



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Ústav epidemiologie

Epidemiologický význam lidských papilomavirů

Epidemiological Importance of Human Papillomaviruses

Diplomová práce

Praha, září 2007

Martina Sujová

Autor práce: Martina Sujová

Studijní program: Všeobecné lékařství s preventivním zaměřením

Vedoucí práce: **MUDr. Jana Dáňová, PhD.**

Pracoviště vedoucího práce: **Ústav epidemiologie 3. LF**

Datum a rok obhajoby: 5. 9. 2007

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci zpracoval/a samostatně a použil/a jen uvedené prameny a literaturu. Současně dávám svolení k tomu, aby tato diplomová práce byla používána ke studijním účelům.

V Praze dne 5. září 2007

Martina Sujová

Obsah

I. Cíl.....	5
II. Úvod.....	6
1. Lidský papilomavirus.....	7
1.1 Základní informace o HPV.....	7
1.1.1 Virologie.....	7
1.1.2 Životní cyklus HPV.....	8
1.1.3 Specifita HPV.....	9
1.2 Dělení HPV.....	9
1.3 Historie výzkumu HPV.....	10
2. Infekce HPV.....	13
2.1 Epidemiologie.....	13
2.2 Klinické projevy infekce HPV.....	14
2.3 Způsob přenosu.....	15
2.4 Diagnostika HPV infekce.....	16
2.5 Terapie HPV infekce.....	20
3. Karcinom děložního hrdla.....	24
3.1 Příznaky.....	24
3.2 Diagnostika.....	24
3.3 Staging.....	25
3.4 Terapie.....	25
4. Prevence.....	27
4.1 Screening.....	27
4.2 Vakcína.....	27
III. Výsledky.....	28
IV. Diskuze.....	38
V. Závěr.....	39
VI. Souhrn.....	40
VII. Summary.....	42
VIII. Seznam použité literatury.....	44

I. Cíl

Téma své diplomové práce Epidemiologický význam lidských papilomavirů jsem si vybrala na základě svého dlouholetého zájmu o gynekologii a tuto problematiku. Hlavním důvodem ale bylo jakési ucelení a zsumírování velkého množství informací, které o této problematice máme.

Také bych ráda poukázala na velké problémy výskytu karcinomu děložního hrdla v České republice, kde hlavním důvodem je podceňování prevence.

II. Úvod

V dnešní době je známo množství agens, u kterých byla prokázána přímá nebo nepřímá souvislost s nádorovým onemocněním. Z DNA virů to jsou HBV (hepatocelulární karcinom), EBV (původce Burkittova lymfomu, nasofaryngeálního karcinomu a Hodgkinovy choroby) a HPV (původce karcinomu děložního hrdla), z RNA virů HTLV I (původce T buněčné leukemie). Hlavním zástupcem bakterií je *Helicobacter pylori*. Z parazitů to jsou *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma japonicum* a *Clonorchis sinensis*.

Souvislost mezi přítomností viru a nádorovým onemocněním:

1. serologická evidence –vyšší prevalence protilátek vůči uvedenému původci
2. virologická evidence –přítomnost viru, jeho genomu v maligních buňkách
3. průkaz onkogenicity–„in vitro“
4. experimentální průkaz–virus nebo virem infikované buňky mohou vyvolat maligní onemocnění u zvířat (hlavně u primátů)
5. protektivní evidence –imunizace proti urč. původci snižuje incidenci nádoru

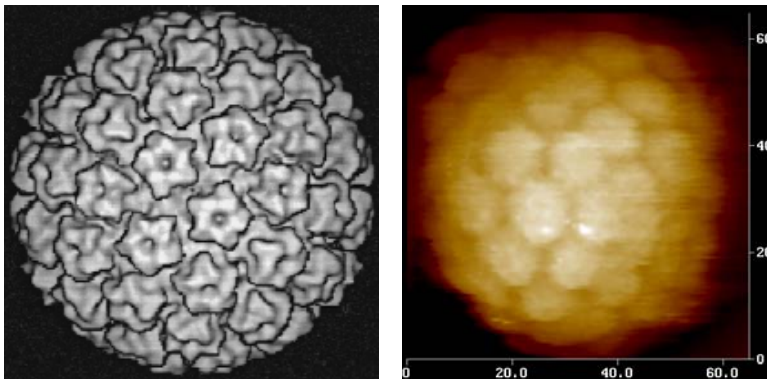
1. Lidský papilomavirus-HPV

1.1 Základní informace o HPV

1.1.1 Virologie

HPV - lidské papilomaviry jsou dsDNA viry, patřící do čeledi Papillomaviridae. Jsou to relativně malé viry s neobalenou ikosahedrální kapsidou o průměru 52 – 55 nm, která je tvořena 72 pentametrickými kapsomerami.

Obr.1 Struktura kapsidy-schematicky (vlevo), v elektronovém mikroskopu (vpravo), přebráno z encyklopedie Wikipedia



Genom je tvořen jednou molekulou dvouvláknové cirkulární DNA o velikosti asi 8 000 párů bází. Obsahuje otevřené čtecí rámce pro tzv. časně geny E1-8 (E – early), pozdní geny L1-2 (L-late) a nekódující oblast (URR-upstream regulatory region, LCR-long control region). Časně geny kódují regulační proteiny uplatňující se v časných fázích infekce při transkripci a translaci virového genomu a onkogenní transformaci buňky. Pozdní geny kódují majoritní a minoritní kapsidový protein. V nekódující oblasti se nacházejí regulační sekvence.

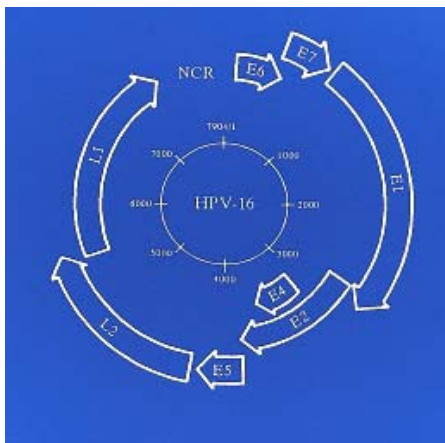
1.1.2 Životní cyklus HPV

Je silně asociován s diferenciací hostitelské buňky, nejčastěji buňkami dlaždicobuněčného epitelu kůže a sliznic. Infekce začíná v jeho bazální vrstvě.

Transport virové DNA do buňky je umožněn pomocí povrchových glykoproteinových receptorů. V jádře dochází k dekapidaci a následné replikaci, která začíná expresí časných proteinů. Bazální vrstva obsahuje buňky, které jsou schopné se pravidelně dělit, takže slouží jako rezervoár pro virus a tím se udržuje perzistentní infekce (Hummel a kol.,1992). Virální genom je uložen extrachromozomálně a je udržována nízká replikace asi 50-100 kopií na buňku (Stubenrauch a Laimins, 1999). Tyto kopie jsou rozděleny do dceřiných buněk.

Produkce virionů probíhá pouze v suprabazální oblasti, čímž je bazální vrstva chráněna od lýzy. Suprabazální vrstvy epitelu jsou permissivní pro virovou transkripci a translaci a vlastní viriony se tvoří jen v diferencovaných keratinocytech horních vrstev epidermis, tedy až v terminálně diferencovaných keratinocytech. Viriony jsou tvořeny spojením pozdních proteinů L1 a L2 spolu s virovou DNA.

Obr. 2 Grafické znázornění genomu HPV 16. Strukturní proteiny L1 a L2 produkované v pozdní fázi replikačního cyklu, proteiny časné fáze E1-E8, NCR-nekódující oblast DNA. Z orig. archivu Dr.R. Tachezy



1.1.3 Specifita HPV

Pro papilomaviry je charakteristická druhová i tkáňová specifita. Zvířecí papilomaviry se vyskytují u mnoha vyšších obratlovců, ale nikdy nebyl popsán případ mezidruhového přenosu. Lidských papilomavirů bylo identifikováno více než 100 genotypů. Z toho je 30 – 40 sexuálně přenosných a infikuje anogenitální oblast.

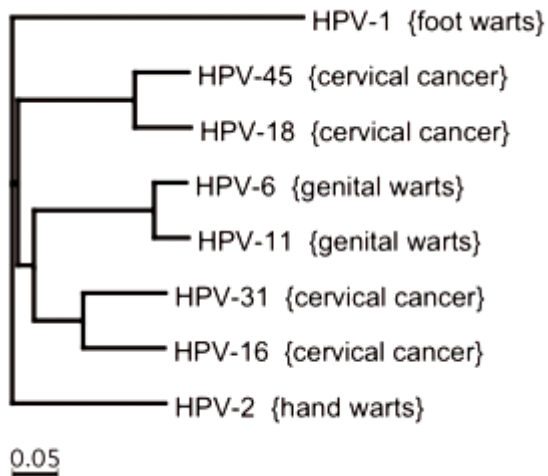
Tkáňová specifita je dána schopností infikovat výhradně mitoticky aktivní bazální vrstvu epitelálních buněk.

1.2 Dělení HPV

- I. Podle typu infikovaného epitelu rozlišujeme typy:
 - a) kožní
 - b) slizniční
- c) typy vyskytující se současně v kůži i sliznicích

- II. Dle rizika vyvolání přednádorových změn v postižené tkáni je dělíme na:
 - a) HPV typy s nízkým rizikem vyvolání přednádorových a nádorových změn - většinou vyvolávají tvorbu kondylomů (např. typ 6, 11, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72 a 81), nejčastěji HPV 6 a 11.
 - b) HPV typy s vysokým rizikem vyvolání přednádorových a nádorových změn cervixu, vagíny, vulvy, anu a penisu (např. typ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 a 68), nejčastěji HPV 16 a 18.

Obr.3 Nejčastější zástupci HPV a jejich projevy



1.3 Historie výzkumu HPV

Genitální bradavice byly známé už za čas Hippokrata. V historii je označovali jako condyloma (= kulatý otok, slovo řeckého původu). Vždy byly považovány za projev nečistoty, promiskuity a nepřirozeného (análního sexu). Po celou dobu se ale genitální bradavice nepovažovaly za sexuálně přenosné onemocnění. Poprvé na to upozornil americký lékař T.J.Barret až v 50. letech 20. století. Zaznamenal, že u vojáků, kteří se vrátili z Korejské války, se objevily bradavice na penisu a u jejich partnerek se vyskytli vulvární bradavice. Tato teorie o sexuálně přenosném onemocnění ale byla přijata širokou odbornou veřejností až za několik let.

Jako první se o identifikaci a charakterizaci papilomavirů pokusil italský lékař Giuseppe Ciuffo, Università di Cagliari v roce 1907. Sám si inokuloval hrubý filtrát z bradavic na předloktí, čímž dokázal, že agens je přenosné.

První důkazy o transformační úloze papilomavirů byly už v roce 1933 v Shopeho a Hursteho práci o infekční papilomatóze králíků (CRPV-cottontail rabbit papillomavirus).

Pro odhalení vztahu papilomavirů k zhoubnému bujení přispěli v roce 1934 Francis Peyton Rous a Beard. Ti publikovali práci o viry indukovaných karcinomatózních změnách papilomů u králíků.

V lidských bradavicích byly virové partikule poprvé potvrzeny pomocí elektronové mikroskopie v roce 1949 Straussem a spol.

Roku 1961 Evans a Ito zjistili, že genom papilomaviru může působit jako samostatný karcinogen.

V genitálních bradavicích byly virové partikule prokázány až v roce 1969.

Nejvíce při výzkumu HPV přispěla skupina kolem prof. zur Hausena z Heidelbergské univerzity. Ten roku 1976 publikoval práci, ve které rozvedl svoji hypotézu o souvislosti karcinomu děložního čípku s výskytem papilomavirů.

První byl izolován HPV 6 z genitálních kondylomat v roce 1980 Gissmanem a spol.

V roce 1982 pozoroval italský lékař D. Rigoni-Stern častější výskyt karcinomu děložního hrdla u vdaných žen a vdov než u žen bez sexuální zkušenosti. Za hlavního podezřelého byl považován HSV-2. Ale toto tvrzení vyvrátil český tým v čele s profesorem Vonkou. Tato skupina prováděla studii, která podala jednoznačný důkaz, že HSV-2 není vyvolavatelem tohoto onemocnění (Vonka a spol., 1984a,b).

Dalším důležitým krokem ve výzkumu se stal objev, kdy specifické geny E6 a E7 virálních typů nalezených v karcinomu děložního čípku jsou pravidelně transkribovány v nádorových buňkách, a že v buněčných nádorových liniích a v bioptických vzorcích se našla integrována virální DNA.

V roce 1989 publikovali Dyson a spol. svůj objev, že vysoce rizikový onkoprotein E7 váže buněčný PB protein. Rok poté prokázaly 2 skupiny vědců Wernes a spol. a Scheffner a spol., že onkoprotein E6 váže i buněčný protein p53. Vede tak k jeho rychlé degradaci. Prof. zur Hausen upozorňuje na to, že předpokladem pro mutace ve specifické signální cestě je indukce chromozomální

nestability. Dále vysvětluje, že nízké rizikové typy virů váží p53 jen slabě nebo vůbec, a pro indukci maligního růstu potřebují další zevní faktory-mutageny.

Po všech těchto zjištěních přichází prof. zur Hausen s hypotézou, že nejprve je důležitá infekce buňky a inkorporace HPV do buněčného genomu. Dále jsou potřebné změny dvou alelových párů v hostitelské buňce. Přičemž první alelový pár je zodpovědný za posttranskripční kontrolu. Po jeho mutaci dochází k přerušení mezibuněčné kontroly produkty aktivovaných makrofágů a vzniku vysoce rizikových lézí. Profesor ještě upozorňuje na to, že imunitní systém nerozeznává takto postižené buňky z několika důvodů. A to buď nemožností překladu antigenů virových bílkovin T-lymfocytům anebo nepřítomností MHC bílkovin, které tento překlad umožňují.

Klinické uplatnění těchto objevů:

V roce 1976 popsali jako první Meisels a Fortin v cytologickém nátěru z děložního čípku tzv. koilocyty (Papanicolaou zaznamenal takové buněčné alterace už v roce 1933, ale blíže je nespecifikoval).

V české literatuře byl typický koilocyt mnohokrát popisován, ale pod názvem dyskeratocyt (Nyklíček a spol. 1985, 1986).

V roce 1981 byl ve velké prospektivní studii prokázán progresivní potenciál rizikových typů, který popsal Syrjänen. Ve své práci upozorňuje na dva důležité úseky HPV infekce. A to na tzv. klinickou a subklinickou infekci.

2. Infekce HPV

2.1 Epidemiologie

V této době se v souvislosti s HPV hovoří o epidemii. Nakažených každým rokem přibývá. WHO odhaduje, že v roce 2001 bylo infikovaných kolem 630 milionů lidí na celém světě. Výsledky projektu ASHA (The American Social Health Association) z roku 2006 jsou velmi pesimistické. Předpokládají, že asi 75% populace v reprodukčním věku (15-50 let) se během svého života se setká s HPV infekcí, z toho 60% se setká s přechodnou formou (typicky mladší ženy) a 10% trpí persistentní formou (hlavně starší ženy).

Studie poukazuje i na to, že HPV infekce se zvýšeně vyskytuje u homosexuálů. Riziko pro vznik karcinomu anální krajiny je 17 až 31krát vyšší u homosexuálních a bisexuálních mužů než u heterosexuálů. Hlavním problémem šíření je i to, že neprobíhá plošný screening testování přítomnosti HPV u mužů.

Rizikové faktory nákazy:

- rizikové sexuální chování – časný začátek sexuálního života, časté střídání partnerů, nepoužívání ochrany (kondomu)
- kouření-kuřačky jsou ohroženy 2krát více
- dlouhodobé užívání hormonální antikoncepce (stále se vedou diskuse)
- HIV infekce
- snížená obranyschopnost
- multiparita
- chlamydiová infekce
- nízké socioekonomické životní podmínky

2.2 Klinické projevy infekce HPV

Klinické spektrum papilomavirových infekcí je poměrně široké a má mnoho patologických obrazů. Postižena bývá anogenitální oblast (zejména děložní hrdlo, pochva, vulva, anus, uretra, penis) či jiné kožní nebo slizniční lokality (spojivky, ústa, nos, larynx).

Nejčastější projevy:

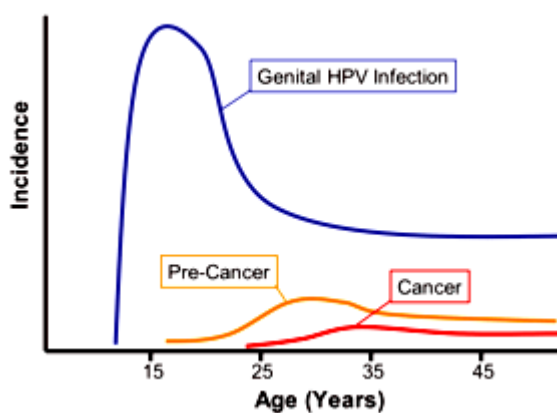
- většina nakažených nemá žádné příznaky infekce. Infekce je diagnostikována až pomocí testů na přítomnost HPV.
- různé typy veruk (verruca palmaris et plantaris, verruca vulgaris, verruca plana, verruca juvenilis), orální papillom, laryngeální papillomatosu, keratosu, keratoakantom, nazální a konjunktivální papillomatosu nebo Buschke-Lowenstein tumor (semimaligní nádor s možností transformace ve spinocelulární karcinom).
- kondylomy na zevních pohlavních orgánech (condyloma accuminata) - jsou to benigní bradavice (viz. obr. 4), které se tvoří v anogenitální krajině. Jsou nejběžnější manifestní formou. Někdy mohou způsobovat svědění, ale většinou jsou bezbolestné. Rozlišujeme špičaté, papilární, papulózní, obří a plošné kondylomy. Výskyt je solitární i v trsech. U žen se vyskytují na malých a velkých stydkých pyscích, klitorisu, v ústí močové trubice, na hrázi, v konečníku a jeho okolí, v pochvě, na čípku a na vestibulu. U mužů jsou v konečníku a jeho okolí, na žaludu, na šourku, v ústí močové trubice a na předkožce.

Obr. 4 Genitální kondylom



- přednádorové změny tkání-cervikální intraepiteliální neoplázie (CIN), vzácně vulvární intraepiteliální neoplázie (VIN) a vaginální intraepiteliální neoplázie (VAIN), v perianální oblasti (PAIN) a u mužů penilní intraepiteliální neoplázie (PIN).
- nádorové projevy- nejčastěji karcinom děložního hrdla a méně časté nádory anogenitální oblasti, krku, hlavy.

Obr. 5 Projevy genitální HPV infekce v časové ose, z encyklopedie Wikipedia



2.3 Způsob přenosu

HPV je vysoce infekční, takže stačí být jen jednou vystaven viru, aby se jím člověk nakazil.

Do organismu vstupuje HPV mikrotraumaty sliznic a kůže. Přenos pohlavním stykem patří k nejčastějším způsobům infikování. HPV infekce je považována za nejrozšířenější virovou pohlavně přenosnou chorobu. Některé studie odhadují, že většina sexuálně aktivní dospělé populace (75-80 %) je v průběhu života

vystavena jednomu nebo více typům HPV virů. Kondom nemusí vždy chránit před jeho přenosem. Nepohlavní přenos ale není vyloučen.

Děti jsou nejčastěji infikovány od matek vertikálním přenosem, tedy intrapartálně při průchodu porodními cestami. Ve velmi malé míře je možný i transplacentární přenos nebo přenos infikovanou plodovou vodou. U dítěte postiženého HPV infekcí probíhá onemocnění pod obrazem hyperplázie ústní sliznice, orálního papilomu nebo se velice zřídka objevují laryngeální papillomatosy /9,13/. U infikovaných dětí je nutno vyloučit pohlavní zneužívání /8,10/.

Úspěch pro přenos je závislý na citlivosti hostitele, na dávce viru a délce kontaktu.

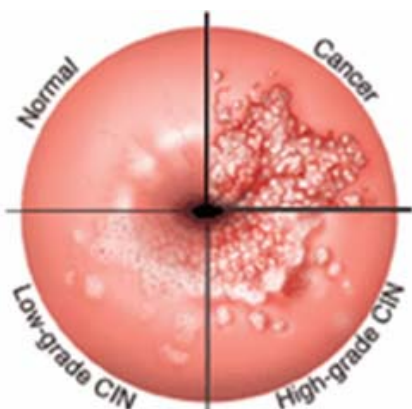
Doba mezi nakažením a prvními příznaky infekce je většinou mezi několika týdny a 8 měsíci, vzácně je i delší.

2.4 Diagnostika HPV infekce

1. Morfologické metody (cytologie, histologie, kolposkopie) umožňují zjistit subklinickou formu infekce. Nejrozšířenější screeningová metoda – cytologické vyšetření stěrů z exo– a endocervixu, barvených dle Papanicolauea, má řadu omezení (citlivost, specifická). Histologie klasifikuje změny v bioptickém materiálu a je definitivním potvrzením diagnózy.

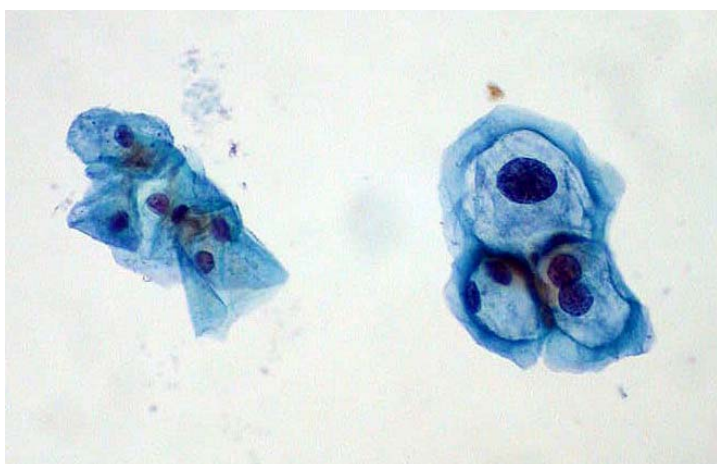
a) Kolposkopie-jako základní prebioptická metoda hodnotí změny nad niveau sliznice (prominující papilomatózní výrůstky, prstíčky, hairy kondylomy, mikropapilomky aj.), změny plošné (členitost a nerovnost povrchu, brain-like gyrifikace), změny barvy epitelu (aplikace kyseliny octové, barvení léze jódem), změny cévního obrazu (arkády, girlandovité cévy). Kolposkop nám umožňuje hodnotit i povrch zevních rodidel a poševní stěny.

Obr. 6 Kolposkopie



b) Cytologie- typickým projevem papillomavirové infekce je vznik tzv. koilocytu (dyskeratocytu). Je pro něj typické 2-3krát zvětšené hyperchromní měchýřkovité jádro s perinukleárním haló. Další obraz přináší tzv. monolayer cytologie, tj. jednovrstevný nátěr a jeho možná kombinace s HPV testem do tzv. double testu/10/. U zdravých žen se provádí preventivně 1krát ročně, při přednádorových změnách podle závažnosti se provádí častěji (každé 4-6 měsíce u nálezu ASCUS, jednou za 6 měsíců u LGSIL).

Obr.7 Stěr z cervixu (barvení dle Papanicolaou): Normální buňky (vlevo), koilocyty(vpravo) Obr. z encyklopedie Wikipedia



Výsledky stěrů z čípku (cytologie) bývají popisovány pomocí některé z následujících klasifikací: CIN systém, PAP klasifikace, Bethesda systém (viz. tab.1).

Tab. 1 Porovnání klasifikací pro stěry z čípku:

Třída	CIN	Popisný systém	Bethesda 2001	Procento HPV pozitivních žen	Procento žen s tímto výsledkem stěru
I	Normální	Bez abnormálních buněk	V mezích normy	2.5 %	90-95 %
II	Normální	Atypické skvamózní buňky (neznámého původu nebo typické pro HPV infekci)	ASCUS, ASCH	40 - 50 % (platí pro ASCUS)	3-5.5 %
III	CIN 1	Lehká dysplázie	LGSIL	75-93 %	1-3 %
III	CIN 2	Středně těžká dysplázie	HGSIL	nad 90 %	
III	CIN 3	Těžká dysplázie	HGSIL	nad 90 %	0.3-0.8 % (to je dohromady pro HGSIL)
IV	CIN 3	Karcinom in situ	HGSIL	nad 90 %	
V	Karcinom	Pozitivní na nádorové buňky	Karcinom	99.7 %	0.02 %

c) **histologie**- kromě koilocytů charakterizuje infikovaný epitel papillomatoza, akantóza, hyper- a parakeratóza. Papillomy nabývají histologických forem kondylomatózních, plochých a invertovaných (endofytických).

2. Elektronově–mikroskopické metody detekují přímo virové partikule. Pro rutinní praxi je provedení velice náročné.

3. Imunochemické metody (pomocí specifických protilátek detekují přítomnost virově–specifických proteinů) jsou málo citlivé a jejich specifita je relativně nízká.

4. Metody detekce HPV DNA-umožňují zjistit i latentní infekci. Dělíme je na techniky hybridizační a amplifikační (úsek HPV DNA před detekcí nejprve namnožen pomocí polymerázové řetězové reakce PCR).

5. Sérologické metody-umožňují zjistit, jestli se organismus s HPV infekcí již setkal. Protilátky proti virově specifickým proteinům jsou detekovány nejčastěji enzymoimunoanalýzou (ELISA). Menší antigenicita HPV infekce a pouze částečná typová specifita limituje validitu sérologických metod. Negativní titry protilátek infekci nevylučují. V poslední době se nejčastěji používají tzv. pseudoviriony (virus–like particles – VLP) (Kirnbauer, 1996). Vznikají spontánně při dostatečně vysoké expresi hlavního kapsidového proteinu L1 v rekombinantních expresních systémech. Na svém povrchu nesou konformační epitopy, které jsou pravděpodobně zodpovědné za vznik neutralizačních protilátek. Detekovatelné hladiny protilátek se v periferní krvi objevují 1–12 měsíců po infekci, jejich množství závisí na intenzitě a délce infekce. Vyskytují se ale i případy, kdy infikované osoby nikdy nevytvoří detekovatelné množství protilátek.

V rutinním provozu je nejpoužívanější metodou detekce HPV infekce metoda přímé hybridizace (komerčně dostupná souprava firmy Digene Hybrid Capture II). V tomto testu hybridizuje HPV DNA v testovaném vzorku se směsí typově specifických HPV RNA prób, hybridní DNA/RNA molekuly se vychytávají na specifické anti–DNA/RNA protilátky zakotvené na pevné fázi a detekují se dále

značenými protilátkami, které se váží na více míst každé hybridní molekuly. Její citlivost je 1 pg (asi 5000 kopií HPV DNA). Nevýhodou je zkřížená reaktivita s typy, které nejsou v próbě obsažené.

Jiné komerční produkty pracují na podkladě detekce PCR produktů pomocí obrácené hybridizace k pevně ukotvené próbě (INNO LiPa firmy Innogenetics (SPF10 primery, 25 HPV typů), MULTIGENE firmy Symbiosis (22 HPV typů) či nová souprava firmy ROCHE). Principem je přidání značeného PCR produktu (např. biotinem) k imobilizovaným typově specifickým próbám. Takto značený produkt je potom detekován reakcí s barevným substrátem.

Citlivost PCR reakce závisí na typu materiálu, který do reakce vstupuje, typ HPV, typ použité Taq polymerázy, citlivost substrátu, délka amplifikovaného fragmentu DNA.

2.5 Terapie HPV infekce

Pomocí testů na přítomnost HPV na děložním čípku bylo prokázáno, že imunitní systém většiny žen se dokáže s nákazou vypořádat. Za 12-18 měsíců by již neměly nikoho nakazit /7/. Tudíž lze předpokládat, že i imunitní systém mužů se dokáže vypořádat s touto infekcí za stejnou dobu.

Léčba přednádorových změn na děložním čípku:

Závažnější změny na děložním čípku jsou léčeny chirurgickým zákrokem, s méně závažnými změnami (lehká dysplazie) se nedělá nic, protože mizí samy u 65,1 % žen, přetrvávají u 20,8 % a dále se zhoršují u 14,2 % žen /2/. Doporučuje se jen užívat multivitaminové přípravky, vysadit hormonální antikoncepci, užívat kondom po dobu 2-3 měsíců a kontroly provádět v intervalu 6-9 měsíců. Pokud CIN 1 přetrvává 2 roky, nebo se dále zhoršuje na CIN 2, tak se přistupuje k chirurgickému zákroku.

Léčba afekcí je zaměřena na likvidaci změn vyvolaných HPV. Terapie infekce dolního genitálního traktu je obtížná, protože úplnou eradikaci viru nelze vždy dosáhnout. Někdy po ošetření jediné léze dochází ke spontánní regresi ostatních (důkaz vlivu imunitního systému).

Rozlišujeme metody:

a) Chemické-aplikace Podophylinu (ligand obsažený v podofylinové pryskyřici) v podobě 20-25% roztoku. Hlavním účinkem je zastavení buněčného dělení v premitotické fázi G2 a dále antimitotické účinky. Používá se zejména na vulvární afekce. Nežádoucími účinky jsou projevy systémové toxicity (leukocytopenie, trombopenie, periferní neuropatie, ileus, retence moči, respirační insuficience aj.). Vznikají po jeho perkutánní resorpci při použití většího množství. Kontraindikován je v graviditě, při laktaci, do 14 let a v případě alergie na podofylin.

Podophylotoxin-výhodnější použití, protože neobsahuje mutagenní alkaloidy a jeho lokální iritabilita i systémová toxicita jsou nižší.

Kyselina trichloroctová v 80-95% koncentraci-používá se na malá kondylomata. Lze ji použít v graviditě, nežádoucí účinky jsou pálení, lokální podráždění, bolest.

5-fluorouracil s kyselinou salicylovou v keratolytické koncentraci-používají se lokálně na vulvární kondylomata. 5-fluorouracil příznivě ovlivňuje intrauretrální léze.

Imunomodulační látky-Interferony (aplikovány intralezionálně), ultrafiltrát humánních leukocytů (intramuskulární aplikace) /10/.

b) Fyzikální a chirurgické-uplatňují se v léčbě verukózních afekcí zevních rodidel a cervikálních afekcí.

Tepelný efekt elektrické energie využívá klasická elektro(diathermo)koagulace.

Účinek chladu-kryoterapie, kryosondy nekrotizuje tkáň do hloubky až 7 mm. V oblasti léze vzniká za 24-36 hodin edém doprovázející odloučení nekrotického ložiska a fází hojení.

Laserová vaporizace (odpaření patologického epitelu). Šetrně ošetřuje superficiální afekce na kůži i sliznicích při stálé kontrole hloubky vaporizace.

Excizní metody (excize, ablace lžičkou nebo kyretou, konizace čípku). I tu však lze dnes provést pomocí laseru. U vhodných cervikálních lézí se provádí další excizní technika, tzv. LEEP konizace (loop elektrosurgical excision procedure) /10, 17/. U lézí s nejistou diagnózou, lézí exulcerovaných, pigmentovaných, krvácejících, lézí větších než 1 cm, fixovaných ke spodině a takových, které nereagují na léčbu, indikujeme biopsii.

c) **HPV vakcíny**-viz. níže

Tab.2 Výsledky cytologie vs. další postup a léčba

Výsledky cytologie (stěrů)	Další postup, popř. léčba
ASCUS (atypické skvamózní buňky neznámého původu)	Opakovat stěry častěji (po 4-6 měsících), dokud nejsou alespoň dva výsledky testů normální nebo kolposkopie nebo HPV test
ASCH (atypické skvamózní buňky charakteristické pro HPV infekci)	Kolposkopie
CIN 1 (LGSIL, lehká dysplázie)	Kolposkopie, popř. biopsie, dle výsledku se pacientka většinou pouze sleduje, někdy však léčí chirurgickým zákrokem
CIN 2 (HGSIL, středně těžká dysplázie)	Kolposkopie, biopsie a chirurgický zákrok (je-li diagnóza potvrzena)
CIN 3 (HGSIL, těžká dysplázie)	Kolposkopie, biopsie a chirurgický zákrok (je-li diagnóza potvrzena)

3. Karcinom děložního hrdla

Karcinom děložního hrdla je z 90% způsoben lidskými papilomaviry (high risk typy 16 a 18). Zbýlých 10 % připadá na HPV negativní karcinomy děložního hrdla se signifikantně horší prognózou a vyšším rizikem relapsu základního onemocnění. /11, 12/. Tyto výsledky jsou závislé na sezitivitě vyšetřovacích metod (dle WHO je ale karcinom cervixu způsoben ze 100% HPV).

Pro vznik karcinomu je důležitá perzistentní HPV infekce (nejčastěji HPV 16, 18). Musí být přítomna minimálně 5-8 let. Proto se karcinom vyskytuje častěji ve vyšším věku. Pod 19 let se nevyskytuje skoro vůbec a do věku 24 let je výskyt jen 2 ženy na 100 000.

Většinou se jedná o dlaždicobuněčný karcinom (85-90%) a ve zbylých 10-15% jde o adenokarcinom, který postihuje hlavně mladší ženy a má horší prognózu.

3.1 Příznaky

Příznaky podle studie /14/ jsou krvácení po pohlavním styku (udávalo 23% pacientek), jiné abnormální krvácení (23%), výtok (7%), pánevní bolest (6%), jiné obtíže-bolesti dolní části zad (2%), ale 39% je zcela bez obtíží.

3.2 Diagnostika

Prekancerózy a časná stadium rakoviny cervixu jsou ve většině případů bezpříznakové. Pacientky si začínají všimnout prvních příznaků až v době invazivního chování nádoru, při poškozování okolí (viz výše).

Proto nejdůležitější pro diagnostiku jsou pravidelné kontroly u gynekologa.

3.3 Staging

Na klasifikaci velikosti a šíření nádoru se využívají 2 hlavní klasifikace: FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) a TNM systém. FIGO systém má 4 základní stádia:

- I. st. karcinom omezený na dělohu
- II. st. karcinom se šíří mimo dělohu, ale nedosahuje pánevních stěn a dolní třetiny pochvy
- III. st. karcinom se šíří k pánevním stěnám
- IV. st. karcinom se šíří na sliznici močového měchýře anebo anu a/nebo mimo malou pánev

3.4 Terapie

Základními léčebnými postupy jsou chirurgický výkon a radioterapie. Chirurgický výkon je omezen pouze na časná stádia onemocnění tj. do stádia IIa (stádium IIa - karcinom se šíří mimo dělohu, ale nedosahuje pánevních stěn a dolní třetiny pochvy).

Chirurgické výkony lze rozdělit na:

1. Konzervativní(= zachovávají pro ženu možnost mít děti):
 - a) konizace děložního čípku - používá se při minimálně invazivních stádiích onemocnění stupně Ia1 a Ia2* (=karcinom omezený na dělohu)
 - b) laparoskopická lymfadenektomie (odstranění pánevních uzlin) s trachelotomií a plastikou čípku - výkon vhodný pro časná stádia onemocnění, tj. stádia Ia a zcela výjimečně malé stádium Ib1 a to pouze za účelem zachování možnosti mít děti. Obvykle následuje po předchozí konizaci.
2. Radikální - je odstraněna i děloha, popř. pánevní a paraaortální uzliny.

Úspěšnost léčby je hodnocena pětiletým přežitím: u stadia I lze předpokládat 5-ti leté přežití u 92 % léčených žen, u stadia II v 75% léčených, ve stadiu III pouze kolem 50 % žen.

4. Prevence

4.1 Screening

Úlohou screeningu je včasné detekování přednádorových a nádorových změn na děložním čípku. Jde o mikroskopické vyšetření cytologického stěru z děložního čípku nebo LBC (liquid based cytology)-cytologie na tenké vrstvě.

Pokud je nález normální, je riziko vzniku karcinomu minimální a pacientce je doporučeno pokračovat v pravidelném screeningu. Při abnormálním výsledku je doporučeno opakovat vyšetření za 3-6 měsíců, test na přítomnost HPV (HPV DNA test), kolposkopické vyšetření, biopsie tkáně ze změněné oblasti.

Oblasti změněných buněk musí být odstraněny, aby nedošlo k malignímu zvratu.

Pouze pravidelně opakovaný screening je nejlepší zbraní v boji s karcinomem cervixu. Přednádorové změny se vždy léčí lépe než nádor. Proto by se měl provádět jednou ročně.

4.2 Vakcína

Profylaktická:

20. 9. 2006 bylo uděleno Evropskou komisí povolení k použití vakcíny proti rakovině děložního hrdla. Je vyráběna společností Merck & Co, Inc. pod názvem Silgard. Toto povolení platí pro 25 členských zemí EU.

Je to rekombinantní vakcína proti HPV typu 6, 11,16, 18. Tato vakcína je první a zatím jediná vakcína v Evropské unii (EU) k prevenci rakoviny děložního hrdla, cervikálních dysplázií/prekarcinomů vysokého stupně (CIN 2/3), vulválních dysplastických lézí vysokého stupně/prekarcenózních (VIN 2/3) a genitálních

bradavic (condyloma acuminata), vyvolávaných HPV typu 6, 11, 16 a 18. Je to jediná vakcína zabraňující rozvoji rakoviny děložního hrdla, prekancerózních lézí a dalších onemocnění vyvolávaných uvedenými typy HPV.

Je doporučována 11-12letým dívkám. Je také určena pro ženy ve věku 13-26 let, ale v ideálním případě by mělo být očkování provedeno ještě před započatím pohlavního života. Očkování je ale prospěšné i pro sexuálně aktivní ženy, které ještě nebyly infikovány.

V USA, Kanadě, Brazílii, Austrálii a na Novém Zélandě je tato vakcína schválena pod názvem Gardasil.

Cena na českém trhu je asi 10 000,- Kč za 3 dávky.

Druhá vakcína má obchodní název Cervarix. Je vyvíjena firmou GlaxoSmithKline a měla by být účinná proti HPV 16 a 18.

Obě tyto vakcíny slouží pouze k profylaxi.

Terapeutická:

Zatím jsou jen ve fázi klinických zkoušek. Byla ukončena 3. fáze klinických zkoušek vakcíny od firmy Transgene. Je určena pro léčbu středně těžké a těžké dysplázie (CIN 2/3). U 50% testovaných žen došlo k vyléčení. Bez jakéhokoliv zásahu by se vyléčilo pouze 20% žen. Další vakcína je vyvíjena společností Nventa Biopharmaceuticals Corporation pod názvem HspE7. Měla by sloužit k terapii změn na děložním čípku, rekurentní respirační papilomatózy a špičatých kondylomů .

III. Výsledky

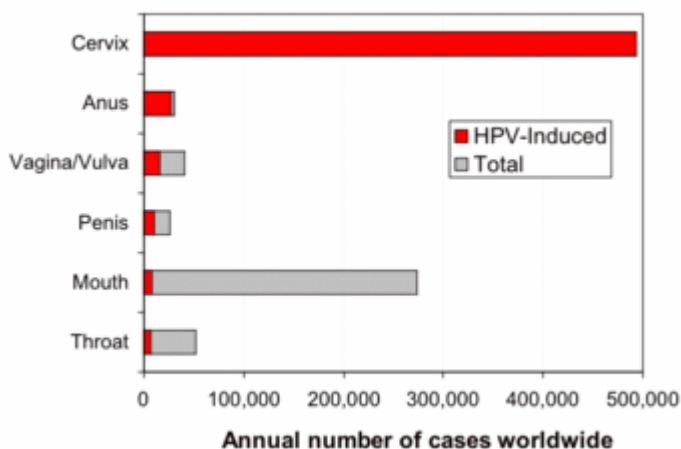
Na základě virologických a epidemiologických studií je odhaduje, že HPV je příčinou skoro 100% karcinomu děložního hrdla, 90% nádorů anální krajiny, 40% nádorů zevních rodidel, nejméně 12% orofaryngeálních nádorů a asi 3% nádorů dutiny ústní /15/.

Zdroj dat, publikovaný roku 2002, obsahuje 186 registrů z celého světa /16/.

Tab. 3 Zastoupení nádorů způsobených HPV

Postižený orgán	Způsobeno HPV(%)	Vyspělé krajiny		Rozvojové krajiny	
		Celkem nádorů	Způsobeno HPV	Celkem nádorů	Způsobeno HPV
Dělož. hrdlo	100	83 400	83 400	409 400	409 400
Penis	40	5200	2 100	21 100	8 400
Vulva,vagina	40	18 300	7 300	21 700	8 700
Anus	90	14 500	13 100	15 900	14 300
Ústní dutina	≥ 3	91 200	2 700	183 100	5 500
Oropharynx	≥12	24 400	2 900	27 700	3 300
CELKEM		237 000	11 500	678 900	449 600

Graf. 1 Celosvětové zastoupení nádorů způsobených HPV



Karcinom děložního hrdla

Karcinom děložního hrdla je druhý nejčastější zhoubný novotvar u žen. V rozvojových krajinách je to nejčastější zhoubný novotvar u žen vůbec. Dle WHO postihuje na celém světě více než 500 tisíc žen ročně a kolem 260 tisíc žen na ni každým rokem umírá. 80% z takto postižených žen připadá na rozvojové země (Afrika, Střední a Jižní Amerika a Asie) a vyšší výskyt se popisuje i ve východní Evropě. V krajinách, kde byl zaveden screeningový program pro prevenci karcinomu děložního hrdla, klesla úmrtnost na toto onemocnění o 50-70%.

AFRIKA:

Každý rok je zde diagnostifikováno kolem 79 000 (z celkové populace 267, 9 mil. žen v reprodukčním věku) nových případů karcinomu děložního hrdla a na jeho následky umírá skoro 62 000 žen. Tyto čísla jsou alarmující. Je to

způsobeno jak špatným (spíše žádným) screeningovým programem, tak nedostatečnou a nekvalitní léčbou.

Tab. 4 Výskyt HPV infekce a karcinomu děložního hrdla v Africe

	Afrika celkem	Východní Afrika	Střední Afrika	Severní Afrika	Jižní Afrika	Západní Afrika
Počet žen ve věku 15-44let (mil.)	267,9	81,4	30,2	64,1	18,6	73,6
Diagnostifikovaných karcinomů cervixu (absolutní číslo)	78 897	33 903	8 201	8 175	7 698	20 919
Počet úmrtí na karcinom cervixu (absolutní číslo)	61 671	27 147	6 687	6 588	4 455	16 793
HPV prevalence (%)	23	35,4	?	21,5	15,5	16,5

AMERIKA:

Zde jsou na tom nejhůře Střední a Jižní Amerika.

Tab. 5 Výskyt HPV infekce a karcinomu děložního hrdla v Americe

	Amerika celkem	Karibská oblast	Střední Amerika	Jižní Amerika	Severní Amerika
Počet žen ve věku 15-44let (mil.)	336,5	14,4	51,1	136,1	134,9
Diagnostikovaných karcinomů cervixu (absolutní číslo)	86 532	6 369	17 165	48 328	14 670
Počet úmrtí na karcinom cervixu (absolutní číslo)	38 436	3 113	8 124	21 402	5 796
HPV prevalence (%)	15,6	?	20,5	14,3	13,8

ASIE:

Tab. 6 Výskyt HPV infekce a karcinomu děložního hrdla v Asii

	Asie celkem	Střední Asie	Východní Asie	Jižní Asie	JV Asie	Západní Asie
Počet žen ve věku 15-44let (mil.)	1 390,4	20,7	596	507,1	197,8	68,9
Diagnostikovaných karcinomů cervixu (absolutní číslo)	265 841	4 133	61 132	153 535	42 538	4 456
Počet úmrtí na karcinom cervixu (absolutní číslo)	142 735	1 459	31 314	85 192	22 594	2 118
HPV prevalence (%)	8,3	?	10,6	6,6	6,2	?

OCEÁNIE:

Tab. 7 Výskyt HPV infekce a karcinomu děložního hrdla v Oceánii

	Celkem	Austrálie a Nový Zéland	Melanézie	Mikronézie	Polynézie
Počet žen ve věku 15-44let (mil.)	12,60	9,9	2,3	0,2	0,2
Diagnostikovaných karcinomů cervixu (absolutní číslo)	2 002	1 063	850	19	72
Počet úmrtí na karcinom cervixu (absolutní číslo)	844	330	466	10	38

EVROPA:

Ročně je v Evropě (dle WHO) diagnostikováno 59 931 nových případů a 29 812 žen na rakovinu děložního hrdla umírá. Přičemž celkový počet žen v reprodukčním věku je 321,8 mil. Incidence není v celé Evropě stejná. Nejvyšší výskyt je ve Východní Evropě (viz tab. 8). Je to dáno propracovaností screeningového programu a compliance pacientek.

Tab. 8 Výskyt HPV infekce a karcinomu děložního hrdla v Evropě

	Evropa celkem	Východní Evropa	Severní Evropa	Jižní Evropa	Západní Evropa
Počet žen ve věku 15-44let (mil.)	321,8	135,3	40,6	65,5	80,4
Diagnostikovaných karcinomů cervixu (absolutní číslo)	59 931	30 897	5 647	10 641	12 744
Počet úmrtí na karcinom cervixu (absolutní číslo)	29 812	17 198	2 814	4 131	5 671
HPV prevalence (%)	6,6	29,1	8	5,7	6,1

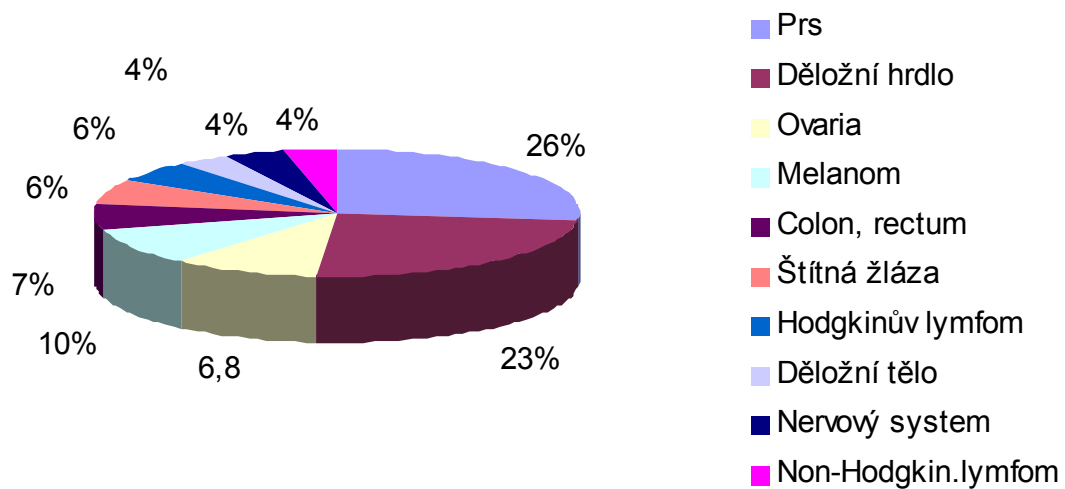
ČESKÁ REPUBLIKA:

Dle WHO je v roce 2007 v ČR 4,52 mil. žen starších 15let, které jsou vystaveny riziku vzniku karcinomu děložního hrdla. Každý rok je diagnostikováno kolem 1 160 nových případů a 476 žen na toto onemocnění umírá. Je to 6. nejčastější zhoubný novotvar u žen celkově, ale u žen v reprodukčním věku (15-44let) je to 2. nejčastější nádor (viz. tab. 9 a graf 2).

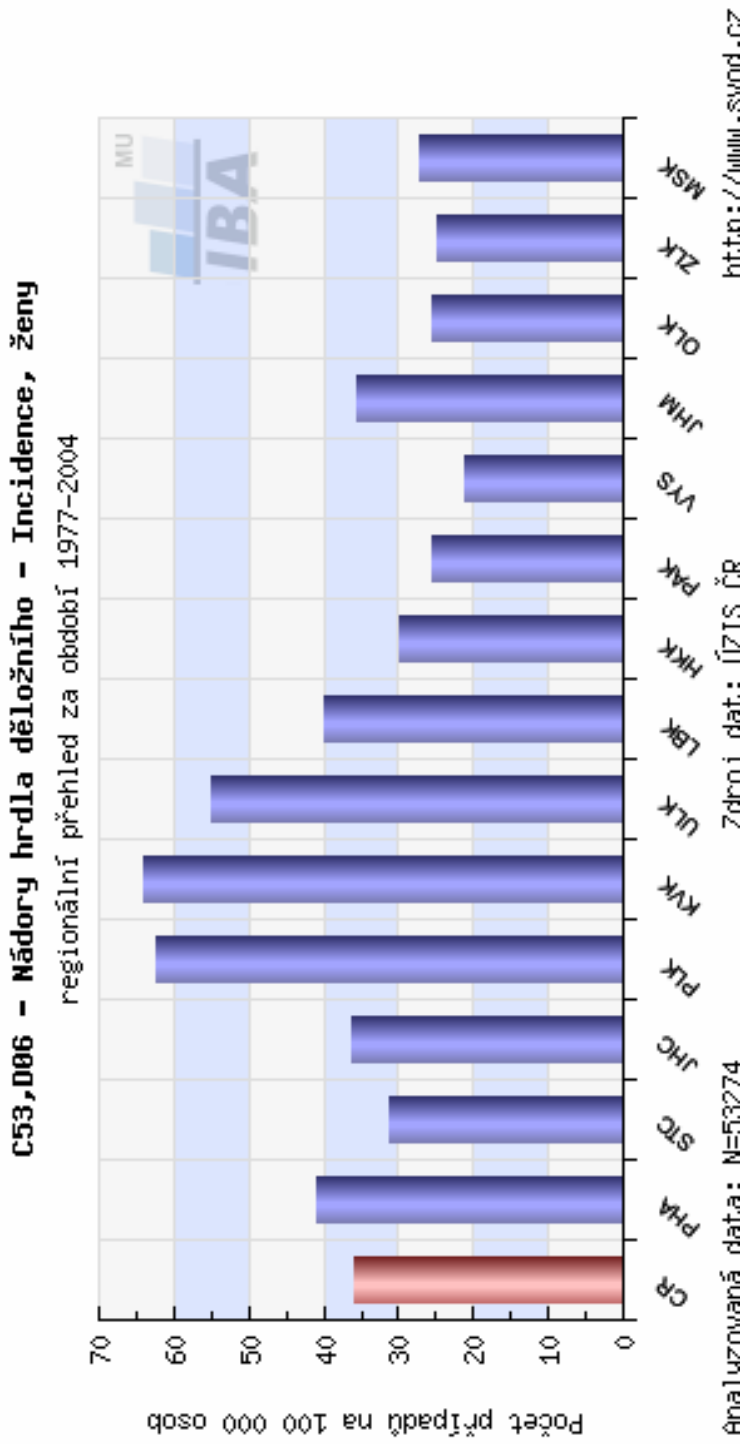
Tab. 9 Deset nejčastějších nádorů u žen v reprodukčním věku v ČR

Nádor	Počet na 100 000
Prs	19,0
Děložní hrdlo	17,2
Ovaria	6,8
Melanom	6,7
Colon, rectum	4,8
Štítná žláza	4,2
Hodgkinův lymfom	3,9
Děložní tělo	2,7
Nervový system	2,7
Non-Hodgkin.lymfom	2,5

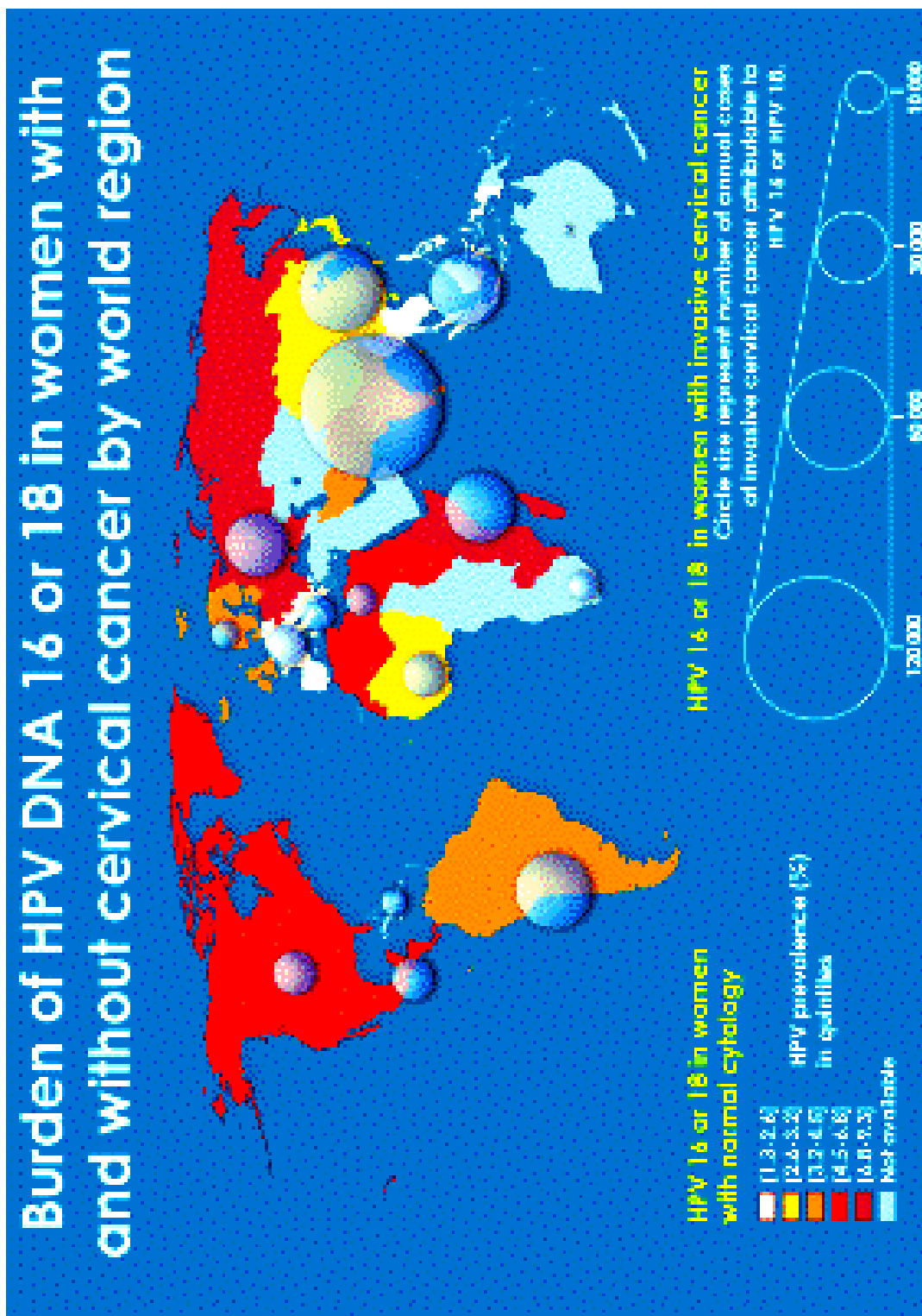
Graf 2 Deset nejčastějších nádorů u žen v reprodukčním věku v ČR (%)



Graf 3 Incidence karcinomu děložního hrdla v regionech ČR



Obr. 8 Celosvětová prevalence HPV infekce



IV. Diskuze

V dnešní době je problematika o HPV velice aktuální. Je to jak z hlediska stále se zvyšujícího se počtu infikovaných, tak i z hlediska objevení se vakcíny na trhu. Karcinom děložního hrdla je jedním z mála nádorů, kterému jsme schopni předcházet pomocí vakcíny. Proto se ve vyspělých zemích zavádí plošné očkování. Nese to ale také problémy. Pořizovací cena vakcíny je vysoká (na českém trhu činní 10 000,- Kč za 3 dávky. Ne každá mladá žena si jej může dovolit. Hlavně když vezmeme v potaz, že doporučený věk pro očkování je mezi 10 a 12 lety. Dále nejvyšší výskyt HPV infikovaných je v rozvojových zemích. Zde je úplně nemožné zavést plošné očkování vzhledem k ceně.

Ve vyspělých zemích má počet postižených karcinomem děložního hrdla klesající tendenci. Je to v důsledku plošného screeningu. Jeho pomocí jsme schopni odhalit HPV infekci už v časných stadiích a předají tak malignímu zvratu. I zde se ale setkáváme s problémy. Je to způsobeno nedostatečnou spoluprací žen. Mladé ženy navštěvují gynekologickou ambulanci pravidelně kvůli předepisování antikoncepce nebo kvůli kontrolám během těhotenství. Jinak je tomu se ženami v rizikové skupině ve věku 40-50 let. Ty nepovažují pravidelné kontroly za nutné z důvodu absence jakýchkoliv potíží. Naneštěstí při objevení prvních příznaků bývá tumor už ve vysokém stadiu, kdy terapie je obtížná a šance na uzdravení je velice nízká. Také nemůžeme opomenout, že podle statistik je 1/3 žen úplně asymptomatická.

Proto nejdůležitějším krokem je zlepšení prevence. Je potřeba se lépe zaměřit hlavně na tuto rizikovou skupinu žen. Je potřeba je lépe poučovat o významu pravidelných preventivních prohlídek. Informovat je o nebezpečí pozdní diagnostiky, o možnostech terapie.

V. Závěr

HPV infekce je považována za nejrozšířenější virovou pohlavně přenosnou chorobu. Je vysoce infekční, takže stačí být jen jednou vystaven viru, aby se jím člověk nakazil. Počty infikovaných HPV celosvětově neustále roste. Dá se hovořit i o novodobé epidemii. Některé studie odhadují, že většina sexuálně aktivní dospělé populace (75-80 %) je v průběhu života vystavena jednomu nebo více typům HPV.

Největším problémem je jeho souvislost s výskytem karcinomu děložního hrdla. Ale díky plošnému screeningu ve vyspělých krajinách je záchyt karcinomu děložního hrdla v časných stádiích, co umožňuje lepší terapii a lepší prognózu.

Karcinom děložního hrdla je jedním z mála nádorů, kterému lze předcházet pomocí vakcíny. Ta se už dostala na trh, jediným problémem je vysoká pořizovací cena.

VI. Souhrn

HPV - lidské papilomaviry jsou dsDNA viry, patřící do čeledi Papillomaviridae. Životní cyklus HPV je silně asociován s diferenciací hostitelské buňky, nejčastěji buňkami dlaždicobuněčného epitelu kůže a sliznic. Je pro ně charakteristická druhová i tkáňová specifita.

Lidských papilomavirů bylo identifikováno více než 100 genotypů. Z toho je 30 – 40 sexuálně přenosných a infikuje anogenitální oblast.

Dle rizika vyvolání přednádorových změn v postižené tkáni je dělíme na typy s nízkým rizikem (nejčastěji HPV 6 a 11) a typy s vysokým rizikem (nejčastěji HPV 16 a 18).

HPV je vysoce infekční, takže stačí být jen jednou vystaven viru, aby se ním člověk nakazil.

Do organismu vstupuje HPV mikrotraumaty sliznic a kůže. Přenos pohlavním stykem patří k nejčastějším způsobům infikování. HPV infekce je považována za nejrozšířenější virovou pohlavně přenosnou chorobu. Některé studie odhadují, že většina sexuálně aktivní dospělé populace (75-80 %) je v průběhu života vystavena jednomu nebo více typům HPV virů. Z toho 60% se setká s přechodnou formou (typicky mladší ženy) a 10% trpí persistentní formou (hlavně starší ženy). Děti jsou nejčastěji infikovány od matek vertikálním přenosem, tedy intrapartálně při průchodu porodními cestami.

Nejčastějšími příznaky jsou genitální bradavice, ale 1/3 nakažených nemá žádné příznaky.

Nejzávažnějším problémem je jeho suvislost s výskytem karcinomu děložního hrdla. Ten se objevuje po několika letech probíhající chronické infekce.

Nejvyšší výskyt jak infekce HPV, tak karcinomu děložního hrdla je v rozvojových krajinách. Ve vyspělých krajinách je klesající trend výskytu díky plošnému screeningu. Ale ani tak není incidence ve vyspělých krajinách všude stejná. Nejvyšší výskyt je ve Východní Evropě. V České republice je to 2. nejčastější

zhoubný novotvar u žen v reprodukčním věku. Je to dáno nepropracovaností screeningového programu a špatnou compliance pacientek. Je to škoda, protože pomocí screeningu jsme schopni zachytit karcinom děložního hrdla v časných stádiích, což umožňuje lepší terapii a lepší prognózu.

Dobrou zprávou ale je objevení vakcíny. Ta se už dostala na trh. V České republice se prodává pod názvem Silgard. Je to profylaktická vakcína určená dívkám, které ještě nezačaly žít pohlavním životem. Jediným problémem je vysoká pořizovací cena (10 000,- Kč za 3 dávky).

Karcinom děložního hrdla se tak stává jedním z mála nádorů, kterému jsme schopni předcházet pomocí vakcíny.

VII. Summary

HPV-Human Papillomaviruses are dsDNA viruses. They belong to the family Papillomaviridae. Their life cycle is associated with the differentiation of the hosts cells, especially with the epithelial cells of the mucous membranes and with the cutaneous cells.

More than 100 genotypes were discovered and 30-40 of them are sexually transmitted. The site of infection is usually the ano-genital area.

We divide HPV according to the predisposing carcinogenic factors into low risk group (caused mainly by HPV 6 and 11) and high risk group (caused mainly by HPV 16 and 18).

HPV is highly infectious, to the limit that the case could be easily infected once exposed to the virus. The sexual intercourse is the most common route of infection. Children could be infected by vertical transmission during delivery.

The incidence of HPV infection is about 75% of population in the reproductive age. 60% of infected population are acute cases and 10 % are chronic.

The most common symptoms are genital warts, but 1/3 of patients are symptomless. The main complication is the carcinogenic transformation. The most common tumour is the cervical cancer. It disappears after a lot of years of the chronic HPV infection.

The cervical cancer is the most common tumour in the developing countries. The rate of occurrence is decreasing in developed countries. The main reason of this trend is the elaborative screening which enables us to catch HPV infection in the early precancerous stage. The main disadvantage of the screening is the non-compliance of most of the patients. Nevertheless we have a good chance to discover the virus in its low carcinogenic grade, when the management is easier and the prognosis is better.

At the same time we are trying to focus on this disease after the discovery for the specific vaccination. The cervical cancer is one of a few tumours which we can avoid by vaccination. It is a prophylactic vaccine called Silgard. The disadvantage of

the mass inoculation is due to the high purchase cost of the vaccine which is about 10,000 CZK for 3 doses. Not all young woman are able to pay for that cost, especially if we mention that the age which gets the maximum benefit from the vaccination ranges from 10 to 12 years. The vaccination is completely impossible in the developing countries due to its high cost.

VIII. Seznam použité literatury:

1. Webové stránky encyklopedie Wikipedia. Dostupné z:
<http://en.wikipedia.org/wiki/HPV>
2. Webové stránky Fakultní nemocnice Plzeň a Biopstické laboratoře, s.r.o.
Dostupné z: www.hpv.cervix.cz
3. Webové stránky Národní referenční laboratoře. Dostupné z:
www.papillomavirus.cz
4. Webové stránky společnosti Merck Shap& Dohme. Dostupné z:
http://www.msdi.cz/content/corporate/press/releases/press_release8.html
5. Webové stránky World Health Organization WHO. Dostupné z:
<http://www.who.int/hpvcentre>
6. Webové stránky Centres for Disease Control and Prevention
Dostupné z: www.cdc.gov
7. Webové stránky organizace Women's health. Dostupné z:
www.womenshealth.com
8. Bednář, M., Fraňková, V., Schindler, J., Souček, A., Vávra, J.: Lékařská mikrobiologie. 1. vyd., Praha, Marvil, 1996
9. Cason, J., Best, J.M., Raju, K.S.: Vertical transmission of human papillomaviruses. *Obstet. Gynecol.*, 180, 1999, p 774-775
10. Freitag, P.: Papillomavirové infekce v gynekologii. 1. vyd., Praha, Triton, 1998
11. Harmsel, B., Smedts, F. et al.: Relationship between human papillomavirus type 16 in the cervix and intraepithelial neoplasia. *Obstet. Gynecol.*, 93, 1999, p 46-50
12. Tabrizi, S.N., Farley, C.K., Chen, S. et al.: Epidemiological characteristics of women with high grade CIN who do and do not have papillomavirus. *Obstet. Gynecol.*, 106, 1999, p 252-257
13. Tenti, P., Zapatore, R. et al.: Perinatal transmission of human papillomavirus from graviditas with latent infections. *Obstet. Gynecol.*, 93, 1999, p 475-479
14. Z. Rokyta, J. Bouda jun., V. Kokeš: Poznámky ke screeningu rakoviny děložního hrdla, časopis *Gynekolog*, ročník 2005, číslo 2, str. 67
15. Parkin DM, Bray F. The burden of HPV-related cancers. *Vaccine*. 2006; 24

16. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Teppo L, Thomas DB. Cancer incidence in five continents. Volume VIII. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2002 (IARC Scientific Publications No. 155)
17. Baggish, S.M.: Laser Terapy for Genital Warts, Clinical Practice of Gynecology, 2, 1989, p 187-213