



BioGenetika

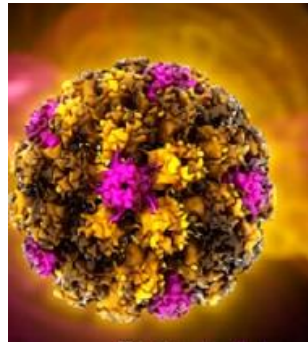
HPV



HPV

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας αποτελεί τον τρίτο πιο κοινό αιτιολογικό παράγοντα καρκίνου στις γυναίκες παγκοσμίως, με περισσότερες από 530.000 νέες περιπτώσεις ετησίως. Η θνησιμότητα του καρκίνου του τραχήλου φτάνει τα 275.000 περιστατικά το χρόνο, εκ των οποίων το 75% αφορά τις αναπτυσσόμενες χώρες. Κύριο αιτιολογικό παράγοντα για την ανάπτυξη προκαρκινικών αλλοιώσεων καθώς και της ανάπτυξης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας αποτελεί η μόλυνση από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV).

Ο HPV ανήκει στην οικογένεια των Papillomaviridae. Πρόκειται για ιούς με δίκλωνο κυκλικό DNA που χαρακτηρίζονται από την έλλειψη εξωτερικού περιβλήματος οι οποίοι προσβάλλουν τα κύτταρα της βασικής στιβάδας του επιθηλίου και σχετίζονται με την ανάπτυξη ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων.



Ενοχοποιούνται για την πρόκληση βλαβών που μπορεί να κυμαίνονται από κοινά θηλώματα μέχρι καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και καρκίνο του πέους.

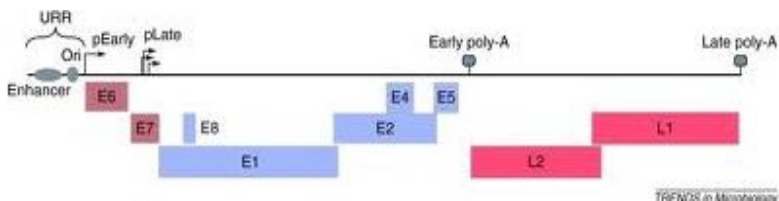
Η λοίμωξη με κάποιον τύπο HPV είναι πάρα πολύ συνηθισμένη. Περίπου το 80% των γυναικών και το 50% των ανδρών που είχαν έστω και μία σεξουαλική επαφή στη ζωή τους, υπολογίζεται πως θα προσβληθούν σε κάποια στιγμή της ζωής τους από κάποιο τύπο HPV. Υπολογίζεται ότι των ~70% των



σεξουαλικά ενεργών ενηλίκων μολύνονται κατά την διάρκεια της ζωής τους από τον HPV.

Οργάνωση του γενώματος των papilloma ιών

Όλοι οι papilloma ιοί περιέχουν ένα δίκλωνο, κυκλικό μόριο DNA μεγέθους περίπου 8kb, το οποίο αντιγράφεται ως εξωχρωμοσωμικό πλασμίδιο στον πυρήνα των μολυσμένων κυττάρων. Το ιικό DNA είναι συνδεδεμένο με πρωτεΐνες που μοιάζουν με ιστόνες και περιβάλλεται από 72 καψομερή. Το γένωμα των papilloma ιών αποτελείται από 8 βασικά ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (ORFs), τα οποία εκφράζονται από πολυκιστρονικά mRNAs που μεταγράφονται από έναν κλώνο DNA, και μπορεί να διαχωριστεί σε 3 βασικές περιοχές βάσει των λειτουργικών δραστηριοτήτων: πρώιμη (E= Early region), όψιμη(L=late region) και μία περιοχή ελέγχου LCR ή URR (Upstream regulatory region). Οι 3 αυτές περιοχές σε όλους τους papilloma ιούς χωρίζονται από 2 θέσεις πολυαδενυλίωσης (pA): την πρώιμη(Ae) και την όψιμη (AL).



Η πρώιμη περιοχή του γενώματος των papilloma ιών καταλαμβάνει πάνω από 50% του ιικού γενώματος. Περιλαμβάνει 6 ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (E1,E2,E4,E5,E6 και E7) που κωδικοποιούν για τις αντίστοιχες ιικές ρυθμιστικές πρωτεΐνες, οι οποίες επηρεάζουν την αντιγραφή, μεταγραφή και μετάφραση του



DNA των μολυσμένων κυττάρων. Η όψιμη περιοχή όλων των papilloma ιών, που καταλαμβάνει περίπου το 40% του ιικού γενώματος, βρίσκεται καθοδικά της πρώιμης περιοχής. Περιλαμβάνει τα L1 και L2 ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης, τα οποία κωδικοποιούν αντίστοιχα τις L1 και L2 όψιμες δομικές πρωτεΐνες που σχηματίζουν το καψίδιο του ιού. Τέλος η ρυθμιστική περιοχή LCR, ένα τμήμα περίπου 850 bp, δεν περιέχει ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης αλλά περιέχει τη θέση έναρξης της αντιγραφής καθώς επίσης πολλαπλές θέσεις πρόσδεσης μεταγραφικών παραγόντων που είναι απαραίτητοι στη ρύθμιση της μεταγραφής από τους πρώιμους και όψιμους υποκινητές του ιού.

Ταξινόμηση των HPV

Μέχρι σήμερα έχουν χαρακτηριστεί περισσότεροι από 150 HPV γενότυποι ενώ περίπου 40 από αυτούς έχουν συσχετιστεί με κακοήθειες του ουρογεννητικού σωλήνα.

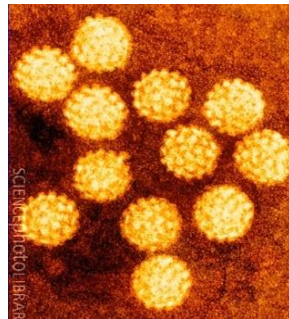
Οι HPV μπορούν γενικά να κατηγοριοποιηθούν σε:

α) δερματικούς τύπους

β) τύπους που προσβάλλουν το επιθήλιο του βλεννογόνου

Οι δερματικοί τύποι βρίσκονται στο γενικό πληθυσμό και προκαλούν καλοήγη δερματικά θηλώματα, όπως το κοινό θήλωμα, το ακροχορδώδες θήλωμα και το επίπεδο θήλωμα.

Οι HPV τύποι που προσβάλλουν το επιθήλιο του βλεννογόνου μπορούν να προκαλέσουν αλλοιώσεις στον τράχηλο της μήτρας καθώς και στον



ανώτερο αναπνευστικό σωλήνα και τον οισοφάγο. Αποτελούν τον κύριο αιτιολογικό παράγοντα για την ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία και τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.

Οι HPV της τελευταίας κατηγορίας μπορούν να διαχωριστούν περαιτέρω σε τρεις χαρακτηριστικές ομάδες ανάλογα με την συσχέτισή τους με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.

- Ομάδα υψηλής επικινδυνότητας (High risk), τα μέλη της οποίας είναι συνδεδεμένα με την πρόκληση διηθητικού καρκίνου του ουρογεννητικού συστήματος. **Κύριοι τύποι υψηλής επικινδυνότητας: 16, 18, 31 και 45** (υπεύθυνοι περίπου για το 80% των περιπτώσεων καρκίνου του τραχήλου της μήτρας).
- Ομάδα ενδιάμεσης επικινδυνότητας (Middle risk), τα μέλη της οποίας μπορεί να ανευρίσκονται σε δυσπλασίες.
- Ομάδα χαμηλής επικινδυνότητας (Low risk), τα μέλη της οποίας σπάνια εντοπίζονται σε καρκίνο, σχετίζονται όμως συχνά με την πρόκληση θηλωμάτων. **Κυριότεροι τύποι χαμηλής επικινδυνότητας: 6 και 11** (υπεύθυνοι για το 90% των κονδυλωμάτων).

Ομάδα επικινδυνότητας	Τύπος HPV
Υψηλού κινδύνου (High risk)	HPV 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 55, 56, 58, 59, 68, 73, 82, 83
Ενδιαμέσου κινδύνου (Middle risk)	HPV 26, 53, 66
Χαμηλού κινδύνου (Low risk)	HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81



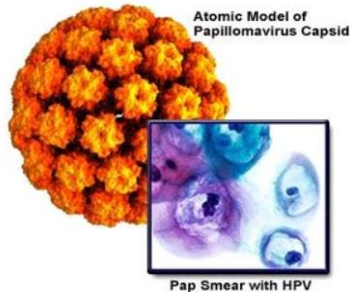
Μετάδοση του ιού – Συχνότητα

Η HPV λοίμωξη μεταδίδεται εύκολα. Προηγούμενη λοίμωξη δεν προστατεύει από επόμενες λοιμώξεις. Οι κύριοι τρόποι μετάδοσης του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων είναι μέσω:

- Της ολοκληρωμένης σεξουαλικής επαφής
- Της επαφής χεριών-γεννητικού συστήματος
- Σπανιότερα από τη μητέρα στο νεογνό

Μέθοδοι ανίχνευσης του HPV

Παρόλο που η εφαρμογή προληπτικών κυτταρολογικών εξετάσεων (Test Pap) ελάττωσε την εμφάνιση της νόσου στις Δυτικές χώρες, τα ποσοστά παραμένουν υψηλά. Το test PAP από μόνο του



δεν αποτελεί μια επαρκή μέθοδο ανίχνευσης, καθώς το τελευταίο μπορεί να ανιχνεύσει μόνο βλάβες του τραχηλικού επιθηλίου και όχι την αιτία της δημιουργίας του τραχηλικού καρκίνου.

Για το λόγο αυτό, η μοριακή ανίχνευση του HPV DNA καθώς και η γενετική τυποποίηση του ιού αποτελεί την πλέον σύγχρονη και αξιόπιστη διαγνωστική μέθοδο. Τα τελευταία χρόνια έχει εγκριθεί από την FDA/ΗΠΑ ως η βασική δοκιμασία μαζικού ελέγχου σε γυναίκες άνω των 30 ετών παράλληλα με το ετήσιο PAP-τεστ. Ο συνδυασμός τους ξεπερνά σε ευαισθησία το 96%, με μια αρνητική προβλεπτική αξία 100%.



Η επιτυχής μοριακή διάγνωση των HPV γονότυπων συμβάλλει στον αποτελεσματικότερο προληπτικό έλεγχο για τη νεοπλασία του τραχήλου της μήτρας και παρέχει με ακρίβεια τη δυνατότητα έγκυρης θεραπευτικής αντιμετώπισης. Επιπρόσθετα, αρνητικό αποτέλεσμα του μοριακού ελέγχου δίνει στις γυναίκες ανεξαρτήτου ηλικίας τη δυνατότητα εμβολιασμού έναντι των πιο επικίνδυνων τύπων του ιού HPV.

Ενδείξεις για HPV DNA test

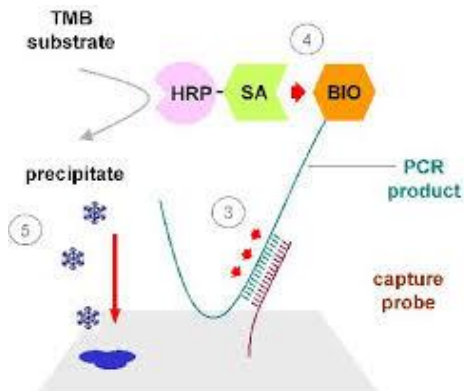
1. Έλεγχος ρουτίνας (σε συνδυασμό με το τεστ PAP) για γυναίκες >30 ετών. Σε περίπτωση απουσίας του DNA του ιού ή εύρεσης τύπων χαμηλού κινδύνου, μειώνει το χρόνο επανάληψης του τεστ PAP.
2. Περιπτώσεις ασθενών με χαμηλού βαθμού αλλοιώσεις (LSIL) στο τεστ PAP μετά από αρνητικό κολποσκοπικό έλεγχο.
3. Ασθενείς μετά από θεραπεία για υψηλού βαθμού αλλοιώσεις (HSIL), για πιθανή υπολειμματική νόσο και εκτίμηση κινδύνου υποτροπής.
4. Περιπτώσεις με ασυμφωνία μεταξύ κυτταρολογίας, κολποσκόπησης και βιοψίας.

Εργαστηριακή ανάλυση

Στη **βιοGenetika** δίνεται η δυνατότητα της ταυτόχρονης μοριακής ανίχνευσης 14 ή 32 τύπων του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV), με την εφαρμογή της PCR και ηλεκτροφόρηση των ενισχυμένων προϊόντων ή της τεχνολογίας των LCD-array αντίστοιχα.



Ειδικότερα το σύστημα LCD-array στηρίζεται στην ικανότητα τυποειδικών μονόκλωνων εκκινητών που είναι καθηλωμένοι στην επιφάνεια μιας μικροπλάκας (DNA-chip) να υβριδίζονται με τα προϊόντα της PCR και ακολούθως με μια αντίδραση ενζύμου-υποστρώματος να εντοπίζονται τα θετικά για κάθε υπότυπο δείγματα. Ο συνδυασμός 2 αντιδράσεων PCR (2 mix εκκινητών) εξασφαλίζει υψηλού βαθμού κάλυψη και ευαισθησία.



Οι τύποι που ανιχνεύονται αντιστοιχούν σε τύπους HPV υψηλής, ενδιάμεσης και χαμηλής επικινδυνότητας.

Ομάδα επικινδυνότητας	PCR - ηλεκτροφόρηση (Ανίχνευση 14 τύπων)	PCR - LCD array (Ανίχνευση 32 τύπων)
Υψηλού κινδύνου	HPV 16, 18, 31, 45, 33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 68	HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 62, 67, 68, 73, 83, 90, 91
Ενδιάμεσου κινδύνου		HPV 53, 66
Χαμηλού κινδύνου	HPV 6, 11, 42, 44	HPV 6, 11, 42, 44, 54, 61, 70, 72, 81, 84



Βιβλιογραφία:

- Clifford, G. M., et al. "Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis." *British journal of cancer* 89.1 (2003): 101.
- D. Hang, M. Jia, H. Ma, J. Zhou, X. Feng, Z. Lyu, et al. Independent prognostic role of human papillomavirus genotype in cervical cancer *BMC Infect. Dis.*, 17 (2017), p. 391
- De Villiers, Ethel-Michele. "Cross-roads in the classification of papillomaviruses." *Virology* 445.1-2 (2013): 2-10
- Doorbar J. 2006. Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clinical Science* 110:525–541
- Doorbar, John, et al. "The biology and life-cycle of human papillomaviruses." *Vaccine* 30 (2012): F55-F70.
- K. Cuschieri, D.H. Brewster, C. Graham, S. Nicoll, A.R. Williams, G.I. Murray, et al. Influence of HPV type on prognosis in patients diagnosed with invasive cervical cancer *Int. J. Cancer.*, 135 (2014), pp. 2721-2726
- Moscicki, Anna-Barbara, et al. "Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females." *Jama* 285.23 (2001): 2995
- Zur Hausen H. 2002. Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat. Rev. Cancer* 2:342-350 -3002.



