

# INFEZIONE DA PAPILOMA VIRUS E NEOPLASIA INTRAEPITELIALE CERVICALE IN PAZIENTI DIALIZZATE: ESPERIENZA MONOCENTRICA

Paola David<sup>1</sup>, Elisabetta Tarrano<sup>2</sup>, Andreana De Mauri<sup>1</sup>, Carlo Navino<sup>1</sup>, Maddalena Brustia<sup>1</sup>, Doriana Chiarinotti<sup>1</sup>, Roberto Gherzi<sup>2</sup>, Martino De Leo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>S.C.O. Nefrologia e Dialisi Azienda Ospedaliero-Universitaria Maggiore della Carità, Novara

<sup>2</sup>S.C.O. Il Divisione Ginecologia e Ostetricia Azienda Ospedaliero-Universitaria Maggiore della Carità, Novara

## Human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia in dialyzed patients

*Human papillomavirus (HPV) infection is a risk factor for the development of cervical intraepithelial neoplasia (CIN). The incidence of certain cancers such as HPV-associated CIN is higher among dialysis patients than in the general population. In the literature there are few studies on the prevalence of HPV infection among dialyzed women and almost all of these studies concerned women with positive Pap smears. We enrolled 73 hemodialyzed women attending our center from January 2009 to December 2010; 29 denied informed consent and 44 underwent Pap tests and cervical curettage for HPV (mean age 62 ± 15 years). We found HPV positivity in 6 women (prevalence 13.6%). The prevalence of CIN in our sample was also 13.6% (6/44), 83.3% of which HPV related. Since cervical curettage for HPV is a cheap and easy to perform test with high specificity and sensitivity, we believe it is worthwhile including it in the pre-transplant workup of such women to lower the incidence of CIN in dialyzed patients and transplant recipients.*

Conflict of interest: None

Financial support: None

### KEY WORDS:

Dialysis,  
Human papilloma  
virus,  
Cervical  
intraepithelial  
neoplasia

### PAROLE CHIAVE:

Dialisi,  
Human  
papilloma virus,  
Neoplasia  
intraepiteliale  
cervicale

### Indirizzo degli Autori:

Dr.ssa Paola David  
S.C.O. Nefrologia e Dialisi  
A.O.U. Maggiore della Carità  
Corso Mazzini 18  
28100 Novara  
e-mail:  
paola.david@maggioreosp.novara.it

## INTRODUZIONE

L'incidenza delle neoplasie fra i pazienti in dialisi è maggiore che nella popolazione generale (1). I tumori maggiormente rappresentati sono quelli secondari a infezioni da virus oncogeni, a sottolineare l'importanza dell'immunosoppressione, sia essa iatrogena o secondaria all'uremia stessa, nella carcinogenesi (2).

*Human papilloma virus* appartiene alla famiglia delle *Papovaviridae*, virus epiteliotropi a DNA a doppia elica; degli oltre 200 genotipi noti, un centinaio è stato completamente caratterizzato e classificato, in base alla capacità di trasformare in senso canceroso la cellula infettante, in *oncovirus* a "basso", "medio" e "alto" rischio. Quelli ad alto rischio (16, 18, 31, 33, 45, 52, 58) sono frequentemente associati ai carcinomi della cervice. L'infezione genitale da HPV nella donna è in prevalenza acquisita in adolescenza, mentre il picco

di prevalenza nella mezza età (35-50 anni) differisce nelle varie regioni geografiche (Africa/America 20%, Asia/Australia/Europa 15%) (3). Un'indagine effettuata in Italia nel 2009 ha evidenziato nella popolazione generale una prevalenza di infezione da HPV del 14.8% (29.4% nelle ragazze tra i 15 e i 19 anni, con un decremento al 6.1% tra i 50-54 anni e un nuovo aumento al 12.2% nelle donne over 65). HPV 16 è stato il genotipo riscontrato più frequentemente, seguito da HPV 31, HPV 18, HPV 56 e HPV 51 (4).

Altri studi confermano una prevalenza variabile dal 7 al 16% in donne di età compresa tra i 17 e i 70 anni, che afferiscono a controlli ginecologici di routine (5) con punte del 35% e del 96% fra le donne con citologia anormale e diagnosi di displasia severa rispettivamente.

La storia naturale dell'infezione è fortemente con-

dizionata dall'equilibrio che si instaura fra ospite e agente infettante: l'infezione infatti può regredire, persistere o progredire.

L'80% circa delle infezioni è transitorio e asintomatico e guarisce spontaneamente: fra quelle che progrediscono, la lesione tipicamente associata è rappresentata dalla neoplasia intraepiteliale cervicale (CIN), distinta in I, II e III se rispettivamente con displasia di grado lieve, moderato e alto.

Il Sistema Sanitario Nazionale garantisce il *Pap test* ogni 3 anni nelle donne di età compresa tra i 25 e i 64 anni, ma non è previsto lo *screening* per HPV.

Gli studi relativi a donne in dialisi suggeriscono che esse abbiano una più alta prevalenza di fattori di rischio per lo sviluppo di CIN HPV correlato (6); inoltre una percentuale di costoro sarà sottoposta a trapianto e la letteratura dimostra una più alta suscettibilità delle donne trapiantate all'infezione cervicale da HPV (15% circa) (7) e una maggiore incidenza di cancro della cervice uterina (8).

Scopo di questo studio è stato quello di valutare la prevalenza e la distribuzione genotipica dell'HPV nelle pazienti dializzate e la sua correlazione con la presenza di CIN.

## MATERIALI E METODI

A tutte le donne dializzate presso il nostro Centro, prevalenti e incidenti, dal Gennaio 2009 al Dicembre 2010 e seguite fino al 30 Giugno 2011, è stata distribuita una lettera informativa circa l'infezione da HPV, le possibili conseguenze e le possibilità di diagnosi e di intervento, al fine di poter raccogliere un consenso informato allo studio. Trattasi di 73 pazienti di età media  $66 \pm 14$  anni e di età dialitica mediana 29.5 mesi (2-419); 24/44 in valutazione per inserimento in lista trapianto.

Ventinueve pazienti sono state escluse dallo studio, 9 per rifiuto personale e 20 per motivi clinici (pazienti anziane e/o con comorbidità quali neoplasie, cardiopatie gravi e problematiche psichiatriche e comportamentali). Le 44 pazienti (60% del campione, età anagrafica media  $62 \pm 15$  anni) che hanno accettato di partecipare allo studio sono state arruolate e sottoposte, previa firma di un consenso informato, alla ricerca dell'HPV, mediante spatolato escocervicale e *brushing* endocervicale, in associazione al *PAP test*. Nelle pazienti precedentemente isterectomizzate, il *Pap test* e la ricerca di HPV sono stati effettuati sulla cupola vaginale.

L'acido nucleico dei campioni è stato estratto con *Easy Mag (Bio-Merieux)*, amplificato in PCR e rivelato mediante *microchip Clart Human Papilloma Virus 2 (Genomica)*, che permette la differenziazione di 35 genotipi di HPV; il costo del test è di circa 70 euro.

Le pazienti risultate HPV positive ma con citologia

negativa sono state sottoposte a controlli seriatati con ripetizione di *Pap test* e tipizzazione virale annuale; le pazienti HPV positive con citologia positiva hanno effettuato colposcopia e biopsia cervicale. Infine le pazienti HPV negative con citologia negativa sono state sottoposte a *Pap test annuale*.

Tra i fattori di rischio possibili sono stati considerati il fumo, la presenza di *partners* sessuali multipli e il livello di istruzione. Di ogni paziente sono stati accuratamente studiati la storia ginecologica pregressa e l'eventuale uso di terapia immunosoppressiva precedente. I dati anamnestici raccolti non hanno permesso di datare con precisione l'insorgenza dell'infezione.

L'HPV positività non è stato un criterio di esclusione dal trapianto per nessuna paziente.

I valori sono stati riportati come  $media \pm deviazione standard$  e/o come prevalenza.

## RISULTATI

Le caratteristiche della popolazione studiata sono illustrate nella Tabella I.

La prevalenza di neoplasia cervicale fra le nostre pazienti in dialisi è risultata del 13.6% (6/44) con tempo medio di insorgenza dall'avvio della dialisi di 5.6 anni. L'83.3% delle CIN è risultato HPV correlato.

Delle 44 pazienti studiate, 8 avevano effettuato in precedenza una terapia immunosoppressiva (1 per malattia di base e trapianto, 4 per pregresso trapianto e 3 solo per malattia di base) per una media di 7 anni. Su 44 pazienti, 10 hanno avuto un inizio di attività sessuale precoce e 19 erano sessualmente attive al momento dell'arruolamento; 10 pazienti erano nullipare, 33 pluripare (media: 2.9 gravidanze ciascuna), 28 non avevano alcun precedente ginecologico, 3 erano state conizzate per CIN e 13 erano state isterectomizzate, di cui 3 per CIN, 1 per carcinoma dell'endometrio, 1 per adenocarcinoma della cervice e 8 per patologia benigna.

**TABELLA I - CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE STUDIATA**

Caratteristiche della popolazione	Età <35 aa n°	Età 35-65 aa n°	Età >65 aa n°
Pazienti totali	3	20	21
Fumo	0	4	3
Partner sessuali multipli	1	2	2
Stato socio economico basso	2	2	4
Precedente trapianto	2	2	0

Fra le 44 donne studiate, 6 sono risultate positive per HPV (prevalenza 13.6%); 4 di queste donne hanno un'anamnesi ginecologica negativa ma 1 è stata sottoposta per circa 8 anni a una terapia immunosoppressiva per la malattia di base (*Lupus Eritematosus Sistemico*) e per un trapianto pregresso e ha avuto un inizio precoce di attività sessuale, 2 riferivano *partners* sessuali multipli e 1 paziente è fumatrice. Le altre 2 positività sono state riscontrate sulla cupola vaginale in pazienti già isterectomizzate per CIN III e adenocarcinoma della cervice. I genotipi più rappresentati nella nostra popolazione sono stati il 62 (definito "non classificato" perché in alcuni casi non comporta lesioni tumorali e in altri ha dato lesioni di alto grado) e il 59, definito a medio rischio.

Confrontando i dati con quelli della popolazione generale l'unica paziente dializzata di età compresa tra i 15 e i 19 anni è risultata positiva, mentre la prevalenza nelle donne >65 anni è risultata del 23.8%. Nella fascia d'età centrale non abbiamo riscontrato positività.

Per quanto riguarda la stadiazione della malattia nelle 6 pazienti positive per HPV, il corrispettivo *Pap test* ha evidenziato in una donna CIN I con coinfezione da HPV 58, 59 e 66; in un'altra ha evidenziato citologia negativa ma indice cariopicnotico elevato, mentre nelle rimanenti 4 donne la citologia è risultata negativa ma con infezione da HPV ad alto rischio oncogeno o da HPV 62. La citologia non ha evidenziato CIN allo stadio II e III.

Le restanti 38 donne erano negative per HPV e con *Pap test* negativo.

La paziente HPV positiva con citologia positiva è stata sottoposta a controlli colposcopici seriati e continua il *follow up*.

La donna HPV positiva con *Pap test* su cupola a indice cariopicnotico elevato ha effettuato un successivo controllo colposcopico con biopsia risultata negativa anche per HPV.

Le pazienti HPV positive ma con citologia negativa hanno effettuato controlli a cadenze *standard*, risultati tutti negativi.

Cinque donne con attuale citologia negativa e tipizzazione virale negativa hanno precedenti ginecologici: 1 paziente è stata sottoposta a conizzazione per pregressa CIN I HPV correlata, 2 sono state sottoposte a conizzazione per CIN II di cui 1 HPV correlata e 2 pazienti sono state isterectomizzate per carcinoma spinocellulare della cervice e carcinoma dell'endometrio. Due tra le pazienti precedentemente conizzate (anni 39 e 49) sono state successivamente sottoposte a trapianto renale e continuano il *follow up* ginecologico.

## CONCLUSIONI

La patologia neoplastica nella popolazione dialitica ha un impatto su morbilità e mortalità inferiore rispetto

a quella cardiovascolare. I tumori sono responsabili infatti del 4% della mortalità in dialisi, mentre le malattie cardiovascolari lo sono del 44-60% circa (9). In realtà, ci sono sufficienti evidenze che mostrano come le neoplasie siano importanti in alcuni sottogruppi di pazienti dializzati e come potrebbero avere un impatto ancora maggiore in futuro. Uno studio collaborativo pubblicato su *Lancet* nel 1999 (10) ha evidenziato come i pazienti più giovani in dialisi abbiano un più elevato rischio di tumore, se paragonati con la popolazione generale di pari età. Questi pazienti, che spesso sono scevri da comorbidità secondarie, sono i soggetti maggiormente candidabili al trapianto renale: è ovvio dunque che per essi lo sviluppo di una neoplasia abbia un grosso impatto in termini di aspettativa di vita, qualità della stessa e di possibilità di accedere al trapianto e di mantenerne una buona funzionalità. Numerosi lavori hanno confrontato l'incidenza di neoplasia nei pazienti nefropatici, riscontrando una ratio di incidenza standardizzata di 1.16, 1.35, 3.27 fra quelli in terapia conservativa, in terapia dialitica e trapiantati rispettivamente (2, 11). I tumori maggiormente rappresentati sono i linfomi, il sarcoma di Kaposi e i carcinomi della cervice uterina e del fegato, i quali sono ormai riconosciuti essere correlati a infezioni virali quali *Epstein Barr virus*, *Herpes virus*, *human papilloma virus* (HPV) ed epatite C rispettivamente (1). La causa riconosciuta di tale elevata incidenza è appunto l'immunosoppressione, sia essa secondaria alla condizione uremica (disregolazione linfocitaria, danno al DNA) (12, 13), alla terapia per la nefropatia di base e, per i portatori di trapianto renale, anche e soprattutto alla terapia antirigetto.

Vista l'importanza che le neoplasie già hanno assunto fra i trapiantati e che stanno assumendo fra i dializzati, è importante esercitare uno *screening* di base e una profilassi primaria laddove si abbiano strumenti efficaci in termini di sensibilità e specificità dei *test* e di costi contenuti.

È questo il caso dell'infezione da HPV, in cui, oltre alla facilità della diagnosi, si è aggiunta recentemente anche la possibilità di profilassi vaccinale, consigliata in alcune fasce di età o in soggetti a rischio.

La prevalenza di neoplasia cervicale nella nostra casistica è risultata del 13.6% con un tempo medio di insorgenza dall'avvio della dialisi di 5.6 anni, confermando il dato presente nella popolazione italiana generale del 14.8% nel 2009 (4). Tale percentuale è tuttavia più elevata rispetto alla popolazione generale Italiana degli anni 1998-2002, in cui si stimava un'incidenza annuale di carcinoma della cervice di 10 casi ogni 100.000 donne (14), a indicare un *trend* in pericoloso aumento.

Poiché alcune infezioni virali possono essere condizioni predisponenti allo sviluppo di neoplasie, strategie volte a trattare e/o a eradicare tali infezioni possono essere utili prima di affrontare il trapianto renale.

Recenti studi hanno dimostrato una più alta suscettibilità delle pazienti trapiantate all'infezione cervicale da HPV (8), mentre non ci sono molti studi riguardo alla stessa infezione nelle pazienti in dialisi (6).

Nella nostra casistica, la prevalenza dell'infezione da HPV è risultata del 13.6%, dunque simile a quella delle donne sane di pari fascia d'età (4).

L'83.3% delle neoplasie cervicali è risultato HPV correlato in linea con i dati della letteratura.

Il principale limite del nostro studio è la scarsa numerosità del campione; trattandosi inoltre di un esame non fondamentale per diagnosi o terapie *quoad vitam*, si è assistito a un'ulteriore restrizione numerica secondaria al rifiuto al consenso informato o ai criteri clinici.

In considerazione comunque di questi dati riteniamo che la prevenzione sia importante in queste pazienti: il *Pap test* è lo *screening* di primo livello (facile, a basso costo ma ad alta sensibilità e specificità) a cui può essere aggiunta la ricerca di HPV. In caso di positività, l'esame di secondo livello è la colposcopia con eventuale biopsia. La cadenza di tali esami deve essere annuale in dialisi, ma con il trapianto e l'avvio della terapia immunosoppressiva può essere necessario, a nostro avviso, restringere le cadenze anche per poter modulare eventualmente i farmaci immunosoppressori in relazione al riscontro di eventuali anomalie cervicali.

In questo panorama si inserisce poi il programma vaccinale per la prevenzione primaria dell'infezione da HPV. Dai dati finora pubblicati emerge che il vaccino induce una risposta immune in oltre il 90% delle donne, riducendo l'incidenza delle neoplasie cervicali HPV correlate (15). Anche se il programma nazionale di vaccinazione nelle adolescenti cambierà nei prossimi decenni l'epidemiologia dell'infezione da HPV, allo stato attuale la diagnosi precoce è l'unica arma a nostra disposizione e potrebbe essere eventualmente valutabile la proposta di vaccinazione nelle donne dializzate candidabili al trapianto di rene.

## RIASSUNTO

*L'infezione da papilloma virus (HPV) è un fattore di rischio per lo sviluppo della neoplasia intraepiteliale cervicale (CIN). È noto come l'incidenza di neoplasie, in particolare di quelle correlate alla presenza di virus oncogeni, sia aumentata in pazienti (pz) con insufficienza renale cronica terminale, sottoposti al trattamento dialitico e al trapianto di rene. Ci sono pochi studi sulla prevalenza dell'infezione da HPV in una popolazione dialitica che non sia stata precedentemente selezionata per citologia positiva al Pap test.*

*Abbiamo effettuato uno studio di prevalenza dell'HPV tra le donne dializzate afferenti al nostro Centro dal Gennaio 2009 al Dicembre 2010, effettuando la ricerca del virus, mediante spatolato esocervicale e brushing endocervicale, in associazione al Pap test. Delle 73 pazienti dializzate le 44 che hanno rilasciato un consenso informato sono state sottoposte all'indagine.*

*Sono state riscontrate 6 positività per HPV (13.6%). La prevalenza di CIN è del 13.6% (6/44) di cui l'83.3% è HPV correlato.*

*In considerazione del costo relativamente contenuto del test, della maggiore incidenza di neoplasie nei pazienti dializzati e della correlazione tra infezione da HPV e CIN, riteniamo che la ricerca di HPV possa essere uno strumento di screening utile e rientrare nella valutazione globale di inserimento in lista per trapianto di rene.*

## DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

## CONTRIBUTI ECONOMICI AGLI AUTORI

Gli Autori dichiarano di non aver ricevuto sponsorizzazioni economiche per la preparazione dell'articolo e/o per lo svolgimento dello studio.

## BIBLIOGRAFIA

1. Mandayam S, Shahinian VB. Are chronic dialysis patients at increased risk for cancer? *J Nephrol* 2008; 21: 166-74.
2. Stewart JH, Vajdic CM, van Leeuwen MT, et al. The pattern of excess cancer in dialysis and transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 3225-331.
3. Smith JS, Melendy A, Rana RK, Pimenta JM. Age-specific prevalence of infection with human papillomavirus in females: a global review. *J Adolesc Health* 2008; 43 (4 Suppl.): S5-25, S25.e1-41.
4. Agarossi A, Ferrazzi E, Parazzini F, Perno CF, Ghisoni L. Prevalence and type distribution of high risk human papilloma virus infection in women undergoing voluntary cervical cancer screening in Italy. *J Med Virol* 2009; 81 (3): 529-35.
5. Verteramo R, Pierangeli A, Calzolari E, et al. Direct sequencing of HPV DNA detected in gynaecologic outpatients in Rome, Italy. *Microbes Infect* 2006; 8 (9-10): 2517-21.

6. Fairley CK, Chen S, Tabrizi SN, et al. Prevalence of HPV DNA in cervical specimens in women with renal transplants: a comparison with dialysis-dependent patients and patients with renal impairment. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9 (4): 416-20.
7. Brown MR. HPV subtypes analysis in lower genital tract neoplasm of female renal transplantation recipients. *Gynecol Oncol* 2000; 79: 220-4.
8. Paternoster DM, Cester M, Resente C, et al. Human papilloma virus infection and cervical intraepithelial neoplasia in transplanted patients. *Transplant Proc* 2008; 40: 1877-80.
9. Herzog CA, Ma JZ, Collins AJ. Poor long-term survival after acute myocardial infarction among patients on long-term dialysis. *N Engl J Med* 1998; 339: 799-805.
10. Maisonneuve P, Agodoa L, Gellert R, et al. Cancer in patients on dialysis for end stage renal disease: an international collaborative study. *Lancet* 1999; 354: 93-9.
11. Vajdic CM, McDonald SP, McCredie MR, et al. Cancer incidence before and after kidney transplantation. *JAMA* 2006; 296: 2823-31.
12. Goldblum SE, Reed WP. Host defense and immunologic alterations associated with chronic hemodialysis. *Ann Intern Med* 1980; 93: 607-13.
13. Malachi T, Zevin D, Gafter U, et al. DNA repair and recovery of RNA synthesis in uremic patients. *Kidney Int* 1993; 44: 385-9.
14. AIRT working group. I tumori in Italia: rapporto 2006. Incidenza, mortalità e stime. *Epidemiologia e prevenzione* 2006; (1) S: 64-5.
15. Ault KA, Future II Study Group. Effect of prophylactic human papillomavirus L1 virus-like-particle vaccine on risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2, grade 3, and adenocarcinoma in situ: a combined analysis of four randomised clinical trials. *Lancet* 2007; 369 (9576): 1861-8.