

Infezioni da alfa papillomavirus e strategie di prevenzione nella popolazione italiana.

Maria Luisa Duraturo, Maria Lina Tornesello, Luigi Buonaguro, Franco M. Buonaguro.

¹Viral Oncology and AIDS Reference Centre, National Cancer Institute, "Fond. Pascale", Naples, Italy

I Papillomavirus sono un ampio ed eterogeneo gruppo di virus comprendente circa 100 genotipi completamente caratterizzati e più di 100 putativi nuovi tipi [1,2]. L'analisi filogenetica dei papillomavirus umani ed animali ha permesso di distinguere 16 generi identificati con le lettere dell'alfabeto greco (α , β , γ , δ , ϵ , ζ , η , θ , ι , κ , λ , μ , ν , χ , \omicron , π). I papillomavirus umani (HPV, dall'inglese Human Papilloma Virus) afferiscono ai generi α (prevalentemente mucosali) e β (cutanei). Il genere alfa comprende 50 genotipi diversi di HPV che infettano prevalentemente la mucosa genitale [2]. Questi virus sono stati distinti in gruppi ad alto o basso rischio oncogeno sulla base di dati epidemiologici relativi alla loro frequenza nelle lesioni neoplastiche di alto grado ed invasive (carcinoma della cervice uterina) [3,4].

Papillomavirus e neoplasie del collo dell'utero

Le infezioni da HPV sono acquisite nel corso di contatti interpersonali intimi (prevalentemente nel corso di rapporti sessuali), essendo il virus molto labile nell'ambiente esterno e interessano nel corso della vita circa l'80% delle persone sessualmente attive. La maggior parte delle infezioni non è associata a manifestazioni cliniche, è transitoria (con una durata media di 8 mesi) e guarisce spontaneamente nel corso di due anni. La persistenza dell'infezione e l'eventuale progressione a neoplasie invasive maligne, generalmente dopo un intervallo di decenni, sono correlate al tipo di HPV ed alla risposta del soggetto. Data l'ampia e ubiquitaria diffusione dei ceppi di HPV, il carcinoma della cervice uterina rappresenta, a livello mondiale, la seconda neoplasia delle donne dopo il carcinoma della mammella e, nei Paesi in via di sviluppo, la neoplasia a più elevata incidenza e la prima causa di morte femminile. Ogni anno questo carcinoma colpisce nel mondo circa 470.000 donne (3.500 solo in Italia), causando circa 230.000 morti (1.100 circa quelle stimate in Italia). [5].

Prevenzione secondaria-screening

La prevenzione della neoplasia è stata condotta da anni mediante l'esame citologico messo a punto e sviluppato da Georgios Papanicolaou: il Pap test. Dalla sua introduzione nel 1955, effettuato su base volontaria o nell'ambito di programmi di screening organizzati, ha sicuramente contribuito alla drastica riduzione (6-7 volte) dell'incidenza del carcinoma della cervice uterina nei paesi occidentali. Il Pap test, tuttavia, ha alcune limitazioni rappresentate

- 1) dalla modesta sensibilità (30% -87%), risultante in una rilevante componente di falsi negativi (soggetti con lesioni non diagnosticate)
- 2) da una specificità (86% -100%) che non è esente da falsi positivi (soggetti sani erroneamente indicati come affetti da patologie) [6].

Attualmente lo screening ha a disposizione un'ulteriore arma diagnostica: l'identificazione e la caratterizzazione dei ceppi di HPV che possono essere presenti nel tratto genitale. Questa indagine diagnostica biomolecolare ha una sensibilità > 90% e una specificità > 99% per l'identificazione di singoli ceppi di HPV o di gruppi di HPV (quali quelli ad "alto rischio" di progressione neoplastica identificati frequentemente nelle neoplasie avanzate). La specificità clinica invece è bassa, poiché la presenza di HPV non è necessariamente associata alla presenza di patologie. Pertanto le due metodiche (citologica e molecolare) sono complementari e in alcune condizioni cliniche necessarie per la corretta valutazione diagnostica. I test biomolecolari sono effettuati insieme con il Pap test presso vari consultori/ambulatori di prevenzione materno infantile sul territorio italiano.

Prevenzione primaria-vaccini

La prevenzione primaria (profilassi) delle patologie infettive a trasmissione sessuale è stata ed è prevalentemente basata sull'astensione dai rapporti sessuali e sull'utilizzo di dispositivi fisici (profilattici maschili o femminili) e/o chimici (microbicidi) che riducono le cause d'esposizione all'agente infettivo. Per quanto riguarda l'HPV, l'uso del profilattico sembra ridurre il rischio di trasmissione dell'infezione anche se solo parzialmente (7).

Recentemente sono stati sviluppati dei vaccini preventivi che, inducendo anticorpi neutralizzanti, di fatto determinano l'instaurarsi di una barriera protettiva in grado di bloccare l'attecchimento degli agenti patogeni alle cellule bersaglio. In Europa, nel 2006, è stato autorizzato per l'uso un vaccino quadrivalente per la prevenzione delle lesioni causate da HPV 6 e 11, responsabili del 90% circa dei condilomi genitali, e dei tipi 16 e 18, cui vengono attribuiti circa il 70% dei carcinomi della cervice uterina (Gardasil[®], Sanofi Pasteur MSD). A breve dovrebbe essere disponibile anche il vaccino bivalente (contenente gli HPV 16 e 18) sviluppato dalla Glaxo Smith Kline (GSK)

L'efficacia preventiva del Gardasil è stata valutata su oltre 25 mila donne in 33 Paesi di cinque continenti, e a cui hanno contribuito anche vari istituti italiani. Non è stata evidenziata, però, una altrettanto significativa efficacia quando l'infezione è già in corso, limitandone l'indicazione alla prevenzione delle infezioni. Per raggiungere questo obiettivo, poiché il virus si contrae spesso nella prima adolescenza, anche in assenza di rapporti sessuali completi, il periodo ideale della vaccinazione è quello pre-adolescenziale. Le linee guide di varie società scientifiche e di vari enti di prevenzione sanitaria ne propongono dunque l'utilizzo in giovani adolescenti in una fascia d'età di 10-12 anni..

Prevalenza di HPV nella popolazione italiana

Uno studio recentemente condotto dal nostro gruppo [8] ha valutato la distribuzione degli HPV in un campione di 414 donne italiane (prevalentemente delle regioni Campania e Lombardia) con cervice normale (n=183 donne), lesioni intraepiteliali di basso e alto grado (n=101 e 65 rispettivamente) e con carcinoma invasivo (n=65). Le donne partecipanti avevano un'età compresa tra 18 e 65 anni e non appartenevano a particolari categorie di rischio. L'identificazione e la caratterizzazione virologica sono state condotte con metodiche biomolecolari avanzate (quale l'analisi di sequenza nucleotidica) per evidenziare anche eventuali HPV rari, non frequentemente rilevati dai sistemi di analisi commercialmente disponibili.

Nelle donne con cervice normale è stata riscontrata una prevalenza di infezioni da HPV del 19,7%, mentre nelle donne con lesioni intraepiteliali di basso grado, lesioni intraepiteliali di alto grado e carcinoma invasivo della cervice sono state riscontrate, rispettivamente, prevalenze del 63,4%, 80%, e 81,5%.

Tra le 205 donne positive per HPV sono stati identificati 31 genotipi di HPV mucosali, di cui 16 tipi ad alto rischio. Complessivamente, i tipi di HPV ad alto rischio sono stati identificati nel 16,9% delle donne con cervice normale e, rispettivamente, nel 50,5%, 69,2% e 78,5% delle donne con lesioni intraepiteliali di basso grado, lesioni intraepiteliali di alto grado e carcinoma invasivo della cervice.

La maggiore eterogeneità di genotipi virali, come atteso, è stata identificata nelle lesioni intraepiteliali di basso grado (20 genotipi) e d'alto grado (14 genotipi), mentre nei carcinomi invasivi sono stati trovati solo otto genotipi diversi, confermando che solo pochi genotipi virali sono associati alla progressione neoplastica [1].

Gli HPV più frequentemente identificati nelle lesioni d'alto grado e nei carcinomi invasivi, oltre l'HPV 16 (presente nel 46.1% delle lesioni di alto grado e 58.5% dei carcinomi invasivi), sono risultati essere l'HPV 18, 31 e 33, con una frequenza compresa tra il 3.1% e il 6.1%. Anche nelle donne con cervice normale l'HPV 16 è risultato il genotipo più frequente con una prevalenza dell'8.7%.

Quattro genotipi ad alto rischio (HPV 53, 56, 58 e 70) sono risultati essere poco frequenti nei carcinomi cervicali ma erano presenti in più del 10% delle lesioni di grado avanzato mostrando un notevole potenziale neoplastico. Sono stati inoltre identificati 6 tipi di HPV a rischio non definito nel 3% delle

donne con lesioni di basso grado (HPV 30, 32 e 67), nel 3,1% delle lesioni di alto grado (HPV 62 e 90) e nell'1,5% dei carcinomi cervicali (HPV 62). Sono necessari ulteriori studi epidemiologici quindi per valutare il rischio oncogenico di questi tipi di HPV, in particolare dei tipi 62 e 90 .

Un ulteriore studio ha valutato la prevalenza delle infezioni da HPV in 45 donne africane (di cui 14 HIV positive e 31 HIV negative) con storia di prostituzione e Pap test normale (43/45) o anomalo (2/45). In questo campione, la prevalenza di infezione da HPV è risultata essere del 42.2%, con un massimo del 57.1% nelle donne HIV-positive. Tra le 19 donne positive per HPV sono stati identificati 12 genotipi di HPV mucosali, di cui i più frequenti sono risultati essere l'HPV 33, 58, 70 e 81. In queste donne, si è osservata invece una bassa prevalenza di HPV 16 e l'assenza del 18, comunemente presenti, invece, nella popolazione italiana [9].

In conclusione, l'utilizzo di tecniche diagnostiche avanzate è risultato particolarmente rilevante per chiarire il ruolo di quegli HPV meno frequentemente identificati, soprattutto per quei ceppi e/o varianti a rischio oncogeno sconosciuto presenti nei tumori genitali. Nell'era dell'approccio vaccinale come strategia preventiva contro i tumori associati all'infezione da HPV, gli studi epidemiologici biomolecolari sulla distribuzione degli HPV ad alto rischio oncogeno in diverse regioni geografiche rappresentano, pertanto, uno strumento chiave per sviluppare vaccini multivalenti, che includono gli HPV ad alto rischio prevalenti nelle diverse popolazioni, e per programmare test di screening appropriati per il monitoraggio del contenimento delle infezioni virali in seguito ai programmi vaccinali. Inoltre, l'identificazione di tutti i virus ad alto rischio, anche quelli poco rappresentati nelle popolazioni in cui sono condotti i trials vaccinali, è un passo importante per l'identificazione di un'eventuale diffusione nella popolazione generale di ceppi rari propri di particolari nicchie, quali i gruppi di immigranti, che mostrano una eterogenea distribuzione di ceppi e varianti virali. [9].

Referenze bibliografiche

1. zur Hausen H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst.* 92: 690-698, 2000;
2. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology* 324:17-27, 2004;
3. Van Ranst M, Kaplan JB, Burk RD.. Phylogenetic classification of human papillomaviruses: correlation with clinical manifestations. *J Gen Virol* 73:2653-2660, 1992;
4. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, Snijders PJ, Meijer CJ; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. 2003. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 348:518-527, 2003;
5. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM, GLOBCAN 2002: cancer incidence, mortality and prevalence worldwide IARC CancerBase No 5, version 2.0. Lyon: IARC Press, 2004;
6. Kulasingam SL, Hughes JP, Kiviat NB *et al.*. Evaluation of human papillomavirus testing in primary screening for cervical abnormalities: comparison of sensitivity, specificity, and frequency of referral. *JAMA.* 288:1749-1757, 2002;
7. Winer RL, Hughes JP, Qinghua F *et al.* Condom use and the Risk of genital Human Papillomavirus Infection in Young Women. *N Engl J Med* 354;25:2645-2654, 2006;
8. Tornesello ML, Duraturo ML, Botti G, Greggi S, Piccoli R, De Palo G, Montella M, Buonaguro L, Buonaguro FM. And tha italian working group. Prevalence of Alpha Papillomavirus Genotypes in Cervical Squamous Intraepithelial Lesions and Invasive Cervical Carcinoma in the Italian Population. *J Med Virol* 78:1663-1672, 2006.

9. Tornesello ML, Duraturo ML, Buonaguro L, Vallefuoco G, Piccoli R, Palmieri S, Buonaguro FM.. Prevalence of human papillomavirus genotypes and their variants in high risk West Africa women immigrants in South Italy. *Infect Agent and Cancer* 2:1, 2007