HPV тип 31, 14(82.35%) пациентки инфицирани со HPV тип 16,3 (60%) пациентки инфицирани со HPV тип 18,2 (28.57%) пациентки инфицирани со HPV тип 35, пациентката инфицирана со HPV тип 39 и 5(83.33%) пациентки инфицирани со HPV тип 45 (табела 48, слика 49). Инфекцијата со HPV беше излекувана кај пациентката заразена со тип 66, стапката на излекувани беше 33.33% за HPV тип 51, 52, 56, 59, 16.67% за тип 33, 12.5% за тип 31, 17.65% за тип 16, 40% за тип 18, 71.43% за тип 35 и 16,67% за типот 45 (табела 48, слика 49).

Во групата пациентки кај кои беше потврден нискоризичен тип на HPV, по две години следење инфицирани беа 1(33.33%) пациентка со HPV тип 71, 2(66.67%) пациентки со HPV тип 72, 1(33.33%) пациентка со HPV тип 84, пациентката инфицирана со HPV тип 86, 2(40%) пациентки инфицирани со HPV тип 6 и 1(25%) пациентка инфицирана со HPV тип 11 (табела 48, слика 49a). Инфекцијата со HPV беше излекувана кај пациентките заразени со тип 42, 24, 89, 55, 61, 62, 81 и тип 40. Стапката на излекувани беше 66.67% за тип 71, 33.33% за тип 72, 66.67% за тип 84, 60% за тип 6 и 75% за тип 11 (табела 48, слика 49a).

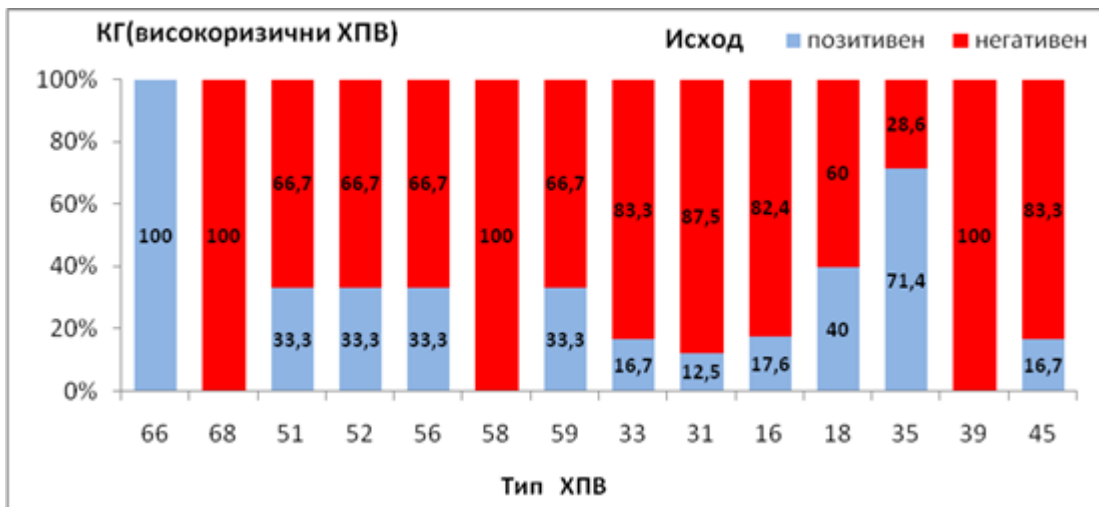
Во групата пациентки кај кои беше потврден веројатно високоризичен тип на HPV, по две години следење инфекцијата перзистираше кај пациентките заразени со HPV тип 26, 67 и 34, кај една од две пациентки заразени со HPV тип 82 и 73, кај 5(50%) пациентки заразени со HPV тип 53. Инфекцијата беше излекувана кај пациентката заразена со HPV тип 70, кај една од две пациентки заразени со HPV тип 82 и 73, и кај 5(50%) пациентки заразени со HPV типот 53 (табела 48, слика 49b). Резултатите од статистичката анализа покажаа дека исходот од инфекцијата со HPV по двегодишно следење на пациентките од КГ беше сигнификантно асоциран само со HPV тип 35 ($p=0.047$). За сите други типови на HPV не беше докажана сигнификантна разлика во исходот од инфекцијата ($p>0.05$) (табела 48).

Табела 48. Исход кај пациентките од КГ во однос на типот на ХПВ

Table 48. Outcome in KG patients in relation to HPV type

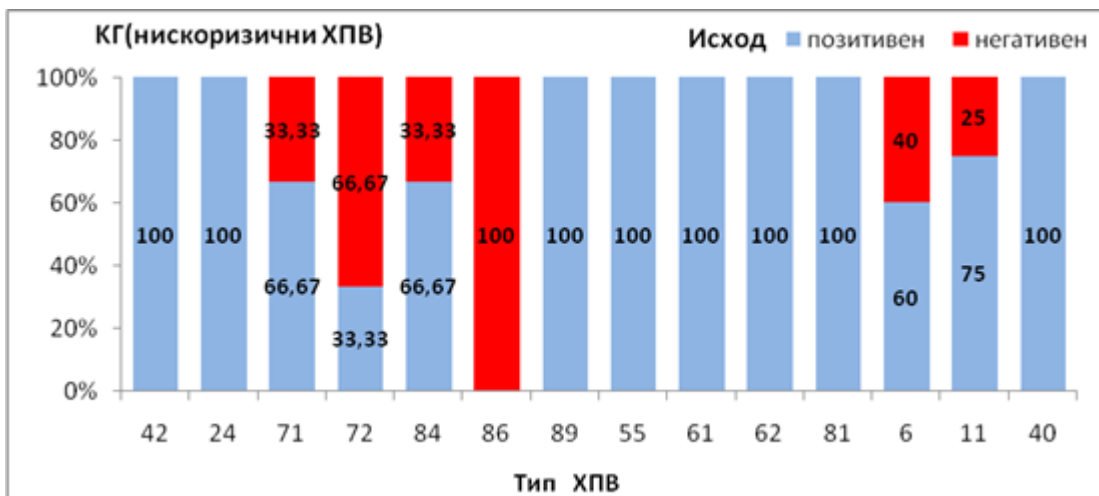
КГ						
Тип HPV	почеток	контролен PCR			нема контрола	p-value
		контрола	излекувани	останал ви		
високорични HPV						
66	1	1	1 (100)			
68	2	2		2 (100)		
51	3	3	1 (33.33)	2 (66.67)		p=0.91
52	7	6	2 (33.33)	4 (66.67)	1	p=0.87
56	6	6	2 (33.33)	4 (66.67)		p=0.87
58	5	5		5 (100)		
59	3	3	1 (33.33)	2 (66.67)		p=0.91
33	6	6	1 (16.67)	5 (83.33)		p=0.3
31	8	8	1 (12.5)	7 (87.5)		p=0.14
16	17	17	3 (17.65)	14 (82.35)		p=0.079
18	6	5	2 (40)	3 (60)	1	p=0.87
35	7	7	5 (71.43)	2 (28.57)		p=0.047
39	1	1		1 (100)		
45	6	6	1 (16.67)	5 (83.33)		p=0.3
нискорични HPV						
42	2	2	2 (100)			
24	1	1	1 (100)			
71	3	3	2 (66.67)	1 (33.33)		p=0.27
72	3	3	1 (33.33)	2 (66.67)		p=0.91
84	3	3	2 (66.67)	1 (33.33)		p=0.27
86	1	1		1 (100)		
89	1	1	1 (100)			
55	1	1	1 (100)			
61	2	2	2 (100)			
62	1	1	1 (100)			
81	3	2	2 (100)		1	
6	5	5	3 (60)	2 (40)		p=0.26
11	6	4	3 (75)	1 (25)	2	p=0.1
40	4	4	4 (100)			
веројатно високорични HPV						
26	1	1		1 (100)		
70	1	1	1 (100)			
82	2	2	1 (50)	1 (50)		p=0.67
73	2	2	1 (50)	1 (50)		p=0.67
67	1	1		1 (100)		
53	12	10	5 (50)	5 (50)	2	p=0.35
34	1	1		1 (100)		

КГ (контролна група); p(difference test)



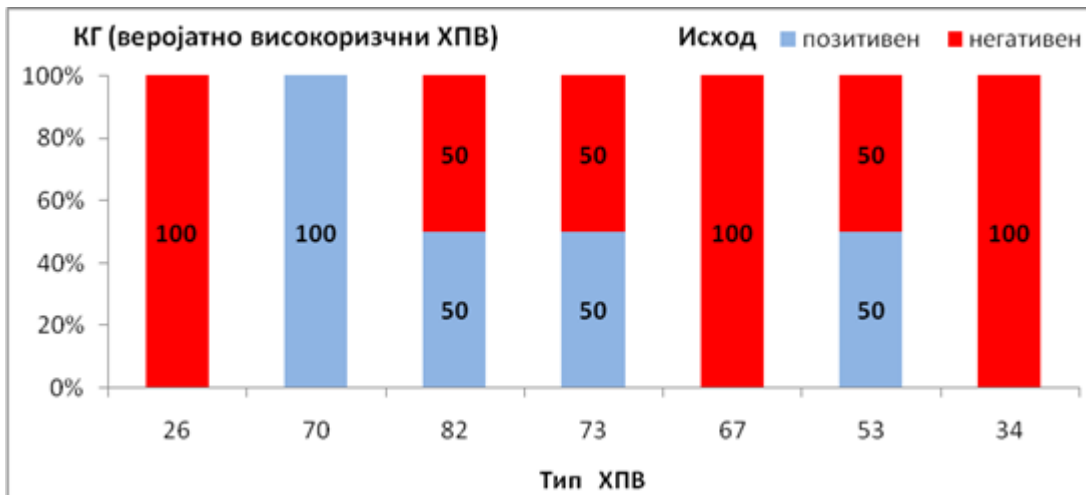
Слика 49. Графички приказ на исходот кај пациентките од КГ во однос на типот на високоризичен HPV

Figure 49. Chart showing the outcome in KG patients in relation to high-risk HPV type



Слика 49а. Графички приказ на исходот кај пациентките од КГ во однос на типот на нискоризичен HPV

Figure 49 а. Chart showing the outcome in KG patients in relation to low-risk HPV type



Слика 49б. Графички приказ на исходот кај пациентките од КГ во однос на типот на веројатно високоризичен HPV

Figure 49b. Chart showing the outcome in KG patients in relation to assumed high-risk HPV type

Пациентките со моно и мешана инфекција со HPV не се разликуваа сигнификантно во однос на исходот од инфекцијата ($p=0.4$) (табела 49).

Негативен исход презентираа 57(61.96%) пациентки со моноинфекција и 11(73.33%) пациентки со мешана HPV инфекција (табела 49). Стапката на излекувани беше несигнификантно повисока кај пациентките инфицирани со еден тип на HPV (38.04% наспроти 26.67%), (табела 49)

Табела 49. Исход кај пациентките од КГ во однос на типот на инфекција со HPV

Table 49. Outcome in KG patients in relation to the type of HPV infection

Инфекција	КГ			p-value
	Исход			
	N	позитивен n (%)	негативен n (%)	
Моно	92	35 (38.04)	57 (61.96)	$\chi^2=0.72$ $p=0.4$
Мешана	15	4 (26.67)	11 (73.33)	

КГ (контролна група): χ^2 (Pearson Chi-square)

Бројот на ХП вируси немаше сигнификантно влијание на исходот кај пациентките од КГ ($p=0.64$) (табела 50).

Исходот беше негативен кај 57(61.96%) пациентки заразени со еден тип на HPV, 8(80%) пациентки заразени со два типа на HPV, и кај 3(60%) пациентки заразени со три типа на HPV (табела 50).

Табела 50. Исход кај пациентките од КГ во однос на бројот на HPV

Table 50. Outcome in KG patients in relation to the number of HPV

КГ				
Број на HPV	Исход			p-value
	N	позитивен n (%)	негативен n (%)	
1	92	35 (38.04)	57 (61.96)	Z=0.47 p=0.64
2	10	2 (20)	8 (80)	
3	5	2 (40)	3 (60)	

КГ (контролна група): Z(Mann-Whitney U Test)

Стапката на ефикасност на третманот со ТСА беше 81.37%, и беше сигнификантно повисока од стапката на излекувани во КГ, која изнесуваше 36.45%, ($p < 0.0001$) (табела 51, слика 50). Стапката на ефикасност на третманот со инозин беше 68.42% и беше сигнификантно повисока од стапката на излекувани во КГ, која изнесуваше 36.45%, $p = 0.0091$ (табела 51, слика 50).

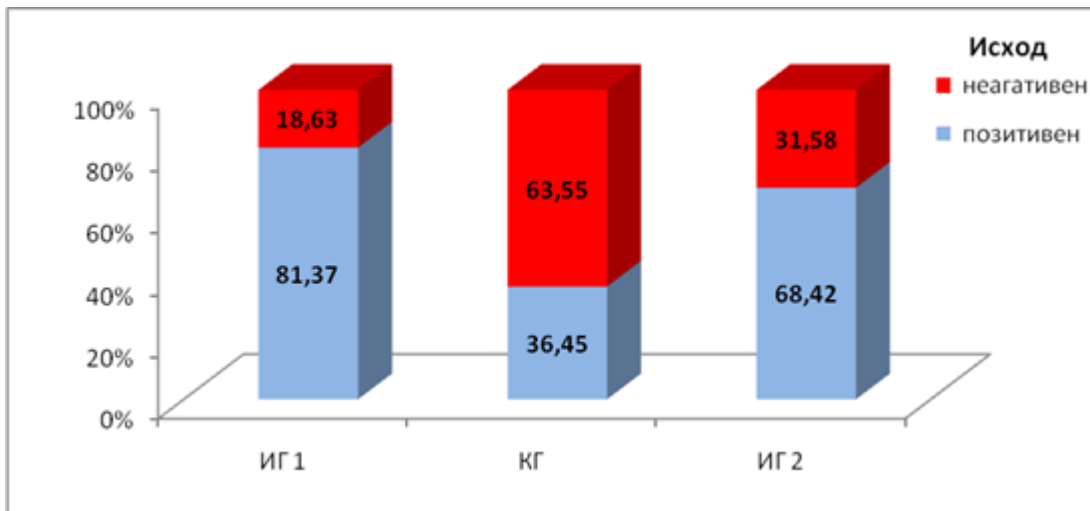
Табела 51. Компарација на исходот

Table 51. Outcome comparison

Исход	ИГ 1 n (%)	КГ n (%)	ИГ 2 n (%)
Позитивен	83 (81.37)	39 (36.45)	13 (68.42)
Негативен	19 (18.63)	68 (63.55)	6 (31.58)
Вкупно	102	107	19
p-value	*** $p = 0.0000$		
p-value		** $p = 0.0091$	

ИГ1 (третирана со ТСА): ИГ2 (третирана со имуностимулатори): КГ (контролна група)

** $p < 0.01$, *** $p < 0.0001$



Слика 50. Графички приказ на исходот кај ИГ1, ИГ2 и КГ

Figure 50. Chart showing outcome in EG1, EG2 and KG

6. Дискусија

Имајќи го во предвид фактот што во оваа студијата главно учествуваа пациентки од 25-32 годишна возраст со докажана HPV инфекција на грло на матка, индиректно се потврди почестата застапеност на HPV инфекциите кај помлада популација, што зависи од нивното сексуалното однесување и индивидуален вакцинален статус. *Ouh et al.* (2018) во својата студија потврдуваат дека дури 32,9% од пациентките помлади од 24 год. со нормален цитолошки наод од PAP тест имаат позитивен наод за HPV, додека со возраста, стапката на инфекција со HPV значително опаѓа, односно изнесува 9,9% кај жените од 55 до 59 години (100). Во друга студија во Јужно Мексико, спроведена во период од 1997 до 2019 год., преваленцата на HPV цервикалните инфекции била највисока кај жени од 24-34 годишна возраст (101), што корелира со резултатите добиени во нашата студија, каде преваленцата е највисока кај пациентките од 21-35 годишна возраст.

Биодиверзитетот и дистрибуцијата на HPV во светот е широка, со оглед на лесниот начин на пренесување на инфекцијата и неможноста за гарантирање на заштитен сексуален контакт со бариерно контрацептивно средство, како превенција за инфекција со HPV. 80% од сексуално активните жени барем еднаш во животот ќе се инфицираат со HPV. Правени се студии во Европа за дистрибуцијата на HPV и докажано е дека пикот на негова застапеност е кај жени на 25-30 годишна возраст, при тоа најчесто детектирани типови на HPV се

високоризичните тип 16 и 18 (102). *Martins et al.* (2016) истражувале дека во Јужна Америка најчесто застапени генотипови на HPV се тип 16 и тип 56. HPV тип 56 е преобладајно потврдено кај пациентки без интраепителни лезии или малигнитет или пациентки со интраепителни лезии од низок степен, HPV тип 16 е преобладајно тип, потврдено кај пациентки со цервикални лезии од висок степен, додека HPV 18 ретко се наоѓа при анализа на нормални и абнормални брисеви (103). *Wang et al.* (2022) во нивната студија при испитување на превајенцата и дистрибуцијата на HPV генотиповите во Кина заклучуваат дека најчести високоризични типови на HPV се тип 16, 52 и 58, а од нискоризичните тип 6, 61 и 81 (104). При тоа посебно влијанието врз дистрибуцијата на HPV и ширењето на инфекцијата имаат самите вакцини. *Ma et al.* (2022) направиле истражување за дистрибуцијата на генотиповите на HPV, на примерок над 2000 пациентки кои се комплетно вакцинирани со четиривалентна HPV вакцина и нивните анализи покажуваат дека стапката на инфекција и патогениот ризик за предизвикување на цервикални лезии е највисока кај следниве типови на HPV: 53, 56, 51 и 68 (105).

Република Северна Македонија од 2009 година ја воведува HPV вакцината во редовната програма за вакцинација. Вакцината најпрво наидува на неоправдан скептицизам кај родителите на децата опфатени во групата за вакцинирање и од таа причина одзивот е незадоволителен. Најпрво вакцинацијата почнува со двовалентна, а потоа со четиривалентна HPV вакцина. Нашата студија не опфаќа популација која е вакцинирана и затоа се прикажува една реална дистрибуција на HPV генотиповите. Пациентките во испитуваната група најчесто беа инфицирани со HPV тип 31, 16, 18 и 52, додека пациентките во контролната група со HPV тип 16. Најчесто застапени нискоризични типови на HPV во испитуваната група беа HPV тип 6 и 62, додека во контролната група беше HPV тип 11. Во групата на веројатно високоризични типови на HPV најчесто беа застапени HPV тип 73 и 53 во испитуваната и HPV тип 53 во контролната група.

Во оваа студија пациентките најчесто се инфицирани само со еден тип на HPV, односно имаат моноинфекција, што најверојатно се должи на законитоста на бракот како моногамија, за разлика од државите каде полигамните бракови се пракса и степенот на мешаните HPV инфекции е повисок (106). Но, присутни се и мешаните инфекции и тоа во различни комбинации. Пациентките од

испитуваната група, инфицирани со еден тип HPV беа несигнификантно постари од пациентките инфицирани со повеќе типови (32.7 ± 7.5 наспроти 30.7 ± 7.3 ; $p=0.12$), за разлика од пациентките од контролната група кои во просек имаа слична возраст (31.9 ± 6.8 наспроти 31.8 ± 4.8 ; $p=0.95$). Дистрибуцијата на пациентките во однос на канцерогеноста на HPV и во контролната и во испитуваната група е највисока за моноинфекција со еден високоризичен HPV тип, додека најчеста мешана инфекција во контролната група е со еден високоризичен и еден веројатно високоризичен тип, а во испитуваната група, инфекција со два високоризични типови. Направена е анализа на пациентките од контролната група и заклучивме дека 86,84% од нив имале моноинфекција со HPV, а 13,16% имале мешана инфекција со HPV по две години следење, додека пациентките од испитуваната група во 73,84% од случаевите имале моноинфекција, останатите 26,16% биле со мешана инфекција. Пациентките со моно и мешана инфекција со HPV не се разликуваа сигнификантно во однос на исходот од инфекцијата ($p=0.4$). Негативен исход, односно перзистирање на HPV инфекцијата или прогресија кон цервикални лезии од низок или висок степен, презентираа 57(61.96%) пациентки со моноинфекција и 11(73.33%) пациентки со мешана HPV инфекција во контролната група. Стапката на самоизлекувани беше несигнификантно повисока кај пациентките инфицирани со еден тип (38.04% наспроти 26.67%). Слично на оваа студија и неколку други студии покажуваат асоцијација на перзистентноста на вирусот, неговата карциногеност и мешаната HPV инфекција со ризикот од цервиклани лезии од низок и висок степен. *Alarcon Romero et al.* (2022) во својата студија детерминирале дека пациентките кои биле инфицирани со повеќе од два високоризични HPV типови, имаат значително зголемен ризик за цервикални лезии од низок и висок степен (101). Резултатите од големата студија на *Arbyn et al.* (2009) покажаа присуство на високоризични типови на HPV (најчесто тип 16, 31 и 52), во хистолошки примероци од CIN3 и цервикален карцином, што е во прилог на сознанието дека високоризичните типови се перзистентни, карциногени и поттикнувачи на малигна трансформација (107). Во однос на карциногеноста на HPV, во оваа студија се покажа дека стапката на самоизлекување е повисока кај нискоризичните типови на HPV, отколку кај високоризичните и веројатно високоризичните типови на HPV. Само кај HPV тип 35 од групата на високоризичните типови на HPV, исходот од инфекцијата после две годишно

следење на пациентките беше сигнификантно асоциран со самоизлекување, за сите други типови не беше докажана сигнификантна разлика во исходот после две годишно следење. Овој наод е во согласност со други студии кои укажуваат на продолжената перзистентност на високоризичните HPV генотипови, во однос на веројатно високоризичните и нискоризичните (108,109).

Испитуваната поврзаност помеѓу возраста на пациентките од контролната група и степенот на канцерогеност на детектираните вируси беше статистички несигнификантна, односно незначајна ($R=-0.777, p=0.67$). Испитуваната поврзаност помеѓу возраста на пациентките од испитуваната група и степенот на канцерогеност на детектираните вируси беше негативна, односно индиректна, што покажува дека кај постарите пациентки беа детектирани вируси со пониска канцерогеност, и обратното ($R=-0.0777$). Но, корелацијата беше статистички несигнификантна, односно незначајна ($p=0.28$). Многу слично на нашата студија и истражувачите од Италија не успеале да докажат асоцијација помеѓу возраста и инфекцијата со HPV генотипови со различна карциногеност, на примерок од 37 367 пациентки. Но, се смета дека дистрибуцијата на HPV тип 16 и тип 18 е многу поголема кај пациентките под 30-годишна возраст и цервикалните лезии во оваа возраст се резултат на брзата прогресија на инфекцијата, а не на раната појава на инфекција (110). Кај повозрасните пациентки обично доминираат други типови на HPV, што сугерира на поголема потреба за скрининг стратегии во зависност од возраста (171). На граница на статистичка сигнификантност беше разликата во просечната возраст на пациентките со и без HPV тип 58, пациентките инфицирани со овој тип беа просечно помлади од пациентките без овој тип (28.0 ± 6.6 наспроти 32.5 ± 7.4 , $p=0.054$) во испитувана група. Почестата застапеност на високоризичните HPV кај пациентките од контролната група на возраст од 26 до 30 години во однос на останатите возрасни групи и статистички се потврди како сигнификантна ($p=0.011$). Статистичката анализа не потврди сигнификантна разлика во зачестеноста на нискоризичните и веројатно високоризичните HPV типови во однос на возрасните групи и во испитуваната и во контролната група.

Повеќето HPV инфекции се самолимитирачки и спонтано регредираат за една до две години, како резултат на клеточно посредуваниот имунитет. Во една студија на *Brown et al.* (2005) во која ја следеле HPV инфекцијата помеѓу адолесцентите заклучиле дека две третини од адолесцентите инфицирани со

нискоризичен тип на HPV, ќе се самоизлекуваат за 12 месеци, додека самоизлекувани ќе бидат само 50% оние кои се инфицирани со високоризичен тип. Тие потврдиле 37% прогресија на HPV инфекцијата кон абнормални цитолошки наоди, посебно во корелација со инфекција со високоризичен тип на HPV. Иако средниот животен циклус на HPV бил 167 дена, сепак потврдиле кумулативната преваленца на HPV инфекцијата кај сексуално активните адолесцентки која е екстремно висока и многу брзо резултира со цервикални лезии (112). Во оваа студија се потврди дека 63,55% од пациентките во контролната група на (кои беа контролирани еднаш годишно со HPV DNA тест во тек на две години) покажаа стапка на перзистентност на HPV инфекцијата, што е резултат на поголемиот број на пациентки инфицирани со високоризични типови на HPV. Испитувајќи ја перзистентноста на одредени типови на HPV, *Cho et al.* (2015) во нивната студија заклучиле дека во просек спонтанa регресија HPV тип 16 покажува за 10,3 месеци и е најдолг период на перзистирање, додека генотипот на HPV тип 59 има најкраток период на перзистенција и изнесува нешто помалку од 5 месеци. Со оглед на тоа што HPV тип 16 е втор HPV тип по бројност во нашата студија, се објаснува и повисоката стапка на перзистентност на вирусот (113).

Во последниве години направени се повеќе студии поврзани со ефикасноста на TCA како терапевтски агенс за третман на HPV инфекциите, како и цервикалните лезии асоцирани со HPV. Секоја од нив потврдува релативно висока стапка на клиренс на вирусот и регресија на цервикалните лезии после топична употреба на овој агенс. Во нашата испитувана група од 102 пациентки со субклиничка форма на HPV инфекција, потврдена со HPV DNA, кои беа еднократно тетирани со TCA, беше забележана висока стапка на ефикасност на третманот од 81,37%, во споредба со контролната група каде стапката на самоизлекување беше 36,45%. Исходот од третманот со TCA не се разликуваше значително помеѓу возрасните групи. Во студијата на *Malviya et al.* (1987) се вклучени 48 пациентки кај кои со PAP тест и колопоскопија е потврдено дека имаат HPV инфекција, но немаат други цервикални лезии. По апликација на TCA на ендоцервикс и трансформациона зона, следени се со PAP тест на две недели во наредните три месеци и се потврдува дека нема рецидив на местото на инфекцијата. Со ова се повторува дејството и улогата на TCA во лекувањето и третманот на HPV инфекциите на грло на матка (114). Во студијата на *Menendez*

Velazquez (1993) иследувани се 60 пациентки со потврдена HPV инфекција на грло на матка, следени се секои наредни три месеци со помош на цитолошки и хистопатолошки анализи во период од 9 месеци. По третманот со ТСА, аплициран еднаш неделно во тек на три недели стапката на излекување во првите три месеци е 73%, после шест месеци, 68%, а после девет месеци, 65%. Авторите заклучиле дека овој агенс претставува ефикасен лек и истиот треба да се применува во пракса поради ниската цена, недостатокот на несакани ефекти, лесната апликација и процедура (115).

Секако, многу важна е концентрацијата на ТСА која се користи за третман на HPV инфекцијата или цервикалните лезии. Сите гореспоменати студии кои пријавиле статистички сигнификантна стапка на успешност на третманот со ТСА, испитувале ТСА со концентрација од 85%. Во студијата на *Boothby et al.* (1990) 34 пациентки биле третирани со 50% ТСА, а контролната група со физиолошки раствор како плацебо. По направените цитолошки и хистолошки контроли, 4 и 16 недели подоцна, не била најдена значителна разлика во стапката на излекување кај двете групи. Авторите заклучиле дека ТСА во оваа концентрација не претставува ефикасно средство за лекување на HPV инфекцијата (116).

Geisler et al. (2016) ја аплицирале ТСА кај пациентки со интраепителни неоплазии од висок степен (CIN 2-3) и интраепителни неоплазии од низок степен (CIN 1). Следена е стапката на регресија од лезија од висок во низок степен и ремисија на лезиите со следење на цитолошки и хистолошки параметри. Авторите на оваа студија, заклучуваат дека постои висока стапка на регресија и ремисија, осум недели по топчната апликација на 85% ТСА. Следена е и стапката на клиренс на двата најчести високоризични типови на HPV, 16 и 18 во однос на сите други типови на високоризични HPV. После единечна топична апликација на ТСА, стапката на клиренс изнесувала 73,5%, 75% и 62,8% соодветно (98). Првата проспективна студија TRICIN која е во втора фаза, објави прелиминарни резултати за висок степен на хистолошка регресија на цервикалните лезии од низок степен, но и висока стапка на клиренс на HPV тип 16 и тип 18, соодветно: 76,5% и 91,7% (99). Во нашата студија се покажа дека стапката на клиренс на HPV тип 16 и тип 18 е 64,71% и 72,73% соодветно и 87,5% и 75% за HPV тип 31 и сите други типови соодветно. Стапката на ефикасност за нискоризичните типови беше 100%. Резултатите од статистичката анализа покажаа дека исходот од третманот не е сигнификантно асоциран со ниту еден

тип на HPV ($p > 0.05$), со исклучок на тип 16 за кој беше потврдена гранична сигнификантност за $p = 0.05$. При споредба на исходот од третманот на моноинфекција и мешана HPV инфекција, стапката на ефикасност беше несигнификантно повисока кај пациентките инфицирани со еден тип, 84,51% наспроти 74,19%, со повеќе типови.

Ayatollahi et al. (2022) ја споредиле ефикасноста и безбедноста на 85% ТСА, после двократна апликација за време од две недели, како алтернативна терапија на конзервативното или хируршкото менаџирање на цервикалните лезии од низок и висок степен. Тие заклучиле дека втората доза на топична ТСА не ја зголемува ефикасноста на третманот. Стапката на одговор на цервикалните лезии кои имале регресија после единечна апликација на ТСА била 52%, додека после две апликации 54% (117). *Suwartono et al. (2019)* го споредиле исходот од третманот на 85% ТСА со криотерапија, кај VIA (*Visual Inspection with Acetic Acid*) позитивни лезии и констатирале дека стапката на ефикасност на третираниите со ТСА е 97,2%, додека стапката на ефикасност на третираниите со криотерапија е 100% , со тоа заклучиле дека нема статистички значајна разлика помеѓу двата испитувани третмани за VIA позитивни лезии (118).

Постојат и други аблативни третмани кои се достапни за третман на HPV инфекциите и HPV асоцираните лезии, но сите тие бараат специјална опрема и обука на клиничарите, што е поврзано со додатни трошоци и логистички импликации. Поради лесната употреба, ниската цена, добриот профил на безбедност, ТСА претставува многу атрактивна алтернатива за третман. Во студијата на *Geisler et al. (2016)* сите пациентки биле анкетирани за степенот на болка според VAS (*Visual Analog Scale*) скала и болката која ја опишале во моментот на третманот и веднаш по завршување на третманот била во просек VAS скоро 3. Ако се спореди интензитетот на болката, што ја чувствуваат пациентите при вметнување на венска канила, според VAS скоро од 3 до 7, може да се констатира дека пациентките одлично го толерираат третманот со ТСА (98,118). Употребата на ТСА не е лимитирана поради посериозни несакани ефекти, без разлика дали се работи за единечна или апликација на ТСА во два наврати и затоа е фаворизирачки нехируршки третман за HPV инфекции (117). Во нашата студија добивме одговори од пациентките во однос на субјективното чувство во тек на третманот со ТСА и сите пријавија незначително чувство на

пецкање и слаба болка. Не беа пријавени поголеми несакани ефекти. Иако степенот на болка не беше градуиран според VAS скала, можеме да заклучиме дека сите пациентки добро го толерираа третманот. Во тек на контролните прегледи, сите пациентки беа прашани за доцна појава на несакани ефекти, но ниту една не пријави каков било вид на несакани ефекти или дополнителни непријатности. Сите беа прегледани под спекулум и кај сите беше потврдена комплетна епителизација на цервиксот после третманот со TCA.

Инфекцијата и вегетативниот раст комплетно е зависен од кератиноцитната диференцијација и се одвива од базалните клетки кон терминално диференцираните кератиноцити кои се сместени на површината на цервиксот. Периодот од инфекција до појава на лезија е од три недели до три месеци, време кое е потребно базалните кератиноцити да се придвижат низ епителот, да се издиференцираат и да се десквамираат (119). Врз основа на овие сознанија во оваа студија пациентките беа повикувани на контролни прегледи после два, три, четири, шест и дванаесет месеци после третманот со TCA. Најголем дел од пациентките со позитивен исход од третманот или 42.17% го направиле контролниот HPV DNA два месеци од третманот со TCA, додека 25.3% од пациентките направиле контролен HPV DNA по четири месеци од третманот. Се потврди статистички сигнификантна разлика во дистрибуцијата на пациентките во однос на времето за кое дошло до клиренс на HPV. Значајно највисока стапка на ефикасност од TCA третманот беше регистрирана кај пациентките кај кои контролата беше направена по два месеци од третманот.

Единствениот протокол за лекување на инфекции на грло на матка, во Република Северна Македонија, од 2015 година, предвидува шестмесечна терапија со витамини, суплементи и имуностимулатор- Инозин. Во нашата студија анализиравме и опфативме група на пациентки кои беа со потврдена HPV инфекција со помош на HPV DNA тест и кои беа третирани со медикаментозна терапија. Овие пациентки беа третирани само со инозин 3 грама дневно, во тек на 14 дена, а потоа следи пауза од 14 дена. Терапијата беше ординирана во три циклуси, соодветно. Начинот на дозирање е прифатен од упатството за употреба на самиот производител. Контролен HPV DNA тест се прави по 6 месеци, 1 година или 2 години. Наша првична цел уште на почетокот на студијата, беше ефикасноста на имуностимулативната терапија во третманот на HPV субклиничките инфекции на грло на матка, во однос на контролната

група. Од тие причини оваа група на пациентки беше обработена или анализирана како посебна или испитувана група 2. Компарација на резултатите во однос на ефикасноста на третманот со Инозин и ТСА не е можно да се направи, затоа што контролните HPV DNA тестови кај испитуваната група 2, се земени најрано 3 месеци по завршување на терапискиот циклус, а најдоцна 21 месец по завршување на терапискиот циклус. Но, компарацијата на податоците добиени од обработка на испитуваната група 2 и контролната група, нуди релевантни одговори на прашањата околу ефикасноста на третманот со Инозин кај оваа група на пациенти, но, само во три циклуси.

Пациентките во втората испитуваната група беа на средна возраст 31.4 ± 7.4 години, и не се разликуваше во однос на контролната и испитуваната група 1, додека Застапеноста на HPV инфекцијата беше најчесто кај пациентки од 26 до 30-годишна возраст. Пациентките најчесто беа инфицирани со HPV тип 16 и тип 31, односно 15.22% и 13.04%, соодветно. Најчесто стануваше збор за моноинфекција, но, потврдивме и мешана инфекција со два високоризични типови на HPV, како и кај испитуваната група 1. Во втората испитувана група, просечната возраст на пациентките со моно или мешана HPV инфекција од беше 32.1 ± 7.9 години, односно 29.4 ± 5.5 години, што значително не се разликуваше од просечната возраст на пациентките со моно или мешана инфекција од контролната и испитуваната група 1. Соодветно на оваа споредба, возраста на пациентките од втората испитуваната група не беше сигнификантно асоцирана со фреквенцијата на инфицираност со високоризични, нискоризични или веројатно високоризични типови на HPV, но констатиравме највисока фреквенција на HPV тип 16 кај пациентки помлади од 25 години. Поврзаноста помеѓу возраста на пациентките од првата и втората испитувана група и контролната група со степенот на карциногеност на детектираните вируси беше негативна, односно индиректна, што укажува на тоа дека кај постарите пациентки беа детектирани вируси со пониска канцерогеност и обратно. Но, статистичка сигнификантност за оваа корелација не беше потврдена.

Позитивен исход од третманот со Инозин, односно стапката на ефикасност од третманот со Инозин беше 68,42%, за разлика од контролната група, каде стапката на самоизлекување беше 36,45%. *Budanov et al. (2015)* во својата студија потврдиле 68% стапка на клиренс на HPV, по три циклуси на третман со Инозин, со пауза од 10 дена. Пациентките биле ретестирани со HPV

DNA метода 60 дена по третманот (91). *Eliseeva et al.* (2012) ја испитувале стапката на ремисија на HPV, кај пациенти со HPV асоцирани болести кај неколку групи: нетретирана, третирана со рутински третман, третирана со монотерапија со инозин и со комбиниран третман од инозин и рутински третман. Стапката на ремисија била, 22,6%, 35,5%, 54,8% и 84,2%, соодветно. Заклучокот е дека инозинот може да биде ефикасен во третманот на HPV инфекцијата и како монотерапија во однос на контролната група, но стапката на ремисија се подобрува во комбинација со рутинскиот третман (92). Во оваа студија пациентките со негативен исход од третманот беа во просек постари од пациентките со позитивен исход. Исходот од третманот со Инозин не зависеше или не корелираше со возраста. *Kedrova et al.* (2006) ја евалуирале ефикасноста на третманот со инозин кај пациентки инфицирани со HPV тип 16 и тип 18, (со потврдени цервикални лезии) и клиренсот на вирусот после третманот со инозин бил 77,8% и 50%, соодветно (120). Во студијата третманот со инозин беше 100% ефикасен кај сите пациентки инфицирани со HPV тип 16, нискоризичните и веројатно високоризичните типови на HPV. Резултатите од статистичката анализа покажаа дека исходот од третманот не беше сигнификантно асоциран со ниту еден тип на HPV ($p>0.05$), со исклучок на тип 16 за кој беше потврдена гранична сигнификантност за $p=0.05$. Исто така сигнификантно не се разликуваше помеѓу пациентките со моно или мешана HPV инфекција.

7. Заклучок

Имајќи ги во предвид резултатите кои ги добивме од оваа сеопфатна студија, направената компарација и статистичка анализа, можеме да заклучиме:

1. Висока преваленца на HPV инфекциите посебно кај помлада популација на возраст помеѓу 21 и 30 год.
2. Поголема фреквенцијата на високоризичните типови на HPV (31, 16, 18 и 52) во однос на останатите типови со пониска карциногеност.
3. Времетраењето на HPV инфекцијата е индикација за терапија. Колку подолго е присутна субклиничка HPV инфекција, толку поголем е ризикот за подолготрајно лечење на инфекцијата и поверојатна е прогресијата кон повисоки

форми на цервикални лезии. Веројатноста за перзистентност на високоризичните типови е многу поголема отколку веројатноста за перзистентност на нискоризичните типови, од тие причини многу е важно да се продолжи периодот без вирусно оптеретување.

4. Во однос на оправданоста на пристапот, да се детектира субклиничка HPV инфекција и да се лекува, резултатите од оваа студија се недвосмислени. Истите укажуваат дека стапката на самоизлекување е многу пониска во однос на стапката на излекување на HPV инфекцијата која е третирана, без разлика дали се работи за медикаментозен третман со имуностимулатори или третман со топична апликација на ТСА. Резултатите од оваа студија се во прилог на пристапот: дијагностицирај и третирај во однос на експектативниот менаџмент. Изборот на начинот на третирање доаѓа од самиот животен циклус на вирусот кој практично е невидлив за домаќинот и не предизвикува никаков имун одговор, но секогаш треба да се земат во предвид и логистичките и супортивните можности, кои често во замјите во развој се круцијални во креирање и примена на различни националните стратегии. Студијата потврди дека со денатурација и преципитација на клеточните протеини со помош на ТСА, се одлупува површинскиот слој на цервикалниот епител над базалната мембрана, кој е засегнат од HPV вирусот. Со тоа се овозможува реепителизација на цервиксот со неинфицирани клетки и ослободување на вирусното оптеретување како и заштита од цервикална интраепителијална неоплазија и нејзино прогредирање кон микроинвазивен карцином. Од тие причини од исклучителна важност е негова ерадикација и дејствување на локално ниво.

5. Топичната апликација на 85% ТСА даде статистички сигнификантни резултати во однос на ефикасноста во третманот на субклиничките форми на HPV инфекцијата, споредено со пациентките следени со експектативен менаџмент. Резултатите од оваа студија имаат значајна импликација за науката и јавното здравје. Тие можат да послужат во креирање на протокол за третман на субклиничките HPV инфекции на грло на матка. Позитивниот исход во лекувањето, едноставноста на постапката и ниската цена, ја прави топичната употреба на ТСА во третманот на HPV инфекциите на грло на матка одличен избор за третман. Нејзиното индикационо подрајче може да се прошири и на лезиите на грло на матка од висок и низок степен, но, потребни се повеќе студии за да се докаже широката импликабилност.

6. Ефикасноста на ТСА во третман на субклиничките HPV инфекции на грло на матка е еднаква за сите возрасни групи и за сите типови на HPV.

Препораки кои произлегуваат од студијата

1. Да се воведат HPV DNA тестови како примарен скрининг кај пациентките во нашата земја.
2. Да се креира епидемиолошки профил на сите пациентки со помош на HPV генотипизација, во прилог на креирање на нови стратегии за превенција и скрининг на цервикален карцином.
3. Да се воведат нонавалентна вакцина за HPV која ќе се аплицира и кај девојчиња и кај момчиња почнувајќи од 11 годишна возраст
4. Да се направи протокол за лекување на субклиничките инфекции на HPV на грло на матка, во кој третман од избор ќе биде топична апликација на ТСА.

Препораките и резултатите кои произлегуваат од оваа студија се во прилог на:

- намалување на морбидитетот и морталитетот од карциномот на грло на матка кој во 90% е предизвикан од HPV;
- намалување на бројот на оперативни зафати потребни за лекување на цервикалните лезии од висок степен, а со тоа ќе се намали инциденцата на предвремени раѓања како резултат на инсуфициенција на грлото на матката кое претходно било подлегнато на оперативен зафат.

Предности и недостатоци на студијата

За предност на студијата се смета репрезентативниот примерок на испитаници кои беа вклучени во студијата.

За недостатоци на студијата се сметаат нејзиниот ретроспективен карактер, неможност за собирање на податоци со кои би се анализирале факторите и кофакторите за HPV инфекцијата, неможноста за скорирање на степенот на болка при изведување на третманот.

8. Додадок

Користени кратенки

HPV- хуман папиломавирус

GLOBOCAN- Глобална опсерваторија за канцер

IARC- Интернационална агенција за истражување на канцер

DNA- дезоксирибонуклеинска киселина

L гени- доцни гени

E гени- рани гени

ORF- читачки генетски секвенци

URR- нагорен регулаторен регион

MHC- мајорен комплекс на хистокомпатибилност

TLR- рецептор налик на патарина

INF α - интерферон алфа

INF β - интерферон бета

Rb- ретинобластома протеин

TGF β - фактор на раст на тумор бета

TNF α - фактор на некроза на тумор алфа

VLP- партикли кои наликуваат на вирус

TA- транзиторни амплифицирачки клетки

CIN- цервикална интраепителијална неоплазија

VEGF- васкуларен ендотелен фактор за раст

IL- интерлеукин

EMT- епително мезенхимална транзиција

DC- дендритични клетки

NK- клетки природни убијци

APC- антиген презентирачки клетки

Th cells- T- клетки помошнички

CD- кластер на диференцијација

INF γ - интерферон гама

CTL- цитотоксични T лимфоцити

T reg cells- регулаторни T клетки

FDA- Агенција за лекови и храна на Соединетите американски држави

HIV- вирус на хумана имунодефициентност

HSIL- сквамозна интраепителна неоплазија од висок степен
CIS- карцином in situ
PAP- папаниколау тест
ASC- атипични сквамозни клетки
ASC-US- атипични сквамозни клетки со недетерминирано значење
ASC-H- атипични сквамозни клетки кои не можат да исклучат лезија од висок степен
LSIL- сквамозна интраепителна лезија од низок степен
SCC- сквамозен клеточен карцином
AGC- атипични glandularни клетки
AIS- аденокарцином in situ
C3O- Светска здравствен организација
LBC- цитологија базирана на течен медиум
RNA- рибонуклеинска киселина
PCR- полимераза верижна реакција
HC- хибридно фаќање
RLU- релативни светлосни единици
HPV E6/E7 mRNA- хуман папиломавирус E6/E7 гласник рибонуклеинска киселина тест
NASBA- есеј базиран на секвенци на нуклеински киселини
NGS- есеј за секвенционирање од наредната генерација
VIA- инспекција со помош на оцетна киселина
POBASCAM- рандомизирана контролирана студија на популација, за имплементација на тестирањето за високоризични HPV како цервикален скрининг
hrHPV- високоризичен HPV
ATHENA- студија за потенцирање на потребата за унапредување на дијагностиката на HPV
ACOG- Американски колеџ за акушерство и гинекологија
ASCCP- Американско здружение за колпоскопија и цервикална патологија
SGO- Здружение за гинеколошка онкологија
USPSTF- Работна група на превентивната служба на САД
ACS- Американско друштво за рак
TZ- трансформациона зона

LLETZ- ексцизија на трансформациона зона со голема јамка
CO₂ – јаглероден диоксид
LEEP- електрохируршка ексцизија со јамка
SWETZ- ексцизија на трансформациона зона со права жица
NETZ- ексцизија на трансформациона зона со игла
CDC- Центар за контрола и превенција на болести
ALA- PDT- фотодинамична терапија со 5 аминолевулинска киселина
TCA- трихлороцетна киселина
ESGO- Европско здружение за гинеколошка онкологија
ИГ1- испитувана група 1
ИГ2- испитувана група 2
КГ- контролна група
VAS- визуелна аналогна скала

9. Користена литература (References)

1. Okunade KS. Human papillomavirus and cervical cancer. *J Obstet Gynaecol.* 2020 Jul;40(5):602-608. doi: 10.1080/01443615.2019.1634030. Epub 2019 Sep 10. Erratum in: *J Obstet Gynaecol.* 2020 May;40(4):590. PMID: 31500479; PMCID: PMC7062568.
2. Human papillomaviruses. *World Health Organization, International Agency for Research on Cancer.* 2007. p. 36. ISBN 978-92-832-1290-4. Retrieved 7 September 2020
3. Picken RN, Yang HL (December 1987). "The integration of HPV-18 into HeLa cells has involved duplication of part of the viral genome as well as human DNA flanking sequences". *Nucleic Acids Research.* 15 (23) 10068. doi:10.1093/nar/15.23.10068. PMC 306572. PMID 2827110
4. The Editors of Encyclopaedia Britannica. (2019, March 7). Harald zur Hausen. Retrieved from Encyclopædia Britannica: <https://www.britannica.com/biography/Harald-zur-Hausen>
5. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021 May;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660. Epub 2021 Feb 4. PMID: 33538338.
6. Речица В, Тахири Ј (2020). Рак во Република Северна Македонија 2010-2019
7. Recica V et al. (2020). Cancer registry in Republic of North Macedonia 2020, Institute for Public Health of North Macedonia
8. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 2004 Jun 20;324(1):17-27. doi: 10.1016/j.virol.2004.03.033. PMID: 15183049.
9. Bernard HU, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, zur Hausen H, de Villiers EM. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology.* 2010 May 25;401(1):70-9. doi: 10.1016/j.virol.2010.02.002. Epub 2010 Mar 5. PMID: 20206957; PMCID: PMC3400342

10. Bzhalava D, Eklund C, Dillner J. International standardization and classification of human papillomavirus types. *Virology*. 2015 Feb;476:341-344. doi: 10.1016/j.virol.2014.12.028. Epub 2015 Jan 9. PMID: 25577151.
11. Hernandez BY, Wilkens LR, Zhu X, Thompson P, McDuffie K, Shvetsov YB, Kamemoto LE, Killeen J, Ning L, Goodman MT. Transmission of human papillomavirus in heterosexual couples. *Emerg Infect Dis*. 2008 Jun;14(6):888-94. doi: 10.3201/eid1406.070616. PMID: 18507898; PMCID: PMC2600292.
12. de Villiers EM. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology*. 2013 Oct;445(1-2):2-10. doi: 10.1016/j.virol.2013.04.023. Epub 2013 May 16. PMID: 23683837
13. Galani E, Christodoulou C. Human papilloma viruses and cancer in the post-vaccine era. *Clin Microbiol Infect*. 2009 Nov;15(11):977-81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2009.03032.x. PMID: 19874381
14. Clifford G, Franceschi S. Members of the human papillomavirus type 18 family (alpha-7 species) share a common association with adenocarcinoma of the cervix. *International journal of cancer*. 2008 Apr 1;122(7):1684-5
15. Graham SV. Human papillomavirus: gene expression, regulation and prospects for novel diagnostic methods and antiviral therapies. *Future Microbiol*. 2010 Oct;5(10):1493-506. doi: 10.2217/fmb.10.107. PMID: 21073310; PMCID: PMC3527891
16. Woodham AW, Da Silva DM, Skeate JG, Raff AB, Ambroso MR, Brand HE, Isas JM, Langen R, Kast WM. The S100A10 subunit of the annexin A2 heterotetramer facilitates L2-mediated human papillomavirus infection. *PLoS One*. 2012;7(8):e43519. doi: 10.1371/journal.pone.0043519. Epub 2012 Aug 22. PMID: 22927980; PMCID: PMC3425544
17. Herfs M, Yamamoto Y, Laury A, Wang X, Nucci MR, McLaughlin-Drubin ME, Münger K, Feldman S, McKeon FD, Xian W, Crum CP. A discrete population of squamocolumnar junction cells implicated in the pathogenesis of cervical cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012 Jun 26;109(26):10516-21. doi: 10.1073/pnas.1202684109. Epub 2012 Jun 11. PMID: 22689991; PMCID: PMC3387104
18. Zuna RE, Wang SS, Schiffman M, Solomon D. Comparison of human papillomavirus distribution in cytologic subgroups of low-grade squamous

- intraepithelial lesion. *Cancer*. 2006 Oct 25;108(5):288-97. doi: 10.1002/cncr.22168. PMID: 16952155
19. Cullen AP, Reid R, Campion M, Lörincz AT. Analysis of the physical state of different human papillomavirus DNAs in intraepithelial and invasive cervical neoplasm. *J Virol*. 1991 Feb;65(2):606-12. doi: 10.1128/JVI.65.2.606-612.1991. PMID: 1846186; PMCID: PMC239798
20. Pal A, Kundu R. Human Papillomavirus E6 and E7: The Cervical Cancer Hallmarks and Targets for Therapy. *Front Microbiol*. 2020 Jan 21;10:3116. doi: 10.3389/fmicb.2019.03116. PMID: 32038557; PMCID: PMC6985034
21. Ashrafi GH, Haghshenas MR, Marchetti B, O'Brien PM, Campo MS. E5 protein of human papillomavirus type 16 selectively downregulates surface HLA class I. *Int J Cancer*. 2005 Jan 10;113(2):276-83. doi: 10.1002/ijc.20558. PMID: 15386416
22. Zhang B, Li P, Wang E, Brahmi Z, Dunn KW, Blum JS, Roman A. The E5 protein of human papillomavirus type 16 perturbs MHC class II antigen maturation in human foreskin keratinocytes treated with interferon-gamma. *Virology*. 2003 May 25;310(1):100-8. doi: 10.1016/s0042-6822(03)00103-x. PMID: 12788634
23. Buck CB, Day PM, Thompson CD, Lubkowski J, Lu W, Lowy DR, Schiller JT. Human alpha-defensins block papillomavirus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Jan 31;103(5):1516-21. doi: 10.1073/pnas.0508033103. Epub 2006 Jan 23. PMID: 16432216; PMCID: PMC1360544
24. Iavazzo C, Pitsouni E, Athanasiou S, Falagas ME. Imiquimod for treatment of vulvar and vaginal intraepithelial neoplasia. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2008 Apr 1;101(1):3-10
25. Mhatre M, McAndrew T, Carpenter C, Burk RD, Einstein MH, Herold BC. Cervical intraepithelial neoplasia is associated with genital tract mucosal inflammation. *Sex Transm Dis*. 2012 Aug;39(8):591-7. doi: 10.1097/OLQ.0b013e318255aeef. PMID: 22801340; PMCID: PMC3981065
26. Deligeoroglou E, Giannouli A, Athanasopoulos N, Karountzos V, Vatopoulou A, Dimopoulos K, Creatas G. HPV infection: immunological aspects and their utility in future therapy. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2013;2013:540850. doi: 10.1155/2013/540850. Epub 2013 Aug 20. PMID: 24023507; PMCID: PMC3762170
27. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, Snijders PJ, Peto J, Meijer CJ, Muñoz N. Human papillomavirus is a necessary

cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999 Sep;189(1):12-9. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(199909)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F. PMID: 10451482

28. Singh DK, Anastos K, Hoover DR, Burk RD, Shi Q, Ngendahayo L, et al. Human papillomavirus infection and cervical cytology in HIV-infected and HIV-uninfected Rwandan women. *J Infect Dis* 2009; 199(12): 1851–1861
29. Stuardo V, Agustí C, Godinez JM, Montoliu A, Torné A, Tarrats A, Alcalde C, Martín D, Fernández-Montoli E, Vanrell C, Solé J, Canet Y, Marqueta JM, Mohamed J, Cuenca I, Lonca M, Sirera G, Ferrer E, Domingo P, Lloveras B, Miro JM, De Sanjosé S, Casabona J. Human papillomavirus infection in HIV-1 infected women in Catalonia (Spain): implications for prevention of cervical cancer. *PLoS One.* 2012;7(10):e47755. doi: 10.1371/journal.pone.0047755. Epub 2012 Oct 30. PMID: 23118894; PMCID: PMC3484159
30. Clarke B, Chetty R. Postmodern cancer: the role of human immunodeficiency virus in uterine cervical cancer. *Mol Pathol.* 2002 Feb;55(1):19-24. doi: 10.1136/mp.55.1.19. PMID: 11836442; PMCID: PMC1187141
31. International Collaboration of Epidemiological Studies of Cervical Cancer, Appleby P, Beral V, Berrington de González A, Colin D, Franceschi S, Goodhill A, Green J, Peto J, Plummer M, Sweetland S. Cervical cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data for 16,573 women with cervical cancer and 35,509 women without cervical cancer from 24 epidemiological studies. *Lancet.* 2007 Nov 10;370(9599):1609-21. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61684-5. PMID: 17993361
32. DeMarini DM. Genotoxicity of tobacco smoke and tobacco smoke condensate: a review. *Mutat Res.* 2004 Nov;567(2-3):447-74. doi: 10.1016/j.mrrev.2004.02.001. PMID: 15572290
33. Roura E, Castellsagué X, Pawlita M, Travier N, Waterboer T, Margall N, Bosch FX, de Sanjosé S, Dillner J, Gram IT, Tjønneland A, Munk C, Pala V, Palli D, Khaw KT, Barnabas RV, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Fagherazzi G, Kaaks R, Lukanova A, Steffen A, Trichopoulou A, Trichopoulos D, Klinaki E, Tumino R, Sacerdote C, Panico S, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, Lund E, Weiderpass E, Redondo ML, Sánchez MJ, Tormo MJ, Barricarte A, Larrañaga N, Ekström J, Hortlund M, Lindquist D, Wareham N, Travis RC, Rinaldi S, Tommasino M, Franceschi S, Riboli E. Smoking as a major risk factor for cervical cancer and

- pre-cancer: results from the EPIC cohort. *Int J Cancer*. 2014 Jul 15;135(2):453-66. doi: 10.1002/ijc.28666. Epub 2014 Jan 6. PMID: 24338632
34. Autier P, Coibion M, Huet F, Grivegne AR. Transformation zone location and intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. *Br J Cancer*. 1996 Aug;74(3):488-90. doi: 10.1038/bjc.1996.388. PMID: 8695371; PMCID: PMC2074626
35. Williams VM, Filippova M, Soto U, Duerksen-Hughes PJ. HPV-DNA integration and carcinogenesis: putative roles for inflammation and oxidative stress. *Future Virol*. 2011 Jan 1;6(1):45-57. doi: 10.2217/fvl.10.73. PMID: 21318095; PMCID: PMC3037184
36. Winer RL, Lee SK, Hughes JP, Adam DE, Kiviat NB, Koutsky LA. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol*. 2003 Feb 1;157(3):218-26. doi: 10.1093/aje/kwf180. Erratum in: *Am J Epidemiol*. 2003 May 1;157(9):858. PMID: 12543621
37. Watson RA. Human Papillomavirus: Confronting the Epidemic-A Urologist's Perspective. *Rev Urol*. 2005 Summer;7(3):135-44. PMID: 16985824; PMCID: PMC1477576.
38. Finan RR, Musharrafieh U, Almawi WY. Detection of Chlamydia trachomatis and herpes simplex virus type 1 or 2 in cervical samples in human papilloma virus (HPV)-positive and HPV-negative women. *Clin Microbiol Infect*. 2006 Sep;12(9):927-30. doi: 10.1111/j.1469-0691.2006.01479.x. PMID: 16882302
39. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002 Dec 19-26;420(6917):860-7. doi: 10.1038/nature01322. PMID: 12490959; PMCID: PM
40. Richart RM. Cervical intraepithelial neoplasia. *Pathol Annu*. 1973;8:301-28. PMID: 4583016
41. Apgar BS, Zoschnick L, Wright TC Jr. The 2001 Bethesda System terminology. *Am Fam Physician*. 2003 Nov 15;68(10):1992-8. PMID: 14655809
42. Pangarkar MA. The Bethesda System for reporting cervical cytology. *Cytojournal*. 2022 Apr 30;19:28. doi: 10.25259/CMAS_03_07_2021. PMID: 35673697; PMCID: PMC9168399
43. Layfield LJ. The Papanicolaou Society of Cytopathology classification for pulmonary specimens: an overview. *Cytopathology*. 2016 Jun;27(3):149-52. doi: 10.1111/cyt.12344. PMID: 27221749

44. Tan SY, Tatsumura Y. George Papanicolaou (1883-1962): Discoverer of the Pap smear. *Singapore Med J.* 2015 Oct;56(10):586-7. doi: 10.11622/smedj.2015155. PMID: 26512152; PMCID: PMC4613936
45. Sørbye SW, Suhrke P, Revå BW, Berland J, Maurseth RJ, Al-Shibli K. Accuracy of cervical cytology: comparison of diagnoses of 100 Pap smears read by four pathologists at three hospitals in Norway. *BMC Clin Pathol.* 2017 Aug 29;17:18. doi: 10.1186/s12907-017-0058-8. PMID: 28860942; PMCID: PMC5576325
46. Nanda K, McCrory DC, Myers ER, Bastian LA, Hasselblad V, Hickey JD, Matchar DB. Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med.* 2000 May 16;132(10):810-9. doi: 10.7326/0003-4819-132-10-200005160-00009. PMID: 10819705
47. Nkwabong E, Laure Bessi Badjan I, Sando Z. Pap smear accuracy for the diagnosis of cervical precancerous lesions. *Trop Doct.* 2019 Jan;49(1):34-39. doi: 10.1177/0049475518798532. Epub 2018 Sep 15. PMID: 30222058
48. Pankaj S, Nazneen S, Kumari S, Kumari A, Kumari A, Kumari J, Choudhary V, Kumar S. Comparison of conventional Pap smear and liquid-based cytology: A study of cervical cancer screening at a tertiary care center in Bihar. *Indian J Cancer.* 2018 Jan-Mar;55(1):80-83. doi: 10.4103/ijc.IJC_352_17. PMID: 30147099
49. Karimi-Zarchi M, Peighambari F, Karimi N, Rohi M, Chiti Z. A Comparison of 3 Ways of Conventional Pap Smear, Liquid-Based Cytology and Colposcopy vs Cervical Biopsy for Early Diagnosis of Premalignant Lesions or Cervical Cancer in Women with Abnormal Conventional Pap Test. *Int J Biomed Sci.* 2013 Dec;9(4):205-10. PMID: 24711755; PMCID: PMC3884789
50. Yu, Li; Chen, Xun; Liu, Xubin; Fei, Lingyan; Ma, Hanyu; Tian, Tian; et al. (2022): Table_1_Significance of Triple Detection of p16/ki-67 Dual-Staining, Liquid-Based Cytology and HR HPV Testing in Screening of Cervical Cancer: A Retrospective Study.docx. *Frontiers. Dataset.* <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.915418.s001>
51. Digene, Inc. Hybrid capture technology. http://www.digene.com/customer/techsup/hcs_tech.htm. (Accessed January 2000)
52. Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, et al. HPV DNA testing in cervical cancer screening: results from women in a high-risk province of Costa Rica *Journal of the American Medical Association* 283:87–93 (2000)

53. HPV DNA Testing: Technical and Programmatic Issues for Cervical Cancer
10. Prevention in Low-Resource Settings Curt Malloy, M.S. 2000
54. Dabeski D. Comparison Between HPV DNA Testing and HPV E6/E7 MRNA Testing in Women with Squamous Cell Abnormalities of the Uterine Cervix 2019
55. Derby A, Mekonnen D, Woldeamanuel Y, Van Ostade X, Abebe T. HPV E6/E7 mRNA test for the detection of high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN2+): a systematic review. *Infect Agent Cancer*. 2020 Feb 7;15:9. doi: 10.1186/s13027-020-0278-x. PMID: 32047531; PMCID: PMC7006188
56. Giorgi Rossi P, Ronco G, Mancuso P, Carozzi F, Allia E, Bisanzì S, Gillio-Tos A, De Marco L, Rizzolo R, Gustinucci D, Del Mistro A, Frayle H, Confortini M, Iossa A, Cesarini E, Bulletti S, Passamonti B, Gori S, Toniolo L, Barca A, Bonvicini L, Venturelli F, Benevolo M; NTCC2 Working Group. Performance of HPV E6/E7 mRNA assay as primary screening test: Results from the NTCC2 trial. *Int J Cancer*. 2022 Oct 1;151(7):1047-1058. doi: 10.1002/ijc.34120. Epub 2022 Jun 7. PMID: 35579975
57. Arbyn M, Hillemanns P (2018). HPV assays validated for primary cervical cancer screening. *HPV World*. 55:6–9. Available from: <https://www.hpvworld.com/articles/hpv-assays-validated-for-primary-cervical-cancerscreening/>
58. Clarke MA, Gradissimo A, Schiffman M, Lam J, Sollecito CC, Fetterman B, Lorey T, Poitras N, Raine-Bennett TR, Castle PE, Wentzensen N, Burk RD. Human Papillomavirus DNA Methylation as a Biomarker for Cervical Precancer: Consistency across 12 Genotypes and Potential Impact on Management of HPV-Positive Women. *Clin Cancer Res*. 2018 May 1;24(9):2194-2202. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3251. Epub 2018 Feb 2. PMID: 29420222; PMCID: PMC5932258
59. Rijkaart DC, Berkhof J, van Kemenade FJ, Coupe VM, Rozendaal L, Heideman DA, Verheijen RH, Bulk S, Verweij W, Snijders PJ, Meijer CJ. HPV DNA testing in population-based cervical screening (VUSA-Screen study): results and implications. *Br J Cancer*. 2012 Feb 28;106(5):975-81. doi: 10.1038/bjc.2011.581. Epub 2012 Jan 17. PMID: 22251922; PMCID: PMC3305964
60. Rijkaart DC, Berkhof J, Rozendaal L, van Kemenade FJ, Bulkman NW, Heideman DA, Kenter GG, Cuzick J, Snijders PJ, Meijer CJ. Human papillomavirus testing for the detection of high-grade cervical intraepithelial neoplasia and cancer: final

- results of the POBASCAM randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2012 Jan;13(1):78-88. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70296-0. Epub 2011 Dec 14. PMID: 22177579.
61. Wright TC, Stoler MH, Behrens CM, Sharma A, Zhang G, Wright TL. Primary cervical cancer screening with human papillomavirus: end of study results from the ATHENA study using HPV as the first-line screening test. *Gynecol Oncol.* 2015 Feb;136(2):189-97. doi: 10.1016/j.ygyno.2014.11.076. Epub 2015 Jan 8. PMID: 25579108
62. Updated Cervical Cancer Screening Guidelines Practice Advisory April 2021 By reading this page you agree to ACOG's Terms and Conditions
63. Fontham ET, Wolf AM, Church TR, Etzioni R, Flowers CR, Herzig A, et al. Cervical cancer screening for individuals at average risk: 2020 guideline update from the American Cancer Society. *CA Cancer J Clin* 2020;70:321–46. Available at: <https://acsjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.3322/caac.21628>
64. WHO guideline for screening and treatment of cervical pre-cancer lesions for cervical cancer prevention, second edition 2021
65. Campos NG, Alfaro K, Maza M, Sy S, Melendez M, Masch R, et al. (2020). The cost-effectiveness of human papillomavirus self-collection among cervical cancer screening non-attenders in El Salvador. *Prev Med.* 131:105931.
66. Arbyn M, Smith SB, Temin S, Sultana F, Castle P; Collaboration on Self-Sampling and HPV Testing (2018). Detecting cervical precancer and reaching underscreened women by using HPV testing on self samples: updated meta-analyses. *BMJ.* 363:k4823
67. Senkomago V, Ting J, Kwatampora J, Gukare H, Mugo N, Kimani J, et al. (2018). High-risk HPV-RNA screening of physician- and self-collected specimens for detection of cervical lesions among female sex workers in Nairobi, Kenya. *Int J Gynaecol Obstet.* 143(2):217–24
68. Hu L, Bell D, Antani S, Xue Z, Yu K, Horning MP, et al. (2019). An observational study of deep learning and automated evaluation of cervical images for cancer screening. *J Natl Cancer Inst.* 111(9):923–32.
69. Ирина Луческа. (2018). Политиките и практиките за пимарна превенција и рана детекција на цервикален канцер во Македонија. Скопје. Хера
70. Проф. д-р Елена Ќосевска, Прим. д-р Стефанка Перева, Надица Ташева, Перица Лазаровски (2014). Информација за состојбата и постигнати

резултати од скрининг на грло на матка кај жените во Република Македонија на возраст од 36-48 години во 2013, Институт за јавно здравје на Република Македонија

71. International Agency for Research on Cancer. IARC handbooks of cancer prevention: cervical cancer screening, Vol. 18. Lyon, France: IARC Press; 2021
72. Bansal N, Wright JD, Cohen CJ, Herzog TJ. Natural history of established low grade cervical intraepithelial (CIN 1) lesions. *Anticancer research*. 2008 May 1;28(3B):1763-6
73. Massad LS, Einstein MH, Huh WK, Katki HA, Kinney WK, Schiffman M, Solomon D, Wentzensen N, Lawson HW. 2012 updated consensus guidelines for the management of abnormal cervical cancer screening tests and cancer precursors. *Obstetrics & Gynecology*. 2013 Apr 1;121(4):829-46.
74. Berek JS. *Berek & Novak's Gynecology* 14th ed. 2007. Wolters Kluwer
75. Hoffman B, Schorge J, Bradshaw K, Halvorson L, Schaffer J, Corton M. *Williams Gynecology*, Third edition. 2016. McGraw Hill Education
76. Nica A, Marchocki Z, Gien LT, Kupets R, Vicus D, Covens A (2021). Cervical conization and lymph node assessment for early stage low-risk cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 31(3):447–51.
77. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, 2021
78. Ahn WS, Huh SW, Bae SM, Lee IP, Lee JM, Namkoong SE, Kim CK, Sin JI. A major constituent of green tea, EGCG, inhibits the growth of a human cervical cancer cell line, CaSki cells, through apoptosis, G(1) arrest, and regulation of gene expression. *DNA Cell Biol*. 2003 Mar;22(3):217-24. doi: 10.1089/104454903321655846. PMID: 12804120
79. Di Domenico F, Foppoli C, Coccia R, Perluigi M. Antioxidants in cervical cancer: chemopreventive and chemotherapeutic effects of polyphenols. *Biochim Biophys Acta*. 2012 May;1822(5):737-47. doi: 10.1016/j.bbadis.2011.10.005. Epub 2011 Oct 12. PMID: 22019724
80. Myung SK, Ju W, Kim SC, Kim H; Korean Meta-analysis (KORMA) Study Group. Vitamin or antioxidant intake (or serum level) and risk of cervical neoplasm: a meta-analysis. *BJOG*. 2011 Oct;118(11):1285-91. doi: 10.1111/j.1471-0528.2011.03032.x. Epub 2011 Jul 12. PMID: 21749626

81. Tao, P., Zheng, W., Meng, X., Chen, J., Sun, A., Shou, Q. ... Yang, B. (2017). Effect of paiteling on human papillomavirus infection of the cervix. *Molecular and Clinical Oncology*, 7, 957-964. <https://doi.org/10.3892/mco.2017.1454>
82. Guo Q, Dong B, Nan F, Guan D and Zhang Y: 5-Aminolevulinic acid photodynamic therapy in human cervical cancer via the activation of microRNA-143 and suppression of the Bcl-2/Bax signaling pathway. *Mol Med Rep* 14: 544-550, 2016
83. Hu Z, Li J, Liu H, Liu L, Jiang L, Zeng K, Treatment of latent or subclinical Genital HPV Infection with 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy, *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, Volume 23, 2018, Pages 362-364, ISSN 1572-1000, <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2018.07.014>
84. Rahangdale L, Lippmann QK, Garcia K, Budwit D, Smith JS, van Le L. Topical 5-fluorouracil for treatment of cervical intraepithelial neoplasia 2: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol*. 2014 Apr;210(4):314.e1-314.e8. doi: 10.1016/j.ajog.2013.12.042. Epub 2013 Dec 31. PMID: 24384495.
85. Holmes MM, Weaver SH 2nd, Vermillion ST. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of 5-fluorouracil for the treatment of cervicovaginal human papillomavirus. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 1999;7(4):186-9. doi: 10.1002/(SICI)1098-0997(1999)7:4<186::AID-IDOG4>3.0.CO;2-Z. PMID: 10449266; PMCID: PMC1784744
86. Davila GW, Shroyer KR. Topical 5-fluorouracil in the treatment of cervical human papillomavirus infection. *Gynecol Obstet Invest*. 1996;41(4):275-7. doi: 10.1159/000292283. PMID: 8793499
87. Shi HJ, Song H, Zhao QY, Tao CX, Liu M, Zhu QQ. Efficacy and safety of combined high-dose interferon and red light therapy for the treatment of human papillomavirus and associated vaginitis and cervicitis: A prospective and randomized clinical study. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Sep;97(37):e12398. doi: 10.1097/MD.00000000000012398. PMID: 30213012; PMCID: PMC6156011
88. Tapilskaya, N. I., Vorobtsova, I. N., Gaidukov, S. N., & Proshin, S. N. (2015). Efficacy and safety of imiquimod in the treatment of subclinical and clinical forms of persistent cervical papillomavirus infection in patients of early reproductive age. *Gynecology*, 17(1), 14-
89. Регистар за лекови на Република Македонија, 2010 година

90. Kovachev SM. A Review on Inosine Pranobex Immunotherapy for Cervical HPV-Positive Patients. *Infect Drug Resist.* 2021 Jun 2;14:2039-2049. doi: 10.2147/IDR.S296709. PMID: 34103950; PMCID: PMC8180272
91. Budanov PV, Churganova AA, Bakhtiyarov KR, Strizhakov AN. Human papillomavirus infection: the efficacy of treatment with inosine pranobex. *Gynecology.* 2015;17(6):56–59. doi: 10.26442/2079-5696_17.6.56-59
92. Eliseeva M.Yu., Manukhin I.B., Mynbaev O.A., Zvereva N.S., Mishutina A.A., Tcarev V.N. Antiviral effect of isoprinosine in HPV-associated diseases. *Scientific and practical journal, Obstetrics and Gynecology.* 2012. Russian Federation
93. FDA Briefing Document Pharmacy Compounding Advisory Committee (PCAC) Meeting November 3, 2016
94. Mackay JM, Fox V, Griffiths K et al. (1995). Trichloroacetic acid: investigation into the mechanism of chromosomal damage in the in vitro human lymphocyte cytogenetic assay and the mouse bone marrow micronucleus test. *Carcinogenesis,* 16: 1127–1133. doi:10.1093/carcin/16.5.1127 PMID:7767975
95. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 106. IARC. 2014. ISBN-13 (Buy Print Book). 978-92-832-0144
96. Rajalingam D, Loftis C, Xu JJ, Kumar TK. Trichloroacetic acid-induced protein precipitation involves the reversible association of a stable partially structured intermediate. *Protein Sci.* 2009 May;18(5):980-93. doi: 10.1002/pro.108. PMID: 19388015; PMCID: PMC2771300
97. Nuranna L, Lubis DN, Arozal W, Purbadi S, Barinda AJ, Purwoto G, Rustamadji P, Putra AD, Utami TW, Kekalih A. Pilot Study on the Effect of a Single Topical Application of Trichloroacetic Acid 85% on Normal Cervical Tissue. *Front Pharmacol.* 2022 May 20;13:880333. doi: 10.3389/fphar.2022.880333. PMID: 35668953; PMCID: PMC9164303
98. Geisler S, Speiser S, Speiser L, Heinze G, Rosenthal A, Speiser P. Short-Term Efficacy of Trichloroacetic Acid in the Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia. *Obstet Gynecol.* 2016 Feb;127(2):353-9. doi: 10.1097/AOG.0000000000001244. PMID: 26942365
99. 2022-RA-1369-ESGO TRICIN: A PHASE II TRIAL ON THE EFFICACY OF TOPICAL TRICHLOROACETIC ACID IN PATIENTS WITH CERVICAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA Richard Schwameis, Julia Ganhoer-Schimboeck, Victoria Laudia Hadjari, Lukas Hefler, Birgit Bergmeister, Tatjana

Kuessel, Gunda Gittler, Theodora Steindl-Schoenhuber Christoph Grimm.
10.1136/ijgc-2022-ESGO.119

100. Ouh YT, Min KJ, Cho HW, Ki M, Oh JK, Shin SY, Hong JH, Lee JK. Prevalence of human papillomavirus genotypes and precancerous cervical lesions in a screening population in the Republic of Korea, 2014-2016. *J Gynecol Oncol*. 2018 Jan;29(1):e14. doi: 10.3802/jgo.2018.29.e14. PMID: 29185272; PMCID: PMC5709524.
101. Alarcón-Romero LDC, Organista-Nava J, Gómez-Gómez Y, Ortiz-Ortiz J, Hernández-Sotelo D, Del Moral-Hernández O, Mendoza-Catalán MA, Antaño-Arias R, Leyva-Vázquez MA, Sales-Linares N, Antonio-Véjar V, Illades-Aguiar B. Prevalence and Distribution of Human Papillomavirus Genotypes (1997-2019) and Their Association With Cervical Cancer and Precursor Lesions in Women From Southern Mexico. *Cancer Control*. 2022 Jan-Dec; 29:10732748221103331. doi:10.1177/10732748221103331. PMID: 35608056; PMCID: PMC9136461.
102. De Vuyst H, Clifford G, Li N, Franceschi S. HPV infection in Europe. *Eur J Cancer*. 2009 Oct;45(15):2632-9. doi: 10.1016/j.ejca.2009.07.019. Epub 2009 Aug 24. PMID: 19709878.
103. Martins TR, Mendes de Oliveira C, Rosa LR, de Campos Centrone C, Rodrigues CL, Villa LL, Levi JE. HPV genotype distribution in Brazilian women with and without cervical lesions: correlation to cytological data. *Virology*. 2016 Aug 12;13:138. doi: 10.1186/s12985-016-0594-3. PMID: 27515763; PMCID: PMC4982268.
104. Wang, X., Song, Y., Wei, X. et al. Prevalence and distribution of human papillomavirus genotypes among women attending gynecology clinics in northern Henan Province of China. *Virology* 19, 6 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01732-8>
105. Ma M, Zhu J, Yang Y, Wang X, Jin Y, Zhang J, Wu S. The distribution and pathogenic risk of non-9-valent vaccine covered HPV subtypes in cervical lesions. *Cancer Med*. 2022 Mar;11(6):1542-1552. doi: 10.1002/cam4.4532. Epub 2022 Jan 3. PMID: 34981653; PMCID: PMC8921916.
106. Kabir A, Bukar M, Nggada HA, Rann HB, Gidado A, Musa AB. Prevalence of human papillomavirus genotypes in cervical cancer in Maiduguri, Nigeria. *Pan*

- Afr Med J. 2019 Aug 5;33:284. doi: 10.11604/pamj.2019.33.284.18338. PMID: 31692869; PMCID: PMC6815519.
107. Arbyn M, Benoy I, Simoens C, Bogers J, Beutels P, Depuydt C. Prevalence distribution of human papillomavirus types in women attending at cervical cancer screening in Belgium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009. Jan;18(1):321–30. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0510
 108. Kjaer SK, van den Brule AJ, Paull G, Svare EI, Sherman ME, Thomsen BL, Sunmum M, Bock JE, Poll PA, Meijer CJ. Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ.* 2002 Sep 14;325(7364):572. doi: 10.1136/bmj.325.7364.572. Erratum in: *BMJ.* 2016 May 18;353:i2820. PMID: 12228133; PMCID: PMC124551.
 109. Adebamowo SN, Olawande O, Famooto A, Dareng EO, Offiong R, Adebamowo CA; H3Africa ACCME Research Group. Persistent Low-Risk and High-Risk Human Papillomavirus Infections of the Uterine Cervix in HIV-Negative and HIV-Positive Women. *Front Public Health.* 2017 Jul 21;5:178. doi: 10.3389/fpubh.2017.00178. PMID: 28785554; PMCID: PMC5519520.
 110. Carozzi F, De Marco L, Gillio-Tos A, Del Mistro A, Girlando S, Baboci L, Trevisan M, Burrioni E, Grasso S, Giorgi Rossi P, Ronco G; NTCC Working Group. Age and geographic variability of human papillomavirus high-risk genotype distribution in a large unvaccinated population and of vaccination impact on HPV prevalence. *J Clin Virol.* 2014 Jul;60(3):257-63. doi: 10.1016/j.jcv.2014.04.009. Epub 2014 Apr 18. PMID: 24815381.
 111. Aro K, Nieminen P, Louvanto K, Jakobsson M, Virtanen S, Lehtinen M, Dillner J, Kalliala I. Age-specific HPV type distribution in high-grade cervical disease in screened and unvaccinated women. *Gynecol Oncol.* 2019 Aug;154(2):354-359. doi: 10.1016/j.ygyno.2019.05.024. Epub 2019 Jun 5. PMID: 31176553.
 112. Brown DR, Shew ML, Qadadri B, Neptune N, Vargas M, Tu W, et al. A longitudinal study of genital human papillomavirus infection in a cohort of closely followed adolescent women. *J Infect Dis.* 2005;191:182–192
 113. Cho HW, So KA, Lee JK, Hong JH. Type-specific persistence or regression of human papillomavirus genotypes in women with cervical intraepithelial neoplasia 1: A prospective cohort study. *Obstet Gynecol Sci.* 2015 Jan;58(1):40-5. doi:

- 10.5468/ogs.2015.58.1.40. Epub 2015 Jan 16. PMID: 25629017; PMCID: PMC4303751.
114. Malviya VK, Deppe G, Pluszczynski R, Boike G. Trichloroacetic acid in the treatment of human papillomavirus infection of the cervix without associated dysplasia. *Obstet Gynecol.* 1987 Jul;70(1):72-4. PMID: 3037457.
115. Menéndez Velázquez JF, González Sánchez JL, Rodríguez de Santiago JD, Muñoz Reyes R, Bailón Uriza R. Tratamiento de la infección cervical por el virus del papiloma humano (VPH) con ácido tricloroacético [The treatment of cervical human papillomavirus (HPV) infection with trichloroacetic acid]. *Ginecol Obstet Mex.* 1993 Feb;61:48-51. Spanish. PMID: 8406118.
116. Boothby RA, Carlson JA, Rubin M, Morgan M, Mikuta JJ. Single application treatment of human papillomavirus infection of the cervix and vagina with trichloroacetic acid: a randomized trial. *Obstet Gynecol.* 1990 Aug;76(2):278-80. PMID: 2164652.
117. Ayatollahi H, Ershadimoghaddam S, Naji S, Yekta Z, Jalali Z. Comparison between Single Versus Twice Application of Topical 85% Trichloroacetic Acid in the Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia; A Randomized Clinical Trial on Efficacy and Tolerability. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2022 Mar 1;23(3):947-952. doi: 10.31557/APJCP.2022.23.3.947. PMID: 35345367; PMCID: PMC9360930.
118. Suwartono H, Andrijono (2020). Efficacy of Trichloroacetic acid (TCA) compared to cryotherapy in treating patients with positive VIA result. *INAJOG.* doi,org/10.32771/inajog.v8i4.1382
119. Stanley MA. Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus. *Clin Microbiol Rev.* 2012 Apr;25(2):215-22. doi: 10.1128/CMR.05028-11. PMID: 22491770; PMCID: PMC3346303.
120. Kedrova AG, Podisov YI, Kuznetsov VV, Bryugzin VV, Kozachenko VP, Nikogosyan SO. Role of antiviral therapy in the complex treatment of patients with epithelial dysplasias and preinvasive cancer of the cervix uteri. *Akush Ginekol.* 2006;6:27–30