

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Karolína Kučerová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Malignity indukované lidským papilomavirem

Bakalářská práce

2024

Karolína Kučerová

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Human Papillomavirus Induced Malignancies

Bachelor Thesis

2024

Karolína Kučerová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Karolína Kučerová**
Osobní číslo: **C20234**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Malignity indukované lidským papilomavirem**
Téma práce anglicky: **Human Papillomavirus Induced Malignancies**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Bakalářskou práci zaměřenou na malignity indukované lidským papilomavirem zpracujte na základě literární rešerše. V úvodní části práce definujte skupinu lidských papilomavirů včetně klasifikace.
2. V hlavní části bakalářské práce shrňte onemocnění, která jsou s papilomaviry spojená. Podrobněji se v práci věnujte nádorovým onemocněním indukovaným lidskými papilomaviry. Zaměřte se také na diagnostiku, prevenci a léčbu těchto onemocnění. V rámci diagnostiky detailně popište morfologii prekancerózních buněk a charakterizujte další změny, které jsou spojeny s maligní transformací buněk indukovanou lidskými papilomaviry.
3. Pro zpracování kompilačního textu bakalářské práce čerpejte z odborných článků publikovaných v recenzovaných zahraničních časopisech. Jejich vyhledávání provádějte prostřednictvím elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI Pubmed*, *ScienceDirect*, *Web of Science*, *Scopus*, apod.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Jiří Handl, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Jan Čapek, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Datum zadání bakalářské práce: **23. prosince 2022**
Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem Malignity indukované lidským papilomavirem jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 21. 6. 2024

Karolína Kučerová v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych chtěla poděkovat mému vedoucímu RNDr. Jiřímu Handlovi, Ph.D. a konzultantovi Mgr. Janu Čapkovi, Ph.D. za velkou trpělivost, vstřícné vedení, věnovaný čas, a především za drahocenné rady, bez kterých by dokončení práce bylo velmi obtížné. Dále bych chtěla poděkovat rodině, příteli a přátelům, kteří mě podporovali nejen při psaní práce, ale také během celého studia. Jmenovitě bych chtěla poděkovat Johaně Hrádkové a Kláře Kostelníkové za podporu ve dne v noci a pomoc při řešení technických problémů.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá problematikou lidských papilomavirů a nádorovými onemocněními, která jsou lidskými papilomaviry způsobena. V úvodu práce jsou charakterizovány lidské papilomaviry z pohledu molekulární biologie a virologie se zaměřením na životní cyklus. V hlavní části práce jsou pak popsány jednotlivé klasifikační systémy prekancerózních stavů, jejich diagnostika, terapie a prevence. V závěru bakalářské práce jsou popsány jednotlivé malignity s důrazem na rakovinu děložního čípku.

KLÍČOVÁ SLOVA

Lidský papilomavirus, HPV, prekancerózní stav, cytologický stěr, rakovina děložního čípku

TITLE

Human Papillomavirus Induced Malignancies

ANNOTATION

The bachelor thesis deals with the issue of human papillomaviruses and cancers caused by human papillomaviruses. The thesis starts with a review of human papillomaviruses from the perspective of molecular biology and virology with a focus on the life cycle. The next part of the thesis describes the different classification systems of precancerous conditions and their diagnosis, therapy, and prevention. Finally, individual malignancies are described with an emphasis on cervical cancer.

KEYWORDS

Human papillomavirus, HPV, precancerous conditions, pap smear, cervical cancer

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ	10
SEZNAM TABULEK	11
SEZNAM ZKRATEK	12
ÚVOD	13
1. HPV virus	14
1.1 Historie.....	16
1.2 Klasifikace	17
1.3 Low-risk.....	18
1.4 High risk	19
1.5 Virální cyklus.....	20
1.5.1 Fáze adsorpce a penetrace.....	20
1.5.2 Fáze replikace genomu a genové exprese.....	21
1.5.3 Produkce novotvořených virionů.....	22
2. Prekancerózní stav	23
2.1 Bethesda systém klasifikace cytologického nálezu	23
2.2 Abnormální skvamózní buňky	24
2.2.1 Atypické skvamózní buňky neurčitého významu.....	24
2.2.2 Skvamózní intraepiteliální léze nízkého stupně.....	25
2.2.3 Atypické skvamózní buňky podezřelé z HSIL	26
2.2.4 Skvamózní intraepiteliální léze vysokého stupně.....	26
2.2.5 Spinocelulární karcinom	27
2.2.5.1 Rohovatějící spinocelulární karcinom	27
2.2.5.2 Nerohovatějící spinocelulární karcinom.....	28
2.3 Abnormální žlázové buňky	28
2.3.1 Atypické endocervikální buňky – blíže nespecifikované	29
2.3.2 Atypické endocervikální buňky – spíše neoplastického původu	29
2.3.3 Adenokarcinom <i>in situ</i> děložního čípku	30
2.3.4 Adenokarcinom děložního čípku	31
2.4 Cervikální intraepiteliální neoplazie	32
2.4.1 Cervikální intraepiteliální neoplazie 1	32
2.4.2 Cervikální intraepiteliální neoplazie 2	33

2.4.3	Cervikální intraepiteliální neoplazie 3	34
2.5	Diagnostika	34
2.5.1	Cytologický stěr dle Papanicolaou	34
2.5.2	<i>Liquid based</i> cytologie.....	35
2.5.3	Kolposkopie	36
2.5.4	Biopsie	36
2.5.5	Laboratorní stanovení nádorových markerů	36
2.5.5.1	Antigen skvamózních nádorových buněk.....	37
2.5.5.2	CYFRA 21-1	37
2.5.5.3	Karcinoembryonální antigen.....	37
2.5.6	Imunohistochemie.....	38
2.5.7	HPV testy	38
2.6	Terapie a prevence	39
2.6.1	Vakcinace.....	39
2.6.2	Konizace	40
2.6.3	Fotodynamická terapie.....	41
3.	Rakovina děložního čípku	42
3.1	Epidemiologie	42
3.2	Klinické projevy a symptomy.....	43
3.3	Klasifikace nádorů	43
3.3.1	TNM.....	43
3.3.2	FIGO	45
3.4	Terapie	46
3.4.1	Hysterektomie a trachelektomie	46
3.4.2	Radioterapie a chemoterapie.....	46
3.4.3	Imunoterapie	47
4.	Rakovina vulvy, anu, penisu a hlavy a krku	48
4.1	Epidemiologie.....	48
4.2	Klinická prezentace.....	49
4.3	Diagnostika a prevence	50
4.4	Terapie	51
	ZÁVĚR	53
	Seznam citací.....	54

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: HPV virus.....	14
Obrázek 2: Schéma genomu HR HPV 16.....	15
Obrázek 3: Schéma čeledi papillomaviridae	18
Obrázek 4: Rekurentní respirační papilomatóza.....	19
Obrázek 5: Atypické skvamózní buňky neurčitého významu	24
Obrázek 6: Koilocyty.....	25
Obrázek 7: Atypické skvamózní buňky podezřelé z HSIL.....	26
Obrázek 8: Skvamózní intraepiteliální léze vysokého stupně	27
Obrázek 9: Rohovatějící spinocelulární karcinom.....	28
Obrázek 10: Nerohovatějící spinocelulární karcinom	28
Obrázek 11: Atypické endocervikální buňky – blíže nespecifikované.....	29
Obrázek 12: Atypické endocervikální buňky – spíše neoplastického původu	30
Obrázek 13: Adenokarcinom in situ děložního čípku	31
Obrázek 14: Adenokarcinom děložního čípku	31
Obrázek 15: Schéma porovnávací Bethesda systém s CIN	32
Obrázek 16: Cervikální intraepiteliální neoplazie 1	33
Obrázek 17: Cervikální intraepiteliální neoplazie 2	33
Obrázek 18: Cervikální intraepiteliální neoplazie 3	34
Obrázek 19: Orofaryngeální rakovina	50

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: T parametr klasifikace nádorů	44
Tabulka 2: N parametr klasifikace nádorů.....	44
Tabulka 3: M parametr klasifikace nádorů	45

SEZNAM ZKRATEK

Ab	protilátka
Ag	antigen
AGC	atypické žlázné buňky
AGC – NOS	atypické žlázné buňky – blíže nespecifikované
AIS	adenokarcinom <i>in situ</i> děložního čípku
ALA-PDT	fotodynamická terapie
ASC-H	atypické skvamózní buňky podezřelé z HSIL
ASC-US	atypické skvamózní buňky neurčitěho významu
BPV1	hovězí papilomavirus 1
CEA	karcinoembryonální antigen
CYFRA 21-1	fragment cytokeratinu 19
EA	adenokarcinom děložního čípku
EGFR	receptor epidermálního růstového faktoru
CIN	cervikální intraepiteliální neoplazie
HC2	<i>hybrid capture 2</i>
HIV	virus lidské imunologické nedostatečnosti
HPV	lidský papilomavirus
HR	vysoce rizikový
HSIL	skvamózní intraepiteliální léze nízkého stupně
HSPG	proteoglykan heparanu sulfátového
ICI	blokáda kontrolních bodů imunity
LBC	<i>liquid based cytologie</i>
LEEP	elektrokonizace vysokofrekvenční elektrickou kličkou
LR	nízko rizikový
LSIL	skvamózní intraepiteliální léze vysokého stupně
NGS	sekvenování nové generace
ORF	otevřený čtecí rámec
PCR	polymerázová řetězová reakce
PSD-95	protein postsynaptické denzity
SCC	spinocelulární karcinom
SCCA	antigen skvamózních nádorových buněk
VLP	<i>virus like particle</i>

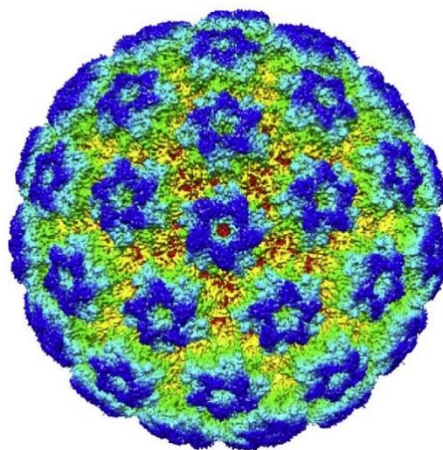
ÚVOD

Infekce lidským papilomavirem představuje jednu z nejčastějších virových infekcí, která se šíří přímým kožním kontaktem. HPV je známý svou schopností indukovat různé typy malignit, což činí jeho studium a pochopení zásadním pro prevenci a léčbu těchto onemocnění. Role lidských papilomavirů nebyla známá až do roku 2008, kdy německý lékař a virolog doktor Harald zur Hausen získal Nobelovu cenu za objevení přímé spojitosti rakoviny děložního čípku a infekcí lidským papilomavirem. Jeho objev, *virus like particle*, který imituje virus v nefunkční podobě v organismu, dal podobu dnešním vakcínám proti rakovině děložního čípku, a tak snížil incidenci tohoto a dalších onemocnění indukovaných lidským papilomavirem.

Ve většině zemí existuje screeningový a vakcinační program pro prevenci, včasný záchyt a případnou léčbou prekancerózních lézí, na jejichž uceleném popisu se podíleli američtí cytopatologové ve městě Bethesda, po jehož jméně nese vzniklý klasifikační systém název. Tento systém významně sjednotil a zjednodušil analýzu cytologických stěrů po celém světě a odstranil interpretační nedostatky mezi jednotlivými laboratořemi a zdravotnickými zařízeními. Následkem infekce vysoce rizikovým lidským papilomavirem není pouze rakovina děložního čípku, ale také související rakovina vulvy, anu, penisu nebo také hlavy a krku. Očkování tedy není prospěšné pouze pro dívky, ale také pro chlapce, přičemž obě skupiny se očkují před začátkem sexuálního života.

1. HPV virus

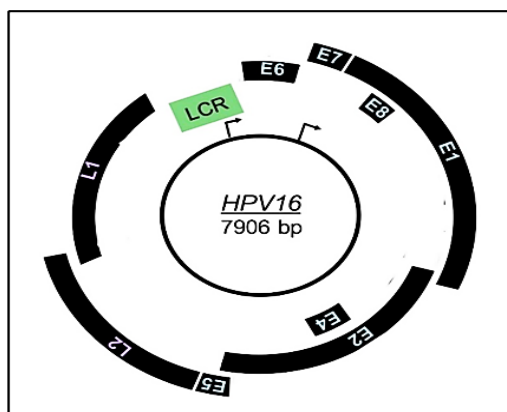
Lidský papilomavirus (Human Papillomavirus; HPV) je malý neobalený DNA virus tropismem k plochému epitelu, který postihuje širokou škálu živočichů včetně ptáků, plazů, vačnatců a savců. Každá virová částice se skládá z dvacetistěnné kapsidy, která měří 60 nm v průměru (Obr. 1). Tato kapsida obsahuje jednu molekulu dvouvláknové kruhové DNA složenou zhruba z 8000 párů bází. Pouze jedno vlákno genomické dsDNA je použito jako templát pro transkripci a toto kódující vlákno obsahuje tři genomické oblasti. První z nich je raná oblast (*early region*), dále pak pozdní oblast (*late region*) a třetí je pak dlouhá řídicí oblast (*long control region*). Raná oblast obsahuje proteiny nezbytné k virové replikaci, pozdní oblast obsahuje proteiny virové kapsidy a dlouhá řídicí oblast obsahuje sekvence kontrolující virovou replikaci a samotnou transkripci. Mnoho z těchto virových proteinů je exprimováno z polycistronní mRNA (Cosper et al. 2021).



Obrázek 1: **HPV virus** – zmapování HPV 16 pomocí kryoelektronového mikroskopu (Guan et al.2017).

Raná oblast zabírá asi 50 % genomu a obsahuje až sedm otevřených čtecích rámců (*open reading frames*; ORF), kódující virální regulační proteiny. Tyto ORF se označují písmenem “E” následované příslušnou číslovkou. Patří mezi ně E1, E2, E4, E5, E6, E7 a E8 (Obr. 2). E1 kóduje ATP-dependentní helikasu, která se uplatňuje při replikaci viru získáváním proteinů od hostitelské buňky. E2 aktivuje nebo potlačuje transkripci virálního genu skrze interakci s E1, dále váže genom viru k chromozomům hostitelské buňky během mitózy, čímž napomáhá, aby se genetická informace viru při mitotickém dělení rovnoměrně rozdělila mezi dceřiné buňky. E4 se váže na cytokeratinová filamenta, rozrušuje jejich strukturu a napomáhá k úniku viru z buňky. E5 protein zvyšuje proliferaci buněk a inhibuje diferenciaci keratinocytů pomocí

zesílení receptoru epidermálního růstového faktoru (epidermal growth factor receptor; EGFR). Oba proteiny E6 a E7 stimulují vstup do buněčného cyklu k amplifikaci genomu ve svrchních epitelových vrstvách. Vysoce rizikový (high risk; HR) HPV E6 je onkogenní, váže a degraduje protein p53 i protein postsynaptické denzity (postsynaptic density protein; PSD-95), disc large tumorový supresor octomilky *Drosophila* (*Drosophila* disc large tumor supresor; DlgA) a zonula occludens-1 protein (ZO-1), tyto proteiny se souhrnně označují jako PDZ domény, další funkce proteinu E6 je aktivace telomerázy. Protein E7 vysoce rizikového HPV váže a degraduje retinoblastomový protein a zároveň přispívá maligní progresi skrze destabilizaci genomu. Oba proteiny E6 a E7 jsou klíčové onkogeny pro následnou progresi v rakovinu. E8 působí primárně jako fúzní protein s E2 označovaný jako E8^{E2} a jeho funkcí jako regulace vlastní replikace a genové exprese, což napomáhá přežití viru v buňce (Della Fera et al. 2021). Pozdní oblast (Obr. 2) kóduje hlavní kapsidový protein – L1 a vedlejší kapsidový protein – L2. Hlavní kapsidový protein se spontánně sestaví do neinfekčních částic (*virus like particle*; VLP), která imituje virus svým vzhledem a povrchovými strukturami, ale postrádá svou kruhovou DNA. Tato VLP je základem dnešních vakcín proti lidským papilomavirům. L2 protein se zapojuje do obalení kruhové DNA do kapsidy a usnadňuje vstup viru do buněk (Harden a Munger 2017).



ORF	funkce
E1	ATP-dependetní helikasa uploatněná při replikaci genomu, vazebný protein
E2	Regulátor transkripce virálních genů,
E4	Destabilizace cytotkeratinové sítě, uvolnění viru
E5	Zvýšení proliferace a inhibice diferenciac keratinocytů
E6	Degradace p53 a PDZ domény, aktivace telomerasy
E7	Degradace retinoblastomového proteinu, destabilizace buněčného genomu
E8	Regulace vlastní replikace a genové exprese
L1	Sestavení neinfekčních částí (VLP)
L2	Obalení kruhové DNA do kapsidy

Obrázek 2: Schéma genomu HR HPV 16 – schéma genomu lidského papilomaviru HR HPV 16 (vlevo nahoře). Přehled jednotlivých otevřených čtecích rámců ORF (vpravo) včetně jejich funkce a barevné rozlišení dle jejich původu (vlevo dole), modře je označená raná oblast (E), fialově pozdní oblast (L) a zeleně dlouhá řídicí oblast (LCR) (upraveno dle: Harden a Munger 2017).

1.1 Historie

Genitální bradavice byly známy již v antickém Řecku z doby Hippokratovi (460 – 377 př. n. l.). V té době vznikl název *kondyloma* a používal se pro genitální bradavice a znamená “kulatý otok okolo anu”. Ke konci 19. století byly kondylomata přisuzovaná k sexuální aktivitě, zvláště ta v okolí anu byla spojovaná s homosexuální orientací (Syrjänen a Syrjänen 2008).

V roce 1949 tým kolem doktora Ayreho popsal „halo“ buňky na stěru z děložního čípku a biopsiích, tyto buňky stanovil jako symptom prekancerózního stavu. Dnes jsou tyto buňky známé jako koilocyty, které se vyznačují hyperchromním jádrem a projasněnou cytoplazmou. V roce 1980 pak Gissman a zur Hausen izolovali a charakterizovali nový typ viru, který se ukázal být původcem genitálních bradavic a byl pojmenován jako HPV 6. Charakterizace tohoto typu HPV vedla k izolaci jeho nejbližšího příbuzného z hrtanového papillomu, který dostal název HPV 11 (Ayre a Ayre 1949).

Jeden z nejvýznamnějších objevů 80. let byla izolace a charakterizace typu viru izolovaného z karcinomu děložního čípku, který se ukázal jako jeden z nejdůležitějších, HPV 16 Duerstem et al. (1983). Ze vzorků biopsií děložního čípku bylo > 60 % typ HPV 16, ze vzorků biopsií vulvy 28,6 % a penisu 25 %. Z benigních vzorků žádný neobsahoval typ HPV 16, což vědce vedlo k závěru, že HPV 16 se vztahuje k maligním transformacím. V roce 1984 byl izolován typ HPV 18 z karcinomu děložního čípku. HPV 18 byl také izolován z rakovinných buněk z buněčné linie HeLa (karcinom děložního čípku), KB (orální karcinom), C-4 1 (karcinom děložního čípku) (Durst et al. 1983).

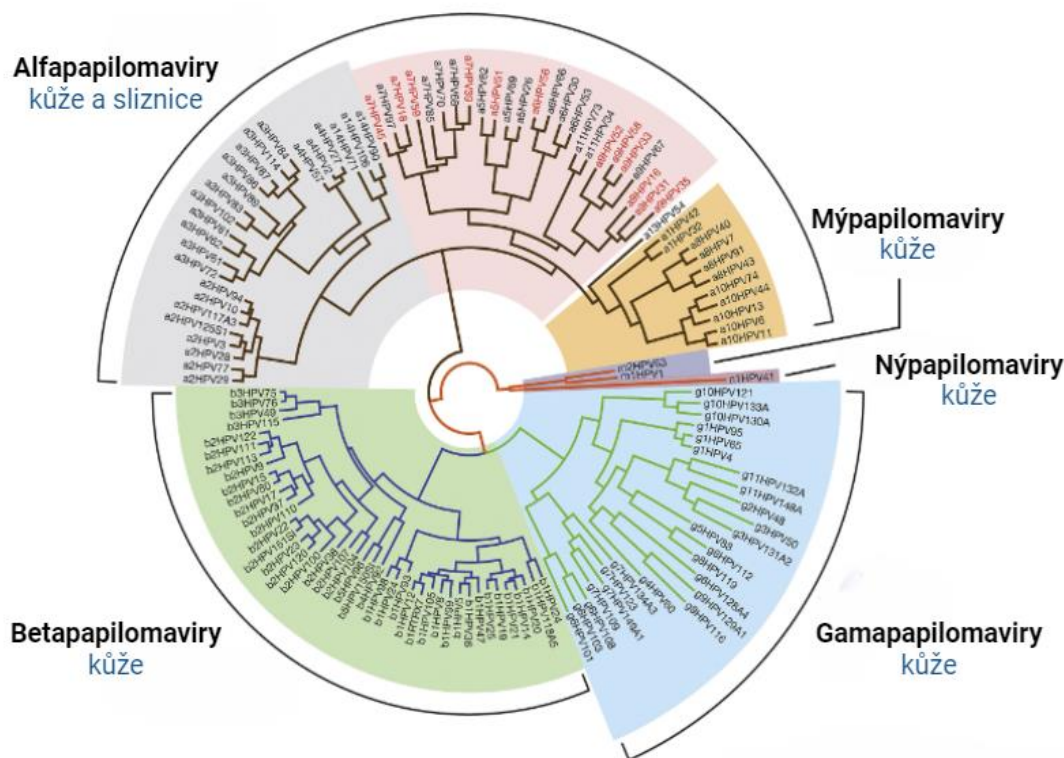
V 90. letech byly díky sérologii a vakcinaci otevřeny další možnosti výzkumu HPV. Toto vedlo k využití k technice použití neinfekčních částic (*virus like particle*; VLP) *in vitro*. Kirnbauer et al. uspěli v expresi proteinů L1 hlavní kapsidy v hovězím papilomaviru 1 (*bovine papillomavirus 1*; BPV1) a HPV 16 v hmyzích buňkách pomocí vektoru baculoviru a analyzovali jejich konformaci a imunogenitu. L1 proteiny se projeví na vysoké úrovni a sestavily se do struktur, které vysoce připomínaly papilomavirové viriony. Tyto samo sestavené BPV L1 VLP napodobovali neporušené BPV viriony, to znamená, že jsou schopné neutralizace antiséra. Takto připravené L1 VLP byly označeny za kandidáty pro sérologický test pro měření protilátek (Kirnbauer et al., 1992; Syrjänen & Syrjänen, 2008).

1.2 Klasifikace

HPV je členem čeledi *Papillomaviridae*. Čeď *Papillomaviridae* se od roku 2019 člení do 53 rodů, přičemž každý rod je označen písmenem řecké abecedy a pouze 5 rodů může nakazit člověka. Rody rozlišujeme podle podobnosti nukleotidové sekvence ORFu proteinu hlavní kapsidy L1, tedy papilomaviry, které sdílí méně než 60 % této sekvence jsou separátní rody. Papilomaviry v rámci jednoho rodu, které sdílí mezi 60 až 70 % podobnosti sekvence jsou klasifikovány jako druhy a v rámci jednoho druhu se papilomaviry dělí podle podobnosti sekvence mezi 71 až 89 % jako typy. Dále papilomaviry, které sdílí podobnost nukleotidové sekvence L1 hlavního kapsidového proteinu mezi 90 až 98 % jsou označovány jako subtypy a pokud sdílí více jak 98 % podobnosti sekvence, tak jsou označovány jako varianty (Cosper et al. 2021).

Dosud bylo identifikováno 222 typů lidských papilomavirů, které jsou rozděleny do 5 rodů (Obr. 3) podle tropismu k cílový epitelium, a tedy podle toho, jaké onemocnění vyvolávají. Rozlišujeme 65 Alfapapilomavirů, 54 Betapapilomavirů, 99 Gamapapilomavirů, 3 Mýpapilomaviry a pouze 1 Nýpapilomavirus. Rody HPV beta, gama, mý a ný se vyznačují tropismem ke kožnímu epitelu a způsobují bradavice, což jsou vlastně benigní léze. Rod HPV alfa se oproti tomu vyznačuje tropismem ke slizničnímu epitelu a je tedy asociován se závažnějšími onemocněními včetně rakoviny (Cosper et al. 2021).

Alfapapilomaviry jsou známy buď jako nízkorizikové (*low risk*; LR) nebo jako vysoce rizikové (*high risk*; HR). Do těchto kategorií jsou rozlišovány na základě jejich schopnosti transformovat buňky a způsobovat rakovinu. Nízkorizikové HPV, jako je například HPV 6 nebo HPV 11, jsou nekarcinogenní a typicky způsobují anogenitální bradavice, na druhé straně vysoce rizikové HPV mohou vést k rozvoji několika typů rakoviny např.: děložního čípku, vagíny, vulvy, anu, penisu nebo hlavy a krku. HR HPV zahrnuje typy 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 56, 58, 59, 66, 68 a další. Tyto HR HPV typy způsobují až 5 % všech rakovin po celém světě (Cosper et al. 2021).

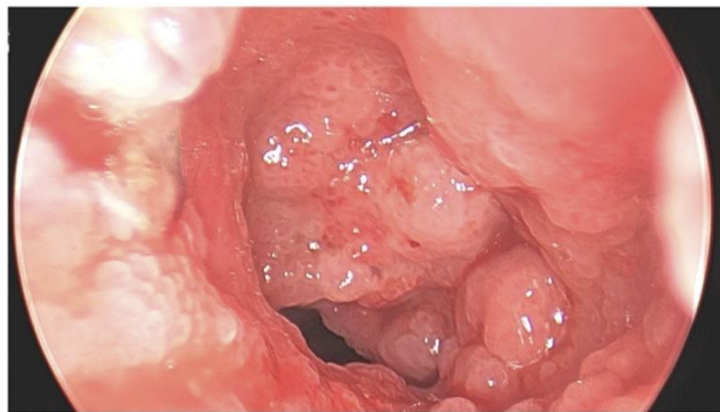


Obrázek 3: Schéma čeledi *papillomaviridae* – rozlišeno na jednotlivé typy včetně jejich tropismů (upraveno dle: Egawa et al., 2015).

1.3 Low-risk

Vzhledem k onemocněním, které způsobují, nejsou low-risk HPV tak důkladně studovány jako high-risk HPV pro jejich přímé spojení s prekancerózními stavy a maligními transformacemi. Low-Risk HPV způsobují nejčastěji benigní léze, jako jsou například genitální bradavice (kondylomata), bradavice na kůži, specificky na rukou nebo nohou, nebo papilomatózy laryngu. Kondylomata je obvykle lidský organismus schopen odbourat sám v horizontu měsíců až let. Jsou-li léze persistentní po dobu déle jak dva roky zahajuje se léčba lokálními mastmi, kryoterapií nebo chirurgickým odstraněním léze.

Papilomatóza laryngu je onemocnění, kdy kožní výrůstky vyrůstají v okolí hrtanu a mohou se dále šířit do dýchacích cest. Papilomatóza laryngu se vzácně objevuje u dospělých i dětí a může se vyvinout v chronické onemocnění zvané rekurentní respirační papilomatóza (Obr. 4), která je aktuálně neléčitelná. V raných fázích se onemocnění kontroluje chirurgicky pro průchodnost dýchacích cest. Tyto operace jsou zároveň velice časté v prvních pěti letech onemocnění v průměru až 5,1 operací za rok. Papilomatóza laryngu i chronická rekurentní respirační papilomatóza je sice benigní onemocnění, ale může v průběhu let dojít k její maligní transformaci (Ivancic et al. 2018).



Obrázek 4: **Rekurentní respirační papilomatóza** (Borrelli M. et al., 2022).

Mezi běžné typy low-risk HPV spadá HPV 2, 3, 6, 7, 10, 11, 32, 54, 57. Nejběžněji se v populaci vyskytuje nákaza HPV 6 a 11. Jeden z hlavních rozdílů, co odlišuje low-risk od high-risk HPV je, že low-risk typicky nepoužívají produkty genů E6 a E7 k pohánění rozsáhlé buněčné proliferace v basální nebo parabasální buněčné vrstvě. To je důsledek rozdílné transkripční regulace low-risk papilomavirů a také to dokazuje odlišnost funkcí virálních proteinů. Výsledkem je slabá schopnost low-risk lidských papilomavirů tvořit neoplazie a pohánět průběh rakoviny (Egawa a Doorbar 2017).

1.4 High risk

Vysoce rizikové lidské papilomaviry jako je například HPV 16 a 18 způsobují intraepiteliární neoplazie, které mohou dále indukovat maligní transformace postižené tkáně. HR obsahují onkogeny E6 a E7, které v obou případech pohání buněčný cyklus amplifikací genomu ve spodních buňkách epitelu. HR HPV je persistentní typ HPV, který v těle hostitele dokáže žít až dekády, během které mění genetický materiál a potlačuje imunitní systém. HR HPV zároveň bývají geneticky variabilní, což může vést k novým variantám, které jsou více virulentní a mohou disponovat rezistencí vůči obranným imunitním mechanismům hostitele.

Enviromentální faktory jako je kouření nebo jiné karcinogeny pak mohou velice významně zvyšovat riziko vzniku rakoviny (Chowdhary et al. 2023; Elkhalfa et al. 2023).

1.5 Virální cyklus

Lidské papilomaviry jsou, jako jiné viry, intracelulární parazité a jsou tedy schopny replikace pouze v živých buňkách. Konkrétně je virální cyklus HPV úzce spojen s diferenciací epitelu. Mnoho virů se replikuje v buňce, která byla původně infikována. HPV naopak infikuje nediferenciované basální buňky a omezuje svou produkci virionů na buňku již diferenciovanou. Předpokladem je, že k infekci HPV dochází v kmenových buňkách nebo v tranzitních amplifikujících buňkách v basální vrstvě stratifikovaného epitelu, které se obnaží skrze mikro ranky. Po vstupu a usazení v jádře se virové genomy replikují v bazálních buňkách spolu s buněčnými chromozomy. V infikovaných bazálních buňkách je pozorována pouze nízká úroveň exprese virových genů a v diferenciovaných buňkách jsou pozorovány významné úrovně virových transkriptů. K replikaci vegetativního genomu, procesem, který se také označuje jako amplifikace, dochází společně s pozdní expresí genů a sestavováním virionů ve vysoce diferenciovaných buňkách přítomných v nejsvrchnějších vrstvách epitelu. Dále buňky umístěné v přechodné vrstvě mezi plochým a cylindrickým epitelem na děložním čípku nebo anu se ukázaly jako zvláště přístupné a náchylné k infekci HPV (Hong a Laimins 2013).

1.5.1 Fáze adsorpce a penetrace

Pro úspěšnou infekci buňky virem je vitální část virálního cyklu přilnutí (adsorpce) virové partikule k povrchu buňky. Adsorpce probíhá mezi determinantami na povrchu viru (též ligandy) a receptory na cytoplazmatické membráně hostitelské buňky. HPV může pouze infikovat aktivně dělící se buňky, protože závisí na hostitelské buňce a její genomové replikaci, vzhledem k tomu, že sám o sobě nekóduje žádné enzymy ani polymerázu, která by mohla usnadnit vlastní replikaci (Doorbar et al. 2020).

Podle nejaktuálnějšího zjištění se lidské papilomaviry váží primárně přes protein L1 na proteoglykan heparanu sulfátového (*heparan sulfate proteoglykan*; HSPG), který se běžně vyskytuje v mimobuněčné matrix a na povrchu většiny buněk. Heparan sulfát se často nachází na dvou membránově vázaných proteoglykanech, syndekanech a glypikanech. Glypikany jsou převážně exprimovány v centrální nervové soustavě a syndekany jsou převažujícími HSPG v epiteliálních buňkách, a tedy cílových buňkách HPV. Zejména syndekan-1 (člen z rodiny syndekanů) může sloužit jako primární receptor, vzhledem ke své vysoké úrovni exprese

v epiteliálních buňkách. Další z možných receptorů pro HPV je laminin-5. Ačkoliv se ukázalo, že interakce s lamininem-5 má pro infekci nižší význam, přestože afinita k lamininu-5 je vyšší než k heparan sulfátu. HPV tedy k přenosu infekce z mimobuněčné matrix potřebuje vazbu na heparan sulfát. Po navázání HPV na HSPG dochází k první konformační změně skrze proteolytické štěpení furinem, výsledkem této změny je odhalení vazebného místa pro sekundární receptor. Následuje druhá konformační změna, u které buď taktéž dochází k odhalení vazebného místa nebo ke snížení afinity k primárnímu receptoru, a tedy uvolnění místa pro receptor sekundární. Teorie o existenci sekundárního receptoru (koreceptor) vychází ze studování fáze adsorpce na buňku u viru herpes simplex, který také využívá heparan sulfát jako svůj receptor k infekci, ačkoliv k tomu není naprosto nezbytný. HSPG je považován za vazební receptor, nikoliv penetrační receptor. Pro samotnou penetraci membrány je tedy nutný koreceptor. Podle nejnovějších studií se jako sekundární receptory nabízejí například: EGFR, $\alpha 6$ -integrin nebo annexin-A2 tetramer (Graham, 2017; Horvath et al., 2010).

HPV se do buňky vpravuje skrze endocytózu, která se podobá makropinocytóze. Tento proces je nezávislý na transportních proteinech, klatrinu a caveolinu, a na lipidovém raftu. Viriony jsou dále dopravovány přes endozómy, kde procházejí strukturálními změnami jako je částečná dekapcidace. Během dekapcidace se odštěpí L1 od L2 a virálního genomu a je určen k degradaci. Vedlejší kapsidový protein L2 zprostředkovává dopravu z endozómů do trans Golgiho sítě skrze přímé interakce s retromerovým systémem. Virální genom spolu s L2 je transportován do jádra cestou zprostředkovanou tubulinem. Vstup do jádra je zajištěn jadernými póry nebo po rozpadu jaderné membrány během mitózy, a následně se L2 a virální genom společně lokalizuje u ND10 domény, což je kritický krok pro infekci jádra a umožňuje transkripci genomu (Graham 2017; Harden a Munger 2017).

1.5.2 Fáze replikace genomu a genové exprese

Fáze replikace genomu je zahájena, jakmile je úspěšně infikováno jádro hostitelské buňky. Genom viru přetrvává v bazální vrstvě epitelu po měsíce, roky nebo až dekády ve formě jaderného epizómu s nízkým počtem genomických kopií. Mezi prvními exprimovanými proteiny jsou proteiny E1 a E2, ačkoliv pro počáteční amplifikaci nemusí být nezbytné, pokud jaderný epizóm obsahuje v rozmezí mezi 50 až 100 kopií. Genom je replikován jednou za buněčný cyklus, a to v S fázi cyklu k zajištění persistence infekce v epitelu (Doorbar et al. 2020; Harden a Munger 2017).

Po této latentní fázi nastává fáze vegetativní virální DNA replikace, která je vázána na diferenciaci buněk. Na replikaci genomu se aktivně podílejí proteiny E1 a E2, přičemž E1 je jediný enzym kódovaný virem a slouží jako ATP dependentní helikáza (Doorbar et al., 2015). K navázání E1 na DNA dochází v sekvencích s výskytem adeninu a thyminu, následuje protein E2, který vazbu E1 na adenin-thymin stabilizuje zvýšením afinity (Moody & Laimins, 2010). HPV nekóduje žádné další enzymy, a tak se musí začlenit do hostitelského buněčného procesu DNA syntézy (Doorbar et al., 2015). E1 a E2 využívají buněčnou DNA polymerázu a další jaderné enzymy nezbytné k uskutečnění genomové replikace (Harden & Munger, 2017). Onkoproteiny E6 a E7 přizpůsobují prostředí v diferenciovaných buňkách k další genomové amplifikaci viru, která by za běžných okolností v těchto buňkách nebyla možná (Moody & Laimins, 2010). Protein E7 se na váže retinoblastomový protein RB1 (pRB) a příbuzné proteiny RBL1 (p107) a RB2 (p130), což má za výsledek regulaci procesů, které kontrolují DNA syntézu a buněčnou proliferaci (Doorbar et al., 2015). Protein E6 inaktivuje tumor supresorový protein p53 a tím zablokuje antiproliferační a apoptotické mechanismy způsobené poškozením DNA a buněčnému stresu, kterému je buňka vystavená při průniku viru v S fázi buněčného cyklu (Harden & Munger, 2017). Protein E6 také zvyšuje aktivitu telomerázy, čímž umožňuje zachování integrity telomer navzdory opakovanému buněčnému dělení (Moody & Laimins, 2010).

1.5.3 Produkce novotvořených virionů

Dokončení životního cyklu virů zahrnuje výstup z buněčného cyklu a expresi L1 a L2 k obalení genomu. V jádře diferenciovaných keratinocytů dochází k sestavení nově vytvořených virionů. Vstup do jádra proteinům L1 a L2 umožňují karyoferiny, které zajišťují transport molekul z cytoplazmy do jádra. K maturaci virionů dochází ve svrchní vrstvě epitelu, kde jsou viriony vystavené oxidaci, zároveň tento proces zahrnuje akumulaci disulfidických vrstev mezi L1, díky kterému kondenzuje kapsida, a tedy zvyšuje její stabilitu a resistenci před proteolytickým štěpením. Dále je možné zapojení proteinu E4, který se váže na filamenta keratinocytů a rozrušuje jejich strukturu (Buck et al. 2005; Darshan et al. 2004; Harden a Munger 2017) .

2. Prekancerózní stav

Jako prekancerózní stav chápeme stav, kde se v cytologickém stěru nebo histologické biopsii nachází buněčné změny nebo tkáňové abnormality, které mají potenciál se vyvinout v rakovinu. Současně, aby prekancerózní stav mohl být nazýván prekancerózním stavem, musí splňovat pět kritérií, která byla navržena v rámci konference *Národního institutu pro rakovinu ve Spojených státech amerických*. Tato kritéria zahrnují v první řadě dostatečnou důkaznost, že daná prekanceróza je asociována se zvýšeným rizikem vzniku rakoviny. Dále pak to, jestliže prekanceróza propaguje do rakoviny, musí mít daná rakovina původ v prekancerózní lézi. Prekanceróza musí být také rozdílná od fyziologické tkáně z níž pochází a zároveň musí být rozdílná od rakoviny do které následně propaguje, sdílí s ní však některé molekulární a fenotypické vlastnosti. Posledním kritériem je nutnost dostupnosti analytické metody ke zjištění dané prekancerózy (Berman et al. 2006).

2.1 Bethesda systém klasifikace cytologického nálezu

Systém Bethesda byl poprvé publikován v roce 1988 na setkání odborníků z oborů cytopatologie, histopatologie a management pacientů v Národním Institutu Zdraví v městě Bethesda státu Maryland. Toto setkání vzniklo následkem několika článků v deníku *The Wall Street Journal*, ve kterém byla kritizována nesourodost laboratorních výsledků cytologických stěrů z děložního čípku. Poprvé byl tedy systém specificky vyvinut pro popis cervikálních změn, ale později se rozšířil i na popis jiných tkáních a orgánů jako například štítné žlázy, močového měchýře, endometria, pleury nebo anogenitálních oblastí. Výsledkem setkání vznikly tři základní principy, kterými se do dnešního dne systém řídí a těmi jsou, že terminologie musí předávat klinicky relevantní informace z laboratoře k poskytovateli zdravotnické péče, terminologie by měla být jednotná a přiměřeně reprodukovatelná mezi zdravotníky a patology a zároveň dostatečně přizpůsobivá k laboratořím v jiných zeměpisných lokalitách a v neposlední řadě se klade důraz na to aby terminologie byla co nejlepším vyjádřením aktuálního chápání cervikální neoplazie. Bethesda systém byl v průběhu let několikrát aktualizován, a to v roce 1991, 2001 a poslední aktuální verze vznikla v roce 2014 (Nayar a Wilbur 2017; 2015b).

Bethesda systém využívá dvoustupňového rozlišení na skvamózní intraepiteliální léze nízkého stupně (*low-grade squamous intraepithelial lesion*; LSIL) nebo vysokého stupně (*high-grade*

squamous intraepithelial lesion; HSIL) a zároveň rozlišuje původ buněk, a to na skvamózní nebo žlázové (glandulární).

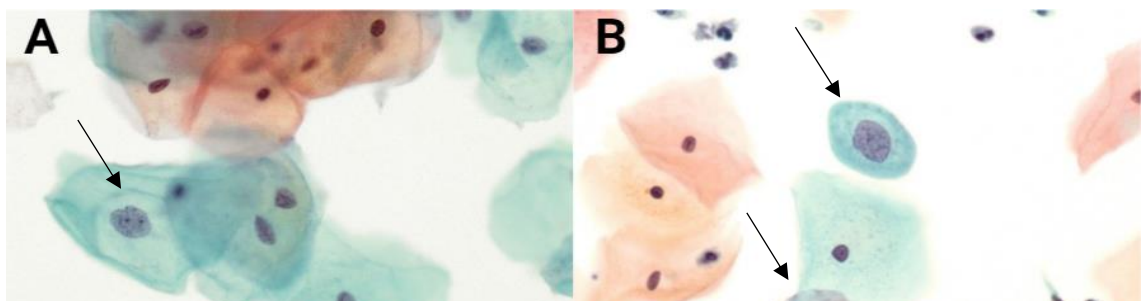
2.2 Abnormální skvamózní buňky

Skvamózní nebo také dlaždicový epitel je specializovaný typ buněk pokrývající povrch tkání jako je kůže, sliznice dutiny ústní, hltan, jícn, děložní čípek atd. Buňky jsou ve tvaru plochých dlaždic, které na sebe těsně naléhají a jsou tak mechanicky odolné. Skvamózní buňky ukládají ve svrchních vrstvách keratin. Tento proces se nazývá rohovatění (keratinizace), v cytologickém stěru se rozlišuje hyperkeratóza, která je definována jako bezjaderné skvamózní buňky vyskytující se samostatně nebo ve shluku s oranžovou (eosinofilní) cytoplazmou a parakeratóza, která je definována jako malé pyknotické buňky s hyperchromním jádrem (Kern, 1991; Kurman et al., 2011).

System Bethesda sice rozlišuje abnormální buňky na LSIL nebo HSIL, ale některé buňky mohou být podezřelé z těchto dvou kategorií, a nelze je s jistotou určit. Takové abnormální buňky podezřelé z LSIL nebo HSIL nazýváme atypické skvamózní buňky neurčitého významu (*atypical squamous cells of undetermined significance*; ASC-US) nebo atypické skvamózní buňky podezřelé z HSIL (*atypical squamous cells suspicious for HSIL*; ASC-H) (Nayar & Wilbur, 2015a).

2.2.1 Atypické skvamózní buňky neurčitého významu

Atypické skvamózní buňky neurčitého významu (Obr. 5) jsou podezřelé z LSIL a jsou nejběžněji nalezenou abnormalitou, není zde zcela jisté, že za změnou morfologie buňky stojí infekce HPV. Jsou typické zvětšeným jádrem a to 2,5krát až 3krát. Poměr jádra ku cytoplazmě, tzv. “*nucleus/cytoplasm*” ratio, je poměrně nízký (Nayar & Wilbur, 2015a).



Obrázek 5: **Atypické skvamózní buňky neurčitého významu** – (A) Zvětšené jádro s drobným perinukleárním projasněním naznačuje LSIL, ale není dostatečné pro definitivní určení. (B) Dvě atypické skvamózní buňky neurčitého významu se zvětšeným jádrem a jedna (dole) je dvoujaderná. Je zde důvodné podezření pro LSIL, ale je třeba dalších vyšetření (American society of cytopathology, 2015).

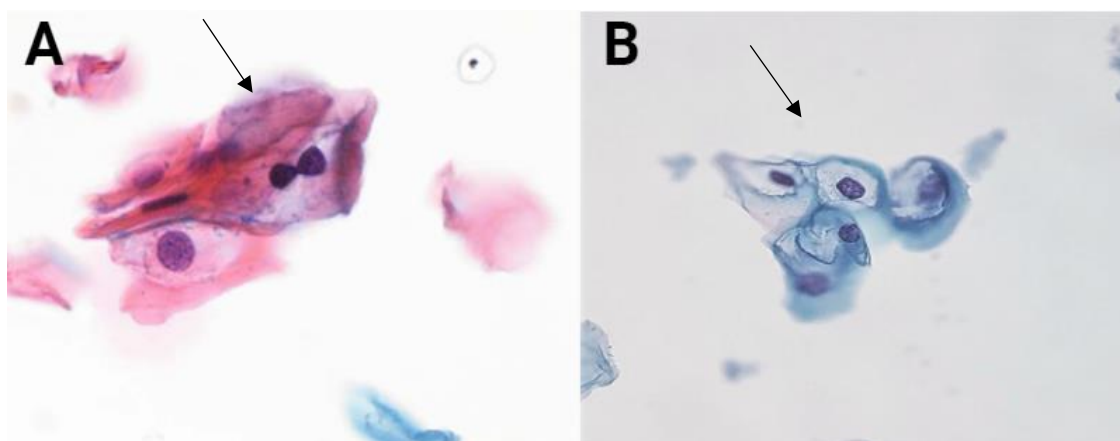
2.2.2 Skvamózní intraepiteliální léze nízkého stupně

LSIL patří mezi běžný nález abnormálního cytologického vyšetření. Doporučuje se k popisu změn buněk způsobené infekcí HPV. Přibližně 1,7 % ze všech cervikálních cytologických stěrů je klasifikováno jako LSIL a více než 80 % z nich je pozitivně testováno na HR-HPV. Hlavním morfologickým znakem LSIL jsou tzv. *koilocyty* (Darragh et al., 2013; Egemen et al., 2020).

Etymologický původ termínu koilocyt vznikl v antickém Řecku od slova *koilos*, tedy prázdný. Koilocyty (Obr. 6) jsou skvamózní epiteliální buňky s perinukleárním projasněním tzv. *halo*, s 2-3x zvětšeným hyperchromním jádrem, nepravidelnou jadernou membránou a může se vyskytovat i binukleace (Smith a Smith 2016). Koilocyty nejsou typické jen pro cervikální cytologii, ale také pro celou anogenitální oblast a larynx (Koss, 2012).

Vznik koilocytu je následkem působení proteinu E4, který rozrušuje cytoskelet a zároveň je pravděpodobné, že protein E5 a E6 spolu spolupracují na zvětšení projasnění, díky kterým jsou buňky nakažené HPV lépe rozlišitelné (Krawczyk et al. 2008).

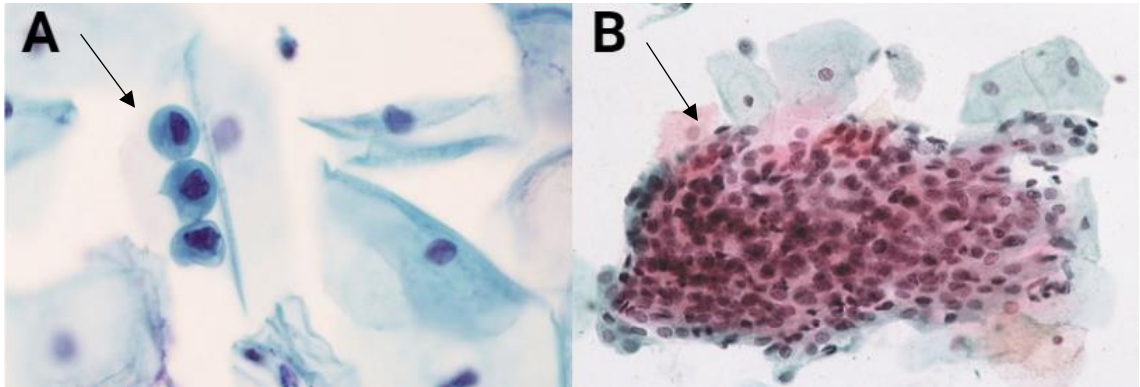
Koilocytóza, výskyt koilocytů ve vzorku, ukazuje na infekci HPV, která je často přechodná, ale pokud přetrvává déle jak 18 měsíců, je asociována s primárně s rakovinou děložního čípku, ale také s dalšími malignitami indukovanými lidským papilomavirem (Groves a Coleman 2015).



Obrázek 6: **Koilocyty** - (A) Koilocyty s hyperchromním jádrem a binukleace (vlevo).
(B) Shluk koilocytů s typickým projasněním (Krause, 2024; Arain et. al. 2005).

2.2.3 Atypické skvamózní buňky podezřelé z HSIL

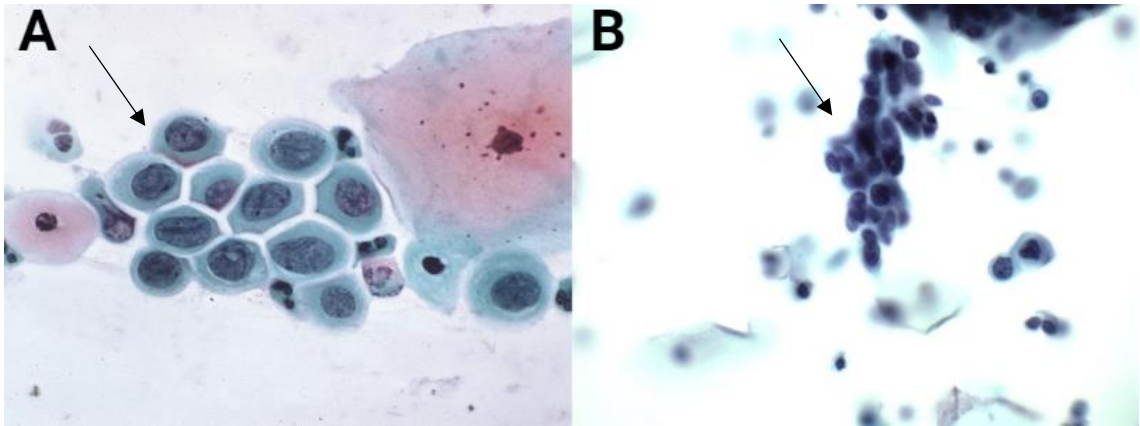
ACS-H jsou buňky, u nichž je již potvrzená skvamózní intraepiteliární léze nízkého stupně, ale nelze s jistotou určit, zda se jedná i o stupeň vysoký (Obr. 7). Obvykle se objevují samostatně nebo v malé skupině do deseti buněk. Vzhledově vypadají jako metaplastické buňky, tedy mladé nezralé skvamózní buňky, s velikostí jádra 1,5x až 2,5x větší než u zdravé metaplastické buňky. Poměr jádra a cytoplazmy odpovídá svou hodnotou velikosti, jako je u buněk HSIL (Nayar a Wilbur 2015a).



Obrázek 7: **Atypické skvamózní buňky podezřelé z HSIL** - (A) 3 ASC-H buňky se zvětšenými hyperchromními jádry, tyto změny sami o sobě nasvědčují HSIL, ale nejsou dostatečné pro tuto interpretaci. (B) Fragment tkáně volně na sebe přilnavých buněk se špatně rozeznatelnými hranicemi jednotlivých cytoplazmatických membrán, jádra jsou zvětšená a různorodá ve velikosti a tvaru. Vzhledem k hustotě agregátu nelze rozlišit skvamózní od glandulárních (Nayar & Wilbur, 2015).

2.2.4 Skvamózní intraepiteliální léze vysokého stupně

Zkratkou HSIL označujeme cervikální buněčné abnormality, u kterých je vysoká pravděpodobnost progresu v rakovinu nebude-li léčena. HSIL buňky (Obr. 8) jsou velikostí podobné parabazálním buňkám, a tedy jsou menší než LSIL buňky, což nasvědčuje pro menší buněčnou zralost. Jádro je zvětšené a obvykle hyperchromní, ale v některých případech může být normochromní až hypochromní, HSIL zároveň postrádají jadérko. Cytoplazma je oproti zdravé buňce výrazně menší, což vede k vysokému poměru jádra ku cytoplasmě (Nayar & Wilbur, 2015a).



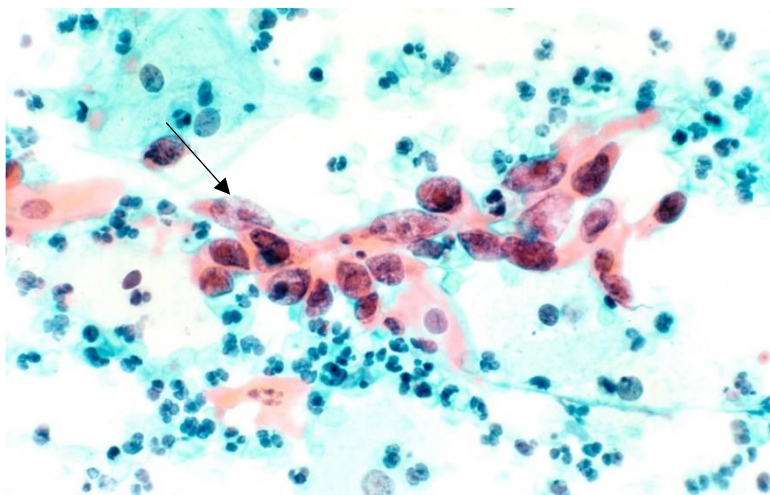
Obrázek 8: **Skvamózní intraepiteliální léze vysokého stupně** - (A) HSIL prezentující se zvětšeným nepravidelným a hyperchromním jádrem, vysokým podílem nukleocytoplazmatického poměru N/C, hustou cytoplazmou. (B) Syncyciální skupina HSIL na pozadí atrofie (American society of cytopathology, 2015).

2.2.5 Spinocelulární karcinom

Spinocelulární karcinom (*squamous cell carcinoma*; SCC), spinoliom, dlaždicobuněčný karcinom nebo také skvamocelulární karcinom je definován jako invazivní epiteliální nádor složený ze skvamózních buněk lišících se ve stádiu diferenciaci. Bethesda systém dále nerozlišuje spinocelulární karcinom, ale z praktických důvodů popisuje rohovatějící spinocelulární a nerohovatějící spinocelulární karcinom zvlášť (Kurman. R.; Carcangiu 2014; Nayar a Wilbur 2015a).

2.2.5.1 Rohovatějící spinocelulární karcinom

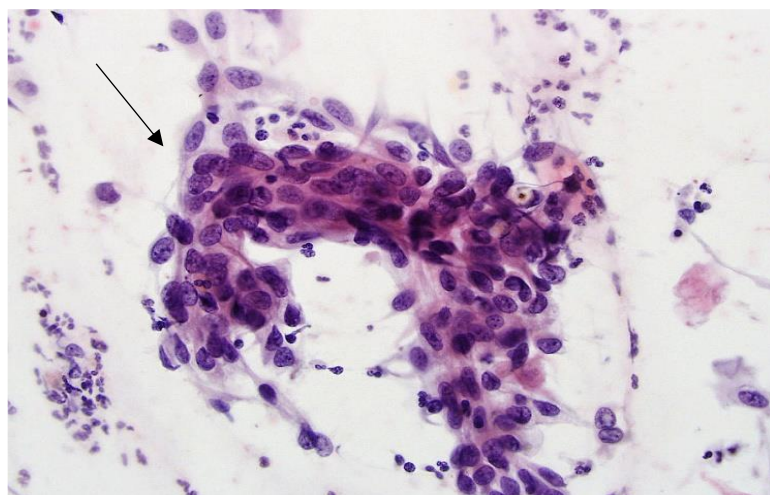
Rohovatějící nebo také keratinizující SCC (Obr. 9) se vyskytuje především jako izolovaná buňka a výjimečně jako buněčný agregát. Jednotlivé buňky se liší velikostí a často jsou protáhlé, dále se objevuje hustá cytoplazma, která se barví do oranžova až červena. Jádra se významně liší velikostí, a zároveň mohou být často neprůhledná, přičemž jaderná membrána bývá nepravidelná. Chromatinová kresba je silně granulovaná a chromatin je distribuován nepravidelně. Je důležité zdůraznit, že související keratinizující změny, jako je hyperkeratóza nebo parakeratóza, nejsou dostatečné pro interpretování vzorku jako SCC, pokud nejsou zároveň přítomné jaderné abnormality (Nayar a Wilbur 2015).



Obrázek 9: **Rohovatějící spinocelulární karcinom** – uprostřed zorného pole viditelné protáhlé buňky s oranžovou (eosinofilní) cytoplazmou a zvětšenými jádry (National Cancer Institute, 1993).

2.2.5.2 Nerohovatějící spinocelulární karcinom

Dle hodnotících kritérií se buňky nerohovatějícího SCC (Obr. 10) objevují jednotlivě i ve syncyriálních skupinách se špatně rozeznatelnými hranicemi, přičemž buňky mohou a nemusí být menší než u HSIL, ale vykazují většinu znaků jako HSIL. Podobně jako rohovatějícího SCC jádro disponuje nepravidelně rozprostřeným chromatinem, který místy tvoří shluky a jádérka mohou být zřetelná (Nayar a Wilbur 2015a).



Obrázek 10: **Nerohovatějící spinocelulární karcinom** – dysplastické buňky vykazují jaderné abnormality jako HSIL (Nayar & Wilbur, 2015).

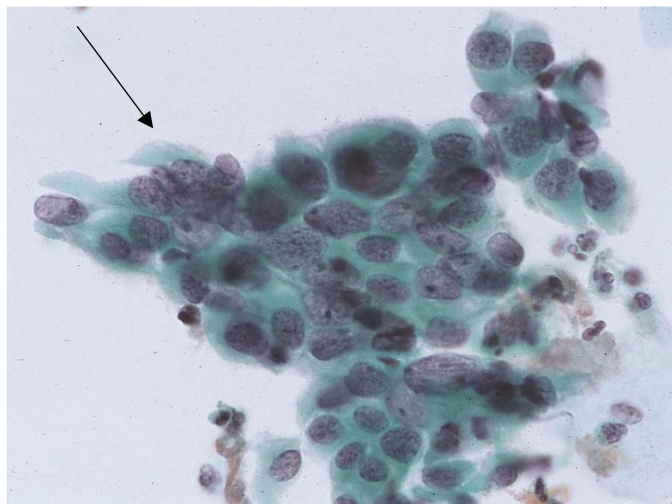
2.3 Abnormální žlázné buňky

Žlázné buňky jsou specializovaným typem buněk žláznového epitelu, který má schopnost vylučovat a produkovat sekrety jako například enzymy, hormony, pot atd. Atypické žlázné buňky (*atypical glandular cells*; AGC) jsou klasifikovány podle jejich místa původu,

tedy v rámci gynekologického vyšetření na endocervikální nebo endometriální. V rámci endocervikálního místa původu rozlišujeme atypické endocervikální buňky – blíže nespecifikované (*Atypical endocervical cells, not otherwise specified*; AGC-NOS), atypické endocervikální buňky spíše neoplastického původu (*atypical endocervical cells – favor neoplastic*), adenokarcinom *in situ* děložního čípku (*endocervical adenocarcinoma in situ*; AIS) a adenokarcinom děložního čípku (*endocervical adenocarcinoma*; EA) (Nayar & Wilbur, 2015a).

2.3.1 Atypické endocervikální buňky – blíže nespecifikované

Blíže nespecifikované atypické endocervikální buňky (Obr. 11) se vyskytují v pruzích nebo buněčných shlucích, jádra se mohou překrývat a mohou být pseudostratifikována. Jádro je zvětšené až 5krát oproti zdravé endocervikální buňce, přičemž tvar jádra může být variabilní. Cytoplazmatická oblast může být rozlehlá, ačkoliv poměr N/C je zvýšený (Nayar a Wilbur 2015a).

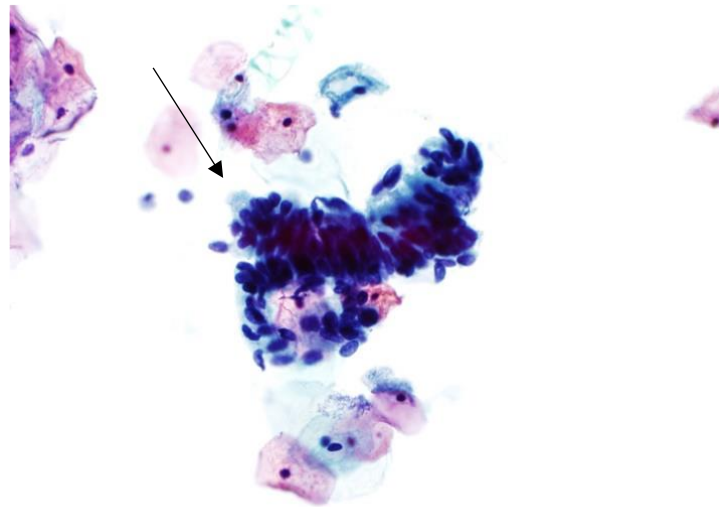


Obrázek 11: **Atypické endocervikální buňky – blíže nespecifikované.** Shluk se zvětšenými jádry, která se překrývají a jednotlivá jádra jsou navzájem různá svou velikostí (American Society Of Cytopathology, 2015).

2.3.2 Atypické endocervikální buňky – spíše neoplastického původu

Atypické endocervikální buňky – spíše neoplastického původu (Obr. 12) se přiklání svými morfologickými znaky k interpretaci adenokarcinom *in situ* děložního čípku nebo adenokarcinom děložního čípku, ale nejsou k této interpretaci dostatečné. Buňky se shlukují do pásů a vzácně do tvaru roset nebo peří. Jádra jsou zvětšená, čímž přispívají ke zvýšenému N/C podílu, a často hyperchromní a protažená, také se rovněž shlukují,

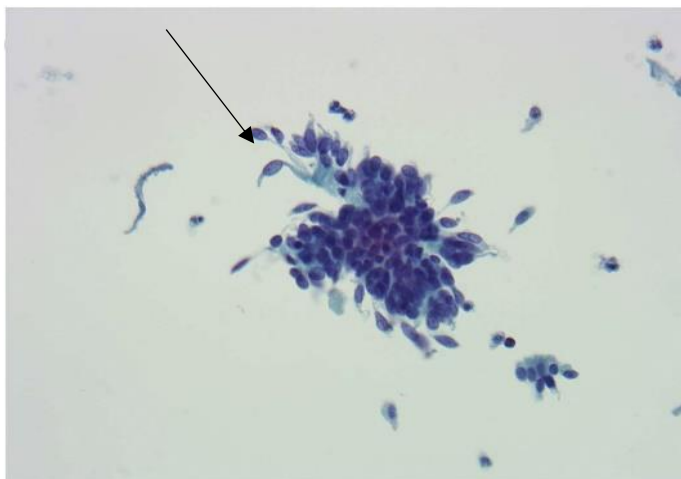
překrývají a pozorovatelná může být i pseudostratifikace. Zřídka se mohou objevovat mitózy v různém stádiu a apoptotické zbytky (Nayar a Wilbur 2015a).



Obrázek 12: **Atypické endocervikální buňky – spíše neoplastického původu.**
Pseudostratifikované endocervikální buňky spíše neoplastického původu, které se navzájem překrývají hyperchromními jádry a tvoří shluky ve tvaru peří (Reznicek, 2023).

2.3.3 Adenokarcinom *in situ* děložního čípku

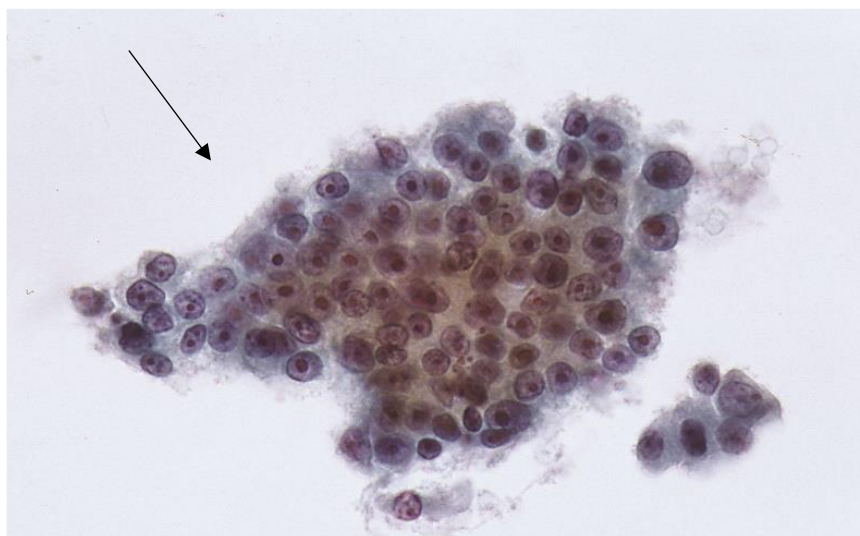
Adenokarcinom *in situ* děložního čípku (Obr. 13) je definován podle WHO jako intraepiteliální léze nesoucí znaky maligně transformovaných žláзовých buněk s vysokým rizikem propagace do invazivního adenokarcinomu nebude-li léčena. Jedná se o neinvazivní stádium prekancerózního stavu, kde transformované buňky zůstávají v místě vzniku (Kurman. R.; Carcangiu 2014). Z morfologického hlediska jde o oválné až podlouhlé buňky s hrubě granulárním chromatinem a soustředěny v širokých hyperchromních pruzích, rozetách nebo ve tvaru peří, a zároveň je poměrně běžný výskyt různých fází mitózy a apoptotických zbytků. Možná koexistence se skvamózní intraepiteliální lézí (Nayar a Wilbur 2015a).



Obrázek 13: **Adenokarcinom in situ děložního čípku** – buňky, jejichž jádra jsou hyperchromní, jsou na periferii shluku podlouhlé a tvoří tvar peří (Lashmanova et al., 2022).

2.3.4 Adenokarcinom děložního čípku

Cytologické hodnotící požadavky pro adenokarcinom děložního čípku (Obr. 14) se ve velké míře překrývají s těmi pro AIS, ale mohou disponovat dalšími znaky konsistentními s invazí. Buňky jsou typické cylindrickým tvarem a uspořádáním ve dvoudimenzionálních širokých pruzích, ve třídimenzionálních shlucích nebo v syncyriálních agregátech. Zvětšená pleomorfní jádra disponují nepravidelně rozmístěným chromatinem a jaderná membrána je nepravidelná. Běžně se vyskytují makronukleoly a cytoplazma obvykle obsahuje drobné vakuoly. Možný výskyt abnormálních skvamózních buněk, případně intraepiteliální skvamózní léze (Nayar & Wilbur, 2015a).

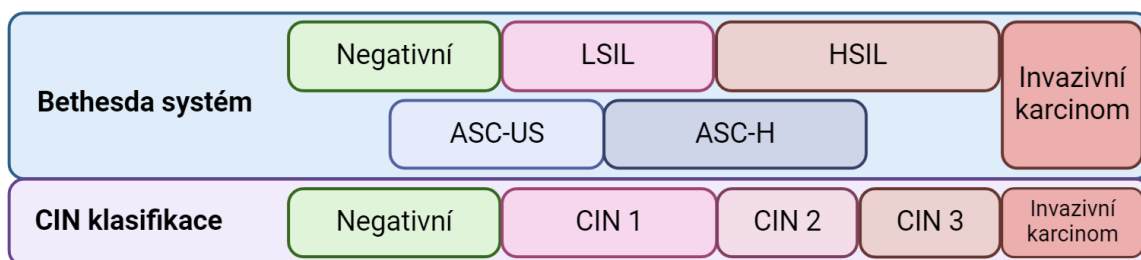


Obrázek 14: **Adenokarcinom děložního čípku** – žlázné buňky disponují velkým jádrem s viditelným makronukleolem (Nayar & Wilbur, 2015).

2.4 Cervikální intraepiteliální neoplazie

Cervikální intraepiteliální neoplazie (*cervikal intraepithelial neoplasia*; CIN) je druh klasifikace různých stupňů stádia cervikální neoplazie z vyšetřovaného vzorku tkáně odebraného z děložního čípku. Interpretace výsledků z dané biopsie je dělena do tří kategorií, CIN 1, CIN 2 a CIN 3. Jednotlivá stádia progresu se od sebe liší stupněm diferenciacie, maturace, stratifikace buněk, jaderných abnormalit a v potaz se také bere tloušťka epitelu (Gaillard 2008).

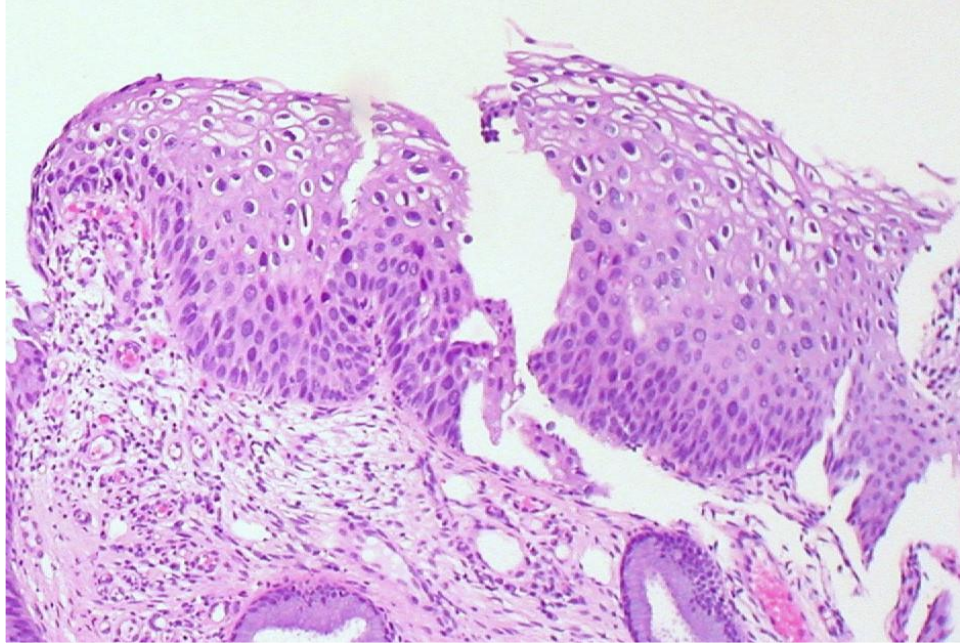
Termín *cervikální intraepiteliální neoplazie* poprvé představil Richart (1973) k vysvětlení cervikální neoplazie při popisu průběhu onemocnění. Richartův systém CIN 1 odpovídá mírné dysplazii, CIN 2 odpovídá střední dysplazii a CIN 3 zahrnuje jak vážnou dysplazii, tak i karcinom *in situ*. Tato klasifikace se primárně užívá pro zhodnocení histologického materiálu, zatímco Bethesda systém byl vyvinut zvlášť pro cytologické vyšetření. Oba systémy spolu navzájem korespondují (Obr. 15), kdy LSIL odpovídá CIN 1 a HSIL odpovídá CIN 2 a 3. Nejasná podstata ASC-US a ASC-H je na pomezí vyobrazených interpretací (Knowlton et al. 2013).



Obrázek 15: Schéma porovnávající Bethesda systém s CIN – LSIL (skvamózní intraepiteliální léze nízkého stupně), HSIL (skvamózní intraepiteliální léze vysokého stupně), ASC-US (atypické buňky nejasného významu), ASC-H (atypické buňky podezřelé z HSIL) (autorka práce).

2.4.1 Cervikální intraepiteliální neoplazie 1

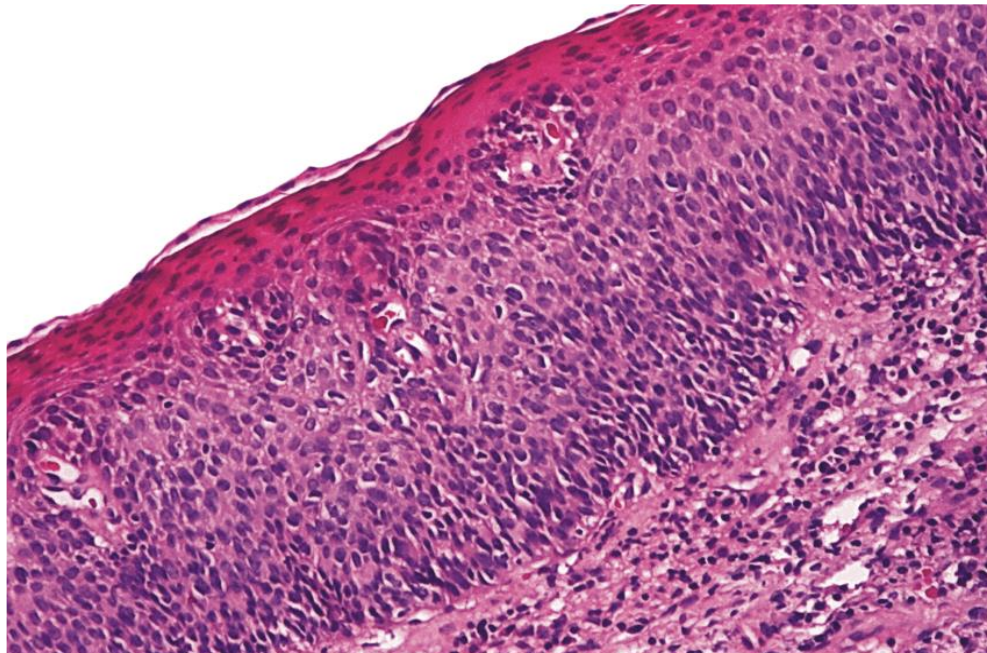
Diagnóza CIN 1 (Obr. 16) patří mezi nejběžnější výsledky provedených biopsií, přičemž většina CIN 1 je organismem eliminována do 2 let. Výsledek CIN 1 odpovídá dle Bethesda systému LSIL, lze tedy pozorovat koilocyty s typickým halo. Charakteristicky postupují buněčné změny od spodních vrstev u bazálních buněk směrem k povrchu epitelu (Carreon et al., 2007).



Obrázek 16: **Cervikální intraepiteliální neoplazie 1** - řez děložním čípkem, patrné koilocyty v přibližně polovině epitelu (Uthman, 2019).

2.4.2 Cervikální intraepiteliální neoplazie 2

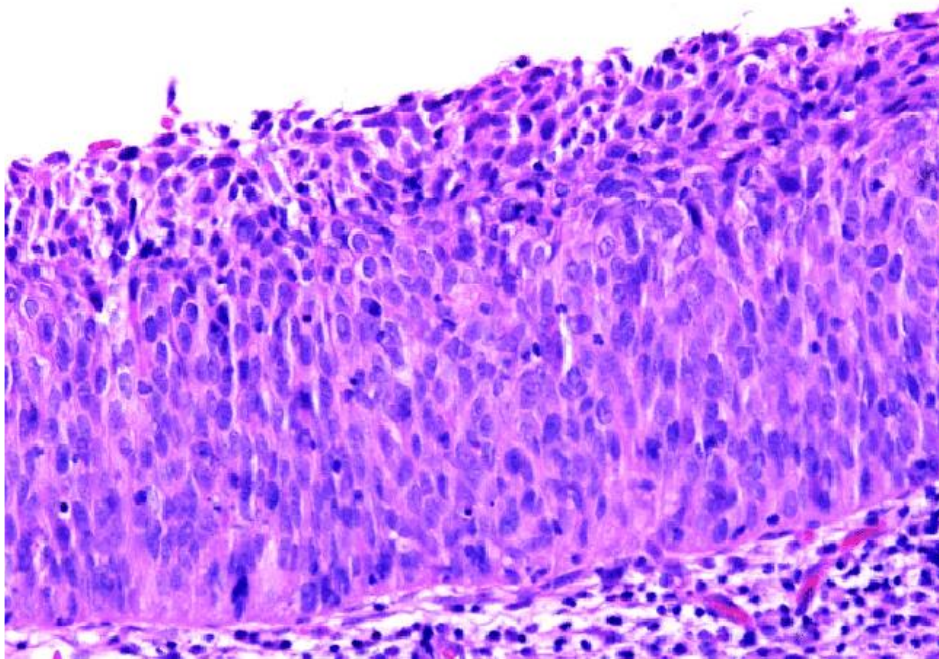
Interpretace CIN 2 (Obr. 17) znamená, že více jak polovina epitelu je závažně infikována lidským papilomavirem, která se projevuje abnormálními buňkami. CIN 2 odpovídá v Bethesda systému interpretaci HSIL a riziko persistence je poměrně vysoké, obzvláště je-li způsobena infekcí HR HPV 16 (Damgaard et al. 2024).



Obrázek 17: **Cervikální intraepiteliální neoplazie 2** - dysplastické skvamózní buňky ve spodních dvou třetinách epitelu (Boicea et al., 2012).

2.4.3 Cervikální intraepiteliální neoplazie 3

CIN 3 nebo někdy také označováno jako karcinom in situ (Obr. 18) se prezentuje abnormálními buňkami v celém epitelu, buňky jsou malé, nezralé, hyperchromní a hustě uložené vedle sebe. V rámci této interpretace této prekancerózy je vysoká pravděpodobnost propagace do rakoviny nebude-li léčena. V rámci Bethesda systému odpovídá HSIL.



Obrázek 18: Cervikální intraepiteliální neoplazie 3 - Skvamózní buňky v epitelu jsou nezralé malé a atypickými hyperchromními jádry (Lax, 2011).

2.5 Diagnostika

V České republice existuje screeningový program pro včasný záchyt rakoviny děložního čípku. Zdravotní pojišťovny hradí jednu gynekologickou prohlídku ročně a bere se v potaz věk ženy a zdali je sexuálně aktivní. V rámci této prohlídky gynekolog vyplňuje osobní i rodinou anamnézu, pohledem i pohmatem prohlédne děložní čípek a provede stěr k cytologickému vyšetření (neprovádí se u virgo žen). Samotné vyšetření pohlavních orgánů může být také doplněno ultrazvukovým vyšetřením. HPV test je hrazen ženám ve věku 35 let, 45 let a 55 let.

2.5.1 Cytologický stěr dle Papanicolaou

Cytologický stěr je diagnostické vyšetření, při kterém lékař odebere buňky z povrchu děložního čípku, toto vyšetření umožňuje včas zachytit buněčné změny či maligní transformace. V České

republiky se cytologické vyšetření provádí od 70. let minulého století a dnes je součástí preventivních prohlídek.

Jako první metodu odebrání buněk z cervixu představil George Papanicolaou v roce 1928, známou jako Papanicolaou stěr a účinnost této metody potvrzena v roce 1941 a dnes se bere jako standart pro cervikální screening po celém světě.

Cytologický stěr dle Papanicolaou principiálně funguje tak, že lékař odebere buňky z děložního čípku, nanese na sklíčko a po barvení sleduje pod mikroskopem. Papanicolaou zároveň také vyvinul speciální barvení pro lepší zobrazování cytologických preparátů, které dnes známe jako barvení dle Papanicolaou a skládá se z hematoxylinu pro obarvení jádra, roztoku barviva oranž G, které barví keratinová vlákna a roztoku barviva EA, které se skládá ze 3 složek, a to ze světle zelené (light green), eosinu Y a roztokem barviva Bismarck brown (Chantziantoniou et al. 2017).

2.5.2 Liquid based cytologie

Liquid based cytologie (*liquid based cytology*; LBC) je metoda jednovrstevných preparátů, která překonala tradiční Papanicolaou stěr svým jednodušším způsobem odběru, lepší fixaci vzorku a eliminace zastíracích faktorů při vyšetřování jako jsou artefakty, hlen, erytrocyty nebo zánětlivé buňky. Při odběru lékař buňky z děložního čípku a kartáček nebo vatovou tyčinku vloží do zkumavky s fixační a konzervační tekutinou, která se následně odesílá do specializované laboratoře. Tento krok usnadňuje manipulaci v praxi, kdy při Papanicolaou stěru jsou buňky hned naneseny na sklíčko a následně fixovány. Další výhodou je možnost dalších vyšetření ze stejného vzorku, aniž by pacientka musela podstoupit další odběr. Dnes jsou známy dva hlavní postupy pro LBC a těmi jsou ThinPrep a SurePath (Makde a Sathawane 2022).

SurePath funguje na principu sedimentace a gradientu hustoty, kdy se vzorek „zvortexuje“ aby rozrušil hlen a rozdělil velké shluky buněk, následně je centrifugován, aby se odstranila krev a na závěr je buněčná peleta resuspendována a nanesena na sklíčko (Makde a Sathawane 2022).

Při metodě ThinPrep jsou buňky vloženy do zkumavky s filtrem a konzervační látkou na bázi methanolu. Zkumavky jsou vloženy do poloautomatického stroje ThinPrep, který zkumavky mechanicky otáčí a rozptyluje tak buňky, hlen, krev a buněčné zbytky. Buněčná suspenze

prochází filtrem, rychlost průtoku je konstantně monitorována pro optimální množství buněk, a následně jsou buňky z filtru automaticky přeneseny na sklíčko (Makde a Sathawane 2022).

Ačkoliv metoda LBC převládá výhodami nad tradičním Papanicolaou stěrem, tak není v České republice hrazena z veřejného pojištění, nicméně pojištěnci si u některých pojišťoven mohou zažádat o příspěvek.

2.5.3 Kolposkopie

Kolposkopie se využívá k vyšetření děložního čípku, konkrétně transformační zóny, tj. hranice mezi žlázovým epitelem a dlaždicovým (skvamózním) epitelem. Děložní čípek se vyšetřuje pomocí kolposkopu, což je nástroj podobný světelnému mikroskopu, který je doplněn o polohovací systém, jako je rameno a stojan, pro jednodušší manipulaci. Pro lepší vizualizaci se přímo na čípek aplikuje roztok 3 až 5 % kyseliny octové, po které abnormální buňky zbledají. Někdy se také po roztoku kyseliny octové používá Lugolův roztok, který obarví fyziologický epitel děložního čípku do hněda a potenciální lézi Lugolův roztok již nebarví a nabývá tak žluté barvy (Khan et al. 2017). Kolposkopické vyšetření je doporučeno v případech, že cytologický stěr je pozitivní, tj. byly nalezeny LSIL, ASC-H atd. (Srisuwan et al. 2014).

2.5.4 Biopsie

Biopsie je invazivní diagnostický postup, při kterém lékař odebere vzorek tkáně z daného orgánu nebo jiné oblasti, pro následné mikroskopické analyzování. Lékař nebo zdravotnický nelékařský personál má díky biopsii přehled o jednotlivém stavu tkání a buněk a možném nálezů abnormálních buněk, prekancerózních stavů, maligních transformací nebo zánětů a infekcí. Existuje několik metod pro odběr tkáně, ale mezi nejběžnější metody pro odběr tkáně z děložního čípku patří tzv. punch biopsie a konizace (Dvořák a Pilka 2014).

Při punch biopsii se vzorek tkáně odebírá pomocí kleštíček a za kontroly kolposkopu. Odebírá se z místa s největším výskytem abnormalit, přičemž odběr provádí sám lékař, který je držitelem licence kolposkopické expertízy. Vyšetření probíhá ambulantně bez anestezie nebo analgesie, na většině klinikách si ovšem lze připlatit za lokální znecitlivění (Costa et al. 2003).

2.5.5 Laboratorní stanovení nádorových markerů

Jako nádorový marker se označuje jakýkoliv povrchový marker nebo biochemická laboratorně prokazatelná látka, která odlišuje nádorový proces od nenádorového. Nejčastěji se jedná

o makromolekuly přítomné v krvi, moči, dalších tělních tekutinách nebo ve tkáních, které mohou být produkovány samotnými nádory nebo jako reakce organismus na přítomnost malignity.

V rámci screeningu pro karcinom děložního čípku se obvykle vyšetřuje antigen skvamózních nádorových buněk (*squamous cell carcinoma antigen*; SCC nebo SCCA), fragment cytokeratinu 19 (CYFRA 21-1) a karcinoembryonální antigen (CEA), nicméně samostatné vyšetření těchto onkomarkerů nejsou vhodná pro určení primární diagnózy, ale jako doplňující vyšetření v případě podezření na přítomnost karcinomu děložního čípku. V případě rakoviny vulvy, ánu, penisu, hlavy a krku se nádorové markery nevyšetřují v rámci diagnostiky, ale obvykle v průběhu léčby jako monitoring odpovědi organismu na léčbu (Gadducci et al. 2004).

2.5.5.1 Antigen skvamózních nádorových buněk

Antigen skvamózních nádorových buněk je subfrakce glykoproteinu TA-4 izolovaného z nádorových skvamózních buněk. Jedná se o nejčastěji využívaný sérový marker pro screening rakoviny děložního čípku. Stanovuje se například chemiluminiscenční imunoanalýzou na mikročasticích ze srážlivé krve, imunohistochemicky, radioimunoanalyticky nebo enzymaticky (ELISA), přičemž referenční rozmezí je do 1,5 µg/l (Gadducci et al. 2004; Zhu 2022).

2.5.5.2 CYFRA 21-1

Fragment cytokeratinu 19 CYFRA 21-1 je nádorový cytokeratinový polypeptid. Tento tumor marker se nejčastěji pro vyšší citlivost využívá k vyšetření nemalobuněčného karcinomu plic, nicméně jeho stanovení lze také využít k vyšetření karcinomu děložního čípku nebo hlavy a krku. CYFRA 21-1 se nejčastěji vyšetřuje imunoenzymatickými metodami jako je ELISA nebo pomocí imunochemiluminiscence (ECLIA), její referenční hodnota je <2,08 µg/l (Gadducci et al. 2004; Kotowicz et al. 2016).

2.5.5.3 Karcinoembryonální antigen

Karcinoembryonální antigen je glykoprotein, který se účastní buněčné adheze. CEA je primárně syntetizován v průběhu těhotenství a jeho produkce se zastaví před porodem. Zvýšené hodnoty u dospělých signalizují maligní procesy v organismu, ale hodnota CEA může být také zvýšena u kuřáků, lidí s cirhózou jater nebo také u alkoholiků. Nevyšetřuje se pro screening malignit, ale v průběhu jednotlivých intervalů pro stanovení progresu nebo stagnace onemocnění. CEA

se obvykle vyšetřuje imunoenzymaticky (ELISA) a jeho fyziologická hodnota je do 5,2 µg/l (Grunnet a Sorensen 2012).

2.5.6 Imunohistochemie

Imunohistochemie využívá reakce antigenu (*antigen*; Ag) a protilátky (*antibody*; Ab) za vzniku komplexu antigen-protilátka, tedy Ag-Ab komplex, k detekování specifických antigenů v buňkách a tkáních. Pro znázornění komplexu se nejčastěji využívá fluorescence skrze fluorochrom nebo enzymatického vázání nejběžněji skrze křenuvou peroxidázu (Magaki et al., 2019). Vyšetření probíhá nejčastěji za využití světelného mikroskopu z čerstvých, fixovaných i zamražených vzorků, ovšem nejčastěji jsou vzorky fixované formaldehydem a zalité parafínem (Sukswai & Khoury, 2019). V rámci diagnostiky prekancerózních stavů nebo maligních transformací děložního čípku se nejčastěji vyšetřuje protein p16INK4A a jaderný antigen Ki-67 (Magaki et al. 2019; Sukswai a Khoury 2019).

Protein p16INK4A, a především jeho nadměrná exprese je diagnostický biomarker, který umožňuje identifikaci cervikální dysplazie s potenciálem k progresi do invazivní rakoviny. P16INK4A je lepším ukazatelem vzniku cervikální neoplazie s progresí do karcinogeneze než samotné HPV testování, vzhledem k tomu, že většina infekcí je sama eliminována organismem. Funkcí p16INK4A je tumorová suprese a regulace buněčného cyklu, při imunohistochemické detekci sledujeme jeho nadměrnou expresi nebo absenci (Wang et al. 2005).

Ki-67 je jaderný antigen a biomarker buněčné proliferace, který je exprimován ve všech fázích buněčného cyklu kromě G₀. Současná exprese p16INK4A a Ki-67 se ve fyziologických buňkách vzájemně vylučuje, pokud detekujeme jak p16INK4A i Ki-67 v buňce, tak to svědčí o buněčné transformaci, která může vést k invazivní rakovině. Současný výzkum předkládá možnost detekce těchto biomarkerů současně pro efektivnější stanovení rizika maligní transformace (Zhang et al. 2019).

2.5.7 HPV testy

HPV test nebo HPV typizace je vyšetření, při kterém se izoluje virální DNA ze vzorku. Využívá se metod jako například polymerázová řetězová reakce (*polymerase chain reaction*; PCR), *Hybrid capture 2* (HC2) nebo sekvenování nové generace (*next generation sequencing*; NGS)(Basiletti et al. 2022). PCR využívá enzym DNA-polymerázu k amplifikaci konkrétních sekvencí DNA, tato metoda patří k jedněm z nejvyužívanějších ve virologii. Dokáže rozlišit

HR HPV a LR HPV, a zároveň také rozlišit o který typ se jedná (Garibyan & Avashia, 2013; Kulmala et al., 2004).

HC2 funguje principiálně na detekci RNA-DNA hybridů pomocí amplifikovaného signálu a chemiluminiscenční technologie. DNA HR HPV je rozdělena na jednotlivá vlákna a na ně se naváže komplementární RNA, která se dále váže s protilátkou a chemiluminiscenčním roztokem. Za vzniku záření je-li výsledek reakce pozitivní. Metodu může rušit reakce s LR HPV a také HC2 není schopné rozlišit jednotlivé typy HR HPV (Kulmala et al. 2004).

Sekvenování nové generace oproti sekvenování dle Sangera umožňuje detekci širokého spektra HPV typů. Tato metoda spočívá v masivním a paralelním sekvenování jedné molekuly z malého množství DNA, umožňuje tedy identifikaci všech přítomných typů bez ohledu na charakteristiku sekvence (Basiletti et al. 2022).

2.6 Terapie a prevence

Terapeutických možností v léčbě prekancerózních stavů je několik, mezi nepoužívanější v praxi patří konizace, která má povahu jak terapeutickou, tak i diagnostickou. Další možností je kryoterapie, která se obvykle provádí v rané fázi léze. Další metody léčby nejsou schválené pro běžnou praxi, ale slibné výsledky přináší experimentální léčba fotodynamické terapie, která je založená na působení kyseliny 5-aminolevulinové (*5-aminolevulinic acid photodynamic therapy*; ALA-PDT). ALA-PDT je v dnešní době moderní onkologií schválena jako alternativní léčba rakoviny kůže.

V České republice existuje diagnostický screeningový program sloužící zejména k prevenci a včasnému zachytu onemocnění, jehož součástí je jedna hrazená gynekologická prohlídka ročně pro ženy od 15 let. Součástí prevence je hrazená vakcinace dětí před zahájením sexuálního života proti HPV od dovršení 11 let do dovršení 15 let.

2.6.1 Vakcinace

Vakcína proti lidským papilomavirům byla úplně první vakcínou, která chrání před rakovinou. Principiálně funguje na využití VLP na jejichž povrchu jsou bílkoviny, a tak imitují lidský papilomavirus (Zhai & Tumban, 2016). Nejběžněji komerčně vyráběnými vakcínami jsou Cervarix a Gardasil 9. Cervarix je bivalentní vakcína, což znamená že je namířena proti 2 typům HPV, a to HR HPV 16 a 18. Gardasil 9 je nonavaletní upravená verze vakcíny Gardasil, která byla kvadrivalentní. Gardasil 9 je zaměřená proti 2 typům LR HPV, a to LR HPV 6 a 11,

zároveň je zaměřená proti 7 typům HR HPV, konkrétně HR HPV 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58. Vakcína Cervarix zároveň vykazuje určitý stupeň ochrany před typy HR HPV 31 a 45, které nejsou součástí vakcíny. Pozorováním bylo podpořeno tvrzení, že vakcína Cervarix vyvolává vysoký titr protilátek proti očkovaným typům a nízkou reakci proti neočkovaným typům v případě infekce daným typem (Godi et al., 2019).

Hrazená vakcinace dětí v České republice začala v roce 2012 pro dívky a v roce 2017 bylo rozšířena i pro chlapce. K dostání u pediatriů je jak vakcína Cervarix, tak vakcína Gardasil 9. Očkování má smysl i v dospělosti, používá se 3 dávkové schéma, ale není hrazené z veřejného zdravotního pojištění. Proočkovanost třináctiletých dívek v České republice v roce 2012 dosahovala 75,6 %, zatímco v roce 2017 klesla proočkovanost na 63,7 % a v roce 2019 mírně stoupla na 63,9 %, přičemž proočkovanost třináctiletých chlapců byla 36,5 %. Klesající trend je pravděpodobně důsledkem antivakcinační nálady ve společnosti, ke které výrazně přispěla pandemie onemocnění COVID-19 (Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR 2021).

2.6.2 Konizace

Konizace je jak diagnostický, tak terapeutický chirurgický zákrok, při kterém se odstraňuje kuželovitý tvar tkáně za účelem odstranění abnormálních buněk nebo lézí a odebraná tkáň je následně odeslána k histopatologickému analyzování. Existuje řada způsobů a metod konizace, jako třeba elektrokonizace vysokofrekvenční elektrickou kličkou (*loop electrosurgical excision procedure*; LEEP), konizace laserem nebo chirurgická konizace například metodou *cold knife* (Dvořák a Pilka 2014).

Metoda LEEP je jedna z nejběžnějších technik konizace prováděná v praxi a probíhá ambulantně s lokální anestezií a spočívá v odebrání části čípku elektrickou kličkou, která je k dostání v několika velikostech pro přizpůsobení velikosti léze. LEEP se využívá jak v případě povrchový lézí, tak i při zasahování léze do endocervikálního kanálu. Zákrok trvá přibližně asi 5 sekund a jeho výhodou je nižší cena oproti jiným excizním metodám. Komplikací může být krvácení a to u 4–6 % pacientek (Pierce a Bright 2013).

Konizace laserem není v České republice příliš dostupná metoda, vzhledem k vysoké pořizovací ceně laseru pro jednotlivé ordinace. Probíhá za použití neodým-yttrium, argon, gadoliniového laseru (Nd-YAG) k léčení cervikálních neoplazií a zároveň prokázala své využití pro léčbu mikroinvasivní rakoviny děložního čípku bez invaze do lymfatického prostoru. Zákrok trvá přibližně 12 minut a možná krevní ztráta až 20 ml se naskytne přibližně v 11,5 %

případů. Odebraný histologický vzorek zpravidla vykazuje přítomnost nekrotické tkáně u okrajů preparátu, ale jinak nezhodnocuje výsledek analýzy (Ueda et al. 2006a).

Konizace děložního čípku metodou *cold knife* je chirurgická excizní metoda obecně využívaná k léčbě AIS a mikroinvazivního karcinomu. Výhodou *cold knife* metody je lepší kontrola nad manipulací se skalpelem než u elektrické kličky ((Martin-Hirsch et al., 2010). Odebraný vzorek není nijak tepelně poškozen jako u metody LEEP nebo při konizaci laserem (Ueda et al., 2006). Nevýhodou metody je nemožnost provádění zákroku ambulantně, ale je vyžadována lokální nebo celková anestezie a je zde možnost pooperačních komplikací jako je infekce rány nebo její krvácení (Ueda et al. 2006; Martin-Hirsch et al. 2010).

2.6.3 Fotodynamická terapie

ALA-PDT je experimentální neinvazivní léčba cervikální intraepiteliální neoplazie nebo jiných onemocnění nádorového nebo nenádorového původu. Je založena na lokální nebo systémové aplikaci fotosensitivních molekul, tj. fotosensitiverů jako například kyselina 5-aminolevulová nebo jiných porfyrinů. Fotosensitivery se selektivně akumulují v tkáni s abnormálními buňkami a po vystavení světlu o určité vlnové délce vyvolávají oxidační stres v buňce reaktivními formami kyslíku (Felsher 2003).

V rámci léčby lézí na děložním čípku se aplikuje 20% roztok kyseliny 5-aminolevulové, která se aplikuje na čípek a nechá se inkubovat 3-4 hodiny. Následně se pomocí červeného LED světla o vlnové délce 635 nm ozáří děložní čípek po dobu 30 minut a intenzitě 100 J/cm². Léčba se opakuje jednou za 1-2 týdny celkem třikrát a měla by se vyhnout době menstruace (Chen et al. 2024).

3. Rakovina děložního čípku

Rakovina děložního čípku je závažné zhoubné onemocnění postihující spodní část dělohy zvanou děložní čípek nebo také děložní hrdlo. Tento typ rakoviny indukovaným lidským papilomavirem je způsoben nekontrolovatelným růstem buněk s propagací mimo dlaždicový, tj. skvamózní nebo žlázový epitel v oblasti děložního čípku (Altekruse et al., 2010). Spinocelulární karcinom a adenokarcinom děložního čípku jsou nejběžnější subtypy rakoviny děložního čípku, přičemž spinocelulární karcinom představuje přibližně 70 % a adenokarcinom děložního čípku představuje 25 % všech diagnostikovaných případů. Navzdory pokroku v prevenci a navzdory organizaci screeningových programů a vakcinace po celém světě, zůstává rakovina děložního čípku stále velkým zdravotnickým problémem (Small et al., 2017).

3.1 Epidemiologie

Lidský papilomavirus se přenáší kožním kontaktem a k infekci tedy nedochází pouze pohlavním stykem. Ani použití prezervativu tedy nemusí být spolehlivou ochranou. Z této skutečnosti vyplývá, že možnost nákazy lidskými papilomaviry je snazší než u pohlavních chorob, které se šíří výhradně skrze tělní tekutiny. Příkladem těchto pohlavních chorob je například infekce bakterií *Neisseria gonorrhoeae*, která je původcem kapavky, nebo infekce virem lidské imunologické nedostatečnosti (*human immunodeficiency virus*; HIV), jež je původcem AIDS.

Světová prevalence infekcí HPV na děložním čípku je odhadována na 11,7 % u žen s normálním výsledkem cytologického vyšetření a mnohem vyšší u žen s abnormálním cytologickým nálezem. Nejvyšší věkový výkyv infekcí je zaznamenán u náctiletých dívek a žen mezi dvacátým a dvacátým devátým roku života a následně s věkem klesá, ačkoliv některé země zaznamenaly další výkyv v pozdějších letech života. Nejběžnějšími nálezy bývají typy HPV 16, 18, 52 a 32 (Scott-Wittenborn a Fakhry 2021).

V poslední statistice z roku 2020 dle GLOBOCAN je incidence u rakoviny děložního čípku 604 127 případů, což činí 3,1 % ze všech případů rakovin. Mortalita v tomtéž roce byla 341 831 případů, což činí 3,3 %. Nejvyšší incidence a mortalita byla zaznamenána ve východní a jižní Africe a nejnižší v Austrálii, na Novém Zélandu a západní Asii. Je důležité zdůraznit, že HPV je zodpovědný ze 100 % za rozvoj této rakoviny, ale nemusí být striktně jediný faktor. Mezi další doprovodné rizikové kofaktory, které zvyšují šanci rozvoje v maligní transformaci

patří kouření, snížený imunitní systém, koinfekce HIV nebo bakterií *Chlamydia trichomatis*, vysoký počet porodů nebo dlouhodobé užívání orální antikoncepce (Sung et al. 2021).

3.2 Klinické projevy a symptomy

Rané stádium onemocnění je často asymptomatické stejně jako infekce HPV nebo vývoj prekancerózní léze, onemocnění lze většinou zachytit pouze pravidelným screeningem (Lim et al., 2014). Mezi první příznaky patří postkoitální nebo abnormální vaginální krvácení, vzácným příznakem může být vaginální výtok (Stapley & Hamilton, 2011). Mezi pozdější příznaky řadíme otoky končetin, bolest v boku a bederní části páteře, které signalizují propagaci rakoviny do pánevní stěny, vylučování moči přes pochvu je známkou vezikovaginální píštěle signalizující invazi do močového měchýře a průchod stolice přes pochvu je známkou rektovaginální píštěle, která signalizuje invazi do konečníku (Lim et al. 2014; Stapley a Hamilton 2011).

3.3 Klasifikace nádorů

Staging neboli klasifikace nádorů dle stupně vývoje je založen na velikosti nádoru a jeho rozsahu od primárního ložiska. K určení *stagingu* tumoru je třeba prohlídka pacienta, endoskopické vyšetření a vyšetření zobrazovací technikou. Není úplně nutné provádět všechna vyšetření. K vyhodnocení nádorů rakoviny děložního čípku se využívají 2 základní dělení, a to TNM, což je rozšířenější varianta, kde T znamená velikost nádoru, N vyjadřuje zapojení lymfatických uzlin a M znamená výskyt nebo absenci metastází a FIGO, který byl vyvinut Mezinárodní federací gynekologů a porodníků (Mohamud et al. 2022; Cohen et al. 2019).

3.3.1 TNM

Tento staging systém byl vyvinut *American Joint Committee on Cancer* a *International Union against Cancer* ve spolupráci s Mezinárodní federací gynekologů a porodníků, výsledkem byl TNM staging systém, který je založen na třech aspektech a těmi jsou velikost nádoru, zapojení lymfatických uzlin a metastáze. Systém prošel v průběhu let několika změnami, nejaktuálnější je TNM verze 9., která vyšla pro popis děložního čípku v roce 2021 (Olawaiye et al. 2021).

Parametr T, který vyjadřuje velikost nádoru je členěn celkem do 6 hlavních kategorií: T_x, T₀, T₁, T₂, T₃ a T₄ (Tabulka 1.). Kategorie T₁ až T₄ obsahuje ještě další subkategorie, které specifikují přesnou velikost nádoru (Olawaiye et al. 2021).

T	Charakteristika
T _x	Není možno zhodnotit
T ₀	Primární tumor není přítomen
T ₁	Karcinom se striktně nachází na cervixu
T ₂	Invaze karcinomu mimo dělohu, ale mimo spodní třetinu vagíny a mimo pánevní stěny
T ₃	Invaze karcinomu do vagíny i pánevní stěny, nádor narušuje funkci ledvin
T ₄	Invaze karcinomu do sliznice močového měchýře, rekta nebo jiných blízkých orgánů

Tabulka 1: **T parametr klasifikace nádorů** – tabulka vysvětlující charakteristiku (vpravo) jednotlivých označení parametru T (vlevo) v TNM staging (upraveno dle: Olawaiye et al., 2021)

Parametr N vyjadřuje případně napadení lymfatických uzlin a dělí se 4 hlavních kategorií: N_x, N₀, N₁ a N₂ (Tabulka 2.). Kategorie N₁ a N₂ obsahují ještě další subkategorie specifikující velikost lymfatické metastáze (Olawaiye et al. 2021).

N	Charakteristika
N _x	Není možno zhodnotit
N ₀	Lymfatické uzliny nezasázeny
N ₁	Pánevní lymfatická uzlina zasažena
N ₂	Paraaortická lymfatická uzlina zasažena, včetně i bez pánevní

Tabulka 2: **N parametr klasifikace nádorů** – tabulka vysvětlující charakteristiku (vpravo) jednotlivých označení parametru N (vlevo) v TNM staging (upraveno dle: Olawaiye et al., 2021)

Parametr M (Tabulka 3.) vyjadřuje přítomnost metastáz a dělí se na 3 kategorie: M₀, cM₁ a pM₁. cM₁ znamená klinická kategorie metastáze a pM₁ znamená patologická kategorie metastáze (Olawaiye et al., 2021).

M	Charakteristika
M ₀	Bez metastází
cM ₁	Metastáze v tříselných lymfatických uzlinách, plicích, játrech a kostech; mimo pánevní a paraaortální lymfatické uzliny
pM ₁	Mikroskopické potvrzení cM ₁

Tabulka 3: **M parametr klasifikace nádorů** – tabulka vysvětlující charakteristiku (vpravo) jednotlivých označení M parametru v staging systému TNM (vlevo), přičemž cM₁ znamená klinická kategorie metastáze a pM₁ znamená patologická kategorie metastáze (upraveno dle: Olawaiye et al., 2021).

3.3.2 FIGO

Staging systém FIGO vyvinula Mezinárodní federace gynekologů a porodníků specificky pro gynekologické nádory a zároveň koresponduje s TNM staging systémem. Aktuálně se používá verze z roku 2018, původní verze vznikla v roce 1950 v New Yorku. FIGO staging systém stejně jako TNM dělí nádory do 4 hlavních kategorií, a těmi jsou stádium I, stádium II, stádium III a stádium IV (Odicino et al., 2008; Salib et al., 2020).

Stádium I je definováno jako stádium, kdy je karcinom lokalizován pouze na děložním čípku. V rámci stádia I rozlišujeme podtypy stádium IA, pro které je specifikovaná hloubka karcinomu do ≤ 5 mm a stádium IB, pro které se specifikovaná hloubka karcinomu >5 mm (Salib et al. 2020).

Stádium II odpovídá stavu, kdy karcinom přesahuje dělohu, ale nezasahuje do spodní třetiny vagíny nebo pánevní stěny. Stádium II se dále dělí na stádium IIA, pro které je specifikovaný přesah karcinomu do svrchních 2/3 vagíny a stádium IIB, při kterém karcinom zasahuje do parametria (Salib et al. 2020).

Stádium III zahrnuje podtypy stádium IIIA, IIIB, IIIC1 a IIIC2. Stádium IIIA popisuje zásah karcinomu do celého rozsahu vagíny, stádium IIIB je definováno jako zásah do pánevní stěny s narušením funkce ledvin, stádium IIIC1 odpovídá invazi do pánevní lymfatické uzliny a v rámci stádia IIIC2 je pozorována invaze do paraaortální lymfatické uzliny (Salib et al. 2020).

Stádium IV je rozděleno na dva podtypy, a to stádium IVA a stádium IVB. Stádium IVA popisuje invazi karcinomu do rekta nebo močového měchýře a stádium IVB odpovídá přítomnosti metastází (Salib et al. 2020).

3.4 Terapie

V dnešní době existuje několik způsobů léčby rakoviny děložního čípku, které jsou kosmopolitně využívány. Indikace jednotlivých metod je pro každé stádium jiná, ale zahrnují chirurgické zákroky odstranění děložního čípku nebo celé dělohy, radioterapii, chemoterapii nebo imunoterapii.

3.4.1 Hysterektomie a trachelektomie

Hysterektomie zahrnuje odstranění dělohy a děložního čípku chirurgickým zákrokem. Při této operaci zároveň mohou být odstraněny i vaječníky a vejcovody. K provedení operace se využívá 3 základních metod provedení, a těmi jsou laparoskopická hysterektomie, vaginální hysterektomie s přístupem přes pochvu nebo abdominální hysterektomie prováděna řezem v podbřišku. V rámci rakoviny děložního čípku se nejčastěji provádí celková hysterektomie, u které dochází k odstranění děložního čípku a dělohy nebo radikální hysterektomie, při které se mimo dělohy a děložního čípku také odebírá část pochvy a okolní lymfatická tkáň (Clayton 2006).

Trachelektomie je operační postup, při kterém se odstraňuje děložní hrdlo. K tomuto zákroku se přistupuje v případě, že si pacienta přeje, aby byla zachována její plodnost. Těhotenství je tedy nadále možné, ale často se naskytují komplikace, jako například předčasný porod, který nastává přibližně v 25 % případů. Obvykle se v praxi využívá radikální trachelektomie, při které se odstraňuje děložní čípek, svrchní část pochvy a okolní parametriální tkáň (Herod a Shepherd 2000; Plante et al. 2011).

3.4.2 Radioterapie a chemoterapie

Léčebný proces radioterapie obnáší kombinaci zevní radioterapie a brachyterapie s cíleným zářením na konkrétní orgán bez dalšího ozařování celého organismu. Radioterapie se často provádí v kombinaci chemoterapie (Vordermark 2016).

Při zevní radioterapii je ozářen primární nádor a pánevní lymfatické uzliny celkovou dávkou 45-50 Gy, léčebný postup je většinou prováděn pomocí radioterapie s modulovanou intenzitou pro minimalizaci toxicity a zajištění přesné podání látky. Brachyterapie je typ vnitřního

ozařování, kdy je radioaktivní zdroj umístěn do děložního čípku. Brachyterapie může být prováděna metodou nízké dávky nebo vysoké dávky (Vordermark 2016).

Pro zvýšení účinnosti radioterapie se provádí současně chemoterapie, nejčastěji pomocí cisplatiny, která se podává týdně v několika cyklech. Bylo prokázáno, že kombinace radioterapie a chemoterapie zvyšuje šanci na přežití (Vordermark 2016).

3.4.3 Imunoterapie

Imunoterapie je léčba založená na posílení imunitního systému k obranyschopnosti vůči onemocněním včetně rakoviny. Imunoterapie s různými látkami, které modifikují imunitní systém tak, aby cílila na rakovinné buňky a eliminoval je. Hlavním cílem je obnovit efektivní protinádorovou odpověď imunitnímu systému překonáním mechanismů, které indukoval lidský papilomavirus (Grau-Bejar et al. 2023).

Nejvýznamnějším pokrokem v imunoterapii je blokáda kontrolních bodů imunity (*immune checkpoint inhibitor*; ICI). ICI se zaměřuje na specifické proteiny na imunitních buňkách, jako jsou PD-1 a PD-L1, které se podílejí na regulaci aktivity T-lymfocytů. Blokace těchto proteinů umožňuje tzv. *checkpoint* inhibitory T-lymfocytů rozpoznávat a napadat nádorové buňky (Grau-Bejar et al. 2023).

4. Rakovina vulvy, anu, penisu a hlavy a krku

Lidský papilomavirus také postihuje anogenitální oblast nebo orofaryngeální oblast. Z anogenitální oblasti se jedná o rakovinu vulvy, anu a penisu, k infekci těchto orgánů dochází při koitu nebo jiným kožním kontaktem. K infekci orofaryngeální oblasti dochází primárně u orálního sexu. Tyto malignity jsou oproti rakovině děložního čípku méně časté, a tak v České republice není program ke screeningu těchto malignit.

4.1 Epidemiologie

Vulvální karcinom z histologického hlediska je až z 90 % spinocelulární karcinom, který je asociovaný s lidským papilomavirem. Podle poslední statistiky GLOBOCAN z roku 2020 je ročně diagnostikováno 45 240 případů což odpovídá 0,2 % ze všech rakovin a roční mortalita je 17 427 tedy 0,2 % ze všech úmrtí následkem rakoviny (Sung et al. 2021; de Sanjosé et al. 2014)

Rakovině anu ročně připadá až 20 000 nových případů, přičemž až 90 % z nich je způsobeno infekcí lidským papilomavirem, přičemž ročně na rakovinu anu umírá 19 293 lidí což odpovídá 0,2 % ze všech úmrtí v důsledku všech rakovin. Distribučně jsou tyto případy rovnoměrně rozdělené mezi muže a ženy, přičemž více nálezů je u jedinců, kteří jsou zároveň diagnostikováni s AIDS, další možné riziko je kouření. Nejrizikovější skupinou jsou muži nakažení virem HIV a zároveň provozují nechráněný anální sex s jinými muži. HIV pozitivní muži a ženy, které provozují sex se ženami mají také velké riziko rozvoje rakoviny anu (Lin et al. 2018; Sung et al. 2021).

Incidence rakoviny penisu se liší podle zeměpisné lokality, rasy a etnika. Ve vyspělých státech není rakovina penisu běžná, statisticky jde o 0,94 mužů ze 100 000 v Evropě a 0,5 mužů ze 100 000 ve Spojených státech amerických, zatímco incidence je signifikantně vyšší v Jižní Americe, Jihovýchodní Asii a částech Afriky. Mortalita rakoviny penisu byla za rok 2020 dle GLOBOCAN 13 211 případů, což odpovídá 0,1 % ze všech úmrtí v důsledku rakoviny. Podle klasifikace Světové zdravotnické organizace z roku 2022 se rakovina penisu dělí na HPV nezávislou a asociovanou s HPV, přičemž infekce HPV je zodpovědná až za 50 % rakovin. Nejvíce frekventovaný typ dle dostupných dat je HR HPV 16 (Brouwer et al. 2023; Sung et al. 2021).

Rakoviny hlavy a krku nebo také orofaryngeální karcinom je následující nejběžnější karcinom indukovaný lidským papilomavirem, po rakovině děložního čípku, ačkoliv tuto malignitu může

způsobovat i virus Epstein-Barrové. Podle GLOBOCAN 2020 je roční incidence 98 412 případů což činí 0,5 procenta ze všech rakovin roční mortalita 48 143 případů, což odpovídá 0,5 % všech úmrtí v důsledku všech zahrnutých rakovin. Orofaryngeální karcinom lze rozdělit na HPV pozitivní a HPV negativní, pro obě skupiny platí, že dalšími rizikovými faktory je kouření, užívání alkoholu, zatímco pro HPV pozitivní rakovinu hlavy a krku je největší rizikový faktor orální sex. Ve Spojených státech amerických až 80 % všech orofaryngeálních karcinomů je HPV pozitivní (Gribb et al. 2023; Sung et al. 2021).

4.2 Klinická prezentace

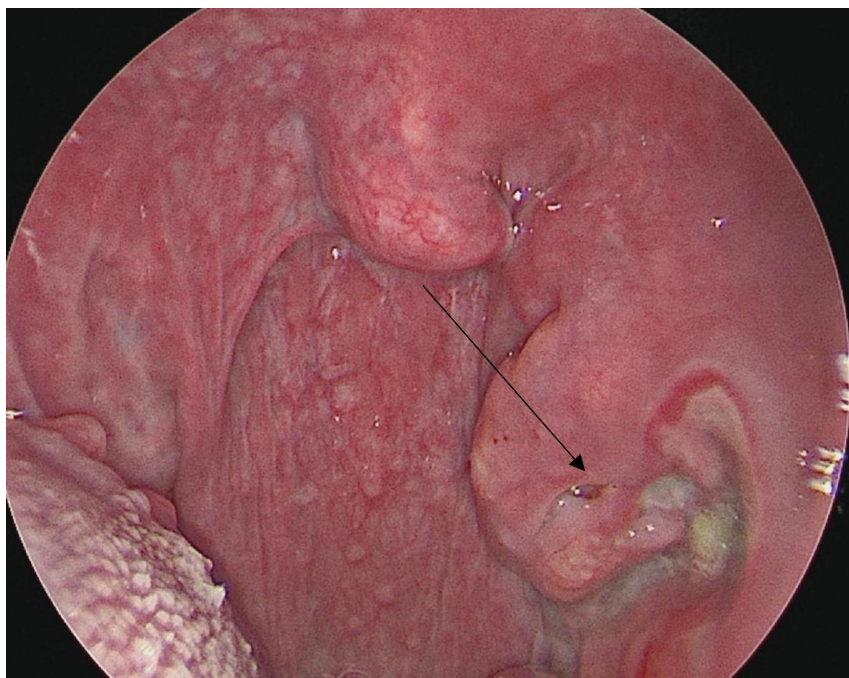
Rakovina vulvy je poměrně vzácné onemocnění, které je z histologického hlediska až z 90 % spinocelulární karcinom. Absence symptomů je běžná, ale mezi nejběžnější symptomy patří persistentní svědění, krvácení mimo cyklus nebo po menopauze anebo výtok. Rakovina vulvy se obvykle prezentuje jako bulky nebo léze, které mohou být vředové, bradavičnaté nebo leukoplakické. V raných stádiích bývá nádor lokalizovaný na vulvě, nejčastěji na velkých nebo malých stydkých pyscích a následně často expanduje do perineální oblasti a spádových lymfatických uzlin orgánů včetně vagíny, močové trubice i měchýře a anu (Alkatout et al., 2015).

Rakovina anu je až z 20 % asymptomatická. V raných stádiích onemocnění lze nalézt benigní léze, hemoroidy, anální praskliny, dermatitida, ztráta kontroly nad svěrači nebo anorektální píštěle nebo výtok, a to až z více než 50 % případů. Výrostky na anu se mohou objevit až v pozdějších stádiích onemocnění. Někteří pacienti mají neobvyklé projevy nemoci jako je mnohočetné abscesy, metastáze duhovky nebo izolovanou tříselnou lymfadenopatii, které může být nesprávně diagnostikovaná jako zánět, a tak prodlužuje čas správné diagnostiky. Progrese rakoviny anu pokračuje invazí do okolních orgánů, tj. vagína a močový měchýř, a také postupuje dále střevy (Muñoz et al., 2006; Tena Gómez & Santos, 2007).

Rakovina penisu je z 95 % spinocelulární karcinom a anatomicky jsou léze lokalizovány na slizničních površích, a tak až ze 48 % jsou léze lokalizovány na žaludu, až z 21 % na vnitřní předkožce a nejméně je léze lokalizována na keratinizovaném těle penisu, a to pouze ze 2 %. Léze jsou velmi často bezbolestné a dalším symptomem je výtok. Samotné léze mají širokou škálu diferenciální diagnózy, a tedy nelze rakovinu penisu diagnostikovat bez histologického potvrzení. Rakovina penisu se propaguje do perineální oblasti a do lokálních lymfatických

uzlin, tj. tříselné a pánevní. Metastáze bývají nejčastěji na plicích, kostech a játrech (Thomas et al. 2021).

Rakovina hlavy a krku HPV pozitivní má n rozdíl od jiných nádorů hlavy a krku HPV negativní afinitu k orofaryngeální oblasti, obvykle oblasti mandlí (Obr. 19), pravděpodobně kvůli přechodné oblasti epitelů, které připomínají transformační zónu na děložním čípku. Mezi symptomy orofaryngeálního karcinomu je bolest v krku, těžké polykání nebo bolest v uších. Staging, který je založen na imunohistochemickém vyšetření p16INK4A, a tedy rozlišuje HPV pozitivní a HPV negativní karcinomy orofaryngu. HPV pozitivní orofaryngeální karcinom se v raných fázích vyskytuje v oblasti mandlí a dále propaguje na bázi jazyka nebo i do hlasivek, invaze do okolních kostí je známkou další progresse onemocnění. Metastáze do vzdálených orgánů bývají nalezeny v kostech a na plicích (Deutsch et al. 2022; Taneja a Solomon 2024).



Obrázek 19: **Orofaryngeální rakovina** – endoskopický snímek nádoru na mandli (vpravo) (Deutsch, 2022).

4.3 Diagnostika a prevence

Diagnostika rakoviny vulvy je často ztížena častou bezpříznakovostí anebo bývá chybně diagnostikována jako jiné zánětlivé kožní onemocnění a k finální diagnóze obvykle dochází později. Diagnostický postup se skládá z lékařského vyšetření gynekologem nebo dermatologem a následná biopsie (Tan et al. 2019).

Rakovina anu je diagnosticky podobná jako u rakoviny děložního čípku, provádí se Papanicolaou stěr z anu a zlatým standardem je anoskopie s vysokým rozlišením se zvýrazněním léze pomocí roztoku kyseliny octové a Lugolova roztoku, dále se provádí biopsie, která potvrzuje finální diagnózu (Lytwyn et al. 2005).

Diagnostika rakoviny penisu v úvodu probíhá vyšetřením lékaře, který jednotlivé léze prohlédne a zhodnotí jejich tvar, umístění a velikost. Následně se odebírá biopsie pro potvrzení finální diagnózy. V pokročilém stádiu lze zobrazit nádor pomocí zobrazovacích technik jako je počítačová tomografie nebo biopsie blízkých lymfatických uzlin (Thomas et al. 2021).

Rakovina hlavy a krku je složitější na diagnostiku a je nutné vyšetření invazivnější endoskopií. Rakovina hlavy a krku postihuje dutinu ústní, orofarynx, farynx a hypofarynx. Na rozdíl od rakoviny děložního čípku pro rakovinu hlavy a krku neexistuje žádný screeningový program ani ucelená klasifikace lézí (Galati et al. 2022).

Účinnou prevencí rakoviny vulvy, anu, penisu a hlavy a krku je očkování proti lidským papilomavirům bivalentní Cervarix nebo účinnější nonavaletní Gardasil 9, dále přispívá zdravá životospráva, tj. neuzívání nikotinu, alkoholová abstinence, pravidelné preventivní lékařské prohlídky a zdravý pohlavní život a v případě rakoviny penisu i obřízka v dětství (Thomas et al. 2021).

4.4 Terapie

Radikální vulvektomie je z historického hlediska prvním chirurgickým postupem pro léčení rakoviny vulvy, nicméně tato operace byla nadměrně velkým zákrokem i v případě malého invazivního karcinomu, vznikla tedy vulvektomie, která je založená na metodě tzv. tří řezů. První dva řezy se vedou u vulvy v místě karcinomu se zachováním širokých okrajů vulvy a třetí řez je veden u třísel v blízkosti lymfatických uzlin. Chirurgické odstranění se může kombinovat s radiochemoterapií před samotnou operací pro zmenšení nádoru a tím jeho jednodušší extrakci (Alkatout et al. 2015).

Primární terapie nádorů anu je chirurgická excize lézí, pokud je nádor klasifikován jako T₁N₀M₀ není nutné následně absolvovat radiochemoterapii. Jeli nádor pokročilý a nejsou zachovány anální svěrače nebo není operovatelný, přistupuje se k radiochemoterapii. Radiochemoterapie se skládá ze zevní radioterapie, brachyterapie a chemoterapie za použití 5-flouro-uracilu a mytomycinu C (Peiffert et al. 2022; Alfa-Wali et al. 2016).

V případě povrchových nádoru na penisu je možné jejich odstranění obřízkou. Mezi další metody patří laserová ablace, imunoterapie a radioterapie. Invaze nádoru do houbovitého topořivého tělesa nebo dutinkového topořivého bývá léčena částečnou nebo úplnou amputací genitálu s ohledem na *staging* karcinomu (Hakenberg et al. 2018).

V ranných stádiích rakoviny hlavy a krku se přistupuje k chirurgické excizi a radioterapii, která zvyšuje míru přežití na 70 až 90 %, lze také využít novějších technik jako je robotické operace nebo laserové mikrooperace, která je minimálně invazivní. Pokročilá stádia T₃ a T₄ vykazují vysokou míru návratu onemocnění a nízkou mírou přežití tj. $\leq 50\%$. Multimodální terapie, tj. operaci, zevní radioterapii, brachyterapii a chemoterapii zvyšuje míru přežití s ohledem na zachování funkcí orgánů (Chow 2020).

ZÁVĚR

Přestože lidský organismus disponuje řadou obraných mechanismů, kterými je schopen eliminovat infekci, stále infekce lidským papilomavirem představuje významný zdravotní problém především díky své schopnosti indukovat různé malignity, přičemž rakovina děložního čípku je druhá nejčastější příčina úmrtí na rakovinu u žen. Tato bakalářská práce poskytuje komplexní přehled o HPV a jeho roli v onkogenezi, přičemž na klasifikaci, virální cyklus, diagnostiku, prekancerózní stavy a možnosti terapie nádorových onemocnění, respektive prekanceróz, které jsou lidským papilomavirem indukovány.

Důkladným studiem zaměřeným na HPV viry a na jimi indukovaná nádorová onemocnění dospějeme k lepšímu porozumění celému procesu karcinogeneze. Proces karcinogeneze probíhá skrze implementování své virální DNA do genomu hostitelské buňky a navozením imunosupresivních mechanismů vedoucí k nekontrolovatelné buněčné proliferaci, destabilizaci hostitelského genomu a postupnou změnu morfologie buněk známou jako prekancerózní léze. Prekancerózní léze se vyznačuje vznikem koilocytů a postupným snižováním stupně diferenciace zvětšováním jader a zmenšováním cytoplazmy vedoucí k vysokému poměru N/C. Prekancerózní léze může být persistentní až po dekády, než dojde k transformaci do invazivní rakoviny postihující děložní čípek, vulvu, anus, penis a orofaryngeální oblast.

Je důležité zdůraznit význam prevence, včasné diagnostiky a účinné terapie HPV indukovaných malignit. Rozšíření preventivních screeningových programů, pro ženy v rámci gynekologických prohlídek, i do států, kde ještě toto preventivní opatření nebylo zavedeno přispěje ke zlepšení zdravotnické péče. Pokračující výzkum neinvazivní fotodynamické terapie i imunoterapie využívající ICI a vývoj nových diagnostických a terapeutických metod ke stávajícím metodám jako je kolposkopie a konizace je nezbytný pro další zlepšení prognózy a kvality života pacientů postižených těmito onemocněními. Prevence prostřednictvím vakcinace očkovací látkou Cervarix nebo Gardasil 9 dívek i chlapců ve věku od 11 do 14 let a zvýšeným vzdělání veřejnosti o rizicích spojených s HPV infekcí je klíčovým krokem ke snížení incidence těchto malignit v populaci.

Seznam citací

1. ALFA-WALI, M., A. DALLA PRIA, M. NELSON, P. TEKKIS a M. BOWER; Surgical excision alone for stage T1 anal verge cancers in people living with HIV. *European Journal of Surgical Oncology*, 2016, vol. 42(6), s. 813–816. ISSN 15322157. doi:10.1016/j.ejso.2016.02.253
2. ALKATOUT, Ibrahim, Melanie SCHUBERT, Nele GARBRECHT, Marion Tina WEIGEL, Walter JONAT, Christoph MUNDHENKE a Veronika GÜNTHER; Vulvar cancer: Epidemiology, clinical presentation, and management options. *International Journal of Women's Health*, 2015, vol. 7, s. 305–313. ISSN 11791411. doi:10.2147/IJWH.S68979
3. Altekruse SF, Kosary CL, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, Ruhl J, Howlander N, Tatalovich Z, Cho H, Mariotto A, Eisner MP, Lewis DR, Cronin K, Chen HS, Feuer EJ, Stinchcomb DG, Edwards BK; SEER Cancer Statistics Review. *National Cancer Institute*, 2010. seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2007/
4. AYRE, J. Ernest a W. Burton AYRE; Progression From “Precancer” Stage to Early Carcinoma of Cervix Within One Year: Combined Cytologic and Histologic Study with Report of a Case. *American Journal of Clinical Pathology*, 1949, vol. 19(8), s. 770–778. ISSN 0002-9173. doi:10.1093/ajcp/19.8.770
5. BASILETTI, Jorge Alejandro, Joan VALLS, Tomás POKLÉPOVICH, María Dolores FELLNER, Maryluz ROL, Rafael ALONSO, Rita Mariel CORREA, María Celeste COLUCCI, Mercedes Rodríguez DE LA PEÑA, Paula Gabriela FALABELLA, Agustina SAÍNO, Josefina CAMPOS, Rolando HERRERO, Maribel ALMONTE a María Alejandra PICCONI; Human papillomavirus genotyping using next generation sequencing (NGS) in cervical lesions: Genotypes by histologic grade and their relative proportion in multiple infections. *PLoS ONE*, 2022, vol. 17(11). ISSN 19326203. doi:10.1371/journal.pone.0278117
6. BERMAN, Jules J., Jorge ALBORES-SAAVEDRA, David BOSTWICK, Ronald DELELLIS, John EBLE, Stanley R. HAMILTON, Ralph H. HRUBAN, George L. MUTTER, David PAGE, Thomas ROHAN, William TRAVIS a Donald E. HENSON; *Precancer: A conceptual working definition. Results of a Consensus Conference*, 2006. ISSN 0361090X. doi:10.1016/j.cdp.2006.09.002
7. BROUWER, Oscar R., Maarten ALBERSEN, Arie PARNHAM, Chris PROTZEL, Curtis A. PETTAWAY, Benjamin AYRES, Tiago ANTUNES-LOPES, Lenka BARRETO, Riccardo CAMPI, Juanita CROOK, Sergio FERNÁNDEZ-PELLO, Isabella GRECO, Michiel S. VAN DER HEIJDEN, Peter A.S. JOHNSTONE, Mithun KAILAVASAN, Kenneth MANZIE, Jack David MARCUS, Andrea NECCHI, Pedro OLIVEIRA, John OSBORNE, Lance C. PAGLIARO, Herney A. GARCIA-PERDOMO, R. Bryan RUMBLE, Ashwin SACHDEVA, Vasileios I. SAKALIS, Łukasz ZAPALA, Diego F. SÁNCHEZ MARTÍNEZ, Philippe E. SPIESS a Scott T. TAGAWA; European Association of Urology-American Society of Clinical Oncology Collaborative Guideline on Penile Cancer: 2023 Update. *European Urology*, 2023, vol. 83(6), s. 548–560. ISSN 03022838. doi:10.1016/j.eururo.2023.02.027

8. BUCK, Christopher B., Cynthia D. THOMPSON, Yuk-Ying S. PANG, Douglas R. LOWY a John T. SCHILLER; Maturation of papillomavirus capsids. *Journal of virology*, 2005, vol. 79(5), s. 2839–2846 [vid. 2023-10-18]. ISSN 0022-538X. doi:10.1128/JVI.79.5.2839-2846.2005
9. CARREON, Joseph D., Mark E. SHERMAN, Diego GUILLÉN, Diane SOLOMON, Rolando HERRERO, Jose JERÓNIMO, Sholom WACHOLDER, Ana Cecilia RODRÍGUEZ, Jorge MORALES, Martha HUTCHINSON, Robert D. BURK a Mark SCHIFFMAN; CIN2 Is a Much Less Reproducible and Less Valid Diagnosis than CIN3. *International Journal of Gynecological Pathology*, 2007, vol. 26(4), s. 441–446. ISSN 0277-1691. doi:10.1097/pgp.0b013e31805152ab
10. CLAYTON, Richard D.; *Hysterectomy*, 2006, vol. 20(1), s. 73-87, ISSN 15216934. doi:10.1016/j.bpobgyn.2005.09.007
11. COHEN, Paul A., Anjua JHINGRAN, Ana OAKNIN a Lynette DENNY, 2019. *Cervical cancer*, 2019, vol. 393, s. 169-182, ISSN 1474547X. doi:10.1016/S0140-6736(18)32470-X
12. COSPER, Pippa F., Samantha BRADLEY, Lexi LUO a Randall J. KIMPLE; Biology of HPV Mediated Carcinogenesis and Tumor Progression. *Seminars in Radiation Oncology*, 2021, vol. 31(4), s. 265–273, ISSN 1053-4296. doi:10.1016/J.SEMRADONC.2021.02.006
13. COSTA, Silvano, Maria DE NUZZO, Anna RUBINO, Valeria RAMBELLI, Marica MARINELLI, Donatella SANTINI, Paolo CRISTIANI a Lauro BUCCHI; Independent determinants of inaccuracy of colposcopically directed punch biopsy of the cervix. *Gynecologic Oncology*, 2003, vol. 90(1), s. 57–63. ISSN 00908258. doi:10.1016/S0090-8258(03)00202-6
14. DAMGAARD, Rikke Kamp, David JENKINS, Mark H. STOLER, Maurits DE KONING, Miekell VAN DE SANDT, Kathrine Dyhr LYCKE, Johnny KAHLERT, Patti E. GRAVITT, Wim G.V. QUINT, Torben STEINICHE, Lone Kjeld PETERSEN a Anne HAMMER; Human papillomavirus genotypes and risk of persistence and progression in women undergoing active surveillance for cervical intraepithelial neoplasia grade 2. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2024, vol. 230(6), s. 655.e1-655.e10, ISSN 00029378. doi:10.1016/j.ajog.2024.01.029
15. DARRAGH, Teresa M., Terence J. COLGAN, J. THOMAS COX, Debra S. HELLER, Michael R. HENRY, Ronald D. LUFF, Timothy MCCALMONT, Ritu NAYAR, Joel M. PALEFSKY, Mark H. STOLER, Edward J. WILKINSON, Richard J. ZAINO a David C. WILBUR; The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-associated Lesions. *International Journal of Gynecological Pathology*, 2013, vol. 32(1), s. 76–115. ISSN 0277-1691. doi:10.1097/PGP.0b013e31826916c7
16. DARSHAN, Medha S., John LUCCHI, Emily HARDING a Junona MOROIANU; The L2 Minor Capsid Protein of Human Papillomavirus Type 16 Interacts with a Network of Nuclear Import Receptors. *Journal of Virology*, 2004, vol. 78(22), s. 12179, ISSN 0022-538X. doi:10.1128/JVI.78.22.12179-12188.2004
17. DE SANJOSÉ, Silvia, Laia BRUNI a Laia ALEMANY; *HPV in genital cancers (at the exception of cervical cancer) and anal cancers*, 2014, vol 42(2 část. 2), ISSN 07554982. doi:10.1016/j.lpm.2014.10.001

18. DELLA FERA, Ashley N., Alix WARBURTON, Tami L. COURSEY, Simran KHURANA a Alison A. MCBRIDE; *Persistent human papillomavirus infection*, 2021, vol. 13(2), s. 321, B.m.: MDPI AG. ISSN 19994915. doi:10.3390/v13020321
19. DEUTSCH, Fiona, Izabel REGINA BULLEN, Kevin NGUYEN, Ngoc Ha TRAN, Michael ELLIOTT a Nham TRAN; *Current state of play for HPV-positive oropharyngeal cancers*, 2022, ISSN 15321967. doi:10.1016/j.ctrv.2022.102439
20. DOORBAR, John, Nagayasu EGAWA, Heather GRIFFIN, Christian KRANJEC a Isao MURAKAMI; Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Reviews in Medical Virology*, 2015, vol. 25(1), s. 2–23, ISSN 10991654. doi:10.1002/RMV.1822
21. DOORBAR, John, David JENKINS, Mark H. STOLER a Christine BERGERON; Biology of the Human Papillomavirus Life Cycle: The Basis for Understanding the Pathology of PreCancer and Cancer. *Human Papillomavirus: Proving and Using a Viral Cause for Cancer*, 2020, s. 67–83, ISBN: 978-0-12-814457-2. doi:10.1016/B978-0-12-814457-2.00005-2
22. DURST, Matthias, Lutz GISSMANN, Hans IKENBERG a Harald Zur HAUSEN; *A papillomavirus, DNA-from a cervical carcinoma and-its-prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions*, 1983. www.pnas.org
23. DVOŘÁK, V. a R. PILKA; Prebiotické a biotické metody při screeningu a diagnostice karcinomu děložního hrdla. *Česká Gynekologie*, 2014, vol. 79(2), s. 88-97. ISSN 1805-4455
24. EGAWA, Nagayasu a John DOORBAR; The low-risk papillomaviruses. *Virus Research*, 2017, vol. 231, s. 119–127. ISSN 01681702. doi:10.1016/j.virusres.2016.12.017
25. EGEMEN, Didem, Li C. CHEUNG, Xiaojian CHEN, Maria DEMARCO, Rebecca B. PERKINS, Walter KINNEY, Nancy POITRAS, Brian BEFANO, Alexander LOCKE, Richard S. GUIDO, Amy L. WISER, Julia C. GAGE, Hormuzd A. KATKI, Nicolas WENTZENSEN, Philip E. CASTLE, Mark SCHIFFMAN a Thomas S. LOREY; Risk Estimates Supporting the 2019 ASCCP Risk-Based Management Consensus Guidelines. *Journal of Lower Genital Tract Disease*, 2020, vol. 24(2), s. 132–143. ISSN 1526-0976. doi:10.1097/LGT.0000000000000529
26. ELKHALIFA, Ahmed M.E., Showkat Ul NABI, Ovais Shabir SHAH, Showkeen Muzamil BASHIR, Umar MUZAFFER, Sofi Imtiyaz ALI, Imtiyaz Ahmad WANI, Nasser A.N. ALZERWI, Abozer Y. ELDERDERY, Awadh ALANAZI, Fawaz O. ALENAZY a Abdulaziz Hamdan A. ALHARBI; *Insight into Oncogenic Viral Pathways as Drivers of Viral Cancers: Implication for Effective Therapy*, 2023, vol. 30(2), s. 1924-1944. ISSN 17187729. doi:10.3390/curroncol30020150
27. FELSHER, Dean W.; *Cancer revoked: Oncogenes as therapeutic targets*, 2003, vol. 3, s. 375-379. ISSN 1474175X. doi:10.1038/nrc1070
28. GADDUCCI, Angiolo, Stefania COSIO, Angelo CARPI, Andrea NICOLINI a Andrea Riccardo GENAZZANI; Serum tumor markers in the management of ovarian, endometrial and cervical cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2004, vol. 58(1), s. 24–38. ISSN 07533322. doi:10.1016/j.biopha.2003.11.003

29. GAILLARD, Frank; Cervical intraepithelial neoplasia (staging). In: *Radiopaedia.org*, 2008. doi:10.53347/rID-1094
30. GALATI, Luisa, Susanna CHIOCCA, Daria DUCA, Marta TAGLIABUE, Cindy SIMOENS, Tarik GHEIT, Marc ARBYN a Massimo TOMMASINO; HPV and head and neck cancers: Towards early diagnosis and prevention. *Tumour Virus Research*, 2022. ISSN 26666790. doi:10.1016/j.tvr.2022.200245
31. GARIBYAN, Lilit a Nidhi AVASHIA; Polymerase chain reaction. *Journal of Investigative Dermatology*, 2013, vol. 133(3), s. 1–4. ISSN 15231747. doi:10.1038/jid.2013.1
32. GODI, Anna, Kavita PANWAR, Mahmoud HAQUE, Clementina E. COCUZZA, Nick ANDREWS, Jo SOUTHERN, Paul TURNER, Elizabeth MILLER a Simon BEDDOWS; Durability of the neutralizing antibody response to vaccine and non-vaccine HPV types 7 years following immunization with either Cervarix® or Gardasil® vaccine. *Vaccine*, 2019, vol. 37(18), s. 2455–2462. ISSN 18732518. doi:10.1016/j.vaccine.2019.03.052
33. GRAHAM, Sheila V.; The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clinical Science*, 2017, vol. 131, s. 2201–2221. doi:10.1042/CS20160786
34. GRAU-BEJAR, Juan Francisco, Carmen GARCIA-DURAN, David GARCIA-ILLESCAS, Oriol MIRALLAS a Ana OAKNIN; Advances in immunotherapy for cervical cancer. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 2023. ISSN 17588359. doi:10.1177/17588359231163836
35. GRIBB, Jacob P., John H. WHEELOCK a Etern S. PARK; Human Papilloma Virus (HPV) and the Current State of Oropharyngeal Cancer Prevention and Treatment. *Delaware Journal of Public Health*, 2023, vol. 9(1), s. 26-28. ISSN 26396378. doi:10.32481/djph.2023.04.008
36. GROVES, Ian J a Nicholas COLEMAN; Pathogenesis of human papillomavirus-associated mucosal disease. *The Journal of Pathology*, 2015, vol. 235(4), s. 527–538. ISSN 00223417. doi:10.1002/path.4496
37. GRUNNET, M. a J. B. SORENSEN; Carcinoembryonic antigen (CEA) as tumor marker in lung cancer. *Lung Cancer*, 2012, vol. 76, s. 138-143. ISSN 01695002. doi:10.1016/j.lungcan.2011.11.012
38. HAKENBERG, Oliver Walther, Desiree Louise DRÄGER, Andreas ERBERSDOBLER, Carsten Maik NAUMANN, Klaus Peter JÜNEMANN a Chris PROTZEL, 2018. Uebersichtsarbeit: Diagnostik und therapie des Peniskarzinoms. *Deutsches Aerzteblatt International*, 2018, vol. 115(39), s. 646-652. ISSN 18660452. doi:10.3238/arztebl.2018.0646
39. HARDEN, Mallory E. a Karl MUNGER; Human papillomavirus molecular biology. *Mutation research. Reviews in mutation research*, 2017, vol. 772, s. 3–12. ISSN 1388-2139. doi:10.1016/J.MRREV.2016.07.002
40. HEROD, J. J.O. a J. H. SHEPHERD; *Radical trachelectomy*, 2000. ISSN 09575847. doi:10.1054/cuog.2000.0108

41. HONG, Shiyuan a Laimonis A LAIMINS; Regulation of the life cycle of HPVs by differentiation and the DNA damage response. *Future Microbiology*, 2013, vol. 8(12), s. 1547-1557. doi:10.2217/fmb.13.127
42. HORVATH, Caroline Aj, Gaëlle AV BOULET, Virginie M RENOUX, Philippe O DELVENNE a John-Paul J BOGERS; Mechanisms of cell entry by human papillomaviruses: an overview. *Virology Journal*, 2010, vol. 7, s. 11. 10.1186/1743-422X-7-11
43. CHANTZIANTONIOU, Nikolaos, Amber D. DONNELLY, Maheswari MUKHERJEE, Mathilde E. BOON a R. Marshall AUSTIN; Inception and development of the papanicolaou stain method. *Acta Cytologica*, 2017, vol. 61, s. 266-280. ISSN 19382650. doi:10.1159/000457827
44. CHEN, Yi, Zhangli DONG, Lirong YUAN, Ying XU, Dan CAO, Zhenhong XIONG, Zhengrong ZHANG a Dan WU, 2024. A comparative study of treatment of cervical low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL). *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2024, vol. 45. ISSN 18731597. doi:10.1016/j.pdpdt.2023.103920
45. CHOW, Laura Q.M.; Head and Neck Cancer. *New England Journal of Medicine*, 2020, vol. 382(1), s. 60–72. ISSN 0028-4793. doi:10.1056/NEJMra1715715
46. CHOWDHARY, Shivam, Rahul DEKA, Kingshuk PANDA, Rohit KUMAR, Abhishikt David SOLOMON, Jimli DAS, Supriya KANOUIYA, Ashish Kumar GUPTA, Somya SINHA, Janne RUOKOLAINEN, Kavindra Kumar KESARI a Piyush Kumar GUPTA; Recent Updates on Viral Oncogenesis: Available Preventive and Therapeutic Entities. *Molecular Pharmaceutics*, 2023, vol. 20(8), s. 3698-3740. ISSN 15438392. doi:10.1021/acs.molpharmaceut.2c01080
47. IVANCIC, Ryan, Hassan IQBAL, Brad DESILVA, Quintin PAN a Laura MATRKA; Current and future management of recurrent respiratory papillomatosis. *Laryngoscope Investigative Otolaryngology*, 2018, vol. 3(1), s. 22–34. ISSN 23788038. doi:10.1002/lio2.132
48. KERN, S. B.; Significance of anucleated squames in Papanicolaou-stained cervicovaginal smears. *Acta cytologica*, 1991, vol. 35(1), s. 89–93. ISSN 0001-5547.
49. KHAN, Michelle J., Claudia L. WERNER, Teresa M. DARRAGH, Richard S. GUIDO, Cara MATHEWS, Anna Barbara MOSCICKI, Martha M. MITCHELL, Mark SCHIFFMAN, Nicolas WENTZENSEN, L. Stewart MASSAD, E. J. MAYEAUX, Alan G. WAXMAN, Christine CONAGESKI, Mark H. EINSTEIN a Warner K. HUH; ASCCP Colposcopy Standards: Role of Colposcopy, Benefits, Potential Harms, and Terminology for Colposcopic Practice. *Journal of Lower Genital Tract Disease*, 2017, vol. 21(4), s. 223–229. ISSN 15260976. doi:10.1097/LGT.0000000000000338
50. KIRNBAUER, R, F BOOYT, N CHENGT, D R LOWY a J T SCHILLER, 1992. Papillomavirus Li major capsid protein self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic. *Medical Sciences*, 1992, vol. 89, s. 12180–12184. doi:10.1073/pnas.89.24.12180
51. KNOWLTON, C. A., M. K. MACKAY, T. W. SPEER, R. B. VERA, D. W. ARTHUR a D. E. WAZER; *Encyclopedia of Radiation Oncology*, 2013, nakladatelství: Springer Berlin Heidelberg. ISBN 978-3-540-85513-2. doi:10.1007/978-3-540-85516-3

52. KOSS, Leopold G.; The 57th birthday of koilocytes. *Cancer Cytopathology*, 2012, vol. 120(6), s. 421–421. ISSN 1934-662X. doi:10.1002/ency.21231
53. KOTOWICZ, Beata, Malgorzata FUKSIEWICZ, Joanna JONSKA-GMYREK, Mariusz BIDZINSKI a Maria KOWALSKA; The assessment of the prognostic value of tumor markers and cytokines as SCCAg, CYFRA 21.1, IL-6, VEGF and sTNF receptors in patients with squamous cell cervical cancer, particularly with early stage of the disease. *Tumor Biology*, 2016, vol. 37(1), s. 1271–1278. ISSN 14230380. doi:10.1007/s13277-015-3914-0
54. KRAWCZYK, Ewa, Frank A. SUPRYNOWICZ, Xuefeng LIU, Yuhai DAI, Dan P. HARTMANN, John HANOVER a Richard SCHLEGEL; Koilocytosis. *The American Journal of Pathology*, 2008, vol. 173(3), s. 682–688. ISSN 00029440. doi:10.2353/ajpath.2008.080280
55. KULMALA, S. M., S. SYRJÄNEN, I. SHABALOVA, N. PETROVICHEV, V. KOZACHENKO, J. PODISTOV, O. IVANCHENKO, S. ZAKHARENKO, R. NEROVJNA, L. KLJUKINA, M. BRANOVSKAJA, V. GRUNBERGA, A. JUSCHENKO, P. TOSI, R. SANTOPIETRO a K. SYRJÄNEN; Human papillomavirus testing with the hybrid capture 2 assay and PCR as screening tools. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, vol. 42(6), s. 2470–2475. ISSN 00951137. doi:10.1128/JCM.42.6.2470-2475.2004
56. KURMAN. R.; CARCANGIU, M.; Herrington, C.; Young, R.; *WHO Classification Of Tumours of Female Reproductive Organs*, 2014, vol. 6, nakladatelství: IARC Press. ISBN 9789283224167.
57. KURMAN, Robert J., Lora Hedrick ELLENSON a Brigitte M. RONNETT; *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*, 2011, vol. 6, nakladatelství: Springer US. doi:10.1007/978-1-4419-0489-8
58. LIM, Anita W., Amanda J. RAMIREZ, William HAMILTON, Peter SASIENI, Julietta PATNICK a Lindsay J.L. FORBES, 2014. *Delays in diagnosis of young females with symptomatic cervical cancer in England: An interview-based study*, 2014, nakladatelství: Royal College of General Practitioners. ISSN 14785242. doi:10.3399/bjgp14X681757
59. LIN, Chunqing, Silvia FRANCESCHI a Gary M CLIFFORD, 2018. Human papillomavirus types from infection to cancer in the anus, according to sex and HIV status: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Infectious Diseases*, 2018, vol. 18(2), s. 198-206. doi:10.1016/S1473-3099(17)30653-9
60. LYTWYN, Alice, Irving E. SALIT, Janet RABOUD, William CHAPMAN, Teresa DARRAGH, Barbara WINKLER, Jill TINMOUTH, James B. MAHONY a Marie SANO; Interobserver agreement in the interpretation of anal intraepithelial neoplasia. *Cancer*, 2005, vol. 103(7), s. 1447–1456. ISSN 0008543X. doi:10.1002/cncr.20927
61. MAGAKI, Shino, Seyed A. HOJAT, Bowen WEI, Alexandra SO a William H. YONG; An introduction to the performance of immunohistochemistry. *Methods in Molecular Biology*, 2019, s. 289–298, nakladatelství: Humana Press Inc., ISBN 978-1-4939-8933-1. ISSN 10643745. doi:10.1007/978-1-4939-8935-5_25

62. MAKDE, Manjiri Milind a Prajakta SATHAWANE, 2022. Liquid-based cytology: Technical aspects. *Cytojournal*, 2022, vol. 19, s. 41. ISSN 0974-5963. doi:10.25259/CMAS_03_16_2021
63. MARTIN-HIRSCH, Pierre PL, Evangelos PARASKEVAIDIS, Andrew BRYANT, Heather O DICKINSON a Sarah L KEEP; Surgery for cervical intraepithelial neoplasia. In: Pierre PL MARTIN-HIRSCH, ed. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2010, vol 16(6). doi:10.1002/14651858.CD001318.pub2
64. MOHAMUD, A., C. HØGDALL a T.; Prognostic value of the 2018 FIGO staging system for cervical cancer. *Gynecologic Oncology*, 2022, vol. 165(3), s. 506–513. ISSN 10956859. doi:10.1016/j.ygyno.2022.02.017
65. MOODY, Cary A. a Laimonis A. LAIMINS; Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nature reviews. Cancer*, 2010, vol. 10(8), s. 550–560. ISSN 1474-1768. doi:10.1038/NRC2886
66. MUÑOZ, Nubia, Xavier CASTELLSAGUÉ, Amy Berrington DE GONZÁLEZ a Lutz GISSMANN; Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine*, 2006, vol. 24. ISSN 0264410X. doi:10.1016/j.vaccine.2006.05.115
67. NAYAR, Ritu a David C WILBUR; *The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology Definitions, Criteria, and Explanatory Notes Third Edition*, 2015a, nakladatelství: Springer International Publishing AG. ISBN 978-3-319-11073-8
68. NAYAR, Ritu a David C. WILBUR; The pap test and bethesda 2014: „The reports of my demise have been greatly exaggerated." (After a quotation from Mark Twain). *Acta Cytologica*, 2015b, vol. 59(2), s. 121-132. ISSN 19382650. doi:10.1159/000381842
69. NAYAR, Ritu a David C. WILBUR; The bethesda system for reporting cervical cytology: A historical perspective. *Acta Cytologica*, 2017, vol. 61, s. 359-372. ISSN 19382650. doi:10.1159/000477556
70. ODICINO, Franco, Sergio PECORELLI, Lucia ZIGLIANI a William T. CREASMAN; History of the FIGO cancer staging system. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, 2008, vol. 101(2), s. 205–210. ISSN 00207292. doi:10.1016/j.ijgo.2007.11.004
71. OLAWAIYE, Alexander B., Thomas P. BAKER, M. Kay WASHINGTON a David G. MUTCH; The new (Version 9) American Joint Committee on Cancer tumor, node, metastasis staging for cervical cancer. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2021, vol. 71(4), s. 287–298. ISSN 0007-9235. doi:10.3322/caac.21663
72. PEIFFERT, D., F. HUGUET, V. VENDRELY, L. MOUREAU-ZABOTTO, E. RIVIN DEL CAMPO, G. CRÉHANGE, A. S. DIETMANN a A. MOIGNIER; Radiotherapy of anal canal cancer. *Cancer/Radiotherapie*, 2022, vol. 26(1–2), s. 279–285. ISSN 17696658. doi:10.1016/j.canrad.2021.11.015

73. PIERCE, John G. a Saweda BRIGHT; Performance of a colposcopic examination, a loop electrosurgical procedure, and cryotherapy of the cervix. *Obstet Gynecol Clin North Am*, 2013, vol. 40(4), s. 731-757 2013. ISSN 15580474. doi:10.1016/j.ogc.2013.08.008
74. PLANTE, Marie, Jean GREGOIRE, Marie Claude RENAUD a Michel ROY; The vaginal radical trachelectomy: An update of a series of 125 cases and 106 pregnancies. *Gynecologic Oncology*, 2011, vol. 121(2), s. 290–297. ISSN 00908258. doi:10.1016/j.ygyno.2010.12.345
75. SALIB, Miriam Y., James H.B. RUSSELL, Victoria R. STEWART, Siham A. SUDDERUDDIN, Tara D. BARWICK, Andrea G. ROCKALL a Nishat BHARWANI; 2018 figo staging classification for cervical cancer: Added benefits of imaging. *Radiographics*, 2020, vol. 40(6), s. 1807–1822. ISSN 15271323. doi:10.1148/rg.2020200013
76. SCOTT-WITTENBORN, Nicholas a Carole FAKHRY; Epidemiology of HPV Related Malignancies. *Seminars in Radiation Oncology*, 2021, vol. 31(4), s. 286–296. ISSN 1053-4296. doi:10.1016/J.SEMRADONC.2021.04.001
77. SMALL, William, Monica A. BACON, Amishi BAJAJ, Linus T. CHUANG, Brandon J. FISHER, Matthew M. HARKENRIDER, Anuja JHINGRAN, Henry C. KITCHENER, Linda R. MILESHKIN, Akila N. VISWANATHAN a David K. GAFFNEY; Cervical cancer: A global health crisis. *Cancer*, 2017, vol. 123(13), s. 2404-2412. ISSN 10970142. doi:10.1002/cncr.30667
78. SMITH, A J a L A SMITH; Viral Carcinogenesis. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 2016, vol. 144, s. 121–168. doi:10.1016/bs.pmbts.2016.09.007
79. SRISUWAN, Siriwan, Suttha HAMONTRI, Kittipong KONGSOMBOON, Kornkarn BHAMARAPRAVATANA a Komsun SUWANNARURK; See-and-treat approach to cervical intraepithelial lesions in HRH princess maha chakri sirindhorn medical center. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2014, vol. 15(8), s. 3483–3486. ISSN 2476762X. doi:10.7314/APJCP.2014.15.8.3483
80. STAPLEY, Sally a William HAMILTON; Gynaecological symptoms reported by young women: Examining the potential for earlier diagnosis of cervical cancer. *Family Practice*, 2011, vol. 28(6), s. 592–598. ISSN 02632136. doi:10.1093/fampra/cmr033
81. SUKSWAI, Narittee a Joseph D. KHOURY; Immunohistochemistry Innovations for Diagnosis and Tissue-Based Biomarker Detection. *Current Hematology Malignancy Reports*, 2019, vol. 14(5), s. 368-375. ISSN 1558822X. doi:10.1007/s11899-019-00533-9
82. SUNG, Hyuna, Jacques FERLAY, Rebecca L. SIEGEL, Mathieu LAVERSANNE, Isabelle SOERJOMATARAM, Ahmedin JEMAL a Freddie BRAY; Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2021, vol. 71(3), s. 209–249. ISSN 0007-9235. doi:10.3322/CAAC.21660
83. SYRJÄNEN, Stina a Kari SYRJÄNEN; The history of papillomavirus research. *Central European journal of public health*, 2008, vol. 16. ISSN 1210-7778. doi:10.21101/CEJPH.B0040

84. TAN, Andrea, Amy K. BIEBER, Jennifer A. STEIN a Miriam K. POMERANZ; Diagnosis and management of vulvar cancer: A review. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2019, vol. 81(6), s. 1387-1396. ISSN 10976787. doi:10.1016/j.jaad.2019.07.055
85. TANEJA, Pallavi a Monica C. SOLOMON; HPV and head and neck cancer: A comprehensive review. *Oral Oncology Reports*, 2024, vol. 10. ISSN 27729060. doi:10.1016/j.oor.2024.100451
86. TENA GÓMEZ, Daniel a Juana López SANTOS; HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION AND CERVICAL CANCER: PATHOGENESIS AND EPIDEMIOLOGY. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*, 2007, Vol.1, 680–688.
87. THOMAS, Anita, Andrea NECCHI, Asif MUNEER, Marcos TOBIAS-MACHADO, Anna Thi Huyen TRAN, Anne Sophie VAN ROMPUY, Philippe E. SPIESS a Maarten ALBERSEN; Penile cancer. *Nature Reviews. Disease Primers* 2021, vol. 7(1). ISSN 2056676X. doi:10.1038/s41572-021-00246-5
88. UEDA, Masatsugu, Ken UEKI, Masanori KANEMURA, Shinji IZUMA, Hiroyuki YAMAGUCHI, Koji NISHIYAMA, Yoshimichi TANAKA, Yoshito TERAJ a Minoru UEKI; Diagnostic and therapeutic laser conization for cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecologic Oncology*, 2006, vol. 101(1), s. 143–146. ISSN 00908258. doi:10.1016/j.ygyno.2005.10.001
89. ÚSTAV ZDRAVOTNICKÝCH INFORMACÍ A STATISTIKY ČR, 2021. *Proočkovanost proti HPV u dětí*. uzis.cz/index.php
90. VORDERMARK, Dirk; Radiotherapy of Cervical Cancer. *Oncology Research nad Treatment*, 2016, vol. 39, s. 516-520. ISSN 22965262. doi:10.1159/000448902
91. WANG, Jian Liu, Bi Ying ZHENG, Xi Dan LI, Kristiina NOKELAINEN, Tord ÅNGSTRÖM, Mikael S. LINDSTRÖM a Keng Ling WALLIN; p16INK4A and p14ARF expression pattern by immunohistochemistry in human papillomavirus-related cervical neoplasia. *Modern Pathology*, 2005, vol. 18(5), s. 629–637. ISSN 08933952. doi:10.1038/modpathol.3800308
92. ZHAI, Lukai a Ebenezer TUMBAN; Gardasil-9: A global survey of projected efficacy. *Antiviral Research*, 2016, vol 130(6), s. 101-109. ISSN 18729096. doi:10.1016/j.antiviral.2016.03.016
93. ZHANG, Shao Kai, Man Man JIA, Dong Mei ZHAO, Ze Ni WU, Zhen GUO, Yu Ling LIU, Pei Pei GUO, Qiong CHEN, Xiao Qin CAO, Shu Zheng LIU, Wen CHEN a Xi Bin SUN; Evaluation of p16/Ki-67 dual staining in the detection of cervical precancer and cancer in China. *Cancer Epidemiology*, 2019, vol. 59, s. 123–128. ISSN 1877783X. doi:10.1016/j.canep.2018.12.013
94. ZHU, Huang; Squamous Cell Carcinoma Antigen: Clinical Application and Research Status. *Diagnostics*, 2022, vol. 12(5), s. 1065. ISSN 20754418. doi:10.3390/diagnostics12051065