

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TEHNOLOOGIATEADUSKOND
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT

Lehte Türk

Inimese papilloomiviiruse vastased vaktsiinid

Bakalaureusetöö

Juhendajad Liisi Võsa, *MSc*

Reet Kurg, *PhD*

TARTU 2015

Sisukord

SISSEJUHATUS	4
KIRJANDUSE ÜLEVAADE	5
1. HPV süstemaatika ja levik.....	5
2. HPV genoomi organisatsioon	5
3. HPV infektsioonitsükkel	7
4. HPV ja immuunsüsteem	9
5. HPV ja haigused	11
UURIMUSLIK OSA	14
1. Töö eesmärk	14
2. Metoodika.....	14
3. Kirjanduse analüüsi tulemused.....	14
3.1 Profülaktilised HPV-vastased vaktsiinid	14
3.1.1 Kliinilised uuringud	17
3.1.1.1 Gardasil	18
3.1.1.2 Cervarix.....	22
3.1.1.3 Gardasili ja Cervarixi võrdlevad uuringud.....	26
3.1.1.4 Gardasil 9 kliinilised uuringud	27
3.1.2 Profülaktiliste vaktsiinide edasiarendused	28
3.2 Terapeutilised HPV-vastased vaktsiinid	30
3.2.1 Nukleiinhappete baasil valmistatud vaktsiinid.....	30
3.2.2 Valkude ja peptiidide baasil valmistatud vaktsiinid.....	31
3.2.3 Elusvektorite baasil valmistatud vaktsiinid	32
3.2.4 Rakkude baasil valmistatud vaktsiinid	33
3.3 Vaktsineerimise seis Euroopas	34
3.4 HPV ja Eesti	35
4. Arutelu.....	39
KOKKUVÕTE	44
SUMMARY	46
KASUTATUD KIRJANDUS	47
KASUTATUD VEEBIAADRESSID	56
LIHTLITSENTS	57

KASUTATUD LÜHENDID

AAHS – amorfne alumiinium hüdroksüfosfaat sulfaat (*amorphous aluminium hydroxyphosphate sulphate*)

ATP – uuringuplaani järgides (*according-to-protocol*)

CIN – emakakaela intraepiteliaalne düsplaasia (*cervical intraepithelial neoplasia*)

HPV – inimese papilloomiviirus (*human papillomavirus*)

HSIL – kõrge astme lamerakuline intraepiteliaalne lesioon (*high-grade squamous intraepithelial lesion*)

ITT – ravikavatsus (*intention-to-treat*)

LCR – mittekodeeriv ala (*long control region*)

LSIL – madala astme lamerakuline intraepiteliaalne lesioon (*low-grade squamous intraepithelial lesion*)

TLR – Toll-sarnased retseptorid (*toll-like receptors*)

VLP – viiruselaadsed osakesed (*virus-like particles*)

SISSEJUHATUS

Inimese papilloomiviirus (HPV – *human papillomavirus*) on kaheahelalise rõngasmolekuliga DNA-viirus, mis nakatab inimese basaalkihi keratinotsüüte. HPV-d põhjustavad enamikel juhtudel naha epiteelkihtidel healoomulisi tüükaid, millest immuunsüsteem suudab enamasti ise jagu saada. Püsivama viirusinfektsiooni korral aga võib välja areneda vähk. Kõigil HPV tüüpidel ei ole võimet rakke transformeerida. Kõige onkogeensemateks loetake HPV tüüpe 16 ja 18, mis vastutavad rohkem kui 70% emakakaelavähi juhtumite eest. Emakakaelavähk on maailmas naiste seas kõigist vähkidest neljandal kohal nii esmajuhtude kui ka surmade poolest.

Murettekitavalt suur suremus emakakaelavähki on andnud tõuke HPV-vastaste vaktsiinide arendamiseks. Hetkel on turul kolm HPV-vastast vaktsiini, mis kõik on ennetava toimega – nendest on kasu indiviididele, kes ei ole veel vaktsiinis sisalduva HPV tüübiga nakatunud. Antud uurimus keskendubki peamiselt kolmele litsentseeritud vaktsiinile.

Käesoleva töö eesmärgiks on võrrelda kirjanduse põhjal turul olevate HPV-vastaste vaktsiinide efektiivsust, ohutust ja immunogeensust. Samuti annab töö ülevaate vaksineerimise mõjust populatsioonis ning räägib potentsiaalsetest profülaktilistest ja terapeutilistest tulevikuvaktsiinidest.

Töö on valminud Tartu Ülikooli Tehnoloogiainstituudis.

Märksõnad: HPV, vaktsiinid, emakakaelavähk, Cervarix, Gardasil

KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1. HPV süstemaatika ja levik

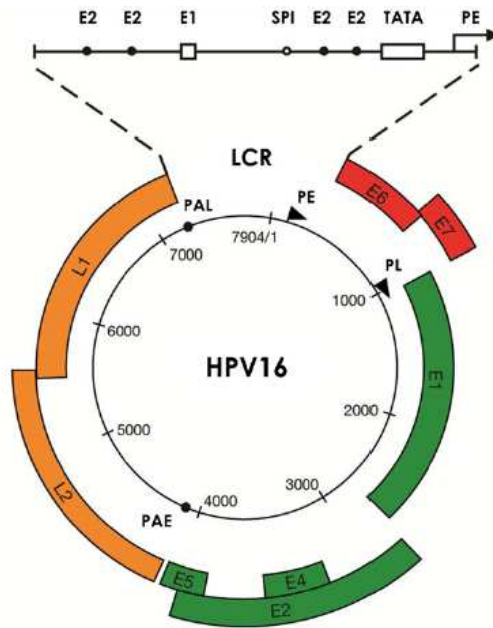
Inimese papilloomiviirused moodustavad suure ja eriilmelise viiruste grupi. Hetkel on kirjeldatud üle 150 erineva HPV tüübi ja pidevalt avastatakse uusi. Inimese PV-d võib jagada viide erinevasse perekonda: alfa-, beeta-, gamma-, müü- ja nüüpapilloomiviirused. Erinevasse perekonda klassifitseeritakse viirused, mille L1-kapsiidivalku kodeeriva nukleotiidjärjetuse sarnasus on väiksem kui 60%. Sama perekonna piires on erinevate PV liikide L1-nukleotiidjärjestuste sarnasus 60-70%. Uue papilloomiviiruse tüübi määramiseks peab see olema vähem kui 90% analoogne eelnevalt kirjeldatud tüüpidega (Forslund, 2007; Bzhalava *et al.*, 2013).

Alfapapilloomiviiruste perekond on kõige suurem, see sisaldab ühtlasi limaskesti nakatavaid HPV tüüpe, mis jaotatakse omakorda kõrge- ja madalariskilisteks, seda sõltuvalt sellest, kas nad põhjustavad vähki või mitte. Madalariskiliste inimese limaskesti nakatavate PV-de (nt HPV11 ja 6) infektsiooni tagajärjel areneb väga harva välja pahaloomuline kasvaja, enamasti põhjustavad nad ainult healoomulisi genitaalset tüükaid. Maailma Tervise Organisatsiooni (WHO – *World Health Organization*) sõnul kuulub vähkitekitavate HPV-de hulka 12 tüüpi - 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 ja 59. HPV16 vastutab ca 50% emakakaelavähi juhtude eest. Samuti võib eelmainitud gruppi lisada tüübid 68 ja 73, millel on tõenäoliselt vähkitekitavad omadused. (Doorbar, 2006; Doorbar *et al.*, 2012).

Beetapapilloomiviiruste perekonda kuuluvad nahapapilloomiviirused, mida seostatakse eelkõige nahapealsete kolletega, kuid mis nõrgenenud immuunsüsteemiga indiviididel võivad kaasa aidata nahavähi tekkele. Gamma-, nüü- ja müüpapilloomiviiruste perekonda kuuluvad healoomulisi tüükaid põhjustavad nahapapilloomiviirused (Doorbar, 2006).

2. HPV genoomi organisatsioon

Papilloomiviiruste genoomiks on kaheahelaline DNA rõngasmolekul, mis paikneb ikosaeedrilise kapsiidi sees. Viiruse kesta moodustavad kapsiidivalgud L1 ja L2, millest esimene on HPV kapsiidi peamine struktuurkomponent. Kuigi genoomi suurus sõltub suuresti HPV tüübist, siis tavaliselt koosneb see ligikaudu 8000 aluspaarist ja kodeerib kaheksa kuni üheksa avatud lugemisraami. Joonisel 1 on välja toodud HPV genoomi struktuur HPV16 näitel. HPV genoom koosneb varajasest ja hilisest kodeerivast alast ning mittekodeerivast regioonist (LCR - *long control region*) (Doorbar, 2006).



Joonis 1. HPV16 genoomi organisatsioon. Viiruse genoom on joonisel kujutatud musta joonena ning sellel on märgitud viiruse varajane (PE) ja hiline (PL) promootor ja varajane (PAE) ja hiline (PAL) polüadenüleerimissait. Joonise ülemises osas on välja toodud viiruse LCR-järjestus ning sellel paiknevad seondumissaidid. Värviliste kastidena on joonisel toodud viiruse genoomil paiknevad lugemisraamid. (Doorbar *et al*, 2012).

Varajane kodeeriv ala sisaldab kuue valgu (E1, E2, E4, E5, E6 ja E7) avatud lugemisraami. E1 valk omab DNA helikaasest ja ATPaasest aktiivust – see katalüüsib DNA molekuli lahtiharutamist ja värbab peremeesraku replikatsioonimehhanismid viiruse kasuks tööd tegema. E2

valk on vajalik DNA replikatsiooniks ja genoomseks segregatsiooniks. E2 moodustab kompleksi E1 valguga, mis aitab viimasel efektiivsemalt DNA *ori* piirkonnaga seonduda. Lisaks võib E2 käituda madalates kontsentratsioonides transkriptsiooni aktivaatorina, kõrges kontsentratsioonis aga vastupidiselt inhibeerib seda protsessi. Raku diferentseerumisel suureneb E1 ja E2 valkude hulk nakatunud rakus märgatavalt (Hughes *et Romanos*, 1993; Doorbar, 2006).

E6 ja E7 on viiruslikud onkovaalud. Normaalse infektsiooni käigus on E6 ja E7 geenide transkriptsioon E2 valgu kontrolli all ja ei põhjusta vähki. Juhul kui raku normaalne diferentseerumine häirub, siis aitavad pahaloomulistele muutustele kaasa just E6 ja E7. E7 seondub muuhulgas pRb (retinoblastoom) valguga ja viib rakutsükli S-faasi, kus toimub replikatsioon. E6 valk seondub p53-ga põhjustades kasvaja supressorvalgu degradatsiooni.

Selle peamiseks eesmärgiks on ära hoida raku kasvu peatamine ning viimine apoptoosi. Samuti aitavad HPV onkovaalgu viirusel märkamatu immuunvastusest kõrvale hiilida (Doorbar, 2006).

E4 roll pole veel täpselt teada. See valk koguneb rakku viiruse genoomi amplifikatsiooni ajal, E4 puudumisel aga ilmnevad mitmed häiringud. Valk E5 ekspresseerub diferentseeruvates rakkudes, see mõjutab MHC I klassi valke BAP31 seondumise kaudu (Doorbar, 2006; Regan *et* Laimins, 2008).

Hilised mRNA-d kodeerivad kahte viiruse kapsiidi valku – L1 ja L2. Antud valke transkribeeritakse ainult ülemistes kõrgelt diferentseerunud epidermisekihtides. Kapsiidivalgude ekspressiooniga kaasneb ühtlasi suure hulga viirusliku DNA süntees, mis kindlustab selle, et saaksid tekkida uued infektsioonilised virionid, mis levivad välisesse keskkonda loomuliku naharakkude koorumise protsessi tulemusel (Pang *et* Thierry, 2013).

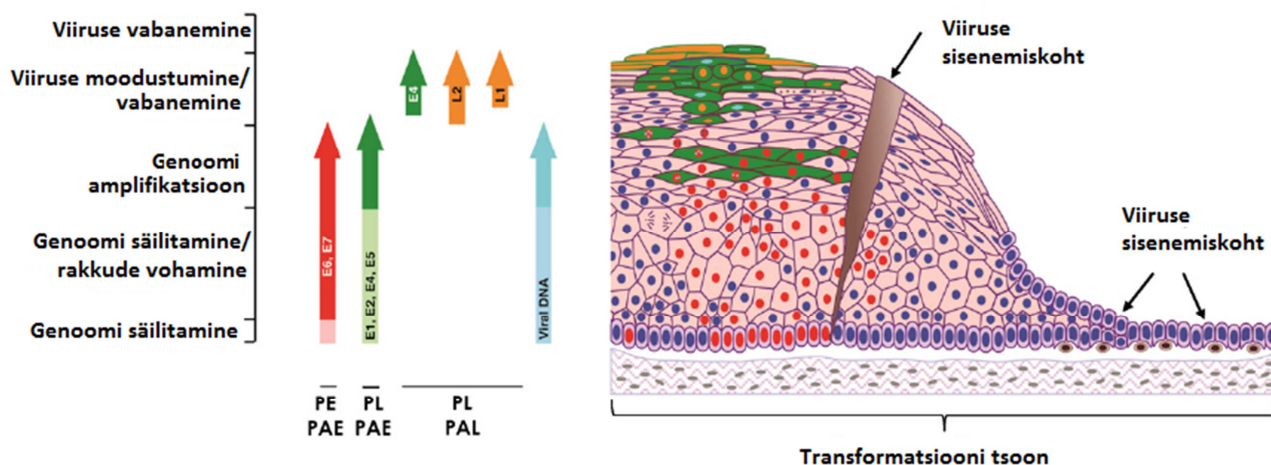
LCR on HPV genoomi osa, milles ei ole ühtegi avatud lugemisraami. See aga sisaldab arvukalt *cis*-regulaatorseid elemente, mis mõjutavad HPV replikatsiooni ja transkriptsiooni. LCR-i suurus moodustab kogu genoomist 7-9%, sõltuvalt HPV tüübist. LCR piirkonnas paiknevad replikatsiooni alguskoht, varajane promooter ning transkriptsioonifaktorite seondumiskohad (O'Connor *et al.*, 1995).

3. HPV infektsioonitsükkel

Papilloomiviirus on koespetsiifiline – see nakatab ainult epiteelkihi basaalmembraanil paiknevaid keratinotsüüte. Joonisel 2 on toodud HPV infektsioonitsükli skeem. HPV pääseb organismi naha mikrohaavandite kaudu. Senini ei ole täpselt teada viiruse raku sisenemise mehhanismid. Arvatavasti seondub viirus raku pinnal olevate heparaansulfaat proteoglykaanidega. Võimalik, et viirus vajab sisenemiseks ka sekundaarseid retseptoreid – α -integriine. Ka edasised protsessid ei ole kõigil HPV-del ühised ning teada. Näiteks HPV16 kasutab rakumembraani läbimiseks klatriinide vahendatud endotsütoosi, HPV31 kaveoole (Doorbar, 2006).

Raku sisenemise järgselt lagunevad HPV partiklid hilistes endosoomides ja/või lüsoosoomides ning seejärel liigub viiruslik DNA L2 valgu kaasabil rakutuuma, kus HPV DNA eksisteerib episoomina. Viiruse elutsükli esimene staadium – esialgne amplifikatsioon – toimubki basaalmembraani keratinotsüütides. Selles staadiumis viiruse genoomi koopiaarv suureneb 20-200-ni ning jääb seejärel rakkudes stabiilselt püsima. Basaalkihi rakkudes vajab HPV ainult kahte varajast valku, E1 ja E2, mis käivitavad viiruse replikatsiooni. E1 valku ekspresseeritakse väga väikeses koguses, mistõttu vajab antud valk E2 juuresolekut, et

efektiivsemalt replikatsiooni alguspunkti seonduda. E2 valgu ülesandeks on ühtlasi tagada, et tütrakkudesse satuks võrdses koguses viiruslikku DNA-d – selleks ankurdam E2 viiruse episoomid mitootilistele kromosoomidele. Basaalkihi rakkudes toimub viiruse genoomi replitseerumine samaaegselt raku DNA-ga (Doorbar, 2006; Doorbar, 2012).



Joonis 2. Kõrgeriskilise HPV infektsioonitsükkel emakakaela epiteelkihis. HPV vajab mikrohaavandi olemasolu, et pääseda läbi mitmekihilise epiteeli basaalmembraani keratinotsüütidesse. Basaalkihi keratinotsüütides säilitatakse viiruse genoomi koopiate arv madalal tasemel. Raku jagunemise järgselt hakkab üks tütrakkudest liikuma epiteelkihi pinna poole. Migratsiooni alguses ekspresseeritakse palju valke E6 ja E7, mis peatavad apoptoosi ning kindlustavad rakkude jagunemise. Keskmistes kihtides toimub viiruse genoomi amplifikatsioon ja seal ekspresseeritakse valku E4. Ülemistes epiteelikihtides lõpetab rakk jagunemise ning E4 positiivsetes rakkudes toodetakse kapsiidivalke L1 ja L2, et moodustuksid infektsioonilised virionid. (PE) viiruse varajane promootor; (PL) hiline promootor; (PAE) varajane polüadenüleerimissait; (PAL) hiline polüadenüleerimissait (Doorbar *et al.*, 2012).

Raku jagunemise järgselt lahkub üks keratinotsüütidest basaalmembraanilt ja normaaljuhtudel alustab diferentseerumist ning lõpetab raku jagunemise. HPV aga kasutab oma genoomi paljundamiseks peremeesraku replikatsioonisüsteemi, mistõttu on viiruse jaoks oluline, et raku toimused jagunemisprotsessid edasi. Sellele aitavad kaasa viiruslikud onkovalgud E6 ja E7. E7 seondub muuhulgas nii pRB-ga kui ka teiste peremeesraku valkudega (histoon deatsetülaasid, AP1, p21 ja p27) ja soodustab seeläbi rakkude vohamist. Valk E6 aga täiendab E7 funktsioone. E6 peamine sihtmärk on p53, aga see seondub ka teiste

pro-apoptoosiliste valkudega nagu Bak ja Bax, mistõttu sekundaarsed mutatsioonid jäävad tähelepanuta ja kuhjuvad rakus (Doorbar, 2006; Stubenrauch *et* Laimins, 1999).

Arvatavasti mõjutab hiliste sündmuste käivitamist keskkonnatingimuste muutumine, kui diferentseeruv rakk liigub epiteelkihi pinnale lähemale. Vegetatiivne replikatsioon toimubki epiteelkihi ülemises osas, kus leiab aset genoomi amplifikatsioon ning viiruse genoomi koopiate arv tõuseb umbes 1000-ni. Selles staadiumis osalevad lisaks juba mainitud varajastele valkudele ka E4 ja E5. E5 ülesandeks on säilitada viiruse replikatsiooniks sobilik keskkond (seondub vakuolaarse prooton ATPaasiga). E4 valgul on võime seonduda E2-ga ja moodustada E2-E4 komplekse (Doorbar, 2006).

Pärast amplifikatsiooni akumulereuvad rakus hilised valgud L1 ja L2. Viirusosakeste moodustumiseks on vajalik ka E2 – see võimendab virionide pakkimise efektiivsust. L2 valk suundub C- ja N-terminaalsetes otstes paiknevate tuuma lokalisatsiooni signaalide vahendusel tuuma. L1 valgud assambleeruvad kapsomeerideks tsütoplasmas ja alles seejärel liiguvad tuuma ning seonduvad L2-ga. L2 ei ole viiruse kapsiidi moodustumiseks hädavajalik, kuid selleta on viiruse genoomi kapsiidi pakkimine vähem efektiivne. Valk E4 aitab arvatavasti uutel virionidel rakust vabaneda – see lõhub keratiinivõrgustiku ja mõjutab sarvkihi struktuuri (Doorbar, 2006; Doorbar, 2012).

Kergete muutustega kollete korral toimuvad emakakaela epiteelkihis produktiivsele infektsioonile sarnased sündmused. Kõrgema astme haiguskolletes kestab HPV põhjustatud rakkude vohamine pikemat aega ning HPV genoomi amplifikatsioon toimub epiteelkihi pinnale lähemal. Pea kõikide emakakaelavähi juhtude korral on viiruse genoom integreerunud peremeesraku genoomi, mistõttu on kaduma läinud varajased valgud E1, E2 ja E4. E2 üheks olulisimaks ülesandeks on aga hoida kontrolli all E6 ja E7 ekspressiooni. Samuti on täheldatud, et kõrgeriskiliste HPV tüüpide E7 valgud seonduvad suurema afiinsusega pRb-ga (madalariskiliste HPV-dega võrreldes). Emakakaelavähk areneb eelkõige välja just sellepärast, et onkogeensete valkude üleekspressiooni tõttu sisenevad rakud pidevalt S-faasi ning p53-vahendatud mutatsioonide parandamist ei toimu ja need kuhjuvad (Doorbar, 2006; Bodily *et* Laimins, 2010).

4. HPV ja immuunsüsteem

Inimese papilloomiviirus on väga efektiivne patogeen – ta suudab eksisteerida organismis nii, et jääb immuunsüsteemile peaaegu märkamatuks. Selleks on HPV välja arendanud mitmed mehhanismid (Stanley, 2008).

HPV kodeerib valke, mis ei satu väljaspoole nakatunud rakku. Veel enam, viiruslikud valgud lokaliseeruvad enamasti ainult tuumas ja neid ekspresseeritakse väga madalal tasemel. Sellele aitab kaasa viiruse E2 valk, mis muuhulgas käitub viiruslike mRNA-de transkriptsiooni repressorina. Samuti kasutab viirus ära geenetilise koodi mitmekesisust – koodonid HPV genoomis erinevad imetajate omadest. Viirusvalkude võimendatud ekspressioon toimub ainult epidermise ülemistes kihtides, kuhu immuunsüsteemi mõju tavaliselt ei ulatu (Grabowska *et Riemer*, 2012).

HPV elutsükkel on seotud epiteelirakkude diferentseerumisega. See tähendab, et viiruse paljunemine ja uute viirusosakeste kokkupanek toimub rakkudes, mis lõpuks nagunii surevad. Viirus ise ei kutsu esile ei tsütolüüsi ega ka nekroosi, mistõttu ei teki põletikku ja välja ei saadeta ohusignaale. Seetõttu võib välja kujuneda krooniline nakkus, kuna peremees võib pikka aega olla teadmatutes patogeeni olemasolust (Stanley, 2008).

Keratinotsüüdid ekspresseerivad mitmeid Toll-sarnaseid retseptoreid (TLR - *Toll-like receptors*), mis võivad paikneda rakupinnal või endosoomides. TLR-id tunnevad ära patogeenidega seotud spetsiifilisi mustreid. Viirusinfektsiooni korral aktiveeruvad vastavad retseptorid ja rakud hakkavad tootma tsütokiine, mis omakorda aktiveerivad antigeeni esitlevad rakud – Langerhansi rakud. Viimased migreeruvad lümfisõlme ja esitlevad antigeeni naivsetele T-rakkudele. Kuna HPV infektsiooni ajal põletikku soodustavaid tsütokiine ei toodeta, siis suudab viirus ka sellest kaitsemehhanismist kõrvale hiilida (Stanley, 2008; Stanley, 2005).

Interferoonid (eelkõige IFN- α , IFN- β) vahendavad infot kaasasündinud ja omandatud immuunsüsteemi vahel. Need valgud osalevad rakusiseses kaitses, stimuleerides immuunsüsteemi ja takistades rakkude vohamist. Suurem osa DNA-viiruseid inhibeerib interferoonide sünteesi, inimese papilloomiviirus ei ole mingi erand. Kõrgeriskilised HPV-d suruvad maha IFN- α geeniekspressiooni ning HPV16 onkoproteiinid E6 ja E7 seostuvad interferoonide signaalradade komponentidega (Stanley, 2008; Amador-Molina *et al.*, 2013).

Kõigist nendest strateegiatest hoolimata suudab organism aja jooksul HPV-st lahti saada ja ainult vähestel juhtudel areneb välja pahaloomuline kasvaja. Anogenitaalsed tüükad ja madalaastmelised intraepiteeliaased düsplaasiad kõrvaldatakse edukalt rakkude vahendatud immuunvastuse abil, mis on eelkõige suunatud varajaste viirusvalkude E2 ja E6 vastu. Patogeeni elimineerimisele organismist aitavad kaasa ka neutraliseerivad antikehad, mis tunnevad ära L1 kapsiidivalkude epitoobid. Siiski ei ole taoliste antikehade kontsentratsioon organismis väga kõrge, sest HPV ei satu vereringesse (Stanley, 2008; Stanley, 2006).

5. HPV ja haigused

Inimese papilloomiviirused nakatavad eelistatult inimese naha, anogenitaalse piirkonna või suu limaskesta diferentseeruvat lameepiteeli. Beeta-HPV-sid loetakse madalariskilisteks ja need põhjustavad kergestihõõrduvatel kehaosadel (küünarnukid, käed, põlved) erinevaid healoomulisi tüükaid ja sõlmekesi. Nahapealsed tüükad on eriti levinud laste ja noorukite seas. Näiteks algkoolilaste seas on harilike tüügaste (*verrucae vulgaris*) levimus 33%, täiskasvanute hulgas aga ainult 3,5%. Nende ravis kasutatakse efektiivselt salitsüülhapet, kuiva jääd või vedelat lämmastikku. Harvadel juhtudel võivad aga beeta-HPV-d vastutada raskekujulise *epidermodysplasia verruciformis*-e (EV) väljakujunemise eest. EV on pärilik nahahaigus, mida iseloomustab inimese tavapärasest kõrgem vastuvõtlikkus erinevatele beeta-HPV-dele. Haiguse algpõhjuseks loetakse mutatsiooni 17. kromosoomi EVER1 või EVER2 geenis. Immuunpuudulikkusega inimestel (sh EV patsientidel) põhjustab HPV mittemelanoomset nahavähki. HPV-ga seostatud nahavähk on oma olemuselt lamerakuline - see areneb välja keratinotsüütidest. (Cubie, 2013; Cardoso et Calonje, 2011).

Anogenitaalseid limaskesti nakatavad HPV-d kuuluvad enamasti alfapapilloomiviiruste perekonda. Need põhjustavad nii kergemaloomulisi kondüloome kui ka vähki. Kondüloomid on enimlevinud suguhaigus, mille tekkimise eest vastutavad 90% juhtudel HPV tüübid 6 ja 11. Kondüloomid esinevad enamasti välistel suguelunditel või pärakupiirkonnas nii naistel kui ka meestel. Need võivad taanduda iseenesest. Ravis kasutatakse külmutamist, põletamist, laserravi või kirurgilist eemaldamist (Cubie, 2013). Ravi käigus küll eemaldatakse tüükad, kuid HPV jääb endiselt organismi, mistõttu umbes 50-73% juhtudest võivad kondüloomid taasilmneda [7]. Patel *et al* läbiviidud uuringust järeldus, et keskmiselt esineb aastas 100 000 inimese kohta 194,5 uute ja taasesinevate kondüloomide juhtu, meeste ja naiste seas on anogenitaalsete tüügaste esinemine võrdväärne (Patel *et al.*, 2013).

Inimese PV-d 6 ja 11 põhjustavad tüükaid ka suu limaskestadel, mistõttu võib näiteks välja areneda respiratoorne papillomatoos (RRP – *recurrent respiratory papillomatosis*). RRP võib osutada eluohtlikuks, sest neelus asuvad kolded võivad blokeerida hingamisteed. Haigust esineb rohkem lastel, kes nakatuvad sündimisel või emakas, saades viiruse emalt. Lisaks vastutavad mõned HPV tüübid pea- ja kaelavähkide väljakujunemise eest (Cubie, 2013).

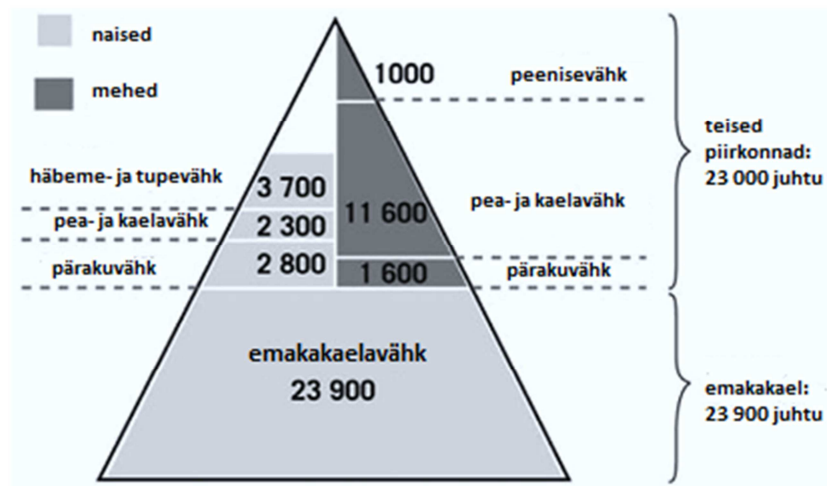
Kuigi lausa 80% naistest omandavad millalgi oma elu jooksul HPV infektsiooni, siis ca 70%-il neist taandub nakkus immuunsüsteemi kaasabil esimese aasta jooksul ja 90% kahe aasta jooksul. Vähestel juhtudel jäävad HPV-d aga püsima ning võivad seejärel põhjustada vähieelseid seisundeid või halvimal juhul vähki. HPV-d põhjustavad emakakaela-, häbeme-,

tupe-, peenise-, päraku ja suuõõnevähki. Päraku- ja emakakaelavähk on sagedasemad, sest mõlemas piirkonnas paikneb viirustele vastuvõtlik transformatsioonitsoon (Cubie, 2013). Transformatsioonitsoon on piirkond neonataalse ekso- ja endotserviksi ühenduspiiri ning puberteedijärgse silinder- ja lameepiteeli ühenduspiiri vahel, mida iseloomustab metaplastiline epiteel. Transformatsioonitsoon on ebastabiilne ja vastuvõtlikum näiteks erinevatele viirusinfektsioonidele (Padrik *et al*, 2007)

Emakakaelavähki põhjustavad peamiselt HPV16 (50%) ja HPV18 (20%). Emakaelavähki ja selle eelseid seisundeid võib mitmel erineval viisil klassifitseerida. 90% juhtudest on emakakaelavähi puhul tegu lamerakulise vähiga (SCC - *squamous cell carcinoma*), ülejäänutel juhtudel vähiga, mis areneb välja näärmeepiteelist ehk adenokartsinoomiga (AC - *adenocarcinoma*). SCC algab transformatsioonitsoonist, AC aga emakakaelakanalist, seetõttu on seda ka raskem tuvastada, kuna proovide võtmine osutub keeruliseks (Schottenfeld *et Fraumeni*, 2006).

Vähieelsete seisundite tuvastamiseks viiakse läbi Papanicolaou test ehk Pap-test või histoloogiline uuring. Pap-test on tsütoloogiline uuring, mille käigus võetakse naise tupevõlvilt, emakasuudmest või emakakaelakanalist sondi/harjaga rakke, mida hiljem töödeldakse laboratoorselt, et diagnoosida viirusinfektsioone, kasvajaelseid seisundeid või vähki. Meetodi töötas välja kreeka arst George Papanicolau ja selle esmaesitlus toimus aastal 1941. 1990ndatel aastatel, kui leiti kindel seos emakakaelavähi ja HPV vahel, hakati vastavat testi laiaulatuslikumalt kasutama. Emakakaela intraepiteeliaalne neoplaasia (CIN - *cervical intraepithelial neoplasia*) jaotatakse raskusastme põhjal: CIN I – nõrk ehk kerge düsplaasia, CIN II – mõõdukas ehk keskmine düsplaasia ja CIN III – tugev ehk väljendunud düsplaasia. Histoloogilise uuringu põhjal on vähieelne seisund madala astme lamerakuline intraepiteeliaalne lesioon (LSIL - *low-grade squamous intraepithelial lesion*) või kõrge astme lamerakuline intraepiteeliaalne lesioon (HSIL – *high-grade squamous intraepithelial lesion*) (Padrik *et al*, 2007; DeMay, 2007).

2012. aastal tuvastati maailmas 528 000 uut emakakaelavähki esmajuhtu. Emakakaelavähk oli naiste seas levimuselt neljas. Haigestumus 100 000 naise kohta oli kõige madalam Austraalias/Uus-Meremaal (5,5) ning kõige kõrgem Ida- ja Kesk-Aafrika piirkondades (42,7). Joonisel 3 on välja toodud HPV poolt põhjustatud erinevate vähkkasvajate esinemine Euroopas ühe aasta jooksul nii naiste kui ka meeste seas.



Joonis 3. HPV16/18-ga seotud vähijuhud Euroopas ühe aasta lõikes (Bonanni *et al.*, 2011).

Ca 85% emakakaelavähi esmajuhutudest esines arengumaades (12% kõigist naiste seas levinud vähkidest). Samal aastal suri emakakaelavähki 266 000 inimest; peaaegu 9/10 surmajuhutudest esines vähemarenenud riikides (87%) [5]. Kõrge emakakaelavähi juhtumite arv arengumaades tuleneb sellest, et nendes riikides puuduvad laiaulatuslikud ennetavad sõeluuringute programmid, mis arenenud maades on märkimisväärselt vähendanud sellesse vähki suremust. Suuresti võib suremuse vähenemise kirjutada Pap-testi arvele (Singh *et al.*, 2012).

Emakakaelavähi peamisteks riskiteguriteks on suitsetamine, pikaajaline suukaudsete rasestumisvastaste vahendite kasutamine ja varane suguelu alustamine. See-eest kondoomide kasutamine vähendab inimese PV-infektsiooni riski, kuigi täielikult seda ära ei hoia, kuna HPV levib ikkagi nahakontakti kaudu. Ka on täheldatud, et immuunpuudulikkusega inimestel (AIDSi haiged, transplantatsiooni patsiendid) esineb rohkem HPV-infektsioone ning nende puhul on suurem võimalus, et viirus jääb organismi püsima ja areneb välja vähk. Emakakaelavähi raviviisid jagunevad kolmeks: keemia- ja kiiritusravi ning kasvaja kirurgiline eemaldamine. Samuti on turule jõudnud kolm HPV-vastast vaktsiini, kuid need on ainult ennetava toimega (Schottenfeld *et Fraumeni*, 2006).

UURIMUSLIK OSA

1. Töö eesmärk

HPV on meditsiini seisukohalt väga oluline viirus, kuna see põhjustab erinevaid vähi-eelseid seisundeid ja vähki. Konkreetselt HPV tüübid 16 ja 18 vastutavad rohkem kui 70% emakakaelavähi juhtude eest. Suur haigestumus ja suremus emakakaelavähki on olnud peamiseks ajendiks kolme profülaktilise HPV-vastase vaktsiini väljaarendamiseks.

Antud töö eesmärgiks on

- 1) analüüsida ja võrrelda turul olevate profülaktiliste HPV-vastaste vaktsiinide efektiivsust, immunogeensust ja ohutust
- 2) analüüsida ja anda ülevaade profülaktiliste vaktsiinide võimalikest edasiarendustest
- 3) analüüsida ja anda ülevaade terapeutilistest vaktsiinidest
- 4) analüüsida ja anda ülevaade vaktsiini mõjust populatsioonis

2. Metoodika

Antud töö põhineb internetist ja artiklitest pärit materjalil. Peamiselt on kasutatud EBSCO Discovery andmebaasist leitud Cervarixi, Gardasili ja Gardasil 9 kliiniliste uuringute artikleid. Ülevaatlikke artikleid on kasutatud enamasti kirjanduse ülevaates ja erinevates sissejuhatustes. Peamised otsitavad fraasid olid Cervarix, Gardasil, Gardasil 9, *cervical cancer*, HPV ja HPV *therapeutic vaccines*. Statistilised andmed pärinevad suuremas osas Tervise Arengu Instituudi ja GLOBOCAN 2008/2012 andmebaasidest.

3. Kirjanduse analüüsi tulemused

3.1 Profülaktilised HPV-vastased vaktsiinid

Suur suremus HPV poolt põhjustatud haigustesse on tekitanud vajaduse papilloomiviiruse-vastaste vaktsiinide järele. Praegusel hetkel on turul kolm rahvusvaheliselt heakskiidetud vaktsiini – Cervarix, Gardasil ja Gardasil 9, mille omavaheline võrdlus on toodud tabelis 1. Kõik nimetatud vaktsiinid on valmistatud viiruse puhastatud L1 kapsiidivalkudest rekombinantse tehnoloogia abil. HPV L1 geenide *in vitro* ekspressiooni tagajärjel assambleeruvad antud valgud viiruselaadseteks osakesteks (VLP – *virus-like particles*) ja need kutsuvad organismis esile neutraliseerivate antikehade tekke suurel kontsentratsioonil. VLP-d sarnanevad morfoloogiliselt ja antigeensete omaduste poolest natiivsele HPV virionile. Siiski on need mitteinfektsioonilised (puudub viiruslik DNA), kuid

sellele vaatamata väga immunogeensed. Kuigi VLP-d juba üksinda kutsuvad esile suure hulga antikehade moodustumise, vajavad need siiski lisakomponente, et saavutada maksimaalne immunogeensus. Selleks lisatakse HPV-vastastele vaktsiinidele adjuvante – immuunvastust võimendavaid aineid. Kõik VLP-baasil valmistatud vaktsiinid on formuleeritud alumiiniumsooladega (Pandhi *et Sonthalia*, 2011; Govan, 2008; Lua *et al.*, 2013; [4]).

Tabel 1. Hetkel saadavalolevate HPV vaktsiinide võrdlus (Schiller *et al.*, 2012; [4]).

	Gardasil	Cervarix	Gardasil 9
tootja	Merck	GlaxoSmithKline	Merck
VLP-de tüübid	6/11/16/18	16/18	6/11/16/18/31/33/45/52/58
L1 valgu kogused	20/40/40/20 µg	20/20 µg	30/40/60/40/20/20/20/20/20 µg
ekspressioonisüsteem	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Trichoplusia ni</i> Hi-5 putuka rakkude liin nakatatud L1 rekombinantsete baculoviirustega	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
adjuvant	225 µg AAHS	500 µg AS04	500 µg AAHS
süstide manustamise ajakava	0., 2. ja 6. kuul	0., 1. ja 6. kuul	0., 2. ja 6. kuul
sihtgrupp	9-26-aastased	9-25-aastased	16-26-aastased

Gardasil ja Cervarix on olnud turul vastavalt alates aastast 2006 ja 2009. 2014. aasta lõpus lisandus neile kolmas profülaktiline HPV-vastane vaktsiin – Gardasil 9. Kahevalentne Cervarix vaktsiin koosneb võrdses koguses kahe HPV tüübi HPV16 ja 18 L1 valkudest. Lisaks eelnevatele onkogeensetele tüüpidele pakub neljavalentne Gardasil kaitset ka HPV6 ja 11 eest, mis põhjustavad 90% kondüloomidest. Hiljuti litsentseeritud üheksavalentne Gardasil 9 sisaldab lisaks veel viie enimlevinud onkogeense tüübi VLP-sid. Nendeks on HPV31, HPV33, HPV45, HPV52 ja HPV58. Kuna Gardasili ja Gardasil 9 vaktsiine toodab sama firma, siis sellest tulenevalt kasutatakse mõlema vaktsiini puhul ka sama adjuvanti – amorfset alumiinium hüdroksüfosfaat sulfaati (AAHS – *amorphous aluminum hydroxyphosphate sulfate*). Erinevus on ainult kogustes – Gardasilis on AAHS-i 225 µg, Gardasil 9-s 500 µg. Cervarix kasutab aga uutset adjuvandisüsteemi – AS04. See koosneb monofosforiül lipiid A-

st (MPL – *monophosphoryl lipid A*) ja alumiiniumfosfaadist. MPL on lipiid A kahjutu vorm, mida toodab gramnegatiivse bakteri *Salmonella minnesota* tüvi R595. Giannini *et al* on näidanud, et AS04 adjuvandiga vaktsiini saanutel moodustub suurem hulk antikehasid kui neil, kellele manustatakse vaktsiini ainult koos alumiiniumsoolaga. Samuti on AS04 vaktsiini saajatel veres suurem B-mälurakkude hulk (Giannini *et al.*, 2006; [2; 3; 4]).

Gardasil ja Gardasil 9 L1 valke toodetakse rekombinantsetes pärmirakkudes (*Saccharomyces cerevisiae*). Cervarixi L1 valkude tootmiseks nakatatakse Hi-5 Rix4446 rakuliini (kloonitud *Trichoplusia ni* putukarakkudest) rekombinantsete baculoviirustega. Putukarakk ei ole HPV loomulik peremees, mistõttu võivad antud raku erinevad keskkonnatingimused mõjutada VLP-de struktuuri. Seetõttu on L1 valgud C-terminaalsest otsast kärbitud, mis hoiab ära nende liikumise rakutuuma ja sellest tulenevalt L1 valgud ei assambleeru VLP-deks raku sees. Deschuyteneer *et al* läbiviidud uuringust järeldus, et C-terminaalsest otsast kärbitud HPV16 ja 18 L1 valgud säilitavad kõik oma immunoloogilised ja struktuursed omadused ehk need on võrdväärset natiivsete virionidega. Samuti tundsid monoklonaalsed antikehad ära vastavad konformatsioonilised epitoobid VLP-de pinnal. Ka ei mõjuta C-terminuse kärpimine aminohapete seondumist ja kapsiidi moodustumist ning ei eemalda mitte ühtegi teadaolevat neutraliseerivat epitoopi (Deschuyteneer *et al.*, 2010; [1]).

Kõik kolm vaktsiini süstitakse lihasesse. Nende manustamine toimub kuue kuu jooksul kolme 0,5 milliliitrise doosina esimesel päeval, esimesel (Cervarix) või teisel (Gardasil/Gardasil 9) kuul ja kuuendal kuul [2; 3; 4].

Gardasil on mõeldud kasutamiseks 9-26-aastastele tüdrukutele/naistele, hoidmaks ära järgnevaid haigusi: HPV16/18 põhjustatud emakakaela-, tupe- ja häbemevähid, HPV6/11/16/18-ga seotud vähieelsed seisundid ja HPV6/11 põhjustatud genitaalsed tüükad. Lisaks on Gardasil mõeldud samas vanuses meestele/poistele, hoidmaks sarnaselt ära genitaalseid tüükaid, lisaks pärakuvähki ja selle eelseid seisundeid. Cervarix on mõeldud kasutamiseks 9-25-aastastele naistele hoidmaks ära emakakaelavähki ja selle eelseid seisundeid, mille põhjustajateks on HPV tüübid 16 või 18. Gardasil 9 on mõeldud 16-26-aastastele naistele ja meestele, hoidmaks ära vaktsiini tüüpide poolt põhjustatud HPV infektsioone, tupe-, emakakaela-, neelu- ja häbemevähki ning kondüloome. Kui Gardasil ja Cervarix hoidsid ära 70% emakakaelavähi juhtumite esinemise, siis viie onkogeense HPV tüübi lisamine Gardasil 9 koostisesse tõstab vaktsiini efektiivsuse eeldatavasti 90%-ni [2; 3; 4].

Mõned inimese PV tüübid on omavahel sarnasemad kui teised, mistõttu võib vaktsiin kaitsta ka viiruste eest, mis ei ole sihtmärgiks (riskkaitse). Seda just eriti tüüpide puhul 31 ja

33, mis on homoloogsed HPV16-ga, ning tüübi puhul 45, mis on homoloogne HPV18-ga (Pandhi *et* Sonthalia, 2011).

HPV naturaalne ja vaktsiinide poolt tekitatud immuunvastus erineb mitmeti. Naturaalse infektsiooni puhul ei satu viiruseosakesed verre ja seetõttu ei moodustu üldse või moodustub HPV vastu vähe tüüpspetsiifilisi antikehasid. HPV vaktsiin aga süstitakse lihasesse, mistõttu antigeenid satuvad otse vere- ja lümfiteedesse ning antikehade produktsioon mitmekordistub. Siiani aga ei ole täpselt selge, kuidas vaktsiinide poolt indutseeritud antikehad kaitsevad inimese papilloomiviiruse infektsiooni eest. Teatakse, et immuunvastuse kujunemisel on olulised B- ja T-rakud ning G-immunoglobuliinid. Viimased satuvad esimestena kontakti viiruseosakestega. Antikehad seonduvad viiruspartiklite L1 epitoopidega ja neutraliseerivad need, hoides sellega ära peremeesraku infektsiooni. Vaktsiini poolt esile kutsutud antikehasid ei toodeta lokaalselt, vastavad antikehad satuvad emakakaelalimassse läbi veresoonte (Schwartz, 2009; Pandhi *et* Sonthalia, 2011).

Kõik kolm vaktsiini on ainult ennetavad ja ei mõju inimestele, kes on juba HPV viirusega nakatunud. Vaktsineerimine ei pruugi ära hoida ebaloomulikke rakulisi muutusi emakakaelas, mistõttu soovitatakse vaktsineeritud naistel teha jätkuvalt regulaarseid Pap-teste. Profülaktilise vaktsiini eesmärgiks on esile kutsuda tugevat lokaalset rakkude vahendatud immuunvastust, mis tagab pikaajalise kaitse tulevaste sarnaste infektsioonide eest (Schiller *et* Lowy, 2012).

3.1.1 Kliinilised uuringud

Profülaktiliste HPV vaktsiinide tõhususe, immunogeensuse ja ohutuse hindamiseks on viidud läbi mitmeid uuringuid, kuid erinevate uuringute omavaheline võrdlemine on mõnevõrra raskendatud, sest uuringud erinevad nii oma ülesehituselt (osalejate arv, kestus, HPV infektsiooni olemasolu uuringu alguses) kui ka tulemusnäitajate ja mõõtmisvahendite poolest. Näiteks Cervarix vaktsiini poolt esile kutsutud antikehade tiitrid on enamasti mõõdetud ELISA-meetodil (*enzyme-linked immunosorbent assay*), mis mõõdab neutraliseerivate ja mitteneutraliseerivate antikehade hulka, või PBNA-ga (*pseudovirion-based neutralization assay*), mis mõõdab funktsionaalsete antikehade tiitrid veres. Gardasili/Gardasil 9 puhul hinnatakse vaktsiini immunogeensust cRIA (*competitive radioimmunoassay*) või cLIA-ga (*competitive Luminex-based immunoassay*). Enamgi veel, sama süsteemiga ei saa võrrelda isegi kahe erineva HPV tüübi antikehade hulka (Einstein *et al.*, 2009)

Uuringute võrdlemise teevad keeruliseks ka erinevad kohordid ja nendes osalemiseks seatud kriteeriumid, mis erinevates uuringutes erinevad mõnevõrra. Vaktsiini efektiivsus omakorda sõltub aga otseselt kohordi piirangutest. Ravikavatsusega (ITT – *intention-to-treat*) kohort on kõige laiahaardelisem, sest see grupp sisaldab enamasti kõiki indiviide, kes uuringus osalevad. ITT-grupis osalemise kriteeriumiks see, et isik peab olema saanud vähemalt ühe doosi vaktsiini. Samuti võivad ITT-analüüsis osaleda naised, sõltumata HPV või selle vastaste antikehade olemasolust uuringu alguses. Ravikavatsusega gruppi võib vaadelda kui tegelikku vaktsiinisaajate populatsiooni. Protokoll jälgijate (ATP – *according to protocol*) kohort on (vastupidiselt ITT-le) kõige limiteeritum, sest sinna kuulumiseks peavad osalejad järgima uuringuplaani reegleid. Peamiseks kriteeriumiks on see, et osalejad peavad saama kolm doosi vaktsiini ja seda kindlal ajaperioodil. Lisaks hakkab ATP-grupis tulemusnäitajate loendamine alles pärast vaktsineerimist. Oluline on ka see, et enamasti ei tohi ATP-kohordi indiviidid uuringu alguses vaktsiini HPV tüübi suhtes seropositiivsed ja kuni 6. või 7. kuuni DNA-positiivsed olla. ATP-analüüsi vaadeldakse ideaalse stsenaariumina, kuna see näitab kõige paremini profülaktilise vaktsiini efektiivsust. Lisaks on mõningates uuringutes kasutatud ülanimetatud kohortide modifitseeritud versioone. Näiteks ravikavatsusega naiivsesse (ITT-naive – *intention-to-treat naive*) gruppi kuuluvad osalejad, kellel uuringu alguses ei tuvastatud 14 uuritava HPV tüübiga (6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 ja 59) seotud infektsiooni, antikehasid või tsütoloogilisi leide. Taoline kohort esindab seksuaalselt naiivseid indiviide ehk neid noorukeid, kes on profülaktiliste vaktsiinide peamine sihtrühm (Schiller *et al.*, 2012).

3.1.1.1 Gardasil

3.1.1.1.1 Gardasili efektiivsus

Aastatel 2002-2003 viidi läbi kaks suurt rahvusvahelist uuringut FUTURE I ja II, kus hinnati neljavalentse Gardasil vaktsiini efektiivsust, hoidmaks ära HPV6/11/16/18 poolt põhjustatud üleüldiseid anogenitaalse piirkonna haiguslikke seisundeid ja konkreetselt onkogeensete HPV tüüpide 18 ja 16-ga seotud kõrgeriskilisi koldeid (emakakaelavähk, CIN 2/3 ja AIS) HPV-negatiivsetel naistel. FUTURE I ja II olid oma olemuselt topeltpimedad, faas III uuringud, kus osales kokku ca 18 000 15-26-aastast naist. Munoz *et al* hindasid eelnevate uuringute põhjal Gardasili efektiivsust kuni 3,6 aastat pärast vaktsineerimist. Koondanalüüsi eesmärgiks oli aga testida Gardasili tõhusust nende naiste hulgas, kes olid juba uuringu alguses vastavate vaktsiini HPV tüüpide suhtes sero- ja/või DNA-positiivsed

(Garland *et al.*, 2007; The FUTURE II Study Group, 2007; The FUTURE II Study Group, 2007).

FUTURE I uuringust järeldus, et ATP-grupis on neljavalentse vaktsiini tõhusus 100% (0 juhtu vaktsiini- ja 60 juhtu platseebogrupis) ja ITT-kohordis 73% (28 juhtu vaktsiini- ja 102 platseebogrupis) hoidmaks ära tupe, häbeme ja päraku haiguslikke koldeid ning genitaaltüükaid, mis on seotud vaktsiini HPV tüüpidega. Samuti hoiab vaktsiin ära 100%-liselt adenokartsinoomi (AIS - *adenocarcinoma in situ*) ja CIN 1-3 esinemise (0 juhtu vaktsiini- ja 65 platseebogrupis) ATP-kohordis ning 55%-liselt ITT-kohordis (71 juhtu vaktsiini- ja 155 platseebogrupis). FUTURE II-s oli ATP-kohordis vaktsiini efektiivsus 98% ning ITT-kohordis 44%, hoidmaks ära HPV16 ja HPV18-ga seotud emakakaela kõrgeriskilisi koldeid (AIS, CIN 2-3 ning emakakaelavähk) (Garland *et al.*, 2007; The FUTURE II Study Group, 2007).

Munoz *et al* hindasid, kui efektiivselt hoiab Gardasil ära erinevaid emakakaela-, tupe- ja häbemekoldeid, koduloome ja üleüldiselt emakakaela tüstoloogilisi muutusi, mis on põhjustatud nii vaktsiini HPV tüüpide poolt kui ka HPV tüübist sõltumata. ITT-naivne kohort moodustas umbes 53% kogu uuritavast grupist ning vaktsiini efektiivsus selles kohordis oli kuni 100%, hoidmaks ära HPV16/18-ga seotud kõrgeriskilisi emakakaela-, häbeme- ja tupekoldeid ning genitaaltüükaid. Efektiivsus HPV6/11/16/18 poolt põhjustatud CIN1 vastu oli 97,8%. Ühtlasi täheldati, et neljavalentse vaktsiin vähendas HPV16-ga seotud tsütoloogilisi muutusi 92% võrra. ITT-naivses kohordis vähenes CIN3 esinemine 43% võrra, sõltumata HPV tüübist. ITT-kohordis vähenes kõigi kõrgeriskiliste emakakaelakollete esinemine 19% võrra, häbeme- ja tupekollete esinemine 50,7% võrra ja genitaaltüügaste esinemine 62% võrra HPV tüübist olenemata (Munoz *et al.*, 2010).

Konkreetne koondanalüüs hõlmas endas uuringuid FUTURE I ja FUTURE II. Uuring tehti naiste hulgas, kes olid juba registreerumisel PCR-/seropositiivsed ühe või mitme vaktsiini HPV tüübi suhtes. Gardasil oli 100% efektiivne kõrgeriskiliste düsplaasiate ja AIS-i vastu ja 94% efektiivne, hoidmaks ära tupe- või häbemekoldeid. Suurem osa positiivsetest naistest olid uuringu alguses positiivsed ainult ühe vaktsiini HPV tüübi suhtes, kõige tavalisemaks neist oli HPV16 (sero- ja/või PCR-positiivsus - 20%). Sellest võib järeldada, et ka seropositiivsed ja DNA-positiivsed naised saavad vaktsiinist kasu, sest nad on kaitstud nende HPV tüüpide infektsioonide eest, mille suhtes nad olid uuringu alguses naiivsed (The FUTURE II Study Group, 2007).

3.1.1.1.2 Gardasili immunogeensus

Gardasili immunogeensususe all on uuritud vaktsiini poolt esile kutsutud antikehade tiitrit veres, nende naiste protsenti, kellel esines immuunvastus pärast kolmandat doosi ning samuti on jälgitud seda, kui kaua vastavad antikehad organismis püsivad. Põhianalüüsid on tehtud 16–23-aastaste naiste seas, nende tulemusi on võrreldud 24–45-aastaste naistega ning 10–15-aastaste noorukitega. Reisinger *et al* võrdlesid immunogeensust 9–15-aastaste poiste ja tüdrukutes seas.

Tulemused näitavad, et 16-23-aastaste vaktsiinisaajate antikehade tiiter veres on kõigi erinevate VLP-de puhul samaväärne ja *ca* 10–104 korda kõrgem kui nendel platseebograpi patsientidel, kes olid esimesel päeval seropositiivsed. Veelgi enam, 7. kuuks olid kõigil naistel moodustunud mõõdetavas koguses vaktsiini HPV-de-vastased antikehad. Antikehade hulk küll langes järgnevate kuude jooksul, kuid jäi stabiilselt teatud tasemele püsima alates 2,5 aastat pärast kolmandat doosi. 36. kuul langesid ATP-kohordis HPV6, -11 ja -18-vastaste antikehade tiitrid loomuliku infektsiooni tasemele, kuid HPV16-vastased antikehad olid *ca* 17 korda kõrgemad loomuliku infektsiooniga võrreldes (Villa *et al.*, 2006). 5. aasta möödudes oli vaktsiinisaajate antikehade tiitrid veres jätkuvalt loomuliku infektsiooni tasemel või sellest kõrgemad. Siiski oli nende seropositiivsete platseebo saajate hulk liiga väike, et teha statistiliselt olulist võrdlust (Villa *et al.*, 2006).

60. kuul aga manustati naistele nn *boosterdoos* Gardasil vaktsiini, et hinnata immuunmälu olemasolu. Platseebo saajatele manustati võimendava doosi asemel esimene doos vaktsiini. Uuringu peamised järeldused tehti 61. kuul võetud seerumiproovide põhjal. Enamikel naistest tõusis ühe kuu jooksul antikehade hulk organismis pärast 4. doosi manustamist. Näiteks anti-HPV18 antikehade tiitrid suurenesid 60. ja 61. kuu vahel 25 korda. Selleks, et hinnata Gardasili mõjul tekkinud immuunmälu olemasolu, uuriti 4. vaktsiinidoosi mõju neil naistel, kellel ei tuvastatud 60. kuul ühe või mitme vaktsiini HPV tüübi vastaseid antikehasid. Naistest, kes olid 60. kuul HPV6, 11 ja 18 antikehade suhtes seronegatiivsed, muutusid seropositiivseks vastavalt 75% (6/8), 86% (6/7) ja 97% (29/30). Neist omakorda 50%, 83% ja 76% moodustusid vastavate HPV tüüpide vastaste antikehade tasemed, mis olid kõrgemad kui 7. kuul. Ainult ühel indiviidil ei tuvastatud organismis HPV16-vastaseid antikehasid, pärast 4. doosi manustamist aga tõusis viimase antikehade tase kõrgemale 7. kuuga võrreldes (Olsson *et al.*, 2007).

Ühes uuringus hinnati Gardasili mõju ≥ 24 -aastaste indiviidide hulgas. Sellest järeldus, et ATP-kohordis toimus suuremal osal naistest serokonversioon: 98%-il moodustusid HPV6- ja 11-vastased antikehad ning 99%-il HPV16- ja 97%-il HPV18-vastased antikehad. Samas

täheldati, et 35-45 aastaste seas need protsendid natuke langesid. Antikehade tiitrid olid mõlemas vanusegrupis sarnased, kuid võrreldes 16-23-aastaste naistega FUTURE I ja II uuringutest olid HPV6, 11 ja 18 antikehade tiitrid madalamad. Tuli ka välja, et nendel katsealustel, kes olid uuringu alguses mõne HPV vaktsiini tüübi suhtes seroposiitvused, olid 24. kuul vastavad antikehade tiitrid kõrgemad (Munoz *et al.*, 2009). 48. kuuks olid 92% naistest jätkuvalt HPV6 ja 11 seroposiitvused ning 97% ja 50% naistest vastavalt HPV16 ja HPV18 seroposiitvused (Castellsague *et al.*, 2011).

Gardasili mõju nooremates kui 15-aastastes indiviidides on uuritud kahes erinevas topeltpimesas 3. faasi uuringus. V501-016 eesmärgiks oli võrrelda Gardasili mõju 16-23-aastaste naiste ja 10-15-aastaste noorukite hulgas. Uuringus osales 510 poissi ja 506 tüdrukut vanuses 10-15 aastat ning nende tulemusi võrreldi 513 16-23-aastase naistega. Rohkem kui 99% uuritavatest moodustusid vaktsiinis sisalduvate HPV tüüpide vastased antikehad. 7. kuul mõõdetud antikehade tiitrid olid sama vanusegrupi poistel ja tüdrukutel samaväärsed, kuid 1,7-2,7 korda kõrgemad kui 16-23-aastaste naiste hulgas (Block *et al.*, 2006).

Uuring V501-018 võrdles aga vaktsiini ohutust ja immunogeensust 9-15-aastaste poiste ning tüdrukute seas (Reisinger *et al.*, 2007; Block *et al.*, 2006). V501-018 uuringus osales 1781 poissi/tüdrukut ning 7. kuuks toimus serokonversioon $\geq 95\%$ indiviididest, 18. kuul olid 91,5% noorukitest jätkuvalt detekteeritavad antikehad organismis, kuid antikehade tiitrid olid võrreldes 7. kuuga 4-7 korda madalamad. Antikehade tiitrid ja serokonversioon olid poistes ja tüdrukutes samaväärsed. Jagades noorukid vanuse põhjal kahte gruppi, siis täheldati, et 9-12-aastastel olid kõrgemad antikehade tiitrid kui 13-15-aastastel (Reisinger *et al.*, 2007).

3.1.1.1.3 Gardasili riskaitse

FUTURE I ja II andmete põhjal tehti kaks koondanalüüs, kus uuriti neljavalentse vaktsiini potentsiaalset riskaitse võimalust nii HPV-naiivsete kui ka seksuaalselt aktiivsete naiste hulgas. (Wheeler *et al.*, 2009; Brown *et al.*, 2009). HPV-naiivsete naiste hulgas oli Gardasil 23% juhtudest efektiivne, hoidmaks ära 1.-3. staadiumi CIN-e ja AIS-i ning 33% juhtudest 2.-3. staadiumi CIN-e ning AIS-i, mis olid põhjustatud 10 HPV tüübi poolt, mida vaktsiin ei sisalda (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59). HPV31 ja -45 infektsioonide hulk vähenes 40% võrra ja tüüpide 31, 33, 45, 52 ja 58 ($\geq 80\%$ homoloogsed HPV16 ja -18 L1 valkudega) infektsioonid vähenesid kokkuvõtvalt 25% võrra. Kõige sagedamini tekkis riskaitse HPV tüübi 31 vastu (Brown *et al.*, 2009).

Wheeler *et al* analüüsisid riskaitse tõhusust ITT-kohordis. Analüüsisist järeldus, et vaktsiin oli 15% ja 13% efektiivne, hoidmaks ära vastavalt 1.-3. staadiumi CIN-e ja AIS-i

ning 2.-3. staadiumi CIN-e ja AIS-i, mis on seotud 10 HPV-ga, mida vaktsiin ei sisalda. Vaktsineerimine vähendas HPV31/45 põhjustatud persistentseid infektsioone 32% ja HPV31/33/45/52/58 põhjustatud persistentseid infektsioone 18% võrra. ITT-kohordis tekkis riskikaitse kõige sagedamini samuti HPV tüübi 31 vastu. Riskikaitse esinemist jälgiti 3, 6 aasta jooksul, kuid selle kestvus ei ole teada (Wheeler *et al.*, 2009).

3.1.1.1.4 Gardasili ohutus

Kõrvalmõju ja tõsiste kõrvalmõjude esinemist vaadeldi nii FUTURE I ja II uuringutes kui ka 24–45- ja 9–15-aastaste indiviidide seas. Patsiente jälgiti pärast vaktsiini manustamist 30 minutit. Järgneval neljal või viiel päeval mõõdeti nende kehatemperatuuri ning 14 päeva jooksul pärast vaktsineerimist märkisid uuringus osalejad ise üles kõik esinenud kõrvalefektid. Tõsiste kõrvalnähtude ilmumine oli pideva vaatluse all kogu uuringu vältel (Garland *et al.*, 2007; The FUTURE II Study Group, 2007; Munoz *et al.*, 2009; Reisinger *et al.*, 2007; Block *et al.*, 2006).

16–23-aastaste seas esines vaktsiinisaajate hulgas rohkem lokaalseid sümptomeid kui platseebogrupis (84-87% vs 77-78%). Kõige levinuimateks süstimiskoha sümptomiteks olid valu, punetus, paistetused ja sügelus. Süsteemsed kõrvalefektid olid erinevates gruppides sarnased, kõige rohkem täheldati patsientide seas palavikku. Vaktsineerimisega seotud tõsiseid kõrvalefekte kirjeldati minimaalselt (FUTURE I-s üks vaktsiinigrupis, FUTURE II-s kolm vaktsiinigrupis ja kaks platseebogrupis) (Garland *et al.*, 2007; The FUTURE II Study Group, 2007). 25–45-aastaste naiste hulgas esines süstimiskoha kõrvalmõjusid samuti veidi rohkem vaktsiinisaajate seas, vaktsineerimisega seotud tõsiseid kõrvalnähte ei täheldatud (Munoz *et al.*, 2009). Noorukite hulgas olid lokaalsed sümptomid enamasti kerge kuni mõõduka iseloomuga, levinuimateks kõrvalefektideks olid punetus, valu ja paistetused. Pärast esimese vaktsiinidoosi esines rohkem süstimiskoha sümptomeid kui pärast teise või kolmanda doosi manustamist. Süsteemsetest kõrvalmõjudest kirjeldasid patsiendid rohkem palavikku ning pea- ja kurguvalu. (Reisinger *et al.*, 2007; Block *et al.*, 2006).

3.1.1.2 Cervarix

3.1.1.2.1 Cervarixi efektiivsus

Kahevalentse vaktsiini tõhusust on hinnatud topeltplimedates II ja III faasi uuringutes, kus osalesid naised vanuses 15–25-aastat. 2004. aastal avaldati esimene artikkel Cervarixi efektiivsuse kohta. Vaktsiini pikaajalise tõhususe hindamiseks pikendati eelnevat uuringut 6,4 aastani. Uuringus PATRICIA (*P*Apilloma *T*Rial against *C*ancer *I*n young *A*dults) aga osales

üle 18 000 indiviidi 14 erinevast riigist, kus naised jälgiti keskmiselt 35. kuuni pärast 3. doosi manustamist (Harper *et al.*, 2004; Paavonen *et al.*, 2007; Paavonen *et al.*, 2009; HPV-007 Study Group, 2009).

Harper *et al* viisid läbi 2. faasi uuringu, kus osales 1113 naist. Uuringust järeldus, et Cervarix on ATP-kohordis 91,6% efektiivne HPV16/18 põhjustatud ühekordse infektsiooni vastu ja 100% efektiivne samade tüüpide põhjustatud püsiva infektsiooni vastu. Kõrget vaktsiini efektiivsust täheldati ka ITT-kohordis (95,1% - püsiv infektsioon; 92,9% - tsütoloogilised leiud) (Harper *et al.*, 2004).

ATP-kohordis analüüsiti HPV vaktsiini efektiivsust nii 4,5 aasta kui ka 6,4 aasta jooksul. Nendes järeluurimustes osales 776 naist kolmest erinevast riigist. ATP-grupis oli Cervarixi efektiivsus HPV tüüpide 16 ja 18-ga seotud ühekordse infektsiooni vastu 96,9% ning 12-kuulise persistentse infektsiooni vastu 100%. 6,4 aasta koondanalüüsi käigus selgus, et kahevalentne vaktsiin hoidis sajabrotsendilisel ära kõik vähieelsed seisundid (Harper *et al.*, 2006; HPV-007 Study Group, 2009).

Sarnased tulemused järeldusid ka praeguse hetkeni kõige laiaulatuslikumast uuringust PATRICIA. Esmaseks tulemusnäitajaks oli HPV16 ja 18-ga seotud CIN2+. Katseisikud jagati juhuslikult kahte gruppi – 9258 inimesele manustati HPV vaktsiini, 9267 inimesele hepatiidi A-viiruse vaktsiini (kontrollgrupp). PATRICIA lõplikust analüüsist järeldus, et ATP-kohordis on Cervarixi efektiivsus 92,9% HPV16 ja 18 poolt põhjustatud CIN2+ vastu ja 100% CIN3+ vastu. Nakatumata kohordis oli vaktsiini efektiivsus CIN2+ vastu sõltumata HPV tüübist üle 70%, CIN3+ vastu aga 87% (Paavonen *et al.*, 2009).

3.1.1.2.2 Cervarixi immunogeensus

Cervarixi immunogeensus all on uuritud vaktsiini poolt esile kutsutud antikehade tiitrit veres, nende naiste protsenti, kellel esines immuunvastus pärast kolmandat doosi ning samuti on jälgitud seda, kui kaua vastavad antikehad organismis püsivad. Põhianalüüsid on tehtud 15–25-aastaste naiste seas, nende tulemusi on võrreldud 26–55-aastaste naistega ning 10–14-aastaste noorukitega. Kestvusuuringud on näidanud, et 8,4 aastat pärast vaktsineerimist võib jätkuvalt organismist tuvastada HPV-vastaseid antikehasid.

PATRICIA uuringust järeldus, et Cervarixi poolt esile kutsutud antikehade hulk on kõige kõrgem 7. kuul (HPV16 – 9341,5 EU/mL ja HPV18 – 4769,6 EU/mL) ning seejärel hakkasid nende tiitrid veres järkjärguliselt langema, stabiilne tase saavutati vahemikus 12–24 kuud pärast vaktsineerimist. ATP-kohordis oli serokonversiooni määr 7. kuul rohkem kui

99,5%, 36. kuuks aga moodustusid kõigil algselt seronegatiivsetel naistel veres nii HPV16- kui ka -18-vastased antikehad (Paavonen *et al.*, 2007; Paavonen *et al.*, 2009).

Harper *et al* näitasid samuti, et antikehade tiitrid veres on kõige kõrgemad 7. kuul pärast esimese doosi manustamist. Võrreldes loomuliku infektsiooniga olid vastavad tiitrid HPV16 korral 100 korda kõrgemad ja HPV18 korral 80 korda kõrgemad. 18. kuul pärast vaksineerimist oli HPV16-vastaste antikehade hulk 16 korda kõrgem ja HPV18-vastaste antikehade hulk 10 korda kõrgem võrreldes loomuliku infektsiooniga. Seitsmendal kuul oli ATP-kohordis HPV16 serokonversiooni määr 100% ja HPV18 serokonversiooni määr 99,7%, 18. kuuks aga olid kõigil vaksineeritutel moodustunud veres mõlemat tüüpi antikehad (100%) (Harper *et al.*, 2004)

63.-73. kuul olid antikehade kontsentratsioonid 12-13 korda kõrgemad ja 7,3 aastat pärast vaksineerimist 11–13 korda kõrgemad loomuliku infektsiooniga võrreldes. 8,4 aastat pärast vaksineerimist aga olid kõik jätkuuringusse kaasatud naised jätkuvalt seropositiivsed nii HPV16- kui ka HPV18-vastaste antikehade suhtes ning neutraliseerivate antikehade hulk oli loomulikust infektsioonist vähemalt neli korda kõrgem (HPV-007 Study Group, 2009; De Carvalho *et al.*, 2010; Roteli-Martins *et al.*, 2012).

Pedersen *et al* võrdlesid Cervarixi immunogeenust ja ohutust 10–14-aastaste noorukite ja 15–25-aastaste naiste hulgas. Tegemist oli avatud kolmanda faasi uuringuga, kus osales 773 indiviidi. Uuringust järeldus, et Cervarix kutsus 10–14-aastaste seas esile tugevama immuunvastuse, seetõttu võib nende seerumist leida *ca* kaks korda rohkem HPV16 ja -18 vastaseid antikehi, võrreldes 15–25-aastaste naistega. Mõlemas vanusegrupis oli antikehade hulk kõige kõrgem 7. kuul ning hakkas pärast seda järk-järgult langema jõudes stabiilse tasemeni (Pedersen *et al.*, 2007).

Kogu nelja aasta vältel oli 10–14-aastastel tüdrukutel antikehade hulk veres kõrgem 15–25-aastaste rühmaga võrreldes. 48. kuul olid HPV16- ja HPV18-vastaste antikehade tiitrid noorukite seas vastavalt 2862,2 EU/mL ja 940,8 EU/mL. Samad näitajad 15–25-aastaste naiste grupis olid vastavalt 1186,2 EU/mL ja 469,8 EU/mL (Petäjä *et al.*, 2011).

Lisaks mõõdeti eelneva uuringu käigus antikehade esinemist emakakaelalimas ja nende seost seerumi immunogeenidega. HPV18-vastased antikehad tuvastati 84,1% proovidest ja HPV16-vastased 69,7% proovidest. Täheledati, et naistel, kellel oli emakakaelalimas arvestatav kogus vastavaid antikehasid, oli ka seerumi antikehade tiiter kõrgem (Petäjä *et al.*, 2011).

Schwartz *et al* viisid läbi uuringu, kus võrreldi Cervarixi mõju 26–55- ja 15–25-aastaste naiste seas. 7. kuul toimus kõigis algselt seronegatiivsetes naistes vanusest olenemata

serokonversioon HPV16 ja 18 antikehade suhtes. Nagu eelnevatestki uuringutest järeldus, siis antikehade tiitrid veres olid kõige kõrgemad 7. kuul. Võrreldes loomuliku infektsiooniga olid 46-55-aastaste seas vastavate antikehade tiitrid 7. kuul 57-84 korda kõrgemad ja jäid kuni 24. kuuni 8-16 korda kõrgemaks. Vanematel naistel antikehade hulk organismis oli väiksem, kuid ületas siiski loomuliku infektsiooni poolt esile kutsutud antikehade kontsentratsioone (Schwarz *et al.*, 2009).

3.1.1.2.3 Cervarixi riskaitse

PATRICIA uuringus tehtud riskaitse esinemise analüüsist ilmnes, et ATP-kohordis võis märgata vähesel määral efektiivsust erinevate haiguslike kollete vastu, mis olid seotud inimese PV tüübiga 33: 6-kuuline püsiv infektsioon – 44,8% ning 2. staadiumi CIN ja raskemad seisundid – 68,3%. Märkimisväärne riskaitse esines ka HPV31 poolt põhjustatud erinevate kollete vastu: 6-kuuline püsiv infektsioon – 76,8% ja CIN2+ - 87,5%. HPV45 infektsioone tuvastati vähe, kuid Cervarixi tõhusus antud HPV tüübiga seotud 6-kuulise persistentse infektsiooni vastu oli 68,3%. Samuti täheldati järjekindlat riskaitset HPV51-ga seotud 6-kuulise püsiva infektsiooni ja CIN2+ vastu, siiski oli see madalam kui HPV31, 45 ja 33 puhul. Riskaitse esinemist võin seletada sarnasus erinevate HPV tüüpide epitoopide vahel, eriti just HPV16 ja 31 ning HPV18 ja 45. Riskaitse kestvus on teadmata (Wheeler *et al.*, 2012).

3.1.1.2.4 Cervarixi ohutus

Descamps *et al* tegid koondanalüüsi 11 erinevast uuringust, mille andmed pärinesid ca 30 000 indiviidilt. Kontrollina kasutati A hepatiidi viiruse vaktsiini või alumiiniumil põhinevat platseebot. Naised jagati vanuse järgi kolme gruppi: 10–14-, 15–25 ja ≥ 25 -aastased. Esmaseid kõrvaltoimeid jälgisid patsiendid ise ja panid päevikusse kirja seitsme päeva jooksul pärast esimese doosi saamist, samuti käisid uuritavad 30 päeva jooksul arstlikus kontrollis ning meditsiiniliselt oluliste sümptomite ning tõsiste kõrvalnähtude esinemist jälgiti pidevalt (Descamps *et al.*, 2009).

Koondanalüüsist järeldus, et enamik lokaalseid ja süsteemseid sümptomeid olid kerge kuni mõõduka iseloomuga ning kadusid paari päeva jooksul. Vaktsiini kõrvaltoimete arv ei suurenenud dooside arvuga. Pärast esimest doosi täheldati rohkem kõrvaltoimeid kui pärast teist või kolmandat. Kahevalentse vaktsiini kohordis esines rohkem lokaalseid sümptomeid nagu valu, punetus ja paistetus süstimiskohas kontrollgruppidega võrreldes. 10–14-aastaste tüdrukute seas tuvastati süstimiskoha kõrvaltoimeid veidi vähem kui 15–25-aastaste seas.

Üldiseid kõrvalnähte (väsimus, peavalu, müalgia) esines veidi rohkem kahevalentse vaktsiini grupis. Vaktsineerimisega seotud tõsisemaid kõrvalnähte märgiti üles minimaalselt ja nende sagedus oli HPV ja kontrollgruppide vahel võrreldav (vastavalt 2,8% ja 3,1%) (Descamps *et al.*, 2009).

3.1.1.3 Gardasili ja Cervarixi võrdlevad uuringud

Gardasili ja Cervarixi immunogeensust ning ohutust võrreldi 1106 indiviidi seas. Naistele vanuses 18–45-aastat manustati kas Gardasili või Cervarixi, mõlemas grupis oli 553 inimest. Vanuse järgi jagati naised veel omakorda kolme gruppi: 18–26-, 27–35- ja 36–45-aastased.

Mõlema vaktsiini korral toimus kõigis naistes 7. kuuks serokonversioon nii HPV16 kui ka HPV18 neutraliseerivate antikehade suhtes (v.a kaks naist Gardasili saajate hulgas, kellel ei moodustunud HPV18-vastaseid antikehasid). Protokoll järginud naiste hulgas kutsus Cervarix 7. kuul esile kõrgema HPV16- ja -18-vastaste antikehade moodustamise veres võrreldes Gardasiliga: HPV16-vastaste antikehade tiitrid olid kolmes vanusegrupis kokku 2,3–4,8 korda kõrgemad ning HPV18 vastased antikehad 6,8-9,1 korda kõrgemad kui Gardasili saanute hulgas. Samuti täheldati, et Cervarixi poolt esile kutsutud anti-HPV18 antikehade tiitrid olid juba pärast teist vaktsiinidoosi märgatavalt kõrgemad kui neljavalentse vaktsiini korral.

Uuringu käigus mõõdeti ka antikehade hulka emakakaelalimas. Cervarixi saanute hulgas oli HPV16-vastased neutraliseerivad antikehad emakakaelakanalis 81,3% ja HPV18-vastased antikehad 33,3% naistest, Gardasili grupis olid protsendid vastavalt 50,9% ja 8,8%. Naiste arv, kellel moodustusid HPV16-vastased B-mälurakud, oli mõlemas grupis enam-vähem võrdne (Cervarix – 89,8% ja Gardasil – 94,3%), HPV18 puhul olid vastavad protsendid aga 88,7% ja 66,1%. B-mälurakkude hulk oli Cervarixi saanute hulgas nii HPV16 kui ka HPV18 tüübi suhtes 2,7 korda kõrgem.

Seitsme päeva jooksul pärast vaktsineerimist panid katsealused ise kirja ilmnud kõrvalnähud, 30 päeva jooksul aga jälgiti spontaansete sümptomite esinemist. Lisaks jälgiti kõigi seitsme kuu vältel tõsiseid kõrvalnähte, meditsiiniliselt oluliste seisundite ilmnemist, krooniliste haiguste taasteket ja rasedusi. Pärast vaktsineerimist esines Cervarixi saajate hulgas rohkem nii lokaalseid kui ka süsteemseid kõrvaltoimeid. Mõlema vaktsiini kõige levinumaks lokaalseks sümptomiks oli valu süstimiskohas, kuid Cervarixi grupis esines seda võrreldes Gardasiliga sagedamini (vastavalt 92,9% vs 71,6%). Cervarixi manustamisel esines rohkem ka süsteemseid kõrvaltoimeid nagu väsimus ja müalgia. Siiski olid üleüldiselt kõik

lokaalsed ja süsteemsed kõrvalnähtud ajutised ning kerge kuni mõõduka iseloomuga. Spontaansete kõrvalnähtude hulk oli mõlema vaktsiini puhul võrreldav (Cervarix – 42,5% ja Gardasil 36,5%). Tõsiseid kõrvaltoimeid esines vähe, vaktsineerimisega oli neist seotud vaid kaks juhtu – mõlemas grupis üks juht (Einstein *et al.*, 2009).

3.1.1.4 Gardasil 9 kliinilised uuringud

2015. aasta veebruaris publitseeriti esimene uuring (V503-001) uue multivalentse HPV-vastase vaktsiini kohta, mille peaesmärgiks oli kirjeldada vaktsiini efektiivsust konkreetsete HPV-de poolt põhjustatud emakakaela-, tupe- ja häbemevähi vastu 16-26-aastaste naiste seas.

Uuringu teises osas jagati 14 215 naist juhuslikult üheksavalentse vaktsiini saajate ja kontrollgruppi. Kontrollina kasutati neljavalentset vaktsiini, platseebo manustamist aga ei peetud eetilistel põhjustel mõistlikuks. Uuringu peamiseks hüpoteesiks oli, et üheksavalentse vaktsiin on efektiivne hoidmaks ära HPV tüüpide 31, 33, 45, 52 ja 58 poolt põhjustatud emakakaela-, tupe- ja häbemevähi ning samuti uuriti, kas üheksavalentse ja neljavalentse vaktsiini antikehade hulga esile kutsumine on võrdväärne kõigi patsientide seas.

Naistele manustati üheksavalentset või neljavalentset vaktsiini 0,5 mL doosina 1. päeval, 2. ja 6. kuul. Uuritavad mõõtsid oma suu temperatuuri viie päeva jooksul pärast igat vaktsineerimist, lokaalseid ja süsteemseid kõrvalnähte jälgiti 15 päeva pärast vaktsineerimist ning tõsiseid kõrvalnähte jälgiti kogu uuringu vältel.

ATP populatsioonis oli HPV31, 33, 45, 52 ja 58-ga seotud kõrgeriskiliste häbeme, tupe ja emakakaela haiguslike kollete arv 0,1 1000 inimese kohta aastas üheksavalentse vaktsiini grupis ning 1,6 1000 inimese kohta aastas neljavalentse vaktsiini grupis (Gardasil 9 grupis üks haigusjuht, Gardasili grupis 30 haigusjuhtu). Üheksavalentse vaktsiini efektiivsus eelnevate kõrgeriskiliste haiguskollete vastu oli 96,7%, madala- ja kõrgeriskiliste kollete vastu aga 97,1%. Samuti oli Gardasil 9 ATP-kohordis 96% efektiivne, hoidmaks ära HPV tüüpidega 31, 33, 45, 52 ja 58 seotud 6-kuulist infektsiooni.

Pea kõigil vaktsiinisaajatel moodustusid ATP populatsioonis 7. kuul antikehad üheksavalentse vaktsiini HPV tüüpide vastu. Võrreldi ka üheksavalentse ja neljavalentse vaktsiini antikehade tiitreid HPV6, 11, 16 ja 18 suhtes ning täheldati, et tulemused on samaväärsed. Üheksavalentse vaktsiini puhul esines patsientidel võrreldes neljavalentsega rohkem lokaalseid kõrvaltoimeid (vastavalt 90,7% ja 84,9%). Kõige levinumateks süstimiskoha kõrvaltoimeteks olid valu, paistetus, sügelus ja punetus. Rohkem kui 90% mainitud kõrvaltoimetest olid kerge kuni mõõduka tugevusega. Süsteemsete kõrvaltoimete esinemine

oli aga mõlema vaktsiini puhul võrdväärne (Gardasil 9 – 55,8% ja Gardasil – 54,9%). Kõige tavalisemad süsteemsed kõrvalnähud olid peavalu, palavik, uimasus, iiveldus ja väsimus. Vähem kui 0,1% patsiendist katkestas uuringus osalemise tõsise kõrvalnähu pärast (Joura *et al.*, 2015).

3.1.2 Profülaktiliste vaktsiinide edasiarendused

Hetkel on turul kolm erinevat profülaktilist HPV-vastast vaktsiini ning need kõik koosnevad VLP-dest. Gardasil ja Cervarix hoiavad koos ära 70% emakakaelavähi juhtudest, eelmise aasta lõpus heakskiidetud Gardasil 9 tõstis seda protsenti *ca* 90-ni. Kuigi üheksavalentne vaktsiin kaitseb seitsme onkogeense inimese PV tüübi eest, siis ülejäänud vähkitekitavad HPV-d võivad ikka inimest nakatada. Inimese papilloomiviirus on suureks probleemiks just arengumaades, kus pole suudetud rakendada efektiivseid skriininguprogramme. Samuti muudavad vaesemates riikides olukorra keeruliseks vähearenenud infrastruktuur ning rahalised takistused. Seetõttu tuleks leida alternatiivseid meetodeid, kuidas muuta vaktsiinide tootmine, säilitamine ja manustamine lihtsamaks.

HPV minoorse kapsiidivalgu kasutamine VLP-ide moodustamisel oleks üks võimalusi, kuidas suurendada vaktsiinide kaitsevõimet. L2 valgu N-terminaalne ots on kõikides HPV tüüpides üsna konserveerunud, mistõttu töötaks selle baasil tehtud vaktsiin juba monovalentsena. L1 valk on aga enamasti tüüpspetsiifiline ja kutsub esile riskaitse ainult sarnaste inimese PV-de puhul. Negatiivseks jooneks võib lugeda seda, et minoorse kapsiidivalgu poolt esile kutsutud antikehade kontsentratsioonid ei ole piisavalt kõrged. Eelnev nähtus tuleneb sellest, et L2 ei ole pidevalt antikehade sihtmärgiks, kuna ei asu viiruse kapsiidi pinnal. Minoorne valk tuleb nähtavale alles siis, kui PV virion seondub peremeesrakuga ja L1 valgus toimuvad konformatsioonilised muudatused. Teiseks hüpoteesiks on see, et L1 valgu epitoobid domineerivad L2 valgu epitoopide üle. Sellest probleemist aitaks üle saada efektiivsete adjuvantide kasutamine (Gersch *et al.*, 2012).

HPV L2 valgule on lisatud n-ö võõrvalke, et suurendada selle immunogeensust. Saadud produkti kutsutakse fusioon- ehk liitvalguks. Näiteks ühel juhul ühendati HPV16 L2 valgu N-terminaalsest osast võetud konformatsioonilised epitoobid ja bakteriaalne tioridoksiin (Rubio *et al.*, 2009). Minoorse kapsiidivalgu aminohappejääke on proovitud seondada ka T-helperraku epitoopidega ja TLR-retseporligandiga. Veelgi enam, omavahel on liidetud erinevate inimese PV tüüpide L2 epitoobid, moodustades multimeerseid L2 liitvalke. Häid tulemusi on andunud ka L2 liitvalkude ja L1 kapsomeeride kombineerimine (Gersch *et al.*, 2012).

Profülaktilisi vaktsiin suspensioone peab hoidma 2–8 °C juures, mistõttu nõuab nende transport ja säilitamine lisaenergiat, seda just eriti soojemates maades. Tülikaks osutub ka see, et vaktsiinüste peab kokku tegema kolm ja seda kuue kuu jooksul. Üheks eesmärgiks olekski dooside vähendamine, ilma et see mõjutaks vaktsiini üleüldist tõhusust. Mitmesugustes katsetes on proovitud inimese PV-vastast vaktsiini manustada nii suukaudselt, nasaalselt kui ka intravaginaalselt. Vaktsiini viimine pulbrivormi aga muudaks jällegi selle säilitamise ja transpordi lihtsamaks (Gersch *et al.*, 2012).

VLP-de tootmine eukariootsetes ekspressioonisüsteemides (pärmid, putukarakud) on üsna kallis. L1 valgud küll ei assambleeru viiruslaadseteks osakesteks bakterirakkudes, kuid kapsomeerid küll. L1 valgud moodustavad pentameeri (kapsomeer) ja 72 kapsomeeri omakorda moodustavad viiruse kapsiidi. L1 kapsomeeridel põhineva vaktsiini eeliseks ongi see, et seda saab toota bakterirakkudes, kapsomeerid ise on aga VLP-dest stabiilsemad. Veelgi enam, antud vaktsiinid kutsuvad esile suure hulga neutraliseerivate antikehade moodustumise, kuna konformatsioonilised epitoobid asuvad just kapsomeeride pinnal. Maclean *et al* katsetasid HPV16 L1 valgu tootmist transgeenses tubakataimes. L1 geen viidi *Agrobacterium tumefaciens*'ise binaarse vektori abil taime. L1 geen sisaldas signaaljärjestust, mis lokaliseeris antud valgu tootmise taimeraku kindlasse kompartmenti (kloroplasti). Produtseeritud L1 valgud moodustasid viiruslaadseid partikleid, mis hiirtesse süstides osutusid väga immunogeenseteks. Teiste L1 valgu ekspressioonisüsteemidena on proovitud kasutada ka kartuleid, *Drosophila* Schneider rakke, piimhappebaktereid ning *Trichoplusia ni* vastseid (Gersch *et al.*, 2012; Maclean *et al.*, 2007).

Ennetavate vaktsiinide kandidaatidena on kasutatud ka viiruslikke ja bakteriaalseid rekombinantseid vektoreid. Viirusvektorid on äärmiselt immunogeensed ja nende abil transporditakse L1 geen väga efektiivselt sihtmärkrakku. Samas kerkivad esile ohutusküsimused, sest näiteks DNA viirused võivad peremeesraku genoomi integreeruda ning eriti puudutab see immuunpuudulikkusega indiviide, kelle kaitsesüsteemid on niigi nõrgenenud. RNA-viiruste kasutamine lahendaks insertiooni probleemi, kuna nendel puudub DNA vahevorm. Viirusvektoritena on kasutatud leetrite viirust, polioviiruseid, VSV-d (*vesicular stomatitis virus*) AV5-te (adenoviirus 5) ja AAV-d (*adeno-associated virus*). Bakteriaalsed vaktsiinid on lihtsad ja neid on suhteliselt odav toota, eriti kui nende manustamine toimub limaskestade kaudu. Ka ei ole bakterid nii ohtlikud kui viirused, kuna nende spontaanseid puhanguid saab tõhusalt antibiootikumide abil ravida. Vektoritena on proovitud kasutada selliseid baktereid nagu BCG (*bacille Calmette-Guerin*), *Lactobacillus casei*, *Shigella flexneri* ja *Listeria monocytogenes* (Gersch *et al.*, 2012; Schiller *et al.*, 2006).

3.2 Terapeutilised HPV-vastased vaktsiinid

Kuigi profülaktilised HPV-vastased vaktsiinid on siia maani olnud väga edukad, siis jätkuvalt on sobilikult kaitseta need naised, kes juba on inimese PV-ga nakatunud või veelgi enam, neil on välja kujunenud vähk või mõni vähieelne seisund. Katsed ennetavate vaktsiinidega on näidanud, et need ei mõjuta mingil määral ebanormaalsete rakuliste muutuste kulgu ei regressiooni ega ka progressiooni suunas. Vaja oleks leida strateegia, mis oleks abiks kõigile, sõltumata inimese papilloomiviiruse olemasolust organismis. Suurem osa terapeutilistest vaktsiinidest, mis hetkel arendamisel on, baseeruvad HPV valkude E6 ja E7 ekspressioonil, ses neid valke ekspresseeritakse vähi ja vähieelsetes kolletes pidevalt ning nende onkogeensid omadusi on põhjalikult uuritud (Lin et al., 2010).

3.2.1 Nukleiinhappete baasil valmistatud vaktsiinid

DNA- ja RNA-vaktsiinid on head HPV-vastaste vaktsiinide kandidaadid, sest neid saab toota suurel hulgal suhteliselt lihtsal meetodil. Neid saab ka korduvalt manustada, kuna antud vaktsiinid ei kutsu esile neutraliseerivate antikehade moodustumist. Miinuseks võib lugeda mõlema vaktsiini madalat immunogeensust, sest nad ei suuda levida algselt nakatatud rakust kaugemale. Kuigi ükski uuring pole seda veel kinnitanud, siis võib võõr-DNA integreeruda peremeesraku genoomi ning samuti on oht, et onkogeensete valkude DNA põhjustab rakkude transformatsiooni. Viimasest aitab üle saada E6 ja E7 modifitseerimine valkudeks, mis ei suuda rakku negatiivsel viisil mõjutada. RNA baasil valmistatud vaktsiinidel ehk RNA-replikonidel on võime ise replitseeruda, seetõttu toodavad nad rohkem antigeene kui DNA vaktsiinid. RNA eelis DNA ees seisneb ka selles, et esimene ei ole võimeline integreeruma sihtmärkraku genoomi. Sellest hoolimata pole veel RNA baasil valmistatud HPV-vastased vaktsiinid loomkatsetest kaugemale jõudnud (Lin et al., 2010).

DNA-vaktsiinide poolt esile kutsutud immuunvastuse võimendamiseks on proovitud erinevaid strateegiaid. Üheks võimalikuks variandiks on valkudega laetud DC-de arvu suurendamine, kasutades selleks näiteks geenipüstolit, elektroporatsiooni, laserit või DNA kapseldamist mikropartiklidesse (Lin et al., 2010). Viimase variandi põhjal konstrueerisidki Garcia et al HPV16 ja 18 E7 päritolu epitoopidest vaktsiini nimega ZYC-101a. Antud formulatsiooni manustamise tulemusel toimus 70%-l patsientidest CINII/III kollete regressioon (Garcia et al., 2004). DNA immunogeensuse parendamiseks on proovitud ka selle liitmist teatud molekulidega, mis seonduvad otse DC rakkudega (Lin et al., 2010). Trimble et al liitsid HPV16 modifitseeritud E7 valgu *M. tuberculosis*'e hsp70-ga. Hsp70 on nõrsaatjavalk, millel on võime seonduda CD91 retseptoriga DC rakkude pinnal. Vaktsiini

manustati naistele, kellel tuvastati 2. või 3. astme CIN. Maksimaalse annuse saajatel täheldati märgatavat CD8+ T-rakulist vastust ning üheksal indiviidil kolmest toimus ebanormaalse kolde täielik taandumine (Trimble *et al.*, 2009).

3.2.2 Valkude ja peptiidide baasil valmistatud vaktsiinid

Peptiidide ja valkude baasil valmistatud vaktsiinid on ohutud ja neid on lihtne toota. Esimese puhul HPV antigeensed peptiidid sisestatakse APC-desse, seal need seostuvad MHC molekulidega ning lõpuks tuuakse vastavad peptiidid rakupinnale, kus T-rakud tunnevad ära MHC-antigeen kompleksi. MHC molekulid (inimesel HLA [*human leukocyte antigen*]) on väga polümorfsed, mistõttu osutub keeruliseks leida epitoop, mis oleks sobilik kõigile inimestele. Polümorfsuse probleemist aitaks üle saada kattuvate või üleüldiselt pikemate peptiidide kasutamine. Valkude baasil valmistatud vaktsiinid aga sisaldavad kõiki antigeenseid epitoope ja seetõttu ei ole nende puhul vaja jälgida MHC molekulide spetsiifilisust. Ka on vaja mõlemale tüübile lisada adjuvante ja/või immuunsust stimuleerivad molekule, sest vaktsiinid üksinda kutsuvad esile väga nõrga immuunvastuse. (Bergot *et al.*, 2011; Lin *et al.*, 2010)

Peptiidide baasil valmistatud vaktsiinidega on läbi viidud mitmeid kliinilisi uuringuid, kuid väheseid neist on katsetatud inimestes. I faasi uuringus manustati 12-le naisele E7-st pärit lipopeptiidi, mis oli seotud PADRE-ga, kuid pärast neljandat vaktsiinidoosi ei täheldatud ei kõrvaltoimeid ega ka kliinilist vastust (Steller *et al.*, 1998). Faas I ja II uuringutes testiti samuti HPV16 E7 peptiidi ja PADRE emulsiooni ning neile lisati veel adjuvant Montanide ISA 51. Faas I uuringus toimus emakakaelavähi regressioon ainult kahel patsiendil 19-st, faas II uuringus mitte ühelgi. Eelnevad negatiivsed tulemused viisid mõttele, et vaktsiini efektiivsust võiks proovida emakakaela madalama astme haiguslikes kolletes (van Driel *et al.*, 1999; Rensing *et al.*, 2000). Sellest tulenevalt viidi läbi uuring, kus CIN- või VIN-patsientidele manustati HPV16 E7 peptiidi vaktsiini, mis oli formuleeritud Montanide 51-ga, ja E7 lipopeptiidi, mis oli seotud PADRE-ga. Kolmel uuriaval toimus haiguse täielik kadumine, kuuel osaline. CTL-vastust võis täheldada kümnel patsiendil (Muderspach *et al.*, 2000). Faas I uuringus kasutati aga kattuvaid HPV16 E6 ja E7 peptiide, millele lisati adjuvant Montanide ISA51. Antud segu manustamine patsientidele, kellel oli lõppstaadiumis emakakaelvähk või 3. staadiumi häbeme intraepiteliaalne düsplaasia, kutsus neil esile laiaulatusliku IFN-gamma ja T-rakkudega seotud immuunvastuse (Kenter *et al.*, 2008). Sarnases uuringus manustati naistele sünteetilisi E6 ja E7 peptiide ning vaktsiin osutus efektiivseks enamikes (79%) VIN 3 patsiendites (Kenter *et al.*, 2009).

Valguliste vaktsiinide eksogeense päristolu tõttu esitletakse neid MHC II klassi molekulide kaasabil ja sellepärast on nad sihtmärgiks pigem antikehadele. Tuleks leida viis, kuidas valkude baasil tehtud vaktsiine esitleda MHC I klassi molekulide kaudu, et aktiveeruksid CTL rakud. Selleks kasutatakse adjuvante nagu liposoom-katioonsed DNA-kandja partiklid ja saponiinil põhinev ISCOMATRIX. Samuti võimendab esitlemist MHC I klassi kaudu liitvalkude moodustamine ja valkude sidumine kuumašoki valkudega (*hsp - heat shock proteins*). Kuumašoki valgud käituvad kui molekuli saatjad ja nad viivad vastavad valgud dentriitrakkudesse. Hsp-d stimuleerivad ka DC-de küpsemist ja indutseerivad tsütokiinide tootmist (Lin *et al.*, 2010). Konkreetnes uuringus fuseeriti *Mycobacterium*-i hsp65 HPV16 E7-ga (HspE7). Vaktsiini manustati 58 naisele, kellel oli III staadiumi CIN. Vaktsiini mõjul toimus düsplaasia täielik taandumine 13-l ja osaline taandumine 32-l patsiendil (Chu *et al.*, 2000).

3.2.3 Elusvektorite baasil valmistatud vaktsiinid

Viiruslike ja bakteriaalsete vektorite eesmärgiks on viia rakku antigeen või DNA, mis seda antigeeni kodeerib. Vektori replitseerumine peremeesrakus kutsub esile tugeva immuunvastuse ning positiivseks jooneks on ka nende spontaanne levimine naaberrakkudesse. Siiski kaasnevad elusvaktsiinide manustamisega võimalikud ohud, seda just eriti immuunpuudulikkusega inimestel. Teiseks miinuseks võib lugeda vektorite võimet kutsuda esile neutraliseerivate antikehade moodustumist, mis seab piirid korduvale immuniseerimisele (Lin *et al.*, 2010; Bergot *et al.*, 2011).

Potentsiaalsed bakteriaalsete vektorite kandidaadid on näiteks *Lactobacillus lactis*, *Salmonella enterica* ja *Listeria monocytogenes* (LM). LM on gramm(+) bakter, mis replitseerub APC-de (*antigene presenting cells*) tsütosoolis. LM toodab listeriolüsiini O-d, mis võimaldab bakteril olla nii raku tsütoplasmas kui ka endosomaalsetes kompartmentides. Sellest tulenevalt saab LM-i peptiide esitleda mõlema MHC-klassi molekulide kaudu ning indutseerida nii CD4+ kui ka CD8+ T-rakkude produktsiooni (Bergot *et al.*, 2011; Su *et al.*, 2010). Maciag *et al* võtsid HPV16 E7 antigeeni ning fuseerisid selle LLO fragmendiga. Antud vaktsiin oli ohutu ja ei põhjustanud soovimatuid kõrvalfekte emakakaelavähi lõppstaadiumi patsientides. Siiski oli tegu uuringuga, kus ei kasutatud kontrollgruppi, mistõttu ei saa ellujäämise osas teha üldiseid järeldusi (Maciag *et al.*, 2009).

Viirusvektoritena on erinevates uuringutes kasutatud adenoviiruseid, alfaviiruseid (*Semliki Forest virus*), VSV-d (*vesicular stomatitis virus*) AAV-d (*adeno associated virus*) ja MVA-d (modifitseeritud Ankara viirus). MVA on mittepaljunev attenueeritud vaktsiinia

viiruse tüvi. MVA-1 põhineva vaktsiini eeliseks on viiruse paiknemine tsütoplasmas, mis hoiab ära peremehe genoomi integreerumise võimaluse ja seetõttu on see eriti paljulubav vaktsiini kandidaat (Moscicki, 2008; Su *et al.*, 2010). Vaktsiinia viiruse nukleotiidset järjestust on muudetud nii, et see kodeeriks HPV16 E6 ja E7 antigeene ning tsütokiine intraleukiin-2 (IL-2). Vastavad intraleukiinid võimendavad nii spetsiifilist kui ka ebaspetsiifilist immuunvastust. Sellest tulenevalt on konstrueeritud vaktsiin E7-IL-2, mida süstiti faas II uuringu käigus 21-le CIN2/3 patisendile. 48%-l (10) naistest toimus vähieelsete kollete regressioon, nende organismist ei tuvastatud ka E6 ja E7 mRNA ekspressiooni (Brun *et al.*, 2011).

Viiruslike onkogeenide E6 ja E7 ekspressioon sõltub E2 kontsentratsioonist. Faas 2 kliinilises uuringus kasutati vaktsiinia viiruse rekombinantset MVA E2 vaktsiini, mida süstiti iganädalaselt katsealuste emakakaelarakkudesse. Tulemused näitasid, et 50%-l patsientidest toimus CIN 2/3 täielik regressioon. Samuti tuvastati kõigil patsientidel E2 vastu suunatud antikehade kõrge kontsentratsioon (Garcia-Hernandez *et al.*, 2006).

3.2.4 Rakkude baasil valmistatud vaktsiinid

Kasvajakakkude baasil valmistatud vaktsiinid hõlmavad endas laias valikus erinevaid vastavaid antigeene. Strateegia hõlmab endas kasvajakakkude eemaldamist patsiendilt ja nende manipuleerimist *in vivo*, et need ekspresseeriks organismis immuunsust stimuleerivaid valke nagu IL-2, IL-12 ja GM-CSF. Taolisi vaktsiine kasutatakse juhtudel, kui kasvaja antigeenid ei ole teada. HPV onkogeensed valgud on aga hästi identifitseeritud, mistõttu ei ole konkreetseid vaktsiine testitud kliinilistes uuringutes. Kasvajakakkude taaskordne sisestamine võib esile kutsuda uute potentsiaalsete kollete moodustumise (Bergot *et al.*, 2011).

DC vaktsiinid on patisendispetsiifilised. Uuritavatelt võetakse teatud kogus dendriittrakke, neisse sisestatakse erinevaid kasvaja antigeene nagu E6 ja E7 ja seejärel süstitakse patsienti tagasi. Antigeenide sisestamine võib toimuda erinevate vektorite kaasabil, dendriittrakke saab ka pulseerida peptiidide/antigeenidega või neisse transfekteerida DNA/RNA. Kuna DC-de baasil valmistatud vaktsiine ei saa toota suures koguses, on nende konstrueerimine töömahukas ja üsna kallis (Bergot *et al.*, 2011).

Ferrera *et al* pulseerisid autoloogseid DC-sid HPV6 ja HPV18 E7 valguga. Vaktsiini manustati patisentidele, kellel oli hilises staadiumis emakakaelavähk ning neljal naisel moodustusid E7-spetsiifilised CD8+ T-rakud (Ferrera *et al.*, 2003). Teisel juhul pulseeriti dendriittrakke HPV16/18 E7 antigeenide ja KLH-ga (*keyhole limpet hemocyanin*). See vaktsiin kutsus kaheksal naisel, kel oli IB või IIA staadiumi emakakaelavähk, esile E7-spetsiifilise T-

rakkude vastuse, vastavad antikehad aga moodustused kõigis kümnes indiviidis (Santin *et al.*, 2008).

3.3 Vaktsineerimise seis Euroopas

Suremus emakakaelavähki Euroopas on suur: see on 15–44-aastaste naiste seas kõigist vähkidest surmade poolest teisel kohal. Suremus on suur hoolimata sellest, et eksisteerivad tõhusad vähisõeluuringud: Igal aastal tuvastatakse Euroopas 54 800 uut emakakaelavähi esmajuhtu ning igal aastal sureb sellesse vähki 25 000 inimest. Lisaks seostatakse HPV-d ka paljude teiste vähkidega – päraku-, tupe-, häbeme- ja peenisevähid ning pea- ja kaelavähid. Emakakaelavähki haigestumine varieerub Euroopa riikide vahel suuresti. Põhjuseks võivad olla nii sõeluuringute olemasolu või puudumine kui ka HPV tüüpide erinev levimus riigiti. Siiski ainult tõhusa vähisõeluuringute programmi rakendamise mõjul HPV poolt põhjustatud vähki haigestumine ei vähene, vaid sõeluuringuid tuleks läbi viia paralleelselt vaktsineerimisega. Organiseeritud vaktsineerimine vähendaks emakakaelavähi juhtumite arvu rohkem kui 70% võrra sel juhul, kui vaktsiinisaajate sihtgrupiks oleksid noorukid enne seksuaalelu alustamist, vaktsineerimine sõltuks populatsioonist ja vaktsineerimine sihtgrupis oleks laiaulatuslik. Vaktsineerimise viimine koolidesse oleks kõige efektiivsem – see jõuaks rohkem kui 85-95%-ni sihtgrupist. Alternatiivselt võiks kasutada populatsioonil põhinevat personaalsete kutsete süsteemi, mida võiks ühtlasi kombineerida ühiskonna üldise harimisega vaktsiinide vallas. Paljudes riikides peab vaktsineerimise eest ise maksma, mis tähendab, et vaesemad ühiskonnakihid sellest kasu ei saa. Viimaste hulgas on ka sõeluuringutes osalemine madal, mistõttu on nende inimeste hulgas HPV-ga seotud vähki haigestumine eriti suureks probleemiks. 2007. aastal tutvustasid Belgia, Prantsusmaa ja Saksamaa esimeste Euroopa riikidena vaktsineerimist noorte tüdrukute seas, neile järgnesid Itaalia, Rumeenia, Hispaania ja Šveits, aastal 2010 aga Rootsi ja Iirimaa. Kuna vaktsiine manustatakse korraga väga suurele hulgale inimestele, siis on just viimase kahekümne aasta jooksul teravalt esile kerkinud vaktsiinide ohutuse küsimus (Bonanni *et al.*, 2011).

Elfström *et al* uurisid HPV-vastast vaktsineerimise kaetust Euroopa riikide seas. Ühendust võeti 34 riigiga, kellest 31 vastasid ja kellest omakorda 27 andsid infot vaktsineerimisprogrammi olemasolu, puudumise ja tulevikuplaanide kohta. Uuringu käigus tuli välja, et 16 riigis toimub organiseeritud HPV-vastane vaktsineerimine ja ülejäänud 11 riiki viivad läbi oportunistlikku vaktsineerimist. Organiseeritud vaktsineerimisprogrammidega alustati aastatel 2007–2012 ja rutiinse vaktsineerimise käigus vaktsineeritakse ainult 10–14-aastaseid tüdruke. Üheksa riiki 16-st, kes viivad läbi organiseeritud HPV-vastast

vaktsineerimist, teatasid ka vanemate kui 14-aastaste naiste vaktsineerimisest. Enamasti vaktsineeritakse noorukeid koolis, sellele järgneb vaktsiinide jagamine arstide poolt. Riigiti erineb ka, kas kasutusel on kahe- või neljavalentne vaktsiin. Kolm riiki kasutavad ainult Cervarixi, viis riiki Gardasili ja teised riigid kasutavad mõlemat või vahetasid teatud ajal kahevalentse vaktsiini neljavalentse vaktsiini vastu (kaks riiki). Näiteks Suurbritannias lisati 2008. aastal Cervarix riiklikku immuniseerimiskavasse, kuid neli aastat hiljem vahetati see Gardasili vastu välja. Need riigid, kus ei viida läbi organiseeritud HPV-vastast vaktsineerimist, võib jaotada kolme erinevasse gruppi: riigid, kus vaktsineerimisprogramm on veel arendamisel; riigid, kus vaktsineerimine on puhtalt oportunistlik ja riigid, kus vaktsiin on lisatud riiklikku immuniseerimiskavasse, kuid valitsus ei toeta seda rahaliselt (Elfström *et al.*, 2015).

3.4 HPV ja Eesti

Emakakaelavähki haigestumus Eestis on üks Euroopa kõrgemaid ja viimastel aastakümnetel on see püsinud stabiilsel tasemel. 2006. aastal alustati organiseeritud emakakaelavähi sõeluuringuga, kuhu kutsutakse ≥ 30 -aastaseid naisi iga viie aasta järel. Kutsutute nimekirjast jäävad välja tervisekindlustuseta ja emakakaelavähi diagnoosiga naised ning need inividid, kellele on viimase 12 kuu jooksul tehtud riigi poolt rahastatud Pap-test. Suureks probleemiks on see, et väga vähe naisi kasutab võimalust skriininguprogrammis osaleda. 2006. aastal tegi Pap-testi 20,7% kutsutud naistest, aastaks 2009 oli osalus kasvanud 36%-ni. Siiski moodustavad organiseeritud sõeluuringu käigus võetud Pap-testid kõikidest Eestis läbiviidud Pap-testidest vähem kui 10%, enamasti viiakse antud test läbi günekoloogi juures rutiinse tervisekontrolli raames (Kivistik *et al.*, 2011).

Aastal 2005–2006 viidi läbi senimaani ainuke uuring, mis hindas erinevate kõrge- ja madalariskiliste HPV-de levimust eestlaste hulgas. Uuringus osales 845 naist vanuses 18–35 eluaastat. Osalejad võtsid endilt ise proovid postiga saadetud komplekti abil. Kõrgeriskilisteks HPV-deks loeti tüübid 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 ja 82 ning potentsiaalse vähitekitava toimega 26, 53 ja 66. Madariskilised olid aga tüübid 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 ja 89 (Uusküla *et al.*, 2010).

Tagastatud proovidest olid 326 sobivad HPV testimiseks, millest 37% olid positiivsed inimese PV suhtes. Uuringust järeldus, et üleüldine HPV levimus on suurim 21–25-aastaste vanusegrupis, kuid kõrgeriskilisi HPV-sid esines kõige rohke noorimas vanusegrupis (18–20-aastased). Kõrgeriskilisi HPV tüüpe leidis 21% ja madalariskilisi 10% proovidest. 7% juhtudest oli tegu tundmatu HPV tüübiga. Enimlevinud tüüpid olid 16 (6,4%), 53 (4,3%) ja 66

(2,8%) (kõrgeriskilised) ning 61 (4,6%) ja 81 (2,5%) (madalariskilised). HPV18 tüüpi aga esines märkimisväärselt vähe (0,6%). Tabelist 2 võib leida uuringu käigus tuvastatud HPV tüüpide levimuse Eesti naiste hulgas. (Uusküla *et al.*, 2010).

Tabel 2. HPV tüüpide levimus naiste seas aastal 2006 (Uusküla *et al.*, 2010).

	Arv	Levimus (%)	95% CI
Kõrgeriskilised HPV-d			
HPV 16	21	6.4	4.0-9.8
HPV 53	14	4.3	2.3-7.2
HPV 66	9	2.8	1.3-5.2
HPV 31	7	2.1	0.9-4.4
HPV 51	7	2.1	0.9-4.4
HPV 58	6	1.8	0.7-4.0
HPV 33	5	1.5	0.5-3.6
HPV 18	2	0.6	0.01-2.2
HPV 45	2	0.6	0.01-2.2
HPV 39	1	0.3	0-1.7
HPV 52	1	0.3	0-1.7
HPV 82	1	0.3	0-1.7
Madalariskilised HPV-d			
HPV 61	16	4.6	2.6-7.6
HPV 81	8	2.5	1.1-4.8
HPV 83	4	1.2	0.3-3.1
HPV 54	3	0.9	0.2-2.7
HPV 62	2	0.6	0.01-2.2
HPV 72	2	0.6	0.01-2.2
HPV 84	2	0.6	0.01-2.2
HPV 6	1	0.3	0-1.7
HPV 11	1	0.3	0-1.7
HPV6 või HPV11	2	0.6	0.01-2.2
HPV16 või HPV18	23	7.1	4.5-10.6
Ainult üks HPV tüüp	83	25.5	20.3-31.6
Mitu HPV tüüpi	15	4.6	2.6-7.6

Eestis diagnoositakse keskmiselt 160 uut emakakaelavähi esmajuhtu aastas, enamik positiivsetest naistest on 35–54-aastased. Inimese PV levimus on suur alla 25-aastaste seas, seejärel vanuse kasvades väheneb ja stabiliseerub 40-ndates eluaastates. Aastal 2008 tuvastati Eestis keskmiselt 15,8 uut emakakaelavähi juhtu 100 000 naise kohta, samal aastal aga suri antud vähki 6,2 naist 100 000-st. Võrdluseks võib tuua näiteks Lääne-Euroopa, kus

emakakaelavähk tuvastatakse astas ainult 6,9 naisel 100 000-st (Kiisk *et* Laius, 2014). Aastal 2011 suri Eestis emakakaelavähki 63 naist ja aastal 2012 72 naist [6]. Tabelitest 3 ja 4 võib leida Tervise Arengu Instituudi andmed emakakaelavähi ja emakakaela düsplaasiate esmajuhude kohta ning tabel 5 toob välja emakakaelavähi haiguskindajad 100 000 naise kohta.

Tabel 3. Emakakaelavähi esmajuhud Eestis [6].

	2007	2008	2009	2010	2011
20-29	5	6	8	5	3
30-39	25	24	25	24	11
40-49	54	44	63	32	36
50-59	38	54	46	39	49
≥60	69	68	54	71	70
Kokku	191	196	196	171	169

Tabel 4. Emakakaela düsplaasia esmajuhud Eestis [6].

	2009	2010	2011	2012	2013
15-19	145	146	114	105	113
20-34	2111	2167	2257	2261	2611
35-54	1316	1287	1282	1328	1516
55-74	182	184	200	201	304
≥75	29	10	22	16	26
Kokku	3783	3794	3875	3911	4570

Tabel 5. Emakakaelavähi haiguskindajad Eestis 100 000 naise kohta [6].

2007	2008	2009	2010	2011
26,6	27,4	27,6	24	23,9

Emakakaelavähi juhte ja vähieelseid seisundeid, mis võivad areneda pahaloomuliseks, aitaks vähendada vaksineerimine. Aastal 2006 toodi Eestis turule neljavalentne vaktsiin, kahevalentset vaktsiini on turustatud alates 2007. aastast. Mõlemaid vaktsiine kasutatakse

HPV tüüpide 16 ja 18 poolt põhjustatud emakakaelavähi ja naissuguelundite vähieelsete kahjustuste ennetamiseks ning Gardasili lisaks ka kondüloomide ärahoidmiseks. Vaktsiinid ei kuulu siamaani riiklikku immuniseerimiskavva, kuid üksikud omavalitsused on toetanud HPV-vastast vaktsineerimist (Kiisk *et* Laius, 2014). Tartu Ülikooli Kliinikumis maksab üks doos Cervarixi 115 eurot ja üks doos Gardasili 131 eurot [8].

Vahemikus 2006-2013 intensiivistus HPV-vaktsiinide müümine paaril turuletuleku järgsel aastal ning stabiliseerus 2010. aastal. Keskmiselt väljastatakse hulgimüügist 3200 annust vaktsiini aastas. Terviseameti andmete põhjal võib näha, et vahemikul 2008–2013 püsis HPV-vastane vaktsineerimine stabiilsel tasemel, kogu vaktsiinikuuri läbib aastas keskmiselt 1100–1200 isikut, sh umbes 150 last ja 120 noorukit. Eelnevast infost tuleb välja, et 79% vaktsineeritutest on täiskasvanud. Ajavahemikul 01.07.2012 kuni 31.12.2013 kirjutati kokku 1042 HPV-vastase vaktsiini retsepti. Retseptide arvust lähtudes manustatakse enamik vaktsiiniannustest tervishoiuteenuse osutamise käigus patsiendile retsepti kirjutamata. 58% retseptidest oli Cervarixi ja 42% Silgardi retseptid. Umbes 20% retseptidest jäi välja ostmata. Perioodil 2011–2013 sai vaktsiiniretsepti 395 isikut: 383 (97%) naist ja 12 (3%) meest. Vaktsineeritute peamise vanuserühma moodustavad 21–30-aastased naised (38%), vaktsiini esmane sihtrühm (9–13-aastased) moodustas ainult 10% kõigist vaktsineeritutest. Vaktsiini teiseks sihtrühmaks on 14–26-aastased naised, nemad moodustasid 57% kõigist vaktsineeritutest. Vaktsiine kirjutavad peamiselt välja perearstid (47%) ja naistearstid (43%). Retsepti saanutest sai vajaliku hulga vaktsiiniannuseid (kaks või kolm) 56% patsientidest (Kiisk *et* Laius, 2014).

Sotsiaalministeeriumi poolt tellitud uuringust järeldus, et 12-aastaste tüdrukute HPV-vastane vaktsineerimine hoiaks nende eluea jooksul ära umbes pooled emakakaelavähi ja surmajuhtumitest. Siiski tuli välja, et kogukulud kujuneksid vaktsineerimisel võrreldes mittevaktsineerimisega lausa kolm korda kallimaks, sest vaktsineerimisel peab arvesse võtma ka vaktsiini maksumuse. Vaktsineerimisega küll rahalist kokkuhoidu ei saavutata, kuid see annab sellest hoolimata võidu elukvaliteedis (Liiv *et al.*, 2011).

4. Arutelu

Harald zur Hausen avastas *ca* 40 aastat tagasi, et inimese papilloomiviirus on seotud emakakaelavähiga. 40 aastat hiljem on antud viirus aga jätkuvalt suureks probleemiks ning suremus erinevatesse HPV poolt põhjustatud vähkidesse (eriti emakakaelavähki) paljudes riikides isegi kasvab.

Hetkel on turul kolm HPV-vastast vaktsiini. Kõik kolm vaktsiini on profülaktilise toimega ehk nendest saavad maksimaalset kasu inividid, kes ei ole veel konkreetse HPV tüübiga nakatunud. Esimesena kiideti 2006. aastal heaks Gardasil. Gardasil koosneb nelja erineva HPV tüübi VLP-dest. See kaitseb nii vähkitekitavate inimese papilloomiviiruste eest kui ka kahe madalariskilise HPV tüübi 6 ja 11 eest, mis põhjustavad rohkem kui 90% kondüloomidest nii meestel kui ka naistel. Aasta aega hiljem litsentseeriti teine HPV-vastane vaktsiin, Cervarix, mis sisaldab ainult HPV 16 ja 18 VLP-sid. Eelmise aasta lõpus aga tuli turule kolmas ennetava toimega HPV-vastane vaktsiin Gardasil 9. Gardasil 9 sisaldab oma nimele vastavalt üheksa erineva HPV VLP-sid, milleks on tüübid 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 ja 58. Gardasili ja Gardasil 9-t toodab sama firma ja seetõttu on ka mõlema vaktsiini tootmisprotsessid üsna sarnased. Nelja- ja üheksavalentsetes vaktsiinides kasutatakse adjuvandina amorfses alumiinium hüdroksüfosfaat sulfaati, kahevalentses aga alumiiniumsoolast ja MPL-ist koosnevat AS04.

Kliiniliste uuringute tulemuste põhjal on kõik eelnimetatud vaktsiinid sarnase efektiivsusega. Nimelt on ATP-kohordis kõik kolm vaktsiini erinevate vaktsiinis sisalduvate HPV poolt põhjustatud kollete vastu enam kui 90% efektiivsed. Gardasil on efektiivne nii nende naiste hulgas, kes olid uuringu alguses vaktsiini HPV tüüpide suhtes naiivsed kui ka nende naiste seas, kes olid uuringu alguses mõne vaktsiini HPV tüübi suhtes positiivsed: neljavalentne vaktsiin hoidis mõlemas grupis 100%-liselt ära HPV6, 11, 16 või 18-ga seotud kõrgeriskiliste düsplaasiate ja AIS-ide esinemise (Garland et al., 2007; The FUTURE II Study Group, 2007). Cervarixi uuringutest järeldus, et kahevalentne vaktsiin on rohkem efektiivsem, hoidmaks ära HPV16 või 18-ga seotud püsivaid infektsioone kui samade HPV tüüpidega seotud ühekordseid infektsioone (Harper *et al.*, 2004; Harper *et al.*, 2006). ITT-kohordis oli vaktsiinide efektiivsus erinevate kollete vastu ootuspäraselt madalam, kuna antud kohort hõlmas naisi, kes olid uuringu alguses juba mõne HPV tüübiga nakatunud. Gardasil 9 puhul vaadeldi peamiselt vaktsiini efektiivsust ATP-kohordis HPV tüüpide 31, 33, 45, 52 ja 58 suhtes. Einstein *et al* läbiviidud uuringust järeldus, et üheksavalentne vaktsiin on väga tõhus, hoidmaks ära eelmainitud HPV tüüpidega seotud 6-kuulist püsivat infektsiooni ning nii kõrge- kui ka madalariskilisi häbeme-, tupe- ja emakakaelakoldeid (vastavalt 96% ja 97,1%)

(Einstein *et al.*, 2009). Efektiivsuse uuringutest järeldub, et kõik vaktsiinid on võrdse efektiivsusega ja vaktsiini valik võiks pigem sõltuda sellest, millised HPV tüübid antud piirkonnas rokem levinud on.

Vaktsiinide immunogeensuse otsene võrdlemine erinevate uuringute põhjal on raskendatud, sest Cervarixi ja Gardasili/Gardasil 9 poolt esile kutsutud antikehade tiitreid on enamasti mõõdetud erinevatel meetoditel. Einstein *et al* aga viisid läbi spetsiaalse uuringu nende kahe vaktsiini võrdlemiseks, kasutades selleks ühtset mõõtmisviisi. Mõlema vaktsiini puhul toimus kõigis naistes 7. kuuks serokonversioon nii HPV16 kui ka 18 suhtes, kuid kahevalentne vaktsiin indutseeris kõrgema antikeha tiitri moodustumist võrreldes neljavalentse vaktsiiniga: HPV16-vastaste antikehade tiitrid olid 2,3–4,8 korda kõrgemad ja HPV18-vastaste antikehade tiitrid 6,8–9,1 korda kõrgemad (Einstein *et al.*, 2009). Uuringust V501-001 selgus, et üheksa- ja neljavalentsete vaktsiinide mõjul moodustunud antikehade tiitrid on omavahel võrdväärsed (Joura *et al.*, 2009). Eelnevast infost tulenevalt võiks Cervarixi kasuks otsustada just nendes piirkondades, kus HPV16 ja 18 esinemissagedus on kõrge, kuid kondüloomid ei ole nii nii suureks probleemiks.

HPV-vastaste vaktsiinide kaitse kestvus on veel teadmata, uuringud veel käivad. Cervarixi puhul on täheldatud, et ka 8,4 aastat pärast vaktsineerimist püsib organismis kõrge HPV-vastaste antikehade hulk. Olsson *et al* läbiviidud uuringus aga avastati, et kolmandikul Gardasili saanud naistest olid HPV18-vastased antikehade tiitrid 60. kuul alla detekteeritava taseme, samas ei täheldatud nende naiste hulgas vastava HPV tüübiga seotud infektsioonide/haiguslike seisundite kasvu. Uuringust järeldus, et eelnevatel indiviididel, tõusis 61. kuuks *booster*-doosi mõjul vastavate antikehade tase kõrgemaks kui see oli 7. kuul pärast esimese doosi manustamist (Olsson *et al.*, 2007). Antud nähtus viitab immuunmälu olemasolule – isegi siis, kui vastavaid HPV-vastaseid antikehasid organismis ei tuvastata, siis loomuliku infektsiooni tagajärjel need siiski tekivad. Sellest võib järeldada, et vastavate antikehade olemasolu tuvastamine organismis ei tohiks olla määrav selles osas, millist vaktsiini eelistada, kuna immuunmälu olemasolu tõttu moodustuvad viirusinfektsiooni mõjul organismis taas HPV-vastased antikehad, mis aja jooksul olid langenud alla detekteeritava taseme piiri.

Gardasil ja Cervarix kaitsevad HPV tüüpide 16 ja 18 eest, mis kokkuvõttes põhjustavad 70% kõikidest emakakaelavähi juhtudest. Gardasil 9, mis sisaldab seitsme onkogeense ja kahe madalariskilise HPV tüübi VLP-sid, võiks teoreetiliselt kaitsta enam kui 90% emakakaelavähi juhtude eest. Samuti on täheldatud, et teatud määral kaitseb vaktsiin ka inimese PV tüüpide eest, mis on lähedases suguluses vaktsiinis sisalduvate HPV tüüpidega.

Cervarix on näidanud tõhusat riskkaitset tüüpide 31, 33, 45 ja 51 vastu. Näiteks oli kahevalentne vaktsiin 87,5% efektiivne hoidmaks ära HPV31-ga seotud CIN2+ seisundeid (Descamps *et al.*, 2009). Uuringu alguses HPV naiivsete naiste hulgas vähendas Gardasil HPV31 ja 45-ga seotud infektsioonide hulka 40% võrra, lisaks täheldati veel riskkaitset HPV tüüpide 33, 52 ja 58 (Brown *et al.*, 2009). Gardasil 9 riskkaitse kohta hetkel andmed puuduvad. Samas ei ole teada riskkaitse kestus, arvatavasti on antud nähtus ainult lühiajaline ja nõrgeneb aja jooksul olematu tasemeni.

Eestis on emakakaelavähi sõeluuringute programmis osalemine väga väike, seetõttu on Eesti üks neid riike, kus emakakaelavähi haigestumus ja suremus on üks Euroopa kõrgemaid. Enamik Pap-testidest teostatakse rutiinse günekoloogilise kontrolli käigus. Taolised oportunistlikud sõeluuringud aga raiskavad inim- ja rahalist ressursi ja suurendavad sotsiaalset ebavõrdsust. Suurt suremust HPV poolt põhjustatud erinevatesse vähkidesse aitaks vähendada vaktsineerimine. Profülaktilistest vaktsiinidest on Eestis aastast 2007 litsentseeritud nii Gardasil kui ka Cervarix, Mõlemad on lubatud indiviididele alates 9. eluaastast, ülemmäära pole seatud (erinevalt USA-st, kus mõlemad vaktsiinid on lubatud 9-26-aastastele). Vaktsiinid ei ole riiklikus immuniseerimiskavas ning iga soovija peab selle eest ise maksma. Mõnes omavalitsuses siiski osaliselt kaetakse vaktsiini maksumus. Kolme vaktsiinidoosi hind kokku on *ca* 300 eurot. Vaktsiini kalli hinna tõttu ei ole HPV-vastane vaktsineerimine Eestis väga levinud ning on viimastel aastatel isegi veidi langenud. Peamiseks vaktsiinisaajate sihtgrupiks on 9-13-aastased noorukid, Eestis aga on vaktsineerimine levinud pigem täiskasvanute seas. Retseptikeskuse andmetel eelistatakse kahevalentset vaktsiini veidi rohkem kui neljavalentset – vahemikus 2012-2013 kirjutati kokku 1042 HPV-vaktsiini retsepti, millest 58% olid Cervarixi ja 42% Gardasili retseptid.

Emakaelavähki haigestumus on Eestis keskmisest kõrgem ning see pole viimase kümne aasta jooksul langenud, mistõttu võiks mõelda HPV-vastase vaktsiini lisamisele riiklikku immuniseerimisprogrammi. Liiv *et al* uurisid Cervarixi/Gardasili kulutõhusust Eestis ning antud uuringust järeldus, et sihtgrupi vaktsineerimine läheks lausa kolm korda kallimaks kui mittevaktsineerimine. Vaktsineerimisega jääksid küll paljud surmad olemata, kuid rahalises mõttes tuleks odavam HPV-ga nakatunud indiviidide ravimine kui ennetustöö tegemine (Liiv *et al.*, 2011). Uusküla *et al* läbiviidud uuringust tuli välja, et kuigi HPV16 on ka Eestis enimlevinud, siis teisi vaktsiinide koostises olevaid HPV tüüpe 6, 11 ja 18 leidub Eesti rahvastiku seas märkimisväärselt vähem. HPV 16 vastutab küll väga suure osa emakakaelavähi juhtude eest, kuid teiste eestlaste hulgas enimlevinud HPV tüüpide

(kõrgeriskilised HPV tüübid 53 ja 66 ning madalariskilised HPV tüübid 61, 81 ja 83) vastu turul olevad vaktsiinid kaitset ei paku (Uusküla *et al.*, 2010).

Profülaktiliste HPV vaktsiinide toime on tõhusam, kui neid manustada enne, kui alustatakse aktiivset suguelu. Seetõttu ongi HPV-vastase vaktsineerimise esmaseks sihtgrupiks noorukid vanuses 9-13 eluaastat. Eelistatult vaktsineeritakse siiski noori tüdrukuid, kuna vaktsiinide peamiseks eesmärgiks on ära hoida emakakaelavähki. Noorte poiste HPV-vastane vaktsineerimine on Euroopas küll lubatud, kuid ei kuulu riiklikusse vaktsineerimisprogrammi mitte üheski riigis. Poisid ja noored mehed saaksid eelkõige kasu just Gardasilist, kuna see kaitseb kondüloomide eest. Mõlemad vaktsiinid on näidanud tõhusat kaitset ka päraku- ja peenisevähkide vastu. Sihtgrupist välja jäänute lisamine vaktsineerimisprogrammi aitaks kaasa kiiremale „karjaimmuunsuse“ tekkimisele. Esmase infektsiooni ärahoidmine aitab seksuaalselt aktiivsete indiviidide lõhkuda levimisahelat – vaktsineeritud indiviidid ei anna HPV infektsiooni edasi oma partnerile.

Väga suur valupunkt HPV-vastaste vaktsiinidega seoses on nende kõrge hind võrreldes teiste vaktsiinidega. Emakakaelavähi levimus on eriti suur just arengumaades, kus puuduvad piisavad rahalised vahendid ennetustööks ja samuti vaktsiinide muretsemiseks. Seetõttu on just eriti oluline muuta HPV-vastased vaktsiinid kättesaadavaks ka vähearenenud maades. Veelgi enam, mõlemad vaktsiinid säilitavad oma konformatsioonilise stabiiluse 2–8° C juures, arengumaades aga puuduvad sobilikud tingimused vaktsiinide säilitamiseks. Vaktsiinide tootmiskulusid aitaks vähendada VLP-de tootmine teistsugustes ekspressioonisüsteemides, näiteks *E. coli*'s või transgeensetes taimedes. Samuti võiks vaktsiinide manustamist kombineerida teiste hetkel kasutusel olevate vaktsiinidega või dooside vähendamine näiteks kolmelt kahele.

Vaktsineerimise osas on seni veel mitmeid teemasid, mida on veel vähe uuritud. Siiamaani ei ole veel kindlaid andmeid rasedate naiste vaktsineerimise ohutuse või mõju kohta. Profülaktiliste vaktsiinidega läbiviidud uuringutest on välja jäetud rasedad ning osalejatel soovitatakse vaktsiinikuuri ajal kasutada efektiivseid rasestumisvastaseid vahendeid. Enamikul naistel, kes jäid vaktsiinikuuri ajal rasedaks, sündisid normaalsed lapsed, sünnianomaaliaid esines sama sagedusega, nagu tavapopulatsiooniski. HPV põhjustab väga suure osa ka suuõõne ja kõrivähkidest. Cervarixi ja Gardasili uuringud on aga enamasti keskendunud teistele vähkidele ning pea- ja kaelavähid on jäänud tähelepanuta. Kuna antud vähkidesse haigestumine on viimasel ajal olnud tõusuteel, siis peaks uurima ka profülaktiliste vaktsiinide efektiivsust nende vähkide vastu.

Emakakaelavähi kiiret elimineerimist populatsioonist takistab ka asjaolu, et praegused vaktsiinid on oma olemuselt ainult profülaktilise toimega – neist ei ole kasu naistele, kes on juba inimese papilloomiviirusega nakatunud. Seetõttu on hakatud suurt rõhku panema terapeutiliste vaktsiinide väljatöötamisele, mis on eelkõige suunatud onkogeensete valkude E6 ja E7 vastu. Terapeutilised vaktsiinid peavad vastu astuma viirusele, mis on juba raku sisse saanud ning see hõlmab endas enamasti T-rakulist immuunvastust. Terapeutiliste vaktsiinide loomisel on kasutatud mitmeid erinevaid strateegiaid, inimkatseteni on neist jõudnud peptiididel, valkudel, elusvektoritel, DNA-l ja dentriitrakkudel põhinevad vaktsiinid. Hetkel ühtegi terapeutilist vaktsiini veel heaks kiidetud ei ole, aga töö selles suunas jätkub.

KOKKUVÕTE

Hetkel on turul kolm HPV-vastast vaktsiini. Hiljuti litsentseeritud Gardasil 9 kohta on küll veel vähe uuringuid avaldatud, kuid teoreetiliselt peaks see kaitsma rohkem kui 90% HPV-de eest. Uuringud on näidanud, et Gardasil ja Cervarix on väga efektiivsed, hoidmaks ära nii adenokartsinoomi kui ka erinevaid vähieelseid seisundeid. Emakakaelavähi ärahoidmine on küll profülaktiliste vaktsiinide peamine eesmärk, kuid selle määramine tulemusnäitajaks ei ole eetilistel kaalutustel mõistlik. Lisaks kaitsevad Gardasil/Gardasil 9 ka kondüloomide eest. Cervarixi ja Gardasili puhul on täheldatud, et need kutsuvad esile suurema antikehade hulga moodustumise 9–15-aastaste noorukite seas võrreldes 16–26-aastaste naistega. Ühtlasi saavad vaktsiinidest kasu ka vanemad kui 26-aastased inividid, sest nad on kaitstud vaktsiinis sisalduvate HPV tüüpide eest, mille suhtes nad positiivsed ei ole. Mõlemad vaktsiinid on näidanud osalist riskkaitset tüüpide 45, 31 ja 33 vastu, mis tõstab nende efektiivsust veelgi. Kõik kolm vaktsiini on ohutud, põhjustades ainult kergeid kuni mõõdukaid kõrvaltoimeid, millest levinuimaks on valu süstimiskohas.

Vaktsineerimine koos sõeluuringutega on Lääne-Euroopa riikides oluliselt vähendanud emakakaelavähi esmajuhude ja surmade arvu. Eestis pole HPV-vastane vaktsiin riiklikus immuniseerimiskavas, sellest hoolimata, et HPV-ga seotud vähkidesse haigestumine ja suremine on viimase kümne aasta jooksul püsinud stabiilselt kõrgel tasemel. Riigi poolt rahastatud vaktsineerimine poleks küll kulutõhus, kuid sellega võidaks elukvaliteedilt. Cervarix, Gardasil ja Gardasil 9 on ainult profülaktilise toimega – need pakuvad kaitsevad vaid HPV tüüpide vastu, millega inivid ei ole nakatunud. Gardasil ja Cervarix kaitsevad kokku rohkem kui 70% HPV-de eest, Gardasil 9 tõstab selle protsendi 90-ni. Arendamisel on vaktsiinid, mis oleksid tõhusad ka ülejäänud 10% HPV tüüpide vastu. Katsetatud on nii minoorse kapsiidivalgu L2 põhjal tehtud vaktsiine kui ka vaktsiinide valentsuse tõstmist. Vaktsiinide hinna langetamiseks on L1 valke proovitud toota teistes ekspressioonisüsteemis (nt *E. coli*'s), samuti on katsetatud teistsuguseid manustamisviise (suukaudne, süstimine otse emakakaela).

Profülaktilised vaktsiinid siiski ei paku kaitset suurele hulgale inimestele, kes on juba viirusega nakatunud. Veelgi enam, läheb kaua aega, enne kui saab hinnata ennetavate vaktsiinide efektiivsust, kuna vähi loomulik areng on aeglane. Seetõttu on proovitud erinevaid strateegiaid, mis indutseeriks haiguslike kollete regressiooni. Terapeutilised vaktsiinid on suunatud eelkõige viiruslike onkovalkude E6 ja E7 vastu, sest neid ekspresseeritakse vähkides ja vähi-eelsetes seisundites viirusevalkudest kõige enam. Häid tulemusi on näidanud nii elusvektoritel, dentriitrakkudel, DNA-viirustel kui ka valkudel ja

peptiididel põhinevad vaktsiinid. Mitmeid terapeutiliste vaktsiinide kandidaate on juba inimeste peal I või II faasi uuringutes katsetatud, kuid heaks kiidetud praeguseks ühtki neist pole.

Vaccines against Human Papillomavirus

Lehte Türk

SUMMARY

Human papillomavirus (HPV) is a DNA virus known to infect stratified epithelium at mucosal and cutaneous sites of the skin. Most of the HPV types are harmless and only cause benign warts on the skin and anogenital area. However some of the HPV types are more persistent than others, they stay in the organism for a long time and this, in turn, can lead to cancer. Transformation zone of the cervical epithelium is very susceptible to different virus infections, including HPV. HPV is major cause of cervical cancer. In fact, HPV types 16 and 18 cause over 70% of cervical cancers worldwide and subset of other cancers like vaginal, vulvar, penile, anal and oropharyngeal cancers. The burden of cervical cancer (especially in the developing countries) has led to a development of prophylactic HPV vaccines. Currently there are three HPV vaccines on the market.

The aim of this study was to analyse and compare the efficacy, immunogenicity and safety of the three licensed HPV vaccines. Furthermore, this work gives an overview of the organised vaccination programmes in the Europe and the vaccination coverage among Estonians. In addition this thesis gives a brief overview of the perspectives of the future prophylactic and therapeutic vaccines.

This study concludes that all of the three prophylactic vaccines currently on the market are very efficacious against different precancerous and cancerous lesions which arise from the anogenital area. Gardasil and Gardasil 9 also protect against genital warts – the most common sexually transmitted disease in the world. Those three vaccines are well tolerated amongst all the age groups and cause only local and systematic side effects which range from mild to moderate. It was noticed that Gardasil and Cervarix induced higher concentration of anti-HPV antibodies in the younger age group (9-15) compared to over 16-year-olds, but on 7th month after the first vaccine dose the antibody titres were higher than during natural infection in all of the age groups.

Currently there is no organised vaccination programme in Estonia, although the incident cervical cancer cases and deaths caused by HPV have remained stable during the last decade. Although vaccinating the target group would save many lives according to one Estonian study it would not be cost-effective. Due to the fact that a lot of people in the world have already been infected by HPV the need for therapeutic HPV vaccines is the topic at issue. Unfortunately all of the methods being currently developed are not to be licensed in the near future.

KASUTATUD KIRJANDUS

- Amador-Molina, A.; Hernandez-Valencia, J. F.; Lamoyi, E.; Contreras-Paredes, A.; Lizano, M. (2013)**, "Role of Innate Immunity against Human Papillomavirus (HPV) Infections and Effect of Adjuvants in Promoting Specific Immune Response", *Viruses*, 5: 2624-2642
- Bergot, A.-S.; Kassianos, A.; Frazer, I. H.; Mittal, D. (2011)**, "New Approaches to Immunotherapy for HPV Associated Cancers", *Cancers*, 3: 3461-3495
- Block, S. L.; Nolan, T.; Sattler, C.; Barr, E.; Giacoletti, K. E. D.; Marchant, C. D.; Castellsagué, X.; Rusche, S. A.; Lukac, S.; Bryan, J. T.; Cavanaugh Jr, P. F.; Reisinger, K. S. (2006)**, "Comparison of the Immunogenicity and Reactogenicity of a Prophylactic Quadrivalent Human Papillomavirus (Types 6, 11, 16, and 18) L1 Virus-Like Particle Vaccine in Male and Female Adolescents and Young Adult Women", *Pediatrics*, 118(5)
- Bodily, J.; Laimins, L. A. (2011)**, "Persistence of Human Papillomavirus Infection: Keys to Malignant Progression", *Trends in Microbiology*, 19(1)
- Brown, D. R.; Kjaer, S. K.; Sigurdsson, K.; Iversen, O.-E.; Hernandez-Avila, M.; Wheeler, C. M.; Perez, G.; Koutsky, L. A.; Tay, E. H.; Garcia, P.; Ault, K. A.; Garland, S. M.; Leodolter, S.; Olsson, S.-E.; Tang, G. W. K.; Ferris, D. G.; Paavonen, J.; Steben, M.; Bosch, F. X.; Dillner, J.; Jaura, E. A.; Kurman, R. J.; Majewski, S.; Munoz, N.; Myers, E. R.; Villa, L. L.; Taddeo, F. J.; Roberts, C.; Tadesse, A.; Bryan, J.; Lupinacci, L. C.; Giacoletti, K. E. D.; Sings, H. L.; James, M.; Hesley, T. M.; Barr, E. (2009)**, "The Impact of Quadrivalent Human Papillomavirus (HPV; Types 6, 11, 16, and 18) L1 Virus-Like Particle Vaccine on Infection and Disease Due to Oncogenic Nonvaccine HPV Types in Generally HPV-Naive Women Aged 16-26 Years", *The Journal of Infectious Diseases*, 199: 926-35
- Brun, J.-L.; Dalstein, V.; Leveque, J.; Mathevet, P.; Raulic, P.; Baldauf, J.-J.; Scholl, S.; Huynh, B.; Douvier, S.; Riethmuller, D.; Clavel, C.; Birembaut, P.; Calenda, V.; Baudin, M.; Bory, J.-P. (2011)**, "Regression of High-grade Cervical Intraepithelial Neoplasia with TG4001 Targeted Immunotherapy", *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 204: 169.e1-8
- Bzhalava, D.; Guan, P.; Franceschi, S.; Dillner, J.; Clifford, G. (2013)**, "A Systematic Review of the Prevalence of Mucosal and Cutaneous Human Papillomavirus Types", *Virology*, 445: 224-231

Cardoso, J. C.; Calonje, E. (2011),"Cutaneous Manifestations of Human Papillomaviruses", Acta Dermatovenerologica APA, 20(3)

Chu, N. R.; Wu, H. B.; Wu, T.-C.; Boux, L. J.; Mizzen, L. A.; Siegel, M. I. (2000), "Immunotherapy of a Human Papillomavirus Type 16 E7-expressing Tumour by Administration of Fusion Protein Comprised of *Mycobacterium bovis* BCG Hsp65 and HPV16 E7", Cell Stress and Chaperons, 5(5): 401-405

Cubie, H. A. (2013), "Diseases Associated with Human Papillomavirus Infection", Virology, 445: 21-34

De Carvalho, N.; Teixeira, J.; Roteli-Martins, C. M.; Naud, P.; De Borba, P.; Zahaf, T.; Sanchez, N.; Schuind, A. (2010), "Sustained Efficacy and Immunogenicity of the HPV-16/18 AS04-Adjuvanted Vaccine up to 7.3 Years in Young Adult Women", Vaccine, 28: 6247-6255

DeMay, M. (2007) "Practical Principles of Cytopathology" Revised Edition, Chicago, IL: American Society for Clinical Pathology Press

Descamps, D.; Hardt, K.; Spiessens, B.; Izurieta, P.; Verstraeten, T.; Breuer, T.; Dubin, G. (2009),"Safety of Human Papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-Adjuvanted Vaccine for Cervical Cancer Prevention. A Pooled Analysis of 11 Clinical Trials", Human Vaccines, 5:5: 332-340

Deschuyteneer, M.; Elouahabi, A.; Plainchamp, D.; Pilsnier, M.; Soete, D.; Corazza, Y.; Lockman, L.; Giannini, S.; Deschamps, M. (2010), "Molecular and Structural Characterization of the L1 Virus-Like Particles That are Used as Vaccine Antigens in Cervarix, the AS04-Adjuvanted HPV-16 and -18 Cervical Cancer Vaccine", Human Vaccines, 6:5: 407-419

Doorbar, J. (2006), "Molecular Biology of Human Papillomavirus Infection and Cervical Cancer", Clinical Science 110, 525-541

Doorbar, J.; Quint, W.; Banks, L.; Bravo, I. G.; Stoler, M.; Broker, T. R.; Stanley, M. A. (2012), "The Biology and Life-Cycle of Human Papillomaviruses", Vaccine, 30: F55-F70

Einstein, M. H.; Baron, M.; Levin, M. J.; Chatterjee, A.; Edwards, R. P.; Zepp, F.; Carletti, I.; Dessy, F. J.; Trofa, A. F.; Schuind, A.; Dubin, G. (2009), "Comparison of the Immunogenicity and Safety of Cervarix and Gardasil Human Papillomavirus (HPV) Cervical Cancer Vaccines in Healthy Women Aged 18-45 Years", Human Vaccines 5:10, 705-719

Ferrera, A.; Nonn, M.; Sehr, P.; Schreckenberger, C.; Pawlita, M.; Durst, M.; Schneider, A.; Kaufman, A. M. (2003), "Dendritic Cell-based Tumor Vaccine for Cervical

Cancer II: Results of a Clinical Pilot Study in 15 Individual Patients", *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 129: 521-530

Forslund, O. (2007), "Genetic Diversity of Cutaneous Human Papillomaviruses", *Journal of General Virology*, 88: 2662-2669

The FUTURE II Study Group (2007), "Prophylactic Efficacy of a Quadrivalent Human Papillomavirus (HPV) Vaccine in Women with Virological Evidence of HPV Infection", *The Journal of Infectious Diseases*, 196:1438-46

The FUTURE II Study Group (2007), "Quadrivalent Vaccine against Human Papillomavirus to Prevent High-Grade Cervical Lesions", *The New England Journal of Medicine*, 356(19)

Garcia, F.; Petry, K. U.; Muderspach, L.; Gold, M. A.; Braly, P.; Crum, C. P.; Magill, M.; Silverman, M.; Urban, R. G.; Hedley, M. L.; Beach, K. J. (2004), "ZYC101a for Treatment of High-Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia: a Randomized Controlled Trial", *Obstetrics and Gynecology*, 103: 317-26

Garcia-Hernandez, E.; Gonzales-Sanchez, J. L.; Andrade-Manzano, A.; Conteras, M. L.; Padilla, S.; Guzman, C. C.; Jimenez, R.; Reyes, L.; Morosoli, G.; Verde, M. L.; Rosales, R. (2006), "Regression of Papilloma High-grade Lesions (CIN 2 and CIN 3) is Stimulated by Therapeutic Vaccination with MVA E2 Recombinant Vaccine", *Cancer Gene Therapy*, 13: 592-597

Garland, S. M.; Hernandez-Avila, M.; Wheeler, C. M.; Perez, G.; Harper, D. M.; Leodolter, S.; Tang, G. W. K.; Ferris, D. G.; Steben, M.; Bryan, J.; Taddeo, F. J.; Railkar, R.; Esser, M. T.; Sings, H. L.; Nelson, M.; Boslego, J.; Sattler, C.; Barr, E.; Koutsky, L. A. (2007), "Quadrivalent Vaccine against Human Papillomavirus to Prevent Anogenital Diseases", *The New England Journal of Medicine* 356(19)

Gersch, E. D.; Gissmann, L.; Garcea, R. L. (2012), "New Approaches to Prophylactic Human Papillomavirus Vaccines for cervical Cancer Prevention", *Antiviral Therapy*, 17: 425-434

Giannini, S. L.; Hanon, E.; Moris, P.; Van Mechelen, M.; Morel, S.; Dessy, F.; Fourneau, M. A.; Colau, B.; Suzich, J.; Losonksy, G.; Martin, M.-T.; Dubin, G.; Wettendorff, M. A. (2006), "Enhanced Humoral and Memory B Cellular Immunity Using HPV 16/18 L1 VLP Vaccine Formulated with the MPL/Aluminium Salt Combination (AS04) Compared to Aluminium Salt Only", *Vaccine*, 24: 5937-5949

Govan, V. A. (2008), "A Novel Vaccine for Cervical Cancer: Quadrivalent Human Papillomavirus (Types 6, 11, 16 and 18) Recombinant Vaccine (Gardasil)", *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 4(I): 65-70

Grabowska, A. K.; Riemer, A. B. (2012), "The Invisible Enemy – How Human Papillomaviruses Avoid Recognition and Clearance by the Host Immune System", *The Open Virology Journal*, 6: 249-256

Harper, D. M.; Franco, E. L.; Wheeler, C.; Ferris, D. G.; Jenkins, D.; Schuind, A.; Zahaf, T.; Innis, B.; Naud, P.; De Carvalho, N. S.; Roteli-Martins, C. M.; Teixeira, J.; Blatter, M. M.; Korn, A. P.; Quint, W.; Dubin, G. (2004), "Efficacy of a Bivalent L1 Virus-Like Particle Vaccine in Prevention of Infection with Human Papillomavirus Types 16 and 18 in Young Women: a Randomised Controlled Trial", *The Lancet*, 364: 1757-65

Hong, S.; Laimins, L. A. (2013), "Regulation of the Life Cycle of HPVs by Differentiation and the DNA Damage Response", *Future Microbiology*, 8(12): 1547-1557

HPV-007 Study Group (2009), "Sustained Efficacy and Immunogenicity of the Human Papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-Adjuvanted Vaccine: Analysis of a Randomised Placebo-Controlled Trial Up to 6.4 Years", *Lancet*, 374: 1975-85

Hughes F. J.; Romanos M. A (1993), "E1 Protein of Human Papillomavirus is a DNA Helicase/ATPase", *Nucleic Acids Research*, 21(25): 5817-5823

Joura, E. A.; Giuliano, A. R.; Iversen, O.-E.; Bouchard, C.; Mao, C.; Mehlsen, J.; Moreira Jr., E. D.; Ngan, Y.; Petersen, L. K.; Lazcano-Ponce, E.; Pitisuttithum, P.; Restrepo, J. A.; Stuart, G.; Woelber, L.; Yang, Y. C.; Cuzick, J.; Garland, S. M.; Huh, W.; Kjaer, S. K.; Bautista, O. M.; Chan, I. S. F.; Chen, J.; Gesser, R.; Moeller, E.; Ritter, M. (2015), "A 9-Valent HPV Vaccine against Infection and Intraepithelial Neoplasia in Women", *The New England Journal of Medicine*, 372: 711-23

Keam, S. J.; Harper, D. M (2008), "Human Papillomavirus Types 16 and 18 Vaccine (Recombinant, AS04 Adjuvanted, Adsorbed) [Cervarix]", *Biodrugs*, 22(3): 205-208

Kenter, G. G.; Welters, M. J.; Valentijn, A. R.; Lowik, M. J.; Berends-van der Meer, D. M.; Vloon, A. P.; Drijfhout, J. W.; Wafelman, A. R.; Oostendrop, J.; Fleuren, G. J.; Offringa, R.; van der Burg, S. H.; Melief, C. J. (2008), "Phase I Immunotherapeutic Trial with Long Peptides Spanning the E6 and E7 Sequences of High-risk Human Papillomavirus 16 in End-stage Cervical Cancer Patients Shows Low Toxicity and Robust Immunogenicity", *Clinical Cancer Research*, 14(1): 169-77

Kenter, G. G.; Welters, M. J.; Valentijn, A. R.; Lowik, M. J.; Berends-van der Meer, D. M.; Vloon, A. P.; Essahsah, F.; Fayers, L. M.; Offringa, R.; Drijfhout, J. W.; Wafelman, A. R.; Oostendrop, J.; Fleuren, G. J.; van der Burg, S. H.; Melief, J. M. (2009), "Vaccination against HPV-16 Oncoproteins for Vulvar Intraepithelial Neoplasia", The New England Journal of Medicine, 361: 1838-47

Khallouf, H.; Grabowska A. K.; Riemer, A. B. (2014), "Therapeutic Vaccine Strategies against Human Papillomavirus", Vaccines 2: 422-462

Kiisk, K.; Laius, O. (2014), „HPV-vaktsiini kasutamise Eestis on vähene“, Eesti Arst, 93(6):345-347

Kivistik, A.; Lang, K.; Baili, P.; Anttila, A.; Veerus, P. (2011), "Women's Knowledge about Cervical Cancer Risk Factors, Screening, and Reasons for Non-participation in Cervical Cancer Screening Programme in Estonia", BMC Women's Health, 11:43

Lin, K.; Doolan, K.; Hung, C.-F.; Wu, T. C. (2010) "Perspectives for Preventive and Therapeutic HPV Vaccines" Journal of the Formosan Medical Association, 109 (1): 4-24

Lin, K.; Roosinovich, E.; Ma, B.; Hung, C.-F.; Wu, T.-C. (2010), "Therapeutic HPV DNA Vaccines", Immunologic Research, 47 (1-3): 86-112

Lua, L. H. L.; Connors, N. K.; Sainsbury, F.; Chuan, Y. P.; Wibowo, N.; Middelberg, A. P. J. (2014), "Bioengineering Virus-like Particles as Vaccines", Biotechnology and Bioengineering 111(3)

Maciag, P. C.; Radulovic, S.; Rothman, J. (2009), "The First Clinical Use of a Live-attenuated *Listeria monocytogenes* Vaccine: a Phase I Safety Study of Lm-LLO-E7 in Patients with Advanced Carcinoma of the Cervix", Vaccine, 27: 3975-3983

Maclea, J.; Koekemoer, M.; Olivier, A. J.; Stewart, D.; Hitzeroth, I. I.; Rademacher, T.; Fischer, R.; Williamson, A.-L.; Rybicki, E. P. (2007), "Optimization of Human Papillomavirus Type 16 (HPV-16) L1 Expression in Plants: Comparison of the Suitability of Different HPV-16 L1 Gene Variants and Different Cell-Compartment Localization", Journal of General Virology, 88: 1460-1469

McMurray, H. R.; Nguyen, D.; Westbrook, T. F.; Mcance, D. J. (2001), "Biology of Human Papillomaviruses", International Journal of Experimental Pathology, 82: 15-33

Muderspach, L.; Wilczynski, S.; Roman, L.; Bade, L.; Felix, J.; Small, L. A.; Kast, W. M.; Fascio, G.; Marty, V.; Weber, J. (2000), "A Phase I Trial of a Human Papillomavirus (HPV) Peptide Vaccine for Women with High-grade Cervical and Vulvar Intraepithelial Neoplasia who are HPV 16 Positive", Clinical Cancer Research, 6(9): 3406-16

Munoz, N.; Manalastas Jr, R.; Pitisuttithum, P.; Tresukosol, D.; Monsonego, J.; Ault, K.; Clavel, C.; Luna, J.; Myers, E.; Hood, S.; Bautista, O.; Bryan, J.; Taddeo, F. J.; Esser, M. T.; Vuocolo, S.; Haupt, R. M.; Barr, E.; Saah, A. (2009), "Safety, Immunogenicity, and Efficacy of Quadrivalent Human Papillomavirus (Types 6, 11, 16, 18) Recombinant Vaccine in Women Aged 24-45 Years: a Randomised, Double-Blind Trial", *The Lancet*, 373: 1949-57

Munoz, N., Kjaer, S. K.; Sigurdsson, K.; Iversen, O.-E.; Hernandez-Avila, M.; Wheeler, C. M.; Perez, G.; Brown, D. R.; Koutsky, L. A.; Tay, E. H.; Garcia, P. J.; Ault, K. A.; Garland, S. M.; Leodolter, S.; Olsson, S.-E.; Tang, G. W. K.; Ferris, D. G.; Paavonen, J.; Steben, M.; Bosch, F. X.; Dillner, J.; Huh, W. K.; Joura, E. A.; Kurman, R. J.; Majewski, S.; Myers, E. R.; Villa, L. L.; Taddeo, F. J.; Roberts, C.; Tadesse, A.; Bryan, J. T.; Lupinacci, L. C.; Giacoletti, K. E. D.; Sings, H. L.; James, M. K.; Hesley, T. M.; Barr, E.; Haupt, R. M. (2010), "Impact of Human Papillomavirus (HPV)-6/11/16/18 Vaccine on All HPV-associated Genital Diseases in Young Women", *Journal of the National Cancer Institute*, 102(5)

O'Connor, M.; Chan, S.-Y.; Bernard, H.-U. (1995), "Transcription Factor Binding Sites in the Long Control Region of Genital HPVs", Institute of Molecular and Cell Biology, National University of Singapore

Olsson, S.-E.; Villa, L. L.; Costa, R. L. R.; Petta, C. A.; Andrade, R. P.; Malm, C.; Iversen, O.-E.; Hoyer, J.; Steinwall, M.; Riis-Johannesen, G.; Andersson-Ellstrom, A.; Elfgrén, K.; von Krogh, G.; Lehtinen, M.; Paavonen, J.; Tamms, G. M.; Giacoletti, K.; Lupinacci, L.; Esser, M. T.; Vuocolo, S. C.; Saah, A. J.; Barr, E. (2007), "Induction of Immune Memory Following Administration of a Prophylactic Quadrivalent Human Papillomavirus (HPV) Types 6/11/16/18 L1 Virus-Like Particle (VLP) Vaccine", *Vaccine*, 25: 4931-4939

Paavonen, J.; Jenkins, D.; Bosch, F. X.; Naud, P.; Salmeron, J.; Wheeler, C. M.; Chow, S.-N.; Apter, D. L.; Kitchener, H. C.; Castellsague, X.; de Carvalho, N. S.; Skinner, S. R.; Harper, D. M.; Hedrick, J. A.; Jaisamram, U.; Limson, G. A. M.; Dionne, M.; Quint, W.; Spiessens, B.; Peeters, P.; Struyf, F.; Wieting, S. L.; Lehtinen, M. O.; Dubin, G. (2007), "Efficacy of a Prophylactic Adjuvanted Bivalent L1 Virus-Like-Particle Vaccine Against Infection with Human Papillomavirus Types 16 and 18 in Young Women: an Interim Analysis of a Phase III Double-Blind, Randomised Controlled Trial", *The Lancet*, 369: 2161-70

Paavonen, J.; Naud, P.; Salmerón, J.; Wheeler, C. M.; Chow, S.-N.; Apter, D.; Kitchener, H.; Castellsague, X.; Teixeira, J. C.; Skinner, S. R.; Hedrick, J.; Jaisamrarn, U.; Limson, G.; Garland, S.; Szarewski, A.; Romanowski, B.; Aoki, F. Y.; Schwarz, T. F.; Poppe, W. A. J.; Bosch, F. X.; Jenkins, D.; Hardt, K.; Zahaf, T.; DEscamps, D.; Struyf, F.; Lehtinen, M.; Dubin, G. (2009), "Efficacy of Human Papillomavirus (HPV)-16/18 AS04-Adjuvanted Vaccine against Cervical Infection and Precancer Caused by Oncogenic HPV Types (PATRICIA): Final Analysis of a Double-Blind, Randomised Study in Young Women", *The Lancet*, 374: 301-14

Padrik, L.; Raud, T.; Sekavin, A.; Vaasna, I.; Šois, M. (2007), „Emakakaela vähieelsete seisundite diagnoosimine, jälgimine ja ravi“, Eesti Naistearstide Seltsi ravijuhend, versioon 2

Pandhi, D; Sonthalia, S. (2011), "Human Papilloma Virus: Current Scenario", *Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases and AIDS*, 32: 75-85

Pang, C. L.; Thierry, F. (2013), "HPV Proteins as Prospective Therapeutic Targets", *Microbial Pathogenesis*, 58: 55-65

Patel, H.; Wagner, M.; Singhal, P.; Kothari, S. (2013), "Systematic Review of the Incidence and Prevalence of Genital Warts", *BMC Infectious Diseases*, 13:39

Pedersen, C.; Petaja, T.; Strauss, G.; Rumke, H. C.; Pöder, A.; Richardus, J. H.; Spiessens, B; Descamps, D.; Hardt, K; Lehtinen, M.; Dubin, G. (2007), "Immunization of Early Adolescent Females with Human Papillomavirus Type 16 and 18 L1 Virus-Like Particle Vaccine Containing AS04 Adjuvant", *Journal of Adolescent Health*, 40: 564-571

Petäjä, T.; Pedersen, C.; Pöder, A.; Strauss, G.; Catteau, G.; Thomas, F.; Lehtinen, M.; Descamps, D. (2011), "Long-Term Persistence of Systemic and Mucosal Immune Response to HPV-16/18 AS04-Adjuvanted Vaccine in Preteen/Adolescent Girls and Young Women", *International Journal of Cancer*, 129: 2147-2157

Regan, J. A.; Laimins L. A (2008), "Bap31 is a Novel Target of the Human Papillomavirus E5 Protein", *Journal of Virology*, 82(20): 10042-10051

Reisinger, K. S.; Block, S. L.; Lazcano-Ponce, E.; Samakoses, R.; Esser, M. T.; Erick, J.; Puchalski, D.; Giacoletti, K. E. D.; Sings, H. L.; Lukac, S.; Alvarez, F. B.; Barr, E. (2007) "Safety and Persistent Immunogenicity of a Quadrivalent Human Papillomavirus Types 6, 11, 16, 18 L1 Virus-Like Particle Vaccine in Preadolescents and Adolescents: a Randomized Controlled Trial", *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 26(3): 201-209

Ressing, M. E.; van Driel, W. J.; Brandt, R. M.; Kenter, G. G.; de Jong, J. H.; Bauknecht, T.; Fleuren, G. J.; Hoogerhout, P.; Offringa, R.; Sette, A.; Celis, E.; Grey, H.; Trimbos, B. J.; Kast, W. M.; Melief, C. J. (2000), "Detection of T Helper Responses,

But Not of Human Papillomavirus-specific Cytotoxic T-lymphocyte Responses, after Peptide Vaccination of Patients with Cervical Carcinoma", *Journal of Immunotherapy*, 23(2): 255-66

Roteli-Martins, C. M.; Naud, P.; De Borba, P.; Teixeira, J. C.; De Carvalho, N. S.; Zahaf, T.; Sanchez, N.; Geeraerts, B.; Descamps, D. (2012), "Sustained Immunogenicity and Efficacy of the HPV-16/18 AS04-Adjuvanted Vaccine Up to 8.4 Years of Follow-Up", *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 8:3: 390-397

Santin, A. D.; Bellone, S.; Palmieri, M.; Zanolini, A.; Ravaggi, A.; Siegel, E. R.; Roman, J. J.; Pecorelli, S.; Cannon, M. J. (2008), "Human Papillomavirus Type 16 and 18 E7-pulsed Dendritic Cell Vaccination of Stage IB or IIA Cervical Cancer Patients: a Phase I Escalating-dose Trial", *Journal of Virology*, 82(4): 1968-1979

Singh, G. K.; Azuine, R. E.; Siahpush, M. (2012), "Global Inequalities in Cervical Cancer Incidence and Mortality are Linked to Deprivation, Low Socioeconomic Status, and Human Development" *International Journal of MCH and AIDS* 1(1): 17-30

Moscicki, A.-B. (2008), "HPV Vaccines: Today and in the Future", *Journal of Adolescent Health*, 43: S26-S40

Rubio, I.; Bolchi, A.; Moretto, N.; Canali, E.; Gissmann, L.; Tommasino, M.; Müller, M.; Ottonello, S. (2009), "Potent Anti-HPV Immune Responses Induced by Tandem Repeats of the HPV16 L2 (20-38) Peptide Displayed on Bacterial Thioredoxin", *Vaccine*, 27: 1949-1956

Schottenfeld, D.; Fraumeni, J. F. (2006), "Cancer Epidemiology and Prevention", 3rd edition, USA: Oxford University Press

Schiller, J. T.; Lowy, D. R. (2012), "Understanding and Learning from the Success of Prophylactic Human Papillomavirus Vaccines", *Nature Reviews Microbiology*, 10

Schiller, J. T.; Nardelli-Haeffliger, D. (2006) "Chapter 17: Second Generation HPV Vaccines to Prevent Cervical Cancer", *Vaccine*, 24S3: S3/147-S3/153

Schwarz, T. F (2009), "Clinical Update of the AS04-Adjuvanted Human Papillomavirus-16/18 Cervical Cancer Vaccine, Cervarix", *Advances in Therapy*, 26(11): 983-998

Schwarz, T. F.; Spaczynski, M.; Schneider, A.; Wysocki, J.; Galaj, A.; Perona, P.; Poncelet, S.; Zahaf, T.; Hardt, K.; Descamps, D.; Dubin, G. (2009), "Immunogenicity and Tolerability of an HPV-16/18 AS04-Adjuvanted Prophylactic Cervical Cancer Vaccine in Women Aged 15-55 Years", *Vaccine*, 27: 581-587

Stanley, M. (2005), "Immune Responses to Human Papillomavirus", *Vaccine*, 24S1: S1/16-S1/22

Stanley, M. (2008), "Immunobiology of HPV and HPV vaccines", *Gynecologic Oncology* 109: S15–S21

Steller, M. A.; Gurski, K. J.; Murakami, M.; Daniel, R. W.; Shah, K. V.; Celis, E.; Sette, A.; Trimble, E. L.; Park, R. C.; Marincola, F. M. (1998), "Cell-mediated Immunological Responses in Cervical and Vaginal Cancer Patients Immunized with a Lipidated Epitope of Human Papillomavirus Type 16 E7", *Clinical Cancer Research*, 4: 2103-2109

Stubenrauch, F.; Laimins, L. A. (1999), "Human Papillomavirus Life Cycle: Active and Latent Phases", *Cancer Biology*, 9: 379-386

Su, J.-H.; Wu, A.; Scotney, E.; Ma, B.; Monie, A.; Hung, C.-F.; Wu, T.-C. (2010), "Immunotherapy for Cervical Cancer", *Biodrugs*, 24(2): 109-129

Trimble, C. L.; Peng, S.; Kos, F.; Gravitt, P.; Viscidi, R.; Sugar, E.; Pardoll, D.; Wu, T. C. (2009), "A Phase I Trial of a Human Papillomavirus (HPV) DNA Vaccine for HPV16+ Cervical Intraepithelial Neoplasia 2/3", *Clinical Cancer Research*, 15(1): 361-367

Uusküla, A.; Kals, M.; Kosekranius, L.; McNutt, L.-A.; DeHovitz J, J. (2010), "Population-based Type-specific Prevalence of High-risk Human Papillomavirus Infection in Estonia", *BMC Infectious Diseases*, 10:63

van Driel, W. J.; Rensing, M. E.; Kenter, G. G.; Brandt, R. M.; Krul, E. J.; van Rossum, A. B.; Schuurin, E.; Offringa, R.; Bauknecht, T.; Tamm-Hermelink, A.; van Dam, P. A.; Fleuren, G. J.; Kast, W. M.; Melief, C. J.; Trimbos, J. B. (1999), "Vaccination with HPV16 Peptides of Patients with Advanced Cervical Carcinoma: Clinical Evaluation of Phase I-II Trial", *European Journal of Cancer*, 35(6): 946-52

Villa, L. L.; Ault, K. A.; Giuliano, A. R.; Costa, R. L. R.; Petta, A. A.; Andrade, R. P.; Brown, D. R.; Ferenczy, A.; Harper, D. M.; Koutsky, L. A.; Kurman, R. J.; Lehtinen, M.; Malm, C.; Olsson, S.-E.; Ronnett, B. M.; Skjeldestad, F. E.; Steinwall, M.; Stoler, M. H.; Wheeler, C. M.; Taddeo, F. J.; Yu, J.; Lupinacci, L.; Railkar, R.; Marcese, R.; Esser, M. T.; Bryan, J.; Jansen, K. U.; Sings, H. L.; Tamms, G. M.; Saah, A. J.; Barr, E. (2006), "Immunologic Responses Following Administration of a Vaccine Targeting Human Papillomavirus Types 6, 11, 16, and 18", *Vaccine*, 24: 5571-5583

Villa, L. L.; Costa, R. L. R.; Petta, C. A.; Andrade, R. P.; Paavonen, J.; Iversen, O.-E.; Hoye, J.; Steinwall, M.; Riis-Johannessen, G.; Andersson-Ellstrom, A.; Elfgren, K.; von Krogh, G.; Lehtinen, M.; Malm, C.; Tamms, G. M.; Giacoletti, K.; Lupinacci, L.; Railkar, R.; Taddeo, F. J.; Bryan, J.; Esser, M. T.; Sings, H. L.; Saah, A. J.; Barr, E. (2006), "High Sustained Efficacy of a Prophylactic Quadrivalent Human Papillomavirus

Types 6/11/16/18 L1 Virus-Like Particle Vaccine through 5 Years of Follow-up", *British Journal of Cancer*, 95: 1459-1466

Wheeler, C. M.; Castellsagué, X.; Garland, S. M.; Szarewski, A.; Paavonen, J.; Naud, P.; Salmerón, J.; Chow, S.-N.; Apter, D.; Kitchener, H.; Teixeira, J. C.; Skinner, S. R.; Jaisamrarn, U.; Limson, G.; Romanowski, B.; Aoki, F. Y.; Schwarz, T. F.; Poppe, W. A. J.; Bosch, F. X.; Harper, D. M.; Huh, W.; Hardt, K.; Zahaf, T.; Descamps, D.; Struyf, F.; Dubin, G.; Lehtinen, M. (2012), "Cross-Protective Efficacy of HPV-16/18 AS04-Adjuvanted Vaccine against Cervical Infection and Precancer Caused by Non-Vaccine Oncogenic HPV Types: 4-Year End-of-Study Analysis of the Randomised, Double-Blind PATRICIA Trial", *The Lancet Oncology*, 13: 100-10

Wheeler, C. M.; Kjaer, S. K.; Sigurdsson, K.; Iversen, O.-E.; Hernandez-Avila, M.; Perez, G.; Brown, D. R.; Koutsky, L. A.; Tay, E. H.; Garcia, P.; Ault, K. A.; Garland, S. M.; Leodolter, S.; Olsson, S.-E.; Tang, G. W. K.; Ferris, D. G.; Paavonen, J.; Steben, M.; Bosch, F. X.; Dillner, J.; Joura, E. A.; Kurman, R. J.; Majewski, S.; Munoz, N.; Myers, E. R.; Villa, L. L.; Taddeo, F. J.; Roberts, C.; Tadesse, A.; Bryan, J.; Lupinacci, L. C.; Giacoletti, K. E. D.; James, M.; Vuocolo, S.; Hesley, T. M.; Barr, E. (2009), "The Impact of Quadrivalent Human Papillomavirus (HPV; Types 6, 11, 16, and 18) L1 Virus-Like Particle Vaccine on Infection and Disease Due to Oncogenic Nonvaccine HPV Types in Sexually Active Women Aged 16-26 Years", *The Journal of Infectious Diseases*, 199: 936-44

KASUTATUD VEEBIAADRESSID

[http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Scientific_Discussion/human/000721/WC500024636.pdf)

[_Scientific_Discussion/human/000721/WC500024636.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Scientific_Discussion/human/000721/WC500024636.pdf) - Cervarix [1]

<http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM186981.pdf> - Cervarix [2]

<http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM111263.pdf> - Gardasil [3]

<http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Vaccines/ApprovedProducts/UCM426457.pdf> - Gardasil 9 [4]

http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx [5]

<http://www.tai.ee/> [6]

<http://www.cdc.gov/std/HPV/2004HPV%20report.pdf> [7]

<http://www.kliinikum.ee/teenused/kliinikumi-tasuliste-teenuste-hinnakiri-tkl-81> [8]

LIHTLITSENTS

Lihlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Lehte Türk

(sünnikuupäev: 03.07.1992)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose „HPV-vastased vaktsiinid“, mille juhendajaks on Liisi Võsa, *MSc*

1.1 reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2. üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 25.05.2015