

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



**Prevalence anální HPV infekce u patientek
léčených pro těžkou dysplazii děložního
hrdla a její vztah k sexuálnímu chování**

MUDr. Borek Sehnal

Praha 2014

Doktorské studijní programy v biomedicině

Univerzita Karlova v Praze

Obor: Experimentální chirurgie

Předseda oborové rady: prof. Jaroslav Živný, DrSc

Školící pracoviště: Gynekologicko-porodnická klinika VFN a 1. LK UK
v Praze

Školitel: doc. MUDr. Jiří Sláma, PhD

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

OBSAH

Souhrn v českém jazyce	4
Souhrn v anglickém jazyce	5

Kapitoly

1. Úvod	6
2. Cíle a hypotézy výzkumu	6
3. Metodika	
3.1 Charakteristika souboru	7
3.2 Sběr materiálu k vyšetření	8
3.3 HPV genotypizace	8
3.4 Histopatologické vyšetření	8
3.5 Statistická analýza	9
4. Výsledky	
4.1 Charakteristiky studované a kontrolní skupiny	9
4.2 Prevalence cervikální a anální HPV infekce	9
4.3 Prevalence společné cerviko-anální HPV infekce	11
4.4 Prevalence jednotlivých genotypů	11
4.5 Faktory ovlivňující prevalenci společné cerviko-anální HPV infekce	12
5. Diskuze	13
6. Závěr	18
Literatura	19
Seznam publikací	23

Souhrn

Úvod: Více než 90 % karcinomů anu je způsobeno infekcí vysoce rizikovými genotypy lidských papillomavirů (HR HPV). Anamnéza cervikální intraepiteliální neoplazie (CIN) a cervikálního karcinomu je proto definována jako možný rizikový faktor budoucího rozvoje karcinomu anu. Cílem práce bylo zjistit vztah mezi anální a cervikální HPV infekcí u žen s různými stupni CIN a s mikroinvazivním karcinomem děložního hrdla a určit potenciální rizikové faktory pro rozvoj společné cerviko-anální HPV infekce.

Metodika: Celkem bylo do studie zahrnuto 272 žen. Studovanou skupinu zahrnovalo 172 žen, které podstoupily konizaci pro těžkou prekancerózu CIN nebo mikroinvazivní karcinom děložního hrdla (CIN 2+). Kontrolní skupina tvořilo ze 100 žen s jinými neonkologickými gynekologickými chorobami nebo s biopticky ověřenou CIN 1. Všechny účastnice vyplnily dotazník a byly jim odebrány stěry z anu a děložního hrdla na stanovení genotypu HPV pomocí testu Lynear array (Roche).

Výsledky: Cervikální, anální a společná cerviko-anální HPV infekce byly zjištěny u 82,6 %, 48,3 % and 42,4 % žen ve studované skupině a u 28,0 %, 26,0 % a 8,0 % žen v kontrolní skupině. Prevalence HR HPV genotypů byla signifikantně vyšší ve studované skupině a významně narůstala se závažností cervikální léze. Společná infekce anu a děložního hrdla byla 5,3krát častější ve studované skupině než v kontrolní skupině. Nejvýznamnějším rizikovým faktorem pro detekci společné cerviko-anální HPV infekce byla jakákoliv forma sexuálního (koitálního i nekoitálního) kontaktu s anem.

Souhrn: Společná anální a cervikální HR HPV infekce byla zjištěna téměř u poloviny žen s CIN 2+. Dominantním zjištěným genotypem v obou anatomických lokalitách byl HPV 16. Nejdůležitějším rizikovým faktorem byl jakýkoliv typ sexuálního kontaktu s anem.

KLÍČOVÁ SLOVA: HPV, CIN, cervikální infekce, anální infekce, anální karcinom

ABSTRACT

Background: More than 90 % of anal cancers are caused by high-risk human papillomavirus (HR HPV) infection and a history of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and cervical cancer is established as possible risk factor. The aim of this study was to demonstrate relationship between anal and cervical HPV infection in women with different grades of CIN and microinvasive cervical cancer and to determinate potential risk factors for concurrent cervical-anal HPV infection.

Methods: A total of 272 women were enrolled in the study. The study group included 172 women who underwent conization for high-grade CIN or microinvasive cervical cancer. The control group consisted of 100 women with non-neoplastic gynecologic diseases or biopsy-confirmed CIN 1. All participants completed a questionnaire and were subjected to anal and cervical HPV genotyping using Lynear array test (Roche).

Results: Cervical, anal, and concurrent cervical-anal HPV infections were detected in 82.6 %, 48.3 % and 42.4 % of women in the study group, and in 28.0 %, 26.0 % and 8.0 % of women in the control group, respectively. The prevalence of the HR HPV genotypes was higher in the study group and significantly increased with the severity of cervical lesion. Concurrent infections of the cervix and anus occurred 5.3-fold more often in the study group than in the control group. Any contact with the anus was the most significant risk factor for development of concurrent HPV infection.

Conclusion: Concurrent anal and cervical HR HPV infection was found in nearly half of women with CIN 2+. The dominant genotype found was HPV 16. Any type of sexual contact with the anus was shown as the most important risk factor for concurrent HPV infection.

KEY WORDS: HPV, CIN, cervical infection, anal infection, anal cancer

1. 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].

2. 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 mikroinvasivním 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 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.

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.

3. Metodika

3.1 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 mikroinvasivní 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. Výzkum byl schválen etickou komisí Nemocnice Na Bulovce a 1. lékařské fakulty UK v Praze s platností pro všechna pracoviště 1. LF UK.

3.2 Sběr materiálu k vyšetření

U pacientek podstupujících konizaci byly stěry na HPV genotypizaci odebrány izolovaně kartáčkem z děložního hrdla a z anu před zahájením výkonu a před aplikací Lugolova roztoku nebo roztoku kyseliny octové na děložní hrdlo. Ihned po každém odběru byl odběrový kartáček umístěn a pečlivě promyt v transportním mediu (Cobas PCR Cell Collection Medium). Vzorky byly zpracovány v laboratoři pro Sexuálně přenosné nemoci při Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky Všeobecné fakultní nemocnice v Praze 2.

3.3 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).

3.4 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.

3.5 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).

Podobnost výskytu genotypů HPV byla hodnocena pomocí Jaccardova koeficientu. Analýza byla provedena pomocí software SPSS 20.0.0. (IBM Corporation, 2011).

4. Výsledky

4.1 Charakteristiky studované a kontrolní skupiny

Do studie bylo zařazeno 172 "rizikových" pacientek ve studované skupině a 100 "nerizikových" žen tvořilo kontrolní skupinu. Studovaná skupina 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.

4.2 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.

Cervikální HPV infekce byla diagnostikována u 82,6 % žen v rizikové skupině a u 28,0 % žen kontrolní skupiny ($p < 0,001$). 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 %; $p < 0,001$).

Ve skupině žen s CIN 2+ byla nalezena významně vyšší prevalence anální HPV infekce (48,3 %) ve srovnání s kontrolní skupinou (26,0 %; $p < 0,001$). 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 %; $p = 0,034$). 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 1: Prevalence cerviko-anální HPV infekce v závislosti na stupni cervikální léze

Histologie	Počet (n)	Cerviko-anální HPV infekce (n; %)	p	≥ 1 identický genotyp (n; %)	HPV 16 v obou lokalitách (n; %)	p
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%)	
karcinom	9	5 (55.5%)		5 (100%)	3 (60.0%)	

4.3 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. 1). Nejčastěji měly kombinovanou cerviko-anální HPV infekci ženy s nejzávažnější prekancerózou (CIN 3) a mikroinvasivním karcinomem (49,4 % a 55,5 %).

4.4 Prevalence jednotlivých genotypů

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

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. Zatímco prevalence HR genotypů byla u cervikální infekce mezi oběma skupinami statisticky významně odlišná, u anální infekce tak významný rozdíl nebyl patrný.

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 %; $p < 0,001$), anální infekce (28,5 % vs. 4,0 %; $p < 0,001$) i společné cerviko-anální HPV infekce (22,7 % vs. 1,0 %; $p < 0,001$) (Tab. 1).

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 mikroinvasivním karcinomem (Tab. 1). 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.

4.5 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. 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.

5. 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 anamézou 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 anamézou 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 sufičientní 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 % vysocerezikových 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 nízcerezikových 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) vysocerezikových 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 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 nízcerezikových a vysocerezikových žen, rozdíl byl obvykle pouze v zastoupení HR genotypů, které dominovaly u žen s CIN 2+. Hernandez et al. prokázali alespoň jeden identický genotyp u 79 % a úplnou shodu genotypů v děložním hrdle i v anu u 26 % nízcerezikových žen se společnou cerviko-anální HPV infekcí [Hernandez, 2005]. Valari et al. detekovali ve smíšené populaci vysocerezikových a nízcerezikových 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 genotyp u 62,5 % (5/8) nízcerezikových 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 karcinomu [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 shodné 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 and mikroinvasivním 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.

6. 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 nejrizikovějších pacientek s 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.

Literatura

1. Brewster DH, Bhatti LA. Increasing incidence of squamous cell carcinoma of the anus in Scotland, 1975–2002. *Br J Cancer* 2006; 95: 87–90.

2. 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.
3. Daling JR. Risk of anogenital cancer in women with CIN. *Lancet Oncol* 2007; 8(4): 281-282.
4. 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.
5. 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.
6. Edgren G, Sørensen P. Risk of anogenital cancer after diagnosis of cervical intraepithelial neoplasia: a prospective population-based study. *Lancet Oncol* 2007; 8(4): 311–316.
7. Freitag, P. Papillomavirové infekce v gynekologii. Praha, Triton, 1998.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Hayanga AJ. When to test women for human papillomavirus: take this opportunity to screen for anal cancer too. *BMJ* 2006; 332(7535): 237.

14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. Parkin DM, Bray F. The burden of HPV-related cancers. *Vaccine* 2006; 24(Suppl 3): 11–25.
22. Santoso JT, Long M, Crigger M et al. Anal intraepithelial neoplasia in women with genital intraepithelial neoplasia. *Obstet Gynecol* 2010; 116(3): 578-582.
23. Sehna 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.
24. 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.

25. Scholefield JH, Sonnex C, Talbot IC et al. Anal and cervical intraepithelial neoplasia: possible parallel. *Lancet* 1989; 2: 765–769.
26. 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.
27. Stanley MA, Winder DM, Sterling JC, Goon PKC. HPV infection, anal intra-epithelial neoplasia (AIN) and anal cancer: current issues. Stanley et al. *BMC Cancer* 2012, 12: 398.
28. 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.
29. 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.
30. 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.
31. Véó 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.
32. 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.
33. 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.
34. 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.

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. Slama 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, Memnzlová 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, Driák D, Neumannová H, Sláma J. Dvoudávkové očkovací schéma bivalentní HPV vakcíny. *Vakcinologie* 2014; 8(3): 125–131.
11. Sehnal B, Vojáčková N, Driák D, Kmoníčková E, Vaňousová D, Maxová K, Neumannová H, Sláma J. Předpokládáná účinnost HPV vakcinace v profylaxi nongenitálních karcinomů. *Klin Onkol* 2014; 27(4): 239-246.
12. Sehnal B, Driák D, Cibula D, Halaška M, Bolehovská P, Sláma J. Tailoring surgical treatment of cervical precancerosis. *Čes Gynek* 2014; 79(X): XX-XX. In press.