

## VIRAL ONCOPROTEINS E6 AND E7 IN WOMEN WITH AND WITHOUT SQUAMOUS INTRAEPITHELIAL LESIONS AND SQUAMOUS INVASIVE CERVICAL CANCER

**Drage Dabeski**

University Clinic for Gynecology and Obstetrics in Skopje, Republic of North Macedonia,  
[drdabeski@yahoo.com](mailto:drdabeski@yahoo.com); [dr.dabeski@gmail.com](mailto:dr.dabeski@gmail.com)

**Abstract:** The two most important viral oncoproteins in the process of cervical carcinogenesis are E6 and E7. The study is a retrospective cohort study. Material is represented by 192 patients aged 20 to 59 years, divided into two groups: examined and control. The study group included 128 sexually active women with abnormal cervical cytological findings, ie Pap smear, which shows the presence of squamous intraepithelial lesion or squamous invasive cervical cancer. The control group included 64 sexually active women with normal cervical cytological findings, ie PAP test. The study did not include: pregnant women, women with previous cervical surgery (conization, carbon dioxide laser vaporization, and total hysterectomy), with previous abnormal cytological and histopathological findings of the cervix, and women with menstrual bleeding. The study did not include: pregnant women, women with previous cervical surgery (conization, carbon dioxide laser vaporization, and total hysterectomy), with previous abnormal cytological and histopathological findings of the cervix, and women with menstrual bleeding. HPV E6 / E7 mRNA infection was detected in 60.94% of patients in the study group. Analysis of the data showed an increase in HPV E6 / E7 HPV mRNA infection, in parallel with an increase in the histopathological degree of cervical lesion. The lowest percentage was in LSIL 9.76% (4/41), with an increase of 92.59% (50/54) in HSIL and 95.83% (23/24) in invasive squamous cell carcinoma ( $p < 0.05$ ). Data analysis showed an association between the presence of viral oncoproteins E6 and E7 and the occurrence of squamous intraepithelial lesions and squamous invasive cervical cancer ( $p < 0.05$ ). HPV E6 / E7 mRNA infection was detected in two (3.12%) patients in the control group. Our study has shown that there is an association between viral oncoproteins E6 and E7 and squamous intraepithelial lesions and squamous invasive cervical cancer

**Keywords:** viral oncoproteins, E6, E7, squamous intraepithelial lesion, squamous invasive carcinoma, uterine cervix

## ВИРУСНИ ОНКОПРОТЕИНИ Е6 И Е7 КАЈ ЖЕНИ СО СКВАМОЗНИ ИНТРАЕПИТЕЛНИ ЛЕЗИИ И СКВАМОЗЕН ИНВАЗИВЕН КАРЦИНОМ НА ГРЛОТО НА МАТКАТА

**Драге Дабески**

Универзитетска клиника за гинекологија и акушерство во Скопје, Република Северна Македонија,  
[drdabeski@yahoo.com](mailto:drdabeski@yahoo.com); [dr.dabeski@gmail.com](mailto:dr.dabeski@gmail.com)

**Резиме:** Два најзначајни вирусни онкопротеини во процесот на цервикалната карциногенеза се Е6 и Е7. Студијата претставува ретроспективна кохортна студија (retrospective cohort study). Материјал претставуваат 192 пациентки на возраст од 20 до 59 години, поделени во две групи: испитувана и контролна. Испитуваната група вклучи 128 сексуално активни жени со абнормален цервикален цитолошки наод, односно наод на ПАП-тест, кој покажува постоење на сквамозна интраепителна лезија или сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката. Контролната група вклучи 64 сексуално активни жени со нормален цервикален цитолошки наод, односно ПАП тест. Во студијата не беа вклучени: бремени жени, жени со претходни операции на грлото на матката (конизации, јаглерод двооксид ласерски вапоризации и тотални хистеректомии), со претходни абнормални цитолошки и хистопатолошки наоди на грлото на матката и жени во тек на менструално крварење. Кај сите жени се направи: ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирање, а по индикација, кај сите жени од испитуваната група и колпоскопска цервикална биопсија со ендоцервикална киретажа за хистопатолошка анализа. ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата беше детектирана кај 60,94% пациентки во испитуваната група. Анализата на податоците покажа пораст на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата, паралелно со зголемувањето на хистопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката. Најнизок процент имаше кај LSIL 9,76% (4/41), со зголемување на 92,59% (50/54) кај HSIL и 95,83% (23/24) кај инвазивниот сквамозен карцином ( $p < 0,05$ ). Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу

присуството на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 и појавата на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката ( $p < 0,05$ ). ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата беше детектирана кај две (3,12%) пациентки од контролната група. Нашата студија покажа дека постои асоцијација помеѓу вирусните онкопротеини Е6 и Е7 и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката

**Клучни зборови:** вирусни онкопротеини, Е6, Е7, сквамозни интраепителни лезии, сквамозен инвазивен карцином, грло на матка

## 1. ВОВЕД

Инвазивниот карцином на грлото на матката е четврт најчест карцином кај жените и седми воопшто, со 527 624 нови случаи и со 265 672 смртни случаи во 2012 година, што е 7,5% од сите смртни случаи од карцином кај жените. Карциномот на грлото на матката во Македонија е шести најчест карцином кај жените и десети воопшто, со 171 нов случај во 2012 година (Stewart, 2014). Сквамозниот карцином на грлото на матката е најчест хистолошки поттип на карцином на грлото на матката. Околу 90% од случаите на карцином на грлото на матката се сквамозни карциноми, 10% се аденокарциноми и мал процент други видови (Scott, 2016). На појавата на карциномот на грлото на матката му претходат различни форми на интраепителни лезии кои опфаќаат низа прогресивни морфолошки промени, од продуктивна ХПВ-инфекција/лесен степен на дисплазија па до *in situ* карцином (American College, 2010).

Два најзначајни вирусни онкопротеини во процесот на цервикалната карциногенеза се Е6 и Е7. Вирусните онкопротеини Е6 и Е7 се вклучени во низа клеточни процеси, од кои најзначајни се: стимулација на клеточната пролиферација, инхибиција на апоптозата, репрограмирање на диференцијацијата и хромозомска нестабилност (Munger, 2014). Експресијата на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 нормално е контролирана во тек на животноот вирусен циклус, кога вирусната ДНК се реплицира екстрахромозомално. Прекумерната експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 се јавува кога ХПВ- геномот ќе се интегрира во геномот на клетката домаќин (Ganguly, 2009). Интеграцијата на вирусниот геном во хуманиот геном доведува до пораст на стабилноста на информативната рибонуклеинска киселина-иРНК (mRNA, messenger Ribonucleic Acid) на Е6 и Е7. иРНК ја пренесува генетската информација од ДНК до рибозомите, клеточни органели во кои се врши синтезата на протеините. Прекумерната експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 е асоцирана со хромозомска нестабилност, со појава и прогресија на интраепителните лезии на грлото на матката и зголемен ризик од појава на цервикален карцином (Kottaridi, 2011). Вирусните онкопротеини Е6 и Е7 се предиктивни биомаркери за детекција и прогресија на високоризичните ХПВ-асоцирани интраепителни лезии на грлото на матката (Bugger, 2011). Целта на студијата беше да ја одредиме преваленцијата на ХПВ Е6/Е7 иРНК инфекцијата и да докажеме постоење асоцијација помеѓу вирусните онкопротеини Е6 и Е7 и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката.

## 2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

*Дизајн на студијата:* Студијата претставува ретроспективна кохортна студија (retrospective cohort study). Материјал: Материјал претставуваат 192 пациентки на возраст од 20 до 59 години, поделени во две групи: испитувана и контролна. Испитуваната група вклучи 128 сексуално активни жени со абнормален цервикален цитолошки наод, односно наод на ПАП-тест, кој покажува постоење на сквамозна интраепителна лезија или сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката. Контролната група вклучи 64 сексуално активни жени со нормален цервикален цитолошки наод, односно ПАП тест.

*Критериуми за исклучување:* Во студијата не беа вклучени: бремени жени, жени со претходни операции на грлото на матката (конизации, јаглерод двооксид ласерски вапоризации и тотални хистеректомии), со претходни абнормални цитолошки и хистопатолошки наоди на грлото на матката и жени во тек на менструално крварење.

*Период на реализација:* Студијата беше спроведена во периодот од јануари 2017 година до јануари 2018 година.

*Локација на студијата:* Студијата е работена на универзитетските клиника за гинекологија и акушерство и за радиотерапија и онкологија во Скопје и на Институтот за јавно здравје на Република Македонија во Скопје.

*Методи:* Кај сите жени се направи: ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирање, а по индикација, кај сите жени од испитуваната група и колпоскопска цервикална биопсија со ендоцервикална киретажа за хистопатолошка анализа.

*Цитолошка анализа:* Сите примероци за цитолошка анализа беа земени со помош на Thin Prep ПАП-тест и обработени во цитолошката лабораторија на Универзитетската клиника за гинекологија и акушерство во

Скопје од страна на цитопатолог. Цитолошките резултати беа класифицирани според ревидираната Bethesda класификација (Zerat, 2002; Solomon 2002), како: атипични сквамозни клетки со недетерминирано значење (ASC-US, Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance); атипични сквамозни клетки кои не исклучуваат сквамозна интраепителна лезија од висок степен (ASC-H, Atypical Squamous Cells cannot exclude a High-grade squamous intraepithelial lesion); сквамозна интраепителна лезија од низок степен (LSIL, Low grade Squamous Intraepithelial Lesion, CIN 1, Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 1); сквамозна интраепителна лезија од висок степен (HSIL-High grade Squamous Intraepithelial Lesion, CIN 2, Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 2, CIN 3, Cervical Intraepithelial Neoplasia Grade 3, CIS, Carcinoma In Situ) и сквамозен инвазивен карцином.

*Хистопатолошка анализа:* Примероците за хистопатолошка анализа беа земени на Универзитетската клиника за гинекологија и акушерство во Скопје и беа обработени на Универзитетската клиника за онкологија и радиотерапија во Скопје, на Одделот за хистопатологија и клиничка цитологија, од страна на искусен патолог. Според морфологијата детерминирана во биоптичните примероци, цервикалните наоди беа карактеризирани како: нормален наод (неспецифичен цервицитис); сквамозна интраепителна лезија од низок степен (LSIL, Low grade Squamous Intraepithelial Lesion) - лесен степен на дисплазија, плоснат кондилом (flat condyloma), акуминатен кондилом, хронично ХПВ-вирусно воспаление на грлото на матката (cervicitis chronica villosa); сквамозна интраепителна лезија од висок степен (HSIL, High grade Squamous Intraepithelial Lesion) - умерен и тежок степен на дисплазија, in situ сквамозен карцином и инвазивен сквамозен карцином (Carcinoma planocellulare cervicis uteri invasivum) (Kurman, 2014).

*ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирање:* Материјалот за ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирање беше земен од грлото на матката со помош на „сина“ четкичка (cytobrush) на Клиниката за гинекологија и акушерство во Скопје и беше обработен во Лабораторијата за вирусологија на Институтот за јавно здравје на Република Македонија во Скопје од страна на вирусолог. Беа употребувани тестови кои ја користат методата на полимераза верижна реакција во реално време (Real-Time PCR, Polymerase Chain Reaction). Резултатите беа анализирани и прикажани квалитативно, дали има присуство или отсуство на ХПВ Е6/Е7 онкопротеини (Andersson, 2011).

*Статистичка анализа:* Податоците беа внесени во стандарден софтвер за база на податоци (Excel). Статистичката анализа на формираните статистички серии беа спроведени со статистичкиот програм Статистички пакет за општествени науки (SPSS - Statistical Package for Social Sciences), верзија 23.0 и се состои од дескриптивна и аналитичка фаза. Дескриптивната фаза се состоеше од анализа на структурата на статистичките серии и испитување на нормалноста на дистрибуциите на податоците во нумерички серии. Структурата на статистичките серии беше анализирана како што следува: Структурата на статистичките серии со атрибутивни белези беше анализирана со одредување на пропорции и стапки. Структурата на нумеричките белези беше анализирана со одредување на мерки на централна тенденција (средни вредности - аритметичка средина, медијана и модус) и мерки на дисперзија (стандардна девијација). Процената на нормалноста на нумеричките серии се направи со помош на хи-квадрат тест. Аналитичката фаза се состои од следните постапки: Анализа на односи (постоење на асоцијација) меѓу две серии со атрибутивни варијабли се направи со помош на хи-квадрат тест. Анализа на односи меѓу две серии со нумерички варијабли (корелација) се направи со помош на регресиона анализа и коефициент на линеарна корелација. Тестирањето на разликите меѓу споредуваните групи (нивните дистрибуции, аритметички средини и пропорции) се направи со помош на Student-ов t-тест. Статистички значајни се сметаа податоците кај кои р вредноста беше <0,05. Резултатите се прикажани табеларно и графички.

### 3. РЕЗУЛТАТИ

#### *Испитувана група*

Дистрибуцијата на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата кај 128 пациентки од испитуваната група во однос на цитопатолошката дијагноза е прикажана во Табела 1 .

**Табела 1. Експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 во однос на цитопатолошката анализа**

Вирусни онкопротеини Е6 и Е7	Испитувана група Цитопатолошка дијагноза							
	ASC-US (n=13)	ASC-H (n=7)	LSIL (n=31)	HSIL (n=56)			Инвазивен сквамозен карцином (n=21)	Вкупно (n=128)
			CIN1 (n=31)	CIN2 (n=20)	CIN3 (n=21)	In situ сквамозен карцином (n=15)		
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Присуство	1 (7,69)	3 (42,86)	9 (29,03)	12 (60,00)	19 (90,48)	14 (93,99)	20 (95,24)	78 (60,94)
Отсуство	12 (92,31)	4 (57,14)	22 (70,97)	8 (40,00)	2 (9,52)	1 (6,67)	1 (4,76)	50 (39,06)

Легенда: n, број; ASC-US, атипични сквамозни клетки со недетерминирано значење; ASC-H, атипични сквамозни клетки кои не исклучуваат сквамозна интраепителна лезија од висок степен; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен; CIN, цервикална интраепителна неоплазма

Анализата на податоците покажа пораст на присуството на ХПВ Е6/Е7 иРНК- инфекцијата паралелно со зголемување на цитопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката; од 7,69% (1/13) кај ASCUS, 42,86% (3/7) кај ASC-H, 29,03% (9/31) кај LSIL, 80,36% (45/56) кај HSIL до 95,24% (20/21) кај сквамозниот инвазивен карцином (хи-квадрат тест=48,953, p<0,00001, p<0,05).

Дистрибуцијата на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата кај 128 пациентки од испитуваната група во однос на хистопатолошката дијагноза е прикажана во Табела 2.

**Табела 2. Експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 во однос на хистопатолошката дијагноза**

Вирусни онкопротеини Е6 и Е7	Испитувана група Хистопатолошка дијагноза								
	Нормален наод (n=9)	LSIL (n=41)			HSIL (n=54)			Инвазивен сквамозен карцином (n=24)	Вкупно (n=128)
		Хроничен вирусен цервицитис (n=20)	Плоснаг кондилом (n=2)	Лесна дисплазија (n=19)	Умерена дисплазија (n=15)	Тешка дисплазија (n=23)	In situ сквамозен карцином (n=16)		
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Присуство	1(11,11)	1(5,00)	0(0)	3(15,79)	14(93,33)	21(91,30)	15(93,75)	23(95,83)	78(60,94)
Отсуство	8(88,89)	19(95,00)	2(100)	16(84,21)	1(6,67)	2(8,7)	1(6,25)	1(4,17)	50(39,06)

Легенда: n, број; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата беше детектирана кај 60,94% (78/128) од испитуваните пациентки. Анализата на податоците покажа пораст на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата, паралелно со зголемувањето на хистопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката. Најнизок процент имаше кај LSIL 9,76% (4/41), со зголемување на 92,59% (50/54) кај HSIL и 95,83% (23/24) кај инвазивниот сквамозен карцином (хи-квадрат тест=82,7796, p<0,00001, p<0,05).

Анализата на податоците покажа асоцијација помеѓу присуството на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 и појавата на сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката (хи квадрат тест=10,0967,  $p=0,001485$ ,  $p<0,05$ ).

Инциденцата на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата изнесуваше: 53,57% (15/28) кај пациентки на возраст од 20 до 29 години; 50,00% (19/38) од 30 до 39 години; 70,00% (21/30) од 40 до 49 години; 68,75% (22/32) кај пациентки на возраст од 50 до 59 години (Табела 3).

**Табела 3. Дистрибуција на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата според возрастни групи кај 128 пациентки**

ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција	Возрасна група							
	20-29		30-39		40-49		50-59	
	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)	Број	(%)
<b>ХПВ Е6/Е7 иРНК позитивни</b>	15	(53,57)	19	(50,00)	21	(70,00)	22	(68,75)
<b>ХПВ Е6/Е7 иРНК негативни</b>	13	(46,43)	19	(50,00)	9	(30,00)	10	(31,25)
<b>Вкупно</b>	28	(21,87)	38	(29,69)	30	(23,44)	32	(25,00)

Легенда: ХПВ, хуман папилома вирус; иРНК, информативна рибонуклеинска киселина

Единечна ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција беше детектирана кај 44,53% (57/128) од сите пациентки (односно кај 73,08% од ХПВ Е6/Е7 иРНК-позитивните пациентки). Мешана ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција беше детектирана кај 16,41% (21/128) од сите пациентки (односно кај 26,92% од ХПВ Е6/Е7 иРНК-позитивните пациентки) (Табела 4).

**Табела 4. Дистрибуција на единечни и мешани ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекции во однос на хистопатолошката дијагноза кај 78 пациентки**

Тип на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција	Испитувана група Хистопатолошка дијагноза								
	Нормален наод (n=1)	LSIL (n=4)			HSIL (n=49)			Инвазивен сквамозен карцином (n=23)	Вкупно (n=78)
		Хроничен вирусен цервицитис (n=1)	Плоснаг кондилом (n=0)	Лесна дисплазија (n=3)	Умерена дисплазија (n=14)	Тешка дисплазија (n=21)	In situ сквамозен карцином (n=15)		
n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Единечна	1(100)	1(100)	0(0)	1(33,33)	10(71,43)	17(80,95)	11(73,33)	16(69,57)	57(73,08)
Мешана	0(0)	0(0)	0(0)	2(66,67)	4(28,57)	4(19,05)	4(26,67)	7(30,43)	21(26,92)

Легенда: n, број; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен; HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Со ХПВ Е6/Е7 иРНК-типизацијата беа типизирани 5 високоризични ХПВ-генотипа (ХПВ -16, -18, -31, -33 и -45). Преваленцијата на 5-те ХПВ Е6/Е7 иРНК-генотипа кај единечните и мешаните ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекции во однос на хистопатолошката дијагноза е прикажана во Табела 5.

**Табела 5. Преваленца на Е6/Е7 иРНК од ХПВ-генотиповите:-16,-18,-31,-33,-45 во однос на хистопатолошката дијагноза**

ХПВ РНК-генотип	Тип на инфекција	Испитувана група Хистопатолошка дијагноза								
		Нормален наод (n=1)	LSIL (n=4)			HSIL (n=49)			Инвазивен сквамозен карцином (n=23)	Вкупно (n=78)
			Хроничен вирусен цервицитис (n=1)	Плоснат кондилом (n=0)	Лесна дисплазија (n=3)	Умерена дисплазија (n=14)	Тешка дисплазија (n=21)	In situ сквамозен карцином (n=15)		
n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)		
16	Единечна Мешана	1(100) 0(0)	1(100) 0(0)	0(0) 0(0)	1(33,33) 1(33,33)	4(28,57) 4(28,57)	11(52,38) 3(14,28)	5(33,33) 4(26,67)	6(26,09) 4(17,39)	29(37,18) 16(20,51)
18	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(33,33)	0(0) 3(21,43)	1(4,76) 3(14,28)	0(0) 2(13,33)	4(17,39) 4(17,39)	5(6,41) 13(16,67)
31	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(33,33)	2(14,28) 0(0)	3(14,28) 1(4,76)	3(20,03) 2(13,33)	1(4,35) 2(8,69)	9(11,54) 6(7,69)
33	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 1(33,33)	1(7,14) 1(7,14)	1(4,76) 1(4,76)	1(6,67) 0(0)	0(0) 2(8,69)	3(3,85) 5(6,41)
45	Единечна Мешана	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	0(0) 0(0)	3(21,4) 0(0)	1(4,76) 0(0)	2(13,33) 0(0)	5(21,74) 2(8,69)	11(14,10) 2(2,56)

Легенда: n, број; LSIL, сквамозна интраепителна лезија од низок степен;  
HSIL, сквамозна интраепителна лезија од висок степен

Меѓу високоризичните ХПВ Е6/Е7 иРНК-генотипови, ХПВ-16 беше најчест (57,69%; 45/78), а потоа, по опаѓачки редослед, следуваа: ХПВ-18 (23,08%; 18/78), ХПВ-31 (19,23%; 15/78), ХПВ-45 (16,66%; 13/78) и ХПВ-33 (10,26%; 8/78).

**Контролна група**

Дистрибуцијата на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата кај 64 пациентки од контролната група со нормален цитолошки наод (ПАП-тест) на грлото на матката е прикажана во Табела 6.

**Табела 6. Еспресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 во однос на цитолошката дијагноза**

Вирусни онкопротеини Е6 и Е7	Контролна група Цитолошка дијагноза Нормален наод (n=64)	
	Број	(%)
Присуство	2	(3,12)
Отсуство	62	(96,88)

ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата беше детектирана кај две (3,12%) пациентки од контролната група. Едната на возраст од 25 години, а другата на возраст од 28 години. Едната, ХПВ-ДНК позитивна на ХПВ ДНК-тестирањето со типизиран ХПВ-16 генотип, а другата ХПВ-ДНК негативна. Кај двете пациентки со ХПВ Е6/Е7 иРНК-тестирањето беше детектиран и типизиран ХПВ-16 генотип.

Се регистрира статистички сигнификантна поврзаност помеѓу модалитетите ХПВ Е6/Е7 иРНК присуство и ХПВ Е6/Е7 иРНК отсуство помеѓу испитуваната и контролната група (хи-квадрат тест=58,6714,  $p < 0,00001$ ,  $p < 0,05$ ).

Според t-тестот процентуалната разлика помеѓу модалитетите ХПВ Е6/Е7 иРНК присуство и ХПВ Е6/Е7 иРНК отсуство помеѓу испитуваната и контролната група е статистички несинонифкантна за  $p > 0,05$  ( $p = 0,4721$ ,  $t = 0,8791$ , 95% CI: -211,8535-139,9735).

#### 4. ДИСКУСИЈА

Според познатата преваленца на ХПВ-генотиповите во инвазивните карциноми на грлото на матката, повеќе од 80% од потенцијалните случаи можат да бидат откриени од страна на PreTect HPV-Proofег анализата. Според IARC-анализата на 3 085 инвазивни карциноми на грлото на матката, петте најчести генотипови на ХПВ биле, со опаѓачки редослед на фреквенција, ХПВ-16,-18,- 45, -31 и -33. Овие генотипови биле откриени во 82,9% од случаите (Lіe, 2005). Преовладува консензус дека е потребна регулаторна експресија на вирусните онкопротеини Е6/Е7 за иницијација и прогресија на интраепителните лезии на грлото на матката. Детекцијата на онкогената активност на ХПВ преку детекција на транскриптите на иРНК може да биде подобар индикатор за ХПВ-инфекција, поврзана со зголемен ризик од прогресија кон карцином, отколку детекцијата на ХПВ-ДНК (Molden, 2005).

Во нашата студија високоризичната ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција беше детектирана кај 60,94% од пациентките во испитуваната група и кај 3,12% од пациентките во контролната група. Овој релативно висок процент на високоризична ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција кај пациентките со сквамозна интраепителна лезија и сквамозен инвазивен карцином на грлото на матката кореспондира со некои претходно објавени студии; шпанската студија на Fontecha и сор., работена во периодот од 2007 до 2014 година, покажала ХПВ Е6/Е7 иРНК-позитивитет кај 68,29% од жените кои за прв пат биле ХПВ Е6/Е7 иРНК тестирани (Fontecha, 2016), португалската студија на Oliveira и сор. од 2013 година, работена на 554 жени, детектирала експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 кај 55,10% од испитуваните жени (Oliveira, 2013), во италијанската студија на Cattani и сор. од 2009 година, работена на 400 ХПВ-ДНК позитивни жени, 61,20% од жените биле ХПВ Е6/Е7 иРНК позитивни (Cattani, 2019), турската студија на Tıney и сор. од 2017 година, покажала експресија на вирусните онкопротеини Е6 и Е7 кај 55,60% од жените со абнормален цервикален цитолошки наод (Tıney, 2017). Норвешката студија на Trope A. и сор. од 2009 година покажала експресија на вирусните онкопротеини Е6/Е7 кај 3,30% од пациентките со нормален цервикален цитолошки наод (Trope, 2009). Во турската студија на Tezcan и сор. од 2014 година, работена на 476 жени со нормален цервикален цитолошки наод, високо-ризичната ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција била детектирана кај 12 (2,50%) жени (Tezcan, 2014).

Анализата на податоците од нашата студија покажа пораст на присуството на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата паралелно со зголемување на цитопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката ( $p < 0,00001$ ). Пораст на присуството на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата паралелно со зголемување на цитопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката е детектиран и во холандската студија на Rijkaart и сор. од 2012 година ( $p = 0,01$ ) (Rijkaart, 2012), бразилската студија на Casagrande и сор. од 2015 година ( $p < 0,001$ ) (Casagrande, 2015) и корејската студија на Munkhdelger J. и сор. од 2014 година ( $p < 0,001$ ) (Munkhdelger, 2014).

Анализата на податоците од нашата студија покажа и пораст на присуството на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата паралелно со зголемување на хистопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката ( $p < 0,00005$ ). Пораст на присуството на ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата паралелно со зголемување на хистопатолошкиот степен на лезија на грлото на матката е детектиран и во кинеската студија на Liu и сор. од 2013 година (Liu, 2013) и студијата на Baron и сор. од 2015 година ( $p < 0,01$ ) (Baron, 2015).

Во оваа студија најдена е значајна поврзаност помеѓу вирусните онкопротеини Е6 и Е7 и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката ( $p = 0,001485$ ). Односот помеѓу единечна и мешана ХПВ Е6/Е7 иРНК инфекција беше 44,53%:16,41%. Овој сооднос кореспондира со соодносот на некои претходно објавени студии: во италијанската студија на Cattani и сор. од 2009 година, соодносот помеѓу единечната и мешаната ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекција бил 38,90%:16,10% (Cattani, 2009); во турската студија на Tıney и сор. од 2017 година, тој сооднос бил 35,80%:19,75% (Tıney, 2017); додека пак во норвешката студија на Trope и сор. од 2009 година, работена на 643 жени со HSIL, тој сооднос бил 58,80%:15,00% (Trope, 2009).

ХПВ-16 беше најчест генотип со 57,69%. А потоа, по опаѓачки редослед следуваа: ХПВ-18 (23,08%), ХПВ-31 (19,23%), ХПВ-45 (16,66%) и ХПВ-33 (10,26%). ХПВ-16 и -18 како најчести генотипови се детектирани и во шведската студија на Andersson E. и сор. од 2011 година (47,00% и 18,00%) (Andersson, 2011) и Fontecha и сор. од 2016 година (68,29% и 12,25%) (Fontecha, 2016).

ХПВ Е6/Е7 иРНК-инфекцијата беше најчеста кај пациентките на возраст од 40 до 49 години (70,00%; 21/30), како и во студијата на Wang и сор. од 2015 година (Wang, 2015).

#### 5. ЗАКЛУЧОК

Нашата студија покажа дека постои асоцијација помеѓу вирусните онкопротеини Е6 и Е7 и сквамозните интраепителни лезии и сквамозниот инвазивен карцином на грлото на матката

**ЛИТЕРАТУРА**

- Avery, K.N.L., Bosch, J.L.H.R., Gotoh, M., Naughton, M., Jackson, S., Radley, S.C., et al. (2007). Questionnaires to assess urinary and anal incontinence: review and recommendations. *J Urol*, 177:39–49
- American College of Obstetricians and Gynecologists. (2010). ACOG Practice Bulletin No99: Management of abnormal cervical cytology and histology. *Obstet Gynecol*. 2008; 112(6); 1419-1444. Reaffirmed 2010.
- Andersson, E., Karrberg, C., Radberg, T., Blomqvist, L., Zetterqvist, B.M., Ryd, W., Lindh. M. & Horal P. (2011). Type-specific human papillomavirus E6/E7 mRNA detection by Real-Time PCR improves identification of cervical neoplasia. *J Clin Microbiol*, 49(11):3794-9.
- Baron, C., Henry, M., Tamalet, C., Villeret, J., Richet, H. & Carcopino X. (2015). Relationship between HPV 16, 18, 31, 33, 45 DNA detection and quantitation and E6/E7 mRNA detection among a series of cervical specimens with various degrees of histological lesions. *J Med Virol*, 87(8):1389-96.
- Burger, E.A, Kornor, H., Klemp, M., & Lauvrak, V. (2011). Kristiansen IS. HPV mRNA test for the detection of cervical intraepithelial neoplasia: a systematic review. *Gynecol Oncol*, 12:430-438.
- Casagrande, D.C., Ribalta, JCL., Leite, KAPF., Schimidt, M. & Speck NMG. (2015). Expression of messenger RNA of oncoproteins E6 and E7 of human papillomavirus in women negative oncotic cytologies, epithelial squamous atypical of undefined significance and low-grade intraepithelial lesions. *Open J Obstet Gynecol*, 5:36-43.
- Cattani, P., Siddu, A., D’Ongnia, S., Marchetti, S., Santangelo, R., Vellone, V.G., Zannoni, G.F. & Fadda G. (2009). RNA (E6 and E7) assay versus DNA (E6 and E7) assay for risk evaluation for women infected with human papillomavirus. *J Clin Microbiol*, 2136-2141.
- Fontecha, N., Basaras, M., Hernaez, S., Andia, D. & Cisterna R. (2016). Assessment of human papillomavirus E6/E7 oncogene expression as cervical disease biomarker. *BMC Cancer*, 16:852.
- Ganguly, N. & Parihar S.P. (2009). Human papillomavirus E6 and E7 oncoproteins as risk factors for tumorigenesis. *J Biosci*, 34:113-123.
- Kottaridi, C., Tsiodras, S., Spathis, A., Chranioti, A & Pappas, A. (2011). Clinical performance of human papillomavirus E6/E7 mRNA flow cytometric assay compared to human papillomavirus DNA typing. *Anal Quant Cytol Histol*, 33:305-310.
- Kurman, R.J., Carcangin, M.L., Herrington, C.S., & Young, R.H. (2014). World Health Organization Classification of Tumors of Female Reproductive Organs. 4<sup>th</sup> ed. Lyon, France: IARC Press.
- Lie, A.K., Risberg, B., Borge, B., Sandstad, B., Delabie, J., Rimala, R., Onsrud M. & Thoresen, S. (2005). DNA- versus RNA-based methods for human papillomavirus detection in cervical neoplasia. *Gynecol Oncol*, 97: 908–915.
- Liu, TY.L, Xie, R., Luo, L., Reilly, K.H., He, C., Lin, Y.Z., Chen, G., Zheng, X.W., Zhang, L.L. & Wang, H.B. (2013). Diagnostic validity of human papillomavirus E6/E7 mRNA test in cervical cytological samples. *J Virol Methods*, 1-6.
- Molden, T., Kraus, I., Karsen, F., Skomedal, H., Nygar, J.F. & Hagmar B. (2005). Comparison of human papillomavirus messenger RNA and DNA detection: a cross-sectional study of 4136 women >30 years of age with a 2-year follow-up of high-grade squamous intraepithelial lesion. *Cancer Epidemiol*, 14:367-372.
- Munger, K., Baldwin, A., Edwards, K.M., Hayakawa, H. & Nguyen C.L. (2004). Mechanisms of human papillomavirus induced oncogenesis. *J Virol*, 78:11451-11460.
- Munkhdelger, J., Choi, Y., Lee, D., Kim, S., Kim, G., Park, S., Choi, E., Jin, H., Lee, H. & Park KH. (2014). Comparison of the performance of the NucliSENS EasyQ HPV E6/E7 mRNA assay and HPV DNA chip for testing squamous cell lesions of the uterine cervix. *Diagnos Microbiol Inf Dis*, 422-427.
- Oliveira, A., Verdasca, N. & Pista A. (2013). Use of the NucliSENS EasyQ HPV assay in the management of cervical intraepithelial neoplasia. *J Med Virol*, 85(7):1235-1241.
- Rijkaart, D.C., Heideman, DAM., Coupe, VMN., Brink, AATP., Verhejen, RNM., Skomedal, H., Karlsen, F., Morland, E., Snijders, PJF. (2012). Meijer CJLM. High-risk human papillomavirus (hrHPV) E6/E7 mRNA testing by PreTect HPV-Proofer for detection of cervical high-grade intraepithelial neoplasia and cancer among hrHPV DNA-positive women with normal cytology. *J Clin Microbiol*, 50(7):2390-2396.
- Scott, M. (2016). The pathology of cervical cancer. In: Ayhan A, Reed N, Gulterin M, Dursun P, editors. *Textbook of Gynaecological Oncology*. 3<sup>rd</sup> ed. Ankara, Turkey: Gunes Publishing, 376-380.
- Solomon, D., Davey, D., & Kurman, R. (2002). The 2001 Bethesda System. Terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA*; 287:2114-19.
- Stewart, B.W. & Wild, C.P. (2014). *World Cancer Report 2014*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.



- 
- Tezcan, S., Ozgur, D., Ulger, M., Aslan, G., Gurses, I., Serin, M.S., Giray, B.G., Dilek, S. & Emekdas, G. (2014). Human papillomavirus distribution and E6/E7 oncogene expression in Turkish women with cervical cytological findings. *Asian Pac J Cancer Prev*, 15(9):3997-4003.
- Trope, A., Sjoborg, K., Eskild, A., Cuschieri, K., Eriksen, T., Thoresen, S., Steinbakk, M., Laurak, V., Jonassen, C.M., Westerhagen, U., Jacobsen, M.B. & Lie AK. (2009). Performance of human papillomavirus DNA and mRNA testing strategies for women with and without cervical neoplasia. *J Clin Microbiol*, 47(8):2458-2464.
- Tuney, I., Altay, A., Ergunay, K., Onder, S.C., Usubatun, A., Salman, M., Bozdayi, G., Karabulut, E., Badur, O.S., Yuce, K. & Pinar, A. (2017). HPV types and E6/E7 mRNA expression in cervical samples from Turkish women with abnormal cytology in Ankara, Turkey. *Turk J Med Sci*, 1508-155.
- Wang, H., Park, S., Lee, D., Kim, S., Kim, G., Park, K.H. & Lee, H. (2015). Prevalence of type-specific oncogenic human papillomavirus infection assessed by HPV E6/E7 mRNA among women with high-grade cervical lesions. *Int J Infect Dis*, 37:135-142.
- Zerat, L. (2002). La nouvelle terminologie de Bethesda: quellschangements? *Rev Prat Gynecol Obstet. Numero Special*, 3-10.