

SEROPREVALENCA E 35 TIPEVE TE HUMAN PAPILOMAVIRUSEVE NË FEMRAT SHQIPTARE

ANILA MITRE^a, FJORALBA BAKIRI^a, ETLEVA HAMZARAJ^a, BLERTA SKËNDERI^b

^aFSHN, Universiteti I Tiranës, Tiranë, ALBANIA

^bLaboratori "Intermedica"

animitre@gmail.com

AKTET V, 1: 149-152, 2012

PERMBLEDHJE

HPV është përfaqësues i familjes së papilomaviruseve, që ka aftësinë të infektojë epitelin e shtresëzuar të lëkurës ose membranat mukoze tek njeriu. Ekziston një lidhje e fortë midis kategorisë gjenetike dhe sëmundjes shoqëruese. Në këtë punim ne përshkruajmë përdorimin për herë të parë të një teknike që bazohet në detektimin me spekter të gjere. Në studim janë përfshirë 111 femra me moshë nga 18-50 vjeç. Në popullatën në studim, heterogjeniteti i HPV-ve është i madh dhe evidentohet nga prania e 18 tipave të ndryshëm. Nga 111 femra të testuara, 27.9% e tyre rezultuan pozitiv për HPV. Nga rastet positive 70.9% rezultuan me risk të lartë, ndërsa 29.1% me risk të ulët. 71.7% e femrave të infektuara kanë pasur infeksion të shumfishtë. Në këtë studim ne përcaktuam prevalencën e infeksionit HPV dhe vlerësuam frekuencën e gjenotipave të HPV, duke aplikuar një teknikë të re mjaft të ndjeshme, e cila është në gjendje të përcaktojë një gamë të madhe të tipave të HPV dhe të identifikojë infeksionet e shumfishtë.

SUMMARY

Human Papillomavirus (HPV) is estimated to be the common sexually transmitted infection in the Albanian population. High-risk HPV types can cause cervical and other genital cancers. Here, we introduce a new broad HPV assay based on high-density DNA microarrays, with which single and multiple HPV infections are easily recognized, and the corresponding HPV types can be identified. Cervicovaginal swab specimens were collected from the 111 females aged 18-50 years, during period of time 2009-2010. The identification and subtyping of HPV was performed with high density DNA microarray in "Intermedica" laboratory. In the studied population we observed 27.9% incidence of HPV infection, from which 70.9% with high risk. We have found 71.7% of the positive cases as co-infections with other HPV types. The four most common HPV types among positive cases were HPV31(14%), HPV16(10%), HPV53(6%), HPV56(6%). When compared with data from WHO/ICO HPV information centre, in Europe and in neighbouring regions, our data were not in agreement regarding HPV 16.

Key words: HPV high-risk, DNA microarray, subtyping, multiple HPV infections

HYRJE

HPV është përfaqësues i familjes së papilomaviruseve, që ka aftësinë të infektojë epitelin e shtresëzuar të lëkurës ose membranat mukoze tek njeriu (3). Njihen rreth 200 tipa HPV, shumica e të cilëve nuk shkakton simptoma. Më tepër se 30-40 tipa transmetohen nëpërmjet kontaktit seksual (6). 70% e infeksioneve eliminohen brenda një viti dhe 90% në dy vjet.

5-10% e grave të infektuara kanë risk të zhvillojnë leziona prekanceroze të cerviksit, që progresojnë në kancer invaziv të tij. Ky proces zgjat rreth 15-20 vjet, duke krijuar mundësi për dedektimin dhe trajtimin e lezioneve prekanceroze (3,6). Format prekanceroze lidhen me HPV-16 dhe HPV-18, nga të cilat HPV-16 është më patogjeniku. Ekziston një lidhje e fortë midis kategorisë gjenetike dhe sëmundjes shoqëruese (2). Lidhja gjenomë -

sëmundje lejon parashikimin e tropizmit indor dhe patologjisë . Një numër i madh teknikash janë përdorur për detektimin dhe tipizimin e HPV, duke treguar se një teknikë e vetme nuk mund të sigurojë një zgjedhje të fundit të plotë për këtë detektim. Kjo ndikohet veçanërisht nga diferencat e vrojuara midis teknikave ekzistuese për sa i përket ndjeshmërisë dhe aftësisë për të njohur infeksione të shumfishtë (1, 4). Në këtë punim ne përshkruajmë përdorimin për herë të parë të një teknike që bazohet në detektimin me spektër të gjërë që është DNA microarrays (mikrocipet e ADN) (5). Infeksionet e vetme dhe të shumfishtë të HPV, mund të njihen lehtë dhe tipat e HPV koresponduese mund të identifikohen (1). Nëpërmjet kësaj teknike është e mundur të detektohen 35 tipa të ndryshëm të HPV gjenitale, që ndryshojnë qoftë edhe nga një bazë.

Qëllimi i punës:

Identifikimi dhe tipizimi i HPV nëpërmjet teknikës së mikrocipeve të ADN-së me densitet të lartë (*stabil microarrays detectors*), si dhe krahasimi i tyre me rezultatet e studimeve të tjera të rajonit.

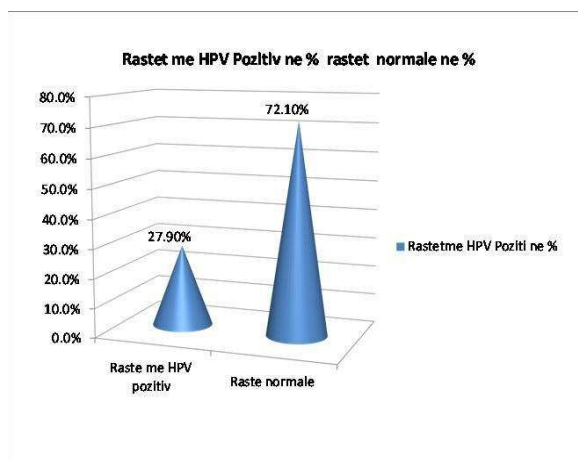
MATERIALI DHE METODA

Në studim janë përfshirë 111 femra me moshë nga 18-50 vjeç. Të gjitha femrat e përfshira në studim kanë pasur epitelet vaginale squamoze anormale. Mostrat e studjuara përfaqësoheshin nga sekrecione cervikale ,të marra me spatulën Ayre nga mjekë gjinekologë në 2 Spitalet Obsetrikë gjinekologjike, si dhe nga disa klinika gjinekologjike, në Tiranë(1). Mbas marrjes , mostrat e futura në tuba speciale me PBS, janë çuar në Laboratorin Intermedika. Me anën e centrifugimit në 3000 g, realizohet tretja e qelizave. AND-ja e ekstraktuar i është nënshtruar procesit të hibridizimit dhe dedektimit të nëntipave të HPV. Amplikonet e PCR-së të derivuara nga HPV të markuara me digoksigeninë ,hibridizohen me sonda të HPV specifike për tipin të biotinuara,të vendosura në lama qelqi të mbuluara me streptavidinë. Rezultati i hibridizimit bëhet i dukshëm me analizën speciale kromatometrike (system soft

automatic GENOMICA). Klasifikimi i tipave të HPV –së u bë në bazë të (WHO/IVB/05, 16, 2007.; JAMA 397(8) : 813-9, 2007). Sensibiliteti i metodës =10 kopje virale/ml (10 IU/ml moster). Për një realizim të saktë të matjeve janë përfshirë një numër procedurash të kontrolleve të brendshëm. Këtu përmendim amplifikimin, spotimin, hibridizimin, vizualizimin dhe interpretimin.

REZULTATET DHE DISKUTIMI

Ne po paraqesim rezultatet e përfituara nga aplikimi i teknikës së mikrocipeve të AND për detektimin dhe tipizimin e HPV-ve. Çdo popullatë karakterizohet nga një heterogjenitet i caktuar i HPV-ve, i cili duhet të njihet për të përcaktuar , parandaluar dhe kontrolluar kancerin e cerviksit. Në popullatën në studim , heterogjeniteti i HPV-ve është i madh dhe evidentohet nga prania e 18 tipave të ndryshëm. Nga 111 femra të testuara, 27.9% e tyre rezultuan pozitiv për HPV (Grafiku 1).



Grafiku 1: Rastet me HPV pozitiv

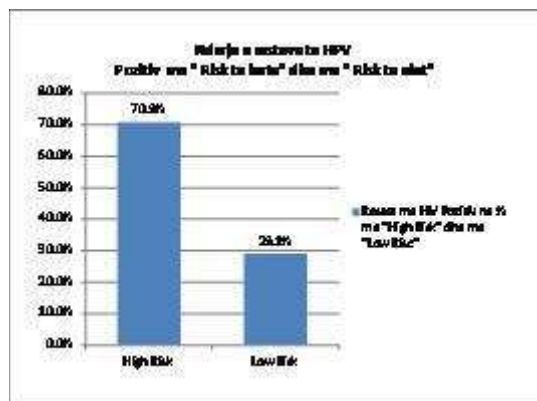
Tipat e evidentuar të HPV-ve kanë qënë: HPV 51(h), HPV 84(p) , HPV 6(l), HPV 16(h), HPV 39(h), HPV 51(h) HPV,6(l), HPV 31(h), HPV 59(h), HPV 56(h), HPV 18(h), HPV 52(h), HPV HPV 53(h), HPV 83(p), HPV 81(l), HPV 73(h) HPV,35(h), HPV 66(h) ku :

h - tip me aftësi onkogjenike të lartë.

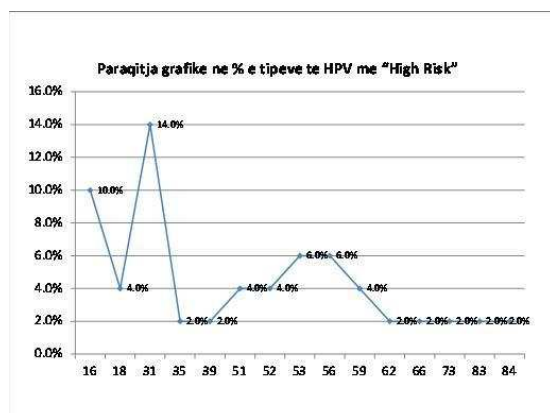
l - tip me aftësi onkogjenike të ulët .

p - tip me aftësi onkogjenike të papërcaktuar.

Nga rastet positive 70.9% rezultuan me risk të lartë, ndërsa 29.1% me risk të ulët. Vetëm në tre raste infeksioni HPV-risk i ulët është kapur i izoluar, ndërsa në të gjitha rastet e tjera ka qënë si bashkëinfeksion me grupin tjetër të HPV –me risk të lartë (Grafiku 2).



Grafiku 2: Ndarja e rasteve me HPV-risk të lartë dhe HPV-risk të ulët

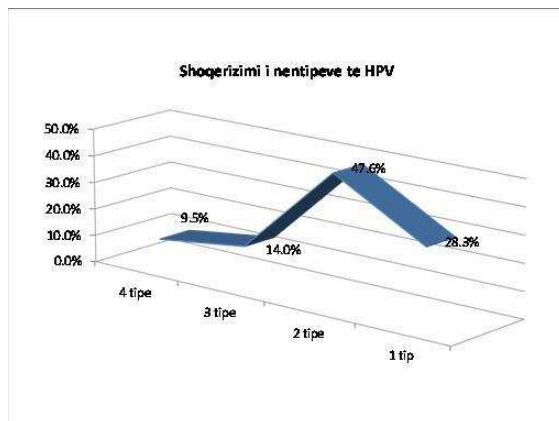


Grafiku 3: Frekuencat e tipeve HPV me risk të lartë

Frekuencat e tipave HPV me risk të lartë janë : HPV16(10%), HPV18(4%), HPV31(14%), HPV35(2%), HPV39(2%), HPV51(4%), HPV52(4%), HPV53(6%), HPV56(6%), HPV59(4%), HPV62(2%), HPV66(2%), HPV73(2%) (Grafiku 3). Nga tipizimi i HPV me risk të lartë bie në sy kapja e HPV 31 me 14% të rasteve i ndjekur nga HPV 16 me 10% të rasteve.

71.7 % e femrave të infektuara kanë pasur infeksion të shumfishtë, prej të cilave 46.7% me

dy tipa, 14% me tre dhe 9.5% me 4 tipa HPV (Grafiku 4).

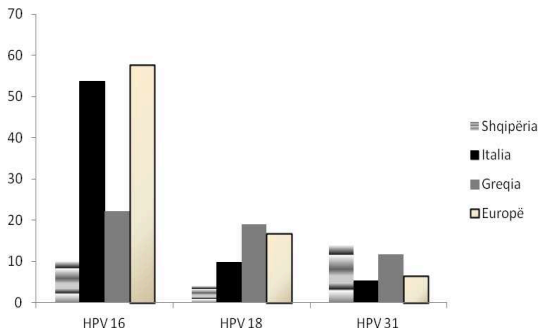


Grafiku 4: Shoqërimi i nëntipave të HPV-ve

Në këtë studim janë izoluar edhe 2 raste të klasifikuar si raste me aftësi onkogjenike të papërcaktuar (respektivisht tipat 84 dhe 83, por meqënëse kanë qënë shoqërues të tipave me aftësi të lartë onkogjenike ,nuk i kemi përfshirë në një klasifikim të veçantë. Epërsia e kësaj teknike qëndron në identifikimin e infeksioneve të shumfishtë nëpërmjet identifikimit të tipave të ndryshëm të HPV-ve të pranishme në një mostër. Të dhënat e studimit tonë u krahasuan me ato të studimeve europiane dhe të rajonit(8) . Për HPV16 ne gjetëm shpeshësinë 10% (në Europë HPV 16 është gjetur në 57,7% të rasteve me HPV, ndërsa në rajonin tonë ky tip gjendet në53,7% të rasteve, në Itali dhe në 22,2% të rasteve në Greqi (8). Për HPV 31 ne e kemi gjetur atë në 14% të rasteve positive ndërsa të dhënat e studimeve në Europë dhe rajon janë respektivisht Europa 4,1%, Italia 5,2% dhe Greqia 5,3% . Për HPV 18 kemi shpeshësinë 4% ndërsa në Evropë e gjejmë me shpeshësinë 16.8% , ndërsa Italia dhe Greqia kanë respektivisht shpeshësinë 16,8% dhe 19,1% (Grafiku 5). Numëri i kufizuar i rasteve mendojme se është një nga shkaqet e diferencës së rezultateve të studimit tonë me ato të rajonit , gjë që do të vazhdojë të plotësohet në të ardhmen.. Moshë mesatare e pacienteve ishte 35 ±10,2 nga të cilat 90% e pacienteve ishin femra në cikël ndërsa 10% ishin në menopauzë.Kishte diferencë të ndjeshme midis pozitivitetit të HPV

dhe femrave nën 35 vjeç dhe femrave mbi 35 vjeç (20,9% kundrejt 0.7%, $p=0.005$)

Informacioni për prevalencën e gjenotipave të HPV-ve me risk të lartë, është i nevojshëm për marrjen e masave dhe hartimin e programeve për parandalimin e tij. Një nga rrugët kryesore të parandalimit është edhe krijimi i vaksinës së HPV-së, bazuar tek gjenotipat e pranishëm në popullatë(3).



Grafiku 5: Paraqitje krahasuese e shpeshëtisë së tre tipave kryesorë të HPV.

KONKLUZION

Në këtë studim ne përcaktuam prevalencën e infeksionit HPV dhe vlerësuam frekuencën e gjenotipave të HPV në një grup femrash që paraqesin epitelet squamoze anormale, duke aplikuar një teknikë të re mjaft të ndjeshme, e cila është në gjendje të përcaktojë një gamë të madhe të tipave të HPV dhe të identifikojë infeksionet e shumfishtë. Rezultatet e arritura për gjenotipizimin e HPV janë të ndryshme me ato të rajonit, gjë që e bën të domosdoshëm vazhdimin e tij deri në një gjenotipizim të saktë të tipave të HPV të pranishëm në popullatë me

qëllim final prodhimin e vaksinës të vlefshme për imunizimin e popullatës shqiptare.

BIBLIOGRAFIA

1. An J, Cho N, Lee S, Mun S, Kim H, Jeong J.(2003) Correlation of cervical carcinoma and precancerous lesions with human papillomavirus (HPV) genotypes detected with the HPV DNA chip microarray method. *Cancer* 97, 1672-1680.
2. Baseman JG, Koutsky L A.(2005) The epidemiology of human papillomavirus infection. *J Clin Virol.* 32, 16-24
3. Clifford GM, Smith JS (2003) Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a metaanalysis. *Br J Cancer* 88,63-73.
4. Hvang, T.S., J.K. Jeong, M.Park, H.S. Han, H. K. Choi, and T.S.Park.(2003). Detection and typing of HPV genotypes in various cervical lesions by HPV oligonucleotide microarray. *Gynecology Oncology* 90,51-56.
5. Lorinez, A.T.(1992). Diagnosis of human papillomavirus infection by the new generation of molecular DNA assays. *Clin. Immunol. News* 12,123-128.
6. Gargiulo F, Francesco MA.(2007) Prevalence and distribution of single and multiple HPV infections in cytologically abnormal cervical samples from Italian women. *Virus Res* 125(2), 176-182.
7. Unger, E.R.(2000). In situ diagnosis of human papillomaviruses. *Clin. Lab. Med.* 20, 289-301.
8. Castellsague X, de Sanjose S, Aguado (2007). HPV and Cervical Cancer in the World. 2007 Report.WHO/ICO Information Centre on HPV and Cervical Cancer (HPV Information Centre). *Vaccine* 25(S3): C110.