

Ilek. Aleksandra Anna Wielgoś

**Katedra i Klinika Dermatologiczna Uniwersyteckiego Centrum
Klinicznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Lidia Rudnicka**

**Ryzyko rozwoju nowotworów okolicy
ano-genitalnej i szyjki macicy w przebiegu zakażenia
wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV)
u pacjentek leczonych immunosupresyjnie.**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr hab. n. med. Bronisława Pietrzak
I Katedra I Klinika Położnictwa i Ginekologii
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Promotor pomocniczy: dr n. med. Mariusz Sikora
Narodowy Instytut Geriatrii, Reumatologii i Rehabilitacji



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2022

2. STRESZCZENIE

RYZIKO ROZWOJU NOWOTWORÓW OKOLICY ANOGENITALNEJ I SZYJKI MACICY W PRZEBIEGU ZAKAŻENIA WIRUSEM BRODAWCZAKA LUDZKIEGO (HPV) U PACJENTEK LECZONYCH IMMUNOSUPRESYJNIE

2.1. Wprowadzenie

Immunosupresja stanowi uznany niezależny czynnik ryzyka rozwoju nowotworów, w szczególności tych o etiologii wirusowej, takich jak rak szyjki macicy wywołany przez wirusy brodawczaka ludzkiego (*ang. human papillomavirus, HPV*). Szacuje się, że w populacji ogólnej zakażenie to występuje u 14,4-25% Polek. Opinie autorów na temat częstości występowania zakażenia wysokoonkogennymi typami HPV (*ang. high risk HPV, hrHPV*) są natomiast rozbieżne. Dane literaturowe wskazują jednak, że zakażenia hrHPV są u kobiet w immunosupresji istotnie częściej przetrwałe i szybciej prowadzą do transformacji nowotworowej. Z tej przyczyny zgodnie z rekomendacjami zaleca się wykonywanie badań skringowych w kierunku raka szyjki macicy i raków okolicy anogenitalnej minimum raz w roku. W skriningu tym należy uwzględnić badanie w kierunku zakażenia HPV, którego czułość jest wyższa od badania cytologicznego. W celu zwiększenia uczestnictwa kobiet w programie skringowym wdrożono metodę umożliwiającą samopobieranie wymazu z pochwy do badania w kierunku HPV przy pomocy specjalnych szczoteczek. Skuteczność metody jest uznana za porównywalną z badaniami pobieranymi przez profesjonalnych pracowników medycznych, a jej akceptowalność jest wyższa, co w praktyce może skutkować częstszym wykonywaniem badań profilaktycznych.

2.2. Cele pracy

1. Określenie częstości występowania infekcji HPV przy użyciu testów do samodzielnego pobierania przez pacjentkę w populacji kobiet poddawanych przewlekłemu leczeniu immunosupresyjnemu.

2. Identyfikacja genotypów HPV obecnych w badanej populacji kobiet
3. Ocena występowania poszczególnych genotypów HPV w badanej populacji pod kątem przydatności szczepionek przeciwko HPV.
4. Poszukiwanie czynników ryzyka wystąpienia infekcji hrHPV.
5. Ocena częstości występowania nowotworów i stanów przednowotworowych szyjki macicy i okolicy ano-genitalnej podczas skriningu nowotworowego u kobiet w immunosupresji ze stwierdzonym hrHPV.
6. Określenie przydatności testów do samodzielnego pobierania przez kobietę.

2.3. Materiał i metody

W badaniu wzięło udział 90 kobiet poddawanych przewlekłemu leczeniu immunosupresyjnemu z różnych przyczyn, takich jak np. stan po przeszczepieniu nerki lub wątroby, toczeń rumieniowaty układowy czy przewlekłe choroby zapalne nerek. Kryterium włączenia do badania stanowiło stosowanie leków immunosupresyjnych takich jak inhibitory kalcyneuryny (cyklosporyna/ takrolimus), glikokortykosteroidy, mykofenolan mofetilu, azatiopryna lub inhibitory kinazy mTOR np. sirolimus/ ewerolimus przez minimum trzy miesiące oraz wiek pomiędzy 18 a 70 lat, natomiast kryteria wyłączenia z badania stanowił wywiad raka szyjki macicy oraz menstruacja w dniu rekrutacji do badania. Kobiety, które wyraziły świadomą zgodę na wzięcie udziału w projekcie otrzymały zestaw składający się ze szczoteczki Evalyn Brush[®] (Rovers Medical Devices, Oss, The Netherlands) wraz z dokładną instrukcją użycia oraz autorską ankietę, zawierającą pytania dotyczące danych demograficznych oraz znanych czynników ryzyka wystąpienia raka szyjki macicy. Próbki pobrane przez pacjentki poddano analizie pod kątem występowania DNA HPV przy użyciu testu Q|Amp virus kit (Qiagen, Hilden, Germany) opartego o metodę PCR. Próbki, w których stwierdzono obecność DNA HPV poddano genotypowaniu z wykorzystaniem zestawu Genotyping kit HPV GP version 2 (Labo Bio-medical Products B.V., Rijswijk ZH, The Netherlands) umożliwiającego jakościową identyfikację HPV typu 6, 11, 16, 18, 26, 30, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 70, 73, and 82. Kobiety, u których stwierdzono hrHPV zostały zaproszone do dalszego etapu badania,

polegającego na trwającej sześć lat ścisłej obserwacji w poradni ginekologicznej w oparciu o badanie ginekologiczne wraz z badaniem cytologicznym szyjki macicy (lub sklepienia pochwy w przypadku stanu po histerektomii) i kolposkopię, a także w przypadku nieprawidłowości w badaniu kolposkopowym, biopsję szyjki macicy z badaniem histopatologicznym, zgodnie z protokołem badania. Wyniki ankiet przeanalizowano pod kątem czynników ryzyka wystąpienia zakażenia hrHPV. Poziom istotności statystycznej przyjęto dla $p < 0,05$.

2.4. Wyniki

Poddano analizie dane 90 kobiet zakwalifikowanych do udziału w badaniu. Były to osoby w wieku 20 – 69 lat, średnia wieku 46,2 lata, leczone immunosupresyjnie przez średnio 95,7 +/- 80,8 miesięcy. Grupę badaną stanowiły biorczynie przeszczepu nerki (49/90, 54,4%) lub wątroby (31/90, 34,4%) oraz kobiety stosujące przewlekłe leczenie immunosupresyjne z powodu innych chorób, takich jak np. SLE, przewlekłe zapalenie kłębuszków nerekowych lub stan po przeszczepieniu serca (11/90, 12,2%). Zakażenie hrHPV stwierdzono u 26/90 kobiet (28,9%). W badanej grupie wykryto typy 16, 18, 31, 33, 35, 45, 56, 66 i 67. Najczęściej stwierdzanym typem hrHPV był typ 16 (11/90, 12,2%). Zakażenie pojedynczym podtypem hrHPV wykryto u 17 z 26 kobiet (65,4%), natomiast zakażenia mieszane, kilkoma podtypami hrHPV u 9 kobiet (34,6%). Typ 18 stwierdzono tylko u 2 kobiet, wyłącznie w zakażeniach mieszanych, wraz z innymi podtypami. Zauważono, że szczepionki dwuwalentne/czterowalentne lub dziewięciowalentne przeciwko HPV w pełni obejmują swoim działaniem wszystkie podtypy HPV stwierdzone u odpowiednio 4/90 (4,4%) i 16/90 (17,8%) badanych kobiet oraz częściowo obejmują swoim działaniem podtypy wykryte u odpowiednio 11/90 (12,2%) oraz 21/90 (23,3%) kobiet.

Analiza statystyczna odpowiedzi udzielonych przez badane kobiety w ankietach, po porównaniu pomiędzy grupami dodatnią i ujemną w kierunku hrHPV wykazała, że jedynym czynnikiem zwiększającym ryzyko wystąpienia zakażenia hrHPV w badanej populacji kobiet jest wywiad posiadania minimum dwóch partnerów

seksualnych ($p = 0,026$). Nie stwierdzono różnic statystycznych pod względem częstości występowania hrHPV pomiędzy grupami biorczyń nerki, wątroby i kobiet stosujących przewlekłe leczenie immunosupresyjne z innych powodów. Podczas sześcioletniego okresu obserwacji ginekologicznej LSIL stwierdzono co najmniej jednokrotnie u 7 z 22 dodatnich w kierunku hrHPV kobiet (31,8%), które wyraziły zgodę na wzięcie udziału w drugim etapie projektu, natomiast CIN 1 opisano pięciokrotnie u 3 z 22 kobiet. U trzech pacjentek przeprowadzono diagnostyczno- terapeutyczny zabieg pętlowej elektrokonizacji szyjki macicy (LEEP). U dwóch kobiet stwierdzono w badaniu przedmiotowym obecność kłykcin kończystych okolicy anogenitalnej. Podczas okresu obserwacji u żadnej z kobiet nie wykryto HSIL, CIN 2, CIN 3 ani inwazyjnego raka szyjki macicy.

2.5. Wnioski

1. Podwyższone w stosunku do populacyjnego występowanie zakażeń hrHPV u kobiet poddawanych przewlekłemu leczeniu immunosupresyjnemu wskazuje na konieczność wykonywania częstszego, regularnego screeningu w kierunku raka szyjki macicy i raków okolicy anogenitalnej.
2. Kobiety poddane przewlekłej terapii immunosupresyjnej są szczególnie podatne na występowanie mnogich, mieszanych zakażeń, obejmujących kilka genotypów hrHPV, o wyższym ryzyku przewlekłości i transformacji nowotworowej.
3. Z uwagi na znaczny odsetek zakażeń typami hrHPV objętymi spektrum działania szczepionki dziewięciowalentnej wydaje się wskazane jej zastosowanie u kobiet przewlekłe leczonych immunosupresyjnie lub tych, u których planowane jest rozpoczęcie takiego leczenia.
4. Podwyższone ryzyko zakażenia hrHPV wynikające z posiadania dwóch i większej liczby partnerów w życiu przemawia za potrzebą prowadzenia edukacji kobiet z leczeniem immunosupresyjnym odnośnie unikania przygodnych kontaktów seksualnych oraz stosowania barierowych środków antykoncepcyjnych.

5. Wnikliwa obserwacja ginekologiczna i wczesna implementacja procedur diagnostyczno – terapeutycznych u chorych z przewlekłym leczeniem immunosupresyjnym może zmniejszyć częstość występowania dysplazji dużego stopnia oraz raków szyjki macicy i okolicy anogenitalnej.
6. Samopobieranie wymazu do badania w kierunku HPV przez pacjentki stanowi przydatną alternatywę do osobistych badań ginekologicznych, zwłaszcza w szczególnych sytuacjach, takich jak okoliczności pandemii czy odległe miejsce zamieszkania pacjentki.