
EFFICIENCY OF TRICHLOROACETIC ACID IN THE TRETMENT OF SUBCLINICAL HPV INFECTIONS OF THE UTERINE CERVIX

Anita Morarcalieva Chochkova

PHI General Hospital Gevgelija, Republic of North Macedonia, dr.anita_morarcalieva@hotmail.com

Nevenka Velickova

Faculty of medical sciences, University Goce Delcev – Stip, Republic of North Macedonia,

nevenka.velickova@ugd.edu.mk

Simonida Kotlarova Poposka

General Hospital Remedika, Skopje, Republic of North Macedonia, kotsim@hotmail.com

Gligor Dimitrov

General Hospital Remedika, Skopje, Republic of North Macedonia, glidim@gmail.com

Abstract: Cervical cancer is the fourth leading cause of death among the female population worldwide and represent 6,5% of all female cancers. According to World health organization our country, North Macedonia is among the countries with middle high age standardized rate of 7,5. Statistical review of Institute of public health of North Macedonia showed that in average there are 150 new diagnosed cases of cervical cancer per year in our country, and one third of them died. Papillomaviruses are ubiquitous and more than 200 types were recognized by DNA sequence data showing genomic differences. There are over 200 types of human papilloma virus (HPV), 40 of which are specific to the anogenital region, while 14 are high-risk types, which are the most common causes of cervical cancer. The most important viral proteins that affect gene regulation and cell transformation are the E6 and E7 prooncogenes, which bind to p53 and retinoblastoma (Rb) proteins, thus cell apoptosis and cause immortalization of the cells is prevented. The period from infection to the onset of an intraepithelial lesion is three weeks to three months, that is the time needed for basal keratinocytes to move through the cervical epithelium, to differentiate, and to desquamate. And the time that is usually needed for high squamous intraepithelial lesions to progress to microinvasive cancer usually takes decades. Because there is no cytolysis or cytological death due to viral replication, there is no inflammation throughout the life cycle of HPV and the production of cytokines is absent or they are produced in a very small amount. Therefore, the virus can be tolerated by the host for a longer period of time, thus it would be able to persist without causing an immune response. Persistent high-risk types are the most common cause of high-grade cervical intraepithelial lesions and cervical cancer. Over time, the greater the viral load or the infection is, the greater the possibility of progression of the subclinical infection to a cervical intraepithelial lesion is. The topical action of trichloroacetic acid (TCA) on eradication of HPV is well established. The results of this procedure are promising, and the procedure is easy, inexpensive, does not require specific and special training of the staff performing it. This treatment and therapy with TCA protects the cervical mucosa from long-term exposure to HPV, thereby reducing the risk of developing high-grade intraepithelial lesions. In this way, patients avoid the surgical treatment and intervention that is necessary for higher degrees of cervical lesions caused by HPV. This is very important because the patients affected by high squamous intraepithelial lesions caused by HPV that require a surgical treatment, are often in reproductive age and this noninvasive treatment can indirectly reduce the risk of preterm delivery.

Keywords: TCA, treatment, HPV infection, cervix, neoplasia, prevention

ЕФИКАСНОСТА НА ТРИХЛОРОЦЕТНА КИСЕЛИНА ВО ТРЕТМАНОТ НА СУБКЛИНИЧКИТЕ ФОРМИ НА HPV ИНФЕКЦИИ НА ГРЛО НА МАТКА

Анита Морарцалиева Чочкова

ЈЗУ Општа болница Гевгелија, Република Северна Македонија, dr.anita_morarcalieva@hotmail.com

Невенка Величкова

Факултет за мед. науки, Универзитет “Гоце Делчев”-Штип, Република Северна Македонија,

nevenkavelickova@ugd.edu.mk

Симонида Котларова Попоска

Општа болница Ремедика, Скопје, Република Северна Македонија, kotsim@hotmail.com

Глигор Димитров

Општа болница Ремедика, Скопје, Република Северна Македонија, glidim@gmail.com

Резиме: Карциномот на грло на матка на светско ниво претставува четврта по ред водечка причина за смртност помеѓу женската популација претставува 6,5% од сите карциноми кај жените. Според Светската здравствена организација, Република Северна Македонија спаѓа во земјите со средно висока инциденца на заболени од карцином на грло на матка или цервикален карцином, со стапка од 7,5. Статистичките податоци од Институтот за јавно здравје на Република Северна Македонија покажуваат дека во просек има околу 150 новодијагностицирани случаи на карцином на грло на матка годишно, а една третина од заболените ја губат битката секоја година. Папиломавирусите се убиквитарни вируси. Над 200 типови на хуман папилома вирус (*Human papilloma virus*, HPV) се типизирани со помош на ДНК секвенционирање и покажуваат геномски разлики, од кои 40 се со специфичен тропизам за аногениталната регија, додека 14 се високоризични типови и најчестите причинители на карцином на грло на матка. Најважни вирусни протеини кои влијаат на генската регулација и клеточна трансформација се Е6 и Е7 проонкогените, кои се врзуваат за p53 и ретинобластома (Rb) протеинот и со тоа влијаат на спречување на апоптозата и имортализацијата на клетките. Периодот од инфекција до појава на интраепителијална лезија е од три недели до три месеци, време кое им е потребно на базалните кератиноцити да се придвижат низ цервикалниот епител, да се издиференцираат и десквамираат. А времето кое вообичаено е потребно за прогресија на лезиите од висок степен кон микроинвазивен карцином трае обично десетици години. Бидејќи нема цитолошка или цитолошка смрт како последица на вирусната репликација, не постои инфламација во тек на целиот животен циклус на HPV и отсуствува или воопшто не доаѓа до ослободување на цитокини. Од тие причини вирусот може подолго време да биде толериран од домаќинот и на тој начин да перзистира без да предизвика имун одговор. Перзистентните високоризични типови се најчеста причина за цервикални лезии од висок степен и карцином на грлото на матката. Временски, колку е поголемо оптеретувањето или инфекцијата со вирусот, толку е поголема веројатноста за прогресија на субклиничката инфекција кон цервикална интраепителијална лезија. Дејствувањето на локално ниво со трихлороцетна киселина (TCA), за ерадикација на HPV е сосема издржана. Резултатите од оваа процедура се ветувачки, а постапката е лесна, ефтина, не бара специфична и посебна обука на персоналот кој ја изведува. Со ваквиот третман и терапија со TCA се овозможува заштита на цервикалната слузница од долготрајна изложеност на HPV, а со тоа и намалување на ризикот за развој на интраепителијални лезии од висок степен. На тој начин пациентките го избегнуваат оперативниот третман и зафат кој е неопходен за повисоките степени на цервикални лезии предизвикани од HPV. Ова е многу важно бидејќи пациентките кои се најчесто афицирани од цервикални лезии од висок степен кои бараат хируршки третман, а се асоцирани со HPV инфекција, се во репродуктивна возраст и овој неинвазивен третман директно може да го намали ризикот од предвремено породување.

Клучни зборови: трихлороцетна киселина, третман, ХПВ инфекции, цервикс, неоплазии, превенција

1. ВОВЕД

Хуманиот папилома вирус или HPV (*Human papilloma virus*) е убиквитарен вирус. Постојат над 200 типови на HPV, од кои 40 се со специфичен тропизам за аногениталната регија, а 14 се високоризични типови. 99,7% од карциномите на грло на матка, присутни во хумана популација се причинети од HPV, а 80% од нив од групата на високоризични типови.

Според извештаите на Global Cancer Observatory (GLOBOCAN) од 2020 година, присуството на цервикален карцином на светско ниво се проценува на 604 237 новодијагностицирани случаи што претставува 6,5% од сите карциноми кои се јавуваат кај женската популација (Sung H et al. 2021). Податоците од 2020 год. потврдуваат дека цервикалниот карцином е причина за смрт на 341 843 лица, од кои 90% се во неразвиените земји. Пациентките на кои им е дијагностициран цервикален карцином имаат два пати поголем ризик од смртен исход, отколку пациентките со дијагностициран карцином на дојка. Во денешно време многу повеќе жени умираат од цервикален карцином отколку при породување.

Институтот за јавно здравје на Р. Северна Македонија во 2020 година објави податоци од 10 годишен пресек за морбидитетот и морталитетот на жените кај кои е дијагностициран карцином на грло на матка и истиот покажува раст од 2013 год. до 2019 год. Во 2019 год. се регистрирани 210 новодијагностицирани случаи и 54 починати (Речица, 2020). Во 2014 год. во нашата држава е донесен Закон за здравствена заштита на популацијата од цервикален карцином и врз основа на овој закон се реализира програмата за скрининг на женска популација на возраст од 24-65 години. Последните податоци од 2019 година потврдуваат 2 новодијагностицирани случаи во Гевгелија, 6 во Штип и 73 во Скопје. Во 2021 год. е основан Национален регистар за карцином на Република Северна Македонија преку кој се овозможува поголема достапност за следење и скрининг на на жените со цервикален карцином.

HPV геномот енкодира DNA секвенца за шест рани (*early*) E протеини, асоцирани со вирусната генска регулација и клеточна трансформација, два касни (*late*) L протеини, кои ја формираат надворешната обвивка

на вирусот и регион на регулаторна DNA секвенца. E6 и E7 се двата најважни HPV протеини кои иницираат патогенеза ималигната пролиферација и имортализација на клетките. Кога еднаш ќе се инфицира епителот со HPV, на молекуларно ниво, вирусот има можност да перзистира во цитоплазмата или да се интегрира во геномот. Во епизомална, неинтегрирана форма тој предизвикува лезии од низок степен, а во интегрирана форма може да предизвика лезии од повисок степен и карцином. Неговите гени E1 и E2 се врзуваат за DNK на домакилот и ја пореметуваат регулацијата на транскрипција на E6 и E7 протоонкогени, резултирајќи во поголема концентрација на онкопротеини. E6 се врзува за p53, протеин одговорен за апоптоза на клетките со што се спречува апоптозата, а E7 за ретинобластома (Rb) протеин, кој предизвикува прогресија на клеточниот циклус, а со тоа имортализација на клетките (Pinidis, 2016).

Инфекцијата и вегетативниот раст на HPV, комплетно е зависен од кератиноцитната диференцијација и се движи од базалните клетки кон терминално диференцираните кератиноцити кои се сместени на површината на цервиксот. Периодот од инфекција до појава на лезија е од три недели до три месеци, време кое е потребно на базалните кератиноцити да се придвижат низ епителот, да се издиференцираат и да се десквамираат. Времето кое е потребно за прогресирање на лезија од висок степен кон микроинвазивен карцином изнесува десетици години. Од причини што нема цитолита или цитолошка смрт како последица на вирусната репликација, нема инфламација и во целиот животен циклус на HPV, отсуствува или постои многу мало ослободување на цитокини. Имајќи во предвид дека минимални количини на вирусот се експонирани кон имуната одбрана на домакилот тој е практично невидлив за имуниот систем на домакилот, истиот може да биде игнориран прилично долго време (Stanley, 2012).

2,2,2- трихлороцетната киселина (TCA) е одобрена од Food and Drug Administration (FDA) како активна хемиска супстанца уште во 2016 год. Истата може да се најде во концентрација од 10-90%. Примарно се употребувала во козметиката за хемиски пилинг на лузни од акни, мелазма, ксантелазми, третирање на аногенитални кондилони и кожни израстоци. Како исклучително активна хемиска субстанција предизвикува преципитација и денатурација на протеините (Rajalingam et al., 2009). Може да предизвика акутна токсичност во организмот доколку се ингерира во доза од 5000mg/kg. Со нејзина топична употреба не се регистрирани случаи на интоксикација. Системските нивоа на TCA кои се постигнуваат по топична апликација, не можат да ги достигнат системските нивоа на TCA кои се потребни за да се јават несакани ефекти.

2. ЦЕЛИ НА ТРУДОТ

Цел на трудот е да се:

- прикаже развојниот циклус на HPV
- укаже на смртноста и последиците од инфекциите со HPV
- потенцира важноста и примената на TCA во третманот на субклиничките инфекции со HPV на грло на матка
- направи литературен преглед на најновите публикации за досегашната употребата на TCA
- влијае во превецијата и раната дијагностика на цервикален карцином кај женската популација

3. МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

Во трудот е направен литературен преглед на публикувани студии и истражувања од базите на *Medline*, *Pubmed* и *Cochrane Library*, поврзани за третманот на субклиничка инфекција на грло на матка со HPV, со помош на TCA (со или без цервикална интраепителијална неоплазија). Направен е осврт во најновата литература и објавени податоци со цел да се објасни циклусот на HPV, неговите молекуларни механизми и асоцијација со клеточна трансформација, биолошки принципи на епителна инфекција, како и механизмот на дејство и негов третман со трихлороцетната киселина. Евалуирани се шест рандомизирани клинички студии кои се плацебо контролирани, кои вклучуваат валидни дијагностички методи и со период на мониторирање или следење на пациентките од најмалку еден месец. Како екслузивни критериуми во пребарувањето се дефинирани студии на трудници и студии за третман на аногенитални кондилони и израстоци на кожа со TCA.

4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Во овој ревијален труд направен е литературен преглед или пресек од шест објавени и една сеуште незавршена студија кои ги исполнуваат веќе нотираниите инклузионите критериуми.

Во студијата на Malaviya et al. (1987), вклучени се 48 пациентки кај кои со ПАП тест и колопоскопија, на грлото на матката е дијагностицирана инфекција со HPV, без други цервикални лезии. По апликација на

ТСА на ендоцервикс и трансформациона зона, истите се следени со помош на ПАП тест на две недели во наредните три месеци по што е потврдено дека кај истите пациентки во тој период нема рецидив на инфекцијата.

Menendez Velazquez et al., (1990), обработиле 60 пациентки и истите ги опсервирале по третманот со ТСА на секои три месеци со помош на цитолошки и хистопатолошки анализи во период на девет месеци. Стапката на излекување во првите три месеци била 73%, после шест месеци, 68%, а после девет месеци, 65%. Авторите на студијата потврдуваат дека ТСА е ефикасен лек во третманот на HPV инфекциите и треба да се промовира поради ниската цена, недостатокот на несакани ефекти, лесната апликација и неинвазивноста во постапката.

Во студијата на Boothby et al, (1993) биле вклучени 34 пациентки кои биле третирани со 50% трихлороцетна киселина и контролната група која била третирана со физиолошки раствор како плацебо. После направените цитолошки и хистолошки контроли 4-16 недели покасно, не била најдена значителна разлика во стапката на излекување кај двете групи. Авторите заклучиле дека ТСА не е ефикасно средство за лекување на HPV инфекцијата во оваа концентрација.

Во студијата на Geisler et al. (2016), ТСА ја аплицирале кај пациентки со цервикални интраепителни неоплазии од висок степен (CIN 2-3) и цервикални интраепителни неоплазии од низок степен (CIN 1). Следена е стапката на регресија од лезија од висок во низок степен и ремисија на лезиите и стапката на клиренс на вирусот, со следење на цитолошки, хистолошки и молекуларни параметри. Авторите на студијата заклучиле дека има висока стапка на регресија, ремисија и HPV клиренс, осум недели по топичната апликација на 85% ТСА и истата може да се аплицира во третманот кај пациентки со дијагностициран CIN.

Во најнова студија TRICIN, спонзорирана од *Krankenhaus Barmherzige Schwestern Linz*, започната во 2020 година (треба да заврши на 31 декември 2022 година) учествуваат 101 пациентка, третирани со еднократна топична апликација на 85% ТСА, со конфирмирани лезии од градус CIN I, CIN II и HPV инфицирани пациентки, со цел да се проследи регресијата на лезиите од повисок во понизок степен и вирусниот клиренс на HPV, дијагностициран кај пациентки со помош на Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) методата. Конечни резултати сè уште не се објавени, но прелиминарно е утврдено дека кај пациентките со дијагностицирана HPV инфекција на грло на матка, вирусниот клиренс после еднократна топична апликација на ТСА е со ефикасност од 82%.

Најмалку 80% од сексуално активните жени, во тек на нивниот сексуално активен живот, ќе се инфицираат со HPV до нивната 50 година. Повеќето HPV инфекции се транзиторни и над 50% од нив се самоизлекуваат за време од 6-18 месеци. Времетраењето на HPV инфицираноста е индикација за терапија, бидејќи колку подолго е присутен HPV толку поголем е ризикот за подолготрајно лечење на инфекцијата и поверојатна е прогресијата кон повисоки форми на цервикални лезии. Веројатноста за перзистентност на високоризичните типови е многу поголема отколку веројатноста за перзистенција на нискоризичните типови. Од тие причини воопшто не е изненадувачка нивната способност за рецидивантност. Тоа е уште една карактеристика на вирусот која треба да се земе во предвид во процесот на дијагностика и лекување. Затоа многу е важно да се продолжи периодот без вирусно оптеретување. Оправданоста за третирање на HPV инфекциите на грлото на матката, кај жени над 30 години е особено голема поради фактот од зголемување на инциденцата на карцином на грло на матка кај жените над 30 години со достигнување на пик кај жените на околу 55 годишна возраст. Фаворизирањето на локално аплицираната терапија со ТСА наспроти системската имуностимулативна и антиоксидативна терапија е резултат или одговор на самиот животен циклус на HPV кој практично е невидлив за домаќинот и не предизвикува никаков имун одговор. Дејствувањето со ТСА на локално ниво, на самиот цервикален епител, за ерадикација на HPV е сосема издржана. Многу е важно да се запази концентрацијата на ТСА од 85% (Lee et al. 2020). Резултатите од локално аплицираната терапија со ТСА и третман на HPV инфекциите на грлото на матката се ветувачки, а постапката е лесна, ефтина, неинвазивна, не бара посебна обученост во изведување на процедурата и не дава несакани ефекти (Suwartono, Andrijono 2020).

5. ЗАКЛУЧОК И ПРЕПОРАКИ

Клиничкото и практично влијание на третманот на HPV инфекциите на грлото на матката со ТСА се должи на заштитата на цервикалната слузница од долготрајното и имunosупресивно дејство на HPV, а со тоа и намалување на ризикот за појава на интраепителијални лезии од висок степен. Исто така, со терапијата со ТСА кај пациентките кај кои е потврдена инфекцијата со HPV на грлото на матката, се избегнува оперативниот третман кој е неопходен кај повисоките степени на цервикални лезии предизвикани од HPV и со тоа индиректно се намалува и ризикот од предвремено породување.

РЕФЕРЕНЦИ

- Речица, В., & Тахири, Ј. (2020). Рак во Република Северна Македонија 2010-2019
- Boothby, R.A., Carlson, J.A., Rubin, M., Morgan, M., & Mikuta, J.J. (1990). 76(2):278-80. Single application treatment of human papillomavirus infection of the cervix and vagina with trichloroacetic acid: a randomized trial. PMID 2164652
- Burd, E.M. (2003). Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* 16(1):1-17. doi: 10.1128/CMR.16.1.1-17.2003
- Demers, G.W., Foster, S.A., Halbert, C.L., & Galloway, D.A. (1994). Growth arrest by induction of p53 in DNA damaged keratinocytes is bypassed by human papillomavirus 16 E7. *Proc Natl Acad Sci USA* 91(10):4382-4386. doi: 10.1073/pnas.91.10.4382
- Dupuy, C., Buzoni-Gatel, D., & Touze, A. (1997). Cell mediated immunity in mice by HPV 16L1 virus like particles. *Microb Pathog* 22(4):219-25. doi: 10.1006/mpat.1996.0113
- Einstein, M.H., Schiller, J.T., & Viscidi, R.P. (2009). Clinician's guide to human papillomavirus immunology: knowns and unknowns. *Lancet Infect Dis.* 9(6):347-56 doi: 10.1016/S1473-3099(09)70108-2.
- FDA briefing information for the (2016). Meeting of the Pharmacy Compounding Advisory Committee
- Geisler, S., Speiser, S., Speiser, L., Heinze, G., Rosenthal, A., & Speiser, P. (2016). 127(2):1. Short-Term Efficacy of Trichloroacetic Acid in the Treatment of Cervical Intraepithelial Neoplasia. DOI:10.1097/AOG.0000000000001244
- Harve, P.A., Yuan, J., & Hedrick, L. (1995). P53 inactivation by HPV 16 E6 results in increased mutagenesis in human cells. *Cancer Res.* 55(19):4420-4. PMID: 7671255
- Lee, K.C., Wright, M., Kulesza, J., Brody, H.J., & Wambier, C.G. (2020). J Am Acad Dermatol. 82(6):1542-1544. Reviving the call for weight by volume standardization of trichloroacetic acid peel solutions. Doi:10.1016/j.jaad.2020.01.088
- Malviya, V.K., Deppe, G., Pluszczynski, R., & Boike, G. (1987). 70(1):72-4. Trichloroacetic acid in the treatment of human papillomavirus infection of the cervix without associated dysplasia. PMID: 3037457
- McLaughlin-Durbin, M.E., & Munger, K. (2008). Viruses associated with human cancer. *Biochim Biophys Acta* 1782(3):127-150. doi: 10.1016/j.bbadis.2007.12.005
- Menéndez Velázquez, J.F., González Sánchez, J.L., Rodríguez de Santiago, J.D., Muñoz Reyes, R., & Bailón Uriza, R. (1993). 61:48-51. The treatment of cervical human papillomavirus (HPV) infection with trichloroacetic acid]. PMID: 8406118
- Pagano, M., Durst, M., & Joswing, S. (1992). Binding of the human E2F transcription factor to the retinoblastoma protein but not to cyclin A is abolished in HPV 16 immortalized cells. *Oncogene* 7(9):1681-6. PMID: 1323816
- Pinidis, P. (2016). Human papilloma virus' life cycle and carcinogenesis. *Maedica* 11(1):48-54. PMID: 28465751
- Rajalingam, D., Loftis, C., Xu, J.J., & Kumar, T.K.S. (2009). Trichloroacetic acid induced protein precipitation involves the reversible association of a stable partially structured intermediate. *Protein science.* 18(5):980-93. <https://doi.org/10.1002/pro.108>
- Scheffner, M., Huibregtse, J.M., Vierstra, R.D., & Howley, P.M. (1993). The HPV 16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin ligase in the ubiquitination of p53. *Cell* 75(3):495-505. doi: 10.1016/0092-8674(93)90384-3.
- Schwarz, E., Freese, U.K., & Gissmann, L. (1985). Structure and transcription of human papillomavirus sequences in cervical carcinoma cells. *Nature* 7-13;314(6006):111-4. doi: 10.1038/314111a0
- Stanley, M. (2012). Epithelial cell responses to infection with human papillomavirus. *Clin Microbiol Rev.* 25(2):215-22. doi: 10.1128/CMR.05028-11.
- Stanley, M. (2006). Immune responses to human papillomaviruses. *Vaccine* 24Suppl 1:S16-22. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.09.002.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics (2020). GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660
- Suwartono, H., Andrijono. (2020). Efficacy of Trichloroacetic acid (TCA) compared to cryotherapy in treating patients with positive VIA result. *INAJOG.* doi.org/10.32771/inajog.v8i4.1382
- Tommasino, M., Adamczewski, J.P., & Carlotti, F. (1993). HPV 16 E7 pretein associates with the protein kinase p33CDK2 and cyclin A. *Oncogene* 8(1):195-202 PMID: 8380917
- TRICIN: Prospective study on the efficacy of single topical trichloroacetic acid (TCA) 85% in the treatment of cervical intraepithelial neoplasia (CIN 1/2) (2020). *Clinical NCT04400578*

Werness, B.A., Levine, A.J., & Howley, P.M. (1990). Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 248(4951):76-9. doi: 10.1126/science.2157286.