

Oropharyngealis humán papillomavírus ritka előfordulása cervicalis laesióval rendelkező nőkben

Előzetes eredmények dél-magyarországi vizsgálat alapján

Vanya Melinda dr.¹ ■ Jakó Mária dr.¹
 Terhes Gabriella dr.² ■ Szakács László dr.³ ■ Kaiser László dr.⁴
 Deák Judit dr.² ■ Bártfai György dr.¹

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ,
¹Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, ²Klinikai Mikrobiológiai és Diagnosztikai Intézet,
³Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika, ⁴Pathológiai Intézet, Szeged

Bevezetés: Bár a cervicalis és az orális humán papillomavírus-fertőzés jelenlétét intenzíven vizsgálták az elmúlt években, a vírus azon képessége, hogy egyazon személyben megfertőzi az orális és genitális nyálkahártyát, még nem teljesen tisztázott. **Célkitűzés:** A szerzők cervicalis laesióval rendelkező dél-magyarországi nőkben az oropharyngealis humán papillomavírus-fertőzés jelenlétének vizsgálatát tűzték ki célul. **Módszer:** A vizsgálatban összesen 103 nő vett részt 2013. március 1. és 2015. január 1. között. A garatnyálkahártya-sejtek gyűjtésére speciális mintavevőt használtak. A humán papillomavírus-DNS-t polimeráz láncreakcióval, a vírusgenotípust Amplicor line blot teszttel határozták meg. **Eredmények:** Oropharyngealis humán papillomavírus-fertőzést 2 esetben (3%) mutattak ki, amelyek a 31, 40/61 és 73 genotípusba tartoztak. **Következtetések:** Az eredmények arra utalnak, hogy a méhnyakelváltozások mellett ritkán fordul elő oropharyngealis humán papillomavírus-fertőzés. Orv. Hetil., 2016, 157(2), 70–73.

Kulcsszavak: oropharyngealis, kis kockázat, nagy kockázat, humán papillomavírus

Low rate of oropharyngeal human papillomavirus infection among women with cervical lesion

Preliminary results from the South-Eastern Hungarian population

Introduction: Although the natural history of cervical and oral human papillomavirus infection has been intensively investigated in the past years, the ability of this virus to infect oral and genital mucosae in the same individual and its potential to co-infect both cervical and oral mucosa are still unclear. **Aim:** The aim of the authors was to assess the presence of oropharyngeal human papillomavirus infection in women with cervical lesions in the South-Eastern Hungarian population. **Method:** The total of 103 women have been included in the study between March 1, 2013 and January 1, 2015. Brushing was used to collect cells from the oropharyngeal mucosa. Human papillomavirus DNA was detected using polymerase chain reaction, and Amplicor line blot Test was used for genotyping. **Results:** Oropharyngeal human papillomavirus infection was detected in 2 cases (3%). The detected genotypes were 31, 40/61 and 73 in the oropharyngeal region. **Conclusions:** The results indicate that in women with cervical lesions oropharyngeal human papillomavirus infection rarely occurs.

Keywords: oropharyngeal, low risk, high risk, human papillomavirus

Vanya, M., Jakó, M., Terhes, G., Szakács, L., Kaiser, L., Deák, J., Bártfai, Gy. [Low rate of oropharyngeal human papillomavirus infection among women with cervical lesion. Preliminary results from the South-Eastern Hungarian population]. Orv. Hetil., 2016, 157(2), 70–73.

(Beérkezett: 2015. október 5.; elfogadva: 2015. október 27.)

Rövidítések

ASC-H = atypical squamous cells – cannot exclude HSIL;
 ASC-US = atypical squamous cells of undetermined
 significance; CSCC = cervical squamous cell carcinoma;
 DNS = dezoxiribonukleinsav; HNSCC = head and neck squa-
 mous cell carcinoma; HPV = humán papillomavírus

A humán papillomavírus (HPV) által okozott fertőzések a szexuális úton leggyakrabban átvihető virális infekciók közé tartoznak a fejlett és a fejlődő országokban egyaránt. A mintegy 70 HPV-szerotípust, amelyek megfertőzhetik a nyálkahártyát, onkogén (magas kockázatú) vagy kis onkogenitású (alacsony kockázatú) és egyéb, nem meghatározott HPV-típusok alapján csoportosítjuk. A rosszindulatú elváltozások a nemi szerveket, elsősorban a cervixet érintik (cervical squamous cell carcinoma – CSCC), de az onkogén HPV-típusoknak etiológiai szerepe van méhtest- és méhnyakcarcinómában, valamint fej-nyak tumorokban (head and neck squamous cell carcinoma – HNSCC) [1].

Az orális HPV-fertőzés létrejötte és egyidejű megjelenése anogenitális nyálkahártya-involúció mellett viszonylag kevésbé ismert és vizsgált a nemzetközi irodalomban, bár az elmúlt 2 évben több tanulmány foglalkozott ezzel a kérdéssel [1, 2]. Az eddig megjelent tanulmányokban az elterjedtségre vonatkozóan egymásnak ellentmondó adatokat találunk (2,6%-tól 50%-os gyakoriság). A buccalis és anogenitális nyálkahártyát a leggyakrabban szimultán érintő HPV-6 és HPV-16 típusok az érintett nők 0–60%-ában jelentek meg. *Termine és mtsai* [3] vizsgálata 70 esetben 4,3%-os orális HPV-fertőzöttséget mutatott ki. Ez a vizsgálat azt sugallta, hogy a genitális HPV elterjedtsége nem korrelál a fellatio alkalmazásával (genitális HPV-fertőzött és genitális HPV-negatív 22% vs. 19%). Bár úgy tűnik, hogy genitális HPV mellett gyakrabban találkozunk ugyanazon személyben orális HPV-típus jelenlétével, predisponáló tényezőről nem beszélhetünk, és a konkordancia sem egyértelmű [4–8]. A különböző vizsgálatok eredményei közötti eltéréseket a különböző kockázati tényezők, immunológiai állapot (HIV-fertőzés), valamint a vizsgálati szempontok közötti eltérések okozhatják. Több vizsgálat hangsúlyozza, hogy mennyire fontos a nagyon érzékeny, megbízható eljárások alkalmazása az orális HPV-infekció kimutatására [4–8].

Az orális HPV-típusok prevalenciáinak az a jelentősége, hogy HPV-profilaktikus vakcinák alkalmazásával a méhnyakrák mellett az orális HPV-fertőzések és a kapcsolódó szájüregi rákok is megelőzhetők. Vizsgálatunkban arra kerestük a választ, hogy az orális HPV-fertőzés összefügg-e genitális HPV-fertőzéssel, azzal a céllal, hogy feltérképezzük a lehetséges közös patogenetikai utakat, illetve genetikai és/vagy citológia markereket. Az orális és genitális fertőzés együttes előfordulása orális nemi érintkezés, öninoculatio vagy független fertőzés következménye is lehet. Felmerül az a kérdés is, hogy

egyéb életmódbeli tényezők (hormonterápia, orális fogamzásgátlás, komorbiditás, dohányzás, alkoholfogyasztás) szerepet játszhat-e a HPV-fertőzés, illetve a carcinoma kialakulásában. Ezen adatok mind hazánkban, mind számos más országban ismeretlenek [9].

Betegek és módszer

A vizsgálatba azokat a nőket vontuk be, akik a Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika járóbeteg-szakrendelésén hüvely- vagy cervixgyulladás panaszával jelentek meg és/vagy cervixcitológiai vizsgálatuk eredménye ASC-US vagy ASC-H volt. Ezeknél a betegeknél HPV-meghatározás és -tipizálás indokolt a kezdődő praeblastomatosis időben történő szűrésére és az invazív cervixcarcinoma kialakulásának megelőzésére. Kizárási kritérium a már diagnosztizált cervixcarcinoma volt. Az ASCUS-citológiával és pozitív HPV-lelettel rendelkező nőktől fül-orr-gégész bevonásával oropharyngealis mintát vettünk a Waldeyer-gyűrű területéről HPV-tipizálásra és citológiai vizsgálatra. Vizsgálatainkat a regionális etikai bizottság engedélyével végeztük.

A vizsgálatot a Roche által kifejlesztett Amplicor HPV-tesztrel végeztük. Az eljárás alkalmas a magas kockázatú (high risk – HR) HPV-DNS 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 és 68 genotípusok és az alacsony kockázatú (low risk – LR) HPV-DNS kimutatására a transzportfolyadékba levett cervixsejtekből. A teszt négy fő lépésből áll:

1. minta-előkészítés,
2. target-DNS-amplifikálás HPV-specifikus komplexprimerrel felhasználásával,
3. amplifikált termékek hibridizációja oligonukleotid-próbákhoz,
4. a hibridizálódott amplifikált termékek kolorimetriás kimutatása.

A PCR során minőség-ellenőrzés céljából kontrollként a humán β -globin-gén is amplifikálásra kerül. A master mix reagens 13, magas kockázatú HPV-genotípusra és a β -globin-DNS-re specifikus biotinilált primer párt tartalmazott. Az amplifikált DNS kimutatása oligonukleotid-próbákkal történt, amelyek lehetővé tették a HPV-amplikonok és a β -globin-amplikonok független azonosítását.

1. táblázat | Alacsony és magas kockázatú HPV-típusok előfordulása oropharyngealis és genitális mintákban 66 HPV-pozitív reproduktív korú nőben

	HR	LR
Pozitív oropharyngealis minta (n = 2)	31	40/61
Pozitív genitális minta (n = 66)	51, 52, 53, 56, 58, 59, 66/68, 73, 16, 18, 33, 35, 39, 42, 82	6, 11, 40/61, 84/26, 42, 43/44, 54/55, 57/71, 70, 81, 73

HR: magas kockázatú HPV; LR: alacsony kockázatú HPV.

A HPV kimutatására az SZTE ÁOK Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáról érkezett cervix és portio felületről gyűjtött mintákat használtuk. A tárolás 20 ml-es PreservCytTM típusú transzportfolyadékban történt 2–8 °C-on. A vizsgálat a Roche által előírt protokoll szerint történt.

A HPV-DNS-t a cervicalis sejtminták roncsolásával, magas hőmérsékleten denaturáló körülmények között szabadítottuk fel. A szövetroncsoláshoz először EDTA-t és 10%-os nátrium-dodecil-szulfátot, majd proteináz K-t adtunk. Az elegyek hozzáadása után inkubáltuk a csöveket 56±2 °C-on 30 percig száraz fűtőblokkban. Végül a mintákhoz újabb roncsoló puffert, ≤50% guanidin-HCl-t adtunk, majd ismét inkubáltuk a mintákat 70±2 °C-on 15 percig. (A β-globin-gén izolálása szintén ezen eljárás szerint ment végbe.) Ezt követően a mintákat abszolút etanollal kezeltük. A szabaddá tett DNS-t a Qiagen vákuumberendezés segítségével oszlopon kötöttük, majd eluáltuk. Az eluált mintákból 50 µl-t használtunk az amplifikációhoz.

A vizsgálathoz a HPV-genom polimorf L1 szakaszán lévő, mintegy 165 bp hosszúságú szekvenciához hibridizáló biotinilált primereket használtunk. A master mixben (Trisz-puffer, K-klorid, <0,001% AmpliTaq Gold DNS-polimeráz, <0,001% AmpErase[®] [uracil-N-glikoziláz] enzim, <0,15% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, ≤0,001% biotinilált primerek, 0,05% nátrium-azid, <1% Tween 20) lévő HPV-primereket 13 HR-genotípusból (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) származó HPV-DNS amplifikálására tervezték. Egy primer pár a humán β-globin génhez kapcsolódik (268 bp amplikon), így az extrahálási, amplifikálási, valamint sejtkontrollként szerepel. AmpliTaq Gold[®] DNS-polimerázt alkalmaztunk a HPV target DNS-ek és a β-globin kontrollamplifikációjához. Az AmpliTaq Gold DNS-polimeráz a primerekre a templátoknak megfelelően egy megközelítően 165 bázispár hosszúságú kettős szálú HPV target DNS-molekulát, illetve egy 268 bázispár hosszúságú β-globin-DNS-molekulát szintetizál. A PCR-hez az Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700 PCR-készüléket használtuk. Mielőtt az extrahált DNS-hez hozzáadtuk a megfelelő mennyiségű PCR master-mixet, belemértük az előírt mennyiségű MgCl₂-oldatot, majd amplifikációt végeztünk. Ezt követően HPV-tipizálásra került sor linear array módszerrel, és a HPV-vírusokat az alábbi beosztásnak megfelelően azonosítottuk:

- a) alacsony kockázatú (LR): 6, 11, 42, 43, 44/55;
- b) magas kockázatú (HR): 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68;
- c) nem azonosított (NA): 2a, 3, 7, 13, 26, 27, 28, 29, 30, 34, 40, 53, 54, 57, 61, 67, 70, 72, 73, 74, 81, 82, 83, 84, 87, 89, 90, 91.

Eredmények

A vizsgálatban 103 nő vett részt. 37 (35,9%) reproduktív korú nő mind genitális, mind orális mintái negatívnak bizonyultak az összes HPV-típusra (Orális– Genitális–). A további 66 nő orális és genitális mintájában a magas és alacsony kockázatú típusok előfordulását az 1. táblázatban foglaltuk össze. Oropharyngeális HPV-fertőzés mindössze 2 nő mintájában volt kimutatható (3%): a cervicalis mintában egyik esetben a 31, míg a másik esetben a 46/70 típusok fordultak elő (O+, G+). Negatív genitális lelet mellett nem volt olyan esetünk, ahol előfordult volna oropharyngeálisan alacsony vagy magas kockázatú HPV-típus. A cervicalis fertőzésnek összességében nem volt nagyobb kockázata az oropharynxban a HPV megjelenésére.

Megbeszélés

A legújabb, 2014-ben megjelent tanulmányok Brazíliában, illetve Németországban [10–12] 65, illetve 129 nőbeteg mintáiban vizsgálták az orális és genitális HPV megoszlását az orális és genitális nyálkahártyákon. A szerzők eltérő következtetésre jutottak. Marques és mtsai [10] egyértelmű összefüggést találtak az orális szex és az alkohol, valamint a dohányzási szokások között. Ezekkel az eredményekkel szemben Vidotti és mtsai [12] nem találtak olyan specifikus faktort, amely predisponáló tényező lehetne az orális HPV előfordulására. Utóbbi vizsgálok alacsony orális előfordulási arányt állapítottak meg, akárcsak mi a saját tanulmányunkban. Ezek az eredmények felvetik a genetikai faktorok vizsgálatának fontosságát az életmódbeli tényezők mellett. Saját eredményeink, mivel egy központ köré csoportosulnak, nem reprezentatívak a teljes magyar populációra, ezért több hely bevonásával további vizsgálatot igényelnek. Ismerteink szerint hasonló méretű és célkitűzésű vizsgálat hazánkban még nem történt.

A jelen vizsgálat további korlátai közé tartozik, hogy a kooperáció hiánya miatt nem terjedt ki a férfi partnerek genitális HPV-vizsgálatára. A viszonylag kis betegszám és ezen belül a szexuális szokásokról nyilatkozók még kisebb száma nem támogatta ilyen irányú következtetések levonását. A HIV-fertőzés előfordulása alacsony Magyarországon, ezért immunhiányos állapot szerepét nem vizsgáltuk.

Anyagi támogatás: Jelen vizsgálat a TÁMOP-4.2.2.A-11/1/KONV-2012-0035 segítségével valósult meg.

Szerzői munkamegosztás: B. Gy., D. J.: Hipotézis. V. M.: Kézirat elkészítése. V. M., Sz. L.: Mintavétel. J. M.: Mintavétel, a cikk lektorálása. T. G., K. L.: Minták mikrobiológiai és patológiai analízise.

Érdekeltségek: A szerzőknek nincsenek érdekeltségeik.

Irodalom

- [1] Kreimer, A. R., Bhatia, R. K., Messegue, A. L., et al.: Oral human papillomavirus in healthy individuals: a systematic review of the literature. *Sex. Transm. Dis.*, 2010, 37(6), 386–391.
- [2] D'Souza, G., Fakhry, C., Sugar, E. A., et al.: Six-month natural history of oral versus cervical human papillomavirus infection. *Int. J. Cancer*, 2007, 121(1), 143–150.
- [3] Termine, N., Giovannelli, L., Matranga, D., et al.: Low rate of oral human papillomavirus (HPV) infection in women screened for cervical HPV infection in Southern Italy: A cross-sectional study of 140 immunocompetent subjects. *J. Med. Virol.*, 2009, 81(8), 1438–1443.
- [4] Smith, E. M., Ritchie, J. M., Yankowitz, J., et al.: HPV prevalence and concordance in the cervix and oral cavity of pregnant women. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.*, 2004, 12(2), 45–56.
- [5] Fakhry, C., D'souza, G., Sugar, E., et al.: Relationship between prevalent oral and cervical human papillomavirus infections in human immunodeficiency virus-positive and -negative women. *J. Clin. Microbiol.*, 2006, 44(12), 4479–4485.
- [6] Kellokoski, J. K., Syrjänen, S. M., Chang, F., et al.: Southern blot hybridization and PCR in detection of oral human papillomavirus (HPV) infections in women with genital HPV infections. *J. Oral Pathol. Med.*, 1992, 21(10), 459–464.
- [7] Saini, R., Khim, T. P., Rahman, S. A., et al.: High-risk human papillomavirus in the oral cavity of women with cervical cancer, and their children. *Virol. J.*, 2010, 7, 131.
- [8] Termine, N., Giovannelli, L., Matranga, D., et al.: Oral human papillomavirus infection in women with cervical HPV infection: New data from an Italian cohort and a metanalysis of the literature. *Oral Oncol.*, 2011, 47(4), 244–250.
- [9] Castellsagué, X., Drudis, T., Paz Cañadas, M., et al.: Human papillomavirus (HPV) infection in pregnant women and mother-to-child transmission of genital HPV genotypes: a prospective study in Spain. *BMC Infect. Dis.*, 2009, 9, 74.
- [10] Marques, A. E., Barra, G. B., de Resende Oyama, C. N., et al.: Low rate of oropharyngeal human papillomavirus infection of women with cervical lesions and their partners: new data from Brazilian population. *J. Oral Pathol. Med.*, 2015, 44(6), 453–458. [Epub 12 Sep 2014]
- [11] Lima, M. D., Braz-Silva, P. H., Pereira, S. M., et al.: Oral and cervical HPV infection in HIV-positive and HIV-negative women attending a sexual health clinic in São Paulo, Brazil. *Int. J. Gynaecol. Obstet.*, 2014, 126(1), 33–36.
- [12] Vidotti, L. R., Vidal, F. C., Monteiro, S. C., et al.: Association between oral DNA-HPV and genital DNA-HPV. *J. Oral Pathol. Med.*, 2014, 43(4), 289–292.

(Vanya Melinda dr.,
Szeged, Semmelweis u. 1., 6725
e-mail: vmelinda74@gmail.com,
vanya.melinda@med.u-szeged.hu)

Az Orvosi Hetilap 2015, 156, 2016. oldalán (49. szám) megjelent OH-Kvízre egy helyes megfejtés érkezett.

A beküldő: Dr. Orosz István (Gyula).

A nyertesnek szívből gratulálunk.

A nyereményét – egy, az Akadémiai Kiadó webáruházában kedvezményes vásárlásra jogosító kupont – e-mailen küldjük el.