

Εξελίξεις στην έρευνα για τον HPV και τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας

Ε. Χριστοδούλου

Ιατρός

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Τα τελευταία 20 χρόνια έχουν γίνει σημαντικές προσπάθειες για την αναγνώριση νέων βιοδεικτών για πιο αποτελεσματικά και οικονομικά προγράμματα ανίχνευσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Το μεγαλύτερο ποσοστό της έρευνας έχει εστιαστεί στον ιό HPV. Λόγω της προσβασιμότητας του τραχήλου της μήτρας οι περισσότερες προσεγγίσεις έχουν επικεντρωθεί στην ανίχνευση των δεικτών απευθείας σε δείγματα ιστού από τον τράχηλο της μήτρας. Οι εν λόγω δείκτες ταξινομούνται στις εξής κατηγορίες: 1. βιοδείκτες της απορρυθμισμένης ογκογενετικής έκφρασης του HPV, 2. δείκτες χρωμοσωμικής αστάθειας, 3. δείκτες πολλαπλασιασμού και διπλασιασμού του γονιδιώματος των κυττάρων του ξενιστή.

Η αναγνώριση του κεντρικού ρόλου των υψηλού κινδύνου HPV στην αιτιολογία του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας παγκοσμίως οδήγησε στην ανάπτυξη και τη χρήση του προληπτικού εμβολιασμού ως ένα νέο τρόπο πρόληψης του καρκίνου. Δύο εμβόλια βασισμένα στην πρωτεΐνη L1 του καψιδίου των ιών HPV 16 και 18 έχουν επιφέρει σχεδόν 100% αποτελεσματικότητα στην πρόληψη 1) της επίμονης λοίμωξης και 2) των προκαρκινικών βλαβών που σχετίζονται με το ιό. Το πρώτο εμβόλιο με την ονομασία Gardasil (2006) και το δεύτερο με την ονομασία Cervarix προσφέρουν θεωρητικά προστασία περίπου 70% έναντι του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Ενώ η στρατηγική του προληπτικού εμβολίου στοχεύει στην πρόληψη της αρχικής μόλυνσης από τον HPV μέσω της δημιουργίας αντισωμάτων ενάντια στα καψιδικά αντιγόνα L1 και L2, το θεραπευτικό εμβόλιο εναντίον του HPV στοχεύει στην ισχυρή ανοσολογική αντίδραση των κυτταροτοξικών και των βοηθητικών T λεμφοκυττάρων ενάντια στις E6 και E7 ογκοπρωτεΐνες, οι οποίες σε αντίθεση με τα L1 και L2 αντιγόνα ανιχνεύονται και σε προκαρκινικές και καρκινικές βλάβες.

Συμπερασματικά παρά το μεγάλο αριθμό των μελετών που έχουν γίνει μέχρι τώρα δεν έχει διευκρινιστεί απόλυτα η επίδραση του HPV στα g networks . Ίσως στο μέλλον οι ρομποτικές αναλύσεις γονιδίων, πρωτεϊνών και μεταβολιτών να προσφέρουν περισσότερες γνώσεις.

Τα εμβόλια με τα σημερινά δεδομένα καλύπτουν 70 % των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας. Η μελλοντική προσέγγιση μπορεί να αφορά διαμολύνσεις των κυττάρων που έχουν προσβληθεί από τον HPV με σκοπό την αναστολή της ανάπτυξης του ιού και την εξέλιξη σε καρκίνο στα πλαίσια της γονιδιακής θεραπείας.

A. ΟΙΟΣ HPV

1. Επιδημιολογία^{1,6}

Ο ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων είναι το πιο κοινό σεξουαλικώς μεταδιδόμενο νόσημα στον κόσμο. Εκτιμάται ότι τουλάχιστον 50% των σεξουαλικά ενεργών ατόμων θα μολυνθεί κάποια στιγμή από τουλάχιστον έναν τύπο του ιού. Επιπλέον πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει μια 6πλάσια έως 8πλάσια διαφορά στη συχνότητα του HPV στις νεότερες γυναίκες σε σύγκριση με τις μεγαλύτερες. Τα ποσοστά εκτιμούνται ανάμεσα σε 12% με 56% για τις γυναίκες κάτω των 21 ετών ενώ η συχνότητα είναι μόλις πολύ μικρότερη για τις γυναίκες άνω των 35 ετών.

Συγκεκριμένα για τις έφηβες ο κίνδυνος λοίμωξης από HPV αγγίζει το 50%-80% για τα πρώτα 3 χρόνια από την αρχή των σεξουαλικών επαφών. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι το 77% των εφήβων με ASCUS θα βρεθούν θετικές για υψηλού κινδύνου τύπους HPV.

Ο HPV ανιχνεύεται στο 99.7% των περιπτώσεων καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Παγκοσμίως περίπου 510.000 νέα περιστατικά και 288.000 θάνατοι οφείλονται στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας κάθε χρόνο.

2. Φυλογενετικότητα^{3,5}

Με την πρόοδο της χαρτογράφησης του ιικού γονιδιώματος έχουν ανιχνευθεί περισσότεροι από 100 γονότυποι του ιού (ένας απομονωμένος ιός καταχωρείται ως νέος όταν η αλληλουχία των νουκλεοτιδίων του στα γονίδια E6, E7 και L1 διαφέρει περισσότερο από 10% από κάθε άλλο τύπο). Με βάση τον τροπισμό, μπορεί να γίνει διάκριση ανάμεσα στους δερματικούς τύπους που προσβάλλουν την επιδερμίδα και τους βλεννογονικούς που προσβάλλουν το επιθήλιο της πρωκτογεννητικής και της ανώτερης πεπτικής οδού.

Μελέτες *in vitro* απέδειξαν ότι μία ομάδα από φυλογενετικά συνδεδεμένους τύπους που ανήκουν στην κατηγορία των βλεννογονικών ιών έχουν ογκογενετικό δυναμικό: οι E6 και E7 πρωτεΐνες τους παρεμβαίνουν στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου μέσω της διάσπασης των πρωτεϊνών p53 και pRb αντίστοιχα. Ακριβώς αυτοί οι τύποι HPV αποτελούν σημαντικό αιτιολογικό παράγοντα στην καρκινογένεση του τραχήλου της μήτρας και για αυτό τον λόγο έχουν χαρακτηριστεί ως υψηλού κινδύνου (hrHPV). Επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι οι υψηλού κινδύνου ιοί περιλαμβάνουν τους τύπους 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 και 82 και πιθανόν τους τύπους 26, 53, 66. Στο φυλογενετικό δέντρο των HPV οι hrHPV ταξινομούνται στις υποομάδες A5, A6, A7, A9 και A11. Οι μη ογκογενετικοί ή χαμηλού κινδύνου ιοί (lrHPV) που προσβάλλουν το γεννητικό σύστημα απέχουν φυλογενετικά από τους hrHPV και περιλαμβάνουν τους τύπους 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 και CP6108. Οι πρωτεΐνες E6 και E7 αυτών των

ιών είναι λιγότερο "ανταγωνιστικές" ως προς την αλληλεπίδρασή τους με τις p53 και pRb.

3. Βιολογία⁵

Ο ιός HPV έχει εικοσαεδρική συμμετρία και αποτελείται από 72 καψομερίδια διατεταγμένα σε μία πενταμερή δομή η οποία περιβάλλει το γονιδίωμα του. Οι γενετικές πληροφορίες του HPV είναι κωδικοποιημένες σε ένα δίκλωνο κυκλικό μόριο μήκους περίπου 8 Kb. Το γονιδίωμα του μπορεί να χωριστεί σε 3 κύριες περιοχές: των πρώιμων γονιδίων, των όψιμων γονιδίων και των ρυθμιστικών γονιδίων.

Ο κύκλος ζωής του ιού περιλαμβάνει μόλυνση του βασικού επιθηλίου και είναι στενά συνδεδεμένος με την διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων. Η βασική στιβάδα του επιθηλίου είναι η μόνη στιβάδα του επιθηλίου που εμφανίζει ενεργό πολλαπλασιασμό και πιθανότατα απαιτείται ένας μικροτραυματισμός της εξωτερικής στιβάδας του επιθηλίου, ώστε να φτάσει ο ιός στη βασική στιβάδα και να αρχίσει η μόλυνση. Όταν ξεκινήσει η μόλυνση στη βασική στιβάδα, το ιικό γονιδίωμα διατηρείται ως επίσωμα. Καθώς το κερατινοκύτταρο υφίσταται διαφοροποίηση αρχίζει και η έκφραση των γονιδίων του ιού και ο πολλαπλασιασμός τους, έως ότου να εμφανιστεί στα πλήρως διαφοροποιημένα κύτταρα της επιφάνειας η έκφραση των όψιμων γονιδίων L1 και L2 (που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες που σχηματίζουν το καψίδιο). Ένα άλλο είδος μόλυνσης είναι η μεταπλαστική κατά την οποία δεν προκύπτει αντιγραφή του ιικού γονιδιώματος. Σε αυτήν την περίπτωση το ιικό DNA παραμένει είτε ως εξωχρωμοσωμικό στοιχείο, ή ενσωματώνεται σε ένα χρωμόσωμα του ξενιστού σε ένα τυχαίο σημείο. Η ενσωμάτωση του ιού στο DNA του ξενιστού θεωρείται ότι είναι απαραίτητο βήμα στην μετάπλαση του βλεννογόνου από τον HPV.

Οι E6 και E7 είναι οι κύριες ογκογενετικές πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην καρκινογένεση από τον HPV. Οι πρωτεΐνες αυτές αλληλεπιδρούν με τους φυσιολογικούς μηχανισμούς για τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου. Οι τύποι του HPV που είναι χαμηλού κινδύνου για την ανάπτυξη καρκίνου έχουν ασθενείς αλληλεπιδράσεις με τα στοιχεία ρύθμισης του κυτταρικού κύκλου, p53 και Rb, ενώ οι υψηλού κινδύνου τύποι έχουν δεσμούς υψηλότερης συγγένειας με αυτά τα κυτταρικά στοιχεία.

Η πρωτεΐνη E6 των υψηλού κινδύνου HPV τύπων σχηματίζει ένα σύμπλεγμα με την κυτταρική πρωτεΐνη που σχετίζεται με την E6 (E6AP). Το σύμπλεγμα συνδέεται και διασπά την p53 μέσω πρωτεόλυσης κατευθυνόμενης από τη ουβικουτίνη. Η πρωτεΐνη p53 είναι απαραίτητη για την επιδιόρθωση του DNA καθώς ρυθμίζει την αναστολή του κυτταρικού κύκλου στο σημείο G1 ή την απόπτωση του κυττάρου ως απάντηση στην καταστροφή του DNA του. Η διάσπαση της p53 θα οδηγούσε σε

ελλιπή έλεγχο του κυτταρικού κύκλου με συνέπεια τη συσσώρευση μεταλλάξεων και τη γενετική αστάθεια. Η πρωτεΐνη E7 των υψηλού κινδύνου τύπων HPV συνδέεται με την πρωτεΐνη-αναστολέα του ρετινοβλαστώματος (pRb) με μεγαλύτερη συγγένεια από τους τύπους χαμηλού κινδύνου. Η σύνδεση της πρωτεΐνης E7 με την pRb προκαλεί την απελευθέρωση του μεταγραφικού παράγοντα E2F. Αυτό οδηγεί στην ενεργοποίηση ορισμένων γονιδίων -εξαρτώμενων από τον E2F- που απαιτούνται για την σύνθεση του DNA και τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου. Τα ανωτέρω έχουν σαν αποτέλεσμα την απορρύθμιση του ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και τον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Όταν ο ιός εισβάλλει στο χρωμόσωμα του ξενιστή τα γονίδια E1 και E2, που ρυθμίζουν την παραγωγή των πρωτεϊνών E6 και E7, αδρανοποιούνται με επακόλουθη αύξηση της έκφρασης των ογκογονιδίων E6 και E7. Δεδομένου ότι: 1) η έκφραση των E6 και E7 γονιδίων απαιτείται για τη διατήρηση της κατάστασης εξαλλαγής, 2) τα επίπεδα έκφρασής τους είναι υψηλότερα στα εξαλλαγμένα κύτταρα και 3) αυτή η υπερέκφραση δεν μπορεί αν αντιμετωπισθεί από το ανοσολογικό σύστημα του ξενιστού, οι πρωτεΐνες των ογκογονιδίων E6 και E7 αποτελούν πιθανούς στόχους για το θεραπευτικό εμβόλιο κατά του HPV.

Β. ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΩΝ ΒΛΑΒΩΝ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ ΠΟΥ ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΣΤΟΥΣ ΙΟΥΣ HPV^{2,4,5}

Η μετάδοση του ιού HPV είναι στενά συνδεδεμένη με τη σεξουαλική δραστηριότητα. Μελέτες φυσικής ιστορίας σε έφηβες με αρνητική για τον HPV εξέταση και φυσιολογικό τεστ Παπανικολάου (Pap test) οι οποίες άρχισαν να έχουν σεξουαλικές επαφές αποδεικνύουν την σεξουαλική μετάδοση του ιού. Ο HPV ανιχνεύεται στο 2% των μη ενεργών σεξουαλικά γυναικών εν αντιθέσει με τις ενεργές στις οποίες η συχνότητα φτάνει το 45%. Η σχέση μεταξύ σεξουαλικής δραστηριότητας και μόλυνσης με τον HPV επιβεβαιώνεται και από την ανίχνευση

παρόμοιων τύπων ανάμεσα σε σεξουαλικούς συντρόφους. Ωστόσο υπάρχουν στοιχεία ότι υπάρχουν κι άλλοι τρόποι μετάδοσης όπως (αν και αναφέρεται σπάνια) η ενδομήτρια μετάδοση, η περιγεννητική μετάδοση, ο αυτενοφθαλμισμός, ο ενοφθαλμισμός από στενή- μη σεξουαλική επαφή και πιθανώς έμμεσα από μολυσμένα αντικείμενα.

Η πλειοψηφία των γυναικών που έχουν μολυνθεί θα παραμείνουν ασυμπτωματικές. Εκείνες που θα ανιχνευθούν από το παθολογικό Pap test, από εξέταση για HPV ή από κλινικώς ορατά οξυτενή κονδυλώματα πιθανότατα θα έχουν επούλωση της βλάβης χωρίς θεραπεία. Σε μελέτες φυσικής ιστορίας που έγιναν σε έφηβες με πρόσφατη λοίμωξη από HPV η μέση διάρκεια ανίχνευσης του ιού είναι 13 μήνες. Η πλειοψηφία των ασθενών (90%) με επαρκές ανοσοποιητικό σύστημα θα λύσει τη βλάβη μέσα σε 24 μήνες. Φυσικά νέες λοιμώξεις από τον ίδιο τύπο μπορεί να προκύψουν κι έτσι να επισκιάζεται το πραγματικό ποσοστό της υποστρόφης. Περαιτέρω στοιχεία για την επούλωση των βλαβών προκύπτουν από το υψηλό ποσοστό υποστρόφης των CIN1 και CIN2 που αγγίζει το 65% και το 30% αντίστοιχα. Δυστυχώς ορισμένα άτομα είναι επιρρεπή σε ανθεκτική λοίμωξη. Στα άτομα αυτά η λοίμωξη μπορεί να επιμένει για χρόνια και να τα θέσει σε κίνδυνο για την ανάπτυξη καρκίνου της μήτρας. (πίνακας 1)

Πολλές από τις λοιμώξεις από τον HPV θα οδηγήσουν στην εμφάνιση LSIL. Η καλοήθης φύση του LSIL διαφαίνεται από το υψηλό ποσοστό υποστρόφης του. Το LSIL παρουσιάζει μορφολογικές ομοιότητες με την ενεργό φάση πολλαπλασιασμού του HPV (π.χ εμφάνιση κοίλοκυττάρων).

Μία μελέτη έφηβων και νεαρών γυναικών έδειξε ότι το 92% των LSIL υποχώρησε μέσα σε 36 μήνες παρακολούθησης. Μόνο 3% των γυναικών ανέπτυξε HSIL. Τα ποσοστά υποστρόφης τόσο του HPV όσο και του LSIL σε μεγαλύτερες γυναίκες φαίνεται να είναι χαμηλότερα. Για αυτόν το λόγο η ανίχνευση HPV και LSIL σε μεγαλύτερες γυναίκες (ορίζονται οι γυναίκες άνω των 30 ετών) πιθανότατα αντικατοπτρίζει επίμονη λοίμωξη και αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης HSIL.

Ταξινόμηση Bethesda	Ταξινόμηση Π.Ο.Υ
·Άτυπα πλακώδη κύτταρα (ASC) ·Άτυπα πλακώδη κύτταρα αδιευκρίνιστης σημασίας (ASCUS) ·Χωρίς αποκλεισμό HSIL (ASC-H)	·Ατυπία
·Χαμηλού βαθμού πλακώδης ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση (LSIL)	·Κονδυλώματα, CIN1
·Υψηλού βαθμού πλακώδης ενδοεπιθηλιακή αλλοίωση (HSIL)	·CIN2, CIN3, καρκίνωμα in situ

Πίνακας 1

Ο ρόλος της επίμονης λοίμωξης από HPV στην ανάπτυξη HSIL είναι γνωστός. Το HSIL χαρακτηρίζεται από μορφολογικές αλλαγές ενδεικτικές για μετάπλαση που κυρίως αφορούν τον πυρήνα. Ωστόσο οι απόψεις για τον χρόνο που πρέπει διαρκεί η λοίμωξη για να οδηγήσει στην εμφάνιση HSIL παραμένουν αντιφατικές. Ένα από τα προβλήματα για τον καθορισμό του κινδύνου είναι ότι ο όρος HSIL περιλαμβάνει τους όρους CIN2 και CIN3 των οποίων η φυσική ιστορία διαφέρει, με αποτέλεσμα οι μελέτες που χρησιμοποιούν την κατάταξη HSIL να βρίσκουν διαφορετικές μετρήσεις από αυτές που χρησιμοποιούν την κατάταξη CIN2 ή 3. Ορισμένες χώρες που έχουν συλλέξει μετρήσεις για το CIN3 δείχνουν ότι αυτές εμφανίζουν ένα μέγιστο (peak) σε γυναίκες ηλικίας 27 έως 30 ετών, 7-10 έτη αργότερα από το μέγιστο για την λοίμωξη HPV. Συγκριτικά ο κίνδυνος ανάπτυξης της κυτταρολογικής μορφής HSIL στις έφηβες είναι ίσος με τον κίνδυνο για τις γυναίκες ηλικίας 20-30. Σε μία άλλη κυτταρολογική έρευνα η συχνότητα του HSIL βρέθηκε 0.7%, 0.8% και 0.7% για τις ηλικιακές ομάδες 15-19, 20-29 και 30-39 ετών αντίστοιχα. Σε ένα πανεθνικό πληθυσμιακό έλεγχο που έγινε στη Νορβηγία, 0,2% από τα 2.000 επιχρίσματα που ελήφθησαν από έφηβες ηλικίας 15-19 ετών βρέθηκε ότι ανήκει στην κατηγορία HSIL. Ο λόγος που υπάρχουν αυτές οι διαφορές είναι ότι οι περιπτώσεις CIN2 υπερέρχονται αριθμητικά των CIN3 στις έφηβες ενώ στις μεγαλύτερες γυναίκες επικρατεί το CIN3. Επομένως οι μελέτες που ανιχνεύουν HSIL στις έφηβες αντιπροσωπεύει κυρίως τις περιπτώσεις CIN2.

Δεδομένων αυτών των περιορισμών, φαίνεται ότι τα CIN1 και CIN2 εμφανίζονται σύντομα μετά τη μόλυνση στις περισσότερες γυναίκες ενώ σε ορισμένες απαιτείται διάστημα 1 έως 3 ετών για την ανίχνευση της βλάβης.

Γενικά, η φυσική ιστορία του LSIL στις έφηβες είναι παράλληλη αυτής του HPV, με ελάχιστες να εξελίσσονται σε HSIL. Σε διαχρονική μελέτη που αφορούσε βλάβες τύπου LSIL, μόνο το 3% των εφήβων εξελίχθηκε σε HSIL σε διάστημα 3 ετών. Αντιθέτως, σε μία προοπτική μελέτη παρελθόντος σε έφηβες κάτω των 19 ετών με LSIL αναφέρεται ότι το 31% εξελίχθηκε σε HSIL μέσα σε 36 μήνες. Βέβαια υπάρχουν περιορισμοί ως προς τα αποτελέσματα της τελευταίας καθώς 1) δεν είναι ξεκάθαρο εάν οι περιπτώσεις HSIL αποτελούν νέες βλάβες ή εάν πρόκειται για πραγματική μετάπτωση από LSIL και 2) μόνο το 1/3 των αρχικών περιστατικών παρακολούθηθηκε για 36 μήνες. Αυτές οι διαφορές ανάμεσα στις μελέτες μπορεί να είναι θέμα ερμηνείας κυτταρολογίας ή ιστολογίας ή να αντανακλούν τα χαρακτηριστικά διαφορετικών πληθυσμών. Αξίζει να αναφερθεί ότι σε καμία μελέτη δεν βρέθηκε διηθητικός καρκίνος. Όσον αφορά τη σύγκριση με μεγαλύτερες γυναίκες μελέτες έδειξαν πως 12,8% αυτών θα αναπτύξει από LSIL ή ASCUS/HPV, HSIL σε διάστημα 2 ετών.

Οι μελέτες που αφορούν το HSIL είναι λίγες καθώς το

καρκίνωμα in situ αποτελεί μέρος του HSIL και τίθενται ηθικά ζητήματα για την παρακολούθηση αυτών των βλαβών χωρίς θεραπεία.

Γ. ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗΝ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ⁷

Τα τελευταία 20 χρόνια έχουν γίνει σημαντικές προσπάθειες για την αναγνώριση νέων βιοδεικτών για πιο αποτελεσματικά και οικονομικά προγράμματα ανίχνευσης του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Το μεγαλύτερο ποσοστό της έρευνας έχει εστιαστεί στον ιό HPV. Λόγω της προσβασιμότητας του τραχήλου της μήτρας οι περισσότερες προσεγγίσεις έχουν επικεντρωθεί στην ανίχνευση των δεικτών απευθείας σε δείγματα ιστού από τον τράχηλο της μήτρας.

Βιοδείκτες προερχόμενοι από την ανάλυση των μοριακών γεγονότων που οδηγούν στην καρκινογένεση του τραχήλου της μήτρας.

Οι μοριακές αντιδράσεις των πρωτεϊνών του HPV με τις πρωτεΐνες των κυττάρων του ξενιστή και την ομοίωση του γονιδιώματός του έχουν μελετηθεί εντατικά τα τελευταία 20 χρόνια. Τα πρώιμα γονίδια του ιού κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμπλέκονται στον κύκλο ζωής του ιού και τα όψιμα γονίδια κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες L1 και L2 του κυτταρικού φακέλου. Τα πρώιμα γονίδια E6 και E7 αποτελούν τους πιο σημαντικούς παράγοντες που οδηγούν στην κυτταρική μετάπλαση που οφείλεται στους υψηλού κινδύνου τύπους HPV. Τα προϊόντα των γονιδίων E6 και E7 έχουν σαν στόχο πληθώρα κυτταρικών διεργασιών του κυττάρου ξενιστού με πιο σημαντικές δράσεις την απενεργοποίηση pRb από την πρωτεΐνη E7 και τη διάσπαση της p53 από την πρωτεΐνη E6. Η απώλεια της λειτουργίας του pRb οδηγεί στην ενεργοποίηση του κυτταρικού κύκλου μέσω της οδού του E2F, που φυσιολογικά θα εξουδετερωνόταν από την ενεργοποίηση των μηχανισμών απόπτωσης του κυττάρου ξενιστή. Ωστόσο η απόπτωση αναστέλλεται από την διάσπαση της p53 από την E6. Κατά τη διάρκεια του πολλαπλασιασμού τους οι ογκογόνοι ιοί δεν προκαλούν παθολογικές αντιδράσεις στους ξενιστές τους ώστε να πολλαπλασιαστούν και να παραμείνουν απαρατήρητοι από τα προσβεβλημένα κύτταρα. Για να επιτευχθεί αυτό μέρος της στρατηγικής της αντιγραφής τους βασίζεται στο γεγονός ότι κατά τη διάρκεια του φυσιολογικού κύκλου ζωής του ιού, τα γονίδια E6 και E7 εκφράζονται επιλεκτικά στις ανώτερες επιθηλιακές στιβάδες για να ενεργοποιήσουν σε αυτό το σημείο τον

μηχανισμό του πολλαπλασιασμού του ιού. Με τον περιορισμό του πολλαπλασιασμού του ιού στα τελικώς διαφοροποιημένα κύτταρα, τα οποία δεν έχουν ικανότητα πολλαπλασιασμού, ο ιός αποφεύγει τις βλαβερές συνέπειες του ξενιστή του. Η έκφραση των E6 και E7 γονιδίων στα ικανά για πολλαπλασιασμό βασικά κύτταρα φαίνεται να είναι ισχυρά κατασταλμένη από παράγοντες που δεν έχουν αναγνωριστεί ακόμα. Το βασικό τεκμήριο της μετατροπής από ιστό προσβεβλημένο από τον HPV σε δυσπλαστικές βλάβες είναι η αυξημένη έκφραση των ογκογονιδίων του HPV. Σε βλάβες CIN που χαρακτηρίζονται από χαμηλό βαθμό διαφοροποίησης (υψηλό grade), τα E6 και E7 γονίδια εκφράζονται έντονα στην βασική στιβάδα του επιθηλίου και τα ικά ογκογονίδια αλληλεπιδρούν σημαντικά με τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου αυτών των ενεργά πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων. Σε αυτά τα κύτταρα ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός, ο απορυθμισμένος κυτταρικός κύκλος και η χρωμοσωμική αστάθεια έχει σαν συνέπεια πολλαπλές αριθμητικές και δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες.

Κατά την πορεία της διαδικασίας επιδιόρθωσης των χρωμοσωμικά ασταθών κυττάρων το γονιδίωμα του HPV μπορεί να εισχωρήσει στα χρωμοσώματα του κυττάρου ξενιστή. Αν και μικρό ποσοστό των βλαβών CIN περιέχει ενσωματωμένο ιικό γονιδίωμα, ένα υψηλό ποσοστό καρκίνων του τραχήλου κρύβει ενσωματωμένο ιικό DNA. Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η ιική ενσωμάτωση δεν είναι η αιτία αλλά μάλλον η συνέπεια της αυξανόμενης χρωμοσωμικής αστάθειας των μολυσμένων με HPV κυττάρων. Κατά τη διαδικασία της ενσωμάτωσης του ιού το E2 γονίδιο συνήθως αποκόπτεται ενώ τα E6 και E7 γονίδια διατηρούνται. Αυτό έχει σαν συνέπεια την περαιτέρω ενίσχυση της έκφρασής τους. Η ογκογενετική έκφραση καθοδηγείται από τον ιικό προωθητικό παράγοντα και μπορεί να μεταβληθεί από ανταγωνιστές του κυτταρικού περιβάλλοντος όπως είναι οι κυτταρικοί προωθητικοί παράγοντες, ενισχυτές και αναστολείς ή από επιγενετικές μετατροπές.

1. Βιοδείκτες της απορυθμισμένης ογκογενετικής έκφρασης του HPV

1.1 p16 INK4a

Η υπερέκφραση του αναστολέα της κυκλινεξαρτώμενης κινάσης είναι άμεση συνέπεια της απορυθμισμένης ογκογενετικής έκφρασης του HPV. Συνήθως η σύνδεση του E7 με την pRb μπλοκάρει την ενεργοποίηση του κυτταρικού κύκλου που κατευθύνεται από τον E2. Στα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα ο E7 ρυθμίζεται από την φωσφορυλίωση του Rb (η φωσφορυλίωση του Rb αναστέλλει τη σύνδεση του E7 με το Rb). Η φωσφορυλίωση του Rb διέπεται από τις

κυκλινεξαρτώμενες κινάσες (CDK4, CDK6) οι οποίες με τη σειρά τους εξαρτώνται από διάφορους αναστολείς των κινάσων (INKs). Η ανώμαλη έκφραση του E7 στη βασική στιβάδα καταστρέφει τη σύνδεση της pRb με τον E2F με συνέπεια την μαζική απελευθέρωση του p16 INK4a, σημαντικού αναστολέα των CDK. Εφόσον η εξαρτώμενη από το E7 απελευθέρωση του E2F δεν εξαρτάται από τη φωσφορυλίωση η αντισταθμιστική αύξηση της έκφρασης του p16 INK4a δεν έχει καμία επίδραση στον ενεργοποιημένο κυτταρικό κύκλο.

Υπό φυσιολογικές συνθήκες ο p16 INK4a εκφράζεται όταν τα κύτταρα υφίστανται μία κατάσταση γονιδιακού stress όπως τη σημαντική μείωση του μήκους των τελομεριδίων σε γηράσκοντες ιστούς. Η έκφραση του p16 INK4a σε αυτά τα κύτταρα προάγει άμεσα την μη αναστρέψιμη απόσυρση από τον κυτταρικό κύκλο και την είσοδό τους στη φάση G0 ή σε απόπτωση. Κατά συνέπεια ανεξάρτητα από τον HPV η έκφραση του p16 INK4a παρατηρείται ορισμένες φορές και σε μεμονωμένα κύτταρα, τα οποία υφίστανται τροποποιήσεις στο φυσιολογικό πρόγραμμα διαφοροποίησής τους λόγω γήρανσης ή γονιδιακού stress. Συγκεκριμένα σε μεταπλαστικά ή ατροφικά επιθηλιακά κύτταρα σε μεγαλύτερες γυναίκες μπορεί να βρεθούν αυξημένα ποσά p16 INK4a, τα οποία όμως δεν σχετίζονται με ογκογενετική έκφραση του HPV. Επιπλέον κατά τη μικροσκοπική εξέταση παρασκευασμάτων από μη-δυσπλαστικά επιθήλια μολυσμένα με Lg ή Hr-HPV τύπους και με την βοήθεια της ανοσοϊστοχημείας δεν παρατηρείται διάχυτη σήμανση.

Σε πλήρη αντίθεση με το πρότυπο έκφρασης του p16 INK4a στα ανενεργά κύτταρα, η παθολογική έκφραση στα μεταπλαστικά, λόγω του HPV, κύτταρα φαίνεται σαν ένα διάχυτο πρότυπο ανοσοϊστοχημικής σήμανσης στα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα της βασικής και παραβασικής στιβάδας. Βασικά όλα τα καρκινώματα του τραχήλου της μήτρας, οι CIN3 βλάβες και η πλειοψηφία των CIN2 βλαβών βρέθηκαν να είναι διάχυτα θετικά με την μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας. Αντιθέτως μόνο ένα υποσύνολο των CIN1 βλαβών είναι θετικό στον p16 INK4a.

Η ανοσοϊστοχημεία βελτίωσε την αναπαράσταση της ιστολογικής εκτίμησης σε σύγκριση με τη συμβατική βαφή αιματοξυλίνης ηωσίνης. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι βλάβες χαμηλού grade θετικές στον p16 INK4a έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο υποτροπής σε σχέση με τις βλάβες που είναι αρνητικές στον p16 INK4a. Αυτό μας δείχνει ότι ο p16 INK4a θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για τον διαχωρισμό των βλαβών με υψηλό κίνδυνο υποτροπής από αυτές που έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα υποτροπής. Η κλασική κυτταρολογική εξέταση αν συνδυαστεί με την ανίχνευση της υπερέκφρασης του p16 INK4a ανεβάζει την ευαισθησία του τεστ καθώς η υπερέκφραση του παρουσιάζεται στο 98% των HSIL, ενώ για τις περιπτώσεις LSIL και για τα

φυσιολογικά δείγματα είναι 10% και 1% αντίστοιχα. Σε μία ανεξάρτητη έρευνα η οποία προσπαθούσε να ανιχνεύσει σε ποιες από τις περιπτώσεις ASC-US/LSIL στην πραγματικότητα επρόκειτο για περιπτώσεις υψηλού grade με τη βοήθεια της ανίχνευσης του p16INK4a εξέταση είχε 95% ευαισθησία σε συνδυασμό με 84% ειδικότητα για το ASC-US, και 100% ευαισθησία με 82% ειδικότητα για το LSIL.

Εφόσον η μέτρηση για την έκφραση του p16INK4a μπορεί να γίνει από το πρώτο δείγμα, αυτή η εφαρμογή θα μπορούσε να αποτελέσει εξέταση εκλογής για τον επανέλεγχο απροσδιόριστων κυτταρολογικών αποτελεσμάτων.

Πρόσφατα αναπτύχθηκε μια βιοχημική δοκιμασία που επιτρέπει τη μέτρηση των επιπέδων του p16INK4a σε επεξεργασμένα τραχηλικά επιχρίσματα. Το πλεονέκτημα αυτής της προσέγγισης είναι ότι το αποτέλεσμα της δοκιμασίας είναι ανεξάρτητο από την εκπαίδευση και την εμπειρία του παρατηρητή. Οι δοκιμασίες που βασίζονται στις πρωτεΐνες είναι πιο αδρές και προσφέρουν γρήγορη ανίχνευση.

2. Δείκτες χρωμοσωμικής αστάθειας

2.1 Ανευπλοειδία

Έχει αποδειχθεί ότι διαταραχές στη λειτουργία της μιτωτικής ατράκτου επισυμβαίνουν νωρίς κατά την διαταραχή της έκφρασης των ογκογονιδίων του HPV, έχοντας σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση μη διπλοειδικών πυρήνων (ανευπλοειδία). Συμπερασματικά η ανευπλοειδία αποτελεί χαρακτηριστικό των μεταπλαστικών βλαβών από τον HPV ακόμα και σε προκαρκινικά στάδια. Με τη χρήση της μεθόδου της κυτταρομετρίας ροής οι μελέτες που έγιναν, έδειξαν συσχέτιση ανάμεσα στην ανευπλοειδία και την αύξηση της δυσπλασίας. Επιπλέον φάνηκε ότι η ανευπλοειδία προηγείται της ενσωμάτωσης του HPV σε προχωρημένες δυσπλαστικές βλάβες ενισχύοντας την αντίληψη ότι η ενσωμάτωση του ιικού γονιδιώματος είναι το αποτέλεσμα και όχι η αιτία της χρωμοσωμικής αστάθειας.

2.2 Ενσωμάτωση του HPV

Μία απλή προσέγγιση είναι η βασιζόμενη στην PCR μέτρηση του λόγου του E2 προς τα E6/E7 γονίδια. Το E2 συχνά χάνεται κατά τη διάρκεια της ενσωμάτωσης με αποτέλεσμα ο θεωρητικός λόγος 1:1 ανάμεσα στα 2 γονίδια να γέρνει προς την πλευρά του E6/E7. Ωστόσο σε πολλές βλάβες υψηλού grade και λιγότερο σε προχωρημένα καρκινώματα, παρευρίσκονται πολλά αντίγραφα του γονιδιώματος ως επισώματα και λιγότερα ενσωματωμένα στο γονιδίωμα του ξενιστή

δυσκολεύοντας πολύ την άμεση μέτρηση. Η άμεση μέτρηση γίνεται ακόμα πιο δύσκολη καθώς τα αντίγραφα του ιού ενσωματώνονται σε τυχαίες θέσεις με αποτέλεσμα την έλλειψη συγκεκριμένων αλληλουχιών που θα μπορούσαν να ανιχνευθούν. Για αυτόν τον λόγο γίνεται χρήση εκκινητών και περιοριστικών ενζύμων ή γίνεται πέψη συγκεκριμένων αλληλουχιών με ένζυμα, ώστε να παραχθούν με την PCR μόνο οι περιοχές που μας ενδιαφέρουν.

Ο βασισμένος στο RNA πολλαπλασιασμός των συντηγμένων κυτταρικών και ιικών μορίων για την ανίχνευση ειδικά των ενσωματωμένων γονιδίων του ιού είναι λιγότερο επίπονη από την βασισμένη στο DNA ανίχνευση αλλά απαιτεί φρεσκοδιατηρημένο υλικό με σωστή ποιότητα RNA.

Η ανίχνευση της ενσωμάτωσης του ιικού γονιδιώματος εμφανίζει μεγάλη ειδικότητα για προχωρημένες βλάβες αλλά όχι τόσο μεγάλη ευαισθησία καθώς σε σχετικές μελέτες το 80-90% των περιπτώσεων καρκίνου της μήτρας βρέθηκε θετικό στην ενσωμάτωση του ιικού γονιδιώματος. Η ενσωμάτωση του ιού φαίνεται κυρίως σε προχωρημένες βλάβες με υψηλό δυναμικό εξέλιξης, πρόκειται δηλαδή για βλάβες που απαιτούν θεραπεία.

Αν και ορισμένα περιστατικά ενσωμάτωσης φαίνεται να συνδέονται με εύθραυστες περιοχές κάθε ενσωμάτωση είναι μοναδική όσον αφορά τη θέση στην οποία θα λάβει χώρα. Αποδείχθηκε ότι όλα τα κύτταρα, προέρχονται από τον ίδιο κλώνο όσον αφορά τη θέση ενσωμάτωσης του HPV στις περιπτώσεις καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και στις προκαρκινικές βλάβες υψηλού grade επιτρέποντας τη χρήση της ενσωμάτωσης του ιού ως έναν πολύ ειδικό καρκινικό δείκτη στην μετά τη θεραπεία παρακολούθηση.

3. Δείκτες πολλαπλασιασμού και διπλασιασμού του γονιδιώματος των κυττάρων του ξενιστή

3.1 ki67

Ο αυξημένος πολλαπλασιασμός των επιθηλιακών κυττάρων λόγω της υπερέκφρασης της ογκογενετικής δραστηριότητας του ιού αντικατοπτρίζεται στην ενεργοποίηση δεικτών του πολλαπλασιασμού όπως είναι η πρωτεΐνη ki67. Αυτή η πρωτεΐνη εκφράζεται ευρέως σε βλάβες CIN, αλλά μπορεί επίσης να βρεθεί σε φυσιολογικά κύτταρα της βασικής στιβάδας, τα οποία διατηρούν την ικανότητα του πολλαπλασιασμού τους. Από τη μελέτη της συσχέτισης ανάμεσα στο grade της βλάβης και τις ομάδες επιθηλιακών κυττάρων θετικών στο ki67, βγαίνει το συμπέρασμα ότι, αυτές οι ομάδες των κυττάρων αποτελούν καλό κριτήριο για τη διάκριση χαμηλού grade βλάβες CIN από φυσιολογικά επιθήλια.

3.2 MYC

Το κυτταρικό ογκογονίδιο MYC συχνά βρίσκεται να υπερεκφράζεται στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, υποδεικνύοντας πως η ανίχνευσή του μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση δυσπλαστικών βλαβών. Συγκεκριμένα βρέθηκε ενίσχυση του MYC μέσω PCR σε ιστολογικά και κυτταρολογικά δείγματα σε επίπεδα αυξανόμενα όσο αυξανόταν το grade του προκαρκινικού σταδίου

3.3 Κυκλίνες

Η έκφραση ορισμένων κυκλινών έχει αναλυθεί στα προκαρκινικά στάδια και τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Η κυκλίνη D1 βρέθηκε ότι υπερεκφράζεται σε βλάβες χαμηλού grade, που οφείλονται σε LR-HPV ενώ απουσίαζε σε βλάβες οφειλόμενες στους HR-HPV. Άλλες κυκλίνες όπως οι A,B και E βρέθηκαν αυξημένες σε προκαρκινικές τραχηλικές βλάβες

3.4 Τελομεράση

Η έκφραση της τελομεράσης είναι σημαντική για την πρόληψη της απώλειας των αλληλουχιών που βρίσκονται στα τελικά άκρα των χρωμοσωμάτων, η οποία (απώλεια) προκύπτει φυσιολογικά μετά από κάθε κυτταρική διαίρεση. Για να το πετύχει αυτό η τελομεράση, προσθέτει μικρές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες στα άκρα των χρωμοσωμάτων.

Εφόσον η τελομεράση είναι απαραίτητη για την διατήρηση του μήκους των τελομεριδίων σε πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα, ανευρίσκεται σε υπερέκφραση σε πολλούς καρκίνους. Αυξημένη δραστηριότητα της τελομεράσης βρέθηκε κυρίως σε προχωρημένες δυσπλασίες με ποικίλη ευαισθησία για την ανίχνευση των CIN υψηλού grade.

Δ. ΕΜΒΟΛΙΑ^{8,9}

Ανοσολογία του HPV

Σε ασθενείς με αρχικού σταδίου καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας και βλάβες CIN παρατηρούνται κυτταροτοξικές αντιδράσεις από τα T κύτταρα εναντίον των HPV 16 και 18. Επιπλέον, αντιδράσεις T βοηθητικών κυττάρων εναντίον των E6 και E7 έχουν ανιχνευθεί σε ασθενείς με παθολογικά κυτταρολογικά ευρήματα από τον τράχηλο. Επιδημιολογικές μελέτες για την παρουσία αντισωμάτων ενάντια στον HPV παρατηρούν ότι, αντισώματα IgG κατευθυνόμενα εναντίον του κύριου καψιδικού αντιγόνου (L1) παράγονται στην πλειοψηφία των ατόμων με παλιά ή νέα λοίμωξη από τον HPV. Ωστόσο αυτά τα αντισώματα υπάρχουν σε χαμηλά επίπεδα και είναι ειδικά για κάθε τύπο HPV, με αποτέλεσμα τα αντισώματα για έναν τύπο HPV να μην είναι

προστατευτικά για άλλους τύπους. Οι μελέτες αυτές δείχνουν ότι, αν και αποτελεσματική αντική απάντηση κινητοποιείται στην πλειονότητα των προσβεβλημένων από HPV ατόμων, η ανοσολογική απάντηση μπορεί να αναπτύσσεται πολύ αργά ή να είναι πολύ χαμηλού βαθμού για να προλάβει την ανάπτυξη καρκίνου σε κάποια άτομα. Αυτό που επίσης δείχνουν αυτές οι μελέτες είναι ότι, με την ενίσχυση της ανοσοποιητικής απάντησης του ξενιστή μέσω εμβολιασμού ή μόλυνση με ορισμένους τύπους του ιού μπορεί να προληφθεί ή και να θεραπευτεί.

Αποτελεσματική καταστροφή των προσβεβλημένων από τον ιό κυττάρων γίνεται κυρίως μέσω της Th1 τύπου αντίδρασης που χαρακτηρίζεται από την παρουσία των κυτταροτοξικών και τον CD4+ βοηθητικών Τα κυττάρων. Τα βοηθητικά T κύτταρα συνεισφέρουν στην καταστροφή του ιού και την εκρίζωση των όγκων ενεργοποιώντας και συντηρώντας την αντίδραση των κυτταροτοξικών κυττάρων με την παραγωγή των Th1 κυτταροκινών όπως η IFN-γ. Τα κυτταροτοξικά κύτταρα θεωρούνται βασικά κύτταρα για την καταστροφή τόσο των καρκινικών όσο και των προσβεβλημένων από τον ιό κυττάρων. Τα κύτταρα στόχοι αναγνωρίζονται από τα κυτταροτοξικά κύτταρα λόγω της αντιγονοπαρουσίασης των ξένων αντιγόνων στην επιφάνειά τους. Τα αντιγόνα αποτελούνται από 8 έως 10 αμινοξέα και είναι συνδεδεμένα με τα μόρια του Μείζονος Συμπλέγματος Ιστοσυμβατότητας τάξεως I (MHC I). Επιπλέον οι ίδιες πρωτεΐνες των κυττάρων παρουσιάζονται συνδεδεμένες με τα μόρια του MHC I και αυτό επιτρέπει στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος να κάνουν διαχωρισμό ανάμεσα στα αντιγόνα του οργανισμού και τα ξένα αντιγόνα. Τα βοηθητικά T κύτταρα αλληλεπιδρούν με ειδικά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC), τα οποία παρουσιάζουν ικά και καρκινικά αντιγόνα μέσω του Μείζονος Συμπλέγματος Ιστοσυμβατότητας τάξεως II (MHC II). Η διαδικασία μεταφοράς των αντιγόνων στην επιφάνεια των APC είναι γνωστή ως εξωγενής αντιγονοπαρουσίαση και αντίθετα με το MHC I περιορίζεται στα ειδικά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα όπως είναι τα B λεμφοκύτταρα, τα μακροφάγα, τα κύτταρα του Langerhans (LC) και τα δενδριτικά κύτταρα (DC).

Οι πρόδρομες μορφές των LC και DC αποτελούν εξειδικευμένα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα που ειδικεύονται στην σύλληψη αντιγόνων στην περιφέρεια. Τα πρόδρομα DC βρίσκονται στο χόριο, ενώ τα πρόδρομα LC στην επιδερμίδα και τις επιθηλιακές στιβάδες όλων των βλεννογόνων. Στο γεννητικό σύστημα η μόλυνση από τον HPV ξεκινάει στη βασική στιβάδα του επιθηλίου και τα LC θεωρείται ότι παρουσιάζουν αντιγόνα του HPV στα "αθώα" T κύτταρα (naive). Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας την αντιγονοπαρουσίασης τα LC φυσιολογικά θα έπρεπε να υποστούν ωρίμανση. Ωστόσο

το περιβάλλον των κυτταροκινών, στο οποίο τα LC συναντούν τα αντιγόνα του HPV, και το οποίο διαμορφώνεται από τα κερατινοκύτταρα αποτελείται από των TGF-β και την IL-2, κατευθύνει το αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο προς την Th-2 τύπου ανοσία, η οποία είναι αναποτελεσματική στην αντιμετώπιση συμπαγών όγκων και κυττάρων προσβεβλημένων από τον HPV. Ωστόσο, σε καταστάσεις φλεγμονής, τα κερατινοκύτταρα μπορούν να παράγουν προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, οι οποίες μπορούν να προωθήσουν μία Th1 τύπου ανοσολογική απάντηση, οδηγώντας στην παρουσίαση των ιικών αντιγόνων από ώριμα LC και στην ολοκλήρωση μιας αποτελεσματικής ανοσολογικής απάντησης εναντίον της HPV λοίμωξης.

Μία ενδιαφέρουσα μελέτη έδειξε ότι, ενώ στοιχεία των δομικών περιοχών του ιού (VLPs) μπορούν να ενεργοποιήσουν τα DC, δεν ενεργοποιούν τα LC, αποδεικνύοντας έτσι έναν έξυπνο μηχανισμό που έχει ο HPV για να ξεφεύγει από το πεδίο δράσης του ανοσολογικού συστήματος του ξενιστή.

Τα DC φαίνονται να είναι από τους καλύτερους διεγέρτες των "αθώων" T κυττάρων. Έχουν υψηλή πυκνότητα μορίων του MHC και συνδιεγερτών και διέπονται από μία αποδοτική διαδικασία εξωγενούς παρουσίασης μέσω του μονοπατιού του MHC I προς τα "αθώα" CD8+ T κύτταρα μέσω διασταυρούμενης παρουσίασης.

Ο εμβολιασμός με αντιγόνα του HPV μπορεί μέσω της αντιγονοπαρουσίασης από τα DC κύτταρα να οδηγήσει στην ενεργοποίηση της Th1 τύπου ανοσολογικής απάντησης όπως συμβαίνει με την πρόληψη των αντιγόνων από τα LC στη φυσική λοίμωξη από τον ιό, μπορεί να υπερνικήσει τη διαφυγή του ιού από το ανοσοποιητικό σύστημα και να οδηγήσει σε υποστροφή των βλαβών.

2. Θεραπευτικό εμβόλιο⁹

Ενώ η στρατηγική του προληπτικού εμβολίου στοχεύει στην πρόληψη της αρχικής μόλυνσης από τον HPV, μέσω της δημιουργίας αντισωμάτων ενάντια στα καψιδικά αντιγόνα L1 και L2, το θεραπευτικό εμβόλιο εναντίον του HPV στοχεύει στην ισχυρή ανοσολογική αντίδραση των κυτταροτοξικών και των βοηθητικών T λεμφοκυττάρων ενάντια στις E6 και E7 ογκοπρωτεΐνες, οι οποίες σε αντίθεση με τα L1 και L2 αντιγόνα ανιχνεύονται και σε προκαρκινικές και καρκινικές βλάβες. Συγκεκριμένα οι E6 και E7 πρωτεΐνες περιέχουν επίτοπους οι οποίοι επεξεργάζονται και παρουσιάζονται σε συνδυασμό με τα μόρια του HLA-A2 MHC I. Συνδεόμενοι με τα μόρια του MHC I πεπτιδικό επίτοποι έχουν δημιουργηθεί για τις πρωτεΐνες E6 ΚΑΙ E7 των ιών HPV 16 και 18, οι οποίοι εμφανίζουν ανοσογονικότητα τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ζώα. Για το λόγο αυτό πεπτιδία, προερχόμενα από τις E6 και E7, έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα σε κλινικές προσπάθειες για την θεραπεία των προερχόμενων από τον HPV καρκίνων.

3. Προληπτικό εμβόλιο⁸

Η αναγνώριση του κεντρικού ρόλου των υψηλού κινδύνου HPV στην αιτιολογία του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας παγκοσμίως, οδήγησε στην ανάπτυξη και τη χρήση του προληπτικού εμβολιασμού ως ένα νέο τρόπο πρόληψης του καρκίνου. Δύο εμβόλια βασισμένα στην πρωτεΐνη L1 του καψιδίου των ιών HPV 16 και 18 έχουν επιφέρει σχεδόν 100% αποτελεσματικότητα 1) στην πρόληψη της επίμονης λοίμωξης και 2) στις προκαρκινικές βλάβες που σχετίζονται με το ιό. Το πρώτο εμβόλιο με την ονομασία Gardasil (2006) και το δεύτερο με την ονομασία Cervarix

	Cervarix	Gardasil
Τύπος HPV	16,18	16,18 και 6,11
Εμβολιασμός	0,2,6 μήνες	0,1,6 μήνες
Δόση αντιγόνων	VLP 16 (20 μg) 18 (20 μg)	VLP 16 (40 μg) 18 (20 μg) 6 (20 μg) 11 (40 μg)
1) Ανοσολογική απάντηση ορομετατροπή	100%	100%
2) τίτλοι αντισωμάτων	50-80 φορές πολλαπλάσια της φυσικής λοίμωξης	10-20 φορές πολλαπλάσια της φυσικής λοίμωξης

Πίνακας 6

προσφέρουν θεωρητικά προστασία περίπου 70% έναντι του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Σε χώρες με έλλειψη προγράμματος πληθυσμιακού ελέγχου, η υιοθεσία στρατηγικής εμβολιασμού μόνον θα είχε μέγιστη επίδραση στις κακοήθειες που συνδέονται με τον HPV εφόσον θα ήταν διαθέσιμα το απαραίτητο κεφάλαιο και η απαραίτητη υποδομή για τον εμβολιασμό. Ωστόσο σε έναν αριθμό ανεπτυγμένων κρατών όπως το Ηνωμένο Βασίλειο, ο Καναδάς και η Σκανδιναβία με την εισαγωγή συστηματικών προγραμμάτων πληθυσμιακού ελέγχου, βασισμένου στην κυτταρολογική εξέταση του τραχήλου της μήτρας, οδήγησε σε ραγδαία μείωση της θνητότητας του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Παρά το μεγάλο αριθμό των μελετών που έχουν γίνει μέχρι τώρα, δεν έχει διευκρινιστεί απόλυτα η επίδραση του HPV στα g networks. Ίσως στο μέλλον οι ρομποτικές αναλύσεις γονιδίων, πρωτεϊνών και μεταβολιτών να προσφέρουν περισσότερες γνώσεις.

Τα εμβόλια με τα σημερινά δεδομένα καλύπτουν 70 % των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας. Η μελλοντική προσέγγιση μπορεί να αφορά διαμολύνσεις των κυττάρων, που έχουν προσβληθεί από τον HPV με σκοπό την αναστολή της ανάπτυξης του ιού και την εξέλιξη σε καρκίνο στα πλαίσια της γονιδιακής θεραπείας.

SUMMARY

Evolution in the HPV and cervix uteri cancer research

E. Christodoulou

In the last 20 years there have been significant efforts for the detection of new biomarkers which would provide more effective and more economic programs for the detection of cervical cancer. The research has focused on HPV (human papilloma virus). The biomarkers are classified in three categories, 1. biomarkers of the unregulated expression of HPV, 2. biomarkers of chromosome instability, 3. biomarkers of the multiplication of the host's genome.

The causative relation between high risk HPV and cervical cancer has led to the invention and use of the preventive vaccine as a new way to prevent cancer.

Two vaccines based in HPV's 16/18 L1 protein of the viral capsid, have almost 100% efficiency preventing from 1. persistent infection, 2. premalignant lesions.

The vaccines (Gardasil and Cervarix) could provide protection of cervical cancer about 70%.

Therapeutic vaccine however does not aim in the

creation of antibodies against the capsid antigens, it aims in enhancing the immune reaction of the host.

In conclusion, there is still a lot to learn about the effect of HPV at g networks.

The current vaccines can provide 70% protection. The prospective approach could include cell infection as a part of genic therapy.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Επίτομη μαιευτική γυναικολογία.
Μιχαλάς Σ. Εκδόσεις Παρισιάνου
2. Γυναίκα και HPV
Μορτάκης Α. Εκδόσεις Λίτσας
3. HPV detection methods
Antoinette A.T.P Brink, Peter J.F. Snijders and Chris J.L.M. Meijer VU University medical center, Department of Pathology, Section Molecular Pathology HV Amsterdam, The Netherlands *Disease Markers 23 (2007) 273-281*
4. Guidelines for screening and treatment of cervical disease in the adolescent
Richard Guido MD, Magee-Women's Hospital, UPMC Health System, Pittsburg, Pennsylvania, USA *Journal of Pediatric and Adolescent Gynecology vol 17, issue 5 301-311*
5. The role of Human Papilloma Virus in the molecular biology of the cervical cancer
Satoru Motoyama, Cecilia A. Landines
Department of Obstetrics and Gynecology, University of the Philippine *Kobe J. Med Sci, vol 50, No 1 9-19*
6. HPV infections in adolescents
Anna-Barbara Moscicki, University of California, San Francisco USA *Disease Markers 23 (2007) 229-234*
7. Biomarkers in cervical cancer screening
Nicolas Wentzensen, Magnus von Knebel Doeberitz
Department of applied tumor Biology, Institute of pathology, University of Heidelberg
Disease Markers 23 (2007) 315-320
8. Human papilloma virus prophylactic vaccination: Challenges for public health and implications for screening.
M. Adams, B. Jasani, A. Fiander Department of Oncology, Velindre Hospital, Cardiff UK *Vaccine 25 (2007) 3007-3013*
9. Therapeutic vaccination for HPV induced cervical cancers
Joeli A. Brinkman, Sarah H. Hughes, Jeffrey S. Weber *Disease Markers (2007) 337-352*