



Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

**Simpozij Učestalost, dijagnostika i terapija
genitalnog karcinoma u Bosni i Hercegovini,
Sarajevo, 08. 06. 2007.**

Šimić, Srećko; Mehmedbašić, Senad

2007

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

<https://bastina.anubih.ba/handle/123456789/868>

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

<https://bastina.anubih.ba/>



AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI BOSNE I HERCEGOVINE
АКАДЕМИЈА НАУКА И УМЈЕТНОСТИ БОСНЕ И ХЕРЦЕГОВИНЕ
ACADEMY OF SCIENCES AND ARTS OF BOSNIA AND HERZEGOVINA

POSEBNA IZDANJA
KNJIGA CXXV

Odjeljenje medicinskih nauka
Knjiga 34

SIMPOZIJ
UČESTALOST, DIJAGNOSTIKA
I TERAPIJA GENITALNOG KARCINOMA
U BOSNI I HERCEGOVINI

Sarajevo, 08.06.2007.

Uredili

Srećko Šimić
Senad Mehmedbašić

SARAJEVO, 2007.

HPV STATUS, PREMALIGNNE I MALIGNNE LEZIJE GRLIĆA MATERNICE I PROFILAKTIČKA HPV VAKCINA

Prof. dr Ermina Iljazović

Postojanje prekursora lezija invazivnog cervikalnog karcinoma (CC) prepoznato je još prije više od pola vijeka. 1886. godine Sir John Wiliams ukazao je na prisustvo epitelnih abnormalnosti u okolini skvamoznog cervikalnog karcinoma (SCC). Specifičan odnos i histološki izgled ovih neinvazivnih lezija bolje je opisao Cullen 1900. g, a Broders ponovo uveo termin carcinoma in situ (CIS) kojeg su prvi koristili Schottlander i Kermauner. Uprkos snažnim naprecima u detekciji i zbrinjavanju, CC je jedan od najčešćih tipova kancera, a sedmi kod žena u razvijenim zemljama. Epidemiološke studije su pokazale da su CIN (cervikalna intraepitelna neoplazija) i invazivni karcinomi usko povezani sa seksualnom anamnezom i pacijentice i njenog partnera. Rani početak seksualnog života, prije sedamnaeste godine, česta promjena partnera važni su faktori u razvoju ovog karcinoma. Uvodjenjem masovnih skrining programa, prevalenca invazivnog karcinoma grlića u svijetu je znatno opala, dok su prekancerozne lezije u porastu kao rezultat citološke detekcije. Pik javljanja za CIN je 26 godina ili oko 20 godina ranije nego kod žena sa invazivnim karcinomom. CC udružen sa humanim papiloma virusom (HPV) javlja se u dobi od 17. do 90. g. a mikroinvazivni karcinom (MICC) u dobi od 35. do 46.g. Srednja životna dob žena sa HPV udružen CC je 51,4 g., 15-23 godine starije nego za HGSIL i 8 godina starije nego za MICC. Već više od dvije decenije poznato je da je nastanak i razvoj CC u najvećem broju slučajeva uzrokovan infekcijom sa humanim papiloma virusom (HPV).

Humani papiloma virusi (HPV) pripadaju porodici Papovaviride i sastoje se od kubične kapside koja sadrži cirkularnu, dvostruku DNA, dužine 8 kb. Papiloma virusi su intranuklearni organizmi koji napadaju mitotski aktivne ćelije i inficiraju skvamozne epitele na selektiranim mjestima na koži i mukozama. Produkuju epitelne proliferacije razli-

čitog načina rasta i ovisno od tipa HPV. Kod benignih infekcija inkubacioni period može varirati od nekoliko sedmica do nekoliko mjeseci. Nije jasno zašto neke osobe imaju lezije koje spontano regresiraju dok drugi imaju perzistentnu HPV infekciju ili progresiju od produktivne infekcije do neoplastičnog procesa. Genom HPV ima tri regije:

- | | | |
|--|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ◊ rana (E1-E7) ◊ i kasna regija L1-L2 ◊ uzlazna regulatorna regija (URR) | } | <p>regije za
šifriranje proteina</p> |
|--|---|--|

Smatra se da virus primarno inficira bazalne ćelije epitela na mjestu mikroabrazije ili direktnim kontaktom sa izloženim bazalnim ćelijama, kao što se dešava u području zone transformacije (skvamokolumnarna granica) na kojoj se i dešava oko 90% infekcija HPV ili unutar imaturne zone transformacije. Kada virus inficira mitotski aktivnu epitelnu ćeliju može nastati latentna infekcija u kojoj ogoljeni dijelovi DNA prebivaju u jedru i viralna replikacija se vezuje za ćelijski ciklus. Viralni ciklus replikacije povezan je sa procesom diferencijacije epitela, pa HPV može modificirati maturaciju keratinocita. Ćelije u latentnoj infekciji sa HPV izgledaju morfološki normalno, a virus ne ometa proces ćelijske diobe. To znači da se HPV može detektovati kod žene sa citološki normalnim nalazom u latentnoj infekciji ili može predstavljati ranu infekciju aktivnog oboljenja. Mirujuća infekcija može biti konvertovana u replikativnu infekciju, ali signal koji inicira ovu konverziju još nije poznat. Poznato je da osobe koje su bilo fiziološki (u trudnoći) bilo patološki (HIV pozitivni pacijenti) oslabljenog imunog statusa nose povećan rizik od replikativne infekcije sa HPV (Uberti-Foppa i sar, 1998). Latentna infekcija može biti detektovana jedino molekularnim metodama i nije poznato u kojoj mjeri se virus eliminira sljuštenim ćelijama, da li je taj proces kontinuiran ili cikličan i šta je to što utiče na količinu produkovane DNA (IAC Task Force Summary, 1997).

Infekcija humanim papilomavirusom cervikalnog, anogenitalnog i drugih epitela najčešće produkuje koilocitne promjene upravo u intermedijarnom i superficijalnom sloju. Koilociti se karakteriziraju hiperhromazijom i uvećanjem jedra sa perinuklearnim prosvjetljenjem citoplazme, često udružen sa multinukleacijom inficiranih ćelija što pred-

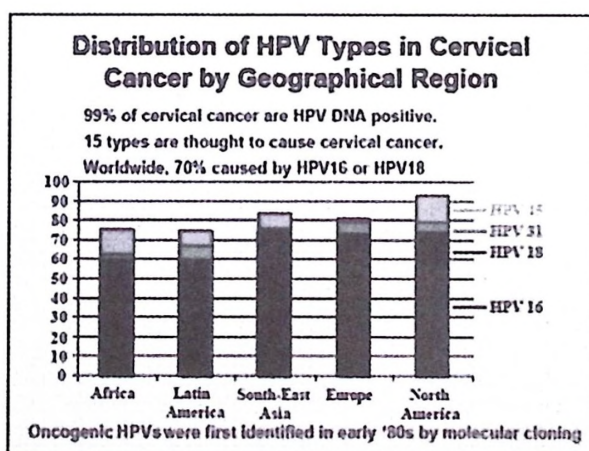
stavlja marker HPV infekcije ali ne nužno i kompletnu viralnu maturaciju. Ovo može rezultirati u prisustvu infekcije bez vidljive kolposkopske ili citološke lezije (Cramer i sar,1997). Tokom ove faze gdje se pretpostavlja da inficirana ćelija sadrži 1-10 kopija virusa, ispoljavaju se kasni geni i produkuju proteini neophodni za nastanak kapside kapsule. Kao posljednji korak HPV virioni se oslobađaju u cirkulaciju dozvoljavajući infekciju drugih ćelija. Koilociti se formiraju samo u ćelijama koje podliježu terminalnoj diferencijaciji te stoga ih nema u displastičnim stanjima gdje su ćelije anaplastične. IHH zahtijeva prisustvo kapsule viriona što znači da je skvamozni epitel dobro diferenciran.

HPV DNA se prosječno detektuje u 80-90% cervikalnih intraepitelnih neoplazija (CIN) teškog stepena -gradus 3 i invazivnih cervikalnih karcinoma (Montero,1997). Po rezultatima nekih manjih studija postoji određena razlika u riziko faktorima HPV pozitivnih žena za nastanak ASCUS/LGSIL odnosno HGSIL. Među HPV pozitivnim ženama rizik za HGSIL je udružen sa dužinom aktivnog seksualnog života (bez obzira na kontracepciju), za mladu dob u vrijeme nastanka kondiloma i pušenje (Kruger-Kjaer i sar,1998). Premda se smatra da je HPV esencijalan za transformaciju epitelних ćelija, svakako da nije dovoljan, i brojni drugi kofaktori i molekularne izmjene imaju svoje mjesto između nastale HPV infekcije i razvoja cervikalnog karcinoma ili njegovih prekursora (Richart,1998).

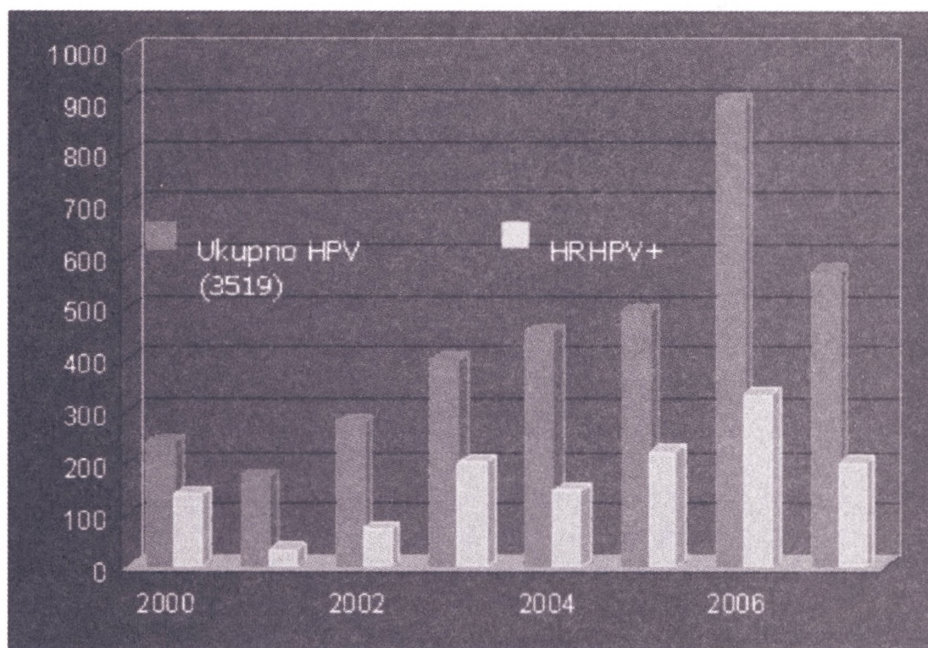
Cervikalna i vulvarna lokalizacija

Izrazita karakteristika različitih tipova humanih papiloma virusa jeste njihova predilekcija za infekciju skvamoznog epitela specifičnih lokacija. Premda ova specifičnost nije u potpunosti razjašnjena može se objasniti prijemčivošću proteina viralne kapside za specifične površne receptore epitelnih ćelija. Ciljane epidemiološke studije dokazale su vezu između cervikalnog karcinoma i seksualno prenosivih viralnih agenasa, kao i činjenicu da je cerviks mjesto najjačeg onkogenog potencijala HPV (Munoz, 1987). Pojedine varijacije u prevalenci HPV infekcije i frekvenci različitih tipova najvjerovatnije su posljedica određenih geografskih razlika ili heterogenosti viralne DNA replikacije unutar lezije, pa čak i posljedica različite senzitivnosti primijenjenog metoda. Danas je poznato preko 100 različitih tipova HPV od kojih oko

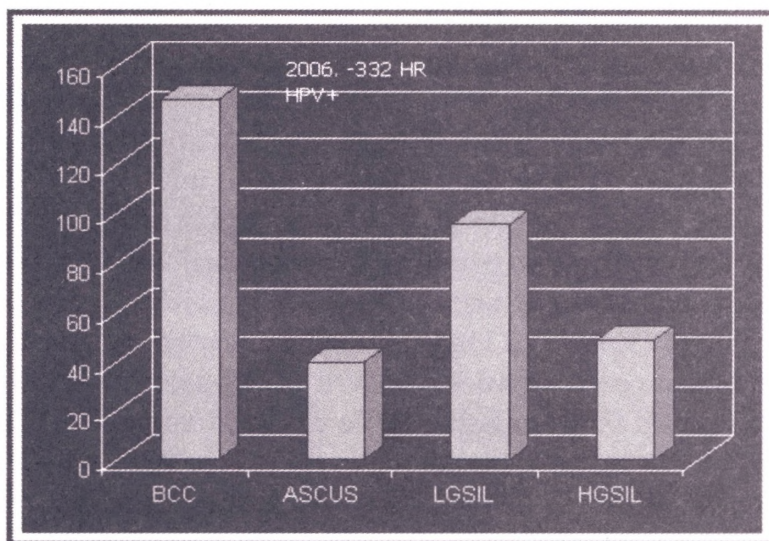
35 pokazuje tropnost za skvamozni epitel grlića, odnosno izolovani su iz anogenitalnih ili lezija oralne mukoze (Swygart, 1997 i Ishi i sar. 1998). Ovi mukozni viralni tipovi se često označavaju kao genitalni HPV (Bernard i sar. 1992). HPV tipovi 6b i 11 obično su udruženi sa benignim genitalnim izraslinama i nisko rizičnim cervikalnim intraepitelnim neoplazijama (CIN 1), odnosno imaju nizak onkogeni rizik. Intermedijarni tipovi virusa uključuju tipove kao 31,35, i 45 koji se obično detektuju u HGSIL, a samo sporadično u invazivnim karcinomima (Lungu i sar. 1992). HPV tipovi 16 i 18 nađeni su u oko 80% visoko rizičnih lezija grlića (CIN 2 i 3) te 90% invazivnih karcinoma grlića (Brescia,1986). Upravo stoga se ovi virusi i dijele na nisko i visoko rizične tipove HPV, te intermedijarnu grupu virusa. U daljoj analizi histopatoloških karakteristika, HPV 18 je češće udružen sa karcinomima porijekla glandularnog epitela endocerviksa, a HPV 16 sa epitelom skvamozne diferencijacije. HPV 18 je takode udružen sa više progresivnim ili agresivnim formama karcinoma, a HPV 16 je u vrijeme detekcije obično prisutan kod mladih pacijentica i sa većom frekvencom prisutnih limfnih metastaza (Arends i sar,1990). Drugi tipovi kao HPV 31,33, 35, 39,43, 45... mogu se naći i u malignim i u benignim cervikalnim lezijama, odnosno imaju maligni potencijal ili su klonirani iz karcinoma (Lorincz, 1987), premda je moguće i postojanje miješanih infekcija, visoko i nisko rizičnih tipova (npr. HPV 33 i 6) naročito u mješovitim epitelijalnim tumorima (O'Leary i sar, 1998).



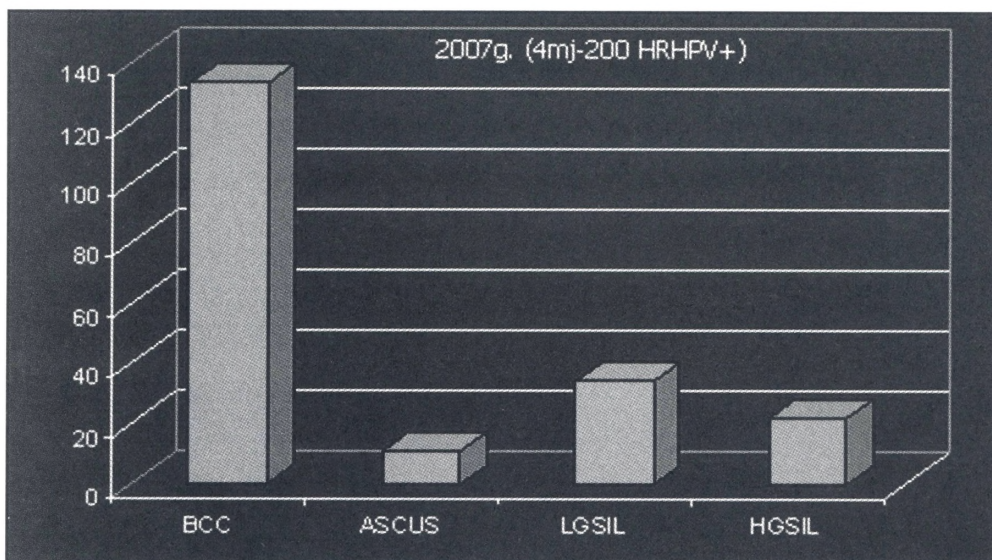
Grafikon 1: Učestalost i distribucija HPV udruženih CC u svijetu



Grafikon 2: Učestalost HRHPV na Tuzlanskom kantonu u periodu 2000-2007. g.



Grafikon 3: Odnos verifikovanih promjena na Papa nalazu i HRHPV na TK u 2006.



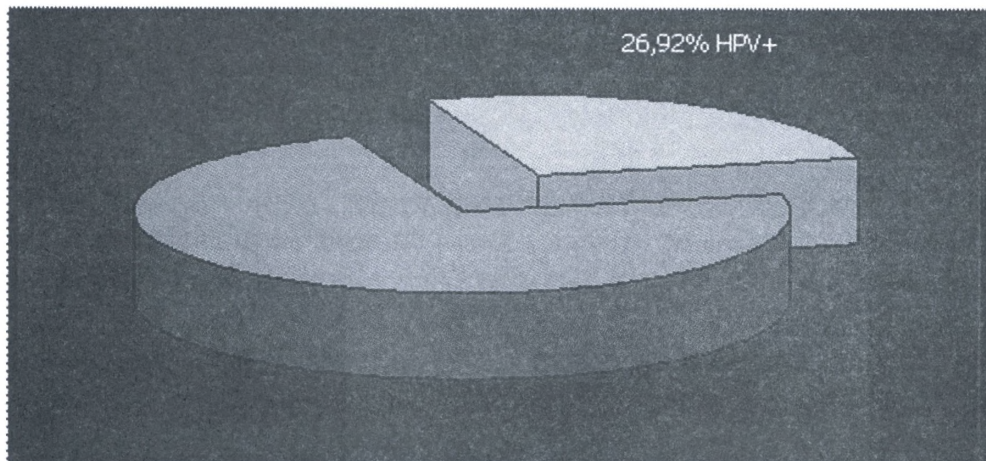
Grafikon 4: Odnos verifikovanih promjena na Papa nalazu i HRHPV na TK u 2007.

Uticaj HPV na progresiju lezija na grliću

Podaci koji potvrđuju centralnu ulogu za perzistentnu infekciju sa visoko rizičnim HPV u patogenezi HGSIL i invazivnom CC potiču od dvije vrste studija. Jedno su case-control studije žena koje su razvile HGSIL ili invazivnim CC i kod kojih je primijenjeni konvencionalni PAPA test testiran na HPV upotrebom senzitivne PCR metode. Ove studije su pokazale da žene koje su permanentno inficirane sa HR HPV 30x imaju veću šansu da razviju HGSIL nego žene koje su HR HPV negativne. Takođe žene sa perzistentnom infekcijom HPV DNA čak 213 x imaju veću šansu da razviju inv CC nego HPV negativne žene.

Druga vrsta studije su long-term studije, prospektivnog tipa koje takođe potvrđuju centralnu ulogu HPV u patogenezi SIL-e. Hopman i saradnici su pratili 68 žena koje su bile citološki negativne – bez lezije, ali HPV pozitivne, uz upotrebu citologije, kolposkopije i HPV DNA testa tokom 34 mjeseca. 17 ili 25% ovih žena je tokom posmatranog perioda razvilo abnormalan PAPA, 8 (12%) razvilo je biopsijski potvrđenu HGSIL. Od žena koje su razvile cervikalne abnormalnosti 94% je imalo peristentnu HR HPV DNA infekciju. Slične podatke

iznio je i Ellerbrock i sar. koji je našao da je 12% citološki i kolposkopski normalnih žena koje su imale HR HPV infekciju posljedično razvilo biopsijski potvrđenu HGSIL tokom 36 mjeseci.



Grafikon 5: Studija 2005.g. na TK 402 ili 78,97% (od 509) imalo BCC, ASCUS ili LGSIL

Ishod netretiranih HPV infekcija nije potpuno razjašnjen, vjerovatno kao posljedica još uvijek kontroverznih i neujednačenih stavova o mogućem tretmanu HPV infekcije, ali i kao posljedica različitih rezultata pojedinih studija. U Finskoj prospektivnoj studiji, od 343 žene koje su praćene 18,7 mjeseci, 25% HPV pozitivnih lezija je spontano regresiralo, 61% je ostalo neizmijenjeno, a 14 % je progrediralo u CC. U Engleskoj od 100 žena praćenih minimum 19 mjeseci, 11 je imalo regresiju lezija, 64 bez promjene, a 26% je progrediralo u CIN III.

Da li je neophodno detektovati prisustvo HPV infekcije i kako?

Više je metoda. PAPA razmaz se nekad koristio za identifikaciju promjena povezanih sa HPV ali mu je senzitivnost mala (15%). PAPA razmaz takođe ne može razlikovati pojedine tipove HPV, što je vrlo bitno za progresiju lezija. Senzitivnost i specifičnost citologije i PAPA nalaza je nešto veća kada se radi o HGSIL.

HPV specifični antigen se može detektovati IHH bojenjem ćelija i tkiva, ali ima malu specifičnost i kao i PAPA ne može izdiferencirati

pojedine tipove virusa. Korelacija između prisustva antigena i kliničkog toka je slaba.

Upotrebom senzitivnog PCR metoda HPV infekcija se detektuje u preko 93% invazivnih CC, a primjenom HPV DNA detekcionih metoda na retestiranim uzorcima HPV DNA se detektuje u gotovo svim prethodno negativnim rezultatima, a HPV DNA postotak iznosi više od 99%

Stopa prevalencije citološki detektovane (kliničke) HPV infekcije varira između 1% i 3%. Upotreba PCR-a rezultira u visokoj prevalenciji od 90% čak i u histološki normalnom epitelu genitalnog trakta (Syrjanen, 1995, i Zehbe i sar. 1996). Budući da virus ne može biti uzgojen na kulturi, detekcija HPV se bazira na DNA hibridizacionim testovima, uključujući Southern blot analizu i Dot Filter hibridizaciju koje imaju ekvivalentnu senzitivnost, specifičnost i reproducibilnost. In situ hibridizacija (ISH) ima manju senzitivnost (svega 1,5%), omogućava celularnu lokalizaciju prisutnog virusa pa omogućava komparaciju sa morfologijom, što nema posebnog značaja u razvoju i prognozi same infekcije (Clavel i sar. 1995). Digene Diagnostics Corporation razvila je poboljšani metod Southern blot hibridizacije za detekciju, tipizaciju i kvantifikaciju HPV DNA u odljuštenim ćelijama grlića. Testiran od strane brojnih kompanija, u poređenju sa klasičnom Southern blot hibridizacijom, HCS pokazao je veću senzitivnost, koja uz specifičnost metode i podudaranje iznosi 94%, 93% i 93% (Syrjanen, 1995). U našoj seriji rezultati dobiveni sa HCS, provjereni PCR metodom gotovo su identični, što je olakšalo dalju tipizaciju.

Tipovi HPV bazirane prevencije

- Primarna prevencija - prevenirati HPV infekciju profilaktičkom vakcinacijom
- Sekundarna prevencija - dijagnoza i tretman cervikalnih HPV infekcija: PAPA nalaz ili HPV DNA test

Profilaktička HPV vakcina

Danas je opšteprihvaćen stav da je CC posljedica infekcije sa HPV. Stoga je potpuno razumljivo očekivanje da vakcina koja može prevenirati infekciju dovede i do redukcije incidence cervikalnog kar-

cinoma. Razlicite strategije su korištene u kliničkim studijama u ispitivanju mogućnosti i prevencije HPV infekcije (profilaktička vakcina) i tretmana preegzistirajućih HPV indukovanih lezija (terapeutska vakcina) (Brinkman i sar. 2005). U studijama na miševima, pokazalo se da HPV vakcina proizvodi citotoksični T-ćelijski odgovor koji ne samo da eradikira HPV indukovane lezije već štiti i od posljedičnih promjena (Mandić, Vujkov, 2004).

GardasilTM, bivalentna HPV-16/18 L1 virus-like particle istraživačka vakcina protiv HPV, koju su razvili Merck&Co., Inc., značajno snižava kombinovanu incidencu perzistentne infekcije sa HPV 6, 11, 16, 18 tipovima i posljedičnim oboljenjima uključujući prekurzorne lezije CC i genitalnih bradavica. Daje se u tri doze djevojčicama odnosno mladim ženama u dobi od 11 do 26 godina. Druga i treća doza daju se nakon dva i šest mjeseci od prve aplikacije. Vakcinacija sa Gardasilom indukuje imuni odgovor koji se mjeri serumskim titrom anti-HPV antitijela. Titar anti - HPV 6,11,16 i 18, odnosno srednja vrijednost (GMTs - geometric mean titers) na kraju terapije 7 mjeseci je značajno viša kod vakcinisanih u odnosu na nevakcinisane pacijentice sa pozitivnom anamnezom o prethodnoj HPV infekciji. Premda nivo antitijela nakon 7 mjeseci počinje da pada, i nakon 36 mjeseci je još uvijek iznad ili jednak nivou kod nevakcinisanih pacijentica koje su razvile imuni odgovor na prethodnu prirodnu HPV infekciju.

Neželjeni efekti su vrlo blagi i podrazumijevaju bol na mjestu uboda/aplikacije, te sistemske efekte tipa glavobolje koja uglavnom ne utiče na dalje sprovođenje terapije.

S obzirom na vijek zaštite vakcinom, ženama koje su primile Gardasil se preporučuje da i dalje prakticiraju siguran sex (mehanička lateks kontraceptivna sredstva i barijere), redovne ginekološke kontrole.

Druga bivalentna vakcina, Cervarix je GSK kandidat za vakcinu dizajniran da prevenira infekciju sa dva najčešća tipa HPV, koji uzrokuju CC; HPV 16 i HPV 18. Dosadašnja ispitivanja i studije su pokazale da ova vakcina pruža 100% zaštitu u periodu od 4,5 godine. GSK CC kandidat za vakcinu napravljen je sa inovativnim AS04 adjuvantom, koji indukuje visok nivo antitijela za HPV 16 i HPV 18 kod žena u dobi od 10 do 55 godina za duži vremenski period od iste vakcine napravljene samo sa aluminium hidroksidom.

PAPA nalaz ostaje i dalje ključan metod za ranu detekciju i tretman CC i prekanceroznih lezija, premda u kombinaciji sa HPV detekcijom povećava senzitivnost trijaze, naročito niskorizicnih lezija.

Literatura

1. Arends MJ, Buckley CH, Wells M: (1998). Aetiology, pathogenesis, and pathology of cervical neoplasia. *J Clin Pathol* ; 51:96-103.
2. Brescia RJ, Jenson AB, Lancaster WD et al .(1996).: The role of Human papilloma viruses in the patogenesis And histologic classification of precancerous lesion of the cervix. *Hum Pat-hol* 17:552-559.
3. Brinkman JA, Caffrey AS, Munderspach LI, Roman LD, Kast WM: The impact of anti HPV vaccination on cervical cancer incidence and HPV induced cervical lesions: consequences for clinical management. *Eur J Gynecol Oncol*, 2005;26(2):129-42.
4. Clavel C, Rihet S, Masure M, Chypre C Boulanger JC, Que-reux C, Birembaut P: (1998). DNA-EIA to detect High and low risk HPV genotypes in cervical lesion with E6/E7 primer mediated multiplex PCR *J Clin Pathol*, Jan, 51(1): 38- 43.
5. Ishi K, Suzuki F, Saito A, Kina K, Koyatsu J, Kubota T. (1998). Cytopathology and hystopathology of human papilloma virus. *Rinsho Byori*, Mar; 46(3): 229-234.
6. Kruger-Kjaer S, van de Brule AJ, Svare EI, Engholm G, Sherman ME, Poll PA, Walboomers JM, Bock JE, Meijer CJ (1998): Different risk factor patterns for High grade and low grade intraepithelial lesion on the cervix among HPV positive and HPV negative young woman. *Int J. Cancer*, May29;76(5): 613-619.
7. O'Leary JJ, Leanders RJ, Crowley M, Healy I, O'Donovan M, Healy V, Kealy WF, Hogan J, Doyle CT.(1998): Human papil-lomavirus and mixed epithelial tumors of the endometrium. *Hum Pathol*, Apr;29(4) :383-389.
8. Lorincz AT, Red R, Jenson B, at al.(1992): Human papillo-mavirus infection of the cervix:Relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstel Gynecol*, 79:328-337

9. Lungu O, Wright Jr. T, Silverstein S.(1999): Typing of human papillomaviruses by polymerase chain Reaction amplification with L1 consensus primers and RFLP analysis. *Molecular and cellular Probes* 6,145-152.
10. Mandic A, Vujkov T. Human papillomavirus vaccine as a new way of preventing cervical cancer: a dream or the future? *Annals of Oncology* 15:197-200, 2004
11. Montero JA, Larkin JA, Huston SH, Toney J.(1997) Examining the complex relationship of human papillomavirus to cervical dysplasia and carcinoma. *Medscape Womens Health*, Jun; 2(6)
12. Munoz N, Bosch X, Kaldor JM. (1987): Does human papillomavirus cause cervical cancer? The state of epidemiological evidence. *Br J Cancer* 57:1-5.
13. Richard M. De May.(1996): The Pap Smear; in: *The Art and Science of Cytopathology, Exfoliative Cytology*, ASCP Press, Chicago, pp64.
14. Swygart C.(1997): Human papillomavirus: disease and laboratory diagnosis. *Br J Biomed sci*, Dec; 54(4) 299-303.
15. Syrjanen S.(1995):New diagnostic kits: Comparative aspects of sensitivity and specificity. In: *Challenges of Modern medicine. Papillomavirus in human pathology*. Ares-Serono Symposia Publications. Ed. By J Monsonogo, vol.9,pp 515-21.
16. Uberti-Foppa C, Origoni M, Maillard M, Ferrari D, Ciuffreda D, Mastroilli E, Lazzarin A, Lillo F. Evaluation of the detection of human papillomavirus genotypes in cervical specimens by Hybrid capture as screening for precancerous lesion in HIV positive women. *J Med Virol*, Oct, 6(2): 133-7,1998
17. Zehbe I, Strand A, Chua KL, Wilander E.(1996): Cytological evaluation and molecular human papillomavirus test of cervical scrapings from women treated for condyloma. *Gynecol Obstet Invest*, 42:128-132.