

ÚVOD

Infekce vysoce rizikovými genotypy lidských papillomavirů (high-risk human papillomavirus, HR HPV) je spojena s rizikem rozvoje maligních nádorů genitálu, anu a orofaryngu [De Vuyst, 2009; Parkin, 2006; Tjalma, 2013]. Nejvyšší prevalence HR HPV je prokazována u karcinomů děložního hrdla [Tjalma, 2013] a anu [De Vuyst, 2009; Parkin, 2006]. V etiopatogenezi karcinomů děložního hrdla i anu se navíc uplatňují stejné rizikové faktory, mezi kterými vedle rizikového sexuálního chování hraje významnou roli ještě kouření tabáku, imunosuprese a imunodeficience [De Vuyst, 2009; Freitag, 1998; Goodman, 2010; Williams, 1994].

Anální karcinom patří mezi vzácné diagnózy, jejichž incidence však během posledních dekád celosvětově stoupá [Brewster, 2006; Frisch, 1999; Chiao, 2005]. Výskyt análního karcinomu je 2krát vyšší u žen než u mužů. Výjimku tvoří pouze homosexuální muži. Důvod tohoto rozdílu není dosud zcela jasný, významnou roli ale pravděpodobně hrají faktory sexuálního života a anamnéza onkologických onemocnění dolního genitálního traktu, především děložního hrdla [Daling, 2004; Edgren, 2007; Frisch, 1997; Holly, 2001; Moscicki, 1999].

Publikované údaje naznačují, že anální a cervikální HPV infekce jsou významně provázané. Řada studií doložila silnou spojitost mezi análním karcinomem a infekcí anu stejnými genotypy HPV jako u karcinomu děložního hrdla [Frisch, 1997; Frisch, 1999; Palefsky, 1998; Zaki, 1992]. Ženy s cervikální HPV infekcí mají výrazně vyšší riziko vzniku anální infekce [Hernandez, 2005] a análního karcinomu [Edgrén, 2007; Scholefield, 1989].

SHRNUTÍ PROBLEMATIKY

1. Vliv HPV infekce na vývoj lidských malignit

1.1 Historický úvod

Infekce lidským papillomavirem (human papillomavirus, HPV) se přenáší nejčastěji během pohlavního styku a postihne alespoň jednou za život 75 – 80 % sexuálně aktivní populace [Trollfors, 2008; Spitzer, 2006]. Dlouhodobá perzistence HPV ve tkáních hostitele je spojena s rizikem rozvoje několika maligních nádorů, zejména karcinomu děložního hrdla a karcinomu anu [De Vuyst, 2009; Parkin, 2006; Tjalma, 2013].

První zmínka o vztahu mezi stylem pohlavního života a rozvojem karcinomu děložního hrdla se objevila již v roce 1847 v práci italského lékaře Rigoni-Sterna, který pozoroval, že onemocnění jsou často postiženy vdané ženy a vdovy, zatímco u panen a řádových sester se téměř neobjevuje. V roce 1907 Ciuffo vyslovil podezření, že výskyt genitálních bradavic způsobují miniaturní mikroby [Ciuffo, 1907]. Ale teprve v roce 1978 Della Torre v Itálii a Laverty v Austrálii našli HPV partikule v kondylomech vyskytujících se na děložním hrdle [Della Torre, 1978; Laverty, 1978].

Práce německých virologů Dürsta a zur Hausena z počátku 80. let minulého století prokázaly přítomnost DNA HPV v biopsiích z karcinomů děložního hrdla a Harald zur Hausen publikoval hypotézu o možné úloze lidských papillomavirů v etiopatogenezi karcinomu děložního hrdla [zur Hausen, 1982].

Během 90. let proběhly další molekulárně biologické, imunologické a epidemiologické studie, jejichž výsledky umožnily definovat perzistující HPV infekci jako kauzální a nezbytnou podmínku pro proces kancerogeneze na děložním hrdle. V roce 1995 International Agency for Research on Cancer (IARC) uzavřela, že je

dostatek důkazů, aby byly nejčastější a nejagresivnější genotypy papillomavirů - HPV 16 a HPV 18 klasifikovány jako lidské kancerogeny [Muñoz, 2009]. Profesor Harald zur Hausen díky uvedeným objevům obdržel v roce 2008 Nobelovu cenu za medicínu.

Na výzkumu etiopatogeneze karcinomu děložního hrdla se významně podílela i československá věda. Vonka a jeho spolupracovníci vyloučili jakýkoliv podíl vlivu herpetické infekce na rozvoji cervikální neoplazie a cervikálních karcinomů [Vonka, 1984].

1.2 HPV infekce a její kancerogenní potenciál

HPV jsou malé DNA viry obalené ikosahedrální kapsidou. Napadají epitel kůže (viry rodu alfa) nebo sliznice (viry rodu beta) orofaryngeální a anogenitální oblasti přes malé defekty v epitelu [Fehrmann, 2003; White, 2012]. Životní cyklus viru probíhá v bazálním epitelu infikovaného orgánu a není provázen virémií. Většina infekcí je přechodná a nezanechává žádné nebo jen nízké protektivních hladiny protilátek, které nechrání proti opakované infekci [Carter, 2000; Viscidi, 2004]. Ke spontánní eliminaci HPV infekce dochází působením imunitních mechanismů hostitele, zejména na úrovni buněčné imunity. Reinfekce dokonce i stejným genotypem HPV probíhá za velmi podobných podmínek, jaké jsou u HPV „naivních“ jedinců [Schwarz, 2008].

Dosud bylo identifikováno více než 130 genotypů HPV, které se z klinického pohledu dělí na nízké-rizikové (low risk, LR) a vysoce-rizikové (high-risk, HR) podle potenciálu iniciovat rozvoj karcinomu děložního hrdla [Bouvard, 2009]. Světová zdravotnická organizace (World Health Organisation, WHO) klasifikuje genotypy HPV do 3 skupin. Mezi HR genotypy HPV spadají viry zařazené do skupiny 1 (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) a do skupiny 2A (HPV 68). Naopak viry ve skupině 2B (HPV 26, 53, 66, 67, 70, 73, 82), u kterých nejsou přímé důkazy pro kancerogenní potenciál, a viry ve skupině 3 (HPV 6, 11) jsou zařazeny mezi LR genotypy. Do skupiny 2B patří také genotypy HPV 5 a HPV 8, pro které nejsou

přesvědčivé důkazy, že se uplatňují v etiopatogenezi karcinomů kůže [Bouvard, 2009]. Na základě rozsáhlé epidemiologické studie publikované Muñozovou jsou genotypy HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82 považované za kancerogenní a genotypy 26, 53, 66 za pravděpodobně kancerogenní [Muñoz, 2009]. Do skupiny HR HPV je tak v současnosti řazeno 13 – 18 genotypů. Za nejdůležitější pro vznik lidských malignit jsou považovány genotypy HPV 16, 18, 31, 33 a 45.

Předpokládá se, že přibližně 5,2 % všech lidských karcinomů je způsobeno infekcí HR HPV [Driák, 2013] a jen v USA se HPV infekce obviňuje z rozvoje přibližně 25 000 karcinomů ročně (Tab. 1) [Zandberg, 2013].

Tab. 1: Karcinomy asociované s HPV infekcí v USA v letech 2004 až 2007

Lokalita	Průměrný počet onemocnění ročně	Asociace s HPV infekcí	Asociace s HPV 16/18
Děložní hrdlo	11 845	11 370	9 000
Vagina	714	460	400
Vulva	3 062	1 560	1 350
Anus (ženy)	2 977	2 770	2 590
Orofarynx (ženy)	2 306	1 450	1 380
Ženy (celkem)	20 903	17 610	14 720
Penis	1 000	360	310
Anus (muži)	1 618	1 500	1 410
Orofarynx (muži)	8 936	5 630	5 360
Muži (celkem)	11 553	7 490	7 080

1.3 Karcinomy děložního hrdla a anu

Rozvoj téměř všech případů karcinomů děložního hrdla je spojen s infekcí HR HPV. Nejvyšší prevalence HR HPV je prokazována u těžkých dlaždicobuněčných prekanceróz děložního hrdla (prevalence 98,5 % [Tjalma, 2013]) a u dlaždicobuněčných karcinomů děložního hrdla, kde dosahuje 99,7 % [Walboomers, 1999]. Podle výsledků evropských multicentrických studií SCALE a HERACLES se u invazivního dlaždicobuněčného karcinomu děložního hrdla vyskytuje nejčastěji genotyp HPV 16 (66,2 %) s velkým odstupem následovaný genotypy HPV 18 (10,8 %) a HPV 33 (5,3 %), zatímco adenokarcinomy děložního hrdla byly až na malé výjimky asociovány převážně s genotypy HPV 16 (54,2 %), HPV 18 (40,4 %) a HPV 45 (8,3 %) [Tjalma, 2013]. Infekce spojená s genotypy HPV 18 a 45 má pravděpodobně agresivnější chování – častěji progreduje v onkologicky závažný nález a ženy s HPV 18 a 45 pozitivními invazivními karcinomy jsou v průměru mladší než ženy s karcinomy asociovanými s jinými HR HPV. Tato skutečnost se ve zmiňovaných epidemiologických studiích projevila v odlišné distribuci genotypů HPV u těžké cervikální intraepiteliální neoplazie (CIN 3/CIS) a invazivních karcinomů. U CIN 3/CIS sice také dominoval genotyp HPV 16 (64,5 %), ale byl následovaný genotypy HPV 33 (10,9 %) a HPV 31 (8,4 %) [Tjalma, 2013].

Zastoupení jednotlivých genotypů v české populaci u pacientů s onemocněními způsobenými HPV infekcí studovala Tachezy [Tachezy, 2011]. V kohortě 200 pacientek s CIN 3 byl nejčastěji detekován genotyp HPV 16 (67,5 %), dále genotyp HPV 31 (14,5 %) a genotyp HPV 33 (14,0 %). V souboru 86 pacientek s invazivním dlaždicobuněčným karcinomem děložního hrdla byl nejčastěji zjištěn genotyp HPV 16 (73,3 %), poté genotyp HPV 33 (10,5 %) a genotyp HPV 45 (9,3 %) [Tachezy, 2011].

Druhou nejvyšší asociaci s HPV infekcí vykazuje karcinom anu. Asi 90 % případů je způsobeno perzistentní HR HPV infekcí [Parkin, 2006]. V metaanalýze 93 prací ze 4 světadílů byla HPV infekce prokázána u 84,3 % análních karcinomů a u 93,9 % těžkých prekanceróz anu (anální intraepiteliální neoplazie, AIN 2/3) [De

Vuyst, 2009]. Nejčastějších genotypem byl stejně jako u karcinomu děložního hrdla HPV 16. U análních karcinomů byl HPV 16 prokazován dokonce v 73,4 % případů, zatímco ostatní genotypy byly relativně málo časté. HPV 18 byl zjištěn u 5,2 % a HPV 33 u 4,8 % pacientů. Odlišné zastoupení genotypů bylo zjištěno u AIN 2/3, kde sice opět dominoval HPV 16 (59,8 %), ale HPV 18 (17,4 %), HPV 33 (13,6 %) a HPV 58 (13,1 %) byly detekovány daleko častěji [De Vuyst, 2009].

Anální karcinom patří mezi vzácné diagnózy, celosvětově však incidence análního karcinomu v rozvinutých zemích stoupá [Brewster, 2006; Frisch, 1999; Chiao, 2005]. Největšímu riziku jsou vystaveni homosexuální muži, HIV infikovaní jedinci a imunosuprimovaní pacienti po transplantaci [Abbasakoor, 2005; Dona, 2012; Origoni, 2011; Palefsky, 2001; Piketty, 2003; Williams, 1994]. Výskyt onemocnění se ale během posledních čtyřiceti let významně zvyšuje u HIV neinfikované a i jinak nerizikové populace [Brewster, 2006; Frisch; 1993]. V letech 1973 - 2005 rostla meziroční incidence invazivního dlaždicobuněčného análního karcinomu v USA o 1,7 % [De Vuyst, 2009]. Incidence análního karcinomu je navíc asi 2x častější u žen než u mužů. V USA bylo v roce 2012 zjištěno 6230 nových případů análního karcinomu, z toho 3980 nových případů bylo u žen a pouze 2250 u mužů [American Cancer Society, 2012]. V ČR se incidence v posledních 30 letech příliš nemění. Podobně jako v USA, ale dominuje onemocnění u žen. V roce 2010 bylo diagnostikováno 129 nových případů, z toho 85 u žen a 44 u mužů [www.svod.cz].

2. Anální HPV infekce

2.1 Průběh anální HPV infekce a zastoupení jednotlivých genotypů

Většina dostupných dat o prevalenci a incidenci anální HPV infekce vychází ze studií prováděných na populaci HIV infikovaných jedinců, u kterých je výskyt HPV infekce výrazně vyšší [Palefsky, 2001; Piketty, 2003; Williams, 1994]. Palefsky et al. uvádí prevalenci anální HPV infekce u 76 % HIV pozitivních žen ve srovnání s prevalencí 42 % u HIV negativních žen. HPV infekci navíc u HIV pozitivních prokázali asi 2krát častěji v anu než v děložním hrdle [Palefsky, 2001].

Velká studie zabývající se prevalencí, trváním a eliminací anální HPV infekce byla realizována na Havaji [Goodman, 2008; Goodman, 2010; Hernandez, 2005; Shvetsov, 2009]. Goodman a jeho spolupracovníci odebírali stěr z anu na zjištění přítomnosti HPV infekce ve čtyřměsíčních intervalech ve skupině 431 sexuálně aktivních žen průměrného stáří 39,4 roku. Celkem bylo provedeno 1 508 vyšetření (medián 3,5 návštěvy na pacientku) s mediánem sledování v délce 16 měsíců. Anamnestická data byla získána formou dotazníků. U 215 žen (50 %) byla alespoň jednou prokázána anální HPV infekce a 9 % žen mělo perzistentní infekci [Shvetsov, 2009]. Při vstupu do studie bylo 14 % žen aktivních kuřaček a 23 % aktivních konzumentek alkoholu [Goodman, 2008].

V anu bylo detekováno 34 genotypů ze 35 testovaných genotypů HPV, 52 % tvořily HR genotypy a 48 % LR genotypy. Nejvíce zastoupeným genotypem byl HPV 84 (8 % pozitivních žen). Přítomnost většího počtu genotypů současně byla identifikována u 46 % žen. Nejčastěji přetrvával genotyp HPV 59 (déle než jeden rok v 50 % případů), dále genotyp HPV 44 a genotyp HPV 45 (déle než jeden rok oba ve 40 % případů). Nejčastější HR genotypy byly poměrně rychle spontánně eliminovány. Genotyp HPV 16 perzistoval déle než rok jen u 18 % žen a genotyp HPV 18 u 17 % pacientek. U genotypů HPV 31, 33, 35, 39, 42, 51, 53, 54, 58, 67, 73, 82 a 89 nebyla

perzistentní infekce dokonce vůbec prokázána [Goodman, 2008]. HPV infekce se spontánně eliminovala do jednoho roku u 74 % HR infekcí a v 76 % u LR infekcí. Při porovnání rychlosti spontánní eliminace onkogenní a neonkogenní anální HPV infekce byly zjištěny překvapivé výsledky. HR HPV infekce se z anu vyloučila obecně rychleji (medián 150 dnů) než LR HPV infekce (medián 224 dnů). Zcela opačná data jsou známá v případě cervikální HPV infekce [Koshiol, 2006; Trottier, 2006]. I přes rychlejší eliminaci HR HPV infekce měly dva z HR HPV genotypů (HPV 58 a HPV 59) anu celkově nejdelší interval k dosažení spontánní clearance.

U případů s infekcí více genotypy byla rychlost clearance dokonce výrazně rychlejší, a to 4krát vyšší pro genotypy HPV 16, 52 a 54 a téměř 3krát vyšší u genotypů HPV 42, 56 a 84 ve srovnání s eliminací infekce jediným z genotypů [Shvetsov, 2009]. Identický genotyp se objevil u téže pacientky po jedné negativitě v 39 případech. Věk nad 20 let při prvním pohlavním styku a užívání hormonální antikoncepce po dobu 2 - 4 let byly spojeny s vyšší rychlostí eliminace všech genotypů HPV, zatímco vyšší počet sexuálních partnerů, praktikování análního koitu a kouření byly spojeny s delším intervalem k dosažení clearance anální HPV infekce [Shvetsov, 2009].

Většina análních HPV infekcí (87 %) ve zdravé populaci vymizí během jednoho roku s mediánem 5 měsíců [Shvetsov, 2009], zatímco medián clearance cervikální HPV infekce se pohybuje v rozmezí 8 - 20 měsíců [Goodman, 2008; Trottier, 2006]. Genotyp HPV 16 u cervikální infekce perzistuje déle než jiné genotypy [Molano, 2003], u anální infekce byla naopak zaznamenána clearance genotypu HPV 16 již během 4 měsíců, tedy podstatně rychleji než u jiných genotypů [Shvetsov, 2009]. Rychlejší clearance anální HR HPV infekce může být způsobena vyšší koncentrací keratinizovaných buněk v epitelu anu, které tak „brání“ perzistenci infekce. Schopnost rychlé clearance pravděpodobně ochraňuje anální buňky od klonální progresu a vzniku prekancerózy a karcinomu [Daling, 1992; Goodman, 2008].

2.2 Vztah anální a cervikální HPV infekce

Publikovaná data dokládají, že anální a cervikální HPV infekce jsou silně provázané. Ženy s cervikální infekcí mají více než 3krát vyšší riziko vzniku anální infekce. Několik studií poukázalo na silnou spojitost mezi análním karcinomem s anální HPV infekcí stejnými genotypy jako u karcinomu děložního hrdla [Frisch, 1997; Frisch, 1999; Palefsky, 1998; Zaki, 1992]. Vůbec poprvé naznačil tuto souvislost v roce 1989 Scholefield [Scholefield, 1989].

V dosud největší epidemiologické studii zabývající se vztahem cervikální a anální HPV infekce bylo vyšetřeno 2 392 zdravých žen, kterým byl odebrán stěr z děložního hrdla na detekci HPV [Goodman, 2008; Goodman, 2010; Hernandez, 2005; Shvetsov, 2009]. Jen 1 566 žen (65,5 %) zároveň souhlasilo i s odebráním análního stěru. Po vyloučení insuficientních vzorků byla k finální analýze referována kohorta 1 363 žen s odběrem z anu i cervixu. U 13 % žen (178/1363) byla zjištěna současně HPV infekce anu i cervixu, u 14 % (190/1363) byla prokázána jen anální HPV infekce a 14 % (191/1363) mělo jen cervikální infekci. Hodnocení rizika ukázalo, že ženy s cervikální HPV infekcí měly více než 3krát zvýšenou pravděpodobnost současně anální HPV infekce (OR 3,3; 95%CI: 2,5 – 4,4) [Hernandez, 2005].

Výskyt současné cervikální a anální infekce klesá s věkem. Ženy s negativním análním i cervikálním HPV testem byly v havajské studii nejstarší s průměrným věkem 40,9 roku a naopak ženy se současnou HPV anální a cervikální infekcí byly nejmladší s průměrným věkem 29,2 roku. Zatímco prevalence cervikální HPV infekce plynule klesala od nejmladších žen až do věku 50 let, prevalence anální infekce byla stejná ve všech věkových skupinách [Hernandez, 2005]. Většina sledovaných rizikových faktorů - časné koitarché, vyšší počet sexuálních partnerů, infekce jinými sexuálně přenosnými chorobami a abusus alkoholu měla vliv pouze na výskyt cervikální HPV infekce, zatímco přítomnost anální HPV infekce neovlivňovala. Jedinou výjimkou byla anamnéza análního koitu.

Sledování shody genotypů HPV mezi děložním hrdlem a anem u pacientek v havajské studii se souběžnou infekcí ukázalo vysokou shodu v alespoň jednom z genotypů. U 178 žen se souběžnou cervikální a anální HPV infekcí byl zaznamenán úplný soulad v infekci identickým genotypem u 46 žen (26 %), částečná shoda (tj. v některých, ale ne ve všech genotypech) byla prokázána u 95 žen (53 %). Zcela odlišné genotypy byly zjištěny jen u 24 (14 %) vzorků. Skupina se souběžnou infekcí měla v průměru 2,1 identických genotypů ($p < 0,0001$) [Hernandez, 2005]. Vysoká shoda zastoupení genotypů HPV v obou lokalitách predikuje možnost stejného zdroje infekce.

3. Rizikové faktory rozvoje karcinomu anu

HR HPV infekce je nezbytnou podmínkou rozvoje většiny cervikálních i análních karcinomů [Daling, 2004; De Vuyst, 2009; Palefsky, 1998; Tjalma, 2013]. Jako velmi silné rizikové faktory karcinomu anu jsou uváděny HIV pozitivita a anální sexuální styk u homosexuálních mužů [Palefsky, 1998]. U heterosexuální populace má největší vliv kouření tabákových výrobků, anamnéza kondylomat a více než 15 sexuálních partnerů za život [Daling, 1992]. Významným rizikovým faktorem karcinomu anu je ženské pohlaví. Incidence análního karcinomu je u žen téměř 2krát vyšší. Důvod tohoto rozdílu není zcela objasněn, ale anamnéza CIN a karcinomu děložního hrdla [Edgren, 2007; Moscicki, 1999], praktikování análního koitu [Daling, 2004; Holly, 2001] a větší počet sexuálních partnerů [Daling, 2004; Frisch, 1997] jsou považovány za podpůrné rizikové faktory.

Ve skupině žen s prekancerózou nebo karcinomem dolního genitálního traktu byla zjištěna signifikantně vyšší prevalence současné prekancerózy anu při srovnání se skupinou žen bez anamnézy genitální léze [Ogunbiyi, 1994; Scholefield, 1992]. Ženy s anamnézou CIN 2+ mají dokonce téměř pětinasobně vyšší incidenci análního karcinomu než ostatní populace [Edgren, 2007; Moscicki, 1999]. Histologická struktura anu sdílí četné paralely s děložním hrdlem včetně přítomnosti transformační zóny na rozhraní dvou odlišných epitelů [Palefsky, 1998]. Patogeneze anální malignity je díky tomu stejně jako u cervikálního karcinomu spojená nejprve s perzistencí HR HPV infekce, následně vznikem prekancerózy a posléze s její postupnou progresí do invazivního karcinomu [Palefsky, 1998].

První studie zkoumající vztah prevalence anální HPV infekce a prekanceróz dolního genitálního traktu byla publikována teprve v roce 2009 [Park, 2009]. Ze 102 zařazených žen s anamnézou neoplazie dolního genitálního traktu bylo 65 % kuřáček, 11 % provozovalo anální koitus v posledních třech měsících a jedna pacientka byla HIV pozitivní. Ženy uváděly v průměru sedm sexuálních partnerů za život. Analýzou rizikových a protektivních faktorů (kouření, přítomnost autoimunitního onemocnění, anamnéza jiných sexuálně přenosných nemocí včetně kondylomat, koitarche před 17.

rokem, více než 10 sexuálních partnerů za život, nechráněný vaginální styk, anální koitus, socioekonomický statut, počet gravidit, obřízka partnera) autoři ale neprokázali statisticky významný vliv žádného faktoru na prevalenci anální HPV infekce [Park, 2009].

Ve stejné práci mělo z celkového počtu 102 žen 47 žen (51 %) zjištěnu anální HPV infekci. Dominantní zastoupení vykazovaly genotypy HPV 16 a 18 (celkem 34 % infikovaných pacientek), 36 % infikovaných žen mělo jiný onkogenní genotyp a 30 % postižených žen bylo infikováno neonkogenními genotypy HPV. U 23 % žen byla zjištěna infekce více genotypy, což je ve shodě s výsledky starších prací [Hernandez, 2005; Palefsky, 2001].

Lokalizace genitální prekancerózy neměla na prevalenci ani na zastoupení jednotlivých genotypů HPV žádný vliv. Vysoká prevalence anální HPV infekce u žen s neoplazií dolního genitálního traktu a také zastoupení HPV genotypů bylo srovnatelné s výsledky u HIV pozitivních, rizikově se chovajících žen (prevalence 42 % - 76 %, 25 genotypů) [Palefsky, 2001] a u HIV negativních homosexuálních mužů (57 %) [Chin-Hong, 2004]. Praktikování análního styku ale nemělo na výskyt anální HPV infekce žádný vliv [Palefsky, 2001].

Pozitivní vztah mezi celoživotním počtem sexuálních partnerů a prevalencí HR HPV anální infekce podporuje teorii, že sexuální kontakt je primární cestou vzniku anální infekce [Goodman, 2008]. Přesto většina studií uvádí, že anamnéza análního koitu není podstatným rizikovým faktorem anální HR HPV infekce ani análního karcinomu, což naznačuje jiné cesty přenosu [Palefsky, 2001; Piketty, 2003; Williams, 1994]. Infekce by se tak mohla přenášet prsty či ústy [Winer, 2003] nebo vaginálním výtokem [Moscicki, 2003], úlohu pravděpodobně hraje i pouhá anatomická blízkost cervixu a anu [Scholefield, 1992]. Společná HPV infekce anu i cervixu bývá častější u infekcí s vyšší virovou náloží, která zvyšuje pravděpodobnost přenosu infekce [Shvetsov, 2009]. Provozování análního styku proto nemusí mít zásadní vliv na prevalenci anální HPV infekce.

Karcinom anu je díky dobré anatomické dostupnosti anu a možnosti detekce jeho prekanceróz potenciálně preventabilním onemocněním. Relativně nízká frekvence onemocnění u HIV negativních však klade nároky na přísnou selekci populace vhodné k pravidelným kontrolám. Dosud publikovaná data ukazují, že vysoké riziko rozvoje análního karcinomu v budoucnosti je především v populaci žen s anamnézou ošetření těžké prekancerózy nebo karcinomu děložního hrdla. V případě současné anální HPV positivity je ale nezbytné definovat další rizikové faktory, které umožní vymezit ženy s nejvyšší úrovní rizika a teprve u takové kohorty zvážit realizaci pravidelných kontrol anu.

VLASTNÍ PRÁCE

4. Cíle a hypotézy výzkumu

Dizertační práce se věnovala dvěma hlavním výzkumným cílům, jejichž snahou bylo blíže definovat skupinu žen s vysokým rizikem rozvoje karcinomu anu v budoucnosti.

Prvním cílem dizertační práce bylo stanovit prevalenci anální a společné cerviko-anální HPV infekce a jejich souvislosti s nálezem na děložním hrdle ve skupině žen se závažnou prekancerózou děložního hrdla a mikroinvazivním karcinomem, které podstoupily konizaci. Získané údaje od celé skupiny ošetřených žen byly porovnány s daty získanými od kontrolní skupiny, která byla tvořena kohortou žen s nízkým rizikem rozvoje karcinomu děložního hrdla. Očekávaným výsledkem byla signifikantně vyšší prevalence anální a cerviko-anální HPV infekce u žen podstupujících chirurgické ošetření závažné patologie děložního hrdla.

Pro bližší definování vysoce rizikové skupiny žen ohrožených rozvojem karcinomu anu byla dále hodnocena prevalence anální a společné cerviko-anální HPV infekce v závislosti na stupni závažnosti cervikální léze. Předpokládaným výsledkem bylo zjištění rozdílu mezi frekvencí pozitivních análních HPV testů u žen s mírnou prekancerózou (cervikální intraepiteliální neoplazie 1. stupně, CIN 1) a závažnou prekancerózou nebo mikroinvazivním karcinomem (CIN 2+), ale zároveň i zjištění rozdílu mezi ženami se střední prekancerózou (cervikální intraepiteliální neoplazie 2. stupně, CIN 2) a těžkou prekancerózou (cervikální intraepiteliální neoplazie 3. stupně, CIN 3) a/nebo mikroinvazivním karcinomem (CIN 3+). Naopak rozdíl ve frekvenci anální HPV infekce u žen s histologickým nálezem nejzávažnější prekancerózy CIN 3/CIS a mikroinvazivním karcinomem (FIGO IA1 a IA2) již nebyl očekáván.

Pro stanovení provázanosti vztahu mezi cervikální a anální HPV infekcí bylo analyzováno zastoupení konkrétních genotypů HPV v obou anatomických lokalitách. Hypotéza vyslovovala předpoklad, že nejčastěji bude dosaženo plného souhlasu alespoň jednoho HR genotypu u žen s nezávažnějšími nálezy na děložním hrdle. Vzhledem k zastoupení HR genotypů HPV u karcinomů děložního hrdla, byla očekávána nejvyšší shoda pro genotypy HPV 16 a HPV 18.

Druhým cílem práce byla analýza rizikových faktorů u žen s prokázanou anální nebo cerviko-anální HPV infekcí. Pomocí dotazníkového šetření byla hodnocena anamnestická data a data o sexuálním chování. Oproti dosud publikovaným pracím byla podrobněji dotazována problematika análních sexuálních praktik u žen s cerviko-anální infekcí s cílem stanovit hlavní cestu přenosu infekce. Očekávaným výstupem bylo definování nejrizikovějších faktorů, pomocí kterých by bylo možno dále stratifikovat ženy vhodné k pravidelným kontrolám anu. Bylo také očekáváno, že podrobnější rozbor sexuálních praktik umožní stanovit nejpravděpodobnější cestu přenosu HPV infekce mezi děložním hrdlem a anem.

5. Metodika

5.1 Charakteristika souboru

Do studie byly zařazeny pacientky vyšetřené v jedné ze dvou odborných ambulancích Centra onkologické prevence při Gynekologicko-porodnické klinice Všeobecné fakultní nemocnice v Praze 2 a při Gynekologicko-porodnické klinice Nemocnice Na Bulovce v Praze 8 mezi zářím 2011 a červnem 2012. Studovanou skupinu tvořilo 172 pacientek, kterým byla konizací diagnostikována onkologicky relevantní léze děložního hrdla CIN 2, CIN 3, adenokarcinom in situ (AIS) nebo mikroinvazivní karcinom. Kontrolní skupina se sestávala ze 100 žen s anamnézou histologicky prokázané CIN 1 nebo s nenádorovými gynekologickými problémy (nepravidelné krvácení, endometriální polyp, zamlklý potrat, umělé ukončení těhotenství). Do souboru nebyly zavzaty pacientky se sexuálně přenosným onemocněním.

Všechny účastnice byly plnoleté, byly seznámeny s průběhem a cíly studie, podepsaly informovaný souhlas a poté anonymně vyplnily dotazník se zaměřením na anamnestická data, zdravotní historii, vybrané rizikové faktory (kouření tabákových výrobků, užívání hormonů včetně antikoncepce, autoimunitní onemocnění, sexuálně přenosné choroby včetně kondylomat) a rizikové aspekty sexuálního chování. Výzkum byl schválen etickou komisí Nemocnice Na Bulovce a 1. lékařské fakulty UK v Praze s platností pro všechna pracoviště 1. LF UK.

5.2 Sběr materiálu k vyšetření

Stěry z děložního hrdla a anu na HPV genotypizaci byly odebírány plně erudovanými lékaři. U pacientek podstupujících konizaci byly stěry odebrány před zahájením výkonu a před aplikací Lugolova roztoku nebo roztoku kyseliny octové na děložní hrdlo. Při odběru stěru z děložního hrdla byl kartáčkem setřen izolovaně

ektocervix a poté endocervix děložního hrdla včetně celé transformační zóny. Jiným kartáčkem byl proveden stěr nejprve ze zevní části anu včetně celé anální transformační zóny, následně byl kartáček vsunut do anu do hloubky 1,5 až 2 cm a 3krát s ním bylo otočeno ve směru hodinových ručiček a 3krát proti směru hodinových ručiček. Ihned po každém odběru byl odběrový kartáček umístěn a pečlivě promyt v transportním mediu (Cobas PCR Cell Collection Medium). Vzorky byly uchovávány při pokojové teplotě a v co nejkratším intervalu transportovány k dalšímu zpracování do laboratoře pro Sexuálně přenosné nemoci při Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky Všeobecné fakultní nemocnice v Praze 2.

5.3 HPV genotypizace

Pro identifikaci 37 HPV genotypů byl použit genotypizační test LINEAR ARRAY HPV (Roche Molecular Systems, Inc., Branchburg, NJ), který slouží k určení 14 HR HPV (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 a 68) a 23 LR HPV (HPV 6, 11, 26, 40, 42, 53, 54, 55, 61, 62, 64, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, IS39 a CP6108). Stanovení genotypů bylo prováděno pomocí denaturované amplifikované DNA sadou oligonukleotidových sond, které umožňují nezávislou identifikaci jednotlivých genotypů HPV.

V genotypizačním testu LINEAR ARRAY HPV byly pro definování sekvence nukleotidů využity biotinylované primery v oblasti polymorfního regionu L1 genomu HPV, který je dlouhý přibližně 450 párů bází. Zásoba HPV primerů přítomná ve směsi Master Mix byla navržena pro amplifikaci HPV DNA celkem 37 HPV genotypů. Sondy Capture byly umístěny v polymorfních oblastech L1, na které se váží primery. Další pár primerů byl namířen na gen lidského beta-globinu, aby umožnil kontrolu adekvátnosti buněčného stěru včetně extrakce a amplifikace. DNA polymeráza AmpliTaqR Gold byla používána k tzv. „horkému startu“ amplifikace cílové HPV DNA a beta-globinové kontroly. Nejprve se reakční směs pro PCR zahřála, aby se aktivovala DNA polymeráza AmpliTaqR Gold pro denaturaci virové DNA a lidské genomické DNA a také pro expozici cílových primerových sekvencí. Během pozdějšího ochlazování směsi

docházelo k připojování primerů k cílové DNA. DNA polymeráza AmpliTaqR Gold připojené primery polymerizovala a vytvářela molekulu dvouřetězcové cílové HPV DNA se zhruba 450 páry bází nebo molekulu DNA beta-globinu s 268 páry bází. Tento proces se několikrát opakoval a v každém cyklu se efektivně zdvojnásobilo množství amplifikované DNA.

Po PCR amplifikaci byly amplikony HPV a beta-globinu chemicky denaturovány za vzniku jednovláknové DNA. Alikvotní podíly denaturovaného amplikonu se poté přesunuly do příslušné jamky typizační plotny, která obsahovala hybridizační pufr a jeden genotypizační proužek LINEAR ARRAY HPV potažený řadami HPV a beta-globinových sond. Biotinem značený amplikon hybridizoval pouze k oligonukleotidovým sondám s komplementární sekvencí. Po hybridizační reakci byl genotypizační proužek LINEAR ARRAY HPV důkladně omyt, aby se odstranil nenavázaný materiál.

Následně se k proužku přidal konjugát streptavidinu s křenovou peroxidázou. Navázaný konjugát streptavidinu s křenovou peroxidázou katalyzoval v přítomnosti peroxidu vodíku oxidací TMB (3,3',5,5'-tetrametylbenzidín) a vytvářel modře zbarvený komplex, který se srážel v pozicích sondy, kde docházelo k hybridizaci. Genotypizační proužek LINEAR ARRAY HPV se následně vyhodnocoval vizuálně porovnáním vzorků modrých pásů s referenčním návodem genotypizačního testu LINEAR ARRAY HPV.

5.4 Histopatologické vyšetření

Histopatologické vyšetření bylo provedeno standardní technikou. Všechny konizáty děložního hrdla fixované ve formolu byly histopatologicky hodnoceny minimálně ve 12 řezech, které byly barveny standardně hematoxylin-eosinem. Určení stupně cervikální intraepiteliální neoplazie bylo provedeno podle definovaných kritérií pro CIN 1, CIN 2 a CIN 3.

5.5 Statistická analýza

Pro popis dat bylo použito standardních robustních statistik. Kategoriální data byla popsána absolutní a relativní četností kategorií, spojitá data mediánem doplněným o 5 - 95 percentilový rozsah. Statistická významnost rozdílů v kategoriálních proměnných mezi kontrolní skupinou a studovanou skupinou byla testována Fisherovým exaktním testem; v případě proměnných s více než dvěma kategoriemi bylo pro výpočet použito metody Monte Carlo s 100 000 opakováními. Statistická významnost rozdílů ve spojitých proměnných mezi skupinami pacientů byla testována Mannovým-Whitneyovým testem. Analýza vztahu mezi potenciálními rizikovými faktory a definovanými cíly hodnocení s vazbou na různé genotypy HPV infekce byla provedena pomocí na věk adjustované logistické regrese. Výsledky logistické regrese byly prezentovány jako poměry šancí doplněné o 95 % interval spolehlivosti a odpovídající statistickou významnost (Waldův test).

Souhlas ve frekvenci výskytu jednotlivých genotypů HPV mezi děložním hrdlem a anem byl hodnocen na bázi pacientek s infekcí obou orgánů. Podobnost výskytu genotypů HPV byla hodnocena pomocí Jaccardova koeficientu podobnosti patřícího mezi asymetrické binární koeficienty podobnosti. Jedná se o metodu neovlivnitelnou tzv. problémem „dvojitých nul“, tedy současnou nepřítomností genotypu HPV v obou orgánech, která ve výpočtu nepřispívá k jejich podobnosti. Jaccardův koeficient podobnosti dosahuje hodnot od 0 (žádná podobnost) do 1 (podobnost pacientek ve všech genotypech, které se vyskytly alespoň v jednom orgánu). Statistická významnost hodnoty koeficientu byla testována pomocí jednovýběrového t-testu bootstrapovým odhadem s 1000 opakováními a nulovou hypotézou o shodě Jaccardova koeficientu a hodnoty 0. Koeficient byl použit jednak jako měřítko podobnosti mezi profilem infekce u cervixu a anu (srovnání lokalizací infekce), jednak pro asociační analýzu nalezených genotypů HPV (analýza vzájemných vztahů genotypů HPV). Analýza byla provedena pomocí software SPSS 20.0.0. (IBM Corporation, 2011).

6. Výsledky

6.1 Charakteristiky studované a kontrolní skupiny

Do studie bylo celkem zařazeno 272 žen. Z toho 172 "rizikových" pacientek tvořilo studovanou skupinu a 100 "nerizikových" žen bylo zařazeno do kontrolní skupiny. Studovaná skupina se 172 rizikovými pacientkami se skládala ze 61 žen s histologicky prokázanou CIN 2, z 99 žen s CIN 3, ze 3 žen s AIS a z 9 žen s diagnostikovaným invazivním cervikálním karcinomem. Kontrolní skupinu tvořilo 19 žen s anamnézou CIN 1 a 81 žen bez přítomné jakékoliv cervikální patologie.

Základní údaje a charakteristiky obou skupin celého souboru jsou shrnuty v tabulce 1. Obě skupiny byly sociálně a etnicky homogenní. I většina anamnestických údajů byla v obou skupinách obdobná. Ženy v kontrolní skupině však častěji užívaly hormonální preparáty ($p < 0,001$). Více než jedna třetina žen ze studované kohorty nebyla nikdy těhotná (36,0 %) na rozdíl od žen v kontrolní skupině, která zahrnovala jen 8,0 % nulligravid ($p < 0,001$). Podobně, téměř polovina (41,3 %) žen ze studované kohorty nikdy nerodila ve srovnání s 18,0 % žen v kontrolní skupině ($p < 0,001$).

Studovaná skupina žen s CIN 2+ vykazovala některé rizikové faktory pro přenos a přítomnost HPV infekce. Téměř polovina rizikových respondentek (46,5 %) začala pohlavně žít před 17. rokem života ve srovnání s necelou třetinou žen (30,0 %) v kontrolní skupině ($p = 0,010$). Pouze 2,9 % rizikových žen uvedlo jednoho životního sexuálního partnera, zatímco v kontrolní skupině mělo jednoho partnera 9,0 % žen ($p = 0,033$). Ženy ze studované kohorty také uváděly častější praktikování análního koitu (72,0 % vs. 61,0 %; $p = 0,008$). Rozdíly v ostatních sledovaných rizikových faktorech pohlavního života (nechráněný vaginální pohlavní styk, nekoitální anální sexuální praktiky) nedosáhly statistické významnosti (Tab. 2). Ve skupině rizikových žen byly častěji zastoupeny kuřačky (49,4 % vs. 31,0 %; $p = 0,017$), tento rozdíl byl statisticky významný zvláště při hodnocení zastoupení silných kuřaček se spotřebou více než 60 cigaret týdně (30,2 % vs. 14,0 %; $p = 0,004$). Anamnéza autoimunitních onemocnění

(16,3 % vs. 16,0 %; $p = 0,965$) a výskyt genitálních kondylomat (3,5 % vs. 6,0 %; $p = 0,512$) byly v obou skupinách obdobné (Tab. 3).

Tabulka 1.: Základní charakteristiky souboru

Parametry		Celkem (n; %)	Kontroly (n; %)	Studie (n; %)	<i>p</i>
Počet pacientek		272 (100.0)	100 (36.8%)	172 (63.2%)	
Histologie	Bez dysplázie	81 (29.8)	81 (81.0%)	0 (0.0%)	
	CIN 1	19 (7.0)	19 (19.0%)	0 (0.0%)	
	CIN 2	61 (22.4)	0 (0.0%)	61 (35.5%)	
	CIN 3	99 (36.4)	0 (0.0%)	99 (57.6%)	
	Adenocarcinoma in situ	3 (1.1)	0 (0.0%)	3 (1.7%)	
	Invazivní karcinom	9 (3.3)	0 (0.0%)	9 (5.2%)	
Věk - roky (kvartily)		35.5 (23.9; 58.3)	37.6 (26.2; 60.6)	34.2 (23.5; 56.3)	0.123
Vzdělání ¹⁾	Základní	99 (36.4)	35 (35.0%)	64 (37.2%)	0.639
	Středoškolské	125 (46.0)	46 (46.0%)	79 (45.9%)	
	Vysokoškolské	47 (17.3)	19 (19.0%)	28 (16.3%)	
Počet gravidit	0	70 (25.7)	8 (8.0%)	62 (36.0%)	<0.001
	1	43 (15.8)	15 (15.0%)	28 (16.3%)	
	2	74 (27.2)	39 (39.0%)	35 (20.3%)	
	3	43 (15.8)	18 (18.0%)	25 (14.5%)	
	≥ 4	42 (15.4)	20 (20.0%)	22 (12.8%)	
Počet porodů	0	89 (32.7)	18 (18.0%)	71 (41.3%)	<0.001
	1	89 (32.7)	26 (26.0%)	44 (25.6%)	
	2	86 (31.6)	43 (43.0%)	43 (25.0%)	
	≥ 3	27 (9.9)	13 (13.0%)	14 (8.1%)	
Antikoncepce a hormonální léčba	Neužívá	151 (55.5)	72 (72.0%)	79 (45.9%)	<0.001
	COC	107 (39.3%)	22 (22.0%)	85 (49.4%)	
	IUD	8 (2.9%)	4 (4.0%)	4 (2.3%)	
	Gestagení	3 (1.1%)	0 (0.0%)	3 (1.7%)	
	HRT	3 (1.1%)	2 (2.0%)	1 (0.6%)	
HPV vakcinace	Ne	269 (98.9%)	99 (99.0%)	170 (98.8%)	0.998
	Ano	3 (1.1%)	1 (1.0%)	2 (1.2%)	

¹⁾Údaje pro jednu pacientku chybí.

CIN - cervikální intraepiteliální neoplázie

COC (combined oral contraception) - kombinovaná hormonální antikoncepce

HRT (hormone replacement therapy) - substituční hormonální terapie

IUD (intrauterine device) - nitroděložní tělíčko

Tabulka 2.: Obecné rizikové faktory v obou skupinách souboru

Parametry		Celkem (n; %)	Kontroly (n; %)	Studie (n; %)	<i>p</i>
Počet pacientek		272 (100.0%)	100 (36.8%)	172 (63.2%)	
Kouření (detailně)	Nekouří	156 (57.4%)	69 (69.0%)	87 (50.6%)	0.017
	≤ 3 cigarety denně	27 (9.9%)	11 (11.0%)	16 (9.3%)	
	4 - 6 cigaret denně	23 (8.5%)	6 (6.0%)	17 (9.9%)	
	7 - 11 cigaret denně	34 (12.5%)	8 (8.0%)	26 (15.1%)	
	12 - 20 cigaret denně	23 (8.5%)	3 (3.0%)	20 (11.6%)	
> 20 cigaret denně	9 (3.3%)	3 (3.0%)	6 (3.5%)		
Kouření (kumulativně)	1 - 2 krabičky týdně	50 (18.4%)	17 (17.0%)	33 (19.2%)	0.004
	≥ 3 krabičky týdně	66 (24.3%)	14 (14.0%)	52 (30.2%)	
Autoimunitní onemocnění	Ne	228 (83.8%)	84 (84.0%)	144 (83.7%)	0.965
	Ano	44 (16.2%)	16 (16.0%)	28 (16.3%)	
Anamnéza genitálních kondylomat	Nikdy (ani partner)	224 (82.4%)	79 (79.0%)	145 (84.3%)	0.512
	Nikdy, ale partner byl léčen	36 (13.2%)	15 (15.0%)	21 (12.2%)	
	Jednou	10 (3.7%)	6 (6.0%)	4 (2.3%)	
	Vícekrát	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.6%)	

6.2 Prevalence cervikální a anální HPV infekce

Ze všech odebraných vzorků bylo 530 vzorků suficientních pro HPV genotypizační vyšetření - 169 vzorků z děložního hrdla a 163 odběrů z anu ve studované skupině a 100 vzorků z děložního hrdla a 98 odběrů z anu v kontrolní skupině. Ženy ve studované skupině měly cervikální a anální HPV infekci výrazně častěji než ženy v kontrolní skupině (Tab. 4). Cervikální HPV infekce byla potvrzena u 170 žen z obou skupin, u 142 žen ve studované skupině a u 28 v kontrolní skupině. Anální HPV infekce byla prokázána u 109 žen, z toho u 83 pacientek ve studované skupině a u 26 v kontrolní skupině. Jen u 20 žen (11,6 %) s CIN 2+ nebyla prokázána žádná HPV infekce ani v děložním hrdle ani v anu na rozdíl od kontrolní skupiny, kde to byla naopak více než polovina žen (54/100; 54,0 %; $p < 0,001$).

Tabulka 3.: Sexuální rizikové faktory v obou skupinách souboru

Parametry		Celkem (n; %)	Kontroly (n; %)	Studie (n; %)	<i>p</i>
Počet pacientek		272 (100.0%)	100 (36.8%)	172 (63.2%)	
Koítarché (roky) (detailně)	≤ 16	46 (16.9%)	10 (10.0%)	36 (20.9%)	0.065
	16 - 17	64 (23.5%)	20 (20.0%)	44 (25.6%)	
	17 - 18	79 (29.0%)	36 (36.0%)	43 (25.0%)	
	18 - 21	69 (25.4%)	28 (28.0%)	41 (23.8%)	
	> 21	14 (5.1%)	6 (6.0%)	8 (4.7%)	
Koítarché (roky) (kumulativně)	≤ 17	110 (40.4%)	30 (30.0%)	80 (46.5%)	0.010
	> 17	162 (59.6%)	70 (70.0%)	92 (53.5%)	
Počet sexuálních partnerů	1	14 (5.1%)	9 (9.0%)	5 (2.9%)	0.033
	2	28 (10.3%)	13 (13.0%)	15 (8.7%)	
	3 - 5	94 (34.6%)	33 (33.0%)	61 (35.5%)	
	6 - 9	71 (26.1%)	18 (18.0%)	53 (30.8%)	
	≥ 10	65 (23.9%)	27 (27.0%)	38 (22.1%)	
Nechráněný vaginální koitus (detailně)	Nikdy (vždy použití kondomu)	15 (5.5%)	6 (6.0%)	9 (5.2%)	0.499
	Příležitostně	35 (12.9%)	14 (14.0%)	21 (12.2%)	
	U náhodných známostí většinou s kondomem	13 (4.8%)	5 (5.0%)	8 (4.7%)	
	U náhodných známostí vždy s kondomem	15 (5.5%)	2 (2.0%)	13 (7.6%)	
	U náhodných známostí vždy s kondomem a se stálým partnerem nechráněný	117 (43.0%)	42 (42.0%)	75 (43.6%)	
	Vždy (nikdy s kondomem)	77 (28.3%)	31 (31.0%)	46 (26.7%)	
Nechráněný vaginální koitus	Nikdy (vždy použití kondomu)	15 (5.5%)	6 (6.0%)	9 (5.2%)	0.696
	Často	180 (66.2%)	63 (63.0%)	117 (68.0%)	
	Vždy	77 (28.3%)	31 (31.0%)	46 (26.7%)	
Sexuální kontakt s anem	Nikdy	96 (35.3%)	33 (33.0%)	63 (36.6%)	0.708
	Příležitostně	127 (46.7%)	46 (46.0%)	81 (47.1%)	
	Často /vždy	48 (17.7%)	21 (21.0%)	27 (15.7%)	
Anální koitus	Nikdy	177 (65.1)	72 (72.0)	105 (61.0)	0.008
	Příležitostně	90 (33.1)	24 (24.0)	66 (38.4)	
	Často /vždy	5 (1.8)	4 (4.0)	1 (0.6)	

Cervikální HPV infekce byla diagnostikována signifikantně častěji u žen v rizikové skupině (82,6 %) než v kontrolní skupině (28,0 %; $p < 0,001$) (Tab. 4). Také zastoupení HR HPV genotypů v děložním hrdle byla u žen s CIN 2+ významně vyšší než u nerizikových pacientek (76,8 % vs. 27,0 %; $p < 0,001$). Tento rozdíl byl patrný i u případů s izolovanou cervikální infekcí bez přítomné současné anální infekce. Izolovaná cervikální infekce byla diagnostikována signifikantně častěji u rizikových žen (40,1 % vs. 20,0 %; $p < 0,001$) (Tab. 4). Vícečetná izolovaná cervikální infekce s několika genotypy (9,3 % vs. 3,0 %; $p = 0,048$) a také vyšší prevalence HR HPV genotypů (19,8 % vs. 10,0 %; $p = 0,034$) byly také diagnostikovány signifikantně častěji u rizikových žen.

Tabulka 4.: Prevalence infekce a zastoupení LR a HR genotypů.

Parametry		Celkem (n; %)	Kontroly (n; %)	Studie (n; %)	<i>p</i>
Počet pacientek		272 (100.0%)	100 (36.8%)	172 (63.2%)	
Cervikální infekce	Bez infekce	99 (36.4%)	72 (72.0%)	27 (15.7%)	<0.001
	Všechny infekce	170 (62.5%)	28 (28.0%)	142 (82.6%)	<0.001
	Jeden LR genotyp	11 (4.0%)	1 (1.0%)	10 (5.8%)	0.086
	Vícečetná LR infekce	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-
	Jeden HR genotyp	99 (36.4%)	23 (23.0%)	76 (44.2%)	<0.001
	Vícečetné HR infekce	29 (10.7%)	2 (2.0%)	27 (15.7%)	<0.001
	Vícečetná LR a HR inf.	31 (11.4%)	2 (2.0%)	29 (16.9%)	<0.001
	Insuficientní pro detekci	3 (1.1%)	0 (0.0%)	3 (1.7%)	0.311
Anální infekce	Bez infekce	152 (55.9%)	72 (72.0%)	80 (46.5%)	<0.001
	Všechny infekce	109 (40.0%)	26 (26.0%)	83 (48.3%)	<0.001
	Jeden LR genotyp	19 (7.0%)	8 (8.0%)	11 (6.4%)	0.618
	Vícečetná LR infekce	2 (0.7%)	0 (0.0%)	2 (1.2%)	0.272
	Jeden HR genotyp	44 (16.2%)	10 (10.0%)	34 (19.8%)	0.034
	Vícečetné HR infekce	11 (4.0%)	4 (4.0%)	7 (4.1%)	0.968
	Vícečetná LR a HR inf.	33 (12.1%)	4 (4.0%)	29 (16.9%)	<0.001
	Insuficientní pro detekci	11 (4.0%)	2 (2.0%)	9 (5.2%)	0.195
Cervikální a/nebo anální infekce	Bez infekce	74 (27.2%)	54 (54.0%)	20 (11.6%)	<0.001
	Izolovaná cervikální infekce	89 (32.7%)	20 (20.0%)	69 (40.1%)	<0.001
	Izolovaná anální infekce	28 (10.3%)	18 (18.0%)	10 (5.8%)	0.001
	Společná infekce	81 (29.8%)	8 (8.0%)	73 (42.4%)	<0.001

Ve skupině žen s CIN 2+ byla nalezena významně vyšší prevalence anální HPV infekce (48,3 %) ve srovnání s kontrolní skupinou (26,0 %; $p < 0,001$) (Tab. 4). Rozdíl ve prospěch rizikové skupiny se projevil i v prevalenci vícečetné anální HPV infekce (16,9 % vs. 4,0 %; $p < 0,001$). U izolované anální HPV infekce bez přítomné cervikální HPV infekce byla ale prevalence opačná (5,8 % vs. 18,0 %; $p = 0,001$) s častějším výskytem v kontrolní skupině. Na rozdíl od cervikální infekce nebyl u anální HPV infekce zjištěn statisticky významný rozdíl v distribuci HR a LR genotypů mezi skupinami. Pouze v případě infekce jen jedním HR genotypem byla prevalence signifikantně vyšší u rizikových pacientek (19,8 % vs. 10,0 %; $p = 0,034$) (Tab. 4).

6.3 Prevalence společné cerviko-anální HPV infekce

Společná cerviko-anální infekce byla detekována u 81 z 272 pacientek a vykazovala velkou variabilitu HPV genotypů. Prevalence společné cerviko-anální HPV infekce byla významně vyšší u rizikových žen s CIN 2+. Společná infekce anu a děložního hrdla byla 5,3krát častější ve studované skupině než v kontrolní skupině. Cerviko-anální infekce byla prokázána u 42,4 % (73/172) rizikových pacientek a jen u 8,0 % (8/100) nerizikových žen ($p < 0,001$). Navíc prevalence společné cerviko-anální HPV infekce významně narůstala se závažností cervikální léze (Tab. 5). Nejčastěji měly kombinovanou cerviko-anální HPV infekci ženy s nejzávažnější prekancerózou (CIN 3) a mikroinvazivním karcinomem (49,4 % a 55,5 %).

6.4 Prevalence jednotlivých genotypů

Prevalence různých genotypů HPV byla v obou skupinách výrazně odlišná. Celkově bylo detekováno 14 HR genotypů a 19 LR genotypů HPV. Z toho 14 HR genotypů a 19 LR genotypů v děložním hrdle a 14 HR a 15 LR genotypů v anu. Infikování obou míst jedním genotypem bylo častější než vícečetná infekce způsobená více genotypy.

Tabulka 5.: Prevalence cerviko-anální HPV infekce v závislosti na stupni cervikální léze

Histologie	Počet (n)	Cerviko-anální HPV infekce (n; %)	<i>p</i>	≥ 1 identický HPV genotyp v obou lokalitách (n; %)	HPV 16 v obou lokalitách (n; %)	<i>p</i>
Bez dysplázie	81	5 (6.2%)	-	2 (40.0%)	1 (20.0%)	-
CIN 1	19	3 (15.8%)		3 (100%)	0 (0.0%)	
CIN 2	61	18 (29.5%)	0.002	13 (72.2%)	7 (38.9%)	<0.001
CIN 3	99	49 (49.4%)	<0.001	38 (77.6%)	29 (59.2%)	
AIS	3	1 (33.3%)		1 (100%)	0 (0.0%)	
Microinvazivní karcinom	9	5 (55.5%)		5 (100%)	3 (60.0%)	

Z celkového počtu 170 žen s cervikální infekcí bylo 128 pacientek infikováno pouze HR genotypy, 11 žen jen LR a 31 kombinací HR a LR genotypů. Ze 109 žen z obou skupin s anální infekcí se v 55 případech jednalo o infekci HR genotypy, ve 21 případech o infekci LR genotypy a u 33 žen byla anální infekce způsobena HR i LR genotypy (Tab 4). Zatímco prevalence HR genotypů byla u cervikální infekce mezi oběma skupinami statisticky významně odlišná, u anální infekce tak významný rozdíl nebyl patrný (Tab 4). Prevalenci jednotlivých HPV genotypů v děložním hrdle shrnuje tabulka 6 a v anu tabulka 7.

Dominantní genotypem v obou skupinách i v obou anatomických lokalitách byl HPV 16, který byl přítomen u více než poloviny všech cervikálních HPV infekcí (52,4 %; 89/170) a u necelé poloviny všech análních HPV infekcí (48,6 %; 53/109). Průkaz genotypu HPV 16 byl signifikantně častější u pacientek s CIN 2+ než v kontrolní skupině, a to v případě cervikální infekce (46,5 % vs. 9,0 %; $p < 0,001$) (Tab. 6), anální infekce (28,5 % vs. 4,0 %; $p < 0,001$) (Tab. 7) i společné cerviko-anální HPV infekce (22,7 % vs. 1,0 %; $p < 0,001$) (Tab. 5).

Tabulka 6.: Prevalence HPV genotypů v děložním hrdle

	Celkem	Kontroly (n; %)	Studie (n; %)	<i>p</i> ¹⁾
Počet pacientek	272	100	172	
LR genotypy				
HPV 6	7 (2.6%)	0 (0.0%)	7 (4.1%)	0.052
HPV 62	7 (2.6%)	0 (0.0%)	7 (4.1%)	0.052
HPV 61	6 (2.2%)	0 (0.0%)	6 (3.5%)	0.088
HPV 53	6 (2.2%)	0 (0.0%)	6 (3.5%)	0.088
HPV 55	4 (1.5%)	1 (1.0%)	3 (1.7%)	1.000
HPV 81	4 (1.5%)	0 (0.0%)	4 (2.3%)	0.300
HPV 73	3 (1.1%)	0 (0.0%)	3 (1.7%)	0.300
CP6108	3 (1.1%)	0 (0.0%)	3 (1.7%)	0.300
HPV 84	2 (0.7%)	0 (0.0%)	2 (1.2%)	0.533
HPV 83	2 (0.7%)	0 (0.0%)	2 (1.2%)	0.533
HPV 11	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.6%)	1.000
HPV 31	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.6%)	1.000
HPV 70	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.6%)	1.000
HPV 40	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.6%)	1.000
HPV 54	1 (0.4%)	1 (1.0%)	0 (0.0%)	0.368
HPV 69	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.6%)	1.000
HPV 7	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.6%)	1.000
HPV 42	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.6%)	1.000
HPV 67	1 (0.4%)	1 (1.0%)	0 (0.0%)	0.368
HR genotypy				
HPV 16	89 (32.7%)	9 (9.0%)	80 (46.5%)	<0.001
HPV 33	22 (8.1%)	5 (5.0%)	17 (9.9%)	0.174
HPV 52	19 (7.0%)	1 (1.0%)	18 (10.5%)	0.002
HPV 31	13 (4.8%)	3 (3.0%)	10 (5.8%)	0.385
HPV 18	12 (4.4%)	4 (4.0%)	8 (4.7%)	1.000
HPV 35	9 (3.3%)	2 (2.0%)	7 (4.1%)	0.493
HPV 45	9 (3.3%)	3 (3.0%)	6 (3.5%)	1.000
HPV 51	9 (3.3%)	1 (1.0%)	8 (4.7%)	0.161
HPV 66	7 (2.6%)	1 (1.0%)	6 (3.5%)	0.429
HPV 58	7 (2.6%)	1 (1.0%)	6 (3.5%)	0.429
HPV 59	5 (1.8%)	1 (1.0%)	4 (2.3%)	0.655
HPV 39	4 (1.5%)	2 (2.0%)	2 (1.2%)	0.626
HPV 56	4 (1.5%)	0 (0.0%)	4 (2.3%)	0.300
HPV 68	2 (0.7%)	0 (0.0%)	2 (1.2%)	0.533

Tabulka 7.: Prevalence HPV genotypů v anu

	Celkem	Kontroly (n; %)	Studie (n; %)	<i>p</i> ¹⁾
Počet pacientek	272	100	172	
LR genotypy				
HPV 53	19 (7.0%)	4 (4.0%)	15 (8.7%)	0.216
HPV 61	14 (5.1%)	1 (1.0%)	13 (7.6%)	0.028
CP6108	10 (3.7%)	3 (3.0%)	7 (4.1%)	0.750
HPV 62	9 (3.3%)	2 (2.0%)	7 (4.1%)	0.493
HPV 70	6 (2.2%)	0 (0.0%)	6 (3.5%)	0.088
HPV 6	6 (2.2%)	0 (0.0%)	6 (3.5%)	0.088
HPV 55	5 (1.8%)	1 (1.0%)	4 (2.3%)	0.655
HPV 42	4 (1.5%)	1 (1.0%)	3 (1.7%)	1.000
HPV 73	3 (1.1%)	2 (2.0%)	1 (0.6%)	0.557
HPV 84	3 (1.1%)	0 (0.0%)	3 (1.7%)	0.300
HPV 81	2 (0.7%)	1 (1.0%)	1 (0.6%)	1.000
HPV 11	2 (0.7%)	0 (0.0%)	2 (1.2%)	0.533
HPV 26	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.6%)	1.000
HPV 54	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.6%)	1.000
HPV 83	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.6%)	1.000
HR genotypy				
HPV 16	53 (19.5%)	4 (4.0%)	49 (28.5%)	<0.001
HPV 33	12 (4.4%)	4 (4.0%)	8 (4.7%)	1.000
HPV 58	9 (3.3%)	1 (1.0%)	8 (4.7%)	0.161
HPV 51	8 (2.9%)	2 (2.0%)	6 (3.5%)	0.714
HPV 66	8 (2.9%)	2 (2.0%)	6 (3.5%)	0.714
HPV 18	7 (2.6%)	3 (3.0%)	4 (2.3%)	0.710
HPV 52	7 (2.6%)	0 (0.0%)	7 (4.1%)	0.052
HPV 45	5 (1.8%)	3 (3.0%)	2 (1.2%)	0.361
HPV 59	5 (1.8%)	2 (2.0%)	3 (1.7%)	1.000
HPV 31	5 (1.8%)	2 (2.0%)	3 (1.7%)	1.000
HPV 35	2 (0.7%)	2 (2.0%)	0 (0.0%)	0.134
HPV 39	2 (0.7%)	2 (2.0%)	0 (0.0%)	0.134
HPV 68	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.6%)	1.000
HPV 56	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (0.6%)	1.000

Stejné genotypy v děložním hrdle i v anu byly u kombinované cerviko-anální HPV infekce poměrně často. Nejméně identických genotypů bylo u pacientek se společnou infekcí bez cervikální dysplázie (40,0 %; 2/5). U žen se závažnou cervikální lézí a společnou HPV infekcí byly stejné genotypy diagnostikovány významně častěji, a to u 72,2 % (13/18) žen s CIN 2, u 77,6 % (38/49) žen s CIN 3 a dokonce u 100 % (5/5) žen s mikroinvazivním karcinomem (Tab. 5). Genotypová shoda byla více signifikantní pro HR HPV genotypy, kde u společné cerviko-anální infekce dosáhla Jaccardova koeficientu 0,63, zatímco hodnota pro LR genotypy odpovídala koeficientu 0,44 (Tab 8).

Tabulka 8. Podobnost HPV genotypů u rizikových žen s cerviko-anální infekcí (n=73)

	n (%)	Jaccard index (95%CI)	P
Počet pacientek	73 (42.4%)	0.54 (0.45; 0.63)	0.001
Jakýkoliv LR HPV genotyp	19 (11.0%)	0.44 (0.35; 0.63)	0.001
Jakýkoliv HR HPV genotyp	58 (33.7%)	0.63 (0.53; 0.72)	0.001
≥ 1 identický HPV genotyp	57 (33.1%)	0.69 (0.62; 0.76)	0.001
≥ 1 identický LR HPV genotyp	17 (9.9%)	0.48 (0.42; 0.67)	0.001
≥ 1 identický HR HPV genotyp	49 (28.5%)	0.74 (0.65; 0.81)	0.001
Identické všechny HPV genotypy	25 (14.5%)	1.00 (0.00)	

6.5 Faktory ovlivňující prevalenci společné cerviko-anální HPV infekce

Rizikové faktory pro rozvoj cervikální HPV infekce zahrnovaly údaj o více než 5 životních sexuálních partnerech (OR 2,71; 95%CI: 1,16 - 6,33; $p = 0,021$) a dokončené středoškolské vzdělání (OR 2,41; 95%CI: 1,03 - 5,98; $p = 0,048$), pro vícečetnou cervikální infekci to bylo navíc ještě kouření (OR 3,24; 95%CI: 1,35 - 7,80; $p = 0,009$). Pro anální HPV infekci (samostatnou i kombinovanou s cervikální) byly zjištěny jako hlavní rizikové faktory praktikování análního koitu (OR 1,69; 95%CI: 1,05 - 2,77; $p = 0,042$) a nekoitální sexuální anální kontakt (OR 3,14; 95%CI: 1,60 - 6,16; $p = 0,001$), pro vícečetnou anální HPV infekci bylo rizikovým faktorem navíc také kouření (OR 2,33; 95%CI: 1,02 - 5,43; $p = 0,048$) a anamnéza více než 5 sexuálních partnerů za život (OR 2,43; 95%CI: 1,04 - 5,65; $p = 0,041$).

V kohortě 73 žen s kombinovanou cerviko-anální HPV infekcí se jako statisticky významný protektivní faktor ukázalo vysokoškolské vzdělání (OR 0,41; 95%CI: 0,18 - 0,95; $p = 0,045$) a naopak jako statisticky významný rizikový faktor koitální i nekoitální sexuální kontakt s anem (OR 2,43; 95%CI: 0,82 - 2,87; $p = 0,010$). Frekvence análních sexuálních praktik nehrála pro riziko rozvoje anální HPV infekce roli (Tab. 9). Anální koitální i nekoitální sexuální praktiky byly signifikantním rizikovým faktorem pro anální HPV infekci jak u 57 žen s alespoň jedním identickým genotypem (OR 3,27; 95%CI: 1,52 - 7,05; $p = 0,003$), tak i u 25 rizikových žen s kombinovanou HPV infekcí a všemi shodnými genotypy (OR 3,09; 95%CI: 1,02 - 9,35; $p = 0,003$). Žádný jiný sledovaný rizikový faktor nedosahoval statistické významnosti pro rozvoj společné cerviko-anální HPV infekce (Tab. 10).

Tabulka 9.: Potenciální rizikové faktory pro cerviko-anální HPV infekci

Potenciální rizikové faktory		OR (95%CI)	P
Počet gravidit		1.02 (0.84; 1.24)	0.849
Počet porodů		0.91 (0.68; 1.22)	0.534
Uživatelky kombinované hormonální koncepce		0.97 (0.50; 1.88)	0.928
Autoimunitní onemocnění		0.90 (0.39; 2.07)	0.803
Rekonizace (v posledním roce)		0.37 (0.08; 1.86)	0.229
Kouření	Nekuřačky	<i>Referenční skupina</i>	
	1 - 2 krabičky týdně	0.59 (0.25; 1.39)	0.225
	≤ 3 krabičky týdně	1.35 (0.68; 2.70)	0.392
Kouření (ano/ne)		0.99 (0.54; 1.82)	0.985
Anamnéza genitálních kondylomat		0.99 (0.42; 2.31)	0.980
Koitarché	< 16 let	<i>Referenční skupina</i>	
	16 – 18 let	0.58 (0.26; 1.31)	0.190
	> 18 let	0.73 (0.29; 1.83)	0.503
Koitarché > 18 let (kumulativně)		0.91 (0.46; 1.81)	0.792
Počet sexuálních partnerů	1 – 2	<i>Referenční skupina</i>	
	3 – 5	1.15 (0.39; 3.34)	0.802
	6 – 9	1.13 (0.38; 3.41)	0.824
	≥ 10	2.11 (0.66; 6.71)	0.207
> 5 sexuálních partnerů		1.32 (0.71; 2.46)	0.387
Nechráněný vaginální styk	Nikdy	<i>Referenční skupina</i>	
	Občas	0.48 (0.11; 2.07)	0.326
	Vždy	0.39 (0.09; 1.75)	0.220
Nechráněný vaginální styk (občas/vždy)		0.45 (0.11; 1.86)	0.268
Sexuální kontakt s anem	Nikdy	<i>Referenční skupina</i>	
	Příležitostně	2.62 (1.28; 5.35)	0.008
	Často/vždy	1.96 (1.02; 3.73)	0.049
Kontakt s anem (příležitostně/často/vždy)		2.43 (1.23; 4.79)	0.010
Praktikování análního koitu		1.54 (0.82; 2.87)	0.176
Vzdělání	Základní/vyučena	<i>Referenční skupina</i>	
	Středoškolské	1.22 (0.62; 2.37)	0.565
	Vysokoškolské	0.41 (0.18; 0.95)	0.045

Tabulka 10. Potenciální rizikové faktory pro vícegenotypovou cerviko-anální HPV infekci

Potenciální rizikové faktory		OR (95%CI)	P
Počet gravidit		1.06 (0.86; 1.30)	0.573
Počet porodů		0.87 (0.63; 1.21)	0.409
Uživatelky kombinované hormonální koncepce		0.65 (0.32; 1.30)	0.226
Autoimunitní onemocnění		0.66 (0.26; 1.68)	0.383
Rekonizace (v posledním roce)		0.57 (0.11; 2.84)	0.492
Kouření	Nekuřačky	<i>Referenční skupina</i>	
	1 - 2 krabičky týdně	0.71 (0.28; 1.79)	0.470
	≤ 3 krabičky týdně	1.63 (0.80; 3.34)	0.178
Kouření (ano/ne)		1.22 (0.64; 2.30)	0.548
Anamnéza genitálních kondylomat		1.08 (0.45; 2.61)	0.864
Koitaryché	< 16 let	<i>Referenční skupina</i>	
	16 – 18 let	0.58 (0.25; 1.35)	0.209
	> 18 let	0.92 (0.36; 2.35)	0.867
Koitaryché > 18 let (kumulativně)		0.73 (0.36; 1.49)	0.390
Počet sexuálních partnerů	1 – 2	<i>Referenční skupina</i>	
	3 – 5	0.97 (0.32; 2.98)	0.963
	6 – 9	0.98 (0.31; 3.10)	0.974
	≥ 10	1.33 (0.40; 4.40)	0.643
> 5 sexuálních partnerů		1.14 (0.59; 2.19)	0.699
Nechráněný vaginální styk	Nikdy	<i>Referenční skupina</i>	
	Občas	0.52 (0.12; 2.23)	0.377
	Vždy	0.36 (0.08; 1.67)	0.194
Nechráněný vaginální styk (občas/vždy)		0.46 (0.11; 1.92)	0.284
Sexuální kontakt s anem (příležitostně/často/vždy)		3.27 (1.52; 7.05)	0.003
Praktikování análního koitu		1.64 (0.86; 3.14)	0.136
Vzdělání	Základní/vyučena	<i>Referenční skupina</i>	
	Středoškolské	0.78 (0.39; 1.55)	0.472
	Vysokoškolské	0.40 (0.14; 1.14)	0.086

7. Diskuze

Naše práce se jako první věnovala prevalenci cerviko-anální HPV infekce u pacientek, které podstoupily konizaci děložního hrdla pro těžkou prekancerózu nebo mikroinvazivní karcinom. Prevalence společné cerviko-anální HPV infekce byla u žen s těžkou cervikální intraepiteliální neoplazií nebo mikroinvazivním karcinomem ve srovnání s kontrolní skupinou přítomna signifikantně častěji. Ve studovaném souboru byla prokázána společná cerviko-anální HPV infekce u téměř poloviny pacientek (42,4 %; 73/172) s CIN 2+. Frekvence byla 5,3krát častější než byla prevalence společné cerviko-anální HPV infekce u nízcervikových žen v kontrolní skupině. Je zajímavé, že uvedený rozdíl odpovídá vyšší frekvenci výskytu análního karcinomu v populaci žen s anamnézou cervikální léze [Edgren, 2007]. Prevalence společné cerviko-anální HPV infekce v souboru navíc statisticky významně narůstala se stupněm závažnosti prekancerózy děložního hrdla. Závislost frekvence nálezu cerviko-anální HPV infekce na stupni závažnosti genitální prekancerózy nebyla ještě v literatuře popsána [Sehnal, 2014].

Společná cerviko-anální HPV infekce byla dosud studována pouze na zdravotně nezatížené populaci [Hernandez, 2005]. V rozsáhlé práci z Havaje byla v souboru 1 363 zdravých žen samostatná anální HPV infekce detekována u 14 % (191/1 363) a společná cerviko-anální HPV infekce u 13 % (178/1 363) žen [Hernandez, 2005]. Uvedená prevalence společné cerviko-anální HPV infekce odpovídá v našem souboru prevalenci u pacientek s anamnézou nálezu CIN 1 (15,8 %), ale je dvojnásobně vyšší než u žen, u nichž nebyla zjištěna žádná cervikální patologie (6,2 %).

V práci, která sledovala pouze prevalenci anální HPV infekce u žen s prekancerózou nebo karcinomem děložního hrdla a vulvy, byla zjištěna podobně vysoká četnost HPV infekce v anu jako frekvence cerviko-anální infekce v našem souboru. Autoři v kohortě 102 pacientek s patologií děložního hrdla nebo vulvy získali u 92 (90 %) žen suficientní vzorek z anu pro detekci HPV DNA. Anální HPV infekce byla následně prokázána u 51 % (47/92) pacientek. U 70 % žen byly zjištěny HR HPV

genotypy a více než 1/3 z nich byla infikována genotypy HPV 16 nebo HPV 18 [Park, 2009]. Na druhou stranu, u zdravých žen bez genitální léze byla samostatná anální infekce nalezena výrazně méně [Hernandez, 2005; Goodman, 2010; Shvetsov, 2009; Goodman, 2008]. Podobně i v našem souboru byla anální infekce v kontrolní skupině zjištěna jen u 26 % (26/100) pacientek.

Dominantním genotypem nalezeným v děložním hrdle i v anu byl v celém našem souboru HPV 16. V anu byl HPV 16 detekován u 59,0 % (49/83) vysocerizikových žen a u 15,4 % (4/26) nízcerezikových žen s prokázanou anální infekcí. Ostatní genotypy HPV byly v anu výrazně vzácnější. Genotyp HPV 16 převažoval u anální infekce i v práci Parka et al., kteří zjistili jeho prevalenci 29,8 % (14/47) u žen s patologickou lézí dolního genitálního traktu. Stejně jako v našem souboru referují o významně nižší frekvenci jiných genotypů. Jako další nejčastěji zachycené genotypy uvádí HPV 6 (17,0 %; 8/47) a HPV 53 (14,9 %; 7/47) [Park, 2009]. V naší kohortě byl druhým nejvíce zastoupeným genotypem v anu u vysocerizikových žen s prokázanou anální infekcí genotyp HPV 53 (18,1 %; 15/83), zatímco prevalence žádného jiného genotypu již nepřesáhla 10 %. V práci hodnotící zastoupení genotypů HPV v histologicky potvrzených těžkých AIN (anální intraepiteliální neoplazie) a análních karcinomech byla zjištěna přítomnost HPV 16 u 68 % případů [Wong, 2010]. Podobnou prevalenci HPV 16 u AIN 2/3 (59,8 %) a análních karcinomů (73,4 %) uvádí i rozsáhlá metaanalýza 93 prací [De Vuyst, 2009].

Vysoká četnost nálezu HPV 16 u pacientek s onkologicky relevantním nálezem na dolním genitálním traktu nebo v anu je v ostrém kontrastu k řídkým nálezům HPV 16 v anu u obecně zdravé populace. Ve velké studii z Havaje bylo u nízcerezikových žen pouze 7 % análních infekcí způsobeno HPV 16 [Hernandez, 2005]. Je zajímavé, že u nízcerezikových žen je distribuce genotypů HPV v anu daleko více rovnoměrná. V našem kontrolním souboru byly genotypy HPV 16, HPV 33 a HPV 53 zjištěny vždy shodně u 15,4 % (4/26) žen a genotypy HPV 18, HPV 45 a HPV CP6108 také shodně vždy u 11,5 % (3/26) žen. Uvedenému rozložení odpovídá nález v HPV infekce anu u nízcerezikových žen ve studii z Havaje, kde byl nejvíce zastoupeným genotypem HPV

84 (8 %) a genotypy HPV 16, HPV 51, HPV 53 a HPV 62 byly detekovány shodně u 7 % žen [Hernandez, 2005].

Samostatná anální infekce genotypem HPV 16 bez přítomné cervikální je vzácná a v naší práci byla nalezena jen u 1,2 % žen s CIN 2+ a u 2,0 % žen v kontrolní skupině. Relativně malé zastoupení HPV 16 u izolované anální HPV infekce je způsobeno mimo jiné i malým počtem pacientek s izolovanou anální HPV infekcí způsobenou HR genotypy. Pouze u 5,8 % vysocerizikových žen byla detekována izolovaná anální HPV infekce na rozdíl od 18,0 % žen v kontrolní skupině, kde ale převládala infekce LR genotypy. Třebaže byla u nízcerizikových žen prevalence izolované anální HPV infekce vyšší, u rizikových žen s CIN 2+ byla většina prokázaných análních infekcí kombinovaná se současnou cervikální infekcí [Sehnal, 2014] .

Pacientky se společnou cerviko-anální HPV infekcí jsou často infikovány identickými HPV genotypy v děložním hrdle i v anu [Hernandez, 2005; Valari 2011]. Alespoň jeden identický genotyp v obou lokalitách byl v naší práci zjištěn u 78,1 % (57/73) vysocerizikových pacientek se společnou cerviko-anální HPV infekcí. Zcela identické genotypy byly detekovány u 34,2 % (25/73) žen. U více než poloviny žen s CIN 2+ (53,4 %; 39/73) byl detekován v obou anatomických lokalitách genotyp HPV 16. U nejrizikovějších pacientek s CIN 3+ (CIN 3 nebo mikroinvazivní cervikální karcinom) byl HPV 16 v obou lokalitách prokázán dokonce u 59,3 % (32/54) žen. Podíl žen s identickými genotypy v děložním hrdle i v anu se ale příliš nelišil u nízcerizikových a vysocerizikových žen, rozdíl byl obvykle pouze v zastoupení HR genotypů, které dominovaly u žen s CIN 2+. Hernandez et al. prokázali alespoň jeden identický genotype u 79 % a úplnou shodu genotypů v děložním hrdle i v anu u 26 % nízcerizikových žen se společnou cerviko-anální HPV infekcí [Hernandez, 2005]. Valari et al. detekovali ve smíšené populaci vysocerizikových a nízcerizikových žen se společnou cerviko-anální HPV infekcí alespoň jeden identický genotyp u 74 % a úplnou shodu genotypů v obou lokalitách u 25 % žen [Valari, 2011]. Naše práce zjistila alespoň jeden identický genotype u 62,5 % (5/8) nízcerizikových žen se společnou cerviko-anální HPV infekcí, ale celkový počet žen v této kohortě byl velmi malý, a výsledek proto není statisticky signifikantní.

Infekce více HPV genotypy současně byla v našem souboru méně častá než infekce způsobená jedním genotypem. Více genotypů HPV bylo častěji detekováno v děložním hrdle než v anu (22,1 % vs. 16,9 %). Častěji byla infekce více genotypy HPV zjištěna také ve skupině vysocerizikových žen s CIN 2+, kde bylo v anu 22,1 % (38/172) žen infikováno více genotypy ve srovnání s 8,0 % (8/100) nízcerezikových žen. Podobné údaje byly prezentovány i v jiných studiích, kde byla vícegenotypová anální HPV infekce diagnostikována u 23 – 36 % vysocerizikových žen se současnou prekancerózou nebo karcinomem dolního genitálního traktu nebo s přítomnou infekcí HIV [Palefsky, 2001; Park, 2009]. Častěji byla HPV infekce více genotypy zjištěna v děložním hrdle (průměrně 2,1 genotypu) ve srovnání s infekcí více genotypy v anu (průměr 1,9 genotypu) také v populaci obecně zdravých žen [Hernandez, 2005]. Klinický význam vícegenotypové HPV infekce není plně objasněn [Hayanga, 2006; Frisch, 1993]. Nicméně u homosexuálních mužů, kteří aktivně praktikují anální koitus, je vícegenotypová anální HPV infekce často spojena s přítomností AIN 2/3 [Palefsky, 2005].

Podobné údaje ale nejsou dostupné pro ženskou populaci. Ze závěrů některých prací však vyplývá odlišný tropismus různých genotypů HPV ke sliznici děložního hrdla a anu [Hernandez, 2005]. Hernandez et al. také spekulují, že ženy s vícegenotypovou anální HPV infekcí mají z důvodu poruch imunity nebo jiných příčin obecně větší predispozici k infekční nákaze [Hernandez, 2005]. Vzhledem k faktu, že LR genotypy mají delší dobu do eliminace z anu než HR genotypy, by mohla smíšená vícegenotypová způsobit delší perzistenci i HR genotypů [Svetsov, 2009]. Na druhou stranu se předpokládá, že mnohem důležitější skutečnost je přítomnost konkrétního HR genotypu, zejména pak HPV 16, než zda je infekce způsobená jedním nebo několika genotypy.

Dosud publikované práce retrospektivně analyzovaly rizikové faktory rozvoje análního karcinomu v souborech pacientů s AIN a karcinomem anu. Opakovaně doložily, že anamnéza genitální (cervikální, vulvální, vaginální) prekancerózy či karcinomu je silným rizikovým faktorem pro budoucí rozvoj AIN 2/3 a análního

karcinom [Daling, 2007; Dixon 1991; Edgren, 2007; Giraldo, 2009; Moscicki, 1999; Santoso, 2010; Scholefield, 1989; Stanley, 2012; Tatti, 2012; Veo, 2008]. Ženy s anamnézou CIN 2+ mají dokonce až 5krát vyšší incidenci análního karcinomu než ostatní populace [Edgren, 2007]. Karcinomy děložního hrdla a anu mají řadu paralel a rizikové faktory, mezi které patří perzistující infekce HR HPV genotypy, některé aspekty sexuálního chování, kouření, imunosuprese a imunodeficience, jsou proto shodně pro oba nádory [De Vuyst, 2009; Freitag, 1998; Goodman, 2010; Williams, 1994].

Zásadním rizikovým faktorem a současně i etiopatogenetickým činitelem je přítomnost HR HPV infekce. Za rezervoár infekce je považována oblast dolního genitálního traktu a především pak děložní hrdlo [Hernandez, 2005; Valari, 2011]. Předpoklad šíření HPV infekce z děložního hrdla podporuje i vysoká genotypová shoda u společné cerviko-anální HPV infekce. Rizikové sexuální chování ale nutně nemusí být v přímé souvislosti s vyšší frekvencí anální HPV infekce. Praktikování penetrativního análního koitu dokonce není podle řady autorů signifikantně spojeno s vyšší detekcí anální HPV infekce [Hernandez, 2005; Palefsky, 2001; Williams, 1994;]. Naše práce však oproti ostatním prokázala signifikantní riziko vzniku anální infekce u žen, které praktikují jakoukoliv formu análního sexu [Sehnal, 2014; Sláma, 2014].

Při podrobnější analýze análních sexuálních praktik, která v literatuře dosud nebyla publikována, bylo v naší práci zjištěno, že se riziko anální HPV infekce zvyšuje zejména u žen praktikujících nepenetrativní anální sex s oro-análním kontaktem nebo pouhými "skin-to-skin" dotyky do oblasti anu [Sehnal, 2014; Sláma, 2014]. Navíc ženy s anamnézou sexuálních kontaktů s anem zahrnovaly i pacientky s nejzávažnějšími lézemi - CIN 3 a mikroinvazivním cervikálním karcinomem. Zjištění, že anální styk není pro přenos HPV infekce do anu nutný, je ve shodě s výsledky práce, která u 44,5 % (81/182) HIV infikovaných a HIV negativních žen s rizikovým sexuálním chováním s prokázanou anální HPV infekcí nedoložila praktikování análního penetrativního styku [Palefsky, 2001].

Ostatní rizikové faktory mají pro vznik anální HPV infekce a rozvoj análního karcinomu pravděpodobně nižší význam než je tomu u karcinomu děložního hrdla.

Práce Parka et al. neprokázala statisticky významný vliv dokonce žádného ze sledovaných rizikových faktorů (kouření, přítomnost autoimunitního onemocnění, anamnéza sexuálně přenosných nemocí včetně kondylomat, koitarché před 17. rokem, více než 10 sexuálních partnerů za život, nechráněný vaginální styk, anamnestický či aktivně prováděný anální koitus, nízké socioekonomické postavení) na prevalenci anální HPV infekce [Park, 2009]. Výsledky dotazníkového šetření v naší práci přinesly s výjimkou análních sexuálních praktik obdobné závěry pro skupinu cerviko-análních infekcí s detekcí jediného genotypu [Sláma, 2014].

Při hodnocení rizikových faktorů pro rozvoj vícegenotypové společné HPV infekce děložního hrdla a anu bylo zjištěno širší spektrum signifikantních rizikových faktorů. Ženy s CIN 2+ a se zjištěnou společnou cerviko-anální vícegenotypovou HPV infekcí kromě penetrativního a nepenetrativního análního sexu uváděly častěji více než 5 životních sexuálních partnerů. Podobná závislost byla nalezena i u kouření, zvláště u těžkých kuřáček se spotřebou více než 60 cigaret týdně.

ZÁVĚR

Naše práce jako první popsala prevalenci anální a společné cerviko-anální HPV infekce v populaci českých žen s těžkou prekancerózou děložního hrdla a mikroinvazivním karcinomem děložního hrdla. Výsledky potvrdily hypotézu, že ve skupině žen se závažnou cervikální patologií je frekvence společné cerviko-anální HPV infekce signifikantně vyšší než v obecně zdravé populaci. Velmi zajímavým zjištěním bylo, že frekvence cerviko-anální infekce, která byla téměř 5krát častější u žen s cervikální patologií, odpovídá frekvenci výskytu análního karcinomu u žen s genitální neoplazií.

Prioritním nálezem v naší práci byl popis signifikantního nárůstu prevalence společné cerviko-anální HPV infekce spolu s narůstajícím stupněm závažnosti cervikální léze. Statisticky signifikantní rozdíl v prevalenci společné cerviko-anální HPV infekce byl pozorován při srovnání žen s nejzávažnějšími histologickými nálezy (CIN 3/CIS a mikroinvazivní karcinom FIGO IA1 a IA2), žen s CIN 2 a kontrolní skupinou. Důležitým poznatkem byla srovnatelná frekvence výskytu cerviko-anální HPV infekce mezi pacientkami s těžkou prekancerózou a mikroinvazivním karcinomem.

Dominantní genotypem zjištěným v kohortě žen s prokázanou HPV infekcí byl HPV 16. Průkaz HPV 16 byl výrazně častější u pacientek s CIN 2+ než u žen v kontrolní skupině. HPV 16 byl nejčastěji detekovaným genotypem v obou anatomických lokalitách u žen se společnou cerviko-anální HPV infekcí a navíc byl signifikantně častěji detekován u pacientek s nejzávažnějšími nálezy na děložním hrdle - CIN 3 a mikroinvazivním karcinomem děložního hrdla.

Hodnocení rizikových faktorů pro rozvoj anální HPV infekce ukázalo, že nejvýznamnějším rizikovým faktorem je samotná přítomnost cervikální HPV infekce a vyšší stupeň závažnosti cervikální léze. V sexuálním chování dominoval jako nejvýznamnější rizikový faktor jakýkoliv typ sexuálního kontaktu s anální oblastí.

Pro anální infekci více genotypy byly rizikovými faktory navíc i praktikování penetrativního análního styku, silný abusus tabáku (kouření více než 60 cigaret za týden) a více než 5 sexuálních partnerů za dosavadní život.

Výsledky naší práce přinesly několik prioritních zjištění, která by mohla být základem pro přesnější selekci skupiny žen s vysokým rizikem rozvoje závažné patologie anu v budoucnosti. Skupině žen s anamnézou ošetření nejzávažnější prekancerózy děložního hrdla nebo cervikálního karcinomu s prokázanou infekcí HPV 16 a anamnézou rizikového sexuálního chování by mohlo být doporučeno testování přítomnosti anální HPV infekce. Pozitivní případy by pak bylo vhodné pravidelně dispenzarizovat.

Ve výzkumném záměru, který byl základem disertační práce, je nadále pokračováno. Kohorta pacientek léčených pro závažnou cervikální patologii, u kterých je provedena HPV testace a genotypizace z děložního hrdla a anu, je rozšiřována. Kromě detekce anální HPV infekce je nově předmětem vědeckého zájmu u stejné skupiny žen také detekce HPV infekce v orofaryngeální oblasti. Součástí pokračujícího výzkumu je i sledování všech pozitivně testovaných žen s cílem posoudit vývoj anální a cerviko-anální HPV infekce v čase a zhodnotit význam eliminace infekce z děložního hrdla konizací pro další průběh anální infekce.

LITERATURA

1. Abbasakoor F, Boulos PB. Anal intraepithelial neoplasia. *Br J Surg* 2005; 92: 277–290.
2. American Cancer Society. *Cancer facts and figures*. Atlanta: American Cancer Society 2012.
3. Bouvard V, Baan R, Straif K et al. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol* 2009; 10(4): 321-322.
4. Brewster DH, Bhatti LA. Increasing incidence of squamous cell carcinoma of the anus in Scotland, 1975–2002. *Br J Cancer* 2006; 95: 87–90.
5. Carter JJ, Koutsky LA, Hughes JP et al. Comparison of human papillomavirus types 16, 18, and 6 capsid antibody responses following incident infection. *J Infect Dis* 2000; 181: 1911–1919.
6. Ciuffo G. Innesto positivo con filtrato di verruca volgare. *Giorn Ital Mal Venereol* 1907; 48: 12-17.
7. Daling JR, Madeleine MM, Johnson LG et al. Human papillomavirus, smoking, and sexual practices in the etiology of anal cancer. *Cancer* 2004; 101: 270–280.
8. Daling JR. Risk of anogenital cancer in women with CIN. *Lancet Oncol* 2007; 8(4): 281-282.
9. Daling JR, Sherman KJ, Hislop TG et al. Cigarette smoking and the risk of anogenital cancer. *Am J Epidemiol* 1992; 135: 180–189.
10. De Vuyst H, Clifford GM, Nascimento MC et al. Prevalence and type distribution of human papillomavirus in carcinoma and intraepithelial neoplasia of the vulva, vagina and anus: a meta-analysis. *Int J Cancer* 2009; 124(7): 1626-1636.

11. Della Torre G, Pilotti S, de Palo G, Rilke F. Viral particles in cervical condylomatous lesions. *Tumori* 1978; 64: 549-553.
12. Dixon AR, Pringle JH, Holmes JT, Watkin DFL. Cervical intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma of the anus in sexually active women. *Postgrad Med J* 1991; 67: 557 – 559.
13. Donà MG, Palamara G, Di Carlo A et al. Prevalence, genotype diversity and determinant of anal HPV infection in HIV-uninfected men having sex with men. *J Clin Virol* 2012;54(2): 185-189.
14. Driák D, Sehnal B. Význam infekcí způsobených lidskými papilomaviry. *Čas Lék Čes* 2013; 152: 15-19.
15. Edgren G, Sparen P. Risk of anogenital cancer after diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia: a prospective population-based study. *Lancet Oncol* 2007; 8(4): 311–316.
16. Fehrmann F, Laimins LA. Human papillomaviruses: targeting differentiating epithelial cells for malignant transformation. *Oncogene* 2003; 22: 5201-5207.
17. Freitag, P. Papillomavirové infekce v gynekologii. Praha, Triton, 1998.
18. Frisch M, Fenger C, van den Brule AJ et al. Variants of squamous cell carcinoma of the anal canal and perianal skin and their relation to human papillomaviruses. *Cancer Res* 1999; 59: 753-757.
19. Frisch M, Glimelius B, van den Brule AJ et al. Sexually transmitted infection as a cause of anal cancer. *N Engl J Med* 1997; 337: 1350–1358.
20. Frisch M, Melbye M, Moller H. Trends in incidence of anal cancer in Denmark. *BMJ* 1993; 306: 419–422.
21. Giraldo P, Jacyntho C, Costa C et al. Prevalence of anal squamous intra-epithelial lesion in women presenting genital squamous intra-epithelial lesion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009 ; 142(1): 73-75.

22. Goodman MT, Shvetsov YB, McDuffie K et al. Acquisition of anal human papillomavirus (HPV) infection in women: the Hawaii HPV Cohort study. *J Infect Dis* 2008; 197(7): 957–966.
23. Goodman MT, Shvetsov YB, McDuffie K et al. Prevalence, acquisition, and clearance of cervical human papillomavirus infection among women with normal cytology: Hawaii HPV cohort study. *Cancer Research* 2008; 68(21): 8813-8824.
24. Goodman MT, Shvetsov YB, McDuffie K et al. Sequential acquisition of human papillomavirus (HPV) infection of the anus and cervix: the Hawaii HPV Cohort Study. *J Infect Dis* 2010; 201(9): 1331-1339.
25. Hayanga AJ. When to test women for human papillomavirus: take this opportunity to screen for anal cancer too. *BMJ* 2006; 332(7535): 237.
26. Hernandez BY, McDuffie K, Zhu X et al. Anal Human Papillomavirus Infection in Women and Its Relationship with Cervical Infection. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14(11): 2550–2556.
27. Holly EA, Ralston ML, Darragh TM et al. Prevalence and risk factors for anal squamous intraepithelial lesions in women. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 843–849.
28. Chiao EY, Krown SE, Stier EA, Schrag D. A population-based analysis of temporal trends in the incidence of squamous anal canal cancer in relation to the HIV epidemic. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 40: 451–455.
29. Chin-Hong PV, Vittinghoff E, Cranston RD et al. Age-specific prevalence of anal human papillomavirus infection in HIV-negative sexually active men who have sex with men: the EXPLORE study. *J Infect. Dis* 2004; 190(12): 2070–2076.
30. Koshiol JE, Schroeder JC, Jamieson DJ et al. Time to clearance of human papillomavirus infection by type and human immunodeficiency virus serostatus. *Int J Cancer* 2006; 119: 1623–1629.

31. Lavery CR, Booth N, Hills E et al. Noncondylomatous wart virus infection of the postmenopausal cervix. *Pathology* 1978; 10: 373-378.
32. Moscicki AB, Hills NK, Shiboski S et al. Risk factors for abnormal anal cytology in young heterosexual women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8(2): 173-178.
33. Moscicki AB, Durako SJ, Houser J et al. Human papillomavirus infection and abnormal cytology of the anus in HIV-infected and uninfected adolescents. *AIDS* 2003; 17: 311–320.
34. Moscicki AB, Hills NK, Shiboski S et al. Risk factors for abnormal anal cytology in young heterosexual women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8: 173–178.
35. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-527.
36. Ogunbiyi OA, Scholefield JH, Robertson G et al. Anal human papillomavirus infection and squamous neoplasia in patients with invasive vulvar cancer. *Obstet Gynecol* 1994; 83(2): 212–216.
37. Origoni M, Stefani C, Dell'Antonio G et al. Cervical Human Papillomavirus in transplanted Italian women: a long-term prospective follow-up study. *J Clin Virol* 2011; 51(4): 250-254.
38. Palefsky JM, Holly EA, Ralston ML et al. Prevalence and risk factors for anal human papillomavirus infection in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and high-risk HIVnegative women. *J Infect Dis* 2001; 183: 383–391.
39. Palefsky JM. Human papillomavirus infection and anogenital neoplasia in human immunodeficiency virus-positive men and women. *J Natl Cancer Inst Monogr* 1998; 23: 15-20.

40. Park IU, Ogilvie JW Jr, Anderson KE et al. Anal human papillomavirus infection and abnormal anal cytology in women with genital neoplasia. *Gynecol Oncol* 2009; 114: 399-403.
41. Parkin DM, Bray F. The burden of HPV-related cancers. *Vaccine* 2006; 24(Suppl 3): 11–25.
42. Piketty C, Darragh TM, Da Costa M et al. High prevalence of anal human papillomavirus infection and anal cancer precursors among HIV-infected persons in the absence of anal intercourse. *Ann Intern Med* 2003; 138: 453–459.
43. Santoso JT, Long M, Crigger M et al. Anal intraepithelial neoplasia in women with genital intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 2010; 116(3): 578-582.
44. Sehnal B, Dusek L, Cibula D et al. The relationship between the cervical and anal HPV infection in women with cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Virol* 2014; 59: 18-23.
45. Shvetsov YB, Hernandez BY, McDuffie K et al. Duration and clearance of anal human papillomavirus (HPV) infection among women: the Hawaii HPV cohort study. *Clin Infect Dis* 2009; 48(5): 536-546.
46. Scholefield JH, Hickson WG, Smith JH et al. Anal intraepithelial neoplasia: a part of a multifocal disease process. *Lancet* 1992; 340: 1271–1273.
47. Scholefield JH, Sonnex C, Talbot IC et al. Anal and cervical intraepithelial neoplasia: possible parallel. *Lancet* 1989; 2: 765–769.
48. Schwarz TF. ASO4-adjuvanted human papillomavirus – 16/18 vaccination: recent advances in cervical cancer prevention. *Expert Rev Vaccines* 2008; 7: 1465-1473.
49. Slama J, Sehnal B, Dusek L et al. Impact of risk factors on prevalence of anal HPV infection in women with simultaneous cervical lesion. *Neoplasma*. In press.

50. Spitzer M. Human papillomavirus: epidemiology, natural history, and clinical sequelae. *OBG Management* 2006; 18: S5-S10.
51. Stanley MA, Winder DM, Sterling JC, Goon PKC. HPV infection, anal intraepithelial neoplasia (AIN) and anal cancer: current issues. Stanley et al. *BMC Cancer* 2012, 12: 398.
52. Tachezy R, Smahelova J, Salakova M et al. Human papillomavirus genotype distribution in Czech women and men with diseases etiologically linked to HPV. *PLoS One* 2011; 6(7): e21913.
53. Tatti S, Suzuki V, Fleider L et al. Anal intraepithelial lesions in women with human papillomavirus-related disease. *J Low Genit Tract Dis* 2012; 16(4): 454-459.
54. Tjalma WA, Fiander A, Reich O et al. Differences in human papillomavirus type distribution in high-grade cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer in Europe *Int. J. Cancer* 2013; 132: 854–867.
55. Trollfors B. Human papillomavirus vaccines: an outsider's point of view. *Expert Rev Vaccines* 2008; 7: 1131-1133.
56. Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine* 2006; 24(Suppl 1): 1–15.
57. Valari O, Koliopoulos G, Karakitsos P et al. Human papillomavirus DNA and mRNA positivity of the anal canal in women with lower genital tract HPV lesions: predictors and clinical implications. *Gynecol Oncol* 2011; 122(3): 505-508.
58. Véo CA, Saad SS, Nicolau SM et al. Study on the prevalence of human papillomavirus in the anal canal of women with cervical intraepithelial neoplasia grade III. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008; 140(1): 103-107.
59. Viscidi RP, Schiffman M, Hildesheim A et al. Seroreactivity to human papillomavirus (HPV) types 16, 18, or 31 and risk of subsequent HPV infection:

- results from a population-based study in Costa Rica. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 324–327.
60. Vonka V, Kanka J, Hirsch I et al. Prospective study on the relationship between cervical neoplasia and herpes simplex type-2 virus. II. Herpes simplex type-2 antibody presence in sera taken at enrollment. *Int J Cancer* 1984; 33(1): 61-66.
 61. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189(1): 12-19.
 62. White EA, Sowa ME, Tan MJ et al. Systematic identification of interactions between host cell proteins and E7 oncoproteins from diverse human papillomaviruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109: E260-E267.
 63. Williams AB, Darragh TM, Vranizan K et al. Anal and cervical human papillomavirus infection and risk of anal and cervical epithelial abnormalities in human immunodeficiency virus-infected women. *Obstet Gynecol* 1994; 83: 205–211.
 64. Winer RL, Lee SK, Hughes JP et al. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol* 2003; 157: 218–226.
 65. Wong AK, Chan RC, Aggarwal N et al. Human papillomavirus genotypes in anal intraepithelial neoplasia and anal carcinoma as detected in tissue biopsies. *Modern Pathology* 2010; 23: 144–150.
 66. www.svod.cz [internetova stranka]. Český národní webový portál epidemiologie nádorů. System pro vizualizaci onkologických dat. Institut biostatistiky a analyz Lékařské a Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity (IBA MU). Dostupný z: <http://www.svod.cz>.
 67. Zaki SR, Judd R, Coffield LM. Human papillomavirus infection and anal carcinoma: retrospective analysis by in situ hybridization and the polymerase chain reaction. *Am J Path* 1992; 140(6): 1345-1355.

68. Zandberg DP, Bhargava R, Badin S et al. The Role of Human Papillomavirus in Nongenital Cancers. *CA Cancer J Clin* 2013; 63: 57–81.
69. zur Hausen H. Human genital cancer: synergism between two virus infections or synergism between a virus infection and initiating events? *Lancet*. 1982; 2(8312): 1370–1372.

PŘÍLOHA

Příloha č. 1: Dotazník zaměřený na rizikové faktory pro společnou cerviko-anální HPV infekci

DOTAZNÍK

Identifikační číslo pacienta.....

Vyplňte, prosím, dotazník vypracovaný podle evropských standardů Sexuologickým ústavem 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy. Informace jsou zcela důvěrné a budou použity využití výhradně pro vědecký výzkum při naprostém zachování Vaší anonymity.

V každé otázce dejte do kroužku číslici u toho řádku, který nejlépe vystihuje Váš současný stav.

Cigaret vykouřím průměrně za týden

- 0 – žádnou za posledních 6 měsíců
- 1 – asi jednu krabičku (do 3 cigaret denně)
- 2 – asi dvě krabičky (asi 4-6 cigaret denně)
- 3 – asi tři až čtyři krabičky (asi 7-11 cigaret denně)
- 4 – čtyři až sedm krabiček (asi 12-20 cigaret denně)
- 5 – více než sedm krabiček (více než 20 cigaret denně)

Byla jsem léčena pro kondylomata acuminata (bradavičky na zevním genitálu)

- 0 – nikdy, ale můj partner byl léčen
- 1 – nikdy
- 2 – ne v posledních 6 měsících
- 3 – jednou, po léčbě jsem byla bez obtíží
- 4 – dvakrát i více, ale po léčbě jsem vždy alespoň 6–12 měsíců bez potíží
- 5 – opakovaně, mám dlouhodobé potíže

První soulož jsem měla ve věku:

- 1 – po 21. roce života
- 2 – mezi 18. a 21. rokem života
- 3 – mezi 17. a 18. rokem života
- 4 – mezi 16. a 17. rokem života
- 5 – před 16. rokem života

Celkem jsem měla sexuálních známostí:

- 1 – jednu
- 2 – dvě
- 3 – tři až pět
- 4 – šest až devět
- 5 – deset a více

Jak často provozuji nechráněný pohlavní styk (bez kondomu)

- 0 – nikdy (vždy s kondomem)
- 1 – někdy, spíše výjimečně
- 2 – u náhodných známostí vždy s kondomem
- 3 – u náhodných známostí většinou s kondomem
- 4 – u náhodných známostí vždy s kondomem a se stálým partnerem většinou nechráněný
- 5 – vždy nechráněný (bez kondomu)

Jak často dochází při sexuálním kontaktu k dotyku na konečník (prsty, pohlavním orgánem, ústy)

- 0 – nikdy
- 1 – výjimečně
- 2 – často
- 3 – téměř vždy

Jak často provozuji anální pohlavní styk (penis do konečníku)

- 0 – nikdy
- 1 – výjimečně, nikdy u náhodných známostí
- 2 – méně než v polovině sexuálních aktivit
- 3 – asi v polovině případů a to i u náhodných známostí
- 4 – často i u náhodných známostí
- 5 – téměř vždy

Užívám hormonální tablety (kontracepce a hormonální terapie)

- 0 - neužívám
- 1 – užívám kombinovanou estrogen-progesteronovou antikoncepci (většina preparátů)
- 2 – mám zavedeno nitroděložní tělísko IUD
- 3 - užívám čistě gestagenní antikoncepci (užívá se např. při kojení)
- 4 - užívám hormonální substituční léčbu (při nebo po přechodu)

Mám nějaké autoimunitní onemocnění

- 0 – ne
- 1 – ano

Podstoupila jsem očkování proti rakovině děložního čípku

- 0 – ne
- 1 – očkování vakcínou Cervarix
- 2 – očkování vakcínou Silgard

Ukončené vzdělání

- 1 – základní
- 2 – vyučen
- 3 – maturita
- 4 – nástavba, bakalář
- 5 – vysokoškolské
- 6 – postgraduální

SEZNAM PUBLIKOVANÝCH PRACÍ

Seznam publikovaných prací ve vztahu k disertační práci

1. SEHNAL B, DUSEK L, CIBULA D, ZIMA T, HALASKA M, DRIAK D, SLAMA J. The relationship between the cervical and anal HPV infection in women with cervical intraepithelial neoplasia. *Journal of Clinical Virology* 2014; 59: 18-23. **IF = 3,287**
2. SEHNAL B, CIBULA D, SLAMA J. Factors Influencing Decisions about Surgical Treatment of Cervical PreCancerous Lesions. *Expert Rev Anticancer Ther* 2014; 14(4): 441-451. **IF = 2,066**
3. SLÁMA J, SEHNAL B, DUSEK L, ZIMA T, CIBULA D. Impact of risk factors on prevalence of anal HPV infection in women with simultaneous cervical lesion. *Neoplasma*. In press. **IF = 1,642**
4. SEHNAL B, DRIÁK D, NEUMANNOVÁ H, MAXOVÁ K, FILOVÁ P, SLÁMA J. Očkování proti HPV infekci – pohled gynekologa. *Vakcinologie* 2012; 6 (2): 66-75.
5. SEHNAL B, DRIÁK D, NEUMANNOVÁ H, DVORSKÁ M, KOLAŘÍK D, MENZLOVÁ E, HALAŠKA M, SLÁMA J. Prevalence anální HPV infekce u žen a její vztah k cervikální HPV infekci. *Čes Gynek* 2012; 77(3): 210-214.
6. DRIÁK D, SEHNAL B. Význam infekcí způsobených lidskými papilomaviry. *Čas Lék Česk* 2013; 152(1): 15-19.
7. SEHNAL B. Nové poznatky o účinnosti HPV vakcinace. *Acta Medicinæ* 2013; 2(6): 24-26.
8. SEHNAL B, HALAŠKA M, DRIÁK D, SLÁMA J. Spojitost anální a cervikální HPV infekce u rizikových žen. *Prakt Gyn* 2014; 18(1): 60-63.
9. DRIÁK D, SEHNAL B, SLÁMA J. Očkování proti HPV – co jsme před 7 lety nevěděli. *Vakcinologie* 2014; 8(2): 66–67.

10. SEHNAL B. Dvoudávkové očkovací schéma HPV vakcín. *Acta Medicinae* 2014; 3(3): 21-23.
11. SEHNAL B, DRIÁK D, NEUMANNOVÁ H, SLÁMA J. Dvoudávkové očkovací schéma bivalentní HPV vakcíny. *Vakcinologie* 2014; 8(3): 125–131.
12. SEHNAL B, VOJÁČKOVÁ N, DRIÁK, D, KMONÍČKOVÁ E, VAŇOUSOVÁ D, MAXOVÁ, K, NEUMANNOVÁ H., SLÁMA J. Předpokládaná účinnost HPV vakcinace v profylaxi nongenitálních karcinomů. *Klin Onkol* 2014; 27(4): 239-246.
13. SEHNAL B, DRIÁK D, CIBULA D, HALAŠKA M, BOLEHOVSKÁ P, SLAMA J. Tailoring surgical treatment of cervical precancerosis. *Čes Gynek* 2014; 79(X): XX-XX. In press.

Seznam publikovaných prací bez vztahu k disertační práci

1. DRIAK D, DVORSKA M, SVANDOVA I, SEHNAL B, BENKOVA K, SPURKOVA Z, HALASKA M. Changes in expression of some apoptotic markers in different types of human endometrium. *Fol Biol (Praha)* 2011; 57(3): 104-111. **IF = 0,924.**
2. DRIAK D, DVORSKÁ M, SEHNAL B, ŠVANDOVA I, HALAŠKA M, BENKOVÁ K, ŠPURKOVÁ Z.: Změny v expresi vybraných apoptotických márků v různých typech lidského endometria. *Gynekolog* 2011; 20(2): 56-63.
3. SEHNAL B, DRIÁK D, KMONÍČKOVÁ E, DVORSKÁ M, HOSOVÁ M, CITTEBART K, HALAŠKA M, KOLAŘÍK D. Současná klasifikace zhoubných nádorů v onkogynekologii – část I. *Čes Gynek* 2011; 76(4): 279-284.
4. SEHNAL B, DRIÁK D, KMONÍČKOVÁ E, DVORSKÁ M, HOSOVÁ M, CITTEBART K, HALAŠKA M, KOLAŘÍK D. Současná klasifikace zhoubných nádorů v onkogynekologii – část II. *Čes Gynek* 2011; 76(5): 360-366.

5. KOLAŘÍK D, PECHA V, KŘEPELKA P, HASILOVÁ M, HRON F, KROFTA L, SEHNAL B, PRUDILOVÁ M, TRNKOVÁ M, KOLÁŘOVÁ N. Vlastnosti a prognóza zhoubného onemocnění prsu u žen velmi nízkého věku. Čes Gynek 2011; 76(6): 457-462.
6. DRIÁK D, SEHNAL B, ŠVANDOVÁ I. Selektivní modulátory progesteronového receptoru a jejich terapeutického využití. Čes Gynekol 2013; 78(2): 175-181.
7. SEHNAL B. (Kapitola v knize). Laparoskopická diagnostika neobvyklého případu mimoplicní tuberkulózy. In: Mára Michal et al. Vybrané kazuistiky z gynekologické endoskopie. 1.vydání, Praha, Mladá fronta a.s. 2013, s. 118-125. ISBN: 978-80-204-2901-8
8. SEHNAL B, KMONÍČKOVÁ E, MAXOVÁ K, KOUTNÍKOVÁ H, DRIÁK D, NEUMANNOVÁ H, BOLEHOVSKÁ P, SLÁMA J. Důvody změn ve stagingu karcinomu vulvy. Klin Onkol 2013; 26(5): 319-322.
9. FILOVÁ P, HALAŠKA M, SEHNAL B, OTČENÁŠEK M. Porovnání technik hysterektomie v souboru jedinců operovaných z indikace transsexualismu female to male. Česka Gynekol 2014; 79(1): 68-74.
10. SEHNAL B, BENKOVÁ K, KMONÍČKOVÁ E, DRIÁK D, ŠPŮRKOVÁ Z, MAXOVÁ K, SLÁMA J. Současný staging zhoubných nádorů děložního těla a jeho význam pro klinickou praxi. Česk Patol 2014; 50(2): 100-105.