

# Persistenza virale in relazione al microbiota cervico-vaginale

Cristina Sani

ISPRO

S.C. Laboratorio Regionale Prevenzione Oncologica

*c.sani@ispro.toscana.it*

## Webinar GISCi

Infezioni da HPV: persistenza e clearance



"Il sottoscritto Cristina Sani ai sensi dell'art. 3.3 sul Conflitto di Interessi, pag. 17 del Reg. Applicativo dell'Accordo Stato-Regione del 5 novembre 2009, dichiara che negli ultimi due anni NON ha avuto rapporti diretti di finanziamento con soggetti portatori di interessi commerciali in campo sanitario"

# MICROBIOTA VAGINALE (MV)

## Dominato da Lattobacilli

### I lattobacilli:

contribuiscono a mantenere l'omeostasi immunitaria e il trofismo epiteliale (azione anti-infiammatoria)

prevencono le infezioni da patogeni attraverso:

produzione di acido lattico (basso pH)

produzione di molecole antimicrobiche

produzione H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Il MV varia con la fase riproduttiva. Gli estrogeni, attraverso la maturazione dell'epitelio e l'accumulo di glicogeno creano l'ambiente ideale per la proliferazione dei lattobacilli.

La diminuzione dei lattobacilli o la sostituzione con specie che sono meno in grado di svolgere le funzioni di difesa (es. *L. iners*) facilitano il popolamento della mucosa con comunità polimicrobiche dominate da batteri prevalentemente anaerobi come *Gardnerella*, *Prevotella*, *Atopobium*, *Megasphaera*

Si configura così la **DISBIOSI VAGINALE**



*Characterization of cervico-vaginal microbiota in women developing persistent high-risk Human Papillomavirus infection*  
 Di Paola, M.; Sani, C.; Clemente, A.M.; Iossa, A.; Perissi, E.; Castronovo, G.; Tanturli, M.; Rivero, D.; Cozzolino, F.; Cavalieri, D.; Carozzi F, De Filippo C, Torcia M.. *Sci. Rep.* 2017, 7, 10200.

I risultati di questo studio hanno mostrato che il CST-IV dominato da specie strettamente anaerobiche (Gardnerella, Prevotella, Atopobium, Megaspheera) era associato al gruppo Persistenza, rispetto al gruppo Clearance o Controllo. Gli ODDs Ratio hanno confermato che questo CST può essere un fattore di rischio per la persistenza dell'infezione da HPV HR.

**I risultati di recenti studi hanno dimostrato che la composizione del MV è associata all'acquisizione, alla riattivazione o alla clearance tardiva dell'infezione da HPV e persino alla gravità della CIN, suggerendo un possibile ruolo della composizione microbica nella carcinogenesi cervicale attraverso il potenziamento dell'infezione da HPV.**

# CLASSIFICAZIONE IN COMMUNITY STATE TYPES

CST I → *Lactobacillus crispatus*  
CST II → *L. gasseri*  
CST III → *L. iners*  
CST V → *L. jensenii*  
**CST IV** → priva di *Lactobacillus* spp.  
e invece arricchito con specie  
anaerobiche: *Gardnerella*,  
*Megasphaera*, *Sneathia* e *Prevotella*

VALENCIA: a nearest centroid classification  
method for vaginal microbial communities  
based on composition

France *et al. Microbiome* (2020) 8:166  
<https://doi.org/10.1186/s40168-020-00934-6>

CST I dominato da *L. crispatus* e include i sottotipi:

CST I-A almost completely *L. crispatus*

CST I-B les *L. crispatus* but still majority

CST II dominato da *L. gasseri*

CST III dominato da *L. iners*

CST III-A almost completely *L. iners*

CST III-B les *L. iners* but still majority

CST IV bassa presenza di lattobacilli e include i sottotipi:

CST IV-A contains a high to moderate relative abundance of  
BVAB1 and *G. Vaginalis*

CST IV-B contains a high to moderate relative abundance of *G.*  
*Vaginalis* and *A. vaginae*

CST IV-C contains a low relative abundance of *G. Vaginalis*,  
BVAB1, and *Lactobacillus* spp and include:

CST IV-C0 relatively even community with *Prevotella* spp

CST IV-C1 dominated by *Streptococcus* spp

CST IV-C2 dominated by *Enterococcus* spp

CST IV-C3 dominated by *Bifidobacterium* spp

CST IV-C4 dominated by *Staphylococcus* spp

CST V dominato da *L. jensenii*

## INTERAZIONI HPV-MV-HOST

Kyrgiou et al Transl Res. 2017 January ; 179: 168–182. doi:10.1016/j.trsl.2016.07.004.

CST I Effetto protettivo

CST III, CST IV B e VB favoriscono stati pro-infiammatori che causano danni ai tessuti e promuovono:

- l'espressione di E6/E7
- l'instabilità genomica
- l'integrazione virale
- progressione virale
- sviluppo di lesioni precancerose

**La mancanza di *L. crispatus* è stata associata all'aumento della gravità delle lesioni**

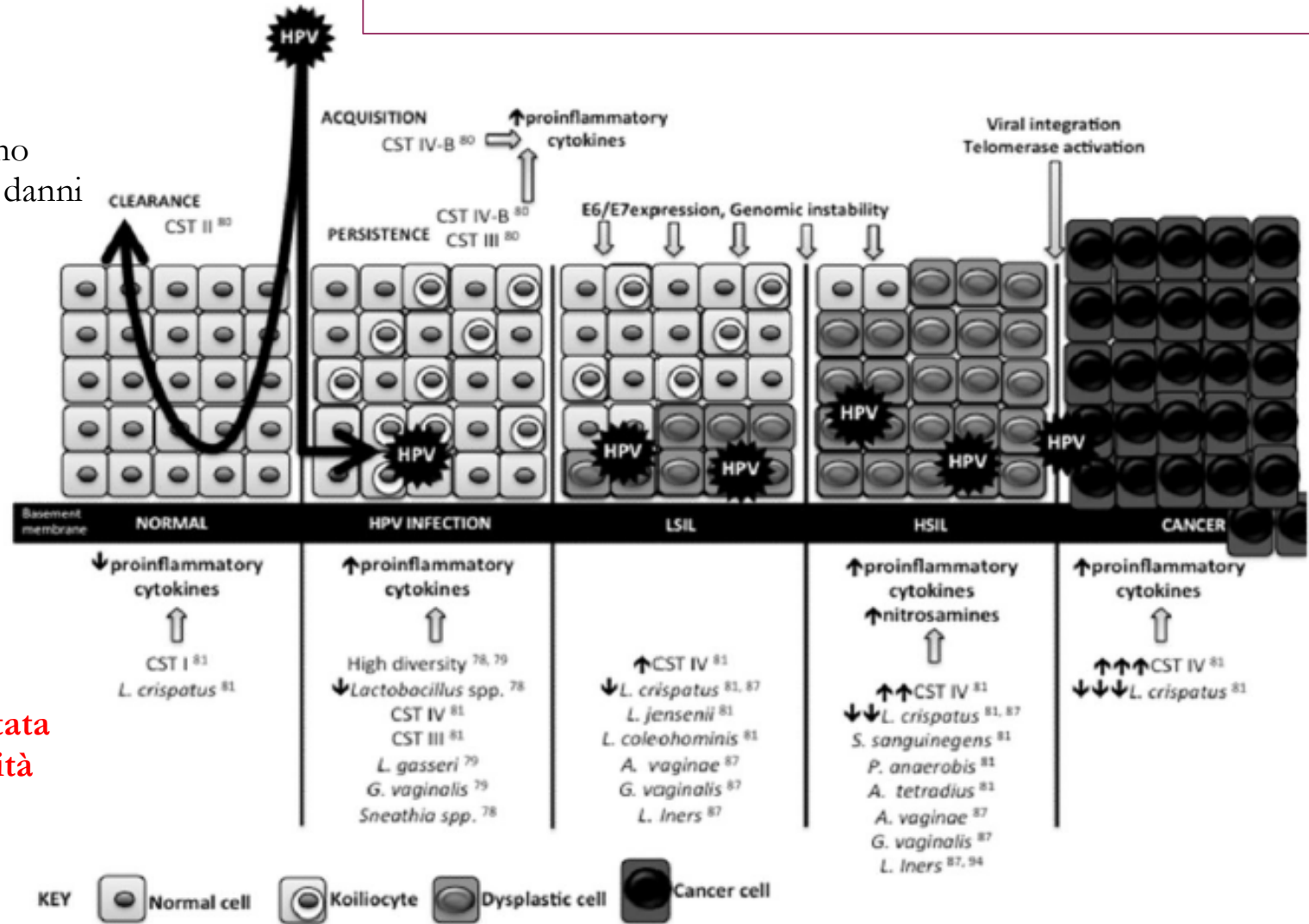


Table 1. The bacteria with the highest operational taxonomic units (OTUs) in each specimen.

HPV- Normal	HPV+ Normal	CIN 1	CIN 2 or 3	Cervical cancer
<i>Lactobacillus iners</i> (4)	<i>Lactobacillus crispatus</i> (4)	<i>Lactobacillus iners</i> (5)	<i>Lactobacillus iners</i> (3)	<i>Fusobacterium necrophorum</i> (2)
<i>Lactobacillus crispatus</i> (3)	<i>Lactobacillus iners</i> (1)	<i>Gardnerella vaginalis</i> (1)	<i>Gardnerella vaginalis</i> (1)	<i>Gardnerella vaginalis</i> (1)
<i>Gardnerella vaginalis</i> (1)	<i>Prevotella bivia</i> (1)	<i>Sneathia sanguinegens</i> (1)	<i>Sneathia sanguinegens</i> (1)	<i>Lactobacillus iners</i> (1)
<i>Lachnobacterium bovis</i> (1)	<i>Prevotella amnii</i> (1)	<i>Prevotella timonensis</i> (1)	<i>Escherichia fergusonii</i> (1)	<i>Escherichia fergusonii</i> (1)
<i>Nocardia coeliaca</i> (1)	<i>Prevotella timonensis</i> (1)	<i>Prevotella buccalis</i> (1)	<i>Porphyromonas somerae</i> (1)	<i>Lactobacillus crispatus</i> (1)
	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> (1)	<i>Corynebacterium vitaeruminis</i> (1)	<i>Atopobium vaginae</i> (1)	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> (1)
	<i>Elizabethkingia miricola</i> (1)		<i>Prevotella disiens</i> (1)	<i>Haemophilus pittmaniae</i> (1)
			<i>Porphyromonas uenonis</i> (1)	<i>Parvimonas micra</i> (1)
				<i>Peptoniphilus grossensis</i> (1)

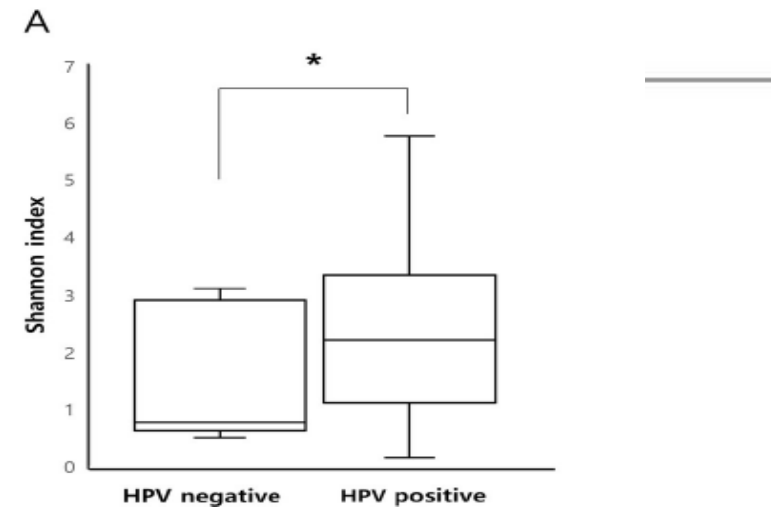
Kyeong A. So et al PLoS ONE 15(9): e0238705. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238705>

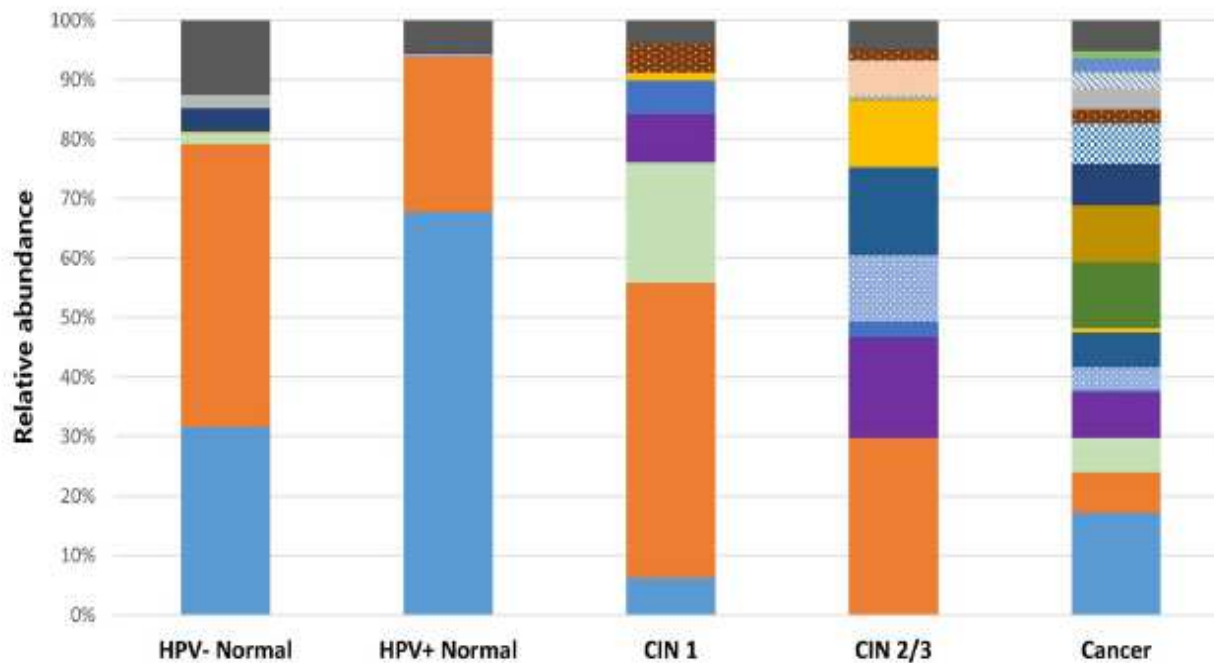
Studio condotto su 50 donne:

- No differenza nel numero di specie batteriche per HPV negativo rispetto a HPV positivo colpo negativa ( $p = 0,218$ )
- più specie batteriche in CIN e cancro cervicale rispetto a quello in HPV negativo normale ( $p = 0,039$ ).

• Alpha diversità

La differenza tra i gruppi HPV negativi e positivi era statisticamente significativa ( $p = 0,002$ )





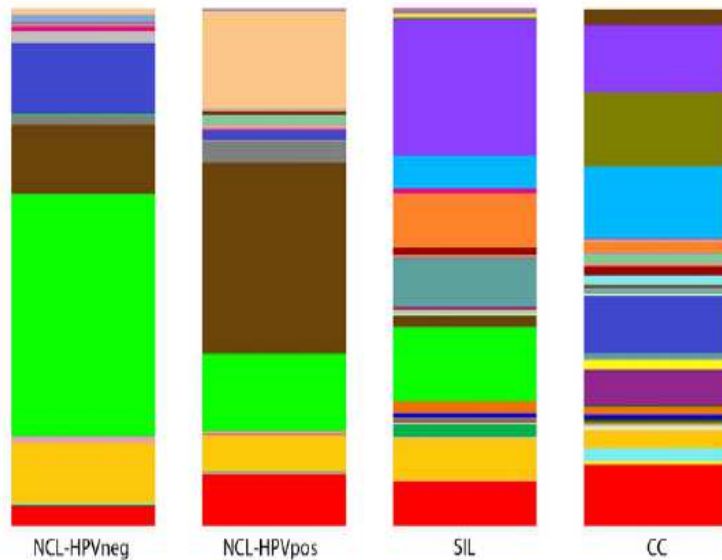
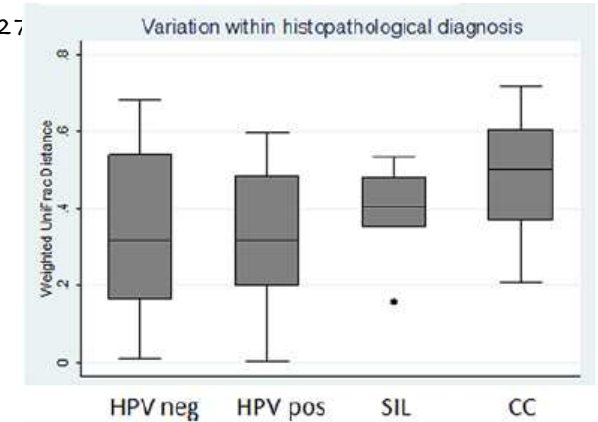
- Diversità del MV più alto nelle donne con CIN e cancro cervicale vs donne negative
- Arricchimento di batteri anaerobici Gardnerella vaginalis, Peptostreptococcus anaerobius e Porphyromonas uenonis in donne con CIN e cancro cervicale.
- Deplezione di L. Crispatus

Pertanto, esiste una forte associazione tra cambiamenti nel microbiota vaginale e persistenti.

L'infezione da HPV e il miglioramento dell'ambiente microbico vaginale ridurrebbe il rischio di sviluppare il cancro cervicale.

**Table 2. Distribution of samples in each community state type (CST).**

CST/Histopathological diagnosis	I (%)	II (%)	III (%)	IV (%)	V (%)	VI (%)	VII (%)	VIII (%)	Total
HPV-negative NCL	4(57)	1(14)	0	0	1(14)	1(14)	0	0	7
HPV-positive NCL	2(20)	4(40)	3(30)	0	1(10)	0	0	0	10
SIL	0	0	0	3(75)	0	0	0	1(25)	4
CC	0	0	0	2(25)	0	1(12)	2(25)	3(37)	8
Total	6 (21)	5 (17)	3 (10)	5 (17)	2 (7)	2 (7)	2 (7)	4 (14)	29



**Fig 2. Community compositions according to histopathological diagnosis groups.** Bar chart of relative abundance of species per group.

• Studio su 29 donne messicane

• Nessuna differenza nella  $\beta$  biodiversità tra donne HPV pos e neg senza lesioni; Aumento della biodiversità nelle SIL e nei CC

• CST I (*L. crispatus*) maggiormente rappresentato in donne HPV-negative senza lesioni cervicali

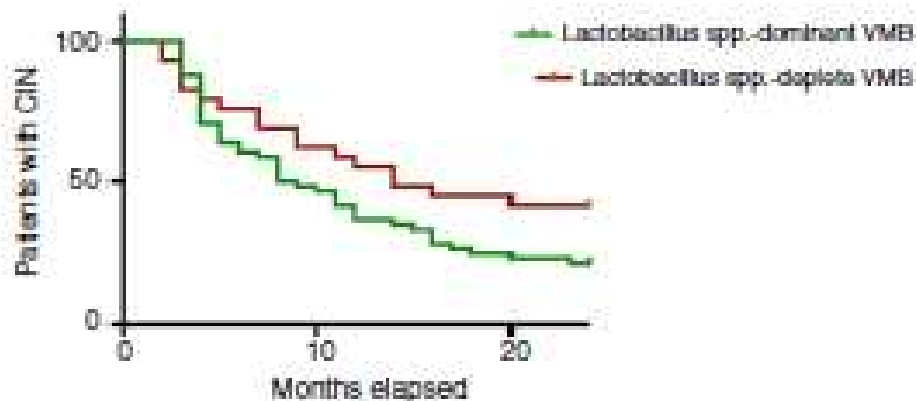
• CST I e III (*L. crispatus* e *L. iners*) maggiormente rappresentati in donne HPV-positive senza lesioni cervicali;

• CST IV maggiormente rappresentato nei casi di SIL;

• CST V (*L. jensenii*) era composto principalmente da donne senza lesioni cervicali indipendentemente dal loro stato di HPV;

• I casi di cervico carcinoma sono popolati prevalentemente da flora mista (Other), *Fusobacterium* spp e *F. necrophorum* e da *Sneathia* spp





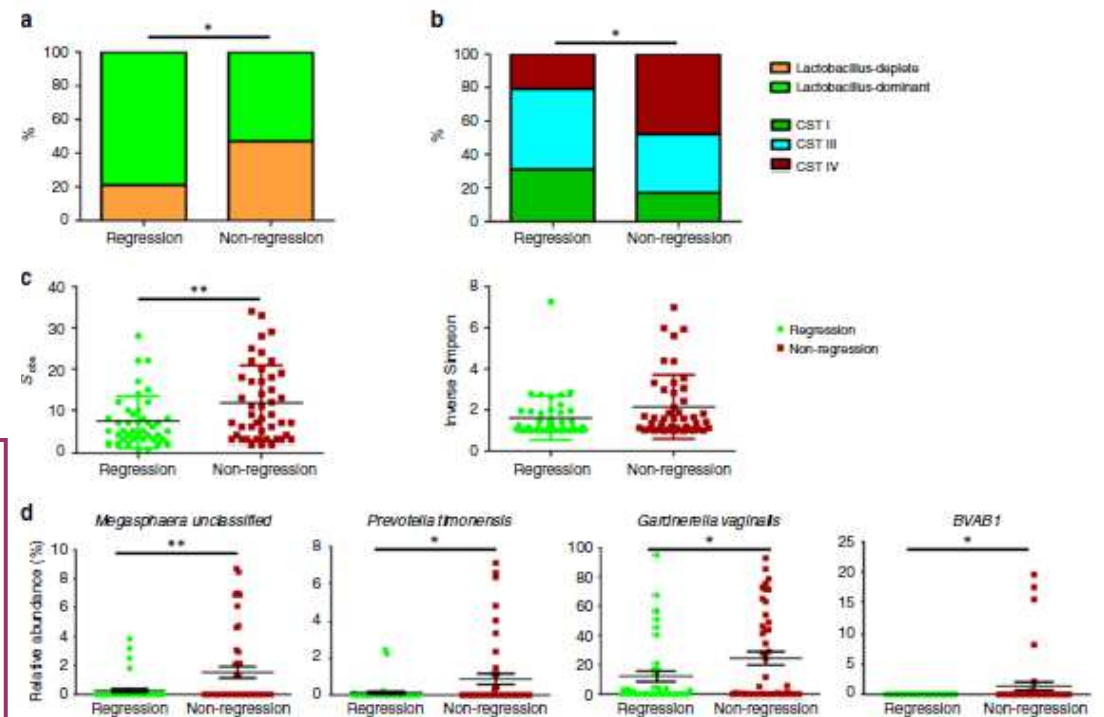
87 donne con CIN 2 istologicamente confermata al baseline con follow up a 12 e 24 mesi

Le donne con VMB a predominanza di *Lactobacillus* al baseline hanno una probabilità di regressione al follow-up di 12 mesi, rispetto a quelli con MV depleto di *Lactobacillus*

CST IV (rosso) era significativamente associato con non regressione rispetto alle donne con CST I.

Nessuna differenza significativa nei tassi di regressione a 12 mesi quando confrontando le donne con CST I e CST III.

Biodiversità batterica, determinata dal numero di specie osservato significativamente più alto nelle donne che non regrediscono rispetto a quelle che regrediscono



Regressione della malattia più lenta in donne con MV depleto di *Lactobacillus* spp. al baseline rispetto a donne con MV dominante di *Lactobacillus* spp. al momento di CIN2 diagnosi.

*Lactobacillus* spp. predittivo di regressione a 12 mesi mentre la non regressione è stata associata all'arricchimento di *Prevotella*, *Specie Megasphaera*, *BVAB1*, *Sneathia* e *Atopobium*

## CONCLUSIONI

Il microbioma vaginale può svolgere un ruolo funzionale (sia protettivo che dannoso) nell'acquisizione e nella persistenza dell'HPV e nel successivo sviluppo del cancro cervicale

La composizione del MV è diversa in donne con infezione da HPV vs donne con CIN e può influenzare la progressione o la regressione della CIN

MV Lactobacillus dominante al baseline hanno maggiori probabilità di avere una malattia regressiva a 12 mesi.

MV Lactobacillus spp. depleto e presenza di specie anaerobie (Megasphaera, Prevotella timonensis e Gardnerella vaginalis) sono associate alla persistenza di CIN2 e regressione più lenta.

Questi risultati suggeriscono che la composizione del VMB potrebbe essere a futuro biomarcatore utile nella previsione dell'esito della malattia e nell'adattamento della sorveglianza, anche se potrebbe offrire obiettivi razionali per lo sviluppo di nuove strategie di prevenzione e cura.

Questo potrebbe essere usato per la sorveglianza e per la selezione delle donne con diagnosi di CIN2 riducendo al minimo il sovratrattamento di lesioni destinate a regredire e consentendo lo sviluppo di modelli predittivi che potrebbero essere utilizzati per la stratificazione del rischio per guidare il processo decisionale clinico.

Inoltre, questo potrebbe aiutare lo sviluppo di bersagli terapeutici di modulazione VMB con **pre** o **probiotici** che potrebbero essere utilizzati per il trattamento e/o la prevenzione.

