

GESTIONE E TRATTAMENTO DELLA DISPLASIA CERVICALE HPV-RELATA

Domenico de Aloysio, Gerardo Guida

Clinica Ostetrica e Ginecologica e Fisiopatologia Ginecologica della Terza Età
Università degli Studi di Bologna

Indirizzo per corrispondenza: Dott. Gerardo Guida

Clinica Ostetrica e Ginecologica e Fisiopatologia Ginecologica della Terza Età

Via Massarenti 9, 40128 Bologna (BO) Italia

tel: +39 051 300071; fax: +39 051 302974; e-mail: gerrygin@libero.it

ABSTRACT

In this paper rationale and up-to-date modalities of management and treatment of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) are described.

Key words: *neoplasia intraepithelial, therapy; follow-up*

RIASSUNTO

In questa trattazione vengono descritti il razionale e le modalità attualmente utilizzate nella gestione e nel trattamento della neoplasia cervicale intraepiteliale (CIN)

Parole chiave: *neoplasia intraepiteliale, terapia; controllo*

RAZIONALE DEL TRATTAMENTO DELLE DISPLASIE CERVICALI

Il riconoscimento dell'esistenza di lesioni anatomico-patologiche individuabili come precursori del carcinoma invasivo della cervice uterina può essere ricondotto agli ultimi decenni del XIX secolo quando Sir John Williams, nel 1886, descrisse la presenza di alterazioni epiteliali non invasive adiacenti al cervico-carcinoma. Le caratteristiche anatomico-patologiche e la topografia di tali lesioni furono approfondite e descritte da Cullen nel 1900, il quale riscontrò la loro somiglianza istologica all'adiacente carcinoma invasivo. Schottlander e Kermauner prima, e Broders successivamente, negli anni 30 del secolo scorso, utilizzarono il termine di "carcinoma in situ" per classificare queste lesioni cervicali intraepiteliali. Un importante passo in avanti nella comprensione della storia naturale della neoplasia cervicale fu fatto da diversi Autori, quali Smith e Pemberton, nonché Galvin e Jones, i quali documentarono una relazione temporale tra il carcinoma in situ ed il corrispettivo invasivo. Telinde, in particolare, diagnosticò il carcinoma in situ in diverse pazienti mesi o anni prima dello sviluppo della forma invasiva. Tali studi permisero di formulare l'ipotesi che il carcinoma cervicale invasivo deriva da un precursore istologico non ancora infiltrante ben definito. Tale ipotesi fu successivamente confermata da numerosi studi prospettici, che dimostravano come una percentuale significativa di donne affette da carcinoma in situ non trattate sviluppavano successivamente un cervico-carcinoma squamoso. La consapevolezza della importanza del carcinoma in situ come precursore del cervico-carcinoma, associata all'introduzione della citologia esfoliativa cervicale come metodica diagnostica precoce ha motivato l'introduzione, a partire dagli anni 40-50 del '900, di programmi

di screening di massa nei paesi occidentali, che hanno permesso di identificare, mediante studi anatomico-patologici condotti su biopsie cervicali di donne con citologia non negativa, la presenza di un ampio spettro di lesioni, la cui severità variava dall'epitelio pressoché normale al carcinoma in situ, le quali furono definite da Reagan e coll. nel 1956 con il termine di "displasia". Tale definizione implicava il concetto di una anomala proliferazione cellulare squamosa epiteliale, caratterizzata da atipie nucleari, alterato rapporto nucleo-citoplasmatico, disordine strutturale e perdita della normale polarità cellulare. La displasia fu distinta in lieve, moderata o grave a seconda della entità del coinvolgimento dello spessore dell'epitelio. Il concetto di carcinoma in situ fu meglio specificato nel 1961, al Primo Congresso Internazionale di Citologia Esfoliativa, da parte del comitato sulla terminologia istologica per le lesioni della cervice uterina, che stabiliva come tale appellativo dovesse essere limitato solo a quelle lesioni intraepiteliali nelle quali non era possibile evidenziare differenziazioni attraverso l'intero spessore dell'epitelio anomalo, il quale si poteva estendere alle ghiandole. Veniva tuttavia riconosciuto come talvolta alcune cellule degli strati più superficiali potessero essere leggermente appiattite. Il termine displasia veniva confinato alle altre anomalie di differenziazione di severità inferiore, che non coinvolgevano l'epitelio a tutto spessore. Veniva così praticata una suddivisione descrittiva e biologica tra carcinoma in situ, considerato vero precursore del cervico-carcinoma, da trattare preferenzialmente mediante isterectomia, e le displasie, considerate potenzialmente reversibili, passibili perciò di follow-up o trattamento. Più tardivamente fu però chiara l'artificiosità, operatore-dipendente, della distinzione tra displasia grave e carcinoma in situ; una ulteriore serie di studi dimostrò come la displasia grave ed il carcinoma in situ erano qualitativamente simili, consistenti in proliferazioni monoclonali

di cellule epiteliali squamose anormale contenenti DNA aneuploide. Tale mole di studi ha permesso a Richart di introdurre nel 1967 la teoria secondo la quale l'insieme delle lesioni differenziate epiteliali cervicali rappresenta il continuum di un singolo processo patologico, che egli definì CIN (neoplasia cervicale intraepiteliale). Le lesioni CIN venivano suddivise in CIN I, II, III, corrispondenti rispettivamente alla displasia lieve, moderata o grave/carcinoma in situ. Il concetto di CIN implicava una comunanza biologica, istologica ed evolutiva delle lesioni, il mancato trattamento delle quali comportava il rischio significativo, anche se variabile da caso a caso, di sviluppare un carcinoma invasivo in futuro. Da ciò ne derivava che l'adeguato trattamento di tali lesioni avrebbe prevenuto lo sviluppo di una neoplasia invasiva. La terminologia CIN e l'ipotesi patogenetica della genesi del cervico-carcinoma ad essa correlata rimasero in auge durante gli anni 70 ed 80 del secolo scorso. Una grossa mole di studi epidemiologici, supportata da una altrettanto ponderosa serie di studi di biologia molecolare ha dimostrato come la causa necessaria del cervico-carcinoma e dei suoi precursori, sia nella variante squamosa che in quella ghiandolare, è rappresentata dalla persistente infezione cervicale sostenuta dai ceppi di Papillomavirus umano (HPV) definiti "ad alto rischio" (1). L'azione carcinogenetica di tali virus è mediata principalmente dalla espressione persistente degli oncogeni virali E6 ed E7, responsabili sia della induzione e del mantenimento del fenotipo trasformato delle cellule cervicali, attraverso l'abolizione del controllo del ciclo cellulare e dei meccanismi di apoptosi. Le proteine E6 ed E7, codificate dai rispettivi oncogeni, possono legarsi a molteplici bersagli cellulari: le interazioni più significative riguardano il legame della proteina E6, attraverso la proteina cellulare E6-AP, al prodotto dell'oncogene soppressore p53, ed il legame della proteina E7 al prodotto dell'oncogene soppressore pRb ed alle proteine pocket ad esso correlate, p107 e p130. La conseguenza della prima interazione è la rapida degradazione ubiquitina-dipendente della proteina p53, che sottrae quindi le cellule dalla apoptosi p53-mediata, mentre l'interazione E7-pRb produce un profondo disturbo del normale ciclo cellulare; le interazioni E6-p53 ed E7-pRb sembrano compromettere in combinazione la precisione dei meccanismi della mitosi cellulare. Inoltre, la proteina E6 può attivare l'enzima telomerasi indipendentemente dal legame con la proteina p53, e la proteina E7 può indurre una anomala duplicazione del centrosoma attraverso un meccanismo indipendente dalla inattivazione della proteina pRb e delle proteine ad essa correlate. Tali azioni ulteriori accrescono verosimilmente le caratteristiche trasformanti delle oncoproteine virali. Il DNA dell'HPV può essere rilevato nel 99.7% dei cervico-carcinomi squamosi, e nel 94-100% degli adenocarcinomi e dei carcinomi adeno-squamosi cervicali. I tipi 16 e 18 appaiono essere responsabili di oltre il 70% dei casi. È comunque associato che l'infezione persistente da HPV ad alto rischio (hrHPV) sia un elemento necessario ma non sufficiente nella patogenesi del cervico-carcinoma: il rischio di contrarre l'infezione, molto comune tra le giovani donne è dell'80% nell'arco della vita, e l'80% delle infezioni sostenute dall' hrHPV regredisce spontaneamente senza causare nemmeno una CIN; non sono ancora molto ben chiare le motivazioni alla base della evoluzione dell'infezione verso la persistenza o la regressione, ma sembra che una delle spiegazioni sia la variazione inter-individuale della capacità di eliminare l'infezione mediante una efficace risposta immune. Tale protezione o suscettibilità all' infezione ed allo sviluppo di una CIN II-III sembra essere legata sia ad alcuni alleli del complesso leucocitario di istocompatibilità (HLA) di classe I, quali l'HLA-Cgrp1 o l'HLA-Cgrp2, e di classe II, quali l'HLA-DRB1*1301 o l'HLA-DRB1*1501, così come ai prodotti dei geni KIR (killer immunoglobulin-like receptor), quali KIR2DL1 KIR3Ds1, da soli o in combinazione. Inoltre pare ormai associato che la persistenza virale sia associata alla infezione primaria degli strati basali proliferativi dell'epitelio squamoso: le infezioni virali prima-

rie che interessano strati più superficiali dell'epitelio sono di per sé transitorie, in quanto il DNA virale viene perso in concomitanza della esfoliazione cellulare al termine del processo di differenziazione. La lunga durata del periodo che generalmente intercorre tra l'inizio dell' infezione persistente ed un carcinoma invasivo, accanto alla frequente regressione spontanea delle lesioni CIN, associata alla eliminazione dell'hrHPV, suggeriscono come la carcinogenesi sostenuta dall'HPV sia un processo multifasico; d'altra parte le acquisizioni più recenti hanno messo in discussione il modello evolutivo proposto da Richart: una ipotesi alternativa che trova conferme crescenti suggerisce come la maggior parte delle lesioni CIN II-III si sviluppino rapidamente entro i primi 2-3 anni dall'inizio della infezione, e che siano necessari altri 10-12 anni allo sviluppo di un carcinoma invasivo. Da ciò ne deriva come la maggior parte delle CIN I e parte delle CIN II non possano essere considerate come reali precursori del cervico-carcinoma, ma come effetti patologici di una infezione produttiva sostenuta da HPV. Tale dato è supportato da studi che evidenziano come la maggior parte delle lesioni di basso grado siano legate a ceppi di HPV "a basso rischio", che conferiscono un rischio trascurabile di progressione neoplastica. Inoltre, le lesioni CIN I ed alcune CIN II sostenute da hrHPV manifestano pattern di espressione virale suggestivi di una lesione produttiva: in tali circostanze la replicazione virale e la produzione di virioni procedono di pari passo con la differenziazione cellulare, l'HPV, al di là della produzione delle proteine E1 ed E2 necessarie alla replicazione del DNA virale utilizzando interamente le strutture cellulari preposte alla produzione del DNA per la sintesi del DNA virale; la proteina E7 riattiverebbe il ciclo cellulare in una modalità dipendente dalla differenziazione, mantenendo la cellula in fase S, e la proteina E6 prevenirebbe l'apoptosi p53-mediata che è normalmente indotta nelle cellule deficitarie della p-Rb. Il DNA virale rimane in forma episomiale, ovvero non integrato nel DNA della cellula ospite. Diversamente da tale situazione, in alcune CIN II e nella CIN III si osserva un marcato aumento dell'espressione delle proteine E6 ed E7 nelle cellule displastiche proliferanti, forse mediato da un' alterata de-acetilazione istonica. In tale contesto si osserva spesso una integrazione del DNA virale con quello cellulare, accompagnata da aneuploidia. Tale fenomeno appare essere un evento-chiave nella carcinogenesi: l'aumentata espressione delle proteine E6 ed E7 può essere legata al venir meno del controllo trascrizionale esercitato dal gene E2 (il quale viene spesso perduto durante la integrazione), ovvero all'aumento della stabilità dei prodotti di trascrizione dell'ibrido chimero tra DNA cellulare e virale, oppure dall'insieme di questi fattori. Il risultato è comunque un' instabilità cromosomica sia a livello strutturale sia numerico, la quale fornisce la predisposizione verso ulteriori passaggi verso la progressione neoplastica, analogamente ad altre condizioni nelle quali si osservano alterazioni somatiche coinvolgenti i geni p53 e pRb in diverse neoplasie non correlate all'HPV. In definitiva appare probabile come ciò che differenzia due entità biologiche distinte, conseguenza della interazione dell'HPV con la cellula ospite, quali una infezione virale produttiva, autolimitante e causata da uno o più tra i circa 40 tipi di HPV che presentano un tropismo verso il tratto ano-genitale, ovvero un processo di trasformazione cellulare in senso neoplastico, causata da uno o più tipi di hrHPV, sia l'espressione incontrollata, in quest'ultimo caso, dei geni E6 ed E7 nelle cellule basali e parabasali epiteliali.

TRATTAMENTO DELLA CIN

Il trattamento delle lesioni displastiche cervicali, sia squamose sia ghiandolari, viene quindi praticato con lo scopo di abbattere la mortalità da cervico-carcinoma, eliminando patologie potenzialmente evolutive o eventualmente già invasive (2), e si avvale ancora oggi di tecniche chirurgiche (3). Prima di passare in rassegna le varie metodiche più comunemente utilizzate, vanno rimarcati alcuni concetti fondamentali: la

paziente che necessita di una terapia volta all'eradicazione di una lesione CIN deve essere gestita in un centro dedicato, nel quale operano medici che si sono sottoposti ad un training adeguato, i quali vengono periodicamente valutati secondo criteri di qualità. È necessario che sia stata precedentemente eseguito un corretto iter diagnostico, citologico, colposcopico ed istologico volto a pianificare il tipo di metodica più adeguato. Nella stragrande maggioranza dei casi si ricorre attualmente a metodiche conservative, atte a ridurre morbosità e morbilità iatrogene, nonché a preservare l'integrità anatomico-funzionale della cervice, allo scopo di permettere eventuali future gravidanze garantendo l'outcome ostetrico migliore possibile: dato che nessuna tecnica è in grado di garantire il successo terapeutico, quantomeno dopo un singolo trattamento, è imperativo che la paziente sia disposta a sottoporsi ad un adeguato follow-up, per l'identificazione ed il trattamento delle eventuali persistenze o recidive di lesione. Infine, sulla base della storia naturale della CIN precedentemente accennata, del tipo di lesione diagnosticata, dell'età e dell'ansietà della paziente è possibile scegliere tra un atteggiamento interventistico ed uno di attesa, basato sul controllo della lesione nell'eventualità di una sua regressione spontanea. A tale proposito è doveroso una focalizzazione del problema della diagnosi di CIN in gravidanza, eventualità sempre più frequente con l'aumentare dell'età media in cui la donna oggi decide il primo concepimento. Dato che la gravidanza non modifica la storia naturale della CIN, e che talvolta si osserva la scomparsa della lesione in puerperio, forse a causa dell'asportazione dell'epitelio patologico durante il parto vaginale, e visto l'elevato rischio di complicità ostetriche successive ad interventi sulla cervice in gravidanza (quali emorragia ed aborto spontaneo), si preferisce adottare una condotta di attesa, con esecuzione del trattamento dopo 6-12 settimane dal parto, riservando la possibilità di intervento pre-partum solo in caso di fondato sospetto di invasività. Il trattamento, escissionale, da eseguirsi preferenzialmente tra la 14^a e la 20^a settimana, deve essere eseguito in regime di ricovero ospedaliero (2).

Un discorso a parte meritano le pazienti affette da immunodeficienza congenita o acquisita (HIV positive o immunosopresse in seguito a trapianti d'organo o a malattie autoimmuni). Tali pazienti mostrano un rischio più elevato di sviluppare una CIN rispetto alla popolazione generale, nonché un minor tasso di successo terapeutico legato alla alta percentuale di recidive (fino al 60% nelle donne fortemente immunocompromesse). Per i motivi sopraelencati queste donne sono più a rischio di trattamenti ripetuti, che possono sfociare in un'isterectomia nei casi refrattari. Gli interventi sono comunque indicati, salvo in quelle condizioni cliniche generali contraddistinte da una ridotta aspettativa di vita (2-5).

L'isterectomia non è indicata come trattamento di prima scelta: essa può essere presa in considerazione in casi particolari, quali numerose ricorrenze/recidive ovvero patologie uterine associate alla CIN (quali miomi, prollasso o iperplasia endometriale) in pazienti in perimenopausa, oppure in caso di diagnosi di adenocarcinoma in situ (conseguente a terapia escissionale) in donne non più desiderose di prole.

I trattamenti chirurgici conservativi sulla cervice uterina possono essere divisi in due tipi principali:

- Trattamenti ablativi o distruttivi, nei quali il tessuto patologico viene distrutto senza che sia possibile eseguire un esame istologico della lesione successivo all'intervento
- Trattamenti escissionali, nei quali invece il tessuto patologico viene asportato, possibilmente integralmente nel minor numero di manovre possibile, per essere successivamente sottoposto ad indagini istologiche.

Tutti i trattamenti devono essere eseguiti sotto guida colposcopica, in fase post-mestruale, onde ridurre sanguinamenti intraoperatori da congestio-

ne cervicale (specie nei trattamenti escissionali) e rischio di endometriosi cervicale da impianti di endometrio sui margini della ferita; è consigliata inoltre l'esecuzione di una profilassi antiflogistica locale nei 7-10 giorni che precedono l'intervento, nonché astensione dai rapporti vaginali e dal praticare lavande vaginali o inserire tamponi intravaginali nel mese successivo.

TRATTAMENTI DISTRUTTIVI

I metodi distruttivi più comunemente utilizzati sono quattro (6):

la crioterapia

la termocoagulazione (cold coagulation)

la elettrodiatermocoagulazione

la vaporizzazione mediante laser CO₂

La scelta di una metodica distruttiva deve sottostare ai seguenti criteri di inclusione, in aggiunta a quelli introduttivi (7):

- La zona di trasformazione deve essere completamente visibile
- Assenza del sospetto di invasione suggerito da citologia, colposcopia o istologia, che devono essere concordanti tra loro
- Assenza del sospetto di lesione ghiandolare
- Crioterapia e termocoagulazione non dovrebbero essere praticate se la lesione occupa più del 75% dell'esocervice, ovvero si estende alle pareti vaginali ovvero si estende più di 2 mm oltre la sonda

Qualunque metodica si usi, lo scopo è quello di distruggere completamente la CIN, eliminandone le eventuali propaggini estese agli sfondati ghiandolari, ottenendo una profondità distruttrice di almeno 6-7 mm. È inoltre preferibile riservare i metodi distruttivi alle lesioni di basso grado, dato il rilievo, nel 6-12% dei casi, di carcinomi microinvasivi, e nel 2% dei casi di carcinomi invasivi, dopo trattamento escissionale in seguito a diagnosi biotipica di CIN III.

CRIOTERAPIA

La crioterapia è una tecnica basata sulla distruzione del tessuto mediante il congelamento, ottenuto mediante applicazione locale di un gas allo stato liquido, convogliato sulla cervice da una criosonda opportunamente sagomata. Tale metodica, utilizzata per la prima volta da Crisp et al. nel 1967 per il trattamento della CIN, si avvale dell'uso di sostanze caratterizzate da un punto di ebollizione compreso tra -80 e -60 °C, quali la CO₂, l'azoto, il freon 22 e l'ossido nitroso (6-8). Il gas, contenuto in una bombola, viene convogliato mediante tubi alla criosonda, generalmente a forma di pistola, dotata di un pulsante che ne permette l'erogazione; all'estremità della criosonda viene inserito un puntale, di forma e dimensione variabile a seconda della cervice da trattare, dal quale il gas fuoriesce esplicando la funzione congelante sul tessuto cervicale al quale la sonda viene appoggiata. La tecnica più utilizzata, che generalmente non richiede anestesia locale, è quella della coagulazione ripetuta (freeze-thaw-freeze), nella quale si eseguono due applicazioni sulla cervice distanziate 5 minuti l'una dall'altra, allo scopo di ottenere una profondità di congelamento di almeno 4 mm con un margine periferico di sicurezza di 3 mm nel tessuto sano circostante la lesione. Nell'arco di circa 10 giorni il tessuto necrotizzato si trasforma in escara e viene eliminato, e nei 20-30 giorni successivi avviene una rigenerazione tissutale a partire dai margini periferici, con la produzione di una modesta perdita ematica o più frequentemente di una leucorrea di tipo acquoso. I vantaggi della crioterapia, molto diffusa nei paesi anglosassoni, risiedono nella sua facile esecuzione, nella sua economicità, nella elevata compliance della paziente e nella mancata produzione di fumi. Gli svantaggi risiedono nella discreta

percentuale di insuccessi, nella difficoltà a valutare la profondità del trattamento e nella frequente localizzazione endocervicale della giunzione squamo-colonnare (GSC) successiva alla cicatrizzazione, con conseguente limitazione al successivo follow up colposcopico.

TERMOCOAGULAZIONE

Tale metodica, introdotta da Semm nel 1966, si basa sulla distruzione del tessuto cervicale mediante applicazione locale di calore, controllato e dosato elettronicamente, tramite termosonde che hanno alla loro estremità punte di foggia differenziata (6, 9). La temperatura di esercizio varia da 90 a 120 °C: a tale livello si ottiene una distruzione del tessuto ad una profondità di 2-4 mm a seconda del tempo di applicazione locale della sonda, con danni trascurabili al letto vascolare sottostante e senza la formazione successiva di una vera e propria escara. Anche con tale metodica non è generalmente necessario l'impiego di anestesia locale, e la durata del trattamento raramente supera i due minuti. Nell'arco di circa un mese successivamente all'intervento si osserva la rigenerazione del tessuto distrutto, con la produzione di una leucorrea di grado moderato. I vantaggi e gli svantaggi di tale metodica sono simili a quelli descritti per la crioterapia: fra i primi va rimarcata la brevità dell'intervento, nonché l'assenza di necrosi coagulativa capace di indurre una stenosi del canale cervicale successiva; tra i secondi va ribadita la ridotta possibilità di controllare la profondità di distruzione tissutale, che rende questa metodica, analogamente alla crioterapia, poco adatta al trattamento di lesioni di alto grado.

DIATERMOCOAGULAZIONE ED ELETTROCOAGULAZIONE

Tali metodiche distruttive sono impiegate fin dal 1949 nella terapia delle lesioni CIN, e si basano sul medesimo principio fisico, ovvero la produzione di calore conseguente al passaggio di una corrente elettrica attraverso un conduttore, nella fattispecie tessuto umano, e sul danno tissutale che di conseguenza ne deriva (10, 11). In base alle leggi di Joule, la quantità di calore prodotto è direttamente proporzionale alla quantità di corrente, alla sua tensione ed al tempo impiegato nell'attraversamento del tessuto; è inversamente proporzionale alla conduttività del tessuto ed alle dimensioni dell'oggetto dal quale la corrente fuoriesce (ovvero l'elettrodo). La corrente elettrica, opportunamente modulata da un apposito generatore modernamente fornito di uno o più microprocessori dedicati a tale scopo, penetra nei tessuti mediante un elettrodo (elettrodo positivo), e fuoriesce dall'organismo captata da un secondo elettrodo (elettrodo negativo), generalmente a forma di piastra, rigida o flessibile, applicato alla minore distanza possibile dall'elettrodo positivo, onde ridurre al massimo il danno tissutale ai tessuti circostanti legato alla dispersione della corrente, la quale peraltro generando calore perde di intensità. L'entità del danno tissutale è direttamente proporzionale alla temperatura prodotta in un dato punto, conseguentemente al passaggio del calore, e può dare origine a tre diverse conseguenze: il *danno termico*, che si verifica a temperature comprese tra i 45 ed i 55 °C, consistente in una reazione infiammatoria che esita in tessuto cicatrizziale, la *necrosi termica*, che si verifica tra i 55 ed i 99 °C, nella quale il tessuto si necrotizza, per poi trasformarsi in un'escara che viene eliminata dopo due settimane circa lasciando a nudo il tessuto circostante che poi rigenera (con frequenti sequele cicatrizziali), e la *vaporizzazione*, che si verifica a temperature superiori a 100 °C, nella quale l'acqua intracellulare viene portata ad ebollizione e vaporizza provocando lo "scoppio" della cellula; i residui solidi vengono carbonizzati. La riparazione tissutale avviene mediante rigenerazione epitelio-stromale del tessuto vaporizzato, preceduta dalla espulsione del tessuto carbonizzato, con buoni esiti cicatrizziali. Il danno tissutale, come accennato, viene modulato mediante opportuna scelta dell'elettrodo, del tempo di applicazione della corrente, delle caratteristiche della corrente stessa determinate

dal microprocessore (sulle quali si tornerà in seguito nella descrizione delle metodiche escissionali). Il trattamento viene eseguito con la paziente in posizione litotomica, previo posizionamento dell'elettrodo negativo sotto il coccige ed il posizionamento in vagina di uno speculum, possibilmente in materiale plastico onde evitare accidentali trasmissioni di corrente alle pareti vaginali anteriore e posteriore in seguito a bruschi movimenti della paziente, dotato di una cannula per l'aspirazione dei fumi collegata con un tubo ad apposito aspiratore. Nella diatermocoagulazione la lesione cervicale viene distrutta mediante applicazione sul tessuto patologico, opportunamente evidenziato dall'applicazione locale di acido acetico e del liquido di Lugol, di un elettrodo di forma sferica, del diametro di 2-5 mm, previa anestesia locale praticata iniettando circonferenzialmente all'orifizio uterino esterno (OUE) una soluzione di carbocaina all'1-2% addizionata ad adrenalina all'1/100.000, preferenzialmente ad ore 12, 3, 6 e 9; si inizia generalmente dai quadranti inferiori, in modo tale che un eventuale sanguinamento non ostacoli la prosecuzione dell'intervento, che viene eseguito "pennellando" la cervice con l'elettrodo, comandando l'erogazione della corrente mediante un interruttore preferenzialmente a pedale, onde aumentare la precisione dei movimenti che sarebbe potenzialmente inficiata se interruttore fosse posizionato sul manipolo nel quale è innestato l'elettrodo; è consigliato eseguire una pausa tra il trattamento di un quadrante e quello successivo, per ridurre al minimo il disagio legato ad eventuali contrazioni uterine provocate dal passaggio della corrente. L'elettrodo deve essere applicato sulla lesione avendo cura di distruggere anche una quota di tessuto sano localizzato 2-3 mm perifericamente alla lesione stessa; non meno importante è la distruzione del tessuto ghiandolare in profondità, per raggiungere eventuali propaggini di CIN negli sfondati ghiandolari ed evitare la formazione di sequele cicatrizziali conseguenti ad incompleta distruzione ghiandolare, quali cisti di Naboth ed isole ghiandolari lontane dalla nuova GSC. E' necessario evitare l'instaurarsi del danno termico e della necrosi tissutale, causa di successive stenosi dell'OUE che rendono difficoltoso, se non impossibile, il follow up colposcopico, e nei casi estremi, di marcata dismenorrea dovuta ad ematometra. L'elettrocoagulazione diatermica differisce dalla metodica precedente in quanto la distruzione del tessuto cervicale appena descritta è preceduta dall'infissione nella cervice di un ago elettrico per una profondità di circa 1,5 cm parallelamente al canale cervicale perifericamente alla lesione, la quale viene poi distrutta, una volta suddivisa in segmenti dall'ago stesso, fino alla suddetta profondità mediante l'elettrodo a sfera. Tale metodica, nonostante permetta di ottenere maggiori tassi di successo in virtù della maggiore profondità di distruzione, fino al 98% delle lesioni indipendentemente dalla loro severità (10,11), è più difficoltosa della diatermocoagulazione e richiede talvolta il ricorso alla anestesia generale. La rigenerazione del tessuto asportato avviene generalmente nei 30 giorni successivi al trattamento; per circa 15-20 giorni la paziente noterà perdite vaginali sierose-ematiche di entità lieve-moderata, e nei due mesi successivi si assisterà alla completa maturazione del tessuto neoformato.

LASER VAPORIZZAZIONE

Tale metodica, il cui impiego in ginecologia risale al 1973 si basa sull'utilizzo di una radiazione luminosa, della lunghezza d'onda compresa nello spettro dell'infrarosso (10,6 µm), ottenuta mediante il passaggio di una corrente elettrica attraverso una miscela di CO₂, elio ed azoto. Tale raggio viene veicolato, attraverso un sistema articolato di lenti e specchi, davanti alla lente principale del colposcopio, in modo tale che si rifletta su un ultimo specchietto, orientabile dall'operatore mediante un'apposita leva, per essere poi diretto sulla superficie da trattare. Il diametro del raggio, di luce monocromatica, coerente, la cui energia può variare da 0 a 100 W, può essere variato mediante un sistema di lenti poco prima che si ri-

fletta sullo specchietto: in genere è compreso tra 0,1 e 2 mm. La quantità di energia che si trasferisce al tessuto si esprime in densità di potenza, che viene misurata in watt/cm², ovvero $\text{watt}/\pi r^2$, ove r è il raggio dello spot in centimetri. L'effetto distruttivo avviene in quanto l'energia del raggio laser (acronimo di light amplification by the stimulated emission of radiation) porta ad ebollizione l'acqua intracellulare, con conseguente vaporizzazione del tessuto (12, 13). La preparazione della paziente è analoga a quella descritta per la diatermocoagulazione: negli interventi laser è preferibile l'uso di speculum di metallo brunito, in modo tale da impedire accidentali riflessioni del raggio sulla vagina, anch'essi collegati ad apposito aspiratore di fumi. Evidenziata la lesione e praticata l'anestesia locale, la si delimita circonferenzialmente con piccoli spot, mantenendosi a 2-3 mm di distanza da essa, e successivamente si procede alla vaporizzazione del tessuto per quadranti, iniziando da quelli inferiori, dirigendo il raggio con movimenti verticali mediante la levetta descritta: l'emissione del raggio è comandata dall'operatore mediante interruttore a pedale (12, 13). Dato che la radiazione che induce l'effetto vaporizzante è invisibile ad occhio nudo, lo strumento genera un'altra radiazione laser, coassiale alla principale, di colore rosso, basata sull'eccitazione di una miscela di elio e neon, necessaria per il puntamento. La vaporizzazione viene continuata fino a raggiungere una profondità di distruzione tissutale di 8-10 mm., mediante la creazione di un cratere di forma grossolanamente cilindrica. Il decorso post-operatorio ed il processo di rigenerazione tissutale sono simili a quelli descritti nella diatermocoagulazione, con una eccellente "restituito ad integrum" della morfologia cervicale, con GSC valutabile e possibilità quindi di un adeguato follow up. Anche la metodica della laser-vaporizzazione consente di raggiungere tassi elevati di successo terapeutico, pari al 95% dei casi trattati, indipendentemente dalla severità della CIN.

TRATTAMENTI ESCISSIONALI

Anche nella escissione della CIN i trattamenti più utilizzati sono quattro (7):

- Escissione con ansa diatermica (LLETZ/LEEP)
- Laser escissione o conizzazione
- Escissione con ago elettrico (NETZ/SWETZ)
- Conizzazione a lama fredda

Una tecnica escissionale è raccomandata nelle seguenti condizioni:

- Zona di trasformazione non completamente valutabile
- Discordanza tra citologia, colposcopia ed istologia
- Lesione squamosa di alto grado (CIN II-III)
- Sospetto o presenza di lesione ghiandolare
- Sospetto di invasività

ESCISIONE CON ANSA DIATERMICA

L'escissione di tessuto cervicale mediante corrente elettrica è stata resa possibile fin dagli anni 20 del '900, con l'introduzione di generatori elettrici capaci di convertire la corrente elettrica standard in corrente alternata ad alta frequenza, capace sia di tagliare che di folgorare o coagulare il tessuto, con conseguente effetto distruttivo, mediante un apposito elettrodo, a seconda della forma dell'onda elettrica generata dallo strumento (10). L'introduzione dei transistor prima e dei microprocessori poi ha permesso di ottenere apparecchiature tali da permettere escissioni non solo a scopo diagnostico, come era stato proposto da Cartier in origine, ma anche a scopo terapeutico, con elevati standard di comfort e sicurezza

per la paziente, a partire dalla metà degli anni 80 per opera di Boulanger, Prendiville e Cullimore. Attualmente si utilizzano generatori capaci di emettere correnti alternate ad altissima frequenza (400 KHz-4 MHz) ed a basso voltaggio, con potenza variabile da 100 a 400W; gli elettrodi attivi impiegati hanno forma ad ansa, di configurazione variabile (circolare, rettangolare, quadrata) con diametro e profondità compresi tra 0,5 e 2 cm. Il diametro del filo, composto di acciaio e tungsteno, non supera gli 0,2 mm: questa caratteristica permette di ottenere una elevata densità della corrente che lo attraversa, tale per cui il tessuto in prossimità del filo viene vaporizzato, in virtù dell'alta temperatura prodotta su una superficie molto ridotta (si ricordi l'effetto Joule). La tecnica (nominata LLETZ – large loop excision of the transformation zone – nel Regno Unito e LEEP – loop electrosurgical excision procedure – negli USA) viene eseguita secondo le modalità descritte da Prendiville: preparata la paziente come per una diatermocoagulazione e praticata l'anestesia locale, si procede avvicinando l'ansa, di misura appropriata al volume della cervice ed all'estensione della lesione, lateralmente all'OUE (ore 3); successivamente, erogando la corrente (che può essere modulata in funzione taglio puro o taglio/coagulazione) l'ansa viene lentamente affondata nella cervice, parallelamente al canale cervicale, fino in fondo, per poi essere accompagnata in modo tale da passare dietro all'OUE e fuoriuscire simmetricamente dal lato opposto al quello di ingresso (ore 9). Si ottiene così l'escissione di un campione di forma grossolanamente conica, che dovrebbe contenere al suo interno una porzione di canale cervicale a tutto spessore. Il danno termico prodotto dal filo sulle pareti laterali del cono è di entità trascurabile (spessore massimo 50-300µ), tale da permettere al patologo una soddisfacente valutazione istologica. E' possibile eseguire un secondo passaggio nella cervice, per ottenere un'ulteriore porzione di canale cervicale; in caso di lesioni vaste, si può praticare la loro escissione utilizzando anse di minore diametro e profondità, una volta asportato il/i frammento/i contenente/i il canale cervicale: è tuttavia consigliabile rimuovere la lesione nel minor numero di passaggi possibile per una migliore valutazione istologica. Un eventuale sanguinamento originatosi dalle pareti del "cratere" creato dal passaggio dell'ansa viene poi cauterizzato con un elettrodo a sfera: tale tempo è utile per eliminare altresì eventuali sfondati ghiandolari (13-15). Analogamente a quanto descritto in precedenza, in circa un mese si assiste alla rigenerazione del tessuto rimosso, con maturazione nei 2-3 mesi successivi. Le perdite ematiche correlate alla rigenerazione hanno una durata di 10-20 giorni; in circa l'1-2% dei casi può comparire un sanguinamento abbondante dalla ferita a distanza di 48-72 ore dall'intervento, risolvibile con un tamponamento vaginale. La conizzazione con ansa diatermica possiede numerosi vantaggi, che ne hanno decretato il successo, tale da farne la tecnica escissionale più utilizzata attualmente: viene praticata in ambulatorio, in anestesia locale, è rapida e di facile esecuzione, ha un costo relativamente basso, presenta una bassa incidenza di complicanze sia intraoperatorie (sanguinamenti) che a distanza (emorragie, stenosi del canale cervicale). Il tasso di successo terapeutico varia dal 90 al 97%.

LASER ESCISIONE

L'energia laser può essere impiegata nelle tecniche escissionali, in virtù delle elevate densità di potenza ottenibili con le apparecchiature più recenti, le quali rendono possibile il taglio del tessuto cervicale con buoni effetti emostatici. La metodica è stata per la prima volta descritta da Dorsey nel 1979, ed è stata successivamente modificata da Baggish nel 1983 (16). Anche in questo caso la preparazione della paziente e la strumentazione impiegata sono le medesime rispetto alla tecnica di vaporizzazione. Una volta praticati gli spot che delimitano la lesione, si procede alla incisione circonferenziale del tessuto "unendo" con il raggio tali reperi, approfondendosi nella cervice passando più volte sulla incisione praticata

inizialmente per una distanza di 4-5 mm, rimanendo paralleli al canale cervicale; successivamente, per ottenere una foggia conica del pezzo bioptico si utilizza un apposito uncino a due denti, anch'esso brunito o comunque satinato, per attuare le opportune trazioni sul tessuto da rimuovere allo scopo di fare convergere la direzione del taglio, dai vari quadranti, verso il canale cervicale, in modo tale da ottenere l'altezza voluta del cono (che in genere non supera i 2 cm) variando l'inclinazione del taglio; l'apice del pezzo può essere esciso dal raggio laser o mediante bisturi. Per ottenere l'effetto del taglio vengono utilizzate elevate densità di potenza, pari a 8000-12000 W/cm², che, per vasi il cui diametro non eccede i 0,5 mm, permettono di ottenere anche un effetto emostatico; eventuali sanguinamenti conseguenti a sezione di vasi di diametro superiore sono eliminabili abbassando la densità di potenza a 500-1000 W/cm², aumentando il diametro del raggio ad 1-2mm, per poi vaporizzare circonferenzialmente i tessuti circostanti alle pareti del vaso, che vengono così coartate, e solo in casi rari è necessario il ricorso all'elettrobisturi. Decorso post-operatorio, complicanze e percentuali di successo sono sovrapponibili a quelle descritte nell'escissione con ansa diatermia (16-18).

ESCISSIONE CON AGO ELETTRICO

Questa metodica (needle excision of the transformation zone – NETZ- ovvero straight wire excision of the transformation zone – SWETZ), scarsamente impiegata, si pone a cavallo tra l'escissione con ansa diatermica e l'escissione laser. La strumentazione utilizzata è quella descritta per l'impiego dell'elettrobisturi: in questo caso l'elettrodo attivo è un ago retto, il cui diametro è analogo a quello dell'ansa ($\leq 0,2\text{mm}$). Praticata l'anestesia locale, si procede infiggendo l'ago nella cervice e per poi dirigerlo circonferenzialmente attorno alla lesione, ottenendo un campione di forma conica mediante l'impiego di un uncino a due denti, con il manico isolato elettricamente, come descritto per la laser escissione (17).

CONIZZAZIONE A LAMA FREDDA

La "conizzazione" è stata la prima metodica conservativa proposta nel trattamento della CIN fin dal 1938 da Miller e Todd, che descrissero l'asportazione di un campione di tessuto cervicale di forma tronco-conica mediante l'impiego dell'elettrobisturi. L'inadeguatezza tecnologica della strumentazione dell'epoca, che provocava un notevole deterioramento da necrosi termica del pezzo asportato consigliò nel 1960 l'utilizzo del bisturi a lama fredda (18). L'intervento classico prevedeva l'ospedalizzazione, il ricorso all'anestesia generale, l'emostasi tissutale dopo l'asportazione del cono con punti di sutura, posti ciascuno ai quattro punti cardinali dei margini cruentati (punti di Sturmdorf): ciò provocava spesso una scadente ed incompleta riparazione della cervice, con frequente risalita della GSC nel canale cervicale ed elevato rischio di parto pre-termine, o addirittura di aborto al secondo trimestre per incontinenza cervicale nelle gravidanze successive, tali da rendere spesso necessario il ricorso a cerchiaggio cervicale. Per questi motivi con l'avvento delle metodiche escissionali già descritte la conizzazione a lama fredda è stata progressivamente abbandonata, trovando un razionale di impiego in caso vi sia un fondato sospetto di invasione, ovvero ci si trovi in presenza di una lesione ghiandolare, tale per cui ci sia necessità di una escissione profonda, nonché di margini del pezzo bioptico perfettamente valutabili dal patologo. Attualmente si utilizza la tecnica secondo Burghardt, variamente personalizzata (18-20): la paziente, preparata come per un qualsiasi intervento per via vaginale, viene sottoposta una volta inserito uno speculum di Collin, ad anestesia totale o loco regionale mediante blocco paracervicale, iniettando nei fornicci vaginali circa 15 cc di mepivacaina; successivamente, applicato il liquido di Lugol per evidenziare la lesione, vengono posizionate lateralmente alla cervice due pinze di Pozzi, alle ore 3 e 9, per mobilizzare l'utero verso il basso. La cervice viene poi infiltrata in 4-6 punti con una

soluzione vasocostrittrice, tipo adrenalina 1/100000 oppure ornipressina 5UI/200 ml; si procede poi all'escisione del pezzo praticando una incisione circolare perifericamente alla lesione con un bisturi angolato, afferrando poi il cono con un tenacolo per ottenere l'angolo voluto di incisione. Rimosso il pezzo, si procede ad elettrocoagulazione del cratere cervicale con elettrodo a sfera, ed infine si applica uno zaffo vaginale, che viene rimosso dopo 12 ore. La ricostruzione della cervice avviene in 6 settimane circa, con una restitutio ad integrum quasi completa. La complicanza più comune è l'emorragia, che può insorgere intraoperatoriamente, dalla superficie del cratere oppure dall'apice del cono, oppure a distanza di 10 giorni dall'intervento nel 3-23% dei casi, risolvibile con un tamponamento, una ulteriore elettrocoagulazione oppure più raramente con una sutura.

COMPLICANZE

Le complicanze degli interventi conservativi cervicali possono essere suddivise in precoci e tardive. Tra le prime possiamo annoverare l'emorragia, della quale si è già parlato, e l'infezione cervico-vaginale, di entità trascurabile (< 1% dei casi), spesso legata ad una mancata disinfezione vaginale pre-operatoria ovvero ad una condotta errata della paziente nel post-operatorio. Tra le seconde va annoverata la stenosi del canale cervicale, più frequente dopo conizzazione a lama fredda secondo la tecnica classica oppure nelle pazienti in peri-menopausa; a sua volta la stenosi può provocare, se serrata, dismenorrea ed ematometra nelle pazienti in età fertile, oppure può nascondere un sanguinamento uterino in post-menopausa, sintomo talvolta precoce di neoplasia endometriale, ovvero ostacolare la sostituzione ormonale, tale da costringere al ricorso ad una terapia combinata continua per sopprimere la "mestruazione"; in ogni caso crea difficoltà nell'esecuzione dell'indispensabile follow-up colposcopico e citologico (6, 7). Un discorso a parte meritano le conseguenze dei trattamenti sulla sfera riproduttiva: sebbene non ci sono evidenze di riduzione della fertilità, le tecniche escissionali sembrano peggiorare lievemente l'outcome ostetrico nelle gravidanze successive, anche se le evidenze sono basate su un numero esiguo di studi, di natura retrospettiva o osservazionale, con casistiche limitate: in particolare la conizzazione a lama fredda è associata ad un aumentato rischio di parto pretermine, basso peso alla nascita e frequenza di tagli cesarei, mentre escissione laser ed con ansa diatermica sono associate in maniera analoga a parto pretermine (il cui rischio sembra aumentato quando la profondità di escissione supera i 10 mm), rottura prematura delle membrane e basso peso alla nascita. Tali complicanze non sono significativamente rilevabili dopo tecniche ablative, in particolare la laser vaporizzazione. Va inoltre ricordato che a tutt'oggi non vi sono evidenze in grado di confermare o escludere un aumento del rischio di mortalità perinatale. Queste recenti osservazioni suggeriscono, ove possibile, di ricorrere preferenzialmente a tecniche distruttive nelle donne in età fertile, e di avere un atteggiamento attendista davanti a lesioni di basso grado (CIN I) nelle adolescenti, soggette spesso a regressione spontanea (3,7,21,22).

FOLLOW UP

Come più volte ribadito in precedenza, un requisito indispensabile all'esecuzione di un trattamento conservativo è la disponibilità della paziente a sottoporsi a successivi controlli adeguati. Nessun trattamento è in grado di garantire l'eradicazione della CIN nel 100% dei casi, nonostante i vantaggi teorici offerti dalle metodiche escissionali (diagnosi istologica di eventuale microinvasione o lesione ghiandolare, valutazione dei margini del cono), e non è stata dimostrata la reale superiorità terapeutica di un metodo rispetto ad un altro (23). Inoltre è stato dimostrato che il rischio di sviluppare un carcinoma invasivo, cervicale o vaginale, nelle donne trattate rimane più elevato rispetto alla popolazione generale, per un pe-

riodo di 20-25 anni, con un tasso compreso tra 23 e 56 per 100000; mentre la possibilità di ricomparsa di una CIN decresce nel tempo, attestandosi ad un tasso di 190 per 100000 al decimo anno, il tasso di forme invasive rimane stabile: ciò pare sia legato principalmente alla progressiva riduzione della aderenza al follow up (24-26). In generale il rischio di ricorrenza/recidiva di CIN rimane più elevato nei due anni successivi al trattamento, ed appare essere associato all'età della paziente (superiore ai 40 anni), alla presenza di lesioni di alto grado, ovvero ghiandolari (le quali possono coinvolgere pressoché tutto il canale cervicale), la presenza di margini biotici interessati, tali da far sospettare una escissione incompleta, così come la persistenza cervicale di ceppi di hrHPV (7, 27). Per tali motivi si consiglia di ripetere un trattamento escissionale nell'immediato in pazienti di età superiore ai 50 anni affette da CIN III, ovvero in caso di diagnosi di lesione ghiandolare a qualsiasi età nell'eventualità di interessamento dei margini endocervicali. Tale condotta è consigliata anche in caso di diagnosi di carcinoma squamoso invasivo IA₁, con margini interessati da CIN, mentre in caso di margini liberi può essere adottato un protocollo di follow up come per lesione intraepiteliale. Un tratta-

mento escissionale è altresì comunque consigliato in caso di ricorrenza/recidiva di CIN (7). Nonostante non vi siano condotte di follow up universalmente accettate (28), si consiglia l'esecuzione di pap test e colposcopia ogni 6 mesi per 2 anni, ed un controllo annuale per altri 5 anni, dopodiché la paziente può essere re-inviata allo screening. Una condotta alternativa può essere l'esecuzione di pap test, colposcopia ed HPV test (Hybrid Capture 2 Test) a 6 mesi: se sono negativi, analoga ripetizione a 6 mesi e, in caso di negatività, re-invio allo screening; se il pap test o la colposcopia dovessero essere positivi, si procede con l'iter diagnostico, se pap test e colposcopia dovessero essere negativi ma l'HPV test positivo, controllo a 6 mesi: la paziente potrà essere re-inviata allo screening dopo due controlli semestrali consecutivi negativi (2). Tale condotta alternativa è giustificata dalla maggiore sensibilità e dalla non significativamente minore specificità dell'HPV test rispetto alla sola citologia nel predire una ricorrenza/recidiva, nella quale il test virale mostra inoltre una superiore sensibilità e specificità rispetto alla diagnosi istologica sullo stato dei margini (7).

BIBLIOGRAFIA

1. Wright TC, Kurman RJ, Ferenczy A. *Precancerous Lesions of the Cervix*. In: Kurman RJ, ed. *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. 5th ed. New York: Springer-Verlag; 2002: 253-6
2. *Gestione della paziente con pap test anormale. Linee guida edizione 2006. A cura della Società Italiana di Colposcopia e Patologia Cervico Vaginale*. In: *La Colposcopia in Italia, Anno XXI – N. 1*
3. Wright TC; Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. 2006 consensus guidelines for the management of women with cervical intraepithelial neoplasia or adenocarcinoma in situ. *Am. J. Obstet. Gynecol* 2007; 197(4): 340-5
4. Danso D, Lyons F, Bradbeer C. *Cervical screening and management of cervical intraepithelial neoplasia in HIV-positive women*. *Int. J. STD & AIDS* 2006; 17: 579-86
5. Tebeu PM, Major AL, Mhaweche P, Rapiti E. *The recurrence of cervical intraepithelial neoplasia in HIV-positive women: a review of the literature*. *Int. J. STD & AIDS* 2006; 17: 507-11
6. Singer A, Monaghan JM. *La Gestione delle Lesioni Precancerose Cervicali*. In: *Lesioni precancerose del basso tratto genitale femminile. Colposcopia, patologia e trattamento*. CIC Edizioni Internazionali 1996: 111-54
7. Arbyn M, Anttila A, Jordan J, Ronco G, Schenck U, Segnan N, Wiener HG, Herbert A, Daniel J, Karsa L von (eds). *European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening – Second edition*. European Commission/IARC, Luxembourg 2008 – XXXII ISBN 978-92-79-07698-5 <http://bookshop.europa.eu>
8. Hatch KD. *Criotherapy*. *Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynaecology* 1995; 9 (1): 133-43
9. Stigliano C. *Termocoagulatore di Semm (Cold Coagulator) Principi fisici ed indicazioni*. In: Piccoli R, Boselli F, Santoro MG. *Terapia chirurgica ginecologica ambulatoriale*. E.L.I. ed 1997: 86-8
10. Chanen W. *Electrocoagulation diathermy*. *Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynaecology* 1995; 9(1): 157-72
11. Piccoli R, Boselli F, Santoro MG, Capodanno M: *Diatermocoagulazione-Elettrocoagulazione. Principi fisici ed indicazioni*. In: Piccoli R, Boselli F, Santoro MG. *Terapia chirurgica ginecologica ambulatoriale*. E.L.I. ed. 1997: 89-92
12. Mitchell MF. *Malattie preinvasive del tratto genitale femminile inferiore*. In: Ghershenson DM, DeCherney AH, Curry LC. *Chirurgia del tratto distale dell'apparato genitale femminile*. Menarini ed. 1996: 145-57
13. Monaghan JM. *Laser Vaporization and excisional techniques in the treatment of cervical intraepithelial neoplasia*. *Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynaecology* 1995; 9(1): 173-87
14. Prendiville W. *Large loop excision of the transformation zone*. *Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynaecology* 1995; 9 (1): 189-220
15. Boselli F. *CIN e condilomatosi cervicale. Trattamento con elettrochirurgia a radiofrequenza*. In: Piccoli R, Boselli F. *Chirurgia Ginecologica Ambulatoriale e Day Surgery*. Mediacom ed. 2006: 123-31
16. Bayer SR, Soto-Hunnicut J. *Dilatazione e curettage e conizzazione cervicale*. In: Ghershenson DM, DeCherney AH, Curry LC. *Chirurgia del tratto distale dell'apparato genitale femminile*. Menarini ed. 1996: 170-82
17. Sopracordevole F. *CIN. Trattamento con laser CO₂*. In Piccoli R, Boselli F. *Chirurgia Ginecologica Ambulatoriale e Day Surgery*. Mediacom ed. 2006: 133-38
18. De Palo G, Vecchione A. *Conizzazione con tagliente a freddo*. In: De Palo G. *Manuale di Colposcopia e Patologia del Tratto Genitale Inferiore*. Masson ed. 1991: 227-35
19. Piccoli R. *CIN. Trattamento con conizzazione chirurgica a lama fredda*. In: Piccoli R, Boselli F. *Chirurgia Ginecologica Ambulatoriale e Day Surgery*. Mediacom ed. 2006: 139-42
20. Burghardt E, Pickel H, Girardi F. *Colposcopia e Patologia Cervicale. Testo atlante. III Edizione*. CIC Edizioni Internazionali 1999: 275-84
21. Kyrgiou M, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W, Paraskevaidis E. *Obstetric outcomes after conservative treatment for intraepithelial or early invasive cervical lesions: systematic review and meta-analysis*. *Lancet* 2006; 367: 489-98
22. Sadler L, Saftlas A. *Cervical surgery and preterm birth*. *J. Perinatol. Med.* 2007; 35: 5-9
23. Martin-Hirsch PL, Paraskevaidis E, Kitchener H. *Surgery for cervical intraepithelial neoplasia (Review)*. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 1999, Issue 3. Art. No.: CD001318. DOI: 10.1002/14651858.CD001318
24. Soutter WP, Sasieni P, Panoskatsis T. *Long-term risk of invasive cervical cancer after treatment of squamous cervical intraepithelial neoplasia*. *Int. J. Cancer* 2006; 118: 2048-55
25. Kalliala I, Anttila A, Pukkala E, Nieminen P. *Risk of cervical and other cancers after treatment of cervical intraepithelial neoplasia: retrospective cohort study*. *BMJ* 2005; 331: 1183-85
26. Strander B, Andersson-Ellström A, Milsom I, Sparén P. *Long term risk of invasive cancer after treatment for cervical intraepithelial neoplasia grade 3: population based cohort study*. *BMJ published online 24 Oct 2007. doi:10.1136/bmj.39363.471806.BE*
27. Ghaem-Maghani S, Sagi S, Majeed G, Soutter WP. *Incomplete excision of cervical intraepithelial neoplasia and risk on treatment failure: a meta analysis*. *Lancet Oncol* 2007; 8: 985-93
28. Kyrgiou M, Tsompu I, Vrekoussis T, Martin-Hirsch P, Arbyn M, Prendiville W, Mitrou S, Koliopoulos G, Dalkalitsis N, Stomatopoulos P, Paraskevaidis E. *The up-to-date evidence on colposcopy practice and treatment of cervical intraepithelial neoplasia: The cochrane colposcopy and cervical cytopathology collaborative group (C5 group) approach*. *Cancer Treatment Reviews* 2006; 32: 516-23