

Piotr A. Knapp, Tomasz Zbroch, Paweł G. Knapp

Zakład Profilaktyki Chorób Nowotworowych Narządu Rodnego w Białymstoku

Instytut Matki i Dziecka w Warszawie

Dyrektor: prof. dr hab. n. med. W. Woźniak

Klinika Ginekologii Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. n. med. M. Szamatowicz

**ZAKAŻENIE WIRUSEM BRODAWCZAKA CZŁOWIEKA
– GŁÓWNY CZYNNIK INFEKCYJNY W TRANSFORMACJI
NOWOTWOROWEJ NABŁONKA SZYJKI MACICY****STRESZCZENIE**

Dotychczas, najistotniejszą rolę w zmniejszeniu śmiertelności z powodu raka szyjki macicy przypisuje się masowym badaniom cytologicznym. Postulowany udział HPV w karcinogenezie tego schorzenia i możliwości diagnostyczne otwierają nowe perspektywy we wczesnej diagnostyce zmian na szyjce macicy i wyłonieniu grup kobiet zagrożonych procesem nowotworowym. Nie opracowano jednak dotychczas ścisłych zaleceń dotyczących postępowania diagnostycznego w infekcji HPV, szczególnie w masowych badaniach profilaktycznych. Do chwili obecnej nie znane są również metody terapeutyczne pozwalające na przyczynowe leczenie zakażenia HPV.

W związku z powyższym istnieje potrzeba odpowiedzi na następujące pytania:

Czy oznaczanie zakażeń HPV w populacji jest uzasadnione medycznie i ekonomicznie? Jak postępować w określonych przypadkach klinicznych u kobiet z rozpoznaniem infekcji? Jak rysuje się przyszłość w leczeniu tych infekcji?

Słowa kluczowe: rak szyjki macicy, HPV, diagnostyka, postępowanie.

SUMMARY

In spite of increasing knowledge concerning cervical cancer and documented role of Human Papilloma Virus (HPV), as the major causing factor, there have been no changes in the epidemiological situation of that disease, especially in our country. The crucial impact on decrease in mortality in that carcinoma has been made by cytological screening. HPV involvement in the cervical neoplasia and new diagnostic methods give possibility for the early diagnosis of the cervical lesions and to form a group of women of higher risk of cervical cancer. Nevertheless, there are no strict recommendations concerning HPV diagnostic procedures especially in the mass screening programs. There are still not known therapeutic methods specifically for HPV infection treatment as well. Based on the above, questions arise if it is medically and financially justifiable to detect HPV infection? What is a clinical algorithm for the management of infected patient? And what is the future treatment?

Key words: cervical cancer, HPV, diagnosis, management.

Praca ma na celu przedstawienie obecnego stanu wiedzy dotyczącego zakażeń wirusem brodawczaka człowieka – HPV. Skupiono się głównie na zastosowaniu diagnostyki wirusologicznej w wyłonieniu kobiet zagrożonych procesem transfor-

macji nowotworowej na szyjce macicy, określeniu wartości predykcyjnej uzyskanych wyników, a także określeniu kierunków postępowania eliminującego zakażenie HPV.

Rak szyjki macicy określane jest ciągle mianem jednego z najczęstszych nowotworów narządu rodnego (Polska – współczynnik stand. zachorowalności – 15,1/100 tys. na rok 1996) [1]. Dzieje się tak, pomimo funkcjonowania w wielu krajach masowych programów profilaktycznych. Wielokierunkowe badania epidemiologiczne, prowadzone w krajach europejskich na przestrzeni kilkudziesięciu lat, wykazały jednak obniżenie częstości występowania i zmniejszenie umieralności na to schorzenie. Wielu autorów uważa, że ma to prawdopodobnie związek, obok wspomnianych działań zapobiegawczych, ze ścisłym określeniem czynników ryzyka raka szyjki macicy, tj.: paleniem tytoniu, wczesną wiekowo inicjacją seksualną, promiskuityzmem, higieną partnerów, złymi warunkami socjoekonomicznymi, a przede wszystkim zakażeniami przenoszonymi drogą kontaktów płciowych [2, 3, 4].

W Polsce na przestrzeni ostatnich 30 lat nastąpiło zauważalne obniżenie zachorowalności na nowotwory szyjki macicy (ok. 33%), schorzenie to jednakże zajmuje ciągle jedno z czołowych miejsc w klasyfikacji epidemiologicznej. Znajduje to swoje odzwierciedlenie zarówno w wartości współczynnika zachorowalności (15,0/100 tys.), ustępując jedynie rakowi sutka, jak również we współczynniku umieralności (7,2/100 tys.), odpowiednio za rakiem sutka, płuc i żołądka. Wielkość ostatniego z wyżej wymienionych wskaźników lokuje Polskę na jednym z ostatnich miejsc w krajach europejskich, nie wykazując trendu czasowego [1].

Wysoki poziom zachorowalności obserwowany w ostatnim czasie szczególnie w grupie kobiet młodych (16% wzrost w populacji poniżej 35. roku życia) spowodował, iż w wielu krajach położono główny nacisk na aktywne działania prewencyjne, często nie zaprzestając kontynuacji równocześnie profilaktyki biernej. Równolegle prowadzono działania o charakterze prewencji pierwotnej, zwracając szczególną uwagę na leczenie wszelkich stanów stwarzających ryzyko wystąpienia nowotworu [2, 5]. Opisujący wysoki poziom zachorowalności w grupie kobiet młodych narzucali takie dwukierunkowe postępowanie. Ocenia się, że w grupie tej wiele kobiet dotkniętych jest nie tylko nowotworami szyjki macicy w postaci przedinwazyjnej czy mikroinwazyjnej, ale nawet zaawansowanej – o wysokim stopniu złośliwości (ok. 37% wszystkich pacjentek z rakiem szyjki) [6, 7]. W strategii wielu programów przesiewowych, fakt ten spowodował obniżenie dolnej granicy wieku badanych kobiet poniżej 30. roku życia i włączenie ich do schematu działań profilaktycznych. Wielu autorów uważa, iż w grupie kobiet młodych stany przednowotworowe i tzw. raki przedkliniczne wielokrotnie nie były rozpoznawane i mogły przechodzić w manifestujące się nowotwory wyższych stopni zaawansowania klinicznego. Obniżenie dolnej granicy wieku stało się więc próbą wyeliminowania „swoistego rezerwuaru” stanów przednowotworowych [6, 8, 9].

Gwałtowny postęp, jaki dokonał się na przestrzeni ostatnich lat w poznaniu histomorfologii zmian nowotworowych szyjki macicy, spowodował, iż stało się

możliwe wykrywanie zmian zlokalizowanych w śródbłonku, nie przechodzących przez błonę podstawną i nie wykazujących jeszcze cech inwazji. Było to punktem wyjścia do wysunięcia twierdzenia, że rak szyjki macicy jako pierwszy i jedyny rak narządowy człowieka, może być zaliczany do schorzeń, których można uniknąć. Warunkiem stwierdzenia jest diagnostyka możliwie w najwcześniejszej fazie choroby. Słuszność takiego rozumowania potwierdziły, uzyskane w różnych krajach, wyniki masowych działań profilaktycznych [10]. Z tego powodu główne kierunki zainteresowań objęły stany przednowotworowe, które określono mianem CIN (Cervical Intraepithelial Neoplasia) bądź SIL (Squamous Intraepithelial Lesion). Do wzrostu wykrywalności zmian neoplastycznych jeszcze w fazie przedinwazyjnej, przyczyniło się wprowadzenie według sugestii Richarta [11] z jednej strony cytologii jako głównego przesiewowego testu diagnostycznego, z drugiej zaś kolposkopii (standardowej + rozszerzonej) weryfikowanych celowaną biopsją tkankową. W rezultacie postępowanie takie umożliwiło podjęcie prób zaniechania terapii radykalnej na rzecz metod oszczędzających, mających szczególne znaczenie u kobiet młodych z nie zakończonym procesem rozrodczym [12, 8].

Powyższe działania diagnostyczno-terapeutyczne odbiegały jednak w swoich założeniach od poszukiwania i eliminacji czynnika sprawczego, indukującego karcinogenezę w nabłonku szyjki macicy. Dane kliniczno-epidemiologiczne, sugerujące iż występowanie drobnoustroju chorobotwórczego zaburzającego prawidłową biocenozę pochwy jest odpowiedzialne za wystąpienie raka szyjki macicy, opublikował już w 1842 roku Regioni-Stern. W kolejnych dziesięcioleciach wysuwane były różne teorie i przypuszczenia dotyczące czynnika infekcyjnego (*Treponema*, *Neisseria*, *Chlamydia*, *Trichomonas*, HSV, CMV) indukującego karcinogenezę na szyjce macicy. Koniec XX wieku skupił uwagę wszystkich na wirusach brodawczaka człowieka (HPV – Human Papilloma Virus) [5, 13]. W 1972 roku Zur Hausen, a w 1976 Meisels i Fortin zasugerowali, iż czynnikiem karcinogenym przenoszonym drogą płciową może być wirus brodawczaka człowieka. Zapoczątkowało to serię badań, w wyniku których teza o onkogennym potencjale wirusa znalazła potwierdzenie w doniesieniach o charakterze klinicznym, epidemiologicznym oraz laboratoryjnym [2, 3, 14, 15]. Wprowadzenie metod inżynierii genetycznej do badań nad HPV wykazało istnienie wielu typów wirusa. Dotychczas zidentyfikowano blisko 100 ludzkich wirusów *Papilloma*, dzieląc je również na podtypy [16]. Stwierdzono, iż blisko 30 z nich odpowiada za infekcję w obrębie narządu rodnego. Ze zmian patologicznych w narządach płciowych wyizolowano m.in. typy: 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 42 do 45, 51, 52, 56, 58, 69. W opinii wielu autorów różne wirusy, w różnym stopniu, zwiększają ryzyko wystąpienia dysplazji i raka inwazyjnego. Powszechnie uważa się, że zakażenie typami: 16, 18, 45, 46, 56, 58, 69 wiąże się ze znacznie większym zagrożeniem występowania zaawansowanych zmian dysplastycznych szyjki macicy, a w tym i nowotworu inwazyjnego. Typy: 31, 33, 35, 51 i 52 zidentyfikowano jako niosące zagrożenie umiarkowanego stopnia. Wirusy HPV typu: 6, 11, 42, 43 i 44 uznawane są za ni-

skoonkogenne, czy też o nikłym powiązaniu ze zmianami dysplastycznymi lub chorobą nowotworową [12, 6, 5].

Wirusy brodawczaka człowieka są nabłonkowotropowymi, pozbawionymi osłonki wirusami, należącymi do rodzaju *Papillomavirus*, rodziny *Papillomaviridae*. Zawierają materiał genetyczny w postaci kolistego kwasu dezoksyrybonukleinowego (DNA), o długości ok. 8000 par zasad, tworzącego 72 kapsomery o średnicy 55 nm i masie cząsteczkowej $5,2 \times 10^6$ (Da) daltonów [17]. Genom wirusa tworzą trzy regiony. Region wczesny (E) zawiera geny kodujące białka istotne we wczesnych fazach cyklu życiowego wirusa. W obrębie fragmentów wczesnych istnieją tzw. otwarte ramki odczytu (ORFs – Open Reading Frames) kierujące replikacją wirusowego DNA. Białka E1, E2, E4, E5 spełniają funkcje regulacyjne, represorowe, cytopatyczne, proliferacyjne i immunomodulujące. Fragmenty E6 i E7 biorą udział w transformacji komórkowej. Region późny (L) zawiera geny kodujące białka strukturalne kapsomerów wirusa (L1, L2), ulegające ekspresji w dojrzałych komórkach i odpowiedzialne za swoistość wirusa. Region kontrolny (LCR – Long Control Region) zawiera sekwencje sygnałowe, uczestniczące w replikacji wirusowego DNA i w kontroli ekspresji wirusowego genomu [17].

Pierwotnie wiązano występowanie wirusa brodawczaka wyłącznie ze zmianami morfologicznymi o charakterze brodawek, czy kłykcin wywodzących się z nabłonka płaskiego rogowaciejącego skóry (brodawka zwykła, brodawka płaska) lub błon śluzowych okolicy odbytu i narządów płciowych (kłykcina kończysta). W późniejszym okresie potwierdzono obecność HPV w łagodnych i złośliwych zmianach innych tkanek i narządów m.in.: układu moczowego, prostaty, krtani, płuc, przełyku, jamy ustnej czy wreszcie szyjki macicy [5, 4, 17, 18].

Zakażenie wirusem brodawczaka zaliczane jest do schorzeń przenoszonych drogą płciową, niemniej jednak pośrednia transmisja ma również istotne znaczenie. Niestety, niewiele wiadomo obecnie o naturalnym przebiegu zakażenia wirusem *Papilloma*. Niektórzy autorzy wiążący proces nowotworzenia z infekcją wirusową zakładają, że rozwój dysplazji jest na tyle długi, iż konieczne jest przejście przez fazę zakażenia utajonego [15]. Niewykluczone jest również, że objawowa infekcja nie musi mieć miejsca, by promować karcinogenezę, a istotną patogenetycznie obecność wirusa można jedynie wykryć przy użyciu metod uwidaczniających wirion w komórce bądź izolując wirusowe DNA z genomu.

Rola zakażenia HPV w patogenezie raka szyjki macicy stanowi problem podnoszony i opisywany w literaturze w ostatnich latach wielokrotnie. Wyniki badań na całym świecie potwierdzają związek epidemiologiczny pomiędzy infekcją wirusową brodawczakiem człowieka, a śródnabłonkowymi zmianami o charakterze neoplazji różnego stopnia (CIN 1–3), w których wirus jest stwierdzany w 69% do blisko 100% [2, 15]. Zakażenie HPV zostało również potwierdzone w 85–100% raków płaskonabłonkowych i 67–95% gruczolakoraków szyjki macicy [15, 6, 4]. Dowodem na udział tej grupy wirusów w powstawaniu raka szyjki macicy miałyby być zależność pomiędzy występowaniem typów HPV określa-

nych mianem wysokoonkogennych, a zmianami dysplastycznymi o wyższym stopniu zaawansowania (HG–SIL), stanowiącymi bezpośrednie stadium prekursorowe raka inwazyjnego.

Rolę infekcji wirusowej wydaje się również potwierdzać z jednej strony integracja genomu wysokoonkogennych wirusów brodawczaka z DNA chromosomalnym komórek nabłonkowych, a z drugiej strony obecność poza jądrem materiału genetycznego HPV o niskim potencjale onkogennym i całkowity brak wirusa w komórkach zmienionych odczynowo.

Doświadczalnym potwierdzeniem znaczenia infekcji HPV w indukcji procesu nowotworowego jest rola produktów ekspresji genów wirusowych E6 i E7 w dezaktywacji białek regulatorowych p53 i RBp, co ma miejsce poprzez aktywację szeregu białek enzymatycznych, m.in.: MCK, mdm-2, GADD45, WAF1/CIP1, PCNA czy E2F. Wpływ na wyżej wymienione białka regulatorowe mają tylko onkoproteiny E6 i E7 wysokoonkogennych typów HPV, czego efektem jest genetyczna niestabilność komórki mająca wyraz w nadmiernej proliferacji, zaburzonym procesie różnicowania, w utracie poprawności przebiegu mechanizmów naprawczych i apoptotycznych [18].

Biorąc pod uwagę HPV zależną karcinogenezę, należy zwrócić uwagę, iż zakażenie wirusem *Papilloma* jest jednym z powszechniejszych w populacji kobiet aktywnych płciowo. Interesujące jest, iż największy odsetek zakażeń występuje w trzeciej dekadzie życia i waha się w granicach ± 5 lat, w zależności głównie od wieku inicjacji seksualnej wśród kobiet danej strefy społeczno-kulturowej. Niezmiernie istotny jest fakt, że tylko 1% kobiet ma objawy kliniczne zakażenia HPV, a u 4% doszukać się można objawów subklinicznych. Potwierdzenie zakażenia aktualnego bądź przebytego można uzyskać u większości kobiet przy użyciu metod molekularnych i diagnostyki immunologicznej. Większość zakażeń HPV ulega całkowitej, spontanicznej remisji, która jest powiązana ze stopniem towarzyszącej dysplazji komórkowej jak i zależna od czasu trwania samego zakażenia [19]. Odsetek remisji oceniany jest na 80–90%, jednakże, z punktu widzenia karcinogenezy w nabłonku szyjki macicy, zakażenie HPV o charakterze przewlekłym, trwające kilkanaście lat i utrzymujące się po 30.–40. roku życia, jest najbardziej istotne. Przyjmując za niemal pewne, iż powstanie inwazyjnego raka szyjki macicy trwa kilkanaście lat, rysuje się kolejna zależność pomiędzy wirusami *Papilloma* a rakiem szyjki, w postaci kilkunastoletniego przesunięcia w czasie szczytu zakażeń w danej populacji w stosunku do szczytu zachorowań na ten nowotwór [5, 18].

Choć zakażenie wirusowe może być przenoszone drogą pośrednią, transmisja na drodze kontaktów seksualnych ma tu największe znaczenie, co potwierdza rozmiar infekcji w populacji kobiet młodych, a więc najaktywniejszych seksualnie. W eliminacji zakażenia HPV w miarę upływu czasu większe znaczenie ma jednak nie ograniczenie liczby partnerów, czy zmiana zachowań i stylu życia, a nabycie własnej efektywnej odpowiedzi immunologicznej [19, 20]. Z powyższego powo-

du wszystkie czynniki dodatkowe o działaniu immunosupresyjnym, począwszy od nabytego zespołu braku odporności w przebiegu zakażenia HIV, leczenia immunosupresyjnego czy wreszcie fizjologicznego w przebiegu ciąży, mogą spowodować, iż zakażenie to przejdzie w formę przewlekłą [19]. Pośrednią rolę w przełamaniu obrony przeciwwirusowej mogą mieć również takie czynniki ryzyka raka szyjki macicy powiązane z HPV, jak: palenie tytoniu, liczba porodów, status socjoekonomiczny czy dieta [3]. Nie można również zapominać o nakładających się infekcjach, szczególnie wirusem opryszczki płciowej oraz zakażeniu *Chlamydia trachomatis*. To ostatnie – według wielu najnowszych doniesień – stanowić może istotny i niezależny czynnik w transformacji nowotworowej nabłonka szyjki macicy [21, 14]. Eliminacja zakażenia wirusem brodawczaka człowieka w przeważającym odsetku jest wynikiem efektywnej odpowiedzi immunologicznej. Ze względu na niewielką ekspresję antygenów wirusowych rola odpowiedzi humoralnej jest marginalna. Cały ciężar spoczywa na aktywacji odpowiedzi komórkowej z miejscowym nagromadzeniem komórek prezentujących antygen – głównie Langerhansa, zwiększeniem ilości i aktywności limfocytów T CD4 (cluster differentiation), CD8, komórek NK (natural killer) i makrofagów [30]. Potwierdzony został również związek przetrwałej infekcji HPV i progresji do raka szyjki macicy zwiększoną ekspresją DQw3, DR15, DR7 lub zmniejszoną DR13, antygenów należących do klasy II HLA (human leukocyte antigen). W większości zakażonych nabłonek raka szyjki macicy stwierdza się dodatkowo zmniejszenie ekspresji przynajmniej jednego z antygenów HLA II klasy oraz profil cytokin odpowiadający limfocytom Th2. Pomimo ogólnie przyjmowanego faktu o istotności odpowiedzi komórkowej w HPV zależnej karcinogenezie, mechanizmy eliminacji wirusa nie zostały w pełni poznane i udokumentowane [19].

Przejęcie zakażenia w formę przetrwałą jak i progresja w raka inwazyjnego może również wynikać z uwarunkowania genetycznego, na co wskazują badania Storey i wsp. [22]. Autorzy ci donieśli o obecności czynnika genetycznego predysponującego do rozwoju raka szyjki macicy zależnego od infekcji HPV. Wykazali obecność dwóch polimorficznych form prawidłowego białka p53 – pierwszej posiadającej w pozycji 72 argininę i drugiej zawierającej w tym samym miejscu prolinę. Białka p53 – kluczowe w przyjmowanym modelu karcinogenezy – w wyniku infekcji wirusem brodawczaka człowieka w hodowli komórkowej nie podlegają w sposób jednakowy destrukcji pod wpływem onkoproteiny E6. Wyniki powyższej pracy wskazują, że białko E6 wirusa HPV16 i HPV18 w sposób nieporównywalnie bardziej efektywnie niszczy prawidłowe białko p53 zawierające argininę niż tzw. „prolinowe” p53. Praca Storey’a i wsp. dowodzi, iż model karcinogenezy związany z HPV zależny jest od dodatkowego czynnika ryzyka, jakim jest genetycznie uwarunkowana pierwszorzędowa struktura białka p53. Oceniane jest to jako siedmiokrotne zwiększenie ryzyka rozwoju raka szyjki macicy w przypadku allelu homozygotycznego kodującego argininową formę antygenogenu p53 w porównaniu z formą prolinową.

Diagnostyka zakażenia HPV opiera się głównie na metodach molekularnych, które można podzielić na przebiegające z powieleniem DNA badanej próby i wykorzystujące istniejący materiał genetyczny wirusa. Do pierwszej grupy należy technika PCR (Polimerase Chain Reaction) – polimerazowej reakcji łańcuchowej, dysponująca najwyższą czułością, możliwością określenia typu wirusa, choć jednocześnie wysoce restrykcyjna metodologicznie i trudna do odniesienia międzylaboratoryjnego. Spośród technik należących do grupy drugiej na uwagę zasługuje hybrydyzacja *in situ* pozwalająca na identyfikację wirusa w preparatach cytologicznych i histologicznych choć dysponująca mniejszą czułością i bardziej pracochłonna, a także odmiana Dot Blot – Hybrid Capture szybka, wysoce czuła, z możliwością oceny półilościowej. Nie został jednak do chwili obecnej określony standard laboratoryjny diagnostyki wirusów *Papilloma* [17].

Przedstawiane powyżej dane wydają się potwierdzać niezbicie rolę zakażenia HPV w karcinogenezie raka szyjki macicy. Nie zostało jednak dotychczas ustalone miejsce diagnostyki wirusologicznej w algorytmie postępowania. Oznaczanie klinicznego DNA HPV, jak się wydaje, posiada dużo większą wartość predykcyjną w porównaniu z pośrednią diagnostyką zmian na szyjce w badaniu klinicznym czy z obrazem subklinicznym ocenianym w badaniu cytologicznym i kolposkopowym. Pierwszym zastosowaniem oznaczania DNA HPV była weryfikacja rozpoznań cytologicznych. Zgodność w przypadku rozpoznań LG–SIL (low grade squamous intraepithelial lesion) oceniana była na 67% [6, 8], potwierdzając teorię o niskiej swoistości i stosunkowo wysokim odsetku rozpoznań fałszywie dodatnich, stawianych na podstawie zmian cytopatologicznych. Zastosowanie podwójnej diagnostyki cytologiczno-wirusologicznej zwiększało czułość badania 93–100%. Próba bardziej precyzyjnego wykorzystania metod molekularnych jest zastosowanie oznaczania DNA HPV jako wtórnej metody diagnostycznej tylko w grupie ASCUS/AGCUS (Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/Atypical Glandular Cells of Undetermined Significance), a więc rozpoznań, w których stwierdza się atypowe komórki nabłonka płaskiego lub gruczołowego o trudnym do określenia znaczeniu prognostycznym. Przyjmując z kolei w pełni teorię wirusową karcinogenezy, istnieje ciągła pokusa o zastąpienie dotychczasowych metod diagnostyki przesiewowej opartej na cytologii złączeniowej diagnostyką HPV. W niezależnych badaniach porównujących metodę Hybrid Capture i cytologię stwierdzono, iż czułość tej drugiej ustępuje, ale tylko w niewielkim stopniu [23]. Wydaje się więc uzasadniona hipoteza o korzyściach płynących z pierwotnego wyodrębnienia nieprawidłowości na podstawie testu wirusologicznego, a następnie wtórnej, wnikliwej ocenie cytologicznej przeprowadzonej przez wykwalifikowanego cytopatologa. Dodatkowym faktem przemawiającym za cytologiczną weryfikacją tylko wyników HPV pozytywnych jest niewielkie zwiększenie całkowitego odsetka rozpoznań zmian dysplastycznych – tylko o 1–2%, w przypadku wtórnej oceny cytologicznej całej populacji. Niemniej, jak się ocenia, również w tak skonstruowanym algorytmie postępowania diagnostycznego nie wykryto 2–3

zmian SIL na tysiąc kobiet z populacji pozornie zdrowej, poddanej badaniu przesiewowemu [23].

Opierając się o hipotezę karcinogenezy z towarzyszącym zakażeniem wirusem brodawczaka człowieka w długotrwałym procesie, Walboomers i wsp. [23] stwierdzili, iż medycznie i ekonomicznie uzasadnione jest odstępianie od ponownych badań diagnostycznych w przypadku ujemnego testu DNA HPV i prawidłowej cytologii nawet na okres 10 lat. Wiąże się to z kolejnym problemem, jakim jest wpływ oceny zakażenia HPV na dalsze postępowanie kliniczne z pacjentką i rokowanie. Dotychczas, większość algorytmów przyjmowała, iż trzy prawidłowe wyniki badania cytologicznego w 6, 12. i 24. miesiącu po leczeniu zmian o charakterze HG–SIL pozwala na ponowne włączenie kobiety do programu przesiewowego. Okazuje się jednak, że oznaczanie HPV ma znacznie większą wartość predykcyjną w porównaniu z cytologią szczególnie w okresie bezpośrednio po leczeniu. Powinno to obligować do ścisłego śledzenia losów i monitorowania pacjentki [24]. Należy tu podkreślić, że klinicznie znaczenie ma tylko określenie zakażenia HPV typami wysokoonkogennymi. Obecność typów niskoonkogennych przy braku zmian cytomorfologicznych pozwala na przeprowadzanie badań w okresach trzyletnich, a więc tak jak ma to miejsce w populacji ogólnej. Analogicznie ujemny wynik badania DNA HPV typów wysokoonkogennych do 6 miesięcy po leczeniu pozwala na wydłużenie badań do okresów trzyletnich, jednak dotychczas nie jest postępowaniem bezwarunkowo przestrzegającym. Wiąże się to z faktem, że pomimo iż wynik badania cytologicznego będzie w ok. 15% fałszywie ujemny w stosunku do zmian wywołanych zakażeniem HPV, to istnieje niewielki odsetek zmian HG–SIL i raków, w których nie jesteśmy w stanie potwierdzić DNA HPV. Tym samym w założeniu takiego postępowania diagnostycznego możemy nie wykryć nawet do 5–7% zmian. Przyjęcie więc powyższego algorytmu budzić będzie obiekcje natury moralno-prawnej. Z drugiej strony, jak oceniają niektórzy w aktualnym modelu postępowania przesiewowego, nie wykrywa się nawet do 1/3 dysplazji wysokiego stopnia [10]. Opierając się na założeniu, iż w badaniach przesiewowych należy użyć najlepszą z metod (w jak największej populacji badanej i w możliwie najdłuższych odstępach czasu, biorąc pod uwagę również ekonomiczne uzasadnienia), oznaczanie HPV stanowi dużo bardziej obiecującą alternatywę postępowania diagnostycznego.

Jednym z ważniejszych ujemnych elementów diagnostyki HPV jest pozytywna wartość predykcyjna testu, wynikająca z faktu, iż większość stwierdzanych infekcji ulegnie samoistnej remisji nawet poza grupą młodych kobiet. Istotnym czynnikiem wspomagającym byłby parametr odgraniczający zakażenie przewlekłe, co pozwoliłoby na wyselekcjonowanie grupy kobiet bezpośrednio zagrożonych progresją zmiany i rakiem szyjki macicy.

Możliwość oznaczania HPV bezwarunkowo wnosi istotne światło w diagnostykę zmian na szyjce macicy. Czas rozpoczęcia badań powinien zależeć głównie od zachowań seksualnych w danej populacji kobiet. Na podstawie dostępnych danych można wnioskować, że dodatni wynik oznaczenia HPV ma największą

wartość w rokowaniu w populacji między 30. a 45. rokiem życia oraz u pacjentek z już rozpoznanymi zmianami w badaniu cytologicznym [9]. Oznaczenie wysoko-koonkogennych typów HPV, jeżeli nie będzie stanowiło alternatywy w bliskiej przyszłości dla badania cytologicznego, to z pewnością będzie uzupełnieniem pozwalającym na uzyskanie najwyższej czułości i wykrycie większej liczby zmian dysplastycznych o wysokim stopniu zaawansowania oraz raków inwazyjnych. Zastosowanie oznaczenia HPV w grupie kobiet młodych i uzyskanie wyniku ujemnego może stanowić warunek pewnego zakwalifikowania pacjentki do grupy zdrowych i odstąpienia od wykonywania testów diagnostycznych na przestrzeni dłuższego okresu. Dodatni wynik oznaczenia HPV winien zmobilizować zarówno pacjentkę, jak i prowadzącego lekarza do racjonalnego monitorowania zakażenia i ewentualnych zmian cytomorfologicznych nabłonka szyjki macicy. Głównym powodem takiego postępowania jest dotychczasowy brak swoistego leczenia przyczynowego zakażenia HPV w obrębie szyjki macicy. Łatwiejsze w postępowaniu leczniczym są HPV zależne zmiany umiejscowione zewnętrznie, przy zastosowaniu miejscowym takich preparatów, jak: podofilina, widarabina, imiquimod. W leczeniu ogólnoustrojowym największe znaczenie ma stymulacja układu immunologicznego poprzez retinoidy, witaminy A, C [25, 20]. W próbach klinicznych ocenia się skuteczność ogólnoustrojowego podawania ultrafiltratów leukocytarnych [26]. Zastosowanie miejscowe i ogólnoustrojowe interferonów alfa, beta i gamma nie przyniosło oczekiwanych nadziei.

Aktualnie największe znaczenie i obietnice pokłada się w stworzeniu szczepionek o charakterze zarówno leczniczym, jak i profilaktycznym [27]. Pierwsza miałyby bazować na cząstkach wirusowych VLP (Virus Like Particle) pochodzących głównie z białek kapsydowych HPV (L). Jej zastosowanie powinno pozwolić na obniżenie zachorowań na raka inwazyjnego szyjki macicy do 44% [28]. Druga będzie mobilizowała własne komórki cytotoksyczne CTL (Cytotoxic T Lymphocytes) poprzez białko E7 wirusa, wykazujące najwyższą immunogenność [29]. Przejście jednak z fazy prób klinicznych do pełnej dostępności na rynku potrwa z pewnością dłuższy czas.

W przypadku obecności zakażenia HPV i równoczesnych zmian cytopatycznych na szyjce macicy zalecane jest zastosowanie jak najbardziej oszczędzających procedur terapeutycznych [12]. Należą do nich: krioterapia, pętla diatermiczna (LEEP), nóż elektryczny, czy laser tnący bądź waporyzacyjny. Atutem powyższych metod jest, poza likwidacją zmiany morfologicznej, również uaktywnienie lokalnej odpowiedzi immunologicznej poprzez uszkodzenie komórek. W następstwie dochodzi do zwiększenia ilości antygenów wirusowych dostępnych komórkom prezentującym antygen, a poprzez większą ich ekspresję na APC (Antigen Presenting Cell) do zwiększenia aktywacji komórkowych mechanizmów przeciwwirusowych i eliminacji komórek dysplastycznych [30, 19].

Przyjmując czynnik zakaźny – HPV za najistotniejszy w karcinogenezie zmian szyjki macicy, efektywne zapobieganie temu nowotworowi jest dzisiaj bliższe niż

kiedykolwiek. Jednak przed wprowadzeniem skutecznej metody prewencji tzw. pierwszej formy należy skupić się nad wprowadzaniem populacyjnych i aktywnych masowych badań przesiewowych, także z wykorzystaniem oznaczania wysokoonkogennych typów wirusa [31]. Niezbędne jest również polepszenie postępowania i ścisła kontrola pacjentek po leczeniu zmian dysplastycznych. Pytaniem pozostającym wciąż bez jasnej odpowiedzi jest sposób postępowania z kobietą zakażoną wysokoonkogennymi typami HPV, ale bez jakichkolwiek zmian w obrębie nabłonka szyjki macicy.

Piśmiennictwo

- [1] Zatoński W., Tyczyński J., Nowotwory złośliwe w Polsce w 1995. Warszawa 1998. Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie. 1–76.
- [2] Hildesheim A., Herrero R., Castle PE et al. HPV co-factors related to the development of cervical cancer: results from a population-based study in Costa Rica. *Br J Cancer* 2001; 84: 1219–1226.
- [3] Kjellberg L., Hallmans G., Ahren A. M. i wsp., Smoking, diet, pregnancy and oral contraceptive use as risk factors for cervical intraepithelial neoplasia in relation to human papillomavirus infection. *Br J Cancer* 2000; 82: 1332–1338.
- [4] Severson J., Evans T. Y., Lee P. i wsp., Human papillomavirus infections: epidemiology, pathogenesis and therapy. *J Cutan Med. Surg* 2001; 5: 43–60.
- [5] Mougín C., Dalstein V., Pretet J. L. i wsp., Epidemiology of cervical papillomavirus infection. *Recent Knowledge. Presse Med.* 2001; 30: 1017–1023.
- [6] Moscicki A. B., Hills N., Shiboski S. i wsp., Risk for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. *JAMA* 2001; 285: 2995–3002.
- [7] Woodman C. B., Collins S., Winter H. i wsp., Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* 2001; 357: 1931–1936.
- [8] Ponten J., Guo Z., Precancer of the human cervix. *Cancer Surv* 1998; 32: 201–229.
- [9] Tanaka H., Karube A., Tanaka T. i wsp., Much higher risk of premalignant and malignant cervical diseases in younger women positive for HPV16 than in older women positive for HPV16. *Microbiol Immunol* 2001; 45: 323–326.
- [10] Schneider V., Henry M. R., Jimenez-Ayala M. i wsp., Cervical cancer screening, screening errors and reporting. *Acta Cytol* 2001; 45: 493–498.
- [11] Richart R. M., A theory of cervical carcinogenesis. *Obstet Gynecol Surv* 1967; 24: 874.
- [12] Mitchell M. F. i wsp., A randomized clinical trial of cryotherapy, laser vaporization, and loop electrosurgical excision for treatment of squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Obstet Gynecol* 1998; 92: 737–744.
- [13] Tyring S. K., Human papillomavirus infections: epidemiology, pathogenesis and host immune response. *J Am Acad Dermatol* 2000; 43: S18–26.
- [14] Lehman M., Groh A., Rodel J. i wsp., Detection of Chlamydia trachomatis DNA in cervical samples with regard to infection by human papillomavirus. *J Infect* 1999; 38: 12–17.
- [15] Lehtinen M., Luukkaala T., Wallin K. i wsp., Human papillomavirus infection, risk for subsequent development of cervical neoplasia and associated population attributable fraction. *J Clin Virol* 2001; 22: 117–124.

- [16] Villa L. L., Sichero L., Rahal P. i wsp., Molecular variants of human papillomavirus type 16 and 18 preferentially associated with cervical neoplasia. *J Gen Virol* 2000; 12: 2959–2968.
- [17] Szkoda M. T., Litwińska B., Kańtoch M., Ludzkie wirusy Papilloma: budowa, pantogeneza, diagnostyka. *Post Mikrobiol* 1995; 1: 187–196.
- [18] Wolf J. K., Ramirez P. T., The molecular biology of cervical cancer. *Cancer Invest* 2001; 19: 621–629.
- [19] Konya J., Dillner J., Immunity to oncogenic human papillomaviruses. *Adv Cancer Res* 2001; 82: 205–238.
- [20] Riethmuller D., Seilles E., Immunity of the female genital tract mucosa and mechanisms of papillomavirus evasion. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 2000; 29: 729–740.
- [21] Koskela P., Anttila T., Bjorge T. i wsp., Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer. *Int J Cancer* 2000; 85: 35–39.
- [22] Storey A., Thomas M., Kalita A. i wsp., Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. *Nature* 1998; 393: 229–234.
- [23] Meijer C. J., Walboomers J. M., Cervical cytology after 2000: where to go? *J Clin Pathol* 2000; 53: 535–538.
- [24] Nagai Y., Maehama T., Asato T. i wsp., Persistence of human papillomavirus infection after therapeutic conization for CIN 3: is it an alarm for disease recurrence? *Gynecol Oncol* 2000; 79: 294–299.
- [25] Ho GY, Palan P. R., Basu J. i wsp., Viral characteristic of human papillomavirus infection and antioxidant levels as risk factors for cervical dysplasia. *Int J Cancer* 1998; 78: 594–599.
- [26] Spitzbart H., Hoyme U. B., Immunotherapy of gynaecological high-risk human papilloma virus infection with human leukocyte ultrafiltrate. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2000; 8: 120–123.
- [27] Imm S. S., Monk B. J., Villarreal L. P., Prevention of cervical cancer with vaccines. *Curr Oncol Rep* 2001; 3: 322–328.
- [28] Schiller J. T., Hideshein A., Developing HPV virus-like particle vaccines to prevent cervical cancer: a progress report. *J Clin Virol* 2000; 19: 67–74.
- [29] Ling M., Kanayama M., Roden R. i wsp., Preventive and therapeutic vaccines for human papillomavirus-associated cervical cancers. *J Biomed Sci* 2000; 7: 341–356.
- [30] Bontkes H. J., de Gruijl T. D., van den Muysenberg A. J. i wsp., Human papillomavirus type 16 E6/E7 – specific cytotoxic T lymphocytes in women with cervical neoplasia. *Int J Cancer* 2000; 88: 92–98.
- [31] Brown A. D., Raab S. S., Suba E. J. i wsp., Cost-effectiveness studies on cervical cancer. *Acta Cytol* 2001; 46: 509–514.