

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**



**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**



**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**«ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗΣ»**

**ΜΑΙΕΥΤΙΚΗ ΚΑΙ ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**&**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΤΟΜΙΚΗΣ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Μελέτες με τυποποίηση HPV στην Ελλάδα»**

**ΠΑΛΟΥΚΗ ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ**

**ΜΑΙΕΥΤΗΡΑΣ - ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ - ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΟΣ**

**ΛΑΡΙΣΑ**

**Οκτώβριος 2015**

## **ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΤΟΥ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΟΣ**

ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ Ι. ΔΑΠΟΝΤΕ  
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΜΑΙΕΥΤΙΚΗΣ - ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΑΣ

## **ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ**

Μαρία Σαμαρά,  
Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής  
με έμφαση στη Μοριακή Ιστοπαθολογία

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

- Αλέξανδρος Ι. Δαπόντε, Αναπληρωτής Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- Παναγούλα Κόλλια, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μοριακής Γενετικής Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Εθνικό & Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- Μαρία Σαμαρά, Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής με έμφαση στη Μοριακή Ιστοπαθολογία, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η συγγραφή μιας διπλωματικής εργασίας σημαίνει το τέλος μίας δύσκολης αλλά συνάμα εποικοδομητικής περιόδου μέσα στην οποία πραγματοποιήθηκε με επιτυχία η παρακολούθηση των μεταπτυχιακών σπουδών. Πρόκειται για μία επίπονη διανοητική εργασία, η οποία για να φτάσει στο πέρας της είναι απαραίτητη η συνδρομή κάποιων ανθρώπων που παρέχουν είτε ψυχολογική υποκίνηση, είτε συνδράμουν με τις γνώσεις και το ερευνητικό τους έργο.

Οι αρχικές μου ευχαριστίες απευθύνονται στον κύριο Αλέξανδρο Ι. Δαπόντε, Αναπληρωτή Καθηγητή Μαιευτικής και Γυναικολογίας του Τμήματος Ιατρικής, της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Διευθυντή του Π.Μ.Σ. «Βιολογία της Αναπαραγωγής» και μέλος της τριμελούς επιτροπής για την αξιολόγηση της Διπλωματικής μου εργασίας.

Ευχαριστώ την επιβλέπουσα Καθηγήτριά μου κ. Μαρία Σαμαρά, Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής με έμφαση στη Μοριακή Ιστοπαθολογία, του Τμήματος Ιατρική, της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, που μου εμπιστεύτηκε την έρευνα αυτής της εργασίας, επιτρέποντάς μου μ' αυτόν τον τρόπο να εξοικειωθώ με τις νέες μελέτες και να εμπλουτιστεί το γνωστικό μου πεδίο. Χωρίς την αμέριστη και απλόχερη βοήθειά της, η ολοκλήρωση της μελέτης θα ήταν αδύνατη. Το αμείωτο ενδιαφέρον της, οι υποδείξεις, η καθοδήγηση, η προθυμία της και η συμπαράστασή της κατά τη συγγραφή της εργασίας, ήταν καθοριστική.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στη σύμβουλο της Διπλωματικής μου εργασίας κυρία Παναγούλα Κόλλια, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μοριακής Γενετικής Ανθρώπου του Τμήματος Βιολογίας της Σχολής Θετικών Επιστημών του ΕΚΠΑ.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τους καθηγητές μου στο Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Βιολογία της Αναπαραγωγής», που με την πολυετή πείρα τους κατόρθωσαν να μεταδώσουν με επιτυχία τις εξελίξεις στην επιστήμη τους και να θωρακίσουν με πολύτιμες γνώσεις την περαιτέρω επαγγελματική μου σταδιοδρομία.

Ευχαριστώ θερμά το ανθρώπινο δυναμικό του Μεταπτυχιακού προγράμματος και ιδιαιτέρως τις γραμματείς του Μεταπτυχιακού Προγράμματος κ. Γεωργία Κόκκα και κ. Σοφία Καργιώτου, για τις γνώσεις, τις εμπειρίες και τα βιώματα, που με ζήλο, όρεξη και υπομονή μετέδωσαν σε μένα και στις συμφοιτήτριες μου.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω όλες τις συμφοιτήτριες μου, για τη βοήθεια και την αλληλοϋποστήριξη στο πλαίσιο των σπουδών καθώς, χωρίς τη συνεργασία και την ανταλλαγή ιδεών και εμπειριών, θα ήταν δύσκολη η περάτωση της χρονιάς. Ελπίζω να ανταπέδωσα και να συνεχίσω να ανταποδίδω τη βοήθεια που μου προσέφεραν.

Ιδιαίτερα, είμαι ευγνώμων στην οικογένεια μου, στους γονείς μου και τους οφείλω ένα μεγάλο “ευχαριστώ” για την αμέριστη κατανόηση και συμπαράστασή τους.

## Περιεχόμενα

	ΣΕΛ.
Περίληψη	9
Abstract	10
Εισαγωγή	
1: Ιός των Ανθρωπίνων Θηλωμάτων (Human Papilloma Virus, HPV)	11
1.1 Επιδημιολογία	12
1.2 Δομή του HPV ιού	
1.2.1. Γονιδίωμα του HPV ιού και λειτουργίες	12
1.2.2. Λειτουργίες της κάψας	15
1.3 Οργάνωση του κυτταρικού κύκλου του HPV ιού	16
1.3.1. Η αρχική λοίμωξη της επιδερμίδας	17
1.3.2. Η ενίσχυση του HPV γονιδιώματος στις ανώτερες στιβάδες του επιθηλίου	18
1.3.3 Η συγκέντρωση και η απελευθέρωση του HPV ιού	20
1.3.4 Η απορύθμιση του κύκλου ζωής του ιού HPV και η καρκινογένεση	20
2. Κλινική νόσος - Λοίμωξη από τον HPV ιό	24
2.1 Υποκλινική Νόσος	25
2.2 Λανθάνουσα Λοίμωξη	25
2.3 Κονδυλώματα	25
3. HPV και αλλοιώσεις του τραχήλου της μήτρας	
3.1 Ηλικία και καρκινογένεση	
3.1.1 Γυναίκες < 25 ετών	25
3.1.2 Γυναίκες 25-35 ετών	30
3.1.3 Γυναίκες >35 ετών	30
3.1.4 Γυναίκες στην εμμηνόπαυση	31
4. Πρόληψη	32
4.1 Στρατηγικές Δημόσιας Υγείας	33
4.2 Ενημέρωση Ζευγαριών	33

4.3 Εμβολιασμός	34
5. Θεραπευτική προσέγγιση	35
5.1. Η τακτική «see and treat»	36
5.2 Ψηφιακή Κολποσκόπηση	38
5.3 Ο ρόλος της απόξεσης του ενδοτραχήλου κατά την κολποσκόπηση	39
5.4 Κυτταρολογία Υγρής Φάσης	40
5.5 Polar probe	10
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	41
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	42
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	59



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μόλυνση του τραχήλου της μήτρας από τους HPV είναι πάρα πολύ συχνή. Ένα μεγάλο μέρος του πληθυσμού έχει, σε κάποια φάση της ζωής του, ενδεικτικά στοιχεία μόλυνσης. Ο επιπολασμός αυτών των μολύνσεων στο γενικό πληθυσμό είναι εξαιρετικά υψηλός, ειδικά στις νεαρές ηλικίες.

Τόσον οι απλές μολύνσεις, όσο και η πλειοψηφία των LGSIL υποχωρούν από μόνες τους (ιδίως στις νέες γυναίκες). Επομένως δεν μπορούν να θεωρηθούν - και να αντιμετωπίζονται θεραπευτικά- ως προκαρκινικές αλλοιώσεις. Η εντόπισή τους έχει σημασία από την άποψη ότι, οι συγκεκριμένες γυναίκες έχουν ανάγκη 1) περαιτέρω διαγνωστικής προσπέλασης (για να αποκλεισθεί η συνύπαρξη HGSIL και 2) όσες από αυτές φέρουν ογκογόνους HPV πρέπει να παρακολουθούνται καλύτερα.

Οι HGSIL θεωρούνται σαφώς προκαρκινικές αλλοιώσεις και πρέπει να θεραπεύονται. Από τη σκοπιά της πρόληψης του καρκίνου του τραχήλου, εκείνο που έχει σημασία είναι η εντόπισή των γυναικών με HGSIL. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με το συνδυασμό μορφολογικών και μοριακών τεχνικών.

Στην Ελλάδα έχουν γίνει αρκετές έρευνες που αφορούν την τυποποίηση του HPV που απαντάται στη χώρα. Οι περισσότερες εξ αυτών αφορούν βέβαια δείγματα από τον τράχηλο της μήτρας με ή χωρίς καρκινικές αλλοιώσεις. Παράλληλα, έχουν γίνει αρκετές έρευνες που ερευνούν την παρουσία του HPV και σε άλλα σημεία του οργανισμού (πνεύμονες, δέρμα, στοματοφάρυγγας).

Σχεδόν το σύνολο των ερευνών έχουν δείξει ότι ο επικρατέστερος τύπος του HPV στην Ελλάδα είναι ο HPV16, ειδικά στις περιπτώσεις που υπάρχουν καρκινικές αλλοιώσεις. Σημαντικό κρίνεται, τέλος, το ποσοστό της συννοσηρότητας από διαφορετικούς τύπους HPV, όπως ο HPV18, ο HPV31 και ο HPV33.



## ABSTRACT

Infection of the uterus cervix by HPV is very common. A large portion of the population has had indicative elements of infection, at some point in their life. The prevalence of these infections in the general population is extremely high, especially in younger ages.

Both simple infections and most LGSIL cure themselves (especially in young women). Therefore, they cannot be considered or treated as precancerous. Their identification is important because these women need 1) further diagnostic (to exclude HGSIL) and 2) whoever carries oncogenic HPV must be treated better.

HGSIL are definitely considered as precancerous lesions and must be treated. From the prevention standpoint against cervix cancer, it is very important to identify HGSIL. This can be achieved with a combination of morphologic and molecular techniques.

There have been many papers in Greece, which are related with the HPV classification that is most frequently found. Most of them, are collected from cervical samples, with or without cancer lesions. However, there have been several papers concerning HPV presence in other body location, apart from cervix, such as lung, skin, oropharyngeal cavity.

Most of papers show off that in the majority of cases studied, the detected HPV type is HPV16, especially in cases which there are detected precancer lesions. It is important though to comment on the percentage of co-morbidity with other HPV types such as HPV18, HPV31, HPV33.

## **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

### **1.1 Ιός των Ανθρωπίνων Θηλωμάτων (Human Papilloma Virus, HPV)**

Οι ιοί των ανθρωπίνων θηλωμάτων (Human Papilloma Viruses, HPV) αποτελούν τα αίτια των κονδυλωμάτων που αναπτύσσονται στο δέρμα ή στους βλεννογόνους των έξω γεννητικών οργάνων του ανθρώπου. Οι HPV ιοί παρουσιάζουν χαρακτηριστικό τροπισμό για τα πλακώδη επιθηλιακά κύτταρα. Διάφοροι HPV τύποι τους εμφανίζουν εκλεκτικότητα προς διαφορετικές ανατομικές θέσεις. Ο μηχανισμός με τον οποίο οι HPV προκαλούν νεοπλασματική κυτταρική εξαλλαγή περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση των κωδικοποιούμενων, από τα ιικά γονίδια, πρωτεϊνών με ρυθμιστικούς παράγοντες του κυττάρου ξενιστή. Υπάρχουν ενδείξεις, ότι η αδρανοποίηση της φυσιολογικής λειτουργίας των ογκοκατασταλτικών pRB και p53 πρωτεϊνών, λόγω σχηματισμού συμπλεγμάτων με τις HPV ογκοπρωτεΐνες, αποτελεί σημαντικό βήμα της καρκινογένεσης στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.<sup>1,2</sup>

Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί περισσότεροι από 100 HPV τύποι. Μερικοί τύποι HPV, όπως τα στελέχη 1, 4, 5, 8, 41, 48, 60, 63 και 65, δείχνουν τάση να προσβάλλουν το δέρμα. Ανιχνεύονται στις παλαμιαίες και πελματικές μυρμηκίες και σε ασθενείς με μυρμηκιοειδή επιδερμοδυσπλασία. Μια άλλη ομάδα των HPV ιών δείχνουν τάση να προσβάλλουν τον βλεννογόνο, όπως τα στελέχη 6, 11, 13, 44, 55, 16, 31, 33, 35, 52, 58, 67, 18, 39, 45, 59, 68, 70, 26, 51, 69, 30, 53, 56, 66, 32, 42, 34, 64, 73, 54 και ανιχνεύονται σε καλοήθεις και κακοήθεις αλλοιώσεις της γεννητικής περιοχής και των δυο φύλων. Τέλος, μια άλλη ομάδα

των ιών HPV και συγκεκριμένα τα στελέχη 2, 3, 7, 10, 27, 28, 29, 40, 43, 57, 61, 62 και 72, προσβάλλουν τόσο το δέρμα όσο και τον βλεννογόνο προκαλώντας αλλοιώσεις. Ωστόσο, η σχέση τους με τη δημιουργία κακοήθους βλάβης είναι λιγότερο αποδεδειγμένη.<sup>3</sup>

Το είδος της αλλοίωσης που θα προκληθεί εξαρτάται από τον τύπο του ιού (ογκογόνο ή μη), από τη θέση της μόλυνσης (σε δέρμα ή βλεννογόνους) και κυρίως από την κατάσταση του ανοσολογικού συστήματος του ασθενή (που θα επιτρέψει ή όχι να εμφανισθεί η αλλοίωση και να εξελιχθεί).<sup>4</sup>

### 1.1. Επιδημιολογία

Η λοίμωξη από τον ιό HPV είναι η πιο συχνή, σεξουαλικά μεταδιδόμενη νόσος. Τόσο οι γυναίκες όσο και οι άνδρες, εμπλέκονται στην επιδημιολογική αλυσίδα της λοίμωξης και είναι ικανοί, την ίδια χρονική στιγμή να εμφανιστούν ως ασυμπτωματικοί φορείς, δότες και ως θύματα της ιογενούς λοίμωξης.

Οι παράγοντες κινδύνου (risk factors), που συνδέονται με τη λοίμωξη από τον ιό HPV, σχετίζονται ξεκάθαρα με τη σεξουαλική συμπεριφορά του ατόμου. Οι πιο σημαντικοί είναι: η έναρξη της σεξουαλικής δραστηριότητας σε μικρή ηλικία, ο υψηλός αριθμός σεξουαλικών συντρόφων, οι σεξουαλικές επαφές με άτομα υψηλού κινδύνου (στους μεν άνδρες οι συχνές επαφές με ιερόδουλες, στις δε γυναίκες, οι συχνές επαφές με άνδρες που έχουν πολλαπλές σεξουαλικές συντρόφους).<sup>5,6,7</sup> Άλλοι τρόποι μετάδοσης είναι σπάνιοι. Η περιγεννητική μετάδοση είναι δυνατή, όπως έχουν δείξει ορολογικές εργασίες και εργασίες με HPV-DNA στο στόμα και το δέρμα των νεογνών, αλλά είναι εξαιρετικά σπάνια και συνήθως παροδική.

Στις περισσότερες επιδημιολογικές μελέτες, παράγοντες όπως το κάπνισμα, η παρατεταμένη χρήση αντισυλληπτικών, η πολυτοκία, η συνύπαρξη άλλων σεξουαλικών μεταδιδόμενων νοσημάτων, όπως η λοίμωξη από χλαμύδια (*Chlamydia trachomatis*)<sup>8</sup>, ο ιός του έρπητος (Herpes simplex type 2, HSV-2)<sup>9</sup> και το διαιτολόγιο φτωχό σε φρούτα και λαχανικά<sup>10</sup>, λειτουργούν συνεργατικά.

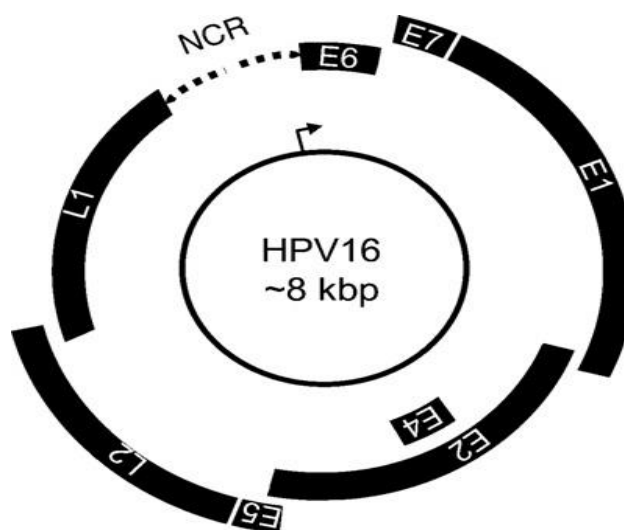
Στη Βόρεια Ελλάδα, η επίπτωση της λοίμωξης αυξάνεται συνεχώς τα τελευταία χρόνια. Σύμφωνα με τα στοιχεία του νοσοκομείου "Α.Δ.Ν.Θ.", το 1998 καταγράφηκαν 166 περιστατικά οξυτενών κονδυλωμάτων έναντι 660 το 2007, αριθμός σχεδόν τετραπλάσιος.

## 1.2 Δομή του HPV ιού

### 1.2.1. Γονιδίωμα του HPV ιού και λειτουργίες

Το γονιδίωμα του HPV ιού είναι δίκλωνο, κυκλικό DNA μήκους περίπου 8000 ζευγών βάσεων και οργανώνεται σε τρεις λειτουργικές περιοχές (Εικ. 1). Όλες οι απαραίτητες πληροφορίες για να συνθέσει τις πρωτεΐνες του και να διπλασιαστεί ο HPV ιός βρίσκονται στο γονιδίωμά του. Όμως, δεν έχει συσκευή πρωτεϊνικής σύνθεσης ή ριβοσωμάτια. Συνεπώς, για τον πολλαπλασιασμό του κάνει χρήση του γενετικού μηχανισμού του κυττάρου του ξενιστή.

Βασικός παράγοντας που κατά τον οποίο ο ιός χρησιμοποιεί τη διεύθυνση των μεταβολικών λειτουργιών του κυττάρου του ξενιστή, για δικό του λογαριασμό, είναι η παραγωγή του ιϊκού αγγελιαφόρου RNA, που παράγεται με μεταγραφή του ιϊκού γενετικού υλικού. Οι πρωτεΐνες χρησιμεύουν είτε για τον διπλασιασμό του ιϊκού σωματιδίου είτε για την αναπαραγωγή της ιϊκής κάψας.<sup>11</sup>



**Εικόνα 1.** Σχηματική αναπαράσταση του γονιδιώματος του στελέχους HPV16. Το δίκλωνο κυκλικό DNA αναπαρίσταται από τον κεντρικό κύκλο. Τα πρώιμα (E) και όψιμα (L) γονίδια κωδικοποιούνται από μια μόνο έλικα του DNA και στα τρία ανοικτά πλαίσια ανάγνωσης. Ο κύριος πρώιμος υποκινητής εδράζεται στη μη κωδική περιοχή (Non Coding Region, NCR), η οποία αναφέρεται επίσης ως περιοχή ελέγχου (Long Control Region, LCR) ή ανοδική ρυθμιστική περιοχή (Upstream Regulatory Region, URR) και αναπαριστάται με το βέλος. Τα πρώιμα και όψιμα γονίδια μεταγράφονται προς μία κατεύθυνση.<sup>12</sup>

Οι περιοχές στις οποίες διαιρείται το γονιδίωμα του HPV είναι:<sup>13</sup>

1. Η περιοχή E (Early Region, Πρώιμη Περιοχή): Κωδικοποιεί τις πρωτεΐνες, που είναι απαραίτητες για τον διπλασιασμό του ιϊκού DNA γονιδιώματος. Περιλαμβάνει οχτώ ανοικτά πλαίσια ανάγνωσης (Open Reading Frames, ORFs), τις κωδικές περιοχές για τις πρωτεΐνες E1, E2, E4, E5, E6 και E7
2. Η περιοχή L (Late Region, Όψιμη Περιοχή): Κωδικοποιεί τις δομικές πρωτεΐνες του καψιδίου του HPV ιού.<sup>14</sup>
3. Η περιοχή URR ή NCR (Upstream Regulatory Region ή Non Coding Region -Ρυθμιστική Περιοχή): Βρίσκεται ανάμεσα στην E και την L και ρυθμίζει τη λειτουργία τους. Περιλαμβάνει τη θέση έναρξης της αντιγραφής του ιϊκού γονιδιώματος, τέσσερις θέσεις πρόσδεσης της πρωτεΐνης E2 και πολλαπλές θέσεις πρόσδεσης των μεταγραφικών παραγόντων.<sup>15,16</sup>

Οι σπουδαιότερες επιμέρους λειτουργίες των HPV πρωτεϊνών είναι οι εξής:

1. **E6 & E7 πρωτεΐνες:** Οι συγκεκριμένες πρωτεΐνες προκαλούν αλλαγή στους ρυθμούς πολλαπλασιασμού των μολυσμένων κυττάρων. Η ανεξέλεγκτη λειτουργία των E6 και E7 πρωτεϊνών των ογκογόνων HPV στελεχών οδηγεί σε υπερπαραγωγή των αντίστοιχων ογκοπρωτεϊνών. Οι συγκεκριμένες ογκοπρωτεΐνες έχουν μεγάλη χημική συγγένεια με τις πρωτεΐνες p53 και pRb. Η σύζευξη των E6 και E7 με τις p53 και pRb αντίστοιχα, έχει ως αποτέλεσμα την αδρανοποίηση του ογκοκατασταλτικού μηχανισμού του ανθρώπινου κυττάρου. Το κύτταρο

αρχίζει να πολλαπλασιάζεται ασταμάτητα και μάλιστα υπό τον γενετικό έλεγχο του ιού. Η ουσιαστική διαφορά μεταξύ των ογκογόνων και των χαμηλού κινδύνου HPV στελεχών συνίσταται στο γεγονός ότι οι E6 και E7 των χαμηλού κινδύνου ιών δεν έχουν μεγάλη χημική συγγένεια για τις p53 και pRb και επομένως δεν μπορεί να προκληθεί αθανатоποίηση των κερατινοκυττάρων.<sup>17</sup>

2. **E1 & E2 πρωτεΐνες:** Ρυθμίζουν τον διπλασιασμό του ιϊκού γονιδιώματος και ελέγχουν τη μεταγραφή των E6 και E7 ογκοπρωτεϊνών. Στην επισωματική μορφή του HPV ιού το γονιδίωμά του είναι κυκλικό. Κατά την ενσωμάτωση στο ανθρώπινο γονιδίωμα, το ιϊκό DNA διασπάται στην E2 περιοχή. Η αδρανοποίηση των E1 και E2 πρωτεϊνών λόγω διάσπασης, οδηγεί σε ανεξέλεγκτη μεταγραφή των E6 και E7 ογκοπρωτεϊνών.<sup>18</sup>
3. **E4 πρωτεΐνη:** Παρότι βρίσκεται στην πρώιμη περιοχή, ενεργοποιείται παράλληλα με την όψιμη περιοχή του ιϊκού γονιδιώματος. Συντελεί στην αποδιοργάνωση του δικτύου της κυττοκερατίνης στις ανώτερες στιβάδες του επιθηλίου, ώστε να διευκολύνεται η απελευθέρωση των νέων ιϊκών σωματιδίων.
4. **E5 πρωτεΐνη:** Φαίνεται να έχει πρόσθετη δράση στις ιδιότητες μετασχηματισμού των E6 και E7 πρωτεϊνών. Πιθανότατα σχετίζεται με την ικανότητα των πρωτεϊνών να διαμορφώνουν την κυτταρική σηματοδότηση, πιθανά μέσω σύνδεσης με την αντλία πρωτονίων με ενεργότητα ATPάσης στα κενοτόπια και την επακόλουθη καθυστέρηση της ενδοσωμικής οξίνισης.<sup>19</sup>

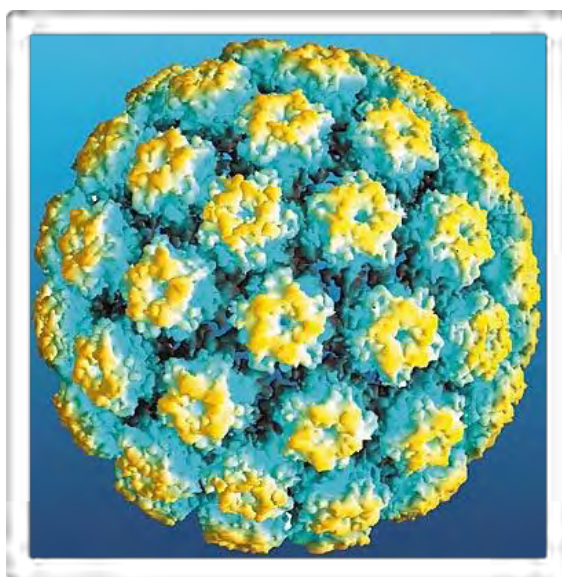
Στις βασικές στιβάδες του επιθηλίου, ο ιός διπλασιάζει το γονιδίωμά του (εκμεταλλευόμενος τις κυτταρικές διαιρέσεις) και σε δεύτερη φάση, καθώς τα κύτταρα διαφοροποιούμενα ανέρχονται στις επιφανειακές στιβάδες, συντίθενται οι δομικές πρωτεΐνες της κάψας του HPV. Όταν πλέον το εκφυλισμένο ώριμο κερατινοκύτταρο φθάσει στην επιφανειακή στιβάδα, έχει ολοκληρωθεί το νέο ιϊκό σωματίδιο και εγκαταλείπει το κύτταρο.

Βάσει των ανωτέρω, εξηγείται γιατί οι πρωτεΐνες της κάψας του HPV ανευρίσκονται πιο συχνά στις LGSIL. Αντίθετα, στις HGSIL δεν είναι συνήθης η ανεύρεση πρωτεϊνών της κάψας (υπάρχει σημαντική διαταραχή στη δομή και στη διαφοροποίηση του επιθηλίου), ενώ στο διηθητικό καρκίνο είναι σπάνια έως αδύνατη, αφού ως γνωστό ο ιός δεν αναδιπλασιάζεται πλέον (έχει ενσωματωθεί).

### 1.2.2. Λειτουργίες της κάψας

Το γονιδίωμα του ιού προστατεύεται από την κάψα η οποία είναι αντιγονική. Κατά την εισβολή ενός ιού στο σώμα του ανθρώπου, το σώμα αμύνεται με δύο αμυντικούς μηχανισμούς: τους μη ειδικούς και τους ειδικούς. Η ανοσία, η οποία είναι αποτέλεσμα ελεύθερων αντισωμάτων (IgM, IgG, IgA) και η κυτταρική ανοσία περιλαμβάνονται στους ειδικούς μηχανισμούς.<sup>20</sup>

Η πρωτεϊνική κάψα των HPV ιών δεν είναι επαρκώς αντιγονική. Ο οργανισμός του ανθρώπου, δηλαδή, δεν αντιδρά σε τέτοιο βαθμό ώστε να παραχθούν αντισώματα, με αποτέλεσμα να μη είναι δυνατόν να γίνει ανίχνευση στο αίμα για τον έλεγχο εάν η μόλυνση είναι καινούργια (IgM) ή παλιά (IgG) καθώς και τον βαθμό της μόλυνσης. Η κυτταρική ανοσία δημιουργεί την άμυνα στο ανθρώπινο σώμα.



Εικόνα 2: Καψιδικό περίβλημα του HPV ιού

### 1.3 Οργάνωση του κυτταρικού κύκλου του HPV ιού

Ανεξάρτητα από την εξελικτική τους προέλευση, όλοι οι ιοί των θηλωμάτων ολοκληρώνουν τον κύκλο ζωής τους στον επιθηλιακό ιστό που μολύνουν και παράγουν λοιμώδη σωματίδια, που τελικά εκκρίνονται από την επιφάνεια του επιθηλίου. Για να επιτευχθεί κάτι τέτοιο, είναι αναγκαία η συγχρονισμένη και συντονισμένη έκφραση των διαφόρων γονιδιακών παραγώγων του ιού, καθώς τα κύτταρα που έχουν μολυνθεί, μετακινούνται προς την επιφάνεια του επιθηλίου. Αυτός ο εξαιρετικά καθορισμένος τρόπος γονιδιακής έκφρασης, επιτρέπει στα διάφορα στάδια του κυτταρικού κύκλου του ιού, να ολοκληρωθούν κατάλληλα και δημιουργεί τη βάση για την επιλογή βιοδεικτών, που μπορεί να χρησιμεύσουν στη διάγνωση.<sup>21</sup>

Οι τύποι 16 και 18 θεωρούνται οι πιο γνωστοί ογκογόνοι τύποι HPV. Ο τύπος του ιού (ογκογόνος ή μη) καθορίζει το είδος της αλλοίωσης που θα δημιουργηθεί, καθώς επίσης τη θέση της μόλυνσης και την κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος. Οι HPV μπορούν να μεταδοθούν με πολλούς τρόπους:<sup>22</sup>

1. Μέσω διαφόρων αιχμών που έχουν δημιουργηθεί στο σώμα όπως σχισμές και εκδορές, ώστε να προκληθούν δερματικές μυρμηγκιές.
2. Με σεξουαλική επαφή όταν πρόκειται για αλλοιώσεις των γεννητικών οργάνων
3. Όταν το βρέφος περνά από μολυσμένο γεννητικό σωλήνα
4. Από διάφορες θέσεις αυτοενοφθαλμισμού, π.χ με το ξύσιμο του δέρματος.

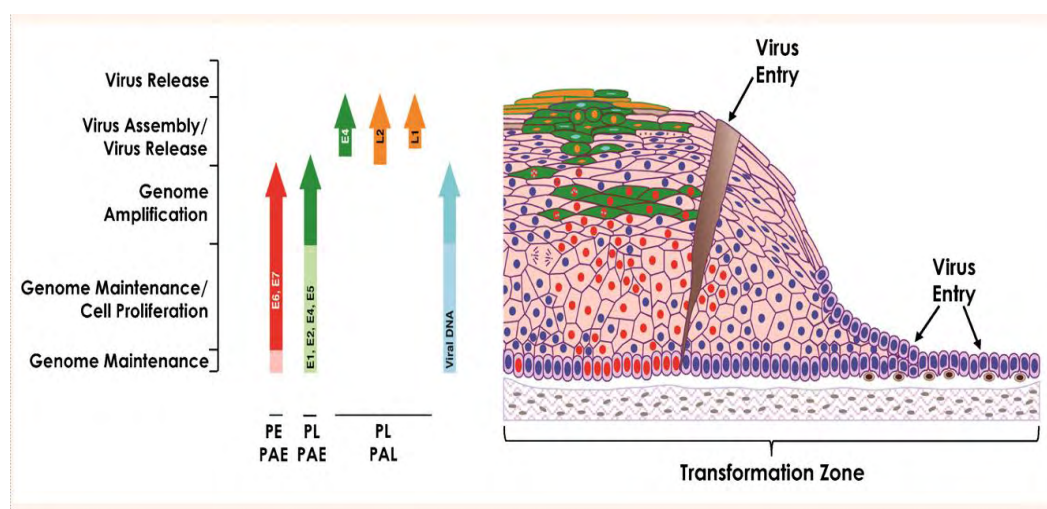
#### 1.3.1 Η αρχική λοίμωξη της επιδερμίδας

Η αρχική λοίμωξη παρουσιάζεται όταν σωματίδια του ιού αποκτούν πρόσβαση στη βασική στιβάδα του επιθηλίου, η οποία στην φυσιολογική επιδερμίδα περιέχει κύτταρα μιτωτικά ενεργά. Τα κύτταρα αυτά έχουν διεγερθεί και διαιρούνται φυσιολογικά από αυξητικούς παράγοντες που προέρχονται από τον υποκείμενο ιστό και στο φυσιολογικό επιθήλιο. Η συνεχής διαίρεση των



κυττάρων αυτών, επιτρέπει την ανανέωση της επιδερμίδας μετά τη διαδικασία της απολέπισης. Πιστεύεται ότι τα ιικά σωματίδια συνδέονται με πρωτεογλυκάνες στην επιφάνεια του κυττάρου, καθώς επίσης και με δευτερογενείς υποδοχείς, που διευκολύνουν την είσοδο του ιού στο κύτταρο.<sup>23-26</sup>

Η πρόσβαση στη βασική στιβάδα προϋποθέτει ρωγμή στη συνοχή του επιθηλιακού περιβλήματος. Η κατάσταση αυτή απαιτεί την παρουσία μικροτραυματισμών ή πιο εμφανών βλαβών στο επιθήλιο, ωστόσο ο ιός μπορεί και προκαλεί μόλυνση σε περιοχές με τέτοιο τρόπο ώστε η πρόσβασή του στη βασική μεμβράνη να διευκολύνεται (Εικ. 3).



Εικ. 3. Η βιολογία και ο κύκλος ζωής των ιών των ανθρωπίνων θηλωμάτων.<sup>27</sup>

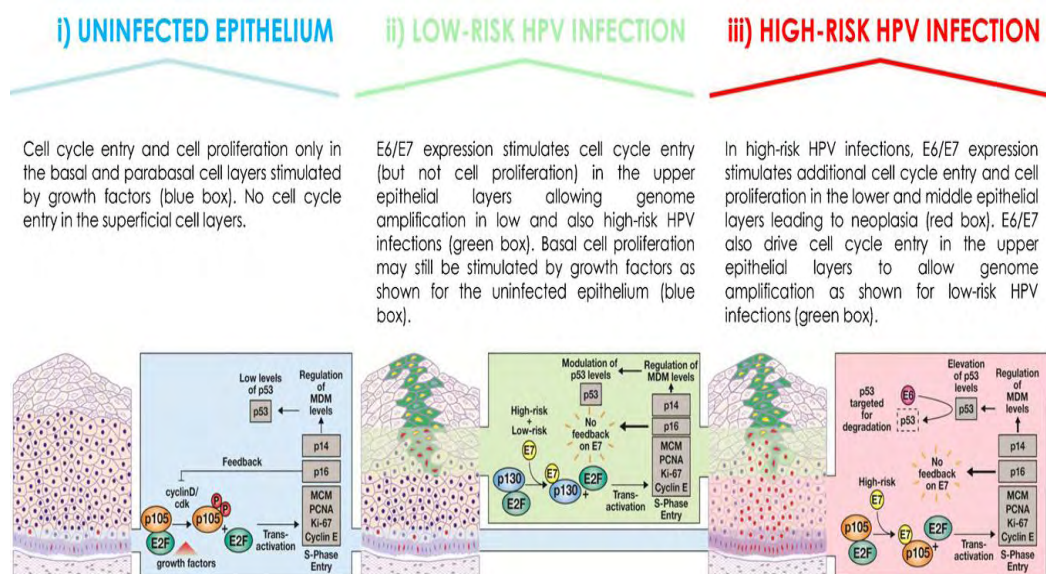
### 1.3.2. Η ενίσχυση του HPV γονιδιώματος στις ανώτερες στιβάδες του επιθηλίου

Η διατήρηση του γονιδιώματος του ιού στα κύτταρα της βασικής στιβάδας του επιθηλίου που πολλαπλασιάζονται συνεχώς, καθώς και στα κύτταρα των κατώτερων στιβάδων του, αποτελεί κοινό χαρακτηριστικό όλων των ιών των θηλωμάτων. Κατά τη διάρκεια της παραγωγικής φάσης της λοίμωξης, η ενίσχυση του γονιδιώματος προκαλείται, καθώς τα κύτταρα που έχουν προσβληθεί από τον ιό διαφοροποιούνται και μετακινούνται προς την επιφάνεια του επιθηλίου, λόγω της διαίρεσης των κυττάρων που βρίσκονται στις κατώτερες επιθηλιακές στιβάδες.<sup>21</sup>

Ο πολλαπλασιασμός των βασικών και των παραβασικών κυττάρων, που επιτυγχάνεται με την έκφραση των E6/E7 πρωτεϊνών, λόγω λοίμωξης από στελέχη υψηλού κινδύνου του ιού, διευκολύνει την επέκταση του μεγέθους της βλάβης, η οποία εν μέρει συνδέεται με τις ειδικές λειτουργίες των πρωτεϊνών E6 και E7 των στελεχών υψηλού κινδύνου του ιού. Οι διαφορές, ανάμεσα στα διάφορα στελέχη του ιού είναι εμφανείς, όταν συγκρίνονται βλάβες από την ίδια περιοχή του επιθηλίου.<sup>27</sup>

Η ενίσχυση του γονιδιώματος του HPV ιού εξαρτάται εν μέρει από τις αλλαγές στο περιβάλλον του κυττάρου, καθώς τα κύτταρα που έχουν προσβληθεί από τον ιό, μετατοπίζονται προς την επιφάνεια του επιθηλίου.<sup>21</sup> Μία από τις κύριες λειτουργίες των E6 και E7 πρωτεϊνών, στα περισσότερα στελέχη του ιού HPV, είναι η διέγερση της επανεισόδου του κυτταρικού κύκλου στις μεσαίες στιβάδες του επιθηλίου, γεγονός που έχει ως κατάληξη την ενίσχυση του γονιδιώματος του ιού.<sup>27</sup>

Η έκφραση των E6 και E7 πρωτεϊνών στις ανώτερες στιβάδες του επιθηλίου, επιτρέπει στα κύτταρα που έχουν προσβληθεί από τον ιό να ξαναμπούν στη φάση S του κυτταρικού κύκλου αυξάνοντας παράλληλα τον αριθμό των αντιγράφων του γονιδιώματος. Χρειάζεται επίσης, να αυξηθούν σε ποσότητα οι E1 και E2 πρωτεΐνες ακολουθώντας την ανοδική ρύθμιση του όψιμου ή εξαρτώμενου από τη διαφοροποίηση HPV υποκινητή (Εικ. 4).<sup>28</sup>



**Εικ. 4.** Ο μηχανισμός ρύθμισης της εισόδου στον κυτταρικό κύκλο και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε προσβεβλημένο και μη επιθήλιο. Οι λειτουργίες των πρωτεϊνών του ιού αποτελούν τη βάση για το φαινότυπο της νόσου. Αυτό είναι εμφανές όταν ο ρόλος των πρωτεϊνών E6 και E7 των στελεχών υψηλού και χαμηλού κινδύνου του HPV ιού εξετάζεται στα πλαίσια της νόσου.<sup>27</sup>

### 1.3.3 Η συγκέντρωση και η απελευθέρωση του HPV ιού

Η ολοκλήρωση του κύκλου ζωής του HPV ιού περιλαμβάνει την έκφραση της ελάχιστονης πρωτεΐνης του περιβλήματος του ιού L2, την έξοδο του κυττάρου από τον κυτταρικό κύκλο και την έκφραση της μείζονος πρωτεΐνης του περιβλήματος L1 ώστε να ολοκληρωθεί το πακετάρισμα του ιϊκού γονιδιώματος.<sup>29</sup> Η ωρίμανση του ιού παρατηρείται στα πιο επιφανειακά νεκρά κερατινοκύτταρα, τα οποία χάνουν τη μιτοχονδριακή οξειδωτική φωσφορυλίωση, γεγονός που οδηγεί στην μετατροπή ενός αναγωγικού περιβάλλοντος σε οξειδωμένο λίγο πριν την απελευθέρωση του ιού. Η κατάσταση αυτή διευκολύνει την προοδευτική συγκέντρωση δισουλφιδικών δεσμών ανάμεσα στις L1 πρωτεΐνες, οδηγώντας στην παραγωγή πολύ σταθερών σωματιδίων του ιού μαζί με το περίβλημα του.<sup>30,31</sup> Τα συναρμολογημένα σωματίδια περιέχουν 360 μόρια της L1 πρωτεΐνης

οργανωμένα σε 72 πενταμερή καψομερίδια, με ένα πολύ μικρότερο και μεταβλητό αριθμό L2 μορίων.<sup>32</sup>

#### **1.3.4 Η απορρύθμιση του κύκλου ζωής του ιού HPV και η καρκινογένεση**

Η ρύθμιση της έκφρασης του ιϊκού γονιδιώματος, που οδηγεί στην παραγωγή σωματιδίων, διακόπτεται σε περιπτώσεις νεοπλασίας που οφείλονται στον HPV ιό. Στις παθήσεις του τραχήλου της μήτρας, όπου έχει πραγματοποιηθεί μεγάλος αριθμός μελετών, υπήρχε η άποψη ότι τα επίπεδα έκφρασης των E6 και E7 πρωτεϊνών αυξάνονται σύμφωνα με το βαθμό της ενδοεπιθηλιακής αλλοίωσης του τραχήλου της μήτρας, δηλαδή από CIN-I προς CIN-III και οι αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων υποδηλώνουν άμεσα το νεοπλαστικό φαινότυπο.<sup>27</sup>

Στις αλλοιώσεις τύπου CIN-I διατηρείται η ικανότητα ολοκλήρωσης του κύκλου ζωής του HPV ιού και η παραγωγή σωματιδίων του. Οι αλλοιώσεις αυτές μοιάζουν με επίπεδα κονδυλώματα, που έχουν ένα χαμηλότερο επίπεδο πολλαπλασιασμού του κυττάρου στη βασική και στις παραβασικές στιβάδες του επιθηλίου. Η αύξηση των επιπέδων έκφρασης των E6 και E7 πρωτεϊνών σε λοιμώξεις από στελέχη υψηλού κινδύνου του ιού, που οδηγεί στην εμφάνιση CIN2+ αλλοιώσεων, ρυθμίζει μια σειρά γενετικών αλλαγών στο κύτταρο συμβάλλοντας στη δημιουργία καρκίνου. Η απορρύθμιση του ιού που παρατηρείται στις αλλοιώσεις CIN-II/-III, διευκολύνει την ενσωμάτωση της επισωματικής μορφής του ιού στο γεννητικό υλικό του κυττάρου ξενιστή, γεγονός που στην συνέχεια απορυθμίζει την έκφραση των E6 και E7 πρωτεϊνών, που συχνά αναφέρονται ως ογκογονίδια του ιού.<sup>33</sup>

Δεν είναι σαφές πώς η έκφραση των γονιδίων της επισωματικής μορφής του ιού απορυθμίζεται στις αρχόμενες CIN αλλοιώσεις. Η απορρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης μπορεί να προκαλείται από αλλαγές του κυτταρικού σήματος λόγω ορμονικών αλλαγών ή επιγενετικών τροποποιήσεων, όπως η μεθυλίωση του DNA του ιού, η οποία μπορεί να εξαρτάται από το είδος των προσβεβλημένων επιθηλιακών κυττάρων.<sup>34</sup>

Η LCR περιοχή του στελέχους 16 του HPV ιού περιέχει ορμονικά, αντιδραστικά στοιχεία που μπορούν και ενεργοποιούνται από τα οιστρογόνα,

αποδεικνύοντας την ύπαρξη συνεργασίας ανάμεσα στα οιστρογόνα και στον HPV ιό τόσο στον άνθρωπο, όσο και σε άλλα μοντελικά συστήματα.<sup>35</sup> Σε CIN αλλοιώσεις, η LCR ρυθμιστική περιοχή φαίνεται να μεθυλιώνεται διαφορετικά, υποδηλώνοντας ότι οι επιγενετικές αλλαγές μπορούν και ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων και κατά συνέπεια την εμφάνιση της νόσου.<sup>36</sup>

Αν και οι συνήθεις εύθραυστες περιοχές (Common Fragile Sites, CFS) στο γονιδίωμα του κυττάρου ξενιστή αποτελούν τα σημεία ενσωμάτωσης, σε γενικές γραμμές η ενσωμάτωση αποτελεί τυχαίο γεγονός, που μερικές φορές οδηγεί στη διακοπή των ιϊκών γονιδίων που ρυθμίζουν τη φυσιολογική μεταγραφή τους από την LCR περιοχή. Η πλειοψηφία των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας περιλαμβάνει ένα ή περισσότερα αντίγραφα του HPV ιού, που ενσωματώνονται τυχαία, λιγότερο ή περισσότερο, στο γενετικό υλικό του κυττάρου ξενιστή, μαζί με την περιοχή ενσωμάτωσης του ιού που βρίσκεται στις E1 και E2 ρυθμιστικές πρωτεΐνες. Η ενσωμάτωση και η έλλειψη της ρύθμισης του λόγου των πρωτεϊνών E6/E7 διευκολύνει τη σταθερή έκφραση των πρωτεϊνών αυτών σε υψηλά επίπεδα και τη συσσώρευση των γενετικών λαθών που οδηγούν τελικά στη δημιουργία καρκίνου.<sup>37</sup>

Έχει επικρατήσει η άποψη ότι η ενσωμάτωση του ιού παρατηρείται στις υψηλού βαθμού αλλοιώσεις (CIN-II/-III) και από την στιγμή που θα συμβεί αυτό, η ήδη απορρυθμισμένη έκφραση των E6 και E7 πρωτεϊνών αυξάνεται περισσότερο ή παραμένει σε σταθερά επίπεδα.<sup>38</sup>

Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας προκύπτει από κύτταρα που περιέχουν αποκλειστικά την επισωματική μορφή του ιού. Συγκεκριμένα, για το στέλεχος HPV16, περίπου το 30% των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας αναπτύσσονται με αυτό τον τρόπο. Περίπου το 70% των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας που σχετίζονται με το στέλεχος HPV16 περιέχουν ενσωματωμένες αλληλουχίες του συγκεκριμένου στελέχους, ενώ για το στέλεχος HPV18 το γονιδίωμα βρίσκεται σχεδόν αποκλειστικά σε ενσωματωμένη μορφή.<sup>39</sup>

### 1.3.5 Η υποχώρηση, η λανθάνουσα περίοδος και η υποστροφή της βλάβης.

Η λοίμωξη από στελέχη υψηλού κινδύνου του ιού HPV είναι συχνή, καθώς πάνω από το 80% των γυναικών προσβάλλεται σε κάποιο στάδιο της ζωής τους. Ωστόσο ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας εμφανίζεται σπάνια ως αποτέλεσμα της λοίμωξης. Οι περισσότερες λοιμώξεις εξαφανίζονται λόγω της κυτταρικής ανοσίας και δεν παραμένουν για μεγάλο χρονικό διάστημα.<sup>27</sup>

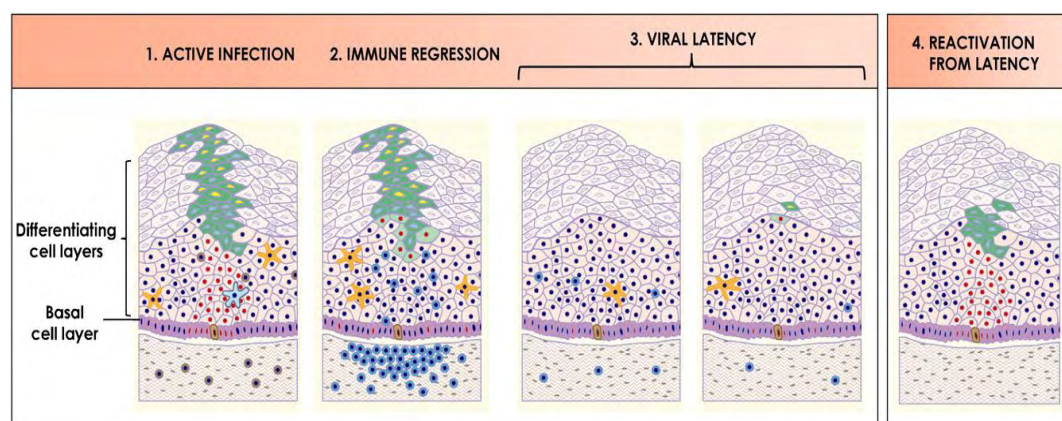
Δύο παράμετροι «κλειδιά» παραμένουν ακαθόριστες: α) αν όντως τα αντισώματα, που ανιχνεύονται στον ορό μετά τη λοίμωξη από τον ιό, παρέχουν προστασία σε περίπτωση νέας λοίμωξης από το ίδιο στέλεχος του ιού και β) αν η μη ανίχνευση του DNA αντιπροσωπεύει την ίαση από τον ιό ή ανοσολογικό έλεγχο της λοίμωξης κάτω από τα όρια ανίχνευσης των πρόσφατων δοκιμών. Εξαιτίας της αβεβαιότητας που υπάρχει γύρω από αυτές τις παραμέτρους, έχουν αναπτυχθεί μοντέλα που εμπλέκουν αναλύσεις ευαισθησίας, στις οποίες οι υποθέσεις για ανοσία και σε μικρότερη έκταση για λανθάνουσα φάση ποικίλουν. Επιπλέον, έχει αποδειχτεί ότι η ανίχνευση με τη βοήθεια αυτών των μοντέλων εμφανίζει υψηλή ευαισθησία απέναντι στις συγκεκριμένες υποθέσεις.<sup>40</sup> Γυναίκες με θετικό HPV-DNA τεστ θεωρούνται προσβεβλημένες από τον ιό HPV, ενώ γυναίκες με αρνητικό HPV-DNA τεστ, θεωρούνται μη προσβεβλημένες.

Έρευνες έχουν αποδείξει ότι το στέλεχος 16 του HPV ιού έχει μεγαλύτερο εύρος ανθεκτικότητας σε σχέση με άλλα στελέχη υψηλού κινδύνου, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.<sup>41</sup> Οι ελάχιστα κατανοητές διαφορές του κυτταρικού τροπισμού και των διαφόρων προτύπων προόδου της νόσου που σχετίζονται με τα διάφορα στελέχη του ιού, υποδηλώνουν τη μεγαλύτερη συσχέτιση του στελέχους 18 του ιού με το αδενοκαρκίνωμα παρά με το πλακώδες καρκίνωμα και τη σχετικά μη συχνή παρουσία του στις αλλοιώσεις CIN2. Τα στελέχη 16, 18 και 45 του ιού, που αποτελούν την πρωταρχική αιτία ανάπτυξης αδενοκαρκινώματος, μπορούν και προσβάλλουν κύτταρα με δυνατότητα αδενικής διαφοροποίησης και γι' αυτό το λόγο μια ανεπιτυχής ή μια ημιανθεκτική λοίμωξη των κυττάρων αυτών είναι σημαντική για την ανάπτυξη αδενοκαρκινώματος.<sup>42</sup> Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η λοίμωξη συγκεκριμένων κυττάρων στην περιοχή μετάπτωσης μεταξύ

ενδοτραχήλου και εξωτραχήλου υποδηλώνει την ανάπτυξη καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.<sup>43</sup>

Ο κύκλος αναπαραγωγής του ιού είναι αποκλειστικά ενδοεπιθηλιακός. Δεν υπάρχει ιαιμία ή λύση του κυττάρου εξαιτίας του ιού και η αναπαραγωγή και η απελευθέρωσή του δε σχετίζονται με τη λοίμωξη.<sup>44</sup> Ο HPV ιός συνολικά, απορρυθμίζει τα σήματα των ανοσολογικών μονοπατιών στα προσβεβλημένα κερατινοκύτταρα. Τα προσβεβλημένα κύτταρα, που αναπαράγονται συνεχώς και εκφράζουν τις ιικές πρωτεΐνες, αποβάλλονται από την επιφάνεια του επιθηλίου και απομακρύνονται από τα ανοσολογικά κύτταρα που βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος. Για τα στελέχη υψηλού κινδύνου της υπεροικογένειας Α, έχουν αναπτυχθεί πολλοί μηχανισμοί ανοσολογικής αποφυγής.

Προηγούμενες έρευνες υποστηρίζουν ότι η αλλοίωση υποχωρεί με αντικατάσταση των ενεργών κυττάρων που έχουν προσβληθεί από τον ιό, με τα φαινομενικά «φυσιολογικά κύτταρα», καθώς τα κύτταρα της βασικής στιβάδας συνεχίζουν να διαιρούνται. Αυτά τα φαινομενικά «φυσιολογικά» κύτταρα, ενδέχεται να περιέχουν ακόμη το γονιδίωμα του ιού, χωρίς όμως επακόλουθη έκφραση των γονιδίων του. Επιπλέον, υπάρχει η άποψη ότι ο κύκλος ζωής του ιού μπορεί να ενεργοποιηθεί ξανά, μετά από ανοσολογική καταστολή ή αλλαγές στα επίπεδα των ορμονών (Εικ. 5).<sup>27</sup>



**Εικ. 5.** Η εκκαθάριση του ανοσοποιητικού συστήματος, η λανθάνουσα περίοδος και η πιθανή επανενεργοποίηση.

## 2. Κλινική νόσος - Λοίμωξη από τον HPV ιό

Η αλλοίωση που μπορεί να διακριθεί με γυμνό μάτι ονομάζεται κλινική νόσος. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται μακροσκοπικώς εμφανή καρκινώματα και τα κονδυλώματα. Τα στελέχη 6 και 11 των HPV ιών εμπίπτουν στην κατηγορία των ιών που προκαλούν κλινική νόσο και καλούνται οξυτενή κονδυλώματα. Τα κονδυλώματα μοιάζουν με τα οξυτενή κλινικά αλλά διαφέρουν στην τυπική μορφολογία.

## **2.1 Υποκλινική Νόσος**

Κατά την υποκλινική νόσο, ο εντοπισμός των αλλοιώσεων από τους ιούς HPV δε γίνεται με απλή κλινική εξέταση, αλλά με κάποιο μικροσκόπιο ή κολποσκόπιο. Ο εντοπισμός κυττάρων με φλεγμονές από HPV ιούς γίνεται με την πραγματοποίηση του τεστ Παπανικολάου και επομένως διαφαίνεται η ύπαρξη ή μη υποκλινικής νόσου στον τράχηλο.<sup>45</sup>

Η κολποσκόπηση έπεται μετά την πραγματοποίηση του τεστ Παπανικολάου και την υποψία μόλυνσης HPV. Κατά την κολποσκόπηση το γεννητικό σύστημα και κυρίως οι βλεννογόνοι και το δέρμα εξετάζονται αφού ψεκαστούν με διάλυμα οξικού οξέος και κάτω από δυνατό φως. Μετά τον ψεκασμό με το διάλυμα εντοπίζονται οι αλλοιώσεις HPV επειδή λευκαίνουν. Παρόλα αυτά η αλλαγή του χρώματος δεν σημαίνει και αλλοίωση. Ακολουθεί διάγνωση όπου θα εξεταστεί εάν οι αλλοιώσεις είναι καρκινικές ή για την διάγνωση της λοίμωξης από τον HPV ιό, σημαντικός παράγοντας αποτελεί ο εντοπισμός του DNA του ιού. Μετά τη διάγνωση η εξέταση αυτή έχει βοηθάει στον εντοπισμό του τύπου του HPV που δημιούργησε τη συγκεκριμένη αλλοίωση.<sup>20</sup>

## **2.2 Λανθάνουσα Λοίμωξη**

Λανθάνουσα λοίμωξη θεωρούμε όταν δεν υπάρχουν στο επιθήλιο υποκλινικές και κλινικές μορφολογικές αλλοιώσεις αλλά απλά ερευνάται το DNA του ιού. Συνηθισμένο φαινόμενο στα άτομα που έχουν μολυνθεί, είναι η συνύπαρξη υποκλινικής και κλινικής φλεγμονής καθώς και η απότομη μετατόπιση από την μια μορφή στην άλλη.<sup>46</sup>



## 2.3 Κονδυλώματα

Μέχρι πριν λίγες δεκαετίες ήταν γνωστά μόνο τα οξυτενή κονδυλώματα και υπήρχε η άποψη ότι αποτελούσαν σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα. Μέχρι την δεκαετία του 1980 δεν υπήρχαν πολλές πληροφορίες για τα κονδυλώματα. Οι κυριότερες πληροφορίες μέχρι τότε ήταν:<sup>47</sup>

- 1907: Επιβεβαιώνεται η άποψη ότι τα θηλώματα προκαλούνται από μολυσματικό παράγοντα, κατόπιν ενδοδερμικής ένεσης μολυσμένων εκχυλισμάτων στον άνθρωπο.
- 1949: Εντοπίζονται σε υλικό ανθρωπίνων θηλωμάτων, σωματίδια ιού.

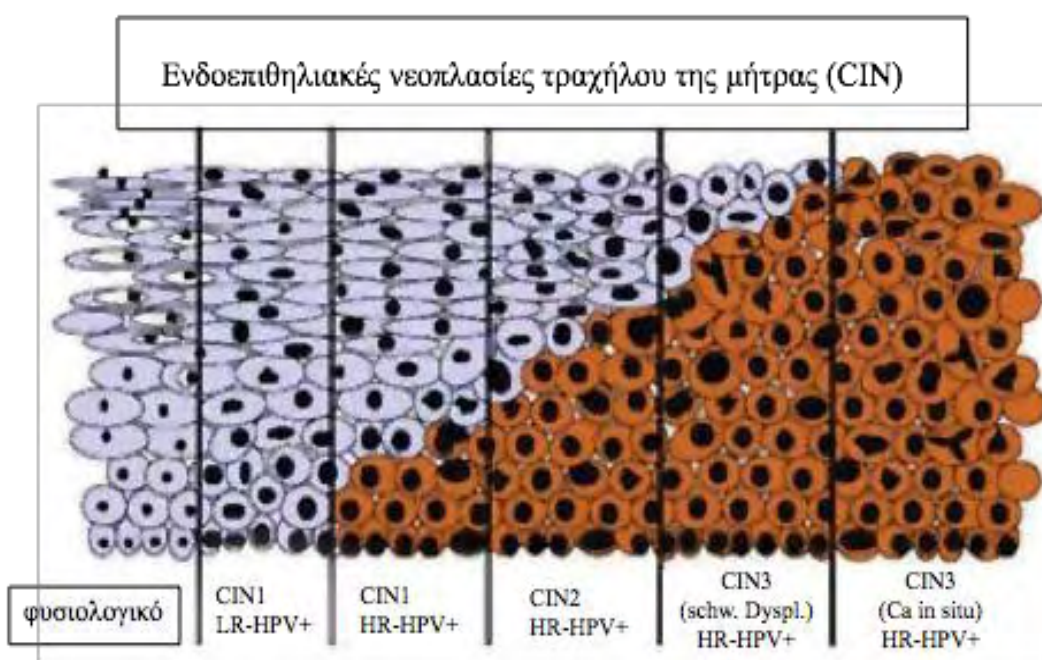
Συμπεραίνεται επομένως ότι μέχρι πριν τρεις δεκαετίες ήταν γνωστά μόνο τα οξυτενή κονδυλώματα τα οποία προκαλούσε ο ιός. Τα είδη θηλωματοϊών καθώς και οι προκαρκινικές αλλοιώσεις και ο καρκίνος που δημιουργούν στο κατώτερο γεννητικό σύστημα ήταν άγνωστα. Λόγω της κλινικής τους εικόνας τα κονδυλώματα είναι εύκολο να διαγνωστούν. Στην περίπτωση όμως δημιουργίας τους στον κόλπο, θα πρέπει η διάγνωση να στηριχθεί σε ορισμένα ιστολογικά, μορφολογικά και κυτταρολογικά κριτήρια.<sup>48,49</sup>

## 3. HPV και αλλοιώσεις του τραχήλου της μήτρας.

Οι περισσότεροι τύποι του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας αναπτύσσονται στην πλακώδη-κυλινδρική συμβολή (squamo-columnar junction) και στη ζώνη μετατροπής (transformation zone) μεταξύ του κυλινδρικού επιθηλίου του ενδοτραχήλου και του πλακώδους επιθηλίου του εξωτραχήλου.

Στο παρακάτω σχήμα φαίνονται, σε ιστολογικό επίπεδο, τα στάδια εξέλιξης μιας υποκλινικής φλεγμονής τραχήλου μήτρας, από ογκογόνους HPV, σε διηθητικό καρκίνο (Εικ. . Αριστερά διαγράφεται το φυσιολογικό επιθήλιο, με εμφανή τη διαφοροποίηση των κυτάρων από την βασική προς την επιφανειακή στοιβάδα. Αμέσως μετά φαίνεται το επιθήλιο με αλλοιώσεις χαμηλού βαθμού. Στο κατώτερο 1/3 του επιθηλίου διακρίνονται κύτταρα με υπερμεγέθεις και

πυκνοχρωματικούς πυρήνες. Η αλλοίωση αυτή περιγραφόταν παλαιότερα είτε ως απλή φλεγμονή από HPV ή ως ελαφρά δυσπλασία ή ως ελαφρά ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία τραχήλου μήτρας (CIN-I: Cervical Intraepithelial Neoplasia, Grade I). Επειδή, αφενός η διάκριση μεταξύ απλής φλεγμονής του επιθηλίου από τον ιό και CIN-1 δεν είναι πάντοτε εφικτή και αφετέρου επειδή ο όρος της νεοπλασίας δεν είναι δόκιμος (αφού οι περισσότερες από αυτές τις αλλοιώσεις -ακόμη και όταν οφείλονται σε ογκογόνους HPV- υποχωρούν από μόνες τους), σύμφωνα με το σύστημα Bethesda, όλες αυτές οι αλλοιώσεις ταξινομήθηκαν ως Χαμηλού Βαθμού Ενδοεπιθηλιακές Αλλοιώσεις εκ Πλακώδους Επιθηλίου και διεθνώς αναφέρονται ως LGSIL (Low Grade Squamous Intraepithelial Lesions).<sup>45</sup>



**Εικόνα 6:** Ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις τραχήλου της μήτρας<sup>45</sup>

Στο ίδιο σχήμα φαίνεται επίσης η δομή του επιθηλίου του τραχήλου, στη μέσης βαρύτητας και στη βαριά δυσπλασία (ή αλλιώς CIN-2 και CIN-3). Στην περίπτωση του CIN-2, τα δύο τρίτα του επιθηλίου καταλαμβάνονται από άτυπα κύτταρα, ενώ στο CIN-3 όλο το επιθήλιο καταλαμβάνεται από άτυπα κύτταρα. Εάν η ατυπία αφορά το 100% του επιθηλίου, η αλλοίωση ταξινομείται και ως καρκίνωμα in situ ή CIS (Carcinoma In Situ). Σύμφωνα με την ταξινόμηση Bethesda, οι αλλοιώσεις CIN-2 και CIN-3 ταξινομήθηκαν στην ίδια ομάδα, αφού

θεωρήθηκαν σαφώς προκαρκινικές και ονομάσθηκαν Υψηλού Βαθμού Ενδοεπιθηλιακές Αλλοιώσεις εκ Πλακώδους Επιθηλίου ή HGSIL (High Grade Squamous Intraepithelial Lesions).

Η βασική στοιβάδα στην οποία πραγματοποιούνται όλες οι κυτταρικές διαιρέσεις βρίσκεται στους βλεννογόνους και στο πλακώδες επιθήλιο του δέρματος. Οι ιοί HPV μόλις εισέλθουν στα κύτταρα της βασικής στοιβάδας, αρχίζει η μόλυνση. Η ενέργεια αυτή πραγματοποιείται μόνο στην περίπτωση ρήξης του επιθηλίου ή τραυματισμού. Στη περίπτωση τραυματισμού ο ιός περνάει στην βασική στοιβάδα όπου αρχίζει ευκολότερα να πολλαπλασιάζεται καθώς μετά τον τραυματισμό ακολουθεί η επούλωση.<sup>50</sup> Μικροτραυματισμοί που πραγματοποιούνται κατά την σεξουαλική πράξη διευκολύνουν τον ιό να εισέλθει στα κύτταρα της βασικής στοιβάδας.



**Εικόνα 7: Λοίμωξη από HPV ιό**

Όταν η λειτουργία του ανοσολογικού συστήματος δεν είναι φυσιολογική, η λοίμωξη θα μετατραπεί σε φλεγμονή παραγωγικού τύπου. Στην περίπτωση αυτή μπορεί να αναπαραχθεί σε μεγάλες ποσότητες το πλήρες ιϊκό σωματίδιο. Επίσης, γίνεται ενσωμάτωση του ιϊκού DNA στο γενετικό υλικό του ξενιστή. Το αποτέλεσμα των επιδράσεων από τις ενέργειες πολλαπλασιασμού του ιού

οδηγούν σε μεγαλύτερη ταχύτητα πολλαπλασιασμού και παράλληλα στην μετατροπή των λειτουργικών και μορφολογικών χαρακτηριστικών των κυττάρων και γενικότερα των μολυσμένων ιστών.

Εάν οι ογκογόνοι HPV ιοί έχουν προσβάλλει τον ιστό και οι ογκοκατασταλτικοί μηχανισμοί του οργανισμού υπολειμθούν, θα πραγματοποιηθεί φλεγμονή μη παραγωγικού τύπου ή θα παρουσιαστούν αλλοιώσεις προκαρκινικές. Στην περίπτωση που η άμυνα του οργανισμού δεν λειτουργεί σωστά ή συνυπάρχουν και επιπλέον παράγοντες οι προκαρκινικές αλλοιώσεις γίνονται καρκινικές.

Είδος Λοίμωξης	Εκδηλώσεις (Κλινικές & Υποκλινικές)
Λανθάνουσα	Καμία
Παραγωγικού τύπου φλεγμονή	Οξυτενή κονδυλώματα, η πλειοψηφία των LGSIL, και σπάνιες περιπτώσεις HGSIL
Μετατρεπτικού τύπου φλεγμονή	Σπάνιες περιπτώσεις LGSIL, οι περισσότερες HGSIL και όλοι οι διηθητικοί καρκίνοι

**Πίνακας 1: Σχέση λοίμωξης από HPV ιό και φλεγμονή**

Η εξέλιξη της λοίμωξης επιβαρύνεται ακόμη περισσότερο από παράγοντες όπως το κάπνισμα, τα ανοσοκατασταλτικά φάρμακα, κα. Ειδικά το κάπνισμα έχει θεωρηθεί υπεύθυνο για την ελάττωση της ανοσολογικής απάντησης.<sup>51,52</sup> Σημαντικό ρόλο στην ανοσολογική απάντηση, παίζει επίσης και η ηλικία της γυναίκας<sup>53</sup>

### **3.1 Ηλικία και καρκινογένεση**

#### **3.1.1 Γυναίκες < 25 ετών**

Τα ποσοστά μόλυνσης από ογκογόνους HPV σε νέες γυναίκες (<25) είναι εξαιρετικά υψηλά. Εάν χρησιμοποιηθεί η τεχνική της PCR για ανίχνευση των HPV στελεχών προκύπτει ότι ο επιπολασμός της λοίμωξης από κάποιο γονότυπο HPV είναι 60%.<sup>54</sup> Στη συγκεκριμένη ομάδα, η ανεύρεση HGSIL είναι σχετικά σπάνια, ενώ ο διηθητικός καρκίνος είναι ανύπαρκτος.<sup>55</sup> Είναι αναμενόμενο ότι

στις γυναίκες 18-25 ετών θα εμφανισθούν, σε κάποια φάση, κυτταρολογικές αλλοιώσεις συμβατές με HPV-φλεγμονή, σε ποσοστά 25-45%. Η ανίχνευση των ογκογόνων HPV σ αυτή την ομάδα γυναικών δεν έχει μεγάλη σημασία. Οι αλλοιώσεις ελέγχονται αρχικά με τεστ Παπανικολάου και κολποσκόπηση, ενώ στη συνέχεια (εάν επιβεβαιωθεί ότι είναι σίγουρα LGSIL) μπορούν να ελέγχονται μόνο κυτταρολογικά.

### **3.1.2 Γυναίκες 25-35 ετών**

Με βάση επιδημιολογικά στοιχεία, σε αυτή την ομάδα παρατηρείται πτώση στη συχνότητα τόσο της λανθάνουσας μόλυνσης όσο και των υποκλινικών φλεγμονών σε σχέση με την προηγούμενη ομάδα. Αυξάνονται όμως τα ποσοστά των HGSIL ενώ εμφανίζονται και λίγες περιπτώσεις διηθητικών καρκίνων. Τα αμφίβολα τεστ Παπανικολάου (ASCUS) πρέπει να διευκρινίζονται με HPV-τεστ και με κολποσκόπηση. Εάν αποδειχθεί μετά από το συγκεκριμένο έλεγχο (τεστ Παπανικολάου, HPV-τεστ, Κολποσκόπηση) ότι δεν υπάρχει SIL, η γυναίκα επιστρέφει σε ετήσιο κυτταρολογικό έλεγχο.<sup>55</sup>

Εάν το τεστ Παπανικολάου δείξει LGSIL, προχωρούμε σε HPV-τεστ και κολποσκόπηση. Σε επιλεγμένες περιπτώσεις, σε ασθενείς που έχει προηγηθεί κρυστοπηξία, η αφαίρεση της ζώνης μετάπλασης πρέπει να συνδυάζεται και με απόξεση ενδοτραχήλου. Εάν μετά από ένα τεστ Παπανικολάου, που έδειξε LGSIL, η κολποσκόπηση δείξει LGSIL και το HPV-τεστ είναι αρνητικό για ογκογόνους HPV (που σημαίνει ότι υπάρχουν μόνο καλοήθεις τύποι), η γυναίκα επιστρέφει σε κυτταρολογική παρακολούθηση ανά έτος. Εάν μετά από τον τριπλό έλεγχο (τεστ Παπανικολάου, κολποσκόπηση και HPV-τεστ) επιβεβαιωθεί ότι είναι LGSIL από ογκογόνους HPV, τότε παρακολουθούμε τις αλλοιώσεις με έναν από τους τρόπους που προαναφέρθηκαν.

Φαίνεται ότι στις γυναίκες ηλικίας 25-35 ετών, μετά από τον αρχικό τριπλό έλεγχο, η καλύτερη πολιτική είναι η κυτταρολογική παρακολούθηση ανά 6μηνο επί διετία και μετά ανά έτος. Θα ήταν ιδανικός στην συγκεκριμένη ομάδα, ο συνδυασμός με κολποσκόπηση ανά έτος. Με την εξελισσόμενη τεχνική της ψηφιακής κολποσκόπησης δίνεται η δυνατότητα εντοπισμού LGSIL, που αυξάνονται σε μέγεθος και επιδεινώνονται.

### 3.1.3 Γυναίκες >35 ετών

Με βάση επιδημιολογικά στοιχεία, η συχνότητα υποκλινικών φλεγμονών και LGSIL μειώνεται σε γυναίκες >35 ετών (4-5%). Αυξάνεται όμως η συχνότητα των HGSIL και των διηθητικών καρκίνων σε σχέση με νεότερες γυναίκες. Στη συγκεκριμένη ομάδα γυναικών οι εμμένουσες αλλοιώσεις LGSIL (>2ετία) από ογκογόνους HPV ιούς, έχουν πιθανότητα 10-20% να εξελιχθούν σε HGSIL. Οι HGSIL αφαιρούνται όπως και σε οποιαδήποτε άλλη περίπτωση.<sup>56</sup>

Οι LGSIL, που οφείλονται σε ογκογόνους HPV ιούς, παρακολουθούνται αρχικά επί διετία. Στην απόφαση για θεραπεία ή όχι μιας LGSIL, σημαντικό ρόλο παίζει και η κολποσκοπική της αξιολόγηση. Δορυφορικές αλλοιώσεις (έξω από τη ΖΜ) δεν έχουν κίνδυνο καρκινογένεσης. Οι αλλοιώσεις όμως μεγάλου μεγέθους, που καταλαμβάνουν >2/3 της ΖΜ, καλόν είναι να αφαιρούνται εάν δεν υποχωρήσουν μετά από διετή παρακολούθηση, όπως και σε κάθε περίπτωση επιδείνωσης, ειδικά σε ασθενείς υψηλού κινδύνου (ανοσοκαταστολή, κάπνισμα, αδυναμία παρακολούθησης κλπ).<sup>57</sup>

Στις γυναίκες αυτής της ομάδας είναι συχνή και η επέκταση των αλλοιώσεων στον ενδοτραχηλικό σωλήνα. Αρχίζει επίσης, στις ηλικίες αυτές, να γίνεται υπολογίσιμη η πιθανότητα ατυπίας από το αδενικό επιθήλιο. Σε κάθε περίπτωση που τίθεται τέτοια υποψία, συνιστάται αφαίρεση της ΖΜ και απόξεση ενδοτραχήλου.

### 3.1.4 Γυναίκες στην εμμηνόπαυση

Στην εμμηνόπαυση δεν είναι συνήθεις οι LGSIL αλλοιώσεις. Ο επιπολασμός της μόλυνσης κυμαίνεται σε πολύ χαμηλά επίπεδα και οι φλεγμονές του επιθηλίου από HPV είναι σπάνιες (< 1%).<sup>58</sup> Όμως πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν ότι η ανοσιακή απάντηση είναι μειωμένη και οι ογκοκατασταλτικοί μηχανισμοί λειτουργούν πλημμελέστερα. Συνήθως η διαδικασία της μετάπλασης έχει ολοκληρωθεί αλλά δεν είναι λίγες οι περιπτώσεις, που υπάρχει μεταπλαστικό επιθήλιο (συχνά στον ενδοτραχηλικό σωλήνα) και απειλείται με φλεγμονή μετατρεπτικού τύπου. Υπάρχει βεβαίως και ο κίνδυνος από το αδενικό επιθήλιο του ενδοτραχήλου, σε περίπτωση μόλυνσης από HPV-18.

Η ατυπία στο τεστ Παπανικολάου, σε γυναίκα που ευρίσκεται σε εμμηνόπαυση, έχει βαρύνουσα σημασία. Η ασθενής καλείται για επανεξέταση. Εάν η ατυπία στο αρχικό τεστ Παπανικολάου είναι σοβαρού βαθμού, από το πλακώδες επιθήλιο, αξιολογείται κολποσκοπικά η ΖΜ και σχεδιάζεται η αφαίρεσή της με βάση και το αποτέλεσμα της απόξεσης του ενδοτραχήλου. Εάν η αρχική ατυπία αφορά σε αδενικού τύπου κύτταρα, προγραμματίζεται αφαίρεση της ΖΜ, απόξεση ενδοτραχήλου και ενδομήτριου. Εάν η ατυπία στο αρχικό τεστ είναι ελαφρού βαθμού από το πλακώδες επιθήλιο, χορηγείται τοπικό οιστρογόνο και προγραμματίζεται επανεξέταση. Όταν προσέλθει η ασθενής γίνεται λήψη επαναληπτικού τεστ Παπανικολάου με HPV-τεστ και ακολουθεί κολποσκοπική αξιολόγηση.

Σύμφωνα με μελέτη του Cuzick στο Hammersmith, σε γυναίκες που βρίσκονται στην εμμηνόπαυση, το HPV-τεστ με HC-II έχει ευαισθησία 95% στην ανίχνευση της ομάδας CIN-2 και CIN-3, ενώ η ευαισθησία για την ομάδα CIN-3 και καρκίνου είναι 100%. Στις περιπτώσεις αυτές, σύμφωνα με τον Cuzick, το επαναληπτικό τεστ Παπανικολάου έχει ευαισθησία 78%.<sup>59</sup>

Ειδικά στην εμμηνόπαυση, η διαγνωστική προσπέλαση και η ενδεχόμενη θεραπευτική αντιμετώπιση πρέπει να γίνεται με μεγάλη προσοχή. Το σύνηθες πρόβλημα είναι η κυτταρολογική υπερεκτίμηση των αλλοιώσεων λόγω της ατροφίας. Στις περιπτώσεις αυτές η τοπική χορήγηση οιστρογόνων και η επανεξέταση είναι βασική αρχή. Τώρα φαίνεται ότι προσφέρει σπουδαίο διαγνωστικό βοήθημα και η ανίχνευση ιϊκού φορτίου από ογκογόνους HPV με την HO-II.<sup>56</sup>

#### **4. Πρόληψη**

Η πρόληψη της λοίμωξης από HPV ιό είναι σημαντική για τη μείωση του επιπολασμού των κονδυλωμάτων των γεννητικών οργάνων, καθώς και του καρκίνου του τραχήλου. Ο προσυμπτωματικός έλεγχος του τραχήλου της μήτρας για καρκίνο έχει μειώσει σημαντικά τα ποσοστά του καρκίνου του τραχήλου σε πολλές χώρες διεθνώς<sup>60</sup> και επίσης, τη συχνότητα εμφάνισης της λοίμωξης από HPV των γεννητικών οργάνων.<sup>61</sup>

Σε γενικές γραμμές, για μια δεδομένη σεξουαλικά μεταδιδόμενη ασθένεια, ο αριθμός των νέων μολύνσεων που μεταδίδεται προς τον ευαίσθητο πληθυσμό

είναι μία συνάρτηση τριών μεταβλητών: της διάρκειας της μεταδοτικότητας, της αποτελεσματικότητας (πιθανότητα) μετάδοσης της λοίμωξης, καθώς και του αριθμού των νέων ερωτικών συντρόφων που έχει το άτομο.<sup>62</sup> Στην περίπτωση έλλειψης μέτρων για τη μείωση της ευαισθησίας του πληθυσμού (όπως η χρήση αποτελεσματικών εμβολίων), η χρησιμοποίηση στρατηγικών αντιμετώπισης κάθε μίας από αυτές τις μεταβλητές μπορεί να μειώσει τη μετάδοση της λοίμωξης. Οι στρατηγικές αυτές περιλαμβάνουν τη μείωση της διάρκειας της μεταδοτικότητας από τη θεραπεία, μειώνοντας την αποτελεσματικότητα της μετάδοσης από μέτρα που αποσκοπούν στη μείωση της μολυσματικότητας (π.χ., προφυλακτικών, μικροβιοκτόνα), και μειώνοντας τον αριθμό των ερωτικών συντρόφων.

Τα τελευταία χρόνια εγκρίθηκαν δύο εμβόλια, το Gardasil και το Cervarix, με σκοπό την ανοσοποίηση των αγοριών ηλικίας 11-21 χρόνων και κοριτσιών 11-25 χρόνων. Το Gardasil ονομάζεται τετραδύναμο επειδή προστατεύει από τους τύπους 6,11, 16 και 18 τον πρωκτό, το αιδοίο και τον κόλπο από καρκίνο και το Cervarix ονομάζεται διδύναμο επειδή ανοσοποιεί τον οργανισμό από τους 18 και 16 τύπους.<sup>63</sup>

#### **4.1 Στρατηγικές Δημόσιας Υγείας**

Οι υπηρεσίες δημόσιας υγείας θα πρέπει να φροντίζουν για την:<sup>51</sup>

- Προώθηση των προγραμμάτων για αύξηση του ελέγχου του καρκίνου της μήτρας, και του τεστ Παπανικολάου.
- Συνεργασία δημόσιων και ιδιωτικών παρόχων υγειονομικής περίθαλψης για αύξηση της ευαισθητοποίησης σχετικά με την πρόληψη της λοίμωξης HPV και του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας,
- Συνεργασία με τον ιδιωτικό τομέα για την προώθηση και την επιτάχυνση της ανάπτυξης ενός ασφαλούς και αποτελεσματικού εμβολίου κατά του HPV.

#### **4.2 Ενημέρωση Ζευγαριών**



Η εξέλιξη των HPV-αλλοιώσεων προς καρκίνο φαίνεται να είναι σπάνιο φαινόμενο στους άνδρες σε σχέση με την αντίστοιχη εξέλιξη στις γυναίκες παρότι η HPV-φλεγμονή συνήθως υπάρχει και στους δύο στο ζευγάρι. Η διαφορά αυτή οφείλεται προφανώς στην ύπαρξη της ζώνης μετάπλασης στον τράχηλο της μήτρας. Κάθε επανεμφάνιση αλλοιώσεων (σε μονογαμικά ζευγάρια) θεωρείται υποτροπή μάλλον έχουσα σχέση με το ανοσιακό σύστημα του ξενιστή- παρά επαναμόλυνση.<sup>64</sup> Σε πολλούς ασθενείς η φλεγμονή από τους HPV διαρκεί πολλά χρόνια, μετά μεταπίπτει σε ύφεση ή υποτροπιάζει συχνά ακόμη και μετά από επανειλημμένες προσπάθειες θεραπείας.<sup>57</sup>

Η ενημέρωση των σεξουαλικών συντρόφων είναι απαραίτητη. Πρέπει να τονισθεί ιδιαίτερα ότι η HPV-λοίμωξη, μεταδίδεται κυρίως με τη σεξουαλική επαφή. Ωστόσο, υπάρχει ένα πολύ μικρό ποσοστό ασθενών, που μολύνεται από μολυσμένα αντικείμενα ή εργαλεία, εάν έχει προηγηθεί μικροτραυματισμός στην περιοχή των γεννητικών οργάνων.

#### 4.3 Εμβολιασμός

Σύμφωνα με το νέο «Εθνικό Πρόγραμμα Εμβολιασμών», ενσωματώθηκε στα εγκεκριμένα εμβόλια, και το εμβόλιο κατά της λοίμωξης από τον HPV ιό. Η μελέτη της κλινικής αποτελεσματικότητας των εμβολίων πραγματοποιήθηκε το 1990, όπου κατόπιν εμβολιασμού έγιναν μελέτες φάσης II για πέντε χρόνια και φάσης III για τέσσερα χρόνια και απεδείχθη αποτελεσματικότητα 90-100% των εμβολίων σε γυναίκες μη μολυσμένες από τον ιό.<sup>66</sup>

Τα αποτελέσματα για το τετραδύναμο εμβόλιο έδειξαν:<sup>67</sup>

- Ποσοστό πρόληψης 98,2% των προκαρκινικών αλλοιώσεων στον τράχηλο υψηλού βαθμού (CIN2/3) για τους οποίους ευθύνονται οι τύποι 18 και 16.
- Ποσοστό πρόληψης 100%, προκαρκινικών αλλοιώσεων του αιδοίου υψηλού βαθμού (VIN 2/3) για τους οποίους ευθύνονται οι τύποι 18 και 16.
- Ποσοστό πρόληψης 100%, προκαρκινικών αλλοιώσεων του κόλπου, υψηλού βαθμού (VIN 2/3) για τους οποίους ευθύνονται οι τύποι 18 και 16.
- Ποσοστό πρόληψης 99% των γεννητικών κονδυλωμάτων για τους οποίους ευθύνονται οι τύποι 11 και 6.

Λόγω μοριακής συγγένειας με τους τύπους 16 και 18, προέκυψε από μελέτες ότι τα εμβόλια βοηθούν στην προστασία και από άλλους ογκογόνους τύπους HPV. Παράδειγμα το τετραδύναμο εμβόλιο παρέχει προστασία ενάντια στον τύπο 31 και το διδύναμο προστασία ενάντια στους τύπους 31,33, και 45.<sup>68</sup> Η προστασία των εμβολίων στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας υπολογίζεται σε ένα επιπρόσθετο 4-5%, καθώς σε περιπτώσεις πολλαπλών λοιμώξεων που συνυπάρχουν οι τύποι 16 ή/και 18, είναι πιο δύσκολη η αντιμετώπιση της ογκογόνου βλάβης.

Στην Αμερική, την Αυστραλία και τον Καναδά, συστήνεται ο μαζικός εμβολιασμός όλων των αντρών ηλικίας 11-26 ετών. Η μείωση των κονδυλωμάτων στα νεαρά κορίτσια, στις χώρες που εφαρμόζεται ο εμβολιασμός παρουσιάζει σημαντική μείωση ύστερα από την πάροδο πέντε ετών από τον αρχικό εμβολιασμό.<sup>69</sup>

Τέλος, πρέπει να σχολιάσουμε πως σε χώρες όπως τον Καναδά και τις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, έχει αρχίσει και εφαρμόζεται το νέο 9δύναμο εμβόλιο κατά του HPV, το *Gardasil 9*. Το εμβόλιο καλύπτει τους ορότυπους 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58 και έχει έγκριση για κορίτσια και γυναίκες 9-26 χρ. και για αγόρια 9-15 χρ. στις ΗΠΑ. Το εννεαδύναμο εμβόλιο εγκρίθηκε και στην Ευρώπη (CMHP- European Medicines Agency - EMA) και η σύσταση του είναι και για τα δύο φύλα από 9 χρ. χωρίς ηλικιακό περιορισμό.

## **5. Θεραπευτική προσέγγιση**

Η μόλυνση του HPV δεν έχει μόνιμη θεραπεία αλλά μπορεί να αντιμετωπιστεί με την χρήση και παρασκευή εμβολίων. Κυρίως, η μόλυνση καταστέλλεται με την κυτταρική ανοσία. Συγχρόνως έχει παρατηρηθεί ότι αναπτύσσεται με ρυθμό αργό και κάποια χυμική ανοσία η οποία από ένα σημείο και έπειτα εξουδετερώνει τα σωματίδια του ιού και αποκλείει την υποτροπή και την επανάληψη της μόλυνσης. Οι πρωτεΐνες της κάψας του ιικού σωματιδίου είναι αυτές στις οποίες οφείλεται η διεργασία της χημικής ανοσίας.<sup>70</sup>

Κρίνεται απαραίτητη, η παρασκευή εμβολίων που θα περιέχουν πρωτεΐνες της κάψας των HPV είτε ανασυνδυασμένες, είτε φυσικές. Με τα εμβόλια αυτά ο οργανισμός θα προφυλάσσεται αφού θα αποκτά καλή χυμική ανοσία. Στην περίπτωση που οι αλλοιώσεις είναι χαμηλού βαθμού, συστήνεται απλά παρακολούθηση αφού κατά μεγάλο ποσοστό υποχωρούν σε μικρό χρονικό διάστημα. Σπάνια, με την παρουσία LGSIL στον τράχηλο προτείνεται η αφαίρεση της Ζώνης Μετάπλασης. Οι υψηλού βαθμού υποκλινικές αλλοιώσεις πρέπει να αφαιρούνται επειδή πιστεύεται ότι είναι προκαρκινικές. Τα οξυτενή κονδυλώματα παρόλο που θεωρούνται αλλοιώσεις καλοήθειας πρέπει να καταστρέφονται ώστε ο οργανισμός να αποκτά την δυνατότητα καταστολής της φλεγμονής.<sup>71</sup>

### **5.1. Η τακτική «see and treat»**

Η δημοφιλέστερη μέθοδος αφαιρετικής θεραπείας των SIL αλλοιώσεων είναι με την τεχνική LEEP (Loop Electrosurgical Excisional Procedures). Αφαιρείται η ζώνη μετάπλασης με αγκύλη διαθερμίας (Large Loop Excision of Transformation Zone - LLETZ). Η τεχνική αυτή είναι πάρα πολύ εύκολη και γρήγορη και θεωρείται ότι θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για σύγχρονη διάγνωση και θεραπεία (see and treat) σε εξατομικευμένες περιπτώσεις ασθενών. Πχ ασθενείς που έρχονται από επαρχία και θα ήταν δύσκολη η επάνοδός τους μια δεύτερη φορά. Όμως η εφαρμογή της τακτικής «see and treat», αδιακρίτως σε ασθενείς με SIL, είναι επικίνδυνη από την άποψη ότι συμβάλλει σε υπερθεραπεία. Σύμφωνα με όλες τις δημοσιευμένες σειρές, 10-40% των ιστολογικών παρασκευασμάτων δεν είχαν παθολογικές αλλοιώσεις αλλά πρώιμο μεταπλαστικό επιθήλιο. Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 5, το πρώιμο μεταπλαστικό επιθήλιο είναι πολύ εύκολο να θεωρηθεί LGSIL κατά την κολποσκόπηση.<sup>51</sup>

Η βιοψία κώνου, η χειρουργική με λέιζερ και η κρυοχειρουργική είναι δυνατόν να προκαλέσουν προσωρινές κυτταρικές αλλοιώσεις, που ίσως δώσουν εσφαλμένα θετικά αποτελέσματα στο τεστ Παπ. Για αυτό οι γυναίκες που έχουν υποβληθεί σε τέτοιου είδους διαδικασίες πρέπει να περιμένουν τουλάχιστον 3-4 μήνες προτού ξανακάνουν το τεστ Παπ.

**Ενδοεπιθηλιακή Νεοπλασία του Τραχήλου της Μήτρας**

- 1) Ηλεκτροχειρουργική εκτέλεση αφαίρεσης παθολογικού τμήματος τραχηλικού ιστού
- 2) Κωνοειδής εκτομή
- 3) Ηλεκτροχειρουργική αφαίρεση
- 4) Κρυοθεραπεία

**Καρκίνος Τραχήλου**

- 1) Κωνοειδής εκτομή
- 2) Ριζική υστερεκτομή
- 3) Χημειοραδιοθεραπεία με ταυτόχρονη χορήγηση σισπλατίνης

**Ενδοεπιθηλιακή Νεοπλασία του Αιδοίου**

- 1) Χειρουργική εκτομή για μνοεστιακή νόσο
- 2) Συνδυασμός χειρουργικής επέμβασης και χημειοθεραπείας
- 3) Χημειοθεραπεία
- 4) Βιοψία του “λεμφαδένα φρουρού”

**Ενδοεπιθηλιακή Νεοπλασία του Πέους και του Πρωκτού**

- 1) Ηλεκτροδιαθερμία
- 2) Εκτομή με λείζερ
- 3) Τοπική θεραπεία με χρήση 5-φλουοροουρακίλης ή ιμιουϊμόδης ή κιδοφοβίρης
- 4) Χειρουργική εκτομή
- 5) Ριζική βουβωνική λεμφαδενεκτομή

## Γεννητικά Κονδυλώματα

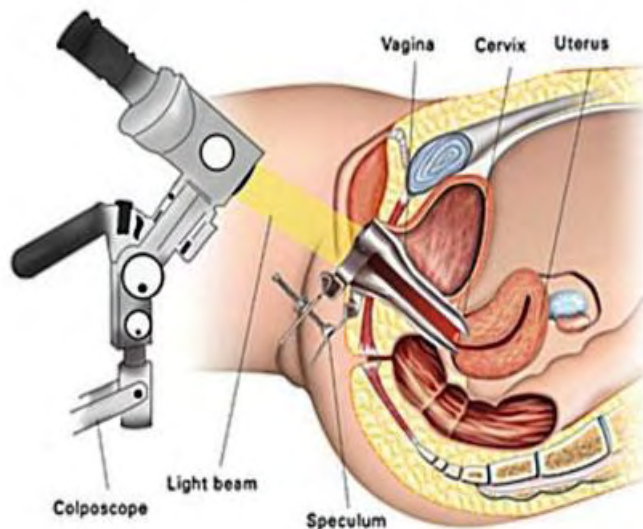
### A. Εφαρμοζόμενη από τον γιατρό:

- 1) Κρυοπηξία με υγρό άζωτο
- 2) Τριχλωροξικό οξύ
- 3) Χειρουργική εκτομή

### B. Εφαρμοζόμενη από τον ασθενή

- 1) Ποδοφυλλοτοξίνη
- 2) Κρέμα ιμικουϊμόδης

Πίνακας 2: Συγκεντρωτικός Πίνακας Σύγχρονων Θεραπευτικών Προσεγγίσεων

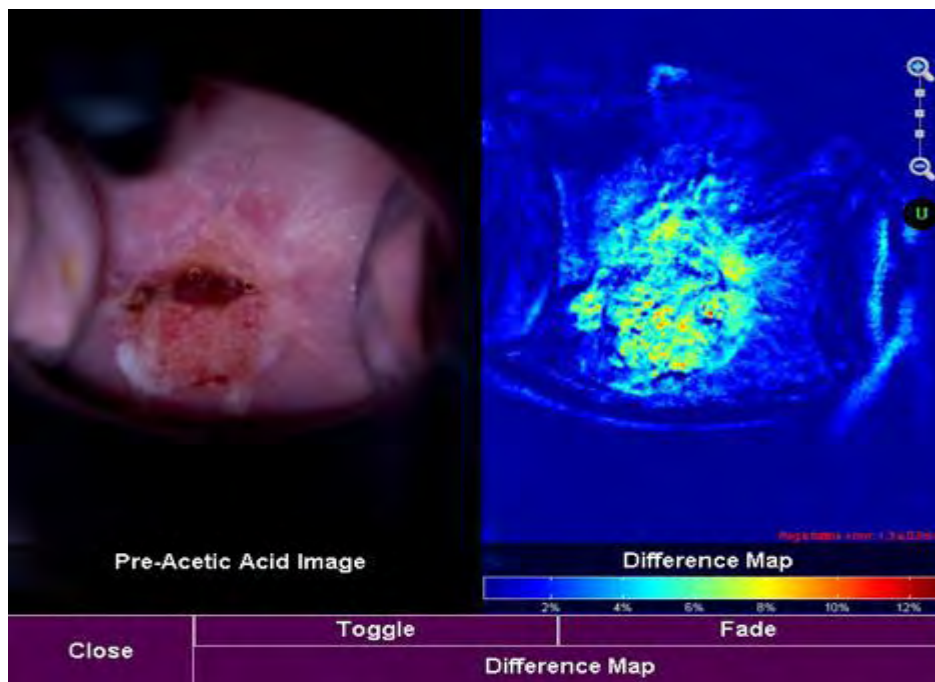


Εικόνα 8: Κολποσκόπηση<sup>72</sup>

## 5.2 Ψηφιακή Κολποσκόπηση

Η νέα αυτή τεχνολογία θα βοηθήσει σε πολλούς τομείς. Η αποθήκευση της εικόνας δίνει τρομερές δυνατότητες για μελλοντική της χρήση σε συγκρίσεις με αντίστοιχες κυτταρολογικές και ιστολογικές εικόνες (η θέση της κάθε βιοψίας μαρκάρεται πάνω στο είδωλο) και η χρήση της για διδακτικούς σκοπούς είναι υπεράνω κάθε σχολίου. Δίνει επίσης δυνατότητα συγκρίσεων με μελλοντικές εικόνες της ίδιας αλλοιώσεως, στο μεγάλο ποσοστό των ασθενών στις οποίες αποφασίζεται να γίνεται παρακολούθηση ενώ θα μπορούν να γίνουν μελέτες -με

παράλληλη μέτρηση του ιϊκού φορτίου και του τύπου των HPV - που είναι βέβαιο ότι θα μας βοηθήσουν να κατανοήσουμε καλύτερα τη φυσική ιστορία αυτών των αλλοιώσεων.<sup>73</sup> Βέβαια, η χρήση της ψηφιακής εικόνας για αναζήτηση δεύτερης γνώμης από πιο εξειδικευμένο άτομο, αποτελεί ένα ακόμη πλεονέκτημα (αντίστοιχο της τραχηλογραφίας) της μεθόδου, με την προϋπόθεση ότι η λήψη της εικόνας έχει γίνει υπό άριστες προϋποθέσεις.



Εικόνα 9: Ψηφιακή Κολποσκόπηση<sup>74</sup>

### 5.3 Ο ρόλος της απόξεσης του ενδοτραχήλου κατά την κολποσκόπηση

Η απόξεση του ενδοτραχήλου (EndoCervical Curettage - ECC) είναι απαραίτητη όταν έχουμε μη-ικανοποιητική κολποσκόπηση ή όταν τίθεται υποψία από το τεστ Παπανικολάου και δεν ανευρίσκονται κολποσκοπικές αλλοιώσεις. Είναι επίσης απαραίτητη σε κάθε περίπτωση που έχει προηγηθεί θεραπεία για CIN και επανεμφανίζεται ατυπία στο τεστ Παπανικολάου. Εξυπακούεται ότι συνιστάται και σε κάθε περίπτωση υποψίας για ατυπία από το αδενικό επιθήλιο.

#### 5.4 Κυτταρολογία Υγρής Φάσης

Η κυτταρολογία υγρής φάσης (LBC) είναι ακριβότερη από το παραδοσιακό τεστ Παπανικολάου. Έχει δύο πλεονεκτήματα: α) καλύτερη εικόνα για τον κυτταρολόγο κατά τη μικροσκοπική εξέταση, που έχει ως αποτέλεσμα την ανίχνευση περισσότερων LSIL, β) το φιαλίδιο με το υλικό διατηρείται στο εργαστήριο και εάν κατά την εξέταση των κυττάρων στο μικροσκόπιο υπάρξει ένδειξη λοίμωξης από HPV ή αμφιλεγόμενη ατυπία λόγω πιθανής φλεγμονής από ιό (κατηγορία ASCUS), μπορεί να γίνει αναζήτηση του HPV-DNA στο εργαστήριο και να διευκρινιστεί το πρόβλημα, χωρίς να χρειαστεί να έλθει ξανά η γυναίκα για λήψη καινούργιου υλικού.

Οι μελέτες, που συνεχίζουν να γίνονται για σύγκριση των δύο μεθόδων του τεστ Παπανικολάου, έχουν δείξει ότι: Η τεχνική LBC πλεονεκτεί μόνο στην ανεύρεση περισσότερων LSIL, ενώ δεν φαίνεται να υπάρχει σημαντική διαφορά στην ανεύρεση HSIL (που είναι και ο κύριος στόχος μας, ειδικά σε προγράμματα μαζικού ελέγχου). Επίσης η επεξεργασία του υλικού από το μηχάνημα με την τεχνική LBC, στερεί πολλές φορές την εικόνα του φλεγμονώδους υποστρώματος. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ελλιπή αξιολόγηση της φλεγμονής και σε σπάνιες περιπτώσεις τη διαφυγή περιστατικών διηθητικών καρκίνων, όπου λόγω της νέκρωσης των επιφανειακών ιστών, δεν βλέπουμε καρκινικά κύτταρα και η μοναδική υποψία τίθεται από το υπόστρωμα στο πλακίδιο.

#### 5.5 *Polar probe*

Πρόκειται για μια φορητή οπτικο-ηλεκτρονική συσκευή, που σχεδιάστηκε για να ανιχνεύει προκαρκινικές αλλοιώσεις και καρκίνο τραχήλου. Οι φυσιολογικοί ιστοί του τραχήλου, οι ιστοί με προκαρκινικές αλλοιώσεις και αυτοί με διηθητικό καρκίνο, έχουν διαφορετική συμπεριφορά στην ανάκλαση του φωτός και διαφορές στο ηλεκτρικό τους φορτίο.

Η μέθοδος δίνει άμεση και αντικειμενική αξιολόγηση του τραχήλου. Από μια προκαταρκτική μελέτη, που έχει γίνει, φαίνεται ότι εντοπίζει περίπου το 90% των HGSIL και των διηθητικών καρκίνων. Τα ψευδώς αρνητικά αλλά και τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα κυμαίνονται γύρω στο 10%, ποσοστό αποδεκτό για μια τόσο φτηνή και εύκολη μέθοδο.<sup>75</sup>

### **Σκοπός της εργασίας**

Σκοπός της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας ήταν να εξετάσουμε τι είναι γνωστό για τη λοίμωξη από HPV ιό και τις επιπτώσεις αυτής στον Ελληνικό πληθυσμό. Στα πλαίσια της διερεύνησης αυτής συγκεντρώσαμε τις μελέτες που έχουν γίνει στον Ελληνικό πληθυσμό και συλλέξαμε πληροφορίες προκειμένου να δούμε την συχνότητα και κατανομή των στελεχών στα γεωγραφικά διαμερίσματα της Ελλάδας σε συνάρτηση με την εκάστοτε μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε. Η συλλογή των στοιχείων αυτών μας δίνει πληροφορίες για την συχνότητα των στελεχών προ- και μετά την έναρξη του εμβολιασμού.



## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Έχουν διενεργηθεί αρκετές μελέτες με σκοπό την τυποποίηση του HPV. Όπως είναι φυσικό, η συντριπτική πλειονότητα αυτών διενεργήθηκε σε τραχηλικά δείγματα, στα οποία εστιάζεται και το ενδιαφέρον της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας. Επιπλέον, υπάρχουν και άλλες μελέτες που διενεργήθηκαν σε δείγματα άλλων ιστών του σώματος.

Καταρχήν θα αποτυπωθούν τα ευρήματα για την παρουσία HPV σε μη τραχηλικά δείγματα. Το 1996 οι Noutsou et al.<sup>76</sup> πραγματοποίησαν μία μελέτη που αποσκοπούσε στην ανίχνευση του HPV και των μεταλλάξεων του γονιδίου k-ras σε ιστολογικά δείγματα πνεύμονα. Η μελέτη αφορά 99 άτομα εκ των οποίων τα 15 βρέθηκαν θετικά στον ιό. Η ανίχνευση και τυποποίηση του HPV έγινε με τη χρήση PCR, ενώ οι μεταλλάξεις στο γονίδιο k-ras έγιναν με τη χρήση μελέτης πολυμορφισμού μήκους θραύσματος με περιοριστικά ένζυμα. Ο τύπος του HPV που ανιχνεύτηκε σε μεγαλύτερη συχνότητα ήταν ο HPV18 (8%) με δεύτερο τον HPV16 (4%) και ακολουθούσαν οι HPV11 (3%) και HPV33 (2%).

Τέσσερα χρόνια αργότερα, το 2000, οι Bouda et al.<sup>77</sup> μελέτησαν το ρόλο του HPV στη στοματική καρκινογένεση. Από τα 69 δείγματα ανέλυσαν 53 δυνητικά νεοπλασματικές και νεοπλασματικές στοματικές αλλοιώσεις αποτελούμενες από 29 περιπτώσεις υπερπλασίας, 5 περιπτώσεις δυσπλασίας και 19 περιπτώσεις καρκινωμάτων πλακωδών κυττάρων καθώς και 16 στοματικά δείγματα που προέρχονται από υγιή άτομα. Από τα 53 παθολογικά δείγματα τα 48 βρέθηκαν θετικά στον HPV. Χρησιμοποιήθηκε ένα εξαιρετικά ευαίσθητο τεστ ένθετης αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) μαζί με ειδικού-τύπου PCR, ανάλυση μήκους πολυμορφισμού θραύσματος με περιοριστικά ένζυμα, dot blotting, και μη-ισοτοπική in situ υβριδοποίηση. Θετικά για τον ιό HPV τύπου 6, 16, 18, και 33 ανιχνεύθηκαν 1 (2,1%), 24 (50,0%), 11 (22,9%), και 1 (2,1%) δείγματα, αντίστοιχα. Συν-μολύνσεις από τον ιό HPV και συγκεκριμένα από τους τύπους 6/16, 16/18, 16/33, 18/33, 16/18/33, 06/16/33, 06/16/18 και 6/11/16/18/31/33 ανιχνεύθηκαν σε 3 (6,3%), 2 (4,2%), 1 (2,1%), 1 (2,1%), 1 (2,1%), 1 (2,1%), 1 (2,1%), και 1 (2,1%) δείγματα, αντίστοιχα. Τουλάχιστον ένας τύπος υψηλού κινδύνου ανιχνεύθηκε σε 47 (98,1%) μολυσμένα δείγματα, με ένα μόνο δείγμα SQCC (1,9%) να έχει μολυνθεί μόνο με ένα τύπο χαμηλού κινδύνου

(HPV 6). Το στέλεχος HPV 16 ήταν ο επικρατών τύπος, παρών σε 34 (70,8%) περιπτώσεις μόλυνσης είτε μόνος του είτε σε συνδυασμό με άλλους τύπους του ιού.

Οι Agorastos et al.,<sup>78</sup> μελέτησαν το 2010 την ανίχνευση του HPV σε πλακώδες καρκίνωμα του στοματοφάρυγγα. Η μελέτη διενεργήθηκε σε 126 στοματοφαρυγγικά δείγματα βιοψίας εκ των οποίων τα 102 βρέθηκαν θετικά για HPV. Οι ερευνητές συνέκριναν την Access Genetics (Minneapolis, MN) αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), τη χημική δοκιμή αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (AGPCR), τον in situ υβριδισμό DNA-DNA (ISH· Ventana, Tucson, AZ), και την ενίσχυση HPV-16 E7 PCR σε διαδοχικά προστιθέμενους στοματοφαρυγγικούς καρκίνους. Από τις 92 θετικά με AGPCR, 75 (82%) περιπτώσεις ήταν HPV-16 +, 1 (1%) ήταν HPV-58 +, και 16 (17%) ήταν θετικές αλλά η ένταση των προϊόντων της PCR ήταν πολύ εξασθενημένη για να εξακριβώσει τον τύπο του HPV.

Το 2010 διεξήχθη μία μελέτη από τους Krikelis et al.,<sup>79</sup> προκειμένου να εξεταστεί η συχνότητα των διαφορετικού μήκους HPV16 E7 τμημάτων στον καρκίνο του πνεύμονα. Για το σκοπό αυτό σχεδιάστηκαν τέσσερα διαφορετικά πρωτόκολλα ενίσχυσης για την ανίχνευση των επικαλυπτόμενων τμημάτων του HPV16 E7 ORF, όλα κατάλληλα για ειδική ανίχνευση HPV σε τραχηλικό καρκίνωμα. Στα δύο συστήματα ενισχύθηκε το σύνολο της E7, ενώ στα υπόλοιπα ενισχύθηκαν μικρότερες αλληλουχίες. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 76 δείγματα, εκ των οποίων 29 δείγματα καρκίνου πνεύμονα, 16 μη καρκινικά δείγματα ιστού πνεύμονα από τους ίδιους ασθενείς και 31 βρογχικά εκπλύματα από διαφορετικούς ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα. Από τα 23 δείγματα καρκίνου του πνεύμονα τα 14 βρέθηκαν θετικά στον HPV. Η ενίσχυση του συνόλου του HPV16 E7 ORF, χρησιμοποιώντας δύο πρωτόκολλα, ανέδειξε την απουσία των ειδικών αλληλουχιών HPV16 E7 (74 δείγματα είτε αρνητικά από το πρώτο πρωτόκολλο PCR ή ψευδώς θετικά από το δεύτερο, με βάση την ανάλυση αλληλουχίας μετά από πέψη είτε με A<sub>va</sub>II είτε με P<sub>vu</sub>II). Ωστόσο, τα δύο συστήματα που στοχεύουν μικρότερα E7 τμήματα αποκάλυψαν τη συχνή παρουσία των αλληλουχιών HPV16 E7 σε δείγματα πνευμονικού καρκίνου (14/23 θετικά με ένα από τα δύο πρωτόκολλα).

Το 2011 οι Ioannis et al.<sup>80</sup> μελέτησαν 71 δείγματα βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος παιδιών. Το δείγμα αποτελείτο από 33 κορίτσια και 38 αγόρια.

Θετικά στον ιό HPV βρέθηκαν 6 παιδιά (3 αγόρια και 3 κορίτσια). Η τυποποίηση του ιού έγινε με τεχνικές βασισμένες στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης. Αξιοσημείωτο εύρημα της μελέτης ήταν η ύπαρξη συν-μόλυνσης με τους τύπους του ιού υψηλού κινδύνου HPV16, 18 και 31 σε 2 παιδιά (1 αγόρι και 1 κορίτσι). Σε 4 παιδιά ανιχνεύτηκαν μη- υψηλού κινδύνου μη τυποποιημένοι ιοί HPV.

Το 2013 οι Giannaki et al.,<sup>81</sup> διερεύνησαν την παρουσία του ιού HPV σε κονδυλώματα στα παιδιά, προκειμένου να συνδέσουν τον ιό με την ασθένεια. Στη μελέτη τους συμπεριλήφθηκαν εξήντα οκτώ παιδιά (37 αγόρια και 31 κορίτσια) με κλινικά διαγνωσμένους δερματικούς σπίλους εκ των οποίων τα 51 βρέθηκαν θετικά στον ιό HPV. Εξετάστηκαν δείγματα βιοψίας δέρματος και απομονώθηκε DNA χρησιμοποιώντας ένα εμπορικά διαθέσιμο κιτ. Για να γίνει διάκριση μεταξύ των τύπων HPV, χρησιμοποίησαν ένα ειδικό ζεύγος εκκινητών για την ενίσχυση του HPV-DNA. Η ενίσχυση της περιοχής L1 με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης ακολουθήθηκε από ανάλυση πολυμορφισμού μήκους θραύσματος με περιοριστικά ένζυμα και τεχνολογία LumineX xMAP. Οι δερματικοί HPV τύποι υπερίσχυσαν και βρέθηκαν σε 31 από τα 51 κονδυλώματα. Από αυτούς τους τύπους, ταυτοποιήθηκαν τέσσερις διακριτοί τύποι (HPV 2, 3, 27, 57). Ο HPV 57 παρατηρήθηκε πιο συχνά, εμφανιζόμενος σε 22 (43,1%) κονδυλώματα. Οι άλλοι διαδεδομένοι τύποι HPV ήταν υψηλού κινδύνου και μέλη μιας οικογένειας (HPV 16, 18). Το 41% των θετικών δειγμάτων έφεραν τύπο HPV υψηλού κινδύνου. Πολλαπλές λοιμώξεις, στις οποίες ανιχνεύθηκαν δύο ή περισσότεροι τύποι HPV, εμφανίστηκαν σε 6% των HPV-θετικών κονδυλωμάτων. Όλα τα δείγματα με πολλαπλή μόλυνση περιείχαν δύο συγκεκριμένους τύπους HPV (HPV 57, 16). Ο HPV 57 ήταν το κυρίαρχο είδος που ανιχνεύτηκε, αν και η ανίχνευση του υψηλού κινδύνου HPV τύπου 16 σε 33% των θετικών δειγμάτων υποδεικνύει την παρουσία τύπων HPV υψηλού κινδύνου στο δέρμα των παιδιών.

Το 2014 οι Moreas et al.,<sup>82</sup> μελέτησαν το ρόλο της παρουσίας HPV σε αδеноκαρκίνωμα του παχέος εντέρου. Από τα 60 δείγματα ιστών ανδρών και γυναικών θετικών για αδеноκαρκίνωμα τα 16 ήταν θετικά για HPV. Στη μελέτη χρησιμοποίησαν ανοσοϊστοχημεία (IHC HPV) καθώς και χρωμογόνο in situ υβριδισμό (HPV 16/18 DNA CISH) σε επαναλαμβανόμενες σειριακές τομές για την ανίχνευση πρωτεΐνης και ειδικών τύπων HPV DNA, αντίστοιχα. Με βάση την HPV IHC και CISH ταυτόχρονη ανάλυση, βρέθηκε ότι σε 16 (26,6%) περιπτώσεις

εκφραζόταν HPV πρωτεΐνη, ενώ σε 7 (11,6%) ανιχνεύθηκαν σήματα HPV 16/18 DNA.

Το 2014 οι Blioumi et al.,<sup>83</sup> εξέτασαν την παρουσία του HPV σε κακότητες, δυνητικά κακότητες και φυσιολογικό στοματικό επιθήλιο και μελέτησαν τη σχέση του επιπολασμού του HPV με άλλους παράγοντες που λαμβάνονται από τα αρχεία του ασθενούς προκειμένου να αξιολογήσουν το ρόλο του HPV στη στοματική καρκινογένεση. Το υλικό της μελέτης αποτελείτο από 291 δείγματα ιστών [258 ατόμων (127 ανδρών και 131 γυναικών)], εκ των οποίων οι 90 βρέθηκαν θετικοί για HPV με τουλάχιστον μία από τις χρησιμοποιούμενες τεχνικές. Από κάθε άτομο εξετάστηκαν ιστοί μονιμοποιημένοι σε φορμόλη και εγκλεισμένοι σε παραφίνη με Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης με εσωτερικούς εκκινητές (ηPCR) για την ανίχνευση του HPV-DNA και με ανοσοϊστοχημεία (IHC) για την *in situ* ανίχνευση πρωτεΐνης HPV L1. Θετικά PCR προϊόντα υποβλήθηκαν σε προσδιορισμό αλληλουχίας προκειμένου να τυποποιηθούν οι διαφορετικοί τύποι HPV. Επίσης, ελήφθησαν 33 καινούργιοι ιστοί, μονιμοποιήθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση σωματιδίων HPV με την ηλεκτρονική μικροσκοπία (TEM). Η τυποποίηση των HPV θετικών δειγμάτων ανέδειξε HPV16 σε ποσοστό 88,6%, HPV13 σε 3%, HPV56 σε 3% και διπλές μολύνσεις HPV 13/16 στο 3%, HPV 16/56 στο 1% και HPV16/66 στο 1,5%. Συνολικά, 97,1% των θετικών δειγμάτων περιείχαν τύπους HPV υψηλού κινδύνου (HPV16, 56, 66).

Η πιο πρόσφατη έρευνα σχετικά με την ανίχνευση του HPV σε περιοχές εκτός του τραχήλου και της επίδρασής του στην καρκινογένεση διενεργήθηκε το 2015 από τους Georgantis et al.<sup>84</sup> Είναι η πρώτη μελέτη στην Ελλάδα για ανίχνευση HPV στον οισοφαγικό βλεννογόνο και την πιθανή συσχέτιση με τον καρκίνο του οισοφάγου. Το υλικό μελέτης ήταν 49 δείγματα που ελήφθησαν με οισοφαγο-στομαχικό-δωδεκαδακτυλική ενδοσκόπηση (EGD) και με βιοψία οισοφάγου σε Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο στη Β. Ελλάδα που λειτουργεί ως κέντρο αναφοράς. Στα δείγματα έγινε ιστοπαθολογική εκτίμηση η οποία ακολουθήθηκε από αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης. Σε 2 άνδρες τα αποτελέσματα ήταν θετικά για HPV. Οι επικρατέστεροι τύποι του HPV που εντοπίστηκαν ήταν οι 11 και 31, οι οποίοι έχουν χαμηλό δυναμικό κακοήθειας.

Όσον αφορά τη μελέτη της παρουσίας ιού HPV σε τραχηλικά δείγματα υπάρχει σημαντικός αριθμός δημοσιεύσεων.

Στα τραχηλικά δείγματα οι Malamou-Mitsi et al.,<sup>85</sup> το 2002/2003 διενήργησαν μία μελέτη ανίχνευσης και τυποποίησης HPV με PCR και ανάλυση πολυμορφισμού μήκους θραύσματος με περιοριστικά ένζυμα. Μελετήθηκαν 42 ιστοπαθολογικά δείγματα τραχηλικών ιστών εκ των οποίων τα 30 βρέθηκαν θετικά στον HPV. Υψηλού κινδύνου HPV τύποι ανιχνεύθηκαν σε 15 από τα 23 HGSILs [65,1%], σε 11 από τα 16 LGSILs [68,7%] και σε 1 από τα 3 δείγματα αρνητικών από HPV-βλάβες [33,3%]. Χαμηλού κινδύνου HPV τύποι ανιχνεύθηκαν σε 1 από 23 HGSILs [4,3%] και σε 1 από 16 LGSILs [6,2%] καθώς και ένας καινούργιος τύπος HPV σε μια περίπτωση LGSIL. Η HPV-τυποποίηση με ανάλυση RLFPs ήταν επιτυχής σε 13 από τις 30 θετικές περιπτώσεις [43,3%]. Ο HPV-16 εντοπίστηκε σε 6 περιπτώσεις [5 HGSIL και 1 LGSIL], ο HPV 31 σε 3 περιπτώσεις [1 HGSIL με μικροδιήθηση και 2 LGSIL], ο HPV-33 σε 1 περίπτωση HGSIL, ο HPV-56 σε 1 περίπτωση LGSIL, ο HPV-61 σε 1 περίπτωση θετικού HPV και ένας νέος τύπος HPV σε περίπτωση LGSIL.

Το 2005 οι Agorastos et al.<sup>86</sup> έκαναν μία συγκριτική μελέτη μεταξύ της εξέτασης ανίχνευσης DNA του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV) και της εξέτασης ρουτίνας επιχρίσματος κατά Παπανικολάου για την ανίχνευση της χαμηλής και υψηλής ποιότητας τραχηλικής ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας σε πληθυσμό χαμηλού κινδύνου. Στη μελέτη συμμετείχαν 1296 γυναίκες που παρακολουθήθηκαν σε έξι Εξωτερικά Ιατρεία στη Βόρεια Ελλάδα (Θεσσαλονίκη, Θέρμη, Μηχανιώνα, Κέρκυρα, Βέροια, Σέρρες) εκ των οποίων οι 37 ήταν θετικές στον ιό HPV. Η κυτταρολογική εξέταση διενεργήθηκε με το συμβατικό τρόπο ρουτίνας και η ταυτοποίηση HPV-DNA προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας την τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης. Είκοσι-δύο διαφορετικοί τύποι HPV ανιχνεύθηκαν και όλες οι γυναίκες ήταν μολυσμένες με υψηλού κινδύνου τύπους HPV. Ο HPV 16 ήταν ο πιο κοινός τύπος είτε μόνος είτε σε συνδυασμό με άλλους τύπους, ακολουθούμενος από τους HPV 35 και 31 με τέσσερις γυναίκες να έχουν και τα δύο είδη.

Το ίδιο έτος, 2005, οι Agorastos et al.<sup>87</sup> διεξήγαγαν μία μελέτη με σκοπό να εξεταστεί ο τύπος λοίμωξης HPV δειγμάτων του τραχήλου της μήτρας που ελήφθησαν με βιοψία κώνου με συνυπάρχουσες CIN1 και CIN3 αλλοιώσεις, προκειμένου να καθοριστεί εάν η συνύπαρξη βλαβών χαμηλής και υψηλής

κακοήθειας στον ίδιο τράχηλο αντιπροσωπεύουν διαφορετικά στάδια της εξέλιξης σε μια συνεχή διαδικασία που προκαλείται από ένα μόνο ιϊκό είδος ή ανεξάρτητες βλάβες που προκαλούνται από διαφορετικούς τύπους HPV. Το προς εξέταση υλικό περιελάμβανε 43 περιπτώσεις με συνυπάρχουσες CIN1 και CIN3 στο δείγμα βιοψίας κώνου. Η ανίχνευση και η τυποποίηση του HPV έγινε με PCR-RFLPs. Και σε 40 από τα 43 δείγματα ανιχνεύτηκε ιός HPV. Ο HPV 16 ήταν ο πιο κοινός τύπος σε CIN3 (56,8%, 95% διάστημα εμπιστοσύνης: 42,2 έως 71,4), ακολουθούμενος από τον HPV 31 (10%), τον HPV 6 (7,5%), τον HPV 18 (5%) και τον HPV 34 (5%). Πέντε δείγματα CIN3 ανέδειξαν καινούργιους τύπους HPV, ενώ μια περίπτωση CIN3 παρουσίασε λοίμωξη και από τους δύο τύπους HPV 16 και HPV 31. Ο HPV 16 ήταν επίσης ο πιο κοινός τύπος σε CIN1 (46,5%, 95% διάστημα εμπιστοσύνης: 31,6 - 61,4), ακολουθούμενος από τους HPV 6 (11,6%), HPV 18 (6,9%), HPV 31 (4,6%), HPV 34 (4,6%), και HPV 53 (2,3%). Δέκα περιπτώσεις CIN1 αποκάλυψαν καινούργιους τύπους HPV. Ταυτόχρονη παρουσία CIN1 και CIN3 αλλοιώσεων στο ίδιο πλακίδιο βρέθηκε σε 20/43 δείγματα κώνου (46,5%). Επτά από αυτές τις 20 περιπτώσεις (35%) παρουσίασαν διαφορετικούς τύπους HPV στις αντίστοιχες CIN1 και CIN3 αλλοιώσεις. Οι συνδυασμοί των τύπων του ιού σε αυτά τα επτά δείγματα είχαν ως εξής: δύο δείγματα με HPV 6 σε CIN1 και HPV 16 σε CIN3, δύο δείγματα με άγνωστο τύπο HPV σε CIN1 και HPV 16 σε CIN3, ένα δείγμα με HPV 16 σε CIN1 και άγνωστο τύπο HPV σε CIN3, ένα δείγμα με HPV 16 στο CIN1 και τους HPV 16 και 31 σε CIN3 και ένα δείγμα με HPV 16 και HPV 31 σε CIN3.

Μία ακόμα μελέτη διενεργήθηκε το 2005 από τους Agorastos et al.,<sup>88</sup> προκειμένου να αξιολογηθεί η ανίχνευση HPV χρησιμοποιώντας δύο μεθόδους δειγματοληψίας απολεπισμένων κυττάρων του τραχήλου της μήτρας, που προήρχετο από αυτο-δειγματοληψία των κολπικών κυττάρων του τραχήλου της μήτρας και δειγματοληψία που πραγματοποιήθηκε από το γιατρό. Το δείγμα αποτελείτο από 379 γυναίκες του γενικού πληθυσμού που παρακολουθήθηκαν στα εξωτερικά ιατρεία Νοσοκομείων της Βόρειας Ελλάδας για κυτταρολογική εξέταση ρουτίνας για δυσπλασία του τραχήλου της μήτρας. DNA του ιού HPV ανιχνεύθηκε στο 6,0% (23/379) των γυναικών με οποιαδήποτε μέθοδο, 3,7% στα συλλεχθέντα από το γιατρό δείγματα (14/379) και 4,7% στα αυτο- συλλεχθέντα δείγματα (18/379). Το HPV DNA ενισχύθηκε με τους εκκινητές PGMY009 / PGMY11 για την περιοχή L1 του ιού HPV. Η HPV γονοτύπηση

πραγματοποιήθηκε με το σύστημα αντίστροφης ανίχνευσης line-blot και περιέχει ιχνηθέτες για 27 γονότυπους HPV (τύποι 6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 66, 68, 73, 82, 83 και 84). Βιοτινυλιωμένοι εκκινητές για β-σφαιρίνη (PC04 / GH20) χρησιμοποιήθηκαν ως θετικός έλεγχος ενίσχυσης (τα αρνητικά δείγματα για β-σφαιρίνη εξαιρέθηκαν από περαιτέρω ανάλυση). Σε όλες τις περιπτώσεις ανιχνεύθηκαν 14 διαφορετικοί τύποι HPV και όλες οι μολυσμένες γυναίκες είχαν τουλάχιστον έναν τύπο HPV υψηλού κινδύνου. Ο HPV 16 ήταν ο πιο κοινός τύπος είτε ως ένας ενιαίος τύπος ή σε συνδυασμό με άλλους τύπους.

Οι Daronte et al.,<sup>89</sup> μελέτησαν το 2006 δείγματα ούρων και τραχήλου από 100 γυναίκες που παραπέμφθηκαν για κλινική κολποσκόπηση με ανώμαλη κυτταρολογία του τραχήλου της μήτρας και των φυσιολογικών παραμέτρων των ούρων, προκειμένου να αξιολογήσουν ένα βελτιστοποιημένο πρωτόκολλο για την ανίχνευση υψηλού κινδύνου τύπων HPV στα ούρα με PCR σε σύγκριση με τα δείγματα του τραχήλου της μήτρας. Ως μέθοδοι χρησιμοποιήθηκαν μία μέθοδος λήψης δειγμάτων στο σπίτι, μία εμπορική μέθοδος PCR για την ανίχνευση των HPV τύπων 16 και 18 και ένα εμπορικό kit για πολλαπλό PCR για τους τύπους HPV 6, 11, 16, 18, και 33. Όλα τα ζευγαρωμένα δείγματα ούρων HPV θετικών του τραχήλου της μήτρας / αρνητικών ούρων εμπλουτίστηκαν με σειριακές αραιώσεις των κυτταρικών γραμμών που είχαν μολυνθεί με HPV 16 ή 18 για τον έλεγχο της ευαισθησίας ανίχνευσης HPV σε αυτά τα δείγματα ούρων. Θετικές στον HPV ήταν 98 από τις 100 γυναίκες που μελετήθηκαν. Τα δείγματα του τραχήλου της μήτρας [37/77 (48,1%) (95% CI 36,5 έως 59,7%)] που ήταν θετικά για τους ογκογόνους τύπους του ιού HPV 16 ή 18 ανέδειξαν και μία προ-κακοήγη ή κακοήγη βλάβη από την ιστολογία, ενώ τα δείγματα ούρων ήταν θετικά μόνο σε 26 από αυτές τις περιπτώσεις [(33,8%) (95% CI 23,4 έως 45,4%)]. Μεταξύ των θετικών δειγμάτων από τον τράχηλο, 35 ήταν θετικά για τον HPV 16 και 2 για HPV18. Όλες οι εννέα περιπτώσεις καρκίνου του τραχήλου θετικές για HPV 16 στα δείγματα του τραχήλου ήταν HPV-16 θετικά και τα οκτώ ζεύγη δειγμάτων ούρων τους (ευαισθησία 88,8%). Μεταξύ των 29 περιπτώσεων υψηλού βαθμού αλλοιώσεων, 17 (58,6%) ήταν θετικές για τον HPV 16 ή 18 στα τραχηλικά δείγματα και 13 από αυτές σε δείγματα ούρων (ευαισθησία 76.5%). Οι HPV τύποι 6, 11 και 33 δεν ανιχνεύθηκαν σε κανένα δείγμα.

Την ίδια χρονιά, 2006, οι Daponte et al.,<sup>90</sup> διεξήγαγαν μια κλινική προοπτική μελέτη αξιολόγησης της ανίχνευσης με PCR του υψηλού κινδύνου τύπου 16 του HPV στην κολπική αυτο-δειγματοληψία σε σύγκριση με τα δείγματα που συλλέγονται από τον κλινικό γιατρό. Συλλέχθηκαν αξιόπιστα κολπικά και τραχηλικά δείγματα από 137 διαδοχικές γυναίκες που παραπέμφθηκαν για κολποσκόπηση λόγω ύπαρξης μη φυσιολογικής τραχηλικής βλέννας. Χρησιμοποιήθηκε μία μέθοδος λήψης δειγμάτων στο σπίτι και μια εμπορική μέθοδος PCR για την ενίσχυση του τύπου 16 του ιού HPV. Η ανίχνευση HPV 16 σε αυτολαμβανόμενο δείγμα κολπικού συγκρίθηκε με τα ιστολογικά δείγματα του τραχήλου της μήτρας που συλλέχθηκαν από τον ιατρό. Από τις 137 ασθενείς, οι 98 είχαν αποδεδειγμένα ανώμαλη ιστολογία και συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση. Η απομόνωση του DNA έγινε με QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen Inc., Valencia, CA) και η ενίσχυση πραγματοποιήθηκε σε θερμικό κυκλοποιητή Perkin-Elmer 2400 (The Perkin-Elmer Corp., Norwalk, CT, USA). Τα προϊόντα PCR αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας ηλεκτροφόρηση πηκτής αгарόζης και οπτικοποιήθηκαν μετά από χρώση βρωμιούχου αιθιδίου. Ένα πρωτόκολλο PCR in-house για την ανίχνευση του ιού HPV 16 διεξήχθη χρησιμοποιώντας γνωστούς L1-τύπου ειδικούς εκκινητές. Η ανίχνευση του ιού HPV 16 διεξήχθη χρησιμοποιώντας ένα εμπορικό kit PCR για το γονίδιο E6 του HPV τύπου 16 (Maxim Biotech, San Francisco, CA). Από τις 39 ασθενείς με αρνητική ιστολογία, 5 ήταν HPV-16-θετικές στον τράχηλο και 6 στον κόλπο. Και οι 11 περιπτώσεις καρκίνου του τραχήλου ενίσχυσαν το DNA του HPV 16 σε τραχηλικά και κολπικά δείγματα (100% ευαισθησία). Μεταξύ των 43 περιπτώσεων υψηλού βαθμού αλλοιώσεων, 31 περιπτώσεις ήταν HPV θετικές στα τραχηλικά (ευαισθησία 72,1%) και 29 στα κολπικά δείγματα (67,4% ευαισθησία). Η συνολική ανίχνευση του HPV 16 σε ασθενείς με θετική ιστολογική εξέταση ήταν 57,1% για τα τραχηλικά δείγματα που συλλέχθηκαν από τον ιατρό και 54,1% για τα αυτο-συλλεγόμενα κολπικά δείγματα.

Δύο χρόνια μετά, το 2008, οι Daponte et al.,<sup>91</sup> μελέτησαν με τη χρήση της PCR πραγματικού χρόνου την ανίχνευση του ιϊκού φορτίου του HPV-16 σε δείγματα του τραχήλου της μήτρας και σε κολπικά δείγματα και δείγματα ούρων που λήφθηκαν με αυτο-δειγματοληψία. Η αρχική ποιοτική ανίχνευση του HPV-16



πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας ένα συμβατικό πρωτόκολλο PCR, ενώ το HPV-16 ιικό φορτίο προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας QRT-PCR. Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ειδικά για τα E1 ή E6 γονίδια. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι συνολικά 100 από τις 120 γυναίκες που αποτελούσαν το δείγμα βρέθηκαν θετικές για HPV.

Το 2008 οι Mammas et al.,<sup>92</sup> διερεύνησαν τη λοίμωξη HPV σε γυναίκες με χαμηλού και υψηλού βαθμού ενδοεπιθηλιακές πλακώδεις βλάβες (SILs) από δύο διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές της Ελλάδας, την Κεντρική Ελλάδα και την Κρήτη. Τα δείγματά τους ήταν 75 τραχηλικά δείγματα που ήταν όλα θετικά για HPV. Η ανίχνευση και τυποποίηση του ιού έγινε με τη χρήση τεχνικών αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης ο HPV-18 ανιχνεύτηκε συχνότερα στην Κρήτη από ό,τι στα δείγματα της Κεντρικής Ελλάδας (29,7 έναντι 13,1%). Ο HPV-16 ήταν κυρίαρχος στην Κεντρική Ελλάδα (34,2%), ενώ στην Κρήτη ανιχνεύθηκε στο 23% των γυναικών που μελετήθηκαν. Τύποι Μη-16 / -18 HPV ανιχνεύθηκαν στο 45,9% των γυναικών από την Κρήτη και στο 52,6% των γυναικών από την Κεντρική Ελλάδα. Δεν παρατηρήθηκε σχέση μεταξύ της γεωγραφικής κατανομής του HPV και της παρουσίας των K-ras ή B-ras σημειακών μεταλλάξεων σε καμία ομάδα. Δεδομένα προ του εμβολιασμού μας δείχνουν ένα υψηλό επιπολασμό του HPV-18 στην Κρήτη. Μια τάση για διαφορά παρατηρήθηκε στα ποσοστά των μη-HPV-16 / -18 γυναικών μεταξύ των δύο περιοχών.

Το 2009 διενεργήθηκε μία έρευνα από τους Agorastos et al.,<sup>93</sup> προκειμένου να διερευνηθεί η επικράτηση και ο τύπος κατανομής των τύπων υψηλού κινδύνου του ιού HPV σε έναν πληθυσμό διαλογής σε όλη την Ελλάδα. Τα δείγματα τραχήλου της μήτρας που χρησιμοποιήθηκαν ως υλικό μελέτης συλλέχθηκαν από τους τοπικούς γιατρούς και νοσηλευτές σε νοσοκομεία και κέντρα υγείας σε όλη τη χώρα από 4139 γυναίκες που συμμετείχαν στον προσυμπτωματικό έλεγχο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Από το σύνολο του δείγματος ένα ποσοστό 5,9% βρέθηκε θετικό στον ιό HPV. Το υψηλού κινδύνου HPV-DNA ανιχνεύθηκε χρησιμοποιώντας Hybrid Capture-2 (HC2) και τα θετικά δείγματα με επαρκή κυτταρικό περιεχόμενο τυποποιήθηκαν περαιτέρω με τον πολυμορφισμό μήκος θραύσματος με περιοριστικά ένζυμα και την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης. Ο πιο κοινός τύπος ήταν ο HPV16 (1,4% στο σύνολο του δείγματος και 32,4% των τυποποιημένων δειγμάτων),

ακολουθούμενος από τους HPV53 (0,6 και 14,0%, αντίστοιχα), HPV31 (0,6 και 12,9%, αντίστοιχα), HPV35 (0,5 και 12,3% , αντίστοιχα), HPV51 (0,4 και 7,8%, αντίστοιχα), HPV18 (0,3 και 7,3%, αντίστοιχα) και 22 επιπλέον τύπους. Σχεδόν το 15% των τυποποιημένων δειγμάτων έδειξε μια συν-μόλυνση με δύο τύπους HPV και το 2,1% με τρεις τύπους. Εκτός από τους τύπους που περιλαμβάνονταν αρχικά στο HC2 μίγμα, η ανάλυση PCR ανίχνευσε 15 επιπλέον τύπους (HPV6, HPV11, HPV34, HPV37, HPV38, HPV42, HPV53 , HPV54, HPV55, HPV61, HPV62, HPV66, HPV73, HPV82, HPV83). Έντεκα τοις εκατό των HC2-θετικών αποτελεσμάτων προέκυψαν από μολύνσεις μονού τύπου με HPV53 (10%) και HPV66 (1%), οι οποίοι είναι δυνητικά τύποι υψηλού κινδύνου.

Οι Kottaridi et al.,<sup>94</sup> διενέργησαν το 2011 μία μελέτη σε τραχηλικά δείγματα 189 γυναικών προκειμένου να συγκρίνουν την κλινική απόδοση της κυτταρομετρίας ροής για τον προσυμπτωματικό έλεγχο τραχηλικών δειγμάτων για την υπερ-έκφραση του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV) τύπου E6 και E7 με αυτή της χημικής δοκιμασίας με μία HPV-DNA διάταξη για την ανίχνευση υψηλού βαθμού τραχηλικών αλλοιώσεων. Αναλύθηκαν τραχηλικά δείγματα για HPV-DNA με κλινικές σειρές και η υπερ-έκφραση των ιικών ογκογονιδίων E6 και E7 παρακολουθήθηκε χρησιμοποιώντας ένα κιτ ανίχνευσης mRNA που ποσοτικοποιεί το ενδοκυτταρικό mRNA των HPV E6 και E7 επί βάσεως κυττάρου – προς – κύτταρο. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η HPV θετικότητα αυξάνεται με τη σοβαρότητα των ιστολογικών αλλοιώσεων. Στη βάση δύο περιπτώσεων των ιστολογικά επιβεβαιωμένων CIN η εξειδίκευση της χημικής δοκιμασίας HPV ήταν 73.9% (95% CI 66.07, 80.88), ενώ για τη σειρά DNA ήταν 39.3% (95% CI 31.85, 47.1).

Το 2011 οι Valasoulis et al.,<sup>95</sup> διενέργησαν μία μελέτη για να αξιολογήσουν τις αλλαγές σε διάφορους βιολογικούς δείκτες που σχετίζονται με HPV 6 μήνες μετά τη θεραπεία και πώς αυτοί σχετίζονται με διάφορους παράγοντες κινδύνου και ατομικά χαρακτηριστικά ενώ αξιολόγησαν και το ρόλο τους στην πρόβλεψη της αποτυχίας της θεραπείας. Το υλικό μελέτης αποτελούσαν 190 δείγματα εκ των οποίων τα 72 ήταν θετικά για HPV, ενώ η διαδικασία λήψης τους ήταν η εξής: ένα δείγμα κυτταρολογίας που ελήφθη προεγχειρητικά. Αυτό ελέγχθηκε για HPV με γονοτυπικό προσδιορισμό με PCR, με κυτταρομετρία ροής και p16 ανοσοχρώση. Ένα δείγμα επανάληψης LBC λήφθηκε 6 μήνες μετά τη θεραπεία και ελέγχθηκε για τους ίδιους βιοδείκτες. Οι μέθοδοι ανίχνευσης και τυποποίησης

περιελάμβαναν τεστ HPV DNA με κλινικές διατάξεις HPV (Genomica, Ισπανία), ένα γονοτυπικό τεστ για την ανίχνευση των 35 HPV γονοτύπων, ενίσχυση βασισμένη στην αλληλουχία νουκλεϊκού οξέος (NASBA), για την ενίσχυση των αλληλουχιών RNA: μοριακοί ανιχνευτές έναντι E6 / E7 mRNA για 5 HRHPV τύπους: 16, 18, 31, 33 και 45 και αξιολόγηση κυτταρομετρίας ροής του E6 / E7 mRNA των τύπων υψηλού κινδύνου HPV (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 και 82) με HPV OncoTect (Invirion Diagnostics, USA). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι από τις 72 γυναίκες με HPV παραμονή (προ- και μετεγχειρητικά), σε 16 μόνο οι τύποι του HPV που ανιχνεύτηκαν πριν και μετά την επέμβαση ήταν ακριβώς οι ίδιοι (απόλυτη αντιστοιχία). Σε 18 γυναίκες ορισμένα αλλά όχι όλα τα είδη του HPV που ανιχνεύθηκαν ήταν τα ίδια (μερική συμφωνία). Τέλος, σε 38 γυναίκες δεν υπήρχε αντιστοιχία μεταξύ των τύπων του HPV που ανιχνεύτηκαν πριν και μετά την επέμβαση.

Οι Stamatakis et al.<sup>96</sup> μελέτησαν το 2012 την επικράτηση και διασπορά του HPV σε τραχηλικά επιχρίσματα σε ένα δείγμα Ελληνίδων γυναικών που παρακολουθήθηκαν σε μία γυναικολογική κλινική εξωτερικών ασθενών και διερεύνησαν τους καθοριστικούς παράγοντες της λοίμωξης. Μελετήθηκαν τραχηλικά επιχρίσματα από 225 γυναίκες συνολικά εκ των οποίων οι 51 βρέθηκαν θετικές στον HPV. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση και την ταυτοποίηση του ιού ήταν η απομόνωση νουκλεϊκού οξέος και η υβριδοποίηση ενίσχυσης PCR. Τύποι του ιού HPV ανιχνεύθηκαν στο 22,7% του πληθυσμού της μελέτης (6 θετικό για τον HPV-6, 12 για τον HPV-16, 2 για τον HPV-18, 1 για τον HPV-31, 2 για τον HPV-33, 2 για τον HPV-39, 3 για HPV-51, 8 για τον HPV-53, 2 για τον HPV-58, 2 για HPV- 61, 1 για τον HPV-62, 3 για τον HPV-66, 3 για τον HPV-81, 2 για τον HPV-83 και 2 για HPV- 84). Το ποσοστό των νεοδιαγνωσθεισών γυναικών με λοίμωξη HPV ήταν 17,3%. Ο HPV-16 ήταν ο πιο κοινός τύπος που ανιχνεύτηκε (5.3%) ακολουθούμενος από τον HPV-53 (4,9%).

Οι Ntova et al.,<sup>97</sup> διερεύνησαν το 2012 τη μεταβλητότητα, τη φυλογένεση και τη σύνδεση των νουκλεοτιδίων σε τραχηλικά δείγματα που συλλέχθηκαν από Ελληνίδες με νεοπλασία του τραχήλου της μήτρας στους υψηλού κινδύνου τύπους του ιού HPV 16, 18, 31, 33 και 45. Για την εξαγωγή, ενίσχυση και ανάλυση του DNA χρησιμοποιήθηκε μέθοδος μικροσυστοιχειών με τη χρήση 2 kit CLART® HPV, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (GENOMICA,

Μαδρίτη, Ισπανία). Το CLART® HPV 2 kit επέτρεψε την ανίχνευση της λοίμωξης και συν-μόλυνσης 35 διαφορετικών γονότυπων του HPV, 20 HR-HPV 15 και LRHPV. Από τις 1.894 γυναίκες που υποβλήθηκαν σε κυτταρολογική εξέταση ρουτίνας του τραχήλου, τυποποιήθηκαν 160 δείγματα θετικά για ξεχωριστές μολύνσεις του HPV τύπου 16 (N = 104), HPV 31 (N = 40), HPV 33 (N = 7), HPV 18 (N = 5) και HPV 45 (N = 4). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η ευρωπαϊκή (HPV16 HM596520) παραλλαγή είναι η πιο διαδεδομένη, καθώς το 84,6% των δειγμάτων των HPV 16, ανήκαν σε αυτή. Επίσης, όλες οι περιπτώσεις SCC (6/6) και στο 81,7% των LGSIL που περιλαμβάνονται σε αυτή τη μελέτη ανιχνεύθηκε η Ευρωπαϊκή (HPV16 HM596520) παραλλαγή. Η μοριακή ανάλυση του HPV 31 ανίχνευσε 11 παραλλαγές νουκλεοτιδίων, 1 (A6647C) εκ των οποίων παρουσιάζεται για πρώτη φορά. Η φυλογενετική ανάλυση των L1 (MY9/11) γονιδιωματικού τμήματος αποκάλυψε ότι οι παραλλαγές HPV 31 που ανιχνεύονται να κυκλοφορούν στην Ελλάδα ομαδοποιούνται σε 3 διαφορετικές καταγωγές. Η νέα παραλλαγή (A6647C) HM596536 ομαδοποιήθηκε με τις αφρικανικές και αμερικανικές παραλλαγές. Η πιο διαδεδομένη παραλλαγή ήταν η HM596540. Η μοριακή ανάλυση του HPV 33 ανίχνευσε 4 υποκαταστάσεις νουκλεοτιδίων και 1 μη συνώνυμη αλλαγή αμινοξέος. Μία από τις τέσσερις νουκλεοτιδικές υποκαταστάσεις μια A-to-G στην θέση 6673 δεν είχε δημοσιευτεί προηγουμένως και ανιχνεύθηκε στο απομονωμένο HM596529 καθιστώντας αυτή την παραλλαγή την πλέον αποκλίνουσα από τις άλλες. Στη μελέτη τους, μόνο 5 δείγματα με λοιμώξεις μόνο από έναν τύπο HPV (HPV 18) συλλέχθηκαν και προέκυψαν 2 παραλλαγές. Η πιο διαδεδομένη ήταν η HM596525 που φυλογενετικά ήταν πιο κοντά στα μη-Αφρικανικά στελέχη.

Το 2012 διενεργήθηκε από τους Foukas et al.,<sup>98</sup> μία μελέτη των συγκεντρώσεων Β λεμφοκυττάρων, μακροφάγων και μαστοκυττάρων στο υποκείμενο στρώμα χαμηλού και υψηλού βαθμού πλακωδών ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων του τραχήλου (LSIL και HSIL) και πλακώδους καρκινώματος (SCC) σε 215 δείγματα ιστών, με ταυτόχρονη HPV τυποποίηση, προκειμένου να εξεταστεί η σχέση τους με την κατάσταση και την εξέλιξη της νόσου. Το DNA εκχυλίστηκε, ενισχύθηκε και αναλύθηκε με τη χρήση 2 kit CLART® HPV, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Ο υβριδισμός του ενισχυμένου προϊόντος PCR με ακινητοποιημένους ιχνηλάτες συγκεκριμένων τύπων DNA έγινε σε έναν χαμηλής πυκνότητας σωλήνα (Array Tube System, CLONDIAC

Chip Technologies GmbH). Οι κλινικές δοκιμές HPV αποκάλυψαν την παρουσία λοίμωξης από HPV σε 168 από τα 215 δείγματα (78,14%) που ελέγχθηκαν. Υψηλού κινδύνου τύποι του HPV εντοπίστηκαν σε 153 από τα 168 (91,07%) HPV-θετικά δείγματα. Από τα 15 δείγματα ελέγχου τα 8 (53,33%) ήταν θετικά για HPV.

Το 2012 διενεργήθηκε επίσης η μελέτη των Spathis et al.,<sup>99</sup> στην οποία εξετάζαν την αποτελεσματικότητα των τεστ HPV-DNA και mRNA σε έναν πληθυσμό γυναικών όλων των ηλικιών που εξετάστηκαν σε μονάδες κολποσκόπησης δύο Πανεπιστημιακών Νοσοκομείων. Το υλικό μελέτης το αποτέλεσαν 1173 τραχηλικά δείγματα εκ των οποίων τα 597 ήταν θετικά για τον HPV. Για την ανίχνευση και τυποποίηση του ιού χρησιμοποιήθηκε ένα εμπορικό kit τυποποίησης και θετικότητας HPV E6/E7 mRNA μαζί με ένα εμπορικό kit βασισμένο στην κυτταρομετρία ροής. HPV DNA, HPV DNA-υψηλού κινδύνου, HPV16 ή 18 DNA και HPV mRNA ανιχνεύθηκε σε 55,5%, 50,6%, 20,1% και 29,7% των τραχηλικών επιχρισμάτων, αντίστοιχα. Συνολικά η θετικότητα είτε για HPV mRNA ή για DNA ήταν σημαντικά υψηλότερη όσο ο βαθμός της βλάβης αυξανόταν ( $p < 0,001$ ). Η θετικότητα HPV DNA ήταν, όπως αναμενόταν, υψηλή σε κλινικά αρνητικές περιπτώσεις (40,5%) και αυξήθηκε κατά 92% σε CIN2 + περιπτώσεις. Για υψηλού κινδύνου HPV DNA παρατηρήθηκαν παρόμοια αποτελέσματα (36,1% για τα αρνητικά και 90% για CIN2 +), ενώ για τον HPV16 ή 18 θετικότητα ήταν σημαντικά χαμηλότερη (8,5% για τα αρνητικά και 58% για CIN2). Η θετικότητα mRNA ήταν χαμηλότερη για κλινικά και ιστολογικά αρνητικά δείγματα (14,2% και 12,2%), διπλασιάστηκε σε δείγματα CIN1 (30,7%) και αυξήθηκε σε 86% σε περιπτώσεις CIN2.

Οι Tsimplaki et al.,<sup>100</sup> προσπάθησαν να προσδιορίσουν το 2012 τους γονότυπους HPV καθώς και την έκφραση E6 / E7 mRNA των HPVs υψηλού κινδύνου (16, 18, 31, 33, και 45) σε 56 ιστολογικά δείγματα VAIN, VIN, καρκινωμάτων πλακωδών κυττάρων του κόλπου και του αιδοίου. Από τα 56 δείγματα βρέθηκαν θετικά στον HPV τα 35. Η γονοτύπωση 24 HPV τύπων διεξήχθη με δοκιμασία που βασίζεται σε μικροδιάταξη (PapilloCheck HPV-Screening, Greiner Bio-One GmbH, Γερμανία, 465 cat no. 060), και η έκφραση του HPV 16, 18, 31, 33, και 45 E6 / E7 mRNA, χρησιμοποιώντας την εμπορική χημική δοκιμή Nuclisens EasyQ (Nuclisens EasyQ HPV 1.1, bioMerieux Ελλάς Α.Ε., cat no. 290003). Ο ιός HPV εντοπίστηκε στο 56% από τα VAIN και στο 50%

των κολπικών SCCs, στο 71,4% των VIN και 50% SCCs του αιδοίου. Έκφραση E6 / E7 mRNA βρέθηκε στο ένα τρίτο VAIN και σε όλα τα κολπικά SCCs, το 42,9% των VIN και 83,3% SCCs του αιδοίου. Τα δεδομένα έδειξαν ότι ο HPV 16 ήταν ο συχνότερος γονότυπος που εντοπίστηκε στα VAIN και VIN και ο μόνος γονότυπος που βρέθηκαν στα SCCs του κόλπου και του αιδοίου. Ο συνηθέστερος HPV γονότυπος ήταν ο HPV 42 για δείγματα VAIN I (3/6 περιπτώσεις, 50%), ακολουθούμενος από τον HPV 16 (2/6 περιπτώσεις, 33,3%) και τον HPV 39 (1/6 περιπτώσεις, 16,7%), ενώ οι HPV16 και HPV33 ήταν οι πιο κοινοί τύποι για VAIN II / III (2/4 περιπτώσεις, 50% από το καθένα). Ο HPV 16 ήταν ο μόνος τύπος που σχετίστηκε με HPV-μόλυνση κολπικών SCCs (2/2 περιπτώσεις, 100%). Όσον αφορά τους τύπους hrHPV 16, 18, 31, 33, και 45, 33,3% (6/18) των VAIN και 50% των κολπικών SCCs ήταν θετικά για τουλάχιστον έναν από τους ανωτέρω τύπους HPV DNA. Οι HPV16 και HPV59 ήταν οι πιο συχνά παρατηρούμενοι για μολυσμένα δείγματα VIN I (4/9 περιπτώσεις το καθένα και μία περίπτωση με πολλαπλές HPV λοιμώξεις 06/16/59, 55,6% η κάθε μία), ενώ ο HPV16 ήταν ο συνηθέστερος γονότυπος για VIN II / III (9 / 11 περιπτώσεις, 81,8%), ακολουθούμενος από τους τύπους 18, 51, 52, 53, και 66 (1/11 περιπτώσεις, 9,1% το καθένα). Σε HPV-θετικούς SCCs αιδοίου, μόνο ο HPV 16 ήταν παρών (3/3 περιπτώσεις, 100%). Όσον αφορά τους τύπους hrHPV 16, 18, 31, 33, και 45, 53,6% (15/18) των VIN και 50% των SCCs αιδοίου ήταν HPV DNA θετικά για τουλάχιστον έναν από τους παραπάνω τύπους του HPV με PapilloCheckDNA Microarray.

Μία από τις πιο πρόσφατες μελέτες είναι αυτή των Agorastos et al.,<sup>101</sup> που διεξήχθη το 2015. Οι ερευνητές είχαν σκοπό την αξιολόγηση της επίδοσης ενός τεστ DNA για τον υψηλού κινδύνου ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HR-HPV) με ατομική HPV-16 / HPV-18 γονοτύπηση ως μέθοδο για προσυμπτωματικό έλεγχο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας σε σύγκριση με την κυτταρολογική εξέταση με βάση τα υγρά (LBC) σε ένα πληθυσμό Ελληνίδων γυναικών που λαμβάνουν μέρος στον προσυμπτωματικό έλεγχο ρουτίνας για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Η μελέτη, που διενεργήθηκε από την ομάδα μελέτης «Ελληνικός πραγματικής ζωής πολυκεντρικός προσυμπτωματικός έλεγχος του τραχήλου της μήτρας» (ΕΡΜΗΣ), αφορούσε τη στρατολόγηση 4.009 γυναικών, ηλικίας 25-55, οι οποίες έλαβαν μέρος στον προσυμπτωματικό έλεγχο ρουτίνας του τραχήλου της μήτρας σε εννέα Τμήματα Γυναικολογίας στην Ελλάδα. Κατά

την πρώτη επίσκεψη συλλέχθηκαν δείγματα του τραχήλου της μήτρας για τεστ LBC και HPV χρησιμοποιώντας το σύστημα της Roche Cobas 4800. Οι γυναίκες που βρέθηκαν θετικές είτε κυτταρολογικά είτε για HPV παραπέμφθηκαν για κολποσκόπηση, ενώ οι γυναίκες που ήταν αρνητικές και στα δύο τεστ παραπέμφθηκαν για επανεξέταση μετά από τρία χρόνια. Η μελέτη είναι ακόμα σε εξέλιξη και εδώ αναφέρονται τα αποτελέσματα του πρώτου γύρου εξέτασης. Έγκυρα αποτελέσματα για κυτταρολογική εξέταση και τεστ HPV ελήφθησαν για 3.993 γυναίκες εκ των οποίων οι 507 βρέθηκαν θετικές στον HPV. Τα συλλεχθέντα δείγματα αναλύθηκαν για την ανίχνευση του γονιδιώματος των 14 υψηλού κινδύνου HPV (HPV δοκιμή DNA) και για την ατομική αναγνώριση των HPV16 / 18, χρησιμοποιώντας τη δοκιμή Cobas HPV από τη Roche. Το φθορίζον σήμα από τους δώδεκα τύπους HR του HPV (12HR HPV) (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 και 68) ανιχνεύτηκε χρησιμοποιώντας την ίδια ετικέτα φθορισμού, ενώ τα σήματα για HPV 16, HPV 18 και β-σφαιρίνη ανιχνεύτηκαν με τρεις ξεχωριστές φασματικές μοναδικές επισημάνσεις φθορισμού, αντιστοίχως. Η συνολική επικράτηση του HR-HPV ήταν 12,7%, του HPV-16 2,7% και του HPV-18 1,4%.

Το 2015 διενεργήθηκε μία συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας (τελευταία ενημέρωση Μάρτιος 2014) από τους Chatzistamatiou et al.,<sup>102</sup> προκειμένου να εντοπιστούν κλινικές μελέτες που αναφέρουν τον επιπολασμό του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV) στους απογόνους των γυναικών που έχουν μολυνθεί με HPV σε σχέση με τον τρόπο τοκετού τους. Μια μετα-ανάλυση διεξήχθη για τον προσδιορισμό των συγκλινουσών νεογνικών - μητρικών τύπων του HPV. Στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν 8 μελέτες (συνολικά 446 ζευγάρια μητέρας - νεογνού εκ των οποίων 141 ήταν καισαρικές τομές και 305 κολπικός τοκετός). Για την τυποποίηση του HPV χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι που βασίζονται στην ανίχνευση του DNA. Τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα έδειξαν ότι η καισαρική τομή σχετίζεται με σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά μετάδοσης του HPV απ' ό,τι ο κολπικός τοκετός (14,9% έναντι 28,2%, αναλογία κινδύνου ή RR: 0.515, 95% διάστημα εμπιστοσύνης ή CI: 0,34 - 0,78). Ο αριθμός των καισαρικών τομών που απαιτούνται για να προληφθεί ένα περιστατικό της περιγεννητικής λοίμωξης (αριθμός που απαιτείται για τη θεραπεία ή NNT) ήταν 7,5. Η αναλογία μετάδοσης του HPV16 ήταν 29,2%. Σαν συμπέρασμα θα πρέπει να σημειωθεί ότι με καισαρική τομή μειώνεται ο κίνδυνος περιγεννητικής

μετάδοσης του HPV κατά περίπου 46%. Περιγεννητική μετάδοση εξακολουθεί να υπάρχει σε ποσοστό περίπου 15% των παιδιών που γεννιούνται με καισαρική τομή.

Τέλος, κρίθηκε σκόπιμο να παρουσιαστούν και δύο μελέτες που έχουν γίνει σε παγκόσμιο επίπεδο. Η πρώτη διενεργήθηκε το 2010 από τους De Sanjose et al.,<sup>42</sup> με σκοπό την παροχή στοιχείων που είναι καινούρια και πλήρη σχετικά με την παγκόσμια κατανομή των γονότυπων σε ασθενείς με διηθητικό καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Ενσωματωμένα σε παραφίνη δείγματα ιστολογικά επιβεβαιωμένων κρουσμάτων διηθητικού καρκίνου του τραχήλου της μήτρας συλλέχθηκαν από 38 χώρες στην Ευρώπη, τη Βόρεια Αμερική, την κεντρική Νότια Αμερική, την Αφρική, την Ασία και την Ωκεανία. Τα κριτήρια ένταξης ήταν μια παθολογική επιβεβαίωση ενός πρωτογενούς διηθητικού καρκίνου του τραχήλου επιθηλιακής προέλευσης στο δείγμα του ιστού που επιλέγεται για την ανάλυση του DNA του HPV, και πληροφορίες σχετικά με το χρόνο της διάγνωσης. Η ανίχνευση του HPV έγινε με χρήση PCR με εκκινητές SPF-10 ευρέος φάσματος ακολουθούμενη από ανοσοδοκιμασία DNA ενζύμων και γονοτυπική ανάλυση χημικής δομής με δοκιμασία αντίστροφης υβριδοποίησης. Η ανάλυση αλληλουχίας έγινε για να χαρακτηρίσει θετικά-HPV δείγματα με άγνωστους τύπους HPV. 22.661 ενσωματωμένα σε παραφίνη δείγματα λήφθηκαν από 14.249 γυναίκες. 10.575 περιπτώσεις διηθητικού καρκίνου του τραχήλου περιλήφθηκαν στη μελέτη και 8.977 (85%) από αυτές ήταν θετικές για το HPV-DNA. Οι πιο κοινοί τύποι HPV ήταν οι 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, και 58 με μία συνδυασμένη παγκοσμίως σχετική συμβολή του 8196 από τις 8977 (91%, 95% CI 90-92). Οι HPV τύποι 16 και 18 ανιχνεύτηκαν σε 6.357 από 8.977 περιπτώσεις (71%, 70 - 72) του διηθητικού καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Οι HPV τύποι 16, 18 και 45 ανιχνεύτηκαν σε 443 από 470 περιπτώσεις (94%, 92 - 96) των αυχενικών αδενοκαρκινωμάτων. Οι άγνωστοι τύποι του HPV που ταυτοποιήθηκαν με ανάλυση της αλληλουχίας ήταν οι 26, 30, 61, 67, 69, 82, και 91 σε 103 (1%) από 8.977 περιπτώσεις διηθητικού καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Η δεύτερη διενεργήθηκε το 2013 από τους De Sanjose et al.,<sup>104</sup> με σκοπό την παροχή νέων στοιχείων σχετικά με τους δείκτες HPV σε μια μεγάλη σειρά από αλλοιώσεις VIN και IVC, καθώς, σύμφωνα με τους ερευνητές, η συνεισφορά HPV στις ενδοεπιθηλιακές βλάβες του αιδοίου (VIN) και στο διηθητικό καρκίνο



του αιδοίου (IVC) δεν έχει αποδειχθεί με σαφήνεια. Ιστολογικά επιβεβαιωμένα VIN και IVC από 39 χώρες συγκεντρώθηκαν στο Ινστιτούτο Ογκολογίας της Καταλωνίας (ICO). Η ανίχνευση του HPV-DNA έγινε με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης χρησιμοποιώντας SPF-10 εκκινητές ευρέος φάσματος και γονοτυπική ανάλυση χημικής δομής με δοκιμασία αντίστροφης υβριδοποίησης (LiPA25) (έκδοση 1). Οι περιπτώσεις IVC ελέγχθηκαν για p16INK4a με ανοσοϊστοχημεία (CINtec ιστολογικό κιτ, Roche). Μια IVC θεωρήθηκε ότι οφείλεται στον HPV αν η υπερέκφραση και των δύο HPV-DNA και p16INK4a παρατηρήθηκε ταυτόχρονα. Μεταξύ των VIN αλλοιώσεων, ο HPV 16, ακολουθούμενος από τον HPV 33 ήταν οι δύο πιο κοινοί τύποι, που αντιπροσωπεύουν άνω του 88% του συνόλου των θετικών περιπτώσεων. Ο HPV 16 ήταν το συνηθέστερο είδος στο IVC (311 από 429 HPV και p16INK4a θετικούς όγκους: 72,5%). Αυτός ακολουθήθηκε από τους HPV 33 (6,5%), HPV 18 (4,6%), HPV 45 (3,3%) και HPV 52 (1,9

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Αρσένη, Α. *Κλινική Μικροβιολογία και Εργαστηριακή Διάγνωση Λοιμώξεων*. Αθήνα: Ζήτα, 1994
2. Alliance for Cervical Cancer Prevention.). *Women's stories, women's lives: experiences with cervical cancer screening and treatment*. Seattle: ACCP, 2004
3. Castellsagué X. Natural history and epidemiology of HPV infection and cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2008 ; 110( 3 Suppl 2 ) : S4-7. doi: 10.1016/j.ygyno.2008.07.045
4. Habif T. *Skin Disease, Diagnosis and Treatment* . Elsevier Mosby, 2005
5. Castellsagué X, Bosch FX, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV, de Sanjose S, Eluf-Neto J, Ngelangel CA, Chichareon S, Smith JS, Herrero R, Moreno V, Franceschi S; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Male circumcision, penile human papillomavirus infection, and cervical cancer in female partners. *N Engl J Med* 2002;346(15):1105-12
6. Bleeker M. C.G., Hogewoning C. J.A. , Voorhorst F. J.,. Van Den Brule a. J.C, Snijders P.J.F., Starink T. M., Berkhof J, Meijer C.J.L.M. Condom use promotes regression of Human Papillomavirus–associated penile lesions in male sexual partners of women with cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 2003;107, 804 – 810
7. Hogewoning CJ, Bleeker MC, van den Brule AJ, Voorhorst FJ, Snijders PJ, Berkhof J, Westenend PJ, Meijer CJ. Condom use promotes regression of cervical intraepithelial neoplasia and clearance of human papillomavirus: a randomized clinical trial. *Int J Cancer* 2003;107(5):811-6.
8. Smith JS, Bosetti C, Muñoz N, Herrero R, Bosch FX, Eluf-Neto J, Meijer CJ, Van Den Brule AJ, Franceschi S, Peeling RW; IARC multicentric case-control study. Chlamydia trachomatis and invasive cervical cancer: a pooled analysis of the IARC multicentric case-control study. *Int J Cancer* 2004;111(3):431-9

9. Smith JS, Herrero R, Bosetti C, Muñoz N, Bosch FX, Eluf-Neto J, Castellsagué X, Meijer CJ, Van den Brule AJ, Franceschi S, Ashley R; International Agency for Research on Cancer (IARC) Multicentric Cervical Cancer Study Group. Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(21):1604-13.
10. García-Closas M, Malats N, Silverman D, Dosemeci M, Kogevinas M, Hein DW, Tardón A, Serra C, Carrato A, García-Closas R, Lloreta J, Castaño-Vinyals G, Yeager M, Welch R, Chanock S, Chatterjee N, Wacholder S, Samanic C, Torà M, Fernández F, Real FX, Rothman N. NAT2 slow acetylation and GSTM1 null genotypes increase bladder cancer risk: results from the Spanish Bladder Cancer Study and meta-analyses. *Lancet* 2005; 366(9486): 649–659
11. Mariani, L. & Venuti, A. HPV vaccine: an overview of immune response, clinical protection, and new approaches for the future. *JTM* 2010;8:105 doi:10.1186/1479-5876-8-105
12. McLaughlin-Drubin ME, Münger K. Oncogenic Activities of Human Papillomaviruses. *Virus Res* 2009; 143(2): 195–208
13. O'Flarity, K. Knowledge and Attitudes Regarding the Human Papillomavirus and HPV Vaccine Among College Students: A Gender Comparison Study. The University of Southern Mississippi, Honor, 2012
14. Hamid NA, Brown C, Gaston K. The regulation of cell proliferation by the papillomavirus early proteins. *Cell Mol Life Sci* 2009; 66(10): 1700-1717
15. Butz K, Hoppe-Seyler F. Transcriptional Control of Human Papillomavirus (HPV) Oncogene Expression: Composition of the HPV Type 18 Upstream Regulatory Region. *J Vir* 1993;67(11):6476-6486
16. Kurvinen K, Yliskoski M, Saarikoski S, Syrjanen K, Syrjanen S. Variants of the long control region of human papillomavirus type 16. *Eur J Cancer* 2000;36:1402–1410
17. Singh N. HPV and Cervical cancer - prospects for prevention through vaccination. *Indian J Med Paediatr Oncol* 2005;26:20–3

18. Parish JL, Bean AM, Park RB, Androphy EJ. ChlR1 Is Required for Loading Papillomavirus E2 onto Mitotic Chromosomes and Viral Genome Maintenance. *Mol Cell* 2006;24(6):867–876
19. Fehrman F, Klumpp DJ, Laimins LA. Human Papillomavirus Type 31 E5 Protein Supports Cell Cycle Progression and Activates Late Viral Functions upon Epithelial Differentiation. *J Virol* 2003;77(5): 2819–2831
20. Μορτάκης, Α. *Μόλυνση από τον ιό του HPV*. Αθήνα: Λίτσας, 1999
21. Doorbar J. Papillomavirus life cycle organization and biomarker selection. *Dis Markers* 2007;23(4):297-313
22. Λαμπρόπουλος, Α. *Ευαισθησία και αξιολόγηση των μεθόδων ανίχνευσης του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV)*. Αθήνα: Ελληνική Ιατρική, 1992
23. Joyce J, Tung JS, Przysiecki CT, Cook JC, Lehman ED, Sands JA, Jansen KU, Keller PM. The L1 major capsid protein of human papillomavirus type 11 recombinant virus –like particles interacts with heparin and cell-surface glycosaminoglycans on human keratinocytes. *J Biol Chem* 1999;274(9):5810-5822
24. Barnard P, McMillan NA. The human papillomavirus E7 oncoprotein abrogates signaling mediated by interferon-alpha. *Virology* 1999 Jul 5;259(2):305-13
25. Patterson NA, Smith JL, Ozbun MA. Human papillomavirus type 31b infection of human keratinocytes does not require heparan sulfate. *J Virol* 2005;79(11):6838-47
26. Shafti-Keramat S, Handisurya A, Kriehuber E, Meneguzzi G, Slupetzky K, Kirnbauer R. Different heparan sulfate proteoglycans serve as cellular receptors for human papillomaviruses. *J Virol* 2003;77(24):13125-13135
27. Doorbar J, Quint W, Banks L, Bravo IG, Stoler M, Broker TR, Stanley MA. The biology and life-cycle of human papillomaviruses. *Vaccine*. 2012;30 Suppl 5:F55-70
28. Bodily J, Laimins A. Persistence of human papillomavirus infections: keys to malignant progression. *Trends Microbiol* 2011;19(1):33-39
29. Johansson C, Somberg M, Li X, Backstrom-Winquist E, Fay J, Ryan F, Pim D, Banks L, SchwartS. HPV-16 E2 contributes to induction of HPV-16

- late gene expression by inhibiting early polyadenylation. *EMBO J* 2012;31(14):3212-3227
30. Finnen RL, Erickson KD, Chen XS, Garcea RL. Interactions between papillomavirus L1 and L2 capsid proteins. *J Virol* 2003;77(8):4818–26
  31. Buck CB, Thompson CD, Pang YY, Lowy DR, Schiller JT. Maturation of papillomavirus capsids. *J Virol* 2005;79(5):2839–46
  32. Buck CB, Cheng N, Thompson CD, Lowy DR, Steven AC, Schiller JT, Trus BL. Arrangement of L2 within the papillomavirus capsid. *J Virol* 2008;82(11):5190–7
  33. Middleton K, Peh W, Southern SA, Griffin HM, Sotlar K, Nakahara T, et al. Organisation of the human papillomavirus productive cycle during neoplastic progression provides a basis for the selection of diagnostic markers. *J Virol* 2003;77:10186–201
  34. Ding DC, Chiang MH, Lai HC, Hsiung CA, Hsieh CY, Chu TY. Methylation of the long control region of HPV16 is related to the severity of cervical neoplasia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;147(2): 215–220
  35. Gariglio P, Gutiérrez J, Cortés E, Vázquez J. The role of retinoid deficiency and estrogens as cofactors in cervical cancer. *Arch Med Res* 2009;40(6):449-65
  36. Hyland PL, McDade SS, McCloskey R, Dickson GJ, Arthur K, McCance DJ, Patel D. Evidence for alteration of EZH2, BMI1, and KDM6A and epigenetic reprogramming in human papillomavirus type 16 E6/E7-expressing keratinocytes. *J Virol* 2011;85(21):10999-1006.
  37. Pett MR, Alazawi WO, Roberts I, Downen S, Smith DI, Stanley MA, Coleman N. Acquisition of high-level chromosomal instability is associated with integration of human papillomavirus type 16 in cervical keratinocytes. *Cancer Res* 2004;64(9):1359–1368
  38. Hafner N, Driesch C, Gajda M, Jansen L, Kirchmayr R, Runnebaum IB, Dürst M.. Integration of the HPV16 genome does not invariably result in high levels of viral oncogene transcripts. *Oncogene* 2008;27:1610–1617
  39. Fehrmann F, Laimins LA. Human papillomaviruses: targeting differentiating epithelial cells for malignant transformation. *Oncogene* 2003;22(33):5201–5207

40. Gravitt PE. The known unknowns of HPV natural history. *J Clin Invest* 2011;121(12):4593-9
41. Schiffman M, Rodriguez AC, Chen Z, Wacholder S, Herrero R, Hildesheim A, Desalle R, Befano B, Yu K, Safaeian M, Sherman ME, Morales J, Guillen D, Alfaro M, Hutchinson M, Solomon D, Castle PE, Burk RD. A population-based prospective study of carcinogenic human papillomavirus (HPV) variant lineages, viral persistence, and cervical neoplasia. *Cancer Res* 2010;70(8):3159-3169
42. de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, Geraets DT, Klaustermeier JE, Lloveras B, Tous S, Felix A, Bravo LE, Shin HR, Vallejos CS, de Ruiz PA, Lima MA, Guimera N, Clavero O, Alejo M, Llombart-Bosch A, Cheng-Yang C, Tatti SA, Kasamatsu E, Iljazovic E, Odida M, Prado R, Seoud M, Grce M, Usubutun A, Jain A, Suarez GA, Lombardi LE, Banjo A, Menéndez C, Domingo EJ, Velasco J, Nessa A, Chichareon SC, Qiao YL, Lerma E, Garland SM, Sasagawa T, Ferrera A, Hammouda D, Mariani L, Pelayo A, Steiner I, Oliva E, Meijer CJ, Al-Jassar WF, Cruz E, Wright TC, Puras A, Llave CL, Tzardi M, Agorastos T, Garcia-Barriola V, Clavel C, Ordi J, Andújar M, Castellsagué X, Sánchez GI, Nowakowski AM, Bornstein J, Muñoz N, Bosch FX; Retrospective International Survey and HPV Time Trends Study Group. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncol* 2010;11(11):1048-56
43. Herfs M, Yamamoto Y, Laury A, Wang X, Nucci MR, McLaughlin-Drubin ME, Münger K, Feldman S, McKeon FD, Xian W, Crum CP. A discrete population of squamocolumnar junction cells implicated in the pathogenesis of cervical cancer. *Proc Natl Acad Sci* 2012;109(26):10516-10521
44. Stanley MA. Epithelial Cell Responses to Infection with Human Papillomavirus. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25(2): 215–222
45. Θεοδωρίδου Μ, Ατσάλη Ε. Λοιμώξεις από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (*Human Papilloma Virus - HPV*), νέες προοπτικές πρόληψης. Αθήνα, Α΄ Παιδιατρικής Κλινικής Παν/μίου Αθηνών, Νοσοκομείο Παίδων, «Η Αγία Σοφία», 2006

46. Αγοραστός Μ. *Λοίμωξη από τον ιό του HPV, εύρος, επιπτώσεις, πρόληψη*. Θεσσαλονίκη: Ελευθερουδάκης, 2008
47. Gamat G. HPV and other DNA viruses come be detected early. *Women's Health*, 2007
48. Adamski, A., Silva, D., Solva, C. & de Cruz, A. (2013). Molecular Tools for Detection Human Papillomavirus. In: DV Broeck (ed.), *Human Papillomavirus and Related Diseases From Bench to Bedside A Diagnostic and Preventive Perspective*. Intech
49. Melon, S., Alvarez-Arguelles, M. & de Ona, M. (2013). Molecular Diagnosis of Human Papillomavirus Infections. In: DV Broeck (ed.), *Human Papillomavirus and Related Diseases From Bench to Bedside A Diagnostic and Preventive Perspective*. Intech, pp. 3-26
50. Λαϊνή, Ε. (2011). Ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV- Human Papilloma Virus)
51. Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, Schiffman MH, Moreno V, Kurman R, Shah KY. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) study group. *J Natl Cancer Inst* 1995;87(11): 796-802
52. Chatzistamatiou, K., Katsamagas, T., Zafrakas, M., Zachou, K., Orologa, A. Fitsiou F, Theodoridis T, Konstantinidis T, Konstantinidis TC, Agorastos T. (2013). Smoking and genital human papilloma virus infection in women attending cervical cancer screening in Greece. *World J Obstet Gynecol* 2013;2(3):53-61
53. Bosch X, Harper D. Prevention strategies of cervical cancer in the HPV vaccine era. *Gynecologic Oncology* 2006;103:21-24
54. Cox, J.T. (1996). Clinical Role of HPV Testing. *Obstet Gynecol Clin N Amer*, 1996;23(4):811-51
55. Franco E. Epidemiology of genital warts and cancer. *Obstet Gynecol Clin N Amer*, 1996;23.
56. Lorincz AT, Schiffman M, Sherman ME, Mielzynska I, Greenberg M, Hildesheim A, Herrero R. Screening for Cervical cancer in Costa Rica by

- Conventional Pap Smear and the Hybrid Capture II HPV DNA TEST. *1st International Conference on HPV Infections & Cervical Cancer*, Montreal, Canada 1998.
57. Lorincz AT. (1996). Molecular Methods for the Detection of Human Papillomavirus Infection. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1996;23(3):707-30
  58. Ferenczy A, Gelfand MM, Franco E, Mansour N. Human papillomavirus infection in postmenopausal women with and without hormone therapy. *Obstet Gynecol* 1997;90(1):7-11
  59. Cuzick J, Terry G, Ho L, Soutter P, Mielzynska I, Lorincz A. *The value of HPV testing in primary screening of older women*. ASCCP, 1998 Biennial Meeting, Scottsdale, Arizona, USA.
  60. Kiviat N, Koutsky L, Paavonen J. *Cervical Neoplasia and Other STD-Related Genital Tract Neoplasias. Sexually Transmitted Diseases*. New York: McGraw-Hill, 1999
  61. Myers ER, McCrory DC, Nanda K, Bastian L, Matchar DB. Mathematical model for the natural history of human papillomavirus infection and cervical carcinogenesis. *Am J Epidemiol* 2000;151(12):1158-71
  62. Garnett GP, Anderson RM. Sexually transmitted diseases and sexual behavior: insights from mathematical models. *J Infect Dis* 1996;174(Suppl 2):S150-61
  63. Castellsague X, ftner T, Roura E, Vidart JA, Kjaer SK, Bosch FX, Muñoz N, Palacios S, San Martin Rodriguez M, Serradell L, Torcel-Pagnon L, Cortes J;CLEOPATRE Spain Study Group. Prevalence and Genotype Distribution of Human Papillomavirus Infection of the Cervix in Spain: The CLEOPATRE Study. *J Med Virol* 2012;84(6):947-56
  64. Zanardi, C., Guerra, B., Martinelli, G. & Barrasso, R. (1988). Papillomavirus release in male partners of women with genital cervical intraepithelial neoplasia: diagraceac. *Cervix*, 6
  65. Reid R. The management of genital condylomas, intraepithelial neoplasia, and vulvodynia. *Obstet Gynecol Clin N Amer* 1996;23:917-991



66. Paavonen, J., Jenkins, D., Bosch, F.X., et al. (2007). Efficacy of a prophylactic adjuvanted bivalent L1virus-like-particle vaccine against infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: an interim analysis of a phase III double blind, randomized controlled trial. *Lancet*, 369.
67. Ault, K.A. (2007). Effect of a prophylactic human papillomavirus L1 virus-like-particle vaccine on risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2, grade 3, and adenocarcinoma in situ: a combined analysis of four randomized clinical trials. *Lancet*, 369.
68. Wheeler, C.M., Kjaer, S.K., Sigurdsson, K., et al. 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. *J Infect Dis*, 199.
69. Ali, H., Donovan, B., Wand, H. et al. (2013). Genital warts in young Australians five years into national human papillomavirus vaccination programme: national surveillance data. *BMJ.*, 346.
70. Stern, P.L. et al. (2012) Therapy of Human Papillomavirus – Related Disease. *Vaccine*, 30.
71. CDC (2010). Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. *MMWR*, 59.
72. Ζαμπέτογλου Θ. Κολποσκόπηση. 2014. Διαθέσιμο στον ιστότοπο: <http://zampetoglou.com/project/kolposkophsh> (πρόσβαση: 10/09/15)
73. Kyriacou, E., Sotiris, P., Berler, A., Neophytou, M., Bourka, A., Georgoulas, A., Anagnostaki, A. Karayiannis, D., Schizas, C., Pattichis, C. Andreou, A. & Koutsouris, D. (2003). Multi-purpose HealthCare Telemedicine Systems with mobile communication link support, *BioMedical Engineering OnLine*, 2.
74. medGadget. ImageSense for Digital Colposcopy FDA Approved. Διαθέσιμο στον ιστότοπο: [http://www.medgadget.com/2011/01/imagesense\\_for\\_digital\\_colposcopy\\_fda\\_approved.html](http://www.medgadget.com/2011/01/imagesense_for_digital_colposcopy_fda_approved.html) (πρόσβαση: 10/09/15)

75. Wunderman, I., Coppleson, M., Skladnev, V.N. & Reid, B.L. (1995). Polarprobe: a precancer detection instrument. *J Gynecol Technique*, 1.
76. A. Noutsou, M. Koffa, M. Ergazaki, N.M. Siafakas and D.A. Spandidos. Detection of human papilloma virus (HPV) and K-ras mutations in human lung carcinomas. *Int J Oncol*. 1996;8(6):1089-93.
77. Bouda M, Gorgoulis VG, Kastrinakis NG, Giannoudis A, Tsoli E, Danassi-Afentaki D, Foukas P, Kyroudi A, Laskaris G, Herrington CS, Kittas C. "High Risk" HPV Types Are Frequently Detected in Potentially Malignant and Malignant Oral Lesions, But Not in Normal Oral Mucosa. *Mod Pathol*. 2000;13(6):644-53
78. Agoston ES, Robinson SJ, Mehra KK, Birch C, Semmel D, Mirkovic J, Haddad RI, Posner MR, Kindelberger D, Krane JF, Brodsky J, Crum CP. Polymerase Chain Reaction Detection of HPV in Squamous Carcinoma of the Oropharynx. *Am J Clin Pathol*. 2010;134(1):36-41
79. Krikelis D, Tzimagiorgis G, Georgiou E, Destouni C, Agorastos T, Haitogloua C, Kouidou S. Frequent presence of incomplete HPV16 E7 ORFs in lung carcinomas: Memories of viral infection. *J Clin Virol* 2010;49(3):169-174
80. Mammas IN, Vageli D, Spandidos DA. Geographic variations of human papilloma virus infection and their possible impact on the effectiveness of the vaccination programme. *Oncol Rep*. 2008;20(1):141-5
81. Giannaki M, Kakourou T, Theodoridou M, Syriopoulou V, Kabouris M, Louizou E, Chrousos G. Human Papillomavirus (HPV) Genotyping Of Cutaneous Warts in Greek Children. *Pediatr Dermatol*. 2013;30(6):730-5
82. Moreas H, Tsiambas E, Lazaris AC, Nonni A, Karameris A, Metaxas GE, Armatas HE, Patsouris E. Impact of HPV detection in colorectal adenocarcinoma: HPV protein and chromogenic in situ hybridization analysis based on tissue microarrays. *J BUON*. 2014;19(1):91-6.
83. Blioumi E, Chatzidimitriou D, Pazartzi Ch, Katopodi Th, Tzimagiorgis G, Emmanouil-Nikoloussi E-N, Markoloulos A, Kalekou C, Lazaridis N, Diza E, Antoniadis D. Detection and typing of Human Papillomaviruses (HPV) in malignant, dysplastic, nondysplastic and normal oral epithelium by nested Polymerase Chain Reaction, immunohistochemistry and

- transitional electron microscopy in patients of Northern Greece. *Oral Oncol.* 2014;50(9):840-7
84. Georgantis G, Syrakos T, Agorastos T, Miliaras S, Gagalis A, Tsoulfas G, Spanos K, Marakis G. Detection of human papillomavirus DNA in esophageal carcinoma in Greece. *World J Gastroenterol.* 2015; 21(8): 2352–2357.
  85. Malamou-Mitsi V, Zachariou C, Tzallas S, Tavoulari S, Paraskevaidis E, Agnantis NJ. Detection and typing of HPV by PCR and Restriction Fragment Length Polymorphisms (RFLPs) in tissue samples from human cervical lesions. *Electronic Journal of Pathology and Histology* 2002;8(1):20-29
  86. Agorastos T, Dinas K, Lloveras B, de Sanjose S, Kornegay JR, Bonti H, Bosch FX, Constantinidis T, Bontis J. Human papillomavirus testing for primary screening in women at low risk of developing cervical cancer. The Greek experience. *Gynecol Oncol.* 2005;96(3):714-20
  87. Agorastos T, Miliaras D, Lambropoulos AF, Chrisafi S, Kotsis A, Manthos A, Bontis J. Detection and typing of human papillomavirus DNA in uterine cervixes with coexistent grade I and grade III intraepithelial neoplasia: biologic progression or independent lesions? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005;121(1):99-103
  88. Agorastos T, Dinas K, Lloveras B, Font R, Kornegay JR, Bontis J, de Sanjose S. Self-sampling versus physician-sampling for human papillomavirus testing. *Int J STD AIDS.* 2005;16(11):727-9
  89. Daponte A, Pournaras S, Mademtzis I, Hadjichristodoulou C, Kostopoulou E, Maniatis AN, Messinis IE. Evaluation of high-risk human papillomavirus types PCR detection in paired urine and cervical samples of women with abnormal cytology. *J Clin Virol.* 2006;36(3):189-93.
  90. Daponte A, Pournaras S, Mademtzis I, Hadjichristodoulou C, Kostopoulou E, Maniatis AN, Messinis IE. Evaluation of HPV 16 PCR detection in self-compared with clinician-collected samples in women referred for colposcopy. *Gynecol Oncol.* 2006;103(2):463-6.
  91. Daponte A, Tsezou A, Oikonomou P, Hadjichristodoulou C, Maniatis AN, Pournaras S, Messinis IE. Use of real-time PCR to detect human

- papillomavirus-16 viral loads in vaginal and urine self-sampled specimens. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(6):619-21
92. Mammas IN, Vageli D, Spandidos DA. Geographic variations of human papilloma virus infection and their possible impact on the effectiveness of the vaccination programme. *Oncol Rep.* 2008;20(1):141-5
  93. Agorastos T, Lambropoulos AF, Sotiriadis A, Mikos Th, Togaridou E, Emmanouilides CJ. Prevalence and distribution of high-risk human papillomavirus in Greece. *Eur J Cancer Prev.* 2009;18(6):504-9
  94. Kottaridi C, Tsiodras S, Spathis A, Chranioti A, Pappas A, Kassanos D, Panayiotides I, Karakitsos P. Clinical Performance of Human Papillomavirus E6, E7, mRNA Flow Cytometric Assay Compared to Human Papillomavirus DNA Typing. *Anal Quant Cytol Histol.* 2011;33(6):305-10
  95. G Valasoulis G, Koliopoulos G, Founta C, Kyrgiou M, Tsoumpou I, Valari O, Martin-Hirsch P, Daponte A, Karakitsos P, Paraskevaïdis E. Alterations in human papillomavirus-related biomarkers after treatment of cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol Oncol* 2011;121(1):43-8.
  96. Stamataki P, Papazafiropoulou A, Elefsiniotis I, Giannakopoulou M, Brokalaki H, Apostolopoulou E, Sarafis P, Saroglou G. Prevalence of HPV infection among Greek women attending a gynecological outpatient clinic. *BMC Infectious Diseases* 2010, **10**:27 doi:10.1186/1471-2334-10-27
  97. Ntova CK, Kottaridi C, Chranioti A, Spathis A, Kassanos D, Paraskevaïdis E, Karakitsos P. Genetic Variability and Phylogeny of High Risk HPV Type 16, 18, 31, 33 and 45 L1 Gene in Greek Women. *Int J Mol Sci.* 2012;13(1):1-17
  98. Foukas PG, Zourla AP, Tsiodras S, Tsanas A, Leventakos K, Chranioti E, Spathis A, Meristoudis C, Chrelias C, Kassanos D, Petrikkos G, Karakitsos P, Panayiotides IG. B-lymphocyte, Macrophage and Mast Cell Density in the Stroma Underlying HPV-Related Cervical Squamous Epithelial Lesions and their Relationship to Disease Severity: an Immunohistochemical Study. *Clin Experim Pathol* 2012;2:2
  99. Spathis A, Kottaridi C, Chranioti A, Meristoudis C, Chrelias C, Panayiotides IG, Paraskevaïdis E, Karakitsos P. mRNA and DNA Detection of Human Papillomaviruses in Women of All Ages Attending

- Two Colposcopy Clinics. *PLoS One*. 2012;7(11):e49205. doi: 10.1371/journal.pone.0049205.
100. Tsimplaki E, Argyri E, Michala L, Kouvousi M, Apostolaki A, Magiakos G, Papassideri I, Panotopoulou E. Human Papillomavirus Genotyping and E6/E7mRNA Expression in Greek Women with Intraepithelial Neoplasia and Squamous Cell Carcinoma of the Vagina and Vulva. *J Oncol* 2012;2012 Article ID 893275, 7 pages, doi.org/10.1155/2012/893275
  101. Agorastos T, Chatzistamatiou K, Katsamagkas T, Koliopoulos G, Daponte A, Constantinidis Th., Constantinidis ThC, and the HERMES study group. Primary Screening for Cervical Cancer Based on High-Risk Human Papillomavirus (HPV) Detection and HPV 16 and HPV 18 Genotyping, in Comparison to Cytology. *PLoS One*. 2015;10(3):e0119755. doi: 10.1371/journal.pone.0119755
  102. Chatzistamatiou K, Sotiriadis A, Agorastos T. Effect of mode of delivery on vertical human papillomavirus transmission – A meta-analysis. *J Obstet Gynaecol*. 2015 Sep 14:1-5. [Epub ahead of print]
  103. de Sanjose S, Alemany L, Ordi J, Tous S, Alejo M, Bigby SM, JouraEA, Maldonado P, Laco J, et al. Worldwide human papillomavirus genotype attribution in over 2000 cases of intraepithelial and invasive lesions of the vulva. *Eur J Cancer*. 2013;49(16):3450-61

