

Άρθρο κλινικής μελέτης

Αιτιολογική Συσχέτιση του Ιού των Ανθρώπινων Θηλωμάτων (HPV) με τους Καρκίνους Κεφαλής - Τραχήλου

Δήμητρα Μουλντή¹, Γεωργία Λιάπη¹, Δημήτριος Πανταζής¹,
Μαρία Βενετικού², Αναστασία-Μαρία Κεφάλια², Παναγιώτα
Ρέστα^{2,3}, Απόστολος Μπελούκας^{2,3}, Φραγκίσκη Ανθούλη-
Αναγνωστοπούλου²

¹Παθολογοανατομικό Εργαστήριο, Κλινική ΩΡΛ, Θριάσιο Γ.Ν. Ελευσίνας, Ελευσίνα, Ελλάδα

²Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας (Σ.Ε.Υ.Π.), Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής (ΠαΔΑ), Αθήνα, Ελλάδα

³Εθνικό Κέντρο Αναφοράς AIDS Νοτίου Ελλάδος, Σχολή Δημόσιας Υγείας (Σ.Δ.Υ.), Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Αθήνα, Ελλάδα

Λέξεις κλειδιά: Καρκίνος κεφαλής-τραχήλου, HPV, ανοσοϊστοχημεία, σταδιοποίηση καρκίνου, σταδιοποίηση λεμφαδένων, ακτινοθεραπεία, χημειοθεραπεία, ολική λαρυγγεκτομή

Δεκτή για δημοσίευση (Τελική Μορφή): 27 Νοεμβρίου 2022

Π ε ρ ί λ η ψ η. Σκοπός: Ανάδειξη συσχέτισης του ιού HPV με τον καρκίνο κεφαλής-τραχήλου και στατιστική ανάλυση μεταβλητών αναφορικά με το φύλο, το βαθμό κακοήθειας, της παρουσίας ή μη καρκίνου στους λεμφαδένες, τη σταδιοποίηση του καρκίνου, τη σταδιοποίηση των λεμφαδένων, την επανεμφάνιση του καρκίνου, την ακτινοθεραπεία, τη χημειοθεραπεία, την ανατομική θέση του ιστού βιοψίας και την ολική λαρυγγεκτομή.

Μεθοδολογία: Ανοσοϊστοχημική ανίχνευση HPV σε ιστοικά παρασκευάσματα καρκινωμάτων λάρυγγα και στη συνέχεια αξιολόγηση της

συσχέτισής του με καρκίνο του λάρυγγα σε 63 ασθενείς στο Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του ΓΝΕ Θριάσιο.

Αποτελέσματα: Εξετάστηκαν ιστολογικά παρασκευάσματα 63 ασθενών που νοσούν από καρκίνο κεφαλής-τραχήλου σε διάφορες ανατομικές περιοχές του λάρυγγα (58,7% γλωττιδικός, 20,6% υπεργλωττιδικός, 20,6% διαγλωττιδικός). Καταγράφηκε το 74,6% των ασθενών με βαθμό κακοήθειας II, χωρίς ένδειξη καρκίνου στους λεμφαδένες στο 81% των ασθενών, με σταδιοποίηση του καρκίνου σε ποσοστό 30,2% στην κατηγορία T1, 23,8% T2 και 20,6% T3, με σταδιοποίηση των λεμφαδένων για το 93,7% στη κατηγορία N0, και επανεμφάνιση καρκίνου σε ποσοστό 9,5%, 34,9% σε ακτινοθεραπευτικό και 15,9% σε χημειοθεραπευτικό σχήμα. Επίσης, προέκυψε ότι η ολική λαρυγγεκτομή συσχετίζεται με τη σταδιοποίηση του καρκίνου ($r=0,250$, $Sig.=0,0048$) και την ένδειξη καρκίνου στους λεμφαδένες ($r=-0,373$, $Sig.=0,003$). Ο βαθμός κακοήθειας συσχετίζεται με την ένδειξη καρκίνου

Corresponding author: D. Moulndi, 26 Themistokleous Str., GR-19300 Aspropyrgos, Attica, Greece. E-mail: mitsi.2688@gmail.com, Tel. +30693-7488534, +30210-5575726.

Send reprint requests to: Dr Helen S. Plessa, 9A Kanari Str., GR-15239, N. Penteli, Athens, Hellas, E-mail: pharmakonpress@pharmakonpress.gr, Tel. + 30210-9756332

στους λεμφαδένες ($r=0,344$, $Sig.=0,006$), τη σταδιοποίηση του καρκίνου ($r=0,263$, $Sig.=0,037$) και τη σταδιοποίηση στους λεμφαδένες ($r=0,391$, $Sig.=0,002$). Η επανεμφάνιση καρκίνου συσχετίζεται με την ακτινοθεραπεία ($r=0,443$, $Sig.=0,000$). Το αποτέλεσμα της βιοψίας συσχετίζεται με την ένδειξη του καρκίνου στους λεμφαδένες ($r=0,311$, $Sig.=0,013$) και τη σταδιοποίηση του καρκίνου ($r=,394$, $Sig.=0,001$). Στην έρευνα η ανοσοϊστοχημική μέθοδος ανίχνευσης απέδωσε μη αιτιολογική συσχέτιση του HPV ιού με τον καρκίνο του λάρυγγα και της κεφαλής – τραχήλου στο σύνολο των 63 περιστατικών που εξετάστηκαν.

Συμπεράσματα: Από την έρευνα προέκυψε μη στατιστικά σημαντική συσχέτιση του ιού HPV με τον καρκίνο του λάρυγγα και της κεφαλής–τραχήλου. Παρόλα ταύτα, η επανεξέταση των 63 περιστατικών με χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης κρίνεται αναγκαία ώστε να διερευνηθεί η πραγματική απουσία του HPV ιού από τον καρκίνο κεφαλής-τραχήλου.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV: Human Papillomavirus) κατατάσσεται στο γένος των Papillomaviruses και με τους Polyomaviruses να τοποθετείται στην οικογένεια Papovaviridae, των μικρών ιών (papov) οι οποίοι έχουν διπλή -κυκλική έλικα DNA [1]. Ο HPV προσβάλλει το πλακώδες επιθήλιο του γεννητικού συστήματος, του πρωκτού, της περιπρωκτικής περιοχής και του λάρυγγα [2, 3, 4, 5]. Ο ιός έχει ταξινομηθεί με βάση το περιεχόμενο του DNA ενώ ταυτοποιείται σε περισσότερους από 100 υπότυπους με βάση την ακολουθία του DNA από τους οποίους το 15% έχει συνδεθεί με την εμφάνιση καρκίνων [6].

Ο καρκίνος κεφαλής – τραχήλου είναι έκτη παγκόσμια νεοπλασία με 650.000 διαγνωσμένα περιστατικά και 330.000 θανάτους ετησίως ειδικότερα στις αναπτυσσόμενες χώρες [7]. Μάλιστα, εκτιμάται ότι το 2020, ο καρκίνος κεφαλής – τραχήλου αναμένεται να επηρεάσει περίπου 833.000 νέους ασθενείς παγκοσμίως και 151.000 στην Ευρώπη [8]. Η πρόγνωση συσχετίζεται με το στάδιο της διαγνωσμένης πορείας του καρκίνου και τον καθορισμό του όγκου. Σημειώνεται ότι οι καρκίνοι κεφαλής–τραχήλου που εντοπίζονται σε πρώιμο στάδιο είναι δυνατό να αντιμετωπιστούν με μικρή νοσηρότητα και υψηλά ποσοστά 5ετούς επιβίωσης [9]. Μάλιστα στο 30% των ασθενών εντοπίζεται σε πρώιμα στάδια και αντιμετωπίζεται με τη χρήση χειρουργικών και μη μεθόδων

(μονοθεραπεία, ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία) [10, 11].

ΜΕΘΟΔΟΣ & ΥΛΙΚΟ ΕΡΕΥΝΑΣ

Σκοπός έρευνας

Σκοπός της παρούσας μελέτης αποτελεί η ανάδειξη της συσχέτισης του ιού HPV με το φύλο, το βαθμό κακοήθειας, την παρουσία του στους λεμφαδένες, με τη σταδιοποίηση του όγκου (T), με τη σταδιοποίηση των λεμφαδένων (N), με την επανεμφάνιση καρκίνου, με την ακτινοθεραπεία, χημειοθεραπεία ως θεραπευτικές μεθόδους, την ανατομική θέση λήψης βιοψίας και με την ολική λαρυγγεκτομή, σε δείγμα ασθενών με καρκίνο κεφαλής – τραχήλου.

Μεθοδολογία – Υλικό Έρευνας

Χρησιμοποιήθηκε αρχεϊκό υλικό βιοψίας (τομές από block παραφίνης) από 63 ασθενείς με καρκίνο του λάρυγγα από το Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του ΓΝΕ «Θριάσιο», το οποίο συγκέντρωσε στοιχεία των ασθενών από το 2010 έως και το 2017.

Το δείγμα της έρευνας αποτελείται από 63 ασθενείς διαγνωσμένων με καρκίνο του λάρυγγα με τουλάχιστον 5ετές ιστορικό νόσου μέσης ηλικίας 64,3 ετών (με χαμηλότερη ηλικία τα 37 έτη και υψηλότερη τα 89 έτη) με το 88,9% να αντιπροσωπεύει άνδρες (n=56) και το 11,1% γυναίκες (n=7), καπνιστές κατά 73%, με αναφορά για μέτρια κατανάλωση αλκοόλ από το 20,6% του δείγματος.

Για την ανίχνευση του ιού HPV στα δείγματα των ασθενών με καρκίνο κεφαλής – τραχήλου χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της Ανοσοϊστοχημείας. Σε τομές παραφίνης ιστών λάρυγγα διαγνωσμένων με καρκίνο, εφαρμόστηκε ειδικό αντίσωμα για τον HPV με σκοπό την ανίχνευση του ιού στα καρκινικά κύτταρα.

Η μέθοδος πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του ΓΝΕ Θριάσιο, στο τμήμα Ανοσοϊστοχημείας, με τη χρήση ειδικών αντιδραστηρίων και με απεικονιστικές μεθόδους στο οπτικό μικροσκόπιο του Εργαστηρίου.

Αναφορικά ως προς το τεχνικό μέρος της μελέτης προηγήθηκε προετοιμασία του ιστού με βρασμό για την απελευθέρωση των επιτόπων (αντιγονικών θέσεων) και εφαρμόστηκε αντίσωμα το οποίο και συνδέεται με την

αντίστοιχη αντιγονική θέση του κυττάρου. Η εφαρμογή δευτεροταγούς αντισώματος, δημιούργησε σύμπλοκο το οποίο αντιδρά με το χρωμογόνο διαμινοβενζιδίνη (DAB) και έκανε ορατό το σημείο σύνδεσης, χρωματίζοντάς το. Τέλος, με τη χρώση του υπολοίπου ιστού με αιματοξυλίνη Mayer, έγινε η μικροσκοπήση και αξιολόγηση του υλικού της βιοψίας.

Εδώ σημειώνεται ότι η όλη διαδικασία της έρευνας με σκοπό να αναδειχθεί ο ιός HPV με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημικής ανίχνευσης, ήταν ιδιαίτερα χρονοβόρα με αποτέλεσμα να χρειαστεί περισσότερο από ένα έτος καθημερινής εργασίας.

Σχεδιασμός–Δημιουργία Βάσης Δεδομένων - Στατιστική Ανάλυση

Η αρχική βάση δεδομένων δημιουργήθηκε με την βοήθεια του Microsoft Office Excel, στη συνέχεια τα στοιχεία κωδικοποιήθηκαν και παρήχθη μια νέα βάση δεδομένων στο SPSS 21 με τα στοιχεία των εξήντα τριών (63) ασθενών με καρκίνο κεφαλής – τραχήλου στους οποίους διερευνήθηκε η ανίχνευση του ιού HPV [12].

Η ερευνητική διαδικασία περιλάμβανε την περιγραφική και επαγωγική ανάλυση 14 μεταβλητών οι οποίες προέρχονται από τον ιατρικό φάκελο των ασθενών και είναι οι εξής: (1) φύλο, (2) ηλικία, (3) κάπνισμα, (4) χρήση αλκοόλ, (5) ολική λαρυγγεκτομή, (6) βαθμός κακοήθειας, (7) επανεμφάνιση καρκίνου, (8) λεμφαδένες, (9) σταδιοποίηση καρκίνου, (10) σταδιοποίηση λεμφαδένων, (11) ακτινοθεραπεία, (12) χημειοθεραπεία, (13) βιοψία, και (14) ανίχνευση HPV.

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων προήλθε από τη χρήση της κατανομής ποσοστιαίων συχνοτήτων μέσω των Frequencies και Descriptive Statistics, τη διασταύρωση των μεταβλητών ώστε να προκύψουν συνδυασμένα αποτελέσματα με τη χρήση της μεθόδου Crosstabs [13].

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα για το σύνολο του δείγματος των εξήντα τριών (63) ασθενών, από την μέθοδο ανοσοϊστοχημικής ανίχνευσης του HPV, είναι τα εξής:

1. Βαθμός κακοήθειας (Grade): 9,5% βαθμός κακοήθειας I, 74,6% βαθμός κακοήθειας II, 1,6% Verrucous, 6,3% Hybrid και 7,9% βαθμό κακοήθειας II-III (Διάγραμμα 1).

✓ 1α) Σχετικά με το βαθμό κακοήθειας και τη σταδιοποίηση του καρκίνου προκύπτει από το σύνολο του δείγματος το 3,2% με βαθμό κακοήθειας I βρίσκεται στο στάδιο T1b, στο βαθμό κακοήθειας II το 20,3% βρίσκεται στο T1 και το 25,6% στο T2, στο Verrucous το 1,6% βρίσκεται στο στάδιο T1, στο Hybrid το 3,2% βρίσκεται στο T1 και στον βαθμό κακοήθειας II -III το 3,2% βρίσκεται στο T3 και το 3,2% στο T4.

✓ 1β) Σχετικά με το βαθμό κακοήθειας και τη σταδιοποίηση στους λεμφαδένες προκύπτει από το σύνολο του δείγματος το 9,5% με βαθμό κακοήθειας I βρίσκεται στο στάδιο N0, στο Βαθμό Κακοήθειας II το 73% βρίσκεται στο N0, στο Verrucous το 1,6% βρίσκεται στο στάδιο N0, στο Hybrid το 6,3% βρίσκεται στο N0 και στον βαθμό κακοήθειας II-III το 3,2% βρίσκεται στο N0, το 1,6% στο N1 και το 3,2% στο N2.

✓ 1γ) Σχετικά με το βαθμό κακοήθειας και το φύλο προκύπτει από το σύνολο του δείγματος των γυναικών το 1,6% με βαθμό κακοήθειας I, το 7,9% με βαθμό κακοήθειας II και το 1,6% με βαθμό κακοήθειας II-III. Για τους άνδρες προέκυψε το 7,9% με βαθμό κακοήθειας I, το 66,7% με Βαθμό Κακοήθειας II, το 1,6% με Verrucous, το 6,3% με Hybrid και το 6,3% με Βαθμό Κακοήθειας II-III (Διάγραμμα 2α).

✓ 1δ) Σχετικά με το βαθμό κακοήθειας και την Ολική Λαρυγγεκτομή (ΟΛ) προκύπτει από το σύνολο του δείγματος ότι ΟΛ έχει γίνει στο 1,6% με βαθμό κακοήθειας II και στο 1,6% με βαθμό κακοήθειας II-III (Διάγραμμα 2β).

✓ 1ε) Σχετικά με βαθμό κακοήθειας και το κάπνισμα προκύπτει από το σύνολο του δείγματος των μη καπνιζόντων το 1,6% με βαθμό κακοήθειας I, το 20,6% με βαθμό κακοήθειας II, το 1,6% με Hybrid και το 3,2% με βαθμό κακοήθειας II-III ενώ οι καπνίζοντες συγκεντρωτικά το 8% με βαθμό κακοήθειας I, το 53,9% με βαθμό κακοήθειας II, το 1,6% με Verrucous, το 4,8% με Hybrid και το 4,8% με βαθμό κακοήθειας II-III (Διάγραμμα 2γ).

2. Λεμφαδένες: στο 81% των δειγμάτων δεν ανευρέθηκαν λεμφαδένες (NX), στο 11,1%

ήταν θετικοί (N1,N2) και στο 7,9% αρνητικοί (N0). Αναφορικά με την ένδειξη στους λεμφαδένες ανά φύλο προκύπτει από το σύνολο του δείγματος των ανδρών, στο 73% δεν ανευρέθηκαν λεμφαδένες, στο 7,9% ήταν θετικοί και στο 7,9% αρνητικοί. Από το δείγμα των γυναικών, στο 7,9% δεν ανευρέθηκαν και στο 3,2% ήταν θετικοί. Οι ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε ΟΛ (ολική λαρυγγεκτομή) βρίσκονται στο στάδιο T3 (1,6%) και στο T4 (1,6%). Επίσης, οι ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε ΟΛ, το 1,6% έχουν θετικούς λεμφαδένες, ενώ αρνητικούς έχουν το 1,6%.

3. *Σταδιοποίηση καρκίνου:* 30,2% ανήκει στην κατηγορία T1, 3,2% T1a, 9,5% T1b, 23,8% T2, 1,6% T2a, 3,2% T2b, 20,6% T3 και 7,9% T4 (*Διάγραμμα 2γ*).
4. *Σταδιοποίηση λεμφαδένων:* 93,7% ανήκει στην κατηγορία N0, 1,6% N1, 3,2% N2 και 1,6% N2c (αμφοτερόπλευροι τραχηλικοί <6 cm). Αναφορικά με την σταδιοποίηση του καρκίνου και των λεμφαδένων προκύπτει από το σύνολο του δείγματος ότι ο καρκίνος σε στάδιο T1 κατά 30,2% παρουσιάζει στάδιο λεμφαδένων N0, το στάδιο T1a κατά 3,2% παρουσιάζει στάδιο λεμφαδένων N0, το στάδιο T1b κατά 9,5% παρουσιάζει στάδιο λεμφαδένων N0, το στάδιο T2 κατά 23,8% παρουσιάζει στάδιο λεμφαδένων N0, το στάδιο T2a κατά 1,6% παρουσιάζει στάδιο λεμφαδένων N0, το στάδιο T2b κατά 3,2% παρουσιάζει στάδιο λεμφαδένων N0, το στάδιο T3 κατά 17,5% παρουσιάζει στάδιο λεμφαδένων N0, κατά 1,6% N1 και 1,6% N2c και το στάδιο T4 κατά 4,8% παρουσιάζει στάδιο λεμφαδένων N0 και 3,2% N2.
5. *Επανεμφάνιση καρκίνου:* 9,5% θετικό και 90,5% αρνητικό. Το 7,9% των ανδρών και το 1,6% των γυναικών παρουσιάζουν υποτροπή. Όσον αφορά την επανεμφάνιση καρκίνου εντοπίζεται σε όσους έχουν λάβει ακτινοθεραπεία κατά 9,5% και σε όσους δεν έχουν πραγματοποιήσει κατά 65,1%. Επιπλέον όσοι επανεμφανίζουν καρκίνο ανήκουν στο στάδιο καρκίνου T1 (1,6%), στο T2 (4,8%), στο T3 (1,6%) και στο T4 (1,6%).
6. *Ακτινοθεραπεία:* Το 34,9% του δείγματος έχει λάβει ακτινοθεραπεία, το 30,2% των ανδρών και το 4,8% των γυναικών. Η επανεμφάνιση καρκίνου εντοπίζεται στο 9,5% των ασθενών που έχουν υποβληθεί σε ακτινοθεραπεία.
7. *Χημειοθεραπεία:* 15,9% του δείγματος έχει υποβληθεί σε χημειοθεραπεία. 11,1% των

ανδρών και 4,8% των γυναικών. Επανεμφάνιση καρκίνου εντοπίζεται στο 1,6% όσων έχουν υποβληθεί σε χημειοθεραπεία.

8. *Θέση λήψης ιστού βιοψίας:* Από το σύνολο του δείγματος το 58,7% αφορά σε γλωττιδικό, το 20,6% σε υπεργλωττιδικό και το 20,6% σε διαγλωττιδικό καρκίνο. Ο Υπεργλωττιδικός καρκίνος συσχετίστηκε κατά 7,9% χωρίς την ανεύρεση λεμφαδένων, το 6,3% με θετικούς και 6,3% με αρνητικούς και ο διαγλωττιδικός καρκίνος συσχετίστηκε κατά 17,5% χωρίς λεμφαδένες, 1,6% με θετικούς και 1,6% με αρνητικούς. Σημειώνεται σε όσους έχουν υποστεί ΟΛ διαπιστώθηκε (1,6%) υπεργλωττιδικός και (1,6%) διαγλωττιδικός καρκίνος. Ενώ σε όσους δεν έχουν υποστεί ΟΛ διαπιστώθηκε σε 37 περιστατικά (58,7%) γλωττιδικός καρκίνος, 12 (19%) υπεργλωττιδικός και 12 (19%) διαγλωττιδικός καρκίνος.

Με τη μέθοδο της Ανοσοϊστοχημείας δεν ανιχνεύτηκε ο ιός HPV σε καμία περίπτωση από το σύνολο των 63 ασθενών με καρκίνο κεφαλής – τραχήλου.

Στη συνέχεια έγινε η επαγωγική στατιστική ανάλυση των δεδομένων ώστε να αποδειχθεί η ύπαρξη ή μη γραμμικής συσχέτισης των μεταβλητών με βάση τον συντελεστή γραμμικής συσχέτισης του Spearman ο οποίος είναι στατιστικά σημαντικός, εφόσον οι μεταβλητές δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή σύμφωνα με τους ελέγχους Kolmogorov – Smirnov.

Από τη στατιστική ανάλυση παρατηρήθηκε ότι μεταξύ ορισμένων μεταβλητών από το ιατρικό ιστορικό του συνόλου των εξήντα τριών (63) ασθενών, αναδείχθηκαν ορισμένες συσχετίσεις, οι εξής:

1. *Κάπνισμα-ως προς τη συσχέτιση του καπνίσματος με την ηλικία και το αλκοόλ:* Ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης του Spearman είναι στατιστικά σημαντικός ($r=-0,261$) σε επίπεδο σημαντικότητας Sig. (2-tailed) = 0,039, άρα υπάρχει ισχυρή αρνητική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών κάπνισμα και ηλικία, ήτοι, οι μικρότερες ηλικίες εμφανίζονται περισσότερο ως καπνιστές. Ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης του Spearman είναι στατιστικά σημαντικός ($r=0,438$) σε επίπεδο σημαντικότητας Sig. (2-tailed) = 0,000, άρα υπάρχει ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών κάπνισμα και αλκοόλ, ήτοι, οι

καπνίζοντες καταναλώνουν περισσότερο αλκοόλ από τους μη καπνιστές.

2. *Βαθμός κακοήθειας-ως προς τη συσχέτιση του βαθμού κακοήθειας:* ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης του Spearman είναι στατιστικά σημαντικός στις περιπτώσεις: Ο βαθμός κακοήθειας συσχετίζεται με θετικούς λεμφαδένες ($r=0,344$, Sig. (2-tailed)=0,006), τη Σταδιοποίηση του καρκίνου ($r=0,263$, Sig. (2-tailed)=0,037) και τη Σταδιοποίηση σε λεμφαδένες ($r=0,391$, Sig. (2-tailed)=0,002). Άρα υπάρχει ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ των ανωτέρω μεταβλητών.
3. *Λεμφαδένες-ως προς τη συσχέτιση της ένδειξης στους λεμφαδένες:* ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης του Spearman είναι στατιστικά σημαντικός και υπάρχει ισχυρή θετική συσχέτιση στις περιπτώσεις των: σταδιοποίηση καρκίνου -T ($r=,355$, Sig. (2-tailed)=0,004), σταδιοποίηση σε λεμφαδένες-N ($r=0,481$, Sig. (2-tailed)=0,000), θέση λήψης βιοψίας ($r=0,311$, Sig. (2-tailed)=0,013), βαθμός κακοήθειας-Grade ($r=0,344$, Sig. (2-tailed)=0,006) και αρνητική συσχέτιση με την Ολική λαρυγγεκτομή ($r=-0,379$, Sig. (2-tailed) = 0,002).
4. *Σταδιοποίηση καρκίνου-ως προς τη συσχέτιση της σταδιοποίηση καρκίνου:* ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης του Spearman είναι στατιστικά σημαντικός και υπάρχει ισχυρή αρνητική συσχέτιση στις περιπτώσεις των: Ακτινοθεραπεία ($r=-0,579$, Sig. (2-tailed)=0,000), Χημειοθεραπεία ($r=-0,516$, Sig. (2-tailed)=0,000), και Ολική λαρυγγεκτομή ($r=0,250$, Sig. (2-tailed)=0,048). Ενώ, θετική συσχέτιση στις περιπτώσεις συσχέτισης με Σταδιοποίηση λεμφαδένων ($r=0,360$, Sig. (2-tailed)=0,004), θέση λήψης βιοψίας ($r=0,394$, Sig. (2-tailed)=0,001), Βαθμός κακοήθειας ($r=0,263$, Sig. (2-tailed) = 0,037).
5. *Σταδιοποίηση λεμφαδένων:* Ως προς τη συσχέτιση της Σταδιοποίηση λεμφαδένων ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης του Spearman είναι στατιστικά σημαντικός και υπάρχει θετική γραμμική συσχέτιση στην περιπτώσεις με τον βαθμό κακοήθειας ($r=0,263$, Sig. (2-tailed)=0,037) και αρνητική συσχέτιση με την ολική λαρυγγεκτομή ($r=-0,250$, Sig. (2-tailed) = 0,048).
6. *Επανεμφάνιση καρκίνου:* Ως προς τη συσχέτιση της ένδειξης του καρκίνου στους λεμφαδένες ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης του Spearman είναι στατιστικά

σημαντικός στις περίπτωση συσχέτισης της επανεμφάνισης καρκίνου με την Ακτινοθεραπεία ($r=,443$, Sig. (2-tailed)= ,000).

7. *Ακτινοθεραπεία:* Ως προς τη συσχέτιση της Ακτινοθεραπείας ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης του Spearman είναι στατιστικά σημαντικός και υπάρχει αρνητική γραμμική σχέση με την σταδιοποίηση καρκίνου ($r=-0,579$, Sig. (2-tailed)=0,000)
8. *Χημειοθεραπεία:* Ως προς τη συσχέτιση της Χημειοθεραπείας ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης του Spearman είναι στατιστικά σημαντικός και υπάρχει αρνητική γραμμική συσχέτιση στην περίπτωση της σταδιοποίησης καρκίνου ($r=-0,516$, Sig. (2-tailed)=0,000) και της σταδιοποίησης σε λεμφαδένες ($r=-0,421$, Sig. (2-tailed)=0,001).
9. *Θέση λήψης βιοψίας:* Ως προς τη συσχέτιση της ανατομικής θέσης της βιοψίας ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης του Spearman είναι στατιστικά σημαντικός και υπάρχει θετική γραμμική συσχέτιση στις περιπτώσεις συσχέτισης με τους λεμφαδένες ($r=0,311$, Sig. (2-tailed)=0,013) και τη σταδιοποίηση του καρκίνου ($r=0,394$, Sig. (2-tailed) = 0,001).
10. *Ολική Λαρυγγεκτομή:* Ως προς τη συσχέτιση της ολικής λαρυγγεκτομής ο συντελεστής γραμμικής συσχέτισης του Spearman είναι στατιστικά σημαντικός και εμφανίζει αρνητική γραμμική συσχέτιση στις περιπτώσεις ένδειξης του καρκίνου στους λεμφαδένες ($r=-0,379$, Sig. (2-tailed)=0,002), με τη σταδιοποίηση του καρκίνου, ($r=-0,250$, Sig. (2-tailed)=0,0048) και τη σταδιοποίηση στους λεμφαδένες ($r=-0,324$, Sig. (2-tailed)=0,001).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από την στατιστική ανάλυση της έρευνας προέκυψαν σημαντικά ευρήματα για 63 ασθενείς μέσης ηλικίας 64 ετών οι οποίοι νοσούν από καρκίνο κεφαλής – τραχήλου, με τη βιοψία να αναδεικνύει 58,7% γλωττιδικό καρκίνο, 20,6% υπεργλωττιδικό και 20,6% διαγλωττιδικό, με βαθμό κακοήθειας I για το 9,5%, βαθμό κακοήθειας II 74,6%, 1,6% Verrucous, 6,3% Hybrid και 7,9% βαθμό κακοήθειας II – III. Επίσης, δεν παρατηρήθηκε καμία ένδειξη καρκίνου (NX) στους λεμφαδένες για το 81% των ασθενών, ενώ το υπόλοιπο 19%, είχε 11,1% θετική (N1,N2, N2c), και το 7,9% αρνητική (N0), η σταδιοποίηση του καρκίνου προέκυψε για το 30,2% η κατηγορία T1, 3,2% T1a, 9,5% T1b,

23,8% T2, 1,6% T2a, 3,2% T2b, 20,6% T3 και 7,9% T4 και η σταδιοποίηση των λεμφαδένων για το 93,7% στη κατηγορία N0, 1,6% N1, 3,2% N2 και 1,6% N2c. Επιπλέον, επανεμφάνιση καρκίνου παρατηρήθηκε στο 9,5% των ασθενών. Θεραπευτικό σχήμα το οποίο ακολούθησαν περιλαμβάνει ακτινοθεραπεία κατά 34,9% και χημειοθεραπεία κατά 15,9%.

Επίσης, προέκυψε ότι η ολική λαρυγγεκτομή συσχετίζεται με τη σταδιοποίηση του καρκίνου ($r=-0,250$, $\text{Sig.}=0,0048$) και την ένδειξη στους λεμφαδένες ($r=-0,373$, $\text{Sig.}=0,003$). Ο βαθμός κακοήθειας συσχετίζεται με την ένδειξη στις λεμφαδένες ($r=0,344$, $\text{Sig.}=0,006$), τη σταδιοποίηση του καρκίνου ($r=0,263$ $\text{Sig.}=0,037$) και τη σταδιοποίηση στους λεμφαδένες ($r=0,391$, $\text{Sig.}=0,002$). Η επανεμφάνιση καρκίνου συσχετίζεται με την ακτινοθεραπεία ($r=0,443$, $\text{Sig.}=0,000$). Το αποτέλεσμα της βιοψίας συσχετίζεται με τους λεμφαδένες ($r=,311$, $\text{Sig.}=0,013$) και τη σταδιοποίηση του καρκίνου ($r=0,394$, $\text{Sig.}=0,001$).

Θα πρέπει να τονιστεί ότι η Ανοσοίστοχημεία δεν απέδωσε αποτελέσματα υψηλής στατιστικής σημαντικότητας ώστε να είμαστε σε θέση να αποδείξουμε συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών φύλο, βαθμός κακοήθειας, λεμφαδένες, σταδιοποίηση καρκίνου, σταδιοποίηση λεμφαδένων, επανεμφάνιση καρκίνου, ακτινοθεραπεία, χημειοθεραπεία, ανατομική θέση βιοψίας και ολική λαρυγγεκτομή με την ανίχνευση του ιού HPV σε ασθενείς με καρκίνο κεφαλής – τραχήλου. Έτσι, δεν ανευρέθησαν στοιχεία ικανά για να αποδείξουν την ύπαρξη του HPV ιού στο σύνολο των ασθενών. Οπότε προκύπτει το συμπέρασμα ότι δεν είναι δυνατή η απόδειξη της αιτιολογικής συσχέτισης του ιού HPV με τους καρκίνους κεφαλής – τραχήλου με τη χρήση της μεθόδου της Ανοσοίστοχημείας.

Υπάρχουν έρευνες οι οποίες έχουν καταλήξει στη μη συσχέτιση των καρκίνων κεφαλής – τραχήλου με τον HPV. Η έρευνα της Kamínagakura et al. που μελέτησε 114 ασθενείς με καρκίνο στην στοματική κοιλότητα και διαπίστωσε ότι δεν υπήρξε σημαντική συσχέτιση για καλύτερο προσδόκιμο ζωής για τους 22 ασθενείς οι οποίοι ήταν θετικοί στον HPV [14], πόρισμα με το οποίο συμφωνεί η έρευνα του Sugiyama et al., που μελέτησε 62 ασθενείς με στοματοφαρυγγικό καρκίνο με τους 23 από αυτούς τους να είναι θετικοί στον HPV [15].

Επίσης, ο Smith et al. [16] δεν βρήκαν συσχέτιση του HPV με τον στοματικό καρκίνωμα

σε δείγμα 116 ασθενών (13 με θετική ορολογία HPV) όπως και ο Normaneerpaissam et al. που κατέληξαν στην μη συσχέτιση του HPV με τον στοματοφαρυγγικό καρκίνο στο δείγμα των 504 ασθενών το οποίο μελέτησαν [17]. Σημαντικές είναι επίσης οι έρευνες των Duray et al. [18], Morshed [19], Stephen et al. [20], και Vlachtsis et al. [21] οι οποίοι ανέδειξαν την μη επίδραση του HPV στον καρκίνο του λάρυγγα σε συνολικά 319 ασθενείς (134 θετικοί στον HPV). Όπως και η έρευνα της Isayeva et al. όπου σε ένα σύνολο 107 καρκίνων του λάρυγγα δεν βρέθηκε συσχέτιση τους με τον HPV, ενώ υποσημειώθηκε έντονα πως ο HPV μπορεί να προάγει τον καρκίνο του λάρυγγα, αλλά δεν αποδεικνύει την αιτιότητά του [22].

Επιπλέον, δεδομένα από μελέτες τυχαίου ελέγχου και μετα-αναλύσεις δείχνουν ότι ο HPV είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για στοματικά και στοματοφαρυγγικά καρκινώματα. Τα οροφαρυγγικά καρκινώματα, ειδικά των αμυγδαλών, δείχνουν την ισχυρότερη συσχέτιση με τον HPV με περίπου το 60% να αποδίδεται στον HPV. Μια συστηματική ανασκόπηση έδειξε συνολικό επιπολασμό HPV 25,9% σε δείγματα που ελήφθησαν από 5.046 ασθενείς με καρκίνο στην κεφαλή ή τον τράχηλο. Ο επιπολασμός του HPV ήταν σημαντικά υψηλότερος (36%) μεταξύ των ασθενών με οροφαρυγγικό καρκίνο σε σχέση με το στοματικό (23,5%) ή το λαρυγγικό (24%) καρκίνωμα. Ο HPV 16 ήταν ο πιο διαδεδομένος γονότυπος, αντιπροσωπεύοντας το 87% των στοματοφαρυγγικών, το 68% των στοματικών και 69% των καρκινωμάτων του λάρυγγα [23].

Οι Grace και Munger το 2017 μελέτησαν τη σχέση του ιού HPV με καρκίνους κεφαλής - τραχήλου σε πληθυσμό των Η.Π.Α. μέσω αξιοποίησης ιατρικών αρχείων για το διάστημα 2010 – 2013, όπου η αναλογία HPV και καρκίνων κεφαλής - τραχήλου κυμαίνεται μεταξύ 20% και 75%. Από τα αποτελέσματά τους προέκυψε ότι επί συνόλου 150 ασθενών με διάγνωση καρκίνων κεφαλής - τραχήλου, το 46% είχε HPV θετικούς όγκους, ενώ το 43% είχε HPV αρνητικούς στον HPV όγκους. Η ηλικία στη διάγνωση κυμαινόταν από 44 έως 94 έτη, ενώ η μέση διάρκεια παρακολούθησης ήταν τα 16,7 έτη. Η θέση του όγκου διέφερε σημαντικά μεταξύ περιπτώσεων που μελετήθηκαν με επικράτηση θετικού HPV στο στοματοφάρυγγα (43 από 57 ασθενείς, 75%). Οι HPV θετικοί ασθενείς ήταν πιο πιθανό να υποβληθούν σε θεραπεία κυρίως με συνδυασμένη θεραπεία χημειοκαταστολέα σε σχέση με ακτινοθεραπεία ή χειρουργική επέμβαση [7].

Επιπλέον μελέτες έχουν διαπιστώσει ότι η αναλογία HPV και καρκίνων στην κεφαλή και τον τράχηλο στο γενικό πληθυσμό κυμαίνεται μεταξύ 20% και 75%. Αν και η συχνότητα εμφάνιση HPV και καρκίνων στην κεφαλή και τον τράχηλο στον πληθυσμό των Η.Π.Α. που μελετήθηκε είναι συγκρίσιμη, οι συγκεκριμένοι ασθενείς έχουν μοναδικούς παράγοντες κινδύνου και δημογραφικά χαρακτηριστικά που μπορεί να υποδηλώνουν διαφορετικούς προγνωστικούς παράγοντες [24, 25].

Νεότερη έρευνα του Reid et al. το 2017 καταγράφει ότι τα καρκίνωμα πλακωδών κυττάρων κεφαλής και λαιμού (HNSCC) έχουν ξεχωριστή αιτιολογία, η οποία εξαρτάται από την παρουσία του ογκογόνου HPV. Επίσης, τα HNSCC περιέχουν καρκινικά βλαστοκύτταρα (CSCs) που έχουν μεγαλύτερη ραδιοαντιστάθμιση και ικανότητα να αλλάζουν τη δυναμική αντιγραφής σε απόκριση της ακτινοβολίας σε σύγκριση με μη κλωνογόνα κύτταρα. Δεδομένου ότι υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα για τα CSC στο HNSCC ως συνάρτηση της κατάστασης του HPV, αναφέρει πως η καλύτερη κατανόηση της ραδιοβιολογίας τους μπορεί να επιτρέψει τη βελτίωση της θεραπευτικής έκβασης [26].

Αλλά και στην έρευνα των Faraji et al. το 2017 ευρέθη ότι το καρκίνωμα οροφαρυγγικών πλακωδών κυττάρων της κεφαλής και του τραχήλου συσχετίζεται θετικά με τον HPV [27], όπως και οι Mehra et al. το 2012 αναφέρουν ότι οι σχετιζόμενες με ιούς κακοήθειες εμφανίζονται κυρίως στο στοματοφάρυγγα και είναι πιο ευαίσθητες στη θεραπεία σε σύγκριση με άλλα καρκινώματα κεφαλής και λαιμού χωρίς πλακώδη κύτταρα HPV [28].

Τέλος, σε μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε και θεωρείται πληθυσμιακή μελέτη εκτίμησης των τάσεων επίπτωσης και επιβίωσης σε 8.270 ασθενείς με HNSCC που συσχετίζονταν με HPV στη Νορβηγία για τρεις δεκαετίες, βρέθηκε πως ο HPV συσχετίζεται με τον οροφαρυγγικό καρκίνο και μάλιστα εντοπίστηκε βελτίωση της πληθυσμιακής επιβίωσης μεταξύ των ασθενών με καρκίνους των οροφαρυγγικών πλακωδών κυττάρων που σχετίζονταν με τη μόλυνση με τον ιό HPV [29].

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την έρευνα προέκυψε ότι περίπου 6 στους δέκα ασθενείς νοσούν από γλωττιδικό καρκίνο κεφαλής – τραχήλου, κατά πλειοψηφία 74,6% με βαθμό κακοήθειας II, χωρίς

παρατήρηση ένδειξης καρκίνου στους λεμφαδένες στο 81% των ασθενών, με σταδιοποίηση του καρκίνου 30,2% στην κατηγορία T1, 23,8% T2 και 20,6% T3, με σταδιοποίηση των λεμφαδένων για το 93,7% στη κατηγορία N0, επανεμφάνιση καρκίνου για το 9,5% των ασθενών, 34,9% σε ακτινοθεραπευτικό σχήμα και 15,9% σε χημειοθεραπευτικό. Επίσης, προέκυψε ότι η ολική λαρυγγεκτομή συσχετίζεται με τη σταδιοποίηση του καρκίνου ($r=0,250$, $Sig.=0,0048$) και την ένδειξη καρκίνου στους λεμφαδένες ($r=0,373$, $Sig.=0,003$). Ο βαθμός κακοήθειας συσχετίζεται με την ένδειξη στους λεμφαδένες ($r=0,344$, $Sig.=0,006$), τη σταδιοποίηση του καρκίνου ($r=0,263$ $Sig.=0,037$) και τη σταδιοποίηση στους λεμφαδένες ($r=0,391$, $Sig.=0,002$). Η επανεμφάνιση καρκίνου συσχετίζεται με την ακτινοθεραπεία ($r=0,443$, $Sig.=0,000$). Το αποτέλεσμα της βιοψίας συσχετίζεται με τους λεμφαδένες ($r=0,311$, $Sig.=0,013$) και τη σταδιοποίηση του καρκίνου ($r=0,394$, $Sig.=0,001$). Στην έρευνα η ανοσοϊστοχημική μέθοδος ανίχνευσης απέδωσε μη αιτιολογική συσχέτιση του HPV ιού με τον καρκίνο του λάρυγγα και της κεφαλής – τραχήλου στο σύνολο των 63 περιστατικών που εξετάστηκαν.

Δεδομένων των αποτελεσμάτων κρίνεται σημαντική η σύσταση της περαιτέρω διερεύνησης της αιτιολογικής συσχέτισης του HPV με τους καρκίνους κεφαλής – τραχήλου σε (α) μεγαλύτερο δείγμα ασθενών από περισσότερα Νοσοκομεία ή και Νοσοκομειακές μονάδες του εξωτερικού, (β) σε σχέση μόνο με τον HPV-16, (γ) σε σχέση με τη γεωγραφική κατανομή, (δ) σε σχέση με κοινωνικά και δημογραφικά κριτήρια και (ε) την ανάλυση δειγμάτων ασθενών για ανεύρεση HPV με την Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR).

Τέλος, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η έρευνα συνάντησε πολλούς περιορισμούς κατά τη διεξαγωγή της. Η επιμέλεια των φακέλων των ασθενών ήταν ιδιαίτερα δύσκολη και με τα στοιχεία αυτών δημιουργήθηκε η βάση δεδομένων η οποία κωδικοποίησε με τη σειρά της όλα τα δεδομένα ώστε να είναι δυνατή η ιδιαίτερα εξειδικευμένη στατιστική τους επεξεργασία. Η όλη αυτή διαδικασία ήταν χρονοβόρα με αποτέλεσμα να χρειαστεί περισσότερος από ένα έτος καθημερινής εργασίας. Επίσης, τα δείγματα από κάθε ασθενή υποβλήθηκαν σε ανάλυση ώστε να αναδειχθεί ο ιός HPV με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημικής ανίχνευσης, ενώ στην πορεία των αποτελεσμάτων κρίθηκε σημαντική η χρήση και

άλλης μεθόδου της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR) η οποία και δεν πραγματοποιήθηκε λόγω του εξαιρετικά υψηλού οικονομικού της κόστους.

Ως εκ τούτου φαίνεται ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ καρκίνου κεφαλής-τραχήλου και HPV, γεγονός που θα μπορούσε να δικαιολογηθεί από την ανατομική θέση του καρκίνου, η οποία αφορά αποκλειστικά τον λάρυγγα και όχι το στοματοφάρυγγα και οροφάρυγγα, όπου η παρουσία του είναι σε αρκετά μεγάλα ποσοστά σύμφωνα με την πρόσφατη βιβλιογραφία.

Παρόλα ταύτα, η επανεξέταση των 63 περιστατικών με χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης κρίνεται αναγκαία ώστε να διερευνηθεί η πραγματική απουσία του HPV ιού από τον καρκίνο κεφαλής-τραχήλου.

Article of Clinical study

Etiological Association of Human Papillomavirus (HPV) with Head and Neck Cancers

Dimitra Mouldi¹, Georgia Liapi¹, Dimitrios Pantazis¹, Maria Venetikou², Anastasia-Maria Kefala², Panagiota Resta^{2,3}, Apostolos Beloukas^{2,3}, Fragkiski Anthouli-Anagnostopoulou²

¹Pathological Laboratory, Otolaryngological Department Thrasio, General Hospital of Elefsina, Elefsina, Greece

²Department of Biomedical Sciences, School of Health and Caring Sciences (SHCS), University of West Attica (UniWA), Athens, Greece

³National Reference Centre of AIDS South Greece, School of Public Health (SPH), University of West Attica, Athens, Greece.

Key Words: Head-Neck cancer, HPV, immunohistochemistry, cancer staging, lymph node staging, radiotherapy, chemotherapy, total laryngectomy

SUMMARY. *Aim.* To highlight the association of HPV with head and neck cancer and statistical analysis of variables regarding gender, degree of

malignancy, the presence or absence of cancer in the lymph nodes, cancer staging, lymph node staging, cancer recurrence, radiotherapy, chemotherapy, anatomical location of biopsy tissue and total laryngectomy.

Methodology: Immunohistochemical detection of HPV in tissue preparations of laryngeal carcinomas and then evaluation of its association with laryngeal cancer in 63 patients of the Pathological Anatomy Laboratory of Thrasio General Hospital, Attica, Greece.

Results: Histological preparations of 63 patients with head-neck cancer in various anatomical areas of the larynx (58.7% glottic, 20.6% hyperglottide, 20.6% diaphragm) were examined. 74.6% of patients with grade II cancer, with no observation of evidence of cancer in the lymph nodes were recorded in 81% of patients, with cancer staging percentage 30.2% in category T1, 23.8% T2 and 20.6% T3, with lymph node staging for 93.7% in category N0, and cancer recurrence percentage 9.5%, 34.9% in radiotherapy and 15.9% in chemotherapy therapeutic schema. It was also emerged that total laryngectomy is associated with cancer staging ($r=0.250$, $Sig.=0.0048$) and cancer indication in lymph nodes ($r=-0.373$, $Sig.=0.003$). The degree of malignancy is associated with the indication of cancer in the lymph nodes ($r=0.344$, $Sig.=0.006$), the staging of the cancer ($r=0.263$, $Sig.=0.037$) and the staging in the lymph nodes ($r=0.391$, $Sig.=0.002$). Cancer recurrence is associated with radiotherapy ($r=0.443$, $Sig.=0.000$). The result of the biopsy is associated with the lymph nodes presentation ($r=0.311$, $Sig.=0.013$) and the staging of the cancer ($r=0.394$, $Sig.=0.001$). In the research, the immunohistochemical detection method resulted a non etiological association of HPV virus with laryngeal and head-neck cancer in all examined 63 cases.

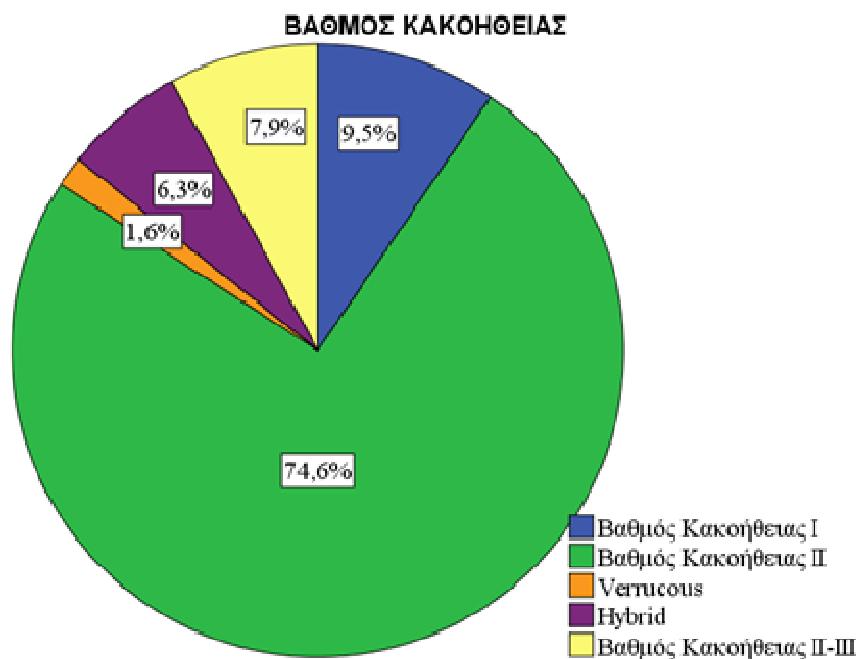
Conclusions: The research revealed a non-statistically significant association of HPV with cancer of the larynx and head and neck. However, a new review of the 63 cases using the polymerase chain reaction is considered necessary to investigate the actual absence of HPV virus from head-neck cancer.

REFERENCES

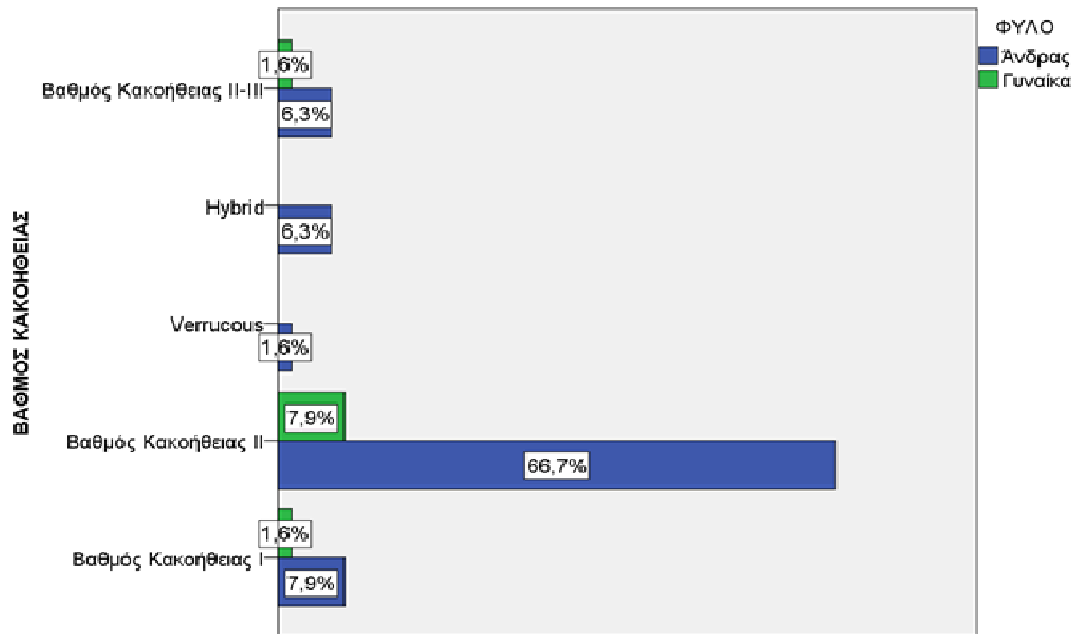
1. Αγοραστός Θ, Μπόντης Ι. *Καρκινογένεση στο γυναικείο γεννητικό σύστημα*. Θεσσαλονίκη: University Studio Press, 1997.
2. Fehrmann F, Klumpp D, Laimins L. Human papillomavirus type 31 E5 protein supports cell cycle progression and activates late viral

- functions upon epithelial differentiation. *J. Virol.* 2003, 77(5): 2819-2831.
3. Zhu, B, et al. The prevalence, trends, and geographical distribution of human papillomavirus infection in China: the pooled analysis of 1.7 million women. *Cancer medicine*, 2019; 8(11): 5373-5385.
 4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Human papilloma-virus-associated cancers - United States, 2004–2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012; 61(4): 258–261.
 5. Bruni L, Albero G, Serrano B, Mena M, Gómez D, Muñoz J, et al.. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Europe. Summary Report 17 June 2019. pp. 1-1999.
<https://hpvcentre.net/statistics/reports/XEX.pdf>
 6. Pickard RK, et al. The prevalence and incidence of oral human papillomavirus infection among young men and women, aged 18-30 years. *Sex Transm Dis.* 2012; 39(7): 559-66.
 7. Grace M, Munger K. Proteomic analysis of the gamma human papillomavirus type 197 E6 and E7 associated cellular proteins. *Virology*, 2017; 500(1): 71-81.
 8. Boscolo-Rizzo P, et al. The evolution of the epidemiological landscape of head and neck cancer in Italy: Is there evidence for an increase in the incidence of potentially HPV-related carcinomas?. *PloS one*, 2018, 13(2): e0192621.
 9. Wilson AR, et al. Surveillance of human papilloma virus using reference laboratory data for the purpose of evaluating vaccine impact. *Online J Public Health Inform.* 2014; 6(3): e194.
 10. Stern PL, van der Burg SH, Hampson IN, Broker TR, Fiander A, Lacey CJ, Kitchener HC, Einstein MH. Therapy of human papillomavirus-related disease. *Vaccine.* 2012; 30 Suppl 5(0 5): F71-82.
 11. Cheraghlou S, Kuo P, Judson BL. Radiotherapy for human papillomavirus-positive oropharyngeal cancers in the National Cancer Data Base. *Cancer.* 2016; 122(21):3410.
 12. Κυριαζόπουλος Π, Σαμαντά Ε. *Μεθοδολογία έρευνας εκπόνησης διπλωματικών εργασιών*, Αθήνα: Σύγχρονη Εκδοτική, 2011.
 13. Γναρδέλλης Χ. *Ανάλυση δεδομένων με το PASW Statistics 17.0*. Αθήνα: Παπαζήσης, 2009.
 14. Kaminagakura E, Villa LL, Andreoli MA, Sobrinho JS, Vartanian JG, Soares FA, Nishimoto IN, Rocha R, Kowalski LP. High-risk human papillomavirus in oral squamous cell carcinoma of young patients. *Int J Cancer.* 2012; 130(8):1726-32.
 15. Sugiyama M, et al. Human papillomavirus-16 in oral squamous cell carcinoma: clinical correlates and 5-year survival. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2007; 45(2):116-22.
 16. Smith E, Ritchie J, Summersgill K, Hoffman H, Wang D, Haugen T. Human papillomavirus in oral exfoliated cells and risk of head and neck cancer. *J. Natl. CancerInst.*, 2004; 96 (4): 449-455.
 17. Nopmaneepaisarn T, Tangjaturonrasme N, Rawangban W, Vinayanuwattikun C, Keelawat S, Bychkov A. Low prevalence of p16-positive HPV-related head-neck cancers in Thailand: tertiary referral center experience. *BMC Cancer.* 2019; 19(1):1050.
 18. Duray A, et al. High incidence of high-risk HPV in benign and malignant lesions of the larynx. *Int J Oncol.* 2011; 39(1):51–59.29
 19. Morshed K. Association between human papillomavirus infection and laryngeal squamous cell carcinoma. *J Med Virol.* 2010; 82(6): 1017–1023
 20. Stephen JK, et al. Human papillomavirus outcomes in an access-to-care laryngeal cancer cohort. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012; 146(5):730-8.
 21. Vlachtsis K, Nikolaou A, Markou K, Fountzilas G, Daniilidis I. Clinical and molecular prognostic factors in operable laryngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2005; 262(11):890–898.
 22. Isayeva T, Li Y, Maswahu D, Brandwein-Gensler M. Human papillomavirus in non-oropharyngeal head and neck cancers: a systematic literature review. *Head Neck Pathol.* 2012; 6 Suppl 1: S104-20.
 23. Kirnbauer R, Booy F, Cheng N, Lowy D, Schiller J. Papillomavirus L1 major capsid protein self-assembles into virus-like particles that are highly immunogenic. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1992; 89(24): 12180-12184.
 24. Low G, Thylur D, Yamamoto V, Sinha U. The effect of human papillomavirus on DNA repair in head and neck squamous cell

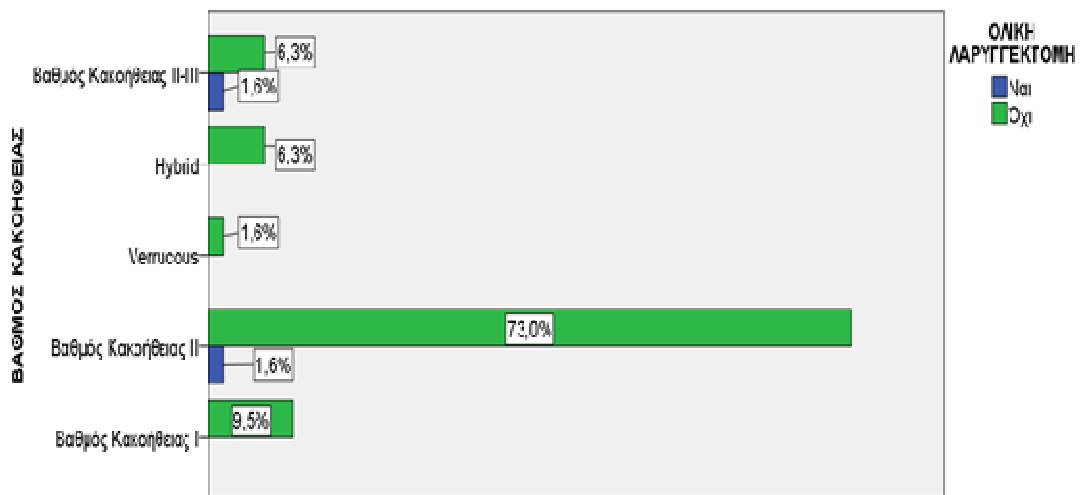
- carcinoma. *Oral Oncology*, 2016; 61(10): 27-30.
25. Lianou A, Gkrepi K, Kastanioudakis I. Association of HPV infection in patients with papillary, precancerous and cancer laryngeal lesions: a pilot study. *Hellenic Otorhinolaryngology*, 2018; 39(1-2): 20-23.
26. Reid V, Woo Y, Kelly KJ, Carlson D, Yu Z, Fong Y. Oncolytic Herpes Simplex Virus Prevents Premalignant Lesions from Progressing to Cancer. *Mol Ther Oncolytics*. 2019; 16(1):1-6.
27. Faraji F, Zaidi M, Fakhry C, Gaykalova DA. Molecular mechanisms of human papillomavirus - related carcinogenesis in head and neck cancer. *Microbes Infect*. 2017; 19(9-10):464-475.
28. Mehra R, Ang KK, Burtneess B. Management of human papillomavirus-positive and human papillomavirus-negative head and neck cancer. *Semin Radiat Oncol*. 2012; 22(3): 194-197.
29. Nygard M, Aagnes B, Bray F, Moller B, Mork J. Population-based evidence of increased survival in human papillomavirus-related survival in human papillomavirus-related head and neck cancer. *Eur J Cancer*. 2012; 48(9): 1341-1346.



Διάγραμμα 1. Βαθμός κακοήθειας (Grade)

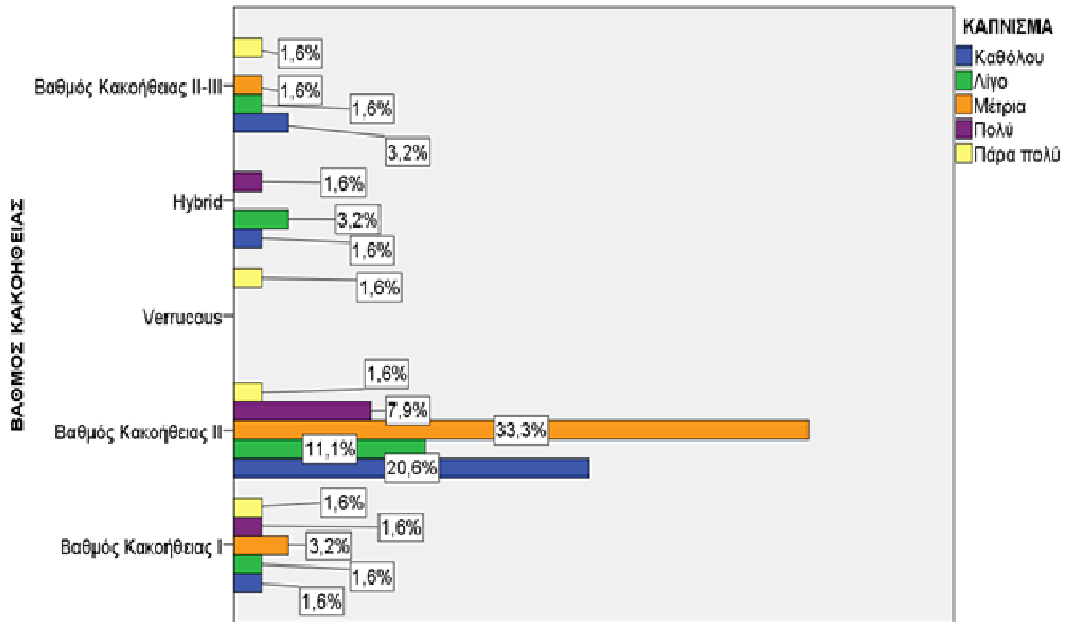


Διάγραμμα 2α. Βαθμός κακοήθειας σε σχέση με το φύλο

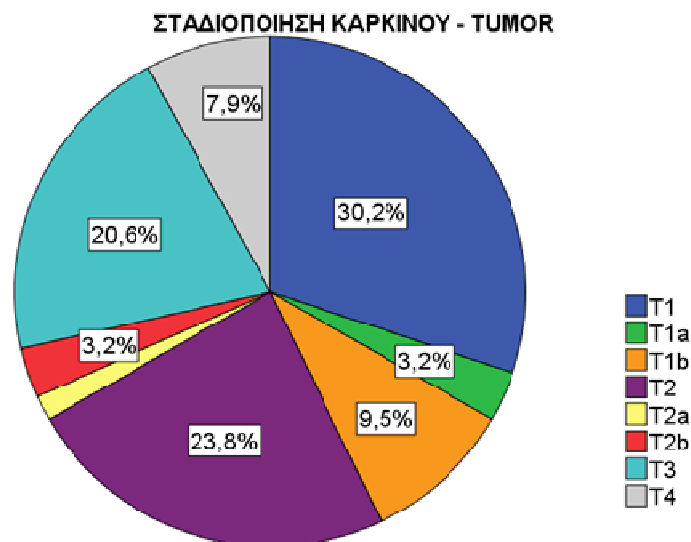


Διάγραμμα 2β. Βαθμός κακοήθειας σε σχέση με ΟΛ*

*ΟΛ: Ολική λαρυγγεκτομή



Διάγραμμα 2γ. Βαθμός κακοήθειας σε σχέση με το κάπνισμα



Διάγραμμα 3. Σταδιοποίηση καρκίνου