

Malattie HPV correlate: quale controllo nei partner maschili?

HPV-related diseases and screening program in male partners

Giuseppe Scaglione¹, Natalia Li Destri², Nunzia Scibetta³,
Walter Alio¹, Tullio Prestileo^{4,5}

¹U.O. Ginecologia Oncologica, ARNAS Ospedale Civico-Benfratelli;

²U.O. di Microbiologia ARNAS Ospedale Civico-Benfratelli;

³U.O. di Anatomia Patologica ARNAS Ospedale Civico-Benfratelli;

⁴U.O. Malattie Infettive ARNAS Ospedale Civico-Benfratelli;

⁵Istituto Nazionale per la promozione della salute delle popolazioni Migranti e per il contrasto delle malattie della Povertà (INMP), Centro di Riferimento Regionale Siciliano, ARNAS, Ospedale Civico-Benfratelli, Palermo, Italy

INTRODUZIONE

L'attenzione sempre maggiore che i ricercatori di tutto il mondo riservano alla famiglia dei virus HPV deriva dal fatto che questi virus sono implicati in un numero crescente di tumori, siano essi fattore primario o concausa oncogenetica.

Nel mondo, il carcinoma della cervice uterina, correlato ad infezione da HPV, rappresenta la seconda neoplasia dopo il cancro della mammella. Ogni anno infatti circa 500.000 donne si ammalano di cervico-carcinoma e 250.000 ne muoiono [1].

L'OMS ha riconosciuto come totalmente riconducibile all'infezione da HPV non solo il cervico-carcinoma e le sue lesioni precancerose, ma anche i carcinomi della vulva, della vagina, dell'ano, del pene ed anche le localizzazioni extra genitali presenti nella cavità orale, nel faringe e nel laringe [2, 3].

L'infezione da HPV può determinare, oltre che la comparsa di lesioni genitali precancerose, anche lesioni benigne come i condilomi acuminati. Inoltre è noto che tra le MST (Malattie Sessualmente Trasmesse) l'infezione da HPV è la più comune.

La grande diffusione del virus è determinata da oltre 120 diversi genotipi di virus HPV [4]. Nell'uomo le lesioni che il virus determina sono i condilomi genitali esterni, la neoplasia intraepiteliale del pene (PEIN), il cancro del pene, il

cancro perineale e perianale. Sono ormai ben consolidati tre dati epidemiologici:

- 1) l'infezione si trasmette sessualmente;
- 2) nelle donne, il maggior fattore di rischio di ammalarsi di carcinoma della cervice uterina è quello di avere un partner sessuale con infezione da HPV;
- 3) un aspetto rilevante che influenza significativamente la storia naturale dell'infezione da HPV è rappresentato dallo stato immunitario dell'ospite [5].

Nei pazienti con immunodeficienza secondaria ad infezione da HIV, la ridotta risposta immuno cellulare mediata favorisce la persistenza dell'infezione da HPV. Sono stati anche ipotizzati meccanismi di interazione diretta fra i virus e meccanismi correlati alla produzione di citochine, quali ad esempio l'interleuchina-6, che andrebbe a modulare l'espressione dei geni dell'HPV nei cheratinociti infetti. Inoltre, la proteina tat di HIV svolgerebbe un'azione diretta sull'attività trasformante dell'HPV attraverso la transattivazione di sequenze regolatorie [2].

L'introduzione di regimi terapeutici antiretrovirali altamente aggressivi (HAART) che comporta un incremento numerico dei linfociti T-Helper CD4+, ha determinato una riduzione significativa delle malattie opportunistiche e, di conseguenza, un allungamento del tempo di sopravvivenza [6]. Tuttavia i dati di letteratura relativi all'effetto di HAART sulla storia naturale

delle patologie indotte dall'infezione da HPV sono tuttora discordanti [7-10].

Queste considerazioni giustificano il crescente interesse e l'attuazione di programmi di screening per la prevenzione e la diagnosi dell'infezione da HPV e delle patologie correlate [4].

Nonostante sia noto che l'HPV è la causa del carcinoma della cervice uterina ed è la più comune tra le infezioni sessualmente trasmesse, esistono in letteratura limitati e controversi studi sulla trasmissione dell'infezione nei partner di donne con infezione da HPV [11].

Scopo dello studio è valutare non solo l'utilità del controllo del partner maschile di una donna con una infezione da HPV ma anche il tipo e la modalità di esecuzione dei controlli (HPV-test, peniscopia, biopsia).

■ PAZIENTI E METODI

Nel periodo compreso tra il 18 dicembre 2006 ed il 31 dicembre 2009 sono stati studiati 160 pazienti maschi, partner sessuali di donne con infezione da HPV. Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad HPV test e peniscopia; 18 sono stati sottoposti a biopsia di lesioni presenti nella regione peniena.

HPV-test: è ormai ammesso a livello internazionale che alcuni virus definiti *high-risk genotypes* sono causa di diversi tipi di carcinoma sia nella donna che nell'uomo.

Gli altri genotipi detti *low-risk* sono causa di lesioni benigne come i condilomi acuminati delle mucose genitali ed orali localizzati a livello di cervice, vagina, vulva, ano, pene, scroto, regione perianale. Sono inoltre causa delle lesioni dette papillomatosi respiratoria giovanile o ricorrente. Del primo gruppo, *high-risk*, fanno parte i genotipi 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 [5].

Sono state utilizzate due metodiche per eseguire l'HPV-test: la prima, di *ibridazione in situ degli acidi nucleici*, consente di dividere i pazienti in positivi e negativi per infezioni da HPV. Nel gruppo dei pazienti positivi è possibile identificare i pazienti in relazione ai genotipi ad alto e basso rischio senza identificare lo specifico genotipo virale.

La seconda metodologia utilizzata è la tecnica di *amplificazione genica in Polymerase Chain Reaction (PCR)* che consente, qualora positiva, di identificare esattamente il genotipo virale coinvolto. Per ridurre il numero degli esami invali-

di si è utilizzata una tecnica di *scraping* con soluzione EDTA.

La PCR è oggi la tecnica migliore nell'area della patologia clinica per la diagnosi di infezione da HPV attraverso l'amplificazione della regione L1 del genoma del virus. Questa tecnica ci consente di evidenziare quadri clinici latenti, con bassa presenza di agenti infettanti e, pertanto, di difficile diagnosi. Inoltre, la tecnica ci consente di risalire con assoluta certezza alla specificità dell'agente infettante.

Peniscopia

Si tratta di una tecnica per lo *screening* delle lesioni genitali maschili da HPV. La malattia HPV correlata, molto frequente negli uomini sessualmente attivi, e ancora di più in quei partner di donne con lesioni da HPV, può così essere sottoposta a definizione dettagliata nella fase diagnostica permettendo di evidenziare quelle lesioni associate che possono sfuggire completamente all'esame clinico, senza l'aiuto della visione ingrandita del peniscopio. Alla peniscopia le lesioni si dividono in due gruppi: quelle clinicamente evidenti come la classica condilomatosi acuminata e quelle sub-cliniche che comprendono più che altro lesioni aceto-positive di tipo maculare, papulomatosi o micro papillari.

A volte, in presenza di una peniscopia negativa il paziente risulta portatore di una infezione da HPV evidenziata attraverso l'indagine in biologia molecolare. In questo caso parliamo di infezione latente.

La peniscopia permette una visione chiara e dettagliata delle lesioni, importante per la diagnosi e la terapia delle stesse. Tutte le lesioni sub-cliniche sfuggono alla diagnosi se non si utilizzano l'acido acetico e il colposcopio. La tecnica da noi utilizzata è quella dell'acido acetico al 5% apposto con bendaggio occlusivo per 5 minuti. Fra tutte le lesioni, quelle di tipo maculare sono quelle che presentano una stretta correlazione con le PEIN. Le lesioni HPV correlate sono normalmente multifocali ed evidenziano nella maggior parte dei casi un disegno vascolare di tipo puntato capillare. Il mosaico appare suggestivo per lesioni gravi che vanno dal PEIN 3 al CIS.

Biopsia del pene

Una lesione aceto positiva del pene che può essere ricondotta ad una lesione HPV correlata, con l'eccezione delle condilomatosi acuminatae floride nei pazienti sotto i 35 anni, va sempre sottoposta a biopsia, da effettuare sempre sotto

guida penoscopica sia per la precisione del prelievo sia per la frequente presenza di lesioni multifocali.

■ RISULTATI

HPV DNA con test di ibridazione in situ degli acidi nucleici

Nel periodo compreso tra il 18 dicembre 2006 e il 27 novembre 2008 sono stati sottoposti ad HPV DNA test con il metodo della ibridazione 75 pazienti. Di questi, 38 sono risultati negativi al test e 37 pazienti (49,3%) sono risultati positivi. Dei 37 pazienti positivi al test, 13 (35%) presentavano il virus *low-risk*, 15 pazienti (40,5%) erano positivi sia per virus a basso rischio sia per quello ad alto rischio e 9 pazienti (24,3%) risultavano positivi solo per virus ad alto rischio.

HPV DNA test con il metodo della PCR

Nel periodo compreso tra il primo dicembre 2008 e il 31 dicembre 2009, la ricerca dell'HPV DNA è stata effettuata mediante amplificazione genica (PCR) in 85 pazienti consecutivamente osservati. In questo secondo gruppo di pazienti, circa il 50% degli esami è risultato non valido e quindi è stato ripetuto.

Quarantacinque pazienti sono risultati negativi al test. In Tabella 1 sono riportati i genotipi virali identificati nei rimanenti 40 pazienti (47%).

Pazienti sottoposti a ricerca del genotipo HPV con tecnica di ibridazione e PCR

Nei pazienti in cui è stata evidenziata la presenza di infezione da HPV con la tecnica di ibridazione *in situ* la percentuale di pazienti con test positivo è risultata del 49,3%, un dato sovrapponibile a quello ottenuto nei pazienti sottoposti a ricerca di HPV DNA in PCR, in cui la percentuale di test positivi è stata del 47%.

Questi dati, sovrapponibili a quelli di altri ricercatori, confermano l'elevata prevalenza di infezione nei partner maschili di donne con infezione da HPV e mettono in forte evidenza questo importante bacino di diffusione e trasmissione del virus [11].

Per quanto riguarda l'identificazione di genotipi *high-risk*, le due tecniche hanno identificato queste popolazioni virali in percentuali significativamente differenti: 24% con il test di ibridazione *in situ* e 47% con la PCR. Se, infine, consideriamo anche le infezioni da genotipi multipli è possibile osservare un incremento di infezione da genotipi *high-risk* fino al 64,70%,

dato in parte sovrapponibile a quello di altri studi pubblicati [12].

Infezione da genotipi multipli

La letteratura recente ha dimostrato come il ruolo delle infezioni da multipli genotipi di HPV sia strettamente correlato con un aumento di incidenza non solo della frequenza delle CIN ma probabilmente anche con una prognosi più grave e con una maggiore persistenza virale [13]. Risulta ugualmente evidente come in caso di infezione mista il genotipo ad alto rischio sia presente nel 100% dei casi.

Peniscopia

Sui 160 pazienti osservati, 79 (49,3%) presentavano alla peniscopia lesioni aceto-positive di varia natura. In 30 pazienti (18,75%) l'evidenza di lesioni maculari o di tipo papulare o micro-papulare con aspetto a volte di puntato o mosaico ha suggerito la necessità di una biopsia della lesione.

In 49 pazienti (30,62%) è stata posta diagnosi di condilomatosi florida acuminata. La percentua-

Tabella 1 - Genotipi virali identificati nei 40 pazienti risultati positivi all'HPV test eseguito con metodo PCR.

| <i>N. pazienti</i> | <i>Genotipo</i> |
|--------------------|--|
| 2 | 16 (Alto Rischio) |
| 2 | 58 (Alto Rischio) |
| 4 | 31 (Alto Rischio) |
| 2 | 56 (Alto Rischio) |
| 3 | 59 (Alto Rischio) |
| 4 | 66 (Alto Rischio) |
| 8 | 6 (Basso Rischio) |
| 8 | 42 (Basso Rischio) |
| 1 | 16 e 59 (Alto Rischio) |
| 1 | 33 e 66 (Alto Rischio) 42 e 61 (Basso Rischio) |
| 1 | 52 e 56 (Alto Rischio) |
| 1 | 51 (Alto Rischio) e 42 (Basso Rischio) |
| 2 | 73 (Alto Rischio) e 6 (Basso Rischio) |
| 1 | 53 e 56 (Alto Rischio) e 83 (Basso Rischio) |

Tabella 2 - Pazienti sottoposti a biopsia del pene.

| | | |
|-----------------|----|--------|
| PEIN 2 - PEIN 3 | 2 | 11,10% |
| PEIN 2 | 6 | 33,30% |
| Condilomi | 10 | 55,50% |

le di pazienti con lesioni sub-cliniche alla peniscopia è stata del 18,75% e comprende sostanzialmente i pazienti con lesioni non floride.

Biopsia del pene

Diciotto dei 30 pazienti che mostravano alla peniscopia delle lesioni sospette per PEIN sono stati sottoposti a biopsia del pene; 12 pazienti, infatti, hanno rifiutato di sottoporsi a tale indagine.

L'indagine bioptica ha consentito di formulare le diagnosi indicate in Tabella 2.

Pazienti con peniscopia negativa e HPV test positivo: infezione latente

La prevalenza di infezione da HPV nei pazienti con infezione "latente" da HPV è stata del 20%, percentuale non trascurabile se si considera la modalità di trasmissione di HPV e la necessità di avviare efficaci e mirate campagne di prevenzione, considerato il cosiddetto effetto detto *ping-pong* tra maschi affetti da lesioni "latenti" e le loro partners sessuali.

■ CONCLUSIONI

L'infezione da HPV è molto frequente nei maschi sessualmente attivi, ed è la più frequente delle MST.

Nella nostra esperienza, la prevalenza di infezione è di poco inferiore al 50%.

Tra le donne, il 75% contrae l'infezione che in oltre la metà dei casi è legata a virus ad alto rischio [14].

L'interesse di efficaci campagne di informazione, prevenzione, della diagnosi precoce e della terapia dell'infezione e delle lesioni da HPV nell'uomo è confermato dall'evidenza che il rischio più significativo di cancro cervicale nella donna è costituito dalla presenza di una lesione genitale HPV correlata nel partner maschile. Infatti, anche in caso di lesioni sub-cliniche o latenti l'uomo rappresenta una importante riserva e fonte di trasmissione del virus.

I risultati dello studio dimostrano che la percentuale di infezione da HPV dei maschi part-

ner di donne con infezione da HPV è significativamente elevata, variando dal 47 al 49% in relazione alle metodiche utilizzate.

Un dato di particolare significatività è rappresentato dalla prevalenza di pazienti portatori di un virus *high-risk* che si attesta intorno a valori di oltre il 60%.

Inoltre, in una percentuale variabile dal 17,5% al 40,5%, è presente una infezione da genotipi multipli di cui è nota la pericolosità come fattore di aggravamento e persistenza della infezione da HPV [13].

Nei pazienti in cui si rende necessaria una biopsia del pene, il 44% dei casi presenta una lesione da PEIN 2 a PEIN 3.

Questi pazienti devono essere identificati e curati precocemente sia per il rischio di carcinoma del pene, sia per il ruolo che hanno nella genesi, persistenza e aggravamento della malattia nei partner.

L'infezione da HPV nell'uomo è spesso asintomatica ma richiede metodologie diagnostiche necessarie per una corretta definizione clinica attraverso la quale è possibile identificare due importanti gruppi di pazienti, quelli con infezione latente (20%) e quelli con infezione sub-clinica (18,7%) che rappresentano un importante *reservoir* del virus.

Del resto, appare oramai certa l'importanza di interrompere la sistematica trasmissione del virus nella coppia allo scopo di prevenire la persistenza del virus.

L'uso regolare e continuo del profilattico, rispetto al non uso o all'uso occasionale, riducono significativamente la frequenza dei condilomi genitali e la riduzione dell'incidenza della infezione [8, 9].

Nei maschi, l'uso regolare del profilattico appare collegato ad una diminuzione dei tempi mediani di regressione delle lesioni piane [13].

In conclusione, le malattie HPV correlate sono malattie della coppia ed è intuitivo che alla coppia deve essere rivolta una grande attenzione. Per una importante ed efficace prevenzione della trasmissione di HPV dal maschio "riserva di virus" alla donna, e per la prevenzione dell'effetto *ping-pong*, appare indispensabile sottoporre tutti i maschi partner di donne con infezione da HPV a peniscopia, HPV test (meglio la PCR rispetto alla ibridazione *in situ*), ed eventualmente a biopsia del pene (6, 7).

Key words: HPV, HPV-DNA, STD

RIASSUNTO

L'HPV è un virus che si trasmette sessualmente. Il maggior fattore di rischio di infezione per la popolazione femminile è costituito da rapporti sessuali con partner con infezione da papilloma virus. L'infezione da HPV è molto frequente nei maschi sessualmente attivi, ed è la più frequente delle MST. Nella nostra esperienza la prevalenza di infezione è di poco inferiore al 50%. Tra le donne il 75% contrae l'infezione che in oltre il 50% è legata a virus ad alto rischio. Da un punto di vista della metodologia e della pratica clinica *routinaria*, esistono attente e consolidate procedure che vengono applicate alla popolazione femminile con HPV; al contrario, per quanto riguarda i partner di questa popolazione, si registrano, sovente, una minore attenzione ed una minore sensibilità sia in fase diagnostica che terapeutica.

Gli obiettivi di questo studio rispondono a due precise domande:

1. È utile il controllo del partner maschile?
2. Quali esami sono consigliabili e necessari per una corretta definizione del problema?

In questo studio, 160 pazienti maschi, partner di pazienti con infezione da HPV, sono stati esamina-

ti attraverso la peniscopia, la ricerca di HPV-DNA e la biopsia del pene.

I risultati dello studio dimostrano che la percentuale di infezione da HPV dei maschi partner di donne con infezione da HPV è significativamente elevata, variando dal 47 al 49% in relazione alle metodiche utilizzate. Un dato di particolare significatività è rappresentato dalla prevalenza di pazienti portatori di un virus *high-risk* che si attesta in oltre il 60% dei casi. Inoltre, in una percentuale variabile dal 17,5% al 40,5% è presente una infezione da genotipi multipli di cui è nota la pericolosità come fattore di aggravamento e persistenza della infezione da HPV.

In conclusione, le malattie HPV correlate sono malattie della coppia ed è intuitivo che alla coppia deve essere rivolta una grande attenzione. Per una importante ed efficace prevenzione della trasmissione di HPV dal maschio "riserva di virus" alla donna, e per la prevenzione dell'effetto *ping-pong*, appare indispensabile sottoporre tutti i maschi partner di donne con infezione da HPV a peniscopia, HPV test, ed eventualmente a biopsia del pene.

SUMMARY

HPV is a sexually transmitted virus. The main risk factor for infection of the female population is the heterosexual transmission with partners who are infected with human papilloma virus (HPV). HPV infection is very common in sexually active males, and it is the most common STDs. In our experience the prevalence of infection is just under 50%. There are careful and well-established procedures that are applied to women with HPV; on the contrary, with regard to male population, there is, often, less focus and less sensitivity during both diagnostic and therapeutic strategies. The objectives of this study respond to two specific questions:

1. *Is it useful to control male partner?*
2. *What tests are advisable and necessary for a proper definition of the problem?*

In this study 160 male patients, partners of patients with HPV infection, were examined by peniscopia, the

search for HPV-DNA and biopsy of the penis. The study results show that the percentage of HPV infection of the male partners of women with HPV infection is quite high, ranging from 47 to 49% in relation to the methods used. The prevalence of patients with "high-risk" virus stands at over 60%. Moreover, from 17.5% to 40.5%, we observed an infection with multiple genotypes of which is known as a hazard factor of aggravation and persistence of HPV infection.

In conclusion, HPV-related diseases is a clinical infection of the couple and it is obvious that to the couple should be given great attention. For an important and effective prevention of transmission of HPV from the male "subject to viruses" to woman, and for the prevention "ping - pong" effect, it is essential to submit all the male partners of women infected with HPV peniscopia, HPV tests, and possibly a biopsy of the penis.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Ferlay J., Bray F., Pisani P., Parkin DM. GLOBCAN 2002: cancer incidence, mortality and prevalence worldwide. IARC Cancer Base n. 5 IARC press 2004.
- [2] IARC: Monographs on the evaluation of carcino-

genic risk to humans. Vol. 64. Human papillomavirus. Lyon, France IARC, 1995.

- [3] Sapienza M., Curatolo S., La Greca S., et al. Chronic HPV correlated lymphedema of external genitals: a case report. *Infez Med.* 4, 234-236, 2000.

- [4] WHO. Weekly epidemiological record. 2009; 5: 84: 37-40. <http://www.who.int/wer>

- [5] WHO. Weekly epidemiological record 2010, Bulletin of WHO. 85, 9, 719-723, 2007. Disponibile *on line* all'indirizzo: <http://www.who.int/immunization/topics/hpv/en/print.html>
- [6] Taner M.Z., Taskiran C., Onan M.A., et al. Genital human papillomavirus infection in the male sexual partners of women with isolated vulvar lesions. *Int. J. Gynecol. Cancer*. 16, 2, 791-794, 2006.
- [7] Rosenblatt C., Lucon A.M., Pereyra E.A., et al. HPV prevalence among partners of women with cervical intraepithelial neoplasia. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 84, 2, 156-161, 2004.
- [8] AIFA, Clinical Evidence 4, 09/11/2006.
- [9] Manhart L.E., Koutsky L.A. Do condoms prevent genital HPV infection, external genital warts, or cervical neoplasia? A meta-analysis. *Sex Transm. Dis.* 29, 725-735, 2002.
- [10] Martini S., Colella G., Masiello A., et al. HPV oral infection. Case report of an HIV-positive Nigerian sex worker. *Infez. Med.* 2, 115-118, 2007.
- [11] Benevolo M., Mottolese M. Marandino F., et al. PV prevalence among healthy Italian male sexual partners of women with cervical HPV infection. *J. Med. Virol.* 80, 7, 1275-1281, 2008.
- [12] Giraldo P.C., Eleuterio J. Jr, Cavalcante D.I., et al. The role of high-risk HPV-DNA testing in the male sexual partners of women with HPV-induced lesions. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 137, 1, 88-91, 2008.
- [13] Spinillo A. Ruolo dell'infezione da multipli genotipi di HPV nella progressione a lesioni intraepiteliali cervicali di grado elevato da una diagnosi citologica iniziale di ASCUS. La colposcopia in Italia, N. 3, 9-13, dicembre 2009.
- [14] WHO/UNPFA Preparing for the introduction HPV vaccines; policy and programme guidance for Countries WHO 2006.
- [15] Bleeker M.C., Hogewoning C.J., Voorhorst F.J., et al. Condom use promotes regression of human papillomavirus-associated penile lesions in male sexual partners of women with cervical intraepithelial neoplasia. *Int. J. Cancer* 107, 804-810, 2003.