

## Ο ρόλος των ιών των θηλωμάτων του ανθρώπου (HPV) σε νοσήματα του στόματος\*

Αλεξάνδρα Σκλαβούνου-Ανδρικοπούλου\*\*, Δημήτρης Καραβασίλης\*\*\*

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αλματώδης πρόοδος στο χώρο της μοριακής βιολογίας τα τελευταία χρόνια, με την εφαρμογή τεχνικών υψηλής ευαισθησίας (DNA υβριδισμός, αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης [PCR]) έδωσε επαναστατική ώθηση όχι μόνο στη διάγνωση των ιογενών λοιμώξεων, αλλά και στη μελέτη της βιολογίας και του παθογενετικού ρόλου των ιών.

Οι ιοί των θηλωμάτων του ανθρώπου (HPV) αποτελούν μία ξεχωριστή ομάδα ογκογόνων ιών που έχουν ενοχοποιηθεί για την πρόκληση όχι μόνον καλοήθων αλλά και κακοήθων βλαβών σε διάφορα όργανα. Όσον αφορά στη στοματική κοιλότητα, ο κατάλογος των νοσημάτων που έχουν συσχετιστεί με διάφορα στελέχη HPV ιών συνεχώς διεκρύνεται και περιλαμβάνει την εστιακή επιθηλιακή υπερπλασία, τα οξυτενή κονδυλώματα, την κοινή μυρμηκία και το θήλωμα. Η σύγχρονη έρευνα εστιάζει το ενδιαφέρον της στον πιθανό αιτιολογικό ρόλο των HPV ιών στην παθογένεια προκαρκινικών βλαβών και του καρκίνου του στόματος και η σημασία τους αν και καλά τεκμηριωμένη για τον καρκίνο των γεννητικών οργάνων, παραμένει υποθετική για το στοματικό βλεννογόνο.

Στην εργασία αυτή αναφέρονται οι σύγχρονες μοριακές μέθοδοι ανίχνευσης των HPV ιών και αναλύεται το φάσμα των νοσημάτων του στόματος που σχετίζεται με αυτούς.

### ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ

Ιοί των θηλωμάτων του ανθρώπου (HPV) - Νοσήματα στόματος - Ιογενείς βλάβες - Παθογένεια - Μοριακή βιολογία

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι ιοί των θηλωμάτων του ανθρώπου [Human papilloma virus (HPV)] είναι μία ομάδα DNA ιών με διπλή αλυσίδα DNA που προσβάλλουν τα κύτταρα του δέρματος και των βλεννογόνων. Ανευρίσκονται σε διάφορα σημεία του σώματος, όπως στην πρωκτογεννητική περιοχή, την ουρήθρα, το δέρμα, το λάρυγγα, το βλεννογόνο της τραχείας και των βρόγχων, τη ρινική κοιλότητα, τους παραρρινικούς κόλπους, τον οισοφάγο, τον επιπεφυκότα και τη στοματική κοιλότητα. (Kellokoski και συν. 1995).

Ο αριθμός των νοσημάτων του στόματος που έχουν αιτιοπαθογενετικά συσχετιστεί με διάφορα στελέχη των HPV ιών συνεχώς αυξάνει και περιλαμβάνει την εστιακή επιθηλιακή υπερπλασία, τα οξυτενή κονδυλώματα, την κοινή μυρμηκία και το θήλωμα, ενώ ο πιθανός αιτιολογικός ρόλος αυτής της κατηγορίας ιών στην παθογένεια προκαρκινικών βλαβών και του καρκίνου του στόματος αποτελεί θέμα συνεχούς έρευνας. Από την άλλη πλευρά, με τη βοήθεια τεχνικών μοριακής βιολογίας έχουν ανιχνευθεί HPV ιοί και στον ομαλό λειχήνα, την τριχωτή λευκοπλακία, την οδοντογενή κερατοκύστη, το σάρκωμα Kaposi και το αδαμαντινοβλάστωμα, χωρίς όμως να έχει αποδειχθεί αιτιολογική συσχέτιση. (Chang και συν. 1991, Van Heerden και συν. 1993).

Η ομάδα των HPV ιών διεκρύνεται καθώς συνεχώς ανακαλύπτονται νέοι τύποι. Μέχρι σήμερα έχουν ανευρεθεί τουλάχιστον 70 τύποι και αρκετοί υπότυποι και από αυτούς έχουν ανιχνευθεί πάνω από δώδεκα σε βλάβες της στοματικής κοιλότητας (Mao 1995).

Στην εργασία αυτή αφού αναφερθούν συνοπτικά οι σύγχρονες μοριακές μέθοδοι ανίχνευσης των ιών HPV, θα αναλυθεί το φάσμα των νοσημάτων του στόματος που σχετίζονται με συγκεκριμένα στελέχη.

### Οι ιοί των θηλωμάτων του ανθρώπου

Οι HPV ιοί είχαν παραδοσιακά θεωρηθεί μέλη της οικογένειας των ιών Papovae, ωστόσο σύγχρονες έρευνες με μοριακές τεχνικές απεκάλυψαν μεγάλες διαφορές με τους ιούς αυτούς, τόσο στο μέγεθος

\* Ανακοινώθηκε στην 6η Επιστημονική Εκδήλωση των Φοιτητών Οδοντιατρικής, Αθήνα 2-3/10/1996.

\*\* Επίκουρη Καθηγήτρια Στοματολογίας

\*\*\* Οδοντίατρος

Ελήφθη: 22 Μαρτίου 1999

Έγινε δεκτή για δημοσίευση: 24 Ιουνίου 1999

όσο και στη δομή, την οργάνωση και τη λειτουργία του γενώματος τους, με αποτέλεσμα οι Papilloma ιοί να κατατάσσονται πλέον σε ξεχωριστή οικογένεια (Chang και συν. 1991, Du Vivier και Mc Kee 1997).

Ο HPV ιός εισέρχεται στη στοματική κοιλότητα μέσω μικροτραυματισμών και πιθανότατα ανοσολογικοί παράγοντες εμπλέκονται στη μεταφορά και εγκατάσταση του. Σε πρόσφατη μελέτη βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της προσβολής από HPV και της ανοσολογικής κατάστασης των ασθενών. Ειδικότερα η επίπτωση της προσβολής από HPV ήταν 5 φορές μεγαλύτερη σε άτομα με  $CD4/CD8 < 0,4$  σε σχέση με άτομα με  $CD4/CD8 > 1,0$ . (Λούμου και συν. 1993). Για αυτό το λόγο η συχνότητα ανίχνευσης του ιού και η συχνότητα εμφάνισης βλαβών αυξάνεται σε ασθενείς με νόσο Hodgkin, HIV λοίμωξη και σε ασθενείς που λαμβάνουν ανοσοκατασταλτικά φάρμακα (Du Vivier και Mc Kee 1997). Όσον αφορά στο AIDS, οι βλάβες του στόματος που προκαλούνται από τους HPV ιούς ανήκουν στις λιγότερα συχνά εμφανιζόμενες βλάβες, ή στην ομάδα βλαβών μέσης υποψίας για HIV λοίμωξη (Neville και συν. 1995).

Σε ασθενείς με φυσιολογικό ανοσοποιητικό σύστημα, προηγηθείσα προσβολή από HPV δεν εξασφαλίζει μόνιμη ανοσία προς το συγκεκριμένο τύπο HPV, ούτε και η προσβολή από ένα συγκεκριμένο τύπο HPV εξασφαλίζει ανοσία προς τους άλλους τύπους, ο δε χρόνος επώασης δεν είναι ακριβώς γνωστός αλλά κατά μέσο όρο το διάστημα των τεσσάρων μηνών (1-20 μήνες) θεωρείται το πιο πιθανό (Du Vivier και Mc Kee 1997).

Στο στόμα η ιική αναπαραγωγή επάγεται κυρίως από μηχανικούς και λοιμογόνους παράγοντες που είναι συχνόι στη στοματική κοιλότητα. (Kellokoski και συν. 1992). Ο ιός εισέρχεται στα κύτταρα της βασικής στιβάδας του επιθηλίου αλλά ενεργοποιείται μόνο στα κύτταρα της ακανθωτής και της κοκκώδους στιβάδας (Chang και συν. 1991).

Η πιθανή δράση των ιών HPV στο μεταβολισμό των κυττάρων του στοματικού επιθηλίου αφορούν σε βλάβη στο μηχανισμό του ενζύμου αναγωγή των ριβονουκλεοτιδίων του κυτταρικού DNA ή και σε παρέμβαση του ιού στη βιοχημεία των κυτοκερατινών. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα ανώμαλο μεταβολισμό και πολλαπλασιασμό των μολυσμένων κυττάρων που πιθανώς συνοδεύεται από την έκφραση συγκεκριμένων γονιδιακών προϊόντων. (Λούμου και συν. 1993).

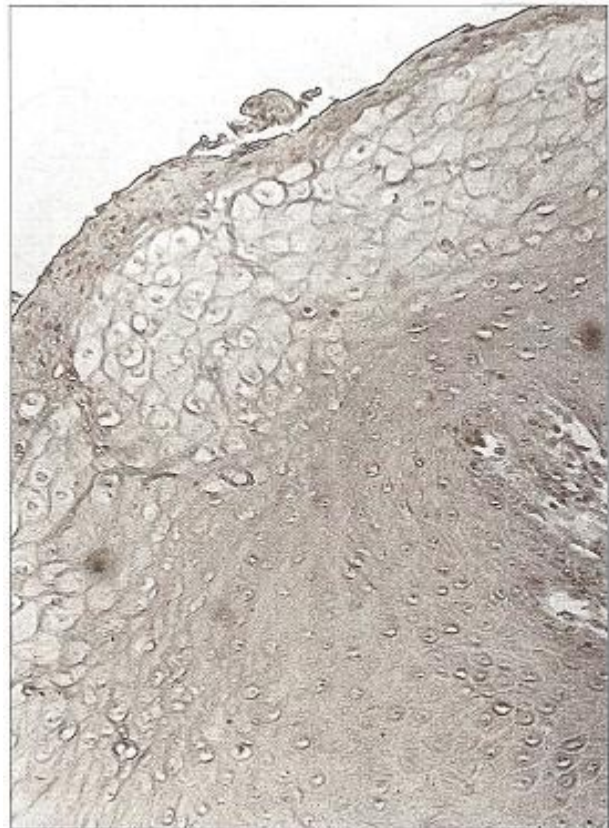
Χαρακτηριστικό της λοίμωξης HPV είναι η υπερπλασία του επιθηλίου με ορθοκεράτωση, παρακεράτωση, υπερακάνθωση, πάχυνση και επιμήκυνση των επιθηλιακών καταδύσεων και η

ύπαρξη κοιλοκυττάρων.

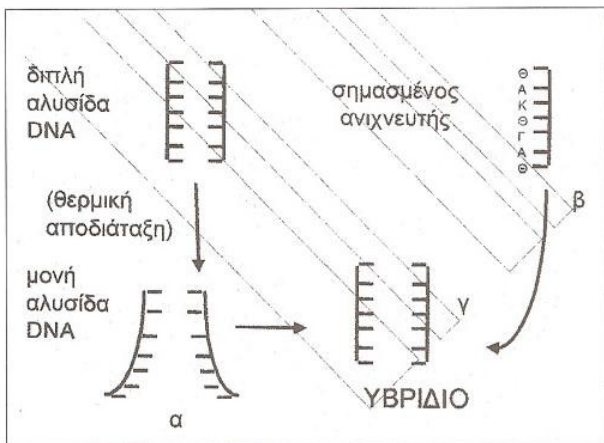
Τα κοιλοκύτταρα είναι κύτταρα των ενδιάμεσων στιβάδων του επιθηλίου με υπερχρωματικό διογκωμένο πυρήνα ο οποίος περιβάλλεται από μία ευδιάκριτη κενή κυτταροπλάσματος ζώνη που ονομάζεται άλως. Θεωρούνται σαν το πιο αξιόπιστο μορφολογικό κριτήριο ενδεικτικό μίας HPV λοίμωξης και πρέπει να διαχωρίζονται από άλλα κύτταρα με κενότητα που συχνά βρίσκονται στο στοματικό βλεννογόνο (Εικ. 1).

Μία άλλη κυτταρική αλλαγή που συχνά σχετίζεται με την HPV λοίμωξη είναι η παρουσία παρακερατινωσικών (δυσκερατωσικών) κυττάρων είτε μεμονωμένα είτε σε ομάδες (Chang και συν. 1991).

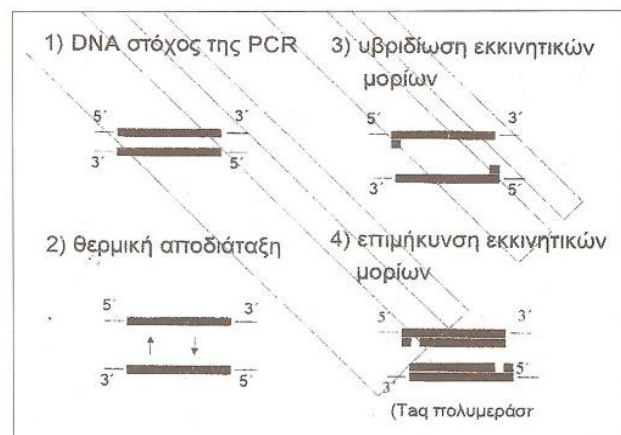
Γενικά ο HPV ιός προκαλεί τρεις μορφολογικά διαφορετικές βλάβες: Το κλασσικό οξυτενές κονδύλωμα (εξωφυτικό), το επίπεδο κονδύλωμα και το ανεστραμμένο κονδύλωμα (ενδοφυτικό) (Syrjanen 1986). Στη στοματική κοιλότητα παρατηρούνται οι θηλωματώδεις ή εξωφυτικές βλάβες που περιλαμβάνουν το θήλωμα, τα οξυτενή



Εικ. 1 Ιστολογική εικόνα ιογενούς βλάβης του βλεννογόνου του στόματος με έκδηλη την παρουσία κοιλοκυττάρων στις ανώτερες στιβάδες του επιθηλίου.



Εικ. 2 Βασική αρχή υβριδοποίησης: Μετουσίωση της διπλής έλικας DNA (α), επανασυσπείρωση με σεσημασμένο ανιχνευτή (β) και σχηματισμός υβριδίου (γ).



Εικ. 3 Αρχή τεχνικής PCR: Μετουσίωση της διπλής έλικας DNA, επανασυσπείρωση με τη βοήθεια εκκινητικών μορίων και επιμήκυνση με τη βοήθεια της Taq DNA πολυμεράσης.

κονδυλώματα και τις μυρμηκίες και οι επίπεδες βλάβες που περιλαμβάνουν την εστιακή επιθηλιακή υπερπλασία, ενώ οι ανεστραμμένες HPV βλάβες δεν απαντώνται (Chang και συν. 1991).

Η ύπαρξη ή μη HPV DNA σε ιστούς δεν μπορεί να εκτιμηθεί μόνο με την ιστολογική εξέταση. Η μελέτη φαινομενικά υγιούς βλεννογόνου νεαρών ενηλίκων με τη βοήθεια του DNA υβριδισμού έχει επιβεβαιώσει την ύπαρξη λανθάνοντων HPV λοιμώξεων δηλαδή λοιμώξεων όπου δεν παράγεται επιπλέον ιικό DNA. Χρησιμοποιώντας Southern blot υβριδισμό έχει αποδειχθεί ότι το 40% των βιοψιών φυσιολογικού βλεννογόνου είναι θετικό για HPV. Επίσης το 2,6% των κυτταρικών επιχρισμάτων φυσιολογικού βλεννογόνου είναι θετικό και οι τύποι των ιών που έχουν απομονωθεί μέχρι σήμερα είναι οι HPV-6,11,16,18. Η παρουσία HPV DNA σε φυσιολογικούς ιστούς δείχνει ότι αυτοί μπορεί να λειτουργούν σαν δεξαμενή για νέες HPV λοιμώξεις ή σαν πηγή για υποτροπιάζουσες HPV βλάβες (Chang και συν. 1991, Kellokoski και συν. 1992).

### Μέθοδοι προσδιορισμού των HPV ιών

Εκτός από τις παραδοσιακές μεθόδους προσδιορισμού λοιμογόνων παραγόντων όπως ιστοπαθολογία, ηλεκτρονική μικροσκοπία, ανοσοϊστοχημεία, ανοσοηλεκτρονική μικροσκοπία, η αλματώδης πρόοδος στο χώρο της μοριακής βιολογίας οδήγησε στην ανάπτυξη τεχνικών ανασυνδισμένου DNA οι οποίες χαρακτηρίζονται από υψηλή ευαισθησία και παρέχουν τη δυνατότητα προσδιορισμού συγκεκριμένης αλληλουχίας DNA ή RNA με τη μέθοδο της μοριακής υβριδοποίησης. Η βασική αρχή της μεθόδου αξιοποιεί τη δυνατότητα

μετουσίωσης (αποδιάταξης) της διπλής έλικας νουκλεοτιδίων DNA και την επανασυσπείρωσή της με σεσημασμένο ανιχνευτή (probe) ώστε να δημιουργηθεί σταθερό υβρίδιο (Εικ. 2). Οι τεχνικές υβριδοποίησης που εφαρμόζονται σήμερα είναι πολυάριθμες (Southern blot, Dot blot, Slot blot κ.α.) (Πίνακας 1) και ιδιαίτερα η in situ υβριδοποίηση (ISH) επιτρέπει τον προσδιορισμό κυτταρικού DNA ή RNA σε τομές ιστών, εναιωρήματα κυττάρων και παρασκευές χρωμοσωμάτων με αποτέλεσμα να κερδίζει συνεχώς έδαφος στη διαγνωστική ιστοπαθολογία (Reichart 1993).

Μία άλλη μέθοδος είναι η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) σύμφωνα με την οποία μπορούν να παραχθούν εκατομμύρια αντίγραφα μίας αλληλουχίας νουκλεοτιδίων με την εφαρμογή επαναλαμβανόμενων κύκλων σύνθεσης DNA ή και RNA. Η χημική αντίδραση περιλαμβάνει μετουσίωση της διπλής έλικας DNA, επαναδιάταξή της με εκκινητικά μόρια (primers) τα οποία δρουν σαν εκμαγεία για το σχηματισμό νέας αλληλουχίας από συμπληρωματικές βάσεις και επιμήκυνση των εκκινητικών μορίων, με τη βοήθεια του ενζύμου Taq DNA πολυμεράση σε 30-35 θερμικούς κύκλους (Εικ. 3).

Η PCR είναι καινούρια τεχνική που προκάλεσε επανάσταση στην έρευνα αλλά και στη διάγνωση ιογενών λοιμώξεων διότι δίνει τη δυνατότητα εκθετικού πολλαπλασιασμού ( $2^{30}$ - $2^{35}$ ) ακόμα και ελαχίστων ποσοτήτων DNA. Η μέθοδος έχει μία εκπληκτική αποτελεσματικότητα και ευαισθησία και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μονιμοποιημένα παθολογικά δείγματα, κυτταρικά επιχρίσματα, μεμονωμένα κύτταρα ή ακόμα και μία τρίχα (Ficarra

**Πίνακας I** Τεχνικές υβριδισμού

- 1) In situ υβριδισμός
- 2) In situ υβριδισμός με φίλτρα
- 3) Southern blot
- 4) Dot blot
- 5) Slot blot
- 6) Reverse blot
- 7) Sandwich

**Πίνακας II** Εφαρμογές των μοριακών τεχνικών

- 1) Ανάλυση των παραλλαγών αλληλομόρφων γονιδίων
- 2) Διάγνωση γενετικών διαταραχών
- 3) Ανίχνευση μολυσματικών παραγόντων (ιοί, βακτήρια, παράσιτα)
- 4) Διάγνωση λοιμώξεων
- 5) Μελέτη ενεργοποιημένων ογκογονιδίων

**Πίνακας III** Νοσήματα του στόματος που σχετίζονται με ιούς HPV

Καλοήγη επιθηλιακά νοσήματα	Προκαρκινικές βλάβες / Καρκίνος
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Θήλωμα</li> <li>• Οξυτενές Κονδύλωμα</li> <li>• Κοινή Μυρμηκία</li> <li>• Εστιακή Επιθηλιακή Υπερπλασία</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Λευκοπλακία</li> <li>• Ακανθοκυτταρικό Καρκίνωμα</li> <li>• Ακροχορδονώδες Καρκίνωμα</li> </ul>

**Πίνακας IV** Σχέση ιών HPV με νοσήματα του στόματος

ΝΟΣΗΜΑ	ΤΥΠΟΙ ΙΩΝ
Εστιακή επιθηλιακή υπερπλασία	HPV-13, 13 related, 32
Οξυτενή κονδυλώματα	6,11
Κοινή μυρμηκία	1,2,4,7
Θήλωμα	7: σε λοίμωξη HIV
Λευκοπλακία	HPV-6, 11α, 11 β
Ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα	HPV-11, 16, 16 related
Ακροχορδονώδες καρκίνωμα	6,11,16,18,16 related
	HPV-2

και Everso1e 1992, Reichart 1993).

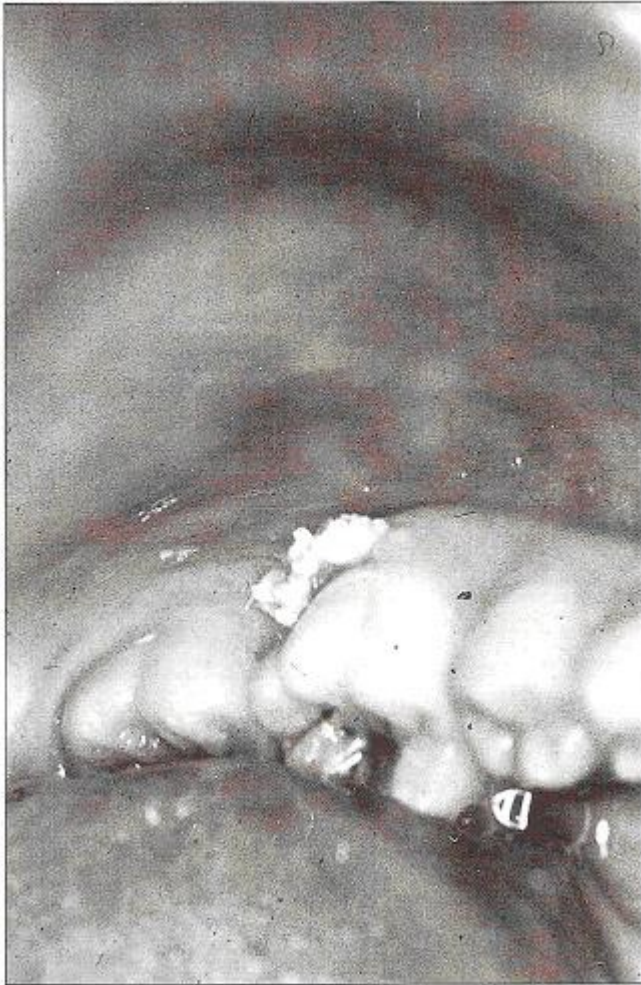
Οι εξελίξεις αυτές στο χώρο της μοριακής βιοτεχνολογίας, άνοιξε νέους ορίζοντες όχι μόνο στη μελέτη της παθοβιολογίας των ιών, βακτηρίων και παρασίτων, αλλά και στην έρευνα και διάγνωση νοσημάτων (Πίνακας II). Η χρησιμότητα αυτών των τεχνικών είναι πολύ μεγάλη και μπορεί να οδηγήσει μελλοντικά στη διαλεύκανση σε μοριακό επίπεδο της αιτιολογίας νόσων η οποία μέχρι σήμερα παραμένει ασαφής.

**Σχέση HPV ιών με νοσήματα του στόματος**

Τα νοσήματα του στόματος με τα οποία σχετίζονται οι ιοί HPV καθώς και οι συγκεκριμένοι τύποι συνοψίζονται στους Πίνακες III και IV.

**Θήλωμα**

Το θήλωμα είναι καλοήγητος όγκος του καλυπτικού επιθηλίου που απαντά σε οποιαδήποτε περιοχή της στοματικής κοιλότητας, με συχνότερη όμως εντόπιση τη μαλακή υπερώα (Αγγελόπουλος 1976).



Εικ. 4 Κλινική εικόνα θηλώματος στα προσπεφυκτά ούλα της άνω γνάθου μεταξύ 1ου και 2ου γομφίου.

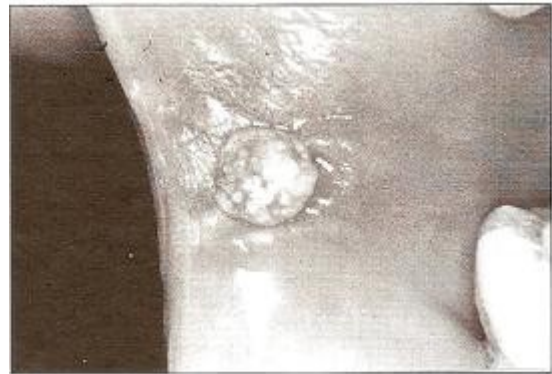
Συνηθέστερα έχει βάση μισχωτή και επιφάνεια ανώμαλη με μικρές επιθηλιακές προσεκβολές. Η σύστασή του είναι ελαστική και το χρώμα του λευκό (Εικ. 4).

Ιστολογικά αποτελείται από νεόπλαστο επιθηλιακό ιστό με θηλωματώδεις προσεκβολές και κεντρικό μίσχο από συνδετικό ιστό. Το επιθήλιο παρουσιάζει υπερπαρακερατίνωση και υπερακάνθωση ενώ τα επιθηλιακά κύτταρα είναι ώριμα και δεν εμφανίζουν αναπλασία. (Αγγελόπουλος 1976).

Πρόσφατες μελέτες έχουν ενοχοποιήσει τους HPV ιούς στην αιτιολογία του θηλώματος και πιο συγκεκριμένα οι τύποι 6, 11α, 11β έχουν ανιχνευθεί σε ποσοστό 80% των βλαβών που μελετήθηκαν. (De Villiers και συν. 1989, ChangKal συν. 1991, Λούμου και συν. 1993).

#### Οξυτενή κονδυλώματα

Το οξυτενές κονδύλωμα είναι σεξουαλικά μεταδιδόμενη βλάβη που απαντά σπάνια στη στοματική κοιλότητα. Συνήθως είναι πολλαπλά, μικρά



Εικ. 5 Κλινική εικόνα οξυτενούς κονδυλώματος με θηλωματώδη επιφάνεια στο βλενογόνο της δεξιάς συγγειλίας

λευκού ή ρόδινου χρώματος οζίδια που πολλαπλασιάζονται και συνενώνονται για να σχηματίσουν μαλακούς άμισχους όγκους. (Εκ 5).

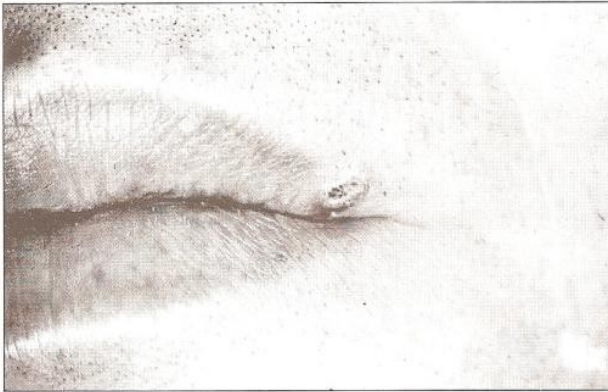
Ιστολογικά οι βλάβες χαρακτηρίζονται από πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο με βαθιές θηλωματώδεις προσεκβολές που εμφανίζει παρακερατίνωση, υπερακάνθωση, πάχυνση και επιμήκυνση των επιθηλιακών καταδύσεων (Σκλαβούνου και Μορτάκης 1990).

Τόσο η κλινική όσο και η ιστολογική διάκριση του οξυτενούς κονδυλώματος από το θήλωμα είναι δύσκολη. Το θήλωμα έχει την τάση να είναι μισχωτό ενώ το κονδύλωμα είναι συνήθως άμισχο. (Swan και συν. 1981).

Μελέτες με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έδειξαν ότι οι HPV ιοί ευθύνονται γι' αυτή την κλινική οντότητα και μάλιστα οι τύποι 6 και 11 οι οποίοι ανιχνεύονται σε ποσοστό 85% των βλαβών που μελετήθηκαν (Eversole και συν. 1987). Οι τύποι αυτοί είναι βλενογονοτροπικοί και απαντώνται στα κονδυλώματα της πρωκτογεννητικής περιοχής. (ChangKal συν. 1991, Du Vivier και Mc Kee 1997). Η ύπαρξη τους στο στόμα μπορεί να οφείλεται σε στοματογεννητική επαφή και μάλιστα σε ποσοστό 60% των ασθενών υπάρχει θετικό ιστορικό και για κονδυλώματα της γεννητικής χώρας. (Σκλαβούνου και Μορτάκης 1990).

#### Κοινή μυρμηκία

Η κοινή μυρμηκία απαντά συνήθως στα παιδιά στο δέρμα των δακτύλων, ενώ έχουν αναφερθεί σποραδικές περιπτώσεις εμφάνισης και στη στοματική κοιλότητα μετά από ενοφθαλμισμό. Συχνά απαντώνται πολλές στο ίδιο άτομο. Οι μυρμηκίες είναι άμισχες καλά περιγεγραμμένες



Εικ. 6 Κλινική εικόνα κοινής μυρμηκιάς στο όριο ερυθρού κρασπέδου και δέρματος του άνω χείλους.



Εικ. 7 Πολλαπλά μαλακά ογκίδια λευκώπου χρώματος στο βλεννογόνο της παρειάς νεαρής ασθενούς με εστιακή επιθηλιακή υπερπλασία.

λευκού χρώματος εξωφυτικές μάζες, με τραχεία επιφάνεια (Εικ. 6).

Ιστολογικά παρατηρείται υπερορθοκερατίνωση και υπερακάνθωση σε μεγάλο βαθμό. Χαρακτηριστικό εύρημα είναι η επιμήκυνση των επιθηλιακών καταδύσεων που στα όρια της βλάβης στρέφονται προς το κέντρο του όγκου. Η κοκκώδης στιβάδα είναι παχιά και μέσα στα κοκκώδη κύτταρα και τα επιπολής κύτταρα της ακανθωτής στιβάδας βρίσκουμε ηωσινόφιλο υλικό από ενδοκυτταρικά εγκλειστα. (Αγγελόπουλος 1976).

Η κοινή μυρμηκία σχετίζεται με τους τύπους 1,2,4,7 HPV ιών που είναι δερματικοί τύποι ενώ έχει αναφερθεί και ο τύπος 16 που είναι βλεννογονοτροπικός. Οι τύποι 2 και 4 απαντώνται στο 55% των περιπτώσεων, ενώ ο τύπος 7 απαντάται σε ασθενείς με HIV λοίμωξη. (Du Vivier και Mc Kee 1997).

Η κοινή μυρμηκία του στόματος οφείλεται συνήθως σε αυτοενοφθαλμισμό Π.χ. από τα χέρια. Ωστόσο ο τύπος 2 έχει απομονωθεί και σε ορισμένες περιπτώσεις κονδυλωμάτων της πρωκτογεννητικής περιοχής ενώ ο τύπος 16 απαντάται σε κονδυλώματα της πρωκτογεννητικής περιοχής και σε προκαρκινικές και καρκινικές βλάβες του τραχήλου της μήτρας (Chang και συν. 1991).

### Εστιακή επιθηλιακή υπερπλασία

Η εστιακή επιθηλιακή υπερπλασία ή νόσος του Heck είναι σπάνια καλοήθης νόσος που εντοπίζεται αποκλειστικά στο βλεννογόνο του στόματος. Παρατηρήθηκε για πρώτη φορά το 1961 από τον Heck και περιγράφηκε πλήρως το 1965. Η νόσος είναι συχνή στους Ινδιάνους και τους Εσκιμώους. (Λούμου και συν. 1993).

Κλινικά η νόσος χαρακτηρίζεται από πολλαπλά, άμισχα, ανώδυνα, λίγο επηρμένα μαλακά ογκίδια χρώματος φυσιολογικού λευκορόδινου ή λευκώπου. Συνήθως εμφανίζονται στο βλεννογόνο του κάτω χείλους (Εικ. 7). Οι βλάβες απαντούν κυρίως σε άτομα κάτω των 18 ετών και ιστολογικά χαρακτηρίζεται από επιθηλιακή υπερπλασία με ελαφρά υπερπαρακεράτωση, υπερακάνθωση, επιμήκυνση και αναστόμωση των επιθηλιακών καταδύσεων. Η κοιλοκυττάρωση είναι παρούσα σε αυτές τις βλάβες. (Laskaris και συν. 1981)

Η αιτιολογία της εστιακής επιθηλιακής υπερπλασίας είναι καλά τεκμηριωμένη και έχουν ενοχοποιηθεί κυρίως οι τύποι 13, 32 και 13r (related) οι οποίοι είναι παθογνομονικοί και δεν σχετίζονται με καρκινογένεση. (Chang και συν. 1991).

Ωστόσο η οικογενής εμφάνιση και η προτίμηση της νόσου σε συγκεκριμένες ηλικιακές ομάδες υποδηλώνουν ενδεχόμενη συμβολή και γενετικής προδιάθεσης (Λούμου και συν. 1993).

### Διάγνωση και θεραπεία

Η ιστοπαθολογική εξέταση και οι μοριακές τεχνικές είναι απαραίτητες για την διάγνωση αυτών των νοσημάτων (Laskaris 1996).

Θεραπεία εκλογής για τις βλάβες του στόματος είναι η χειρουργική αφαίρεση. Στην εστιακή επιθηλιακή υπερπλασία η θεραπεία είναι συμπτωματική επειδή οι βλάβες μπορεί να γίνουν ανενεργείς ή να εξαφανιστούν μέσα σε μερικούς μήνες (4-6 μήνες), αν και υπάρχουν περιπτώσεις με χρονική διάρκεια ενός ή περισσότερων ετών (Λούμου και συν. 1993). Η ανάπτυξη εμβολίου κατά των HPV ιών βρίσκεται ακόμα στο στάδιο της έρευνας (Jansen και συν. 1995, Hoffmann και συν. 1996).

### Λευκοπλακία

Η λευκοπλακία αποτελεί κλινική οντότητα γνωστή σαν προκαρκινική βλάβη. Είναι μία μη ειδική λευκή πλάκα που απαντάται σε οποιαδήποτε περιοχή του βλεννογόνου του στόματος με διάφορες κλινικές μορφές όπως την ομοιογενή, την κοκκώδη, τη μυρμηκιώδη και την ερυθρολευκοπλακία (Neville και συν. 1995).

Ιστολογικά η βλάβη εκδηλώνεται σαν υπερπλασία του επιθηλίου, δυσπλασία του επιθηλίου, καρκίνωμα *in situ* ή και πρώιμο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα (Αγγελόπουλος 1976).

Πρόσφατες έρευνες συσχέτισαν τη λευκοπλακία με τους HPV ιούς. Στις υπερπλαστικές βλάβες ανιχνεύθηκαν κυρίως οι τύποι HPV-11, 16, ενώ στις δυσπλαστικές βλάβες ο τύπος HPV-16. Ο τύπος HPV-16 και ο υπότυπος 16r (related) εμφανίζεται σε ποσοστό 80% των δειγμάτων που μελετήθηκαν και αυτό έχει σημασία γιατί ο ίδιος τύπος εμφανίζεται και στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα του στόματος και στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας (Maitland και συν. 1987, 1989).

### Ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα

Η σχέση μεταξύ HPV λοίμωξης και καρκίνου έχει αποδειχθεί για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Οι ιοί των θηλωμάτων του ανθρώπου και ιδιαίτερα οι τύποι 16 και 18 και σπανιότερα οι τύποι 31, 33, 35 είναι υπεύθυνοι για την εξαλλαγή των κυττάρων του τραχήλου της μήτρας (Schreier και Gruber 1987, Surjanen και συν. 1987). Αυτό συμβαίνει γιατί μετά την ενσωμάτωση των ιών στο DNA του κυττάρου, οι ογκοπρωτεΐνες που παράγονται από αυτούς προκαλούν τη διάσπαση των ογκοκατασταλτικών προϊόντων των γονιδίων p53 και Rb. (Bornstein και συν. 1995). Αρχικά αναπτύσσεται ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (καρκίνωμα *in situ*) που τελικά οδηγεί σε καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Σαν συμπαράγοντες έχουν ενοχοποιηθεί το κάπνισμα το οποίο εισάγει συγκαρκινογόνα στους ιστούς και καταστέλλει το αμυντικό σύστημα, οι ορμόνες, η έλλειψη βιταμινών στον ορό και άλλες λοιμώξεις της περιοχής που προκαλούν τοπικό ερεθισμό και παραγωγή ελεύθερων ριζών. (Bornstein και συν. 1995).

Η σχέση αυτή, όπως και η ανακάλυψη των γονιδίων (E6, E7) στους τύπους 16/18 των ιών που μπορούν να προκαλέσουν καρκινική εξαλλαγή στον τράχηλο της μήτρας έχει οδηγήσει στην έρευνα πιθανής αιτιολογικής συσχέτισης μεταξύ HPV λοίμωξης και καρκίνου του στόματος (Bornstein και συν. 1995).

Οι HPV ιοί με τις σύγχρονες μοριακές μεθόδους

είναι δυνατόν να ανιχνευθούν στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα του στόματος. Σε μία έρευνα οι τύποι 11, 16, 18 βρέθηκαν σε ποσοστό 30% των δειγμάτων (Chang και συν. 1990), ενώ σε άλλη μελέτη οι τύποι 6,11 ανιχνεύθηκαν σε ποσοστό 50% των βιοψιών (Loning και συν. 1985). Ο τύπος 16 είναι ο συχνότερα απαντώμενος στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα και φθάνει σε ποσοστό 76% των βλαβών (Chang και συν. 1991). Ωστόσο υπάρχουν ενδείξεις ότι ο ιός HPV-16 related (που διαφέρει από τον 16 στα περιοριστικά του ένζυμα) έχει μεγαλύτερη σχέση τόσο με προκαρκινικές όσο και με καρκινικές βλάβες. Ο ιός αυτός πρόσφατα βρέθηκε στο 80% των λευκοπλακιών και στο 46% των ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων του εδάφους του στόματος (Maitland και συν. 1987, 1989).

Οι HPV ιοί και συγκεκριμένα ο ιός HPV-16r (related) φαίνεται ότι αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα καρκινογένεσης είτε κατά το στάδιο της έναρξης είτε κατά το στάδιο της επαγωγής, δρώντας σαν συγκαρκινογόνο σε συνδιασμό με τον καπνό, το αλκοόλ ή και άλλους παράγοντες (Woods και συν. 1993, Mao 1995).

### Ακροχορδονώδες καρκίνωμα

Το ακροχορδονώδες καρκίνωμα αποτελεί παραλλαγή του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος με πολύ καλή πρόγνωση. Είναι ένα καλά διαφοροποιημένο καρκίνωμα και η αιτιολογία του σχετίζεται με τη συχνή χρήση καπνού. Οι επιθηλιακές καταδύσεις είναι παχείες και διηθούν βαθιά τον υποκείμενο συνδετικό ιστό ενώ παρατηρείται θηλωμάτωση (Αγγελόπουλος 1976). Ο HPV ιός τύπος 2 έχει ανακαλυφθεί σε ποσοστό 33% σε ακροχορδονώδη καρκινώματα του στόματος, εύρημα το οποίο υποδηλώνει πιθανή ιογενή αιτιολογία της βλάβης (Chang και συν. 1991).

### ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Επαναστατική ώθηση στο χώρο των ιώσεων έδωσε η ευρεία εφαρμογή της μοριακής βιοτεχνολογίας η οποία εκτός από τη μελέτη της δομής και της παθοβιολογίας των ιών επέτρεψε τη διερεύνηση της συμμετοχής τους σε βλάβες του βλεννογόνου του στόματος.

Είναι γεγονός ότι η οικογένεια των HPV ιών όπως και των ερπητοϊών αλλά και άλλων κατηγοριών ιών συνεχώς διευρύνεται με την προσθήκη νέων τύπων και υπότυπων και ο αριθμός των νοσημάτων του στόματος στα οποία εμπλέκονται συνεχώς αυξάνει.

Ο ρόλος των HPV ιών είναι τεκμηριωμένος στην ανάπτυξη της εστιακής επιθηλιακής υπερπλασίας, ενώ υπάρχουν σαφείς ενδείξεις ότι

συμμετέχουν στην εμφάνιση μυρμηκιών, οξυτενών κονδυλωμάτων και του θηλώματος (Chang και συν. 1991).

Από την άλλη πλευρά, HPV DNA έχει ανιχνευθεί και σε άλλες βλάβες του στόματος όπως στην τριχωτή λευκοπλακία, στον ομαλό λειχήνα και στο σάρκωμα Karosi (Kellokoski και συν. 1992α, Reichart 1993). Πρόσφατα αποδείχθηκε ότι στην τριχωτή λευκοπλακία αιτιολογικής σημασίας είναι ο ιός Epstein-Barr, χωρίς όμως να αποκλείεται και συνύπαρξη του HPV16 στη βλάβη (Adler-Storthz και συν. 1992, Felix και συν. 1993). Στον ομαλό λειχήνα έχουν επίσης ανευρεθεί οι τύποι HPV 11,16, και 16r (related), χωρίς όμως να μπορεί να αποδοθεί αιτιολογική σχέση και η παρουσία τους θεωρείται μάλλον συμπτωματική. (Scully και συν. 1991).

Επιπλέον, σημαντική είναι η αλληλεπίδραση των ιών HPV με τον ιό HIV. Πέραν από την αύξηση της συχνότητας ανεύρεσης μυρμηκιών και οξυτενών κονδυλωμάτων στους ασθενείς με AIDS, αλλά και γενικότερα στους ανοσοκατασταλαμένους ασθενείς, ο HPV τύπος 16 έχει ανιχνευθεί στο 70% σαρκωμάτων Karosi του δέρματος σε ασθενείς με AIDS (Kemp και συν. 1994). Πιο σύγχρονες όμως έρευνες αναφέρουν ανίχνευση δομών που μοιάζουν με το νεώτερο μέλος της οικογένειας των ερπητοϊών (Human Herpesvirus:

HHV-8) σε αυτές τις βλάβες, οπότε ο ρόλος των HPV ιών παραμένει να διευκρινιστεί (Kempf και συν. 1994, Agut και συν. 1997, Flaitz και συν. 1997).

Η συμμετοχή των HPV ιών στην ανάπτυξη καρκίνου του τραχήλου της μήτρας είναι αποδεδειγμένη και υποστηρίζεται ότι η ενσωμάτωση ιικού DNA στο γονιδίωμα των επιθηλιακών κυττάρων της περιοχής αυτής οδηγεί στην καρκινική εκτροπή (Ficcaro και Eversole 1992). Η αιτιολογική όμως συσχέτιση των HPV ιών με την λευκοπλακία και τον καρκίνο του στόματος αποτελεί θέμα συνεχούς έρευνας και οι μέχρι σήμερα ενδείξεις συνηγορούν μάλλον υπέρ της συμμετοχής τους ως προαγωγικών παραγόντων παρά ως κύριων καρκινογόνων.

Μελλοντικές μελέτες ίσως βοηθήσουν να προσδιορισθεί εάν οι τύποι HPV ιών που ανιχνεύονται σε προκαρκινικές βλάβες του βλεννογόνου του στόματος είναι ενσωματωμένοι στο γονιδιακό υλικό των επιθηλιακών κυττάρων, εύρημα το οποίο πιθανώς ρίξει φως στο θέμα της ενεργού συμμετοχής τους στην ογκογένεση.

Τέλος ανοικτό παραμένει το θέμα της παρασκευής εμβολίου κατά των ιών των θηλωμάτων του ανθρώπου και τα πρώτα αποτελέσματα σε πειραματικό επίπεδο είναι ενθαρρυντικά.

## SUMMARY

Greek J Oral Max. Fac. Surg. 14 (1999) 131-139

### *Human Papillomaviruses (HPVs) and their association with oral mucosal diseases*

A. Sklavounou, D. Karavassilis

From the Department of Oral Pathology, Dental School, University of Athens

*In recent years, the rapid progress in molecular biology, with the development of high sensitivity techniques (DNA hybridization, Polymerase Chain Reaction [PCR]), had a dramatic impact on the diagnosis of viral infections and the study of the biology and pathogenic role of viruses as well.*

*Human papilloma viruses (HPVs) is a unique group of tumor-inducing viruses that are implicated in benign and malignant lesions of several organs. In the oral cavity, the number of diseases that are related to HPV types is increasing and includes focal epithelial hyperplasia (FEH), condylomata acuminatum, verruca vulgaris, and papilloma. The current article is also focusing on the possible role of HPVs in the pathogenesis of premalignant and malignant lesions of the oral mucosa. Although the etiologic significance of these viruses is well documented for the genital tract cancer, it remains unclear for oral cancer.*

*In this study the spectrum of HPV-related oral diseases, and the molecular methods of HPV detection are discussed.*

## KEY WORDS

*HPV virus- viral lesions- oral diseases- pathogenesis- molecular biology*

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αγγελόπουλος, Α.: Επίτομη Παθολογία του στόματος. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας, Αθήνα, 1976, σελ. 181-218
- Adler-Storthz, K, G. Ficarra, V. Kendra, K V. Woods, D. Gaglioti D, M. DiPietro, E-J. Shillito: Prevalence of Epstein-Barr virus and human papillomavirus in oral mucosa of HIV-infected patients. J. Oral Pathol. Med. 21, 164 (1992)
- Agut, H., V. Calvez, A.M. Faller, J.M. Huraux: The discovery of three novel human viruses, human herpesviruses 6,7 and 8. Bull. Acad. Natl. Med. 181, 1009 (1997)
- Bornstein, J., M.A. Rahat, H. Abramovici: Etiology of cervical cancer; current concepts. Obstet. Gynecol. Surg. 50, 146 (1995)
- Cizang, FO, S. Syrjanen, J. Kellokoski, K Syrjanen: Human papillomavirus (HPV) infections and their associations with oral disease. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 20, 305 (1991)
- Chang, F., S. Syrjanen, J. Nuutinen, J. Karja, K. Syrjanen: Detection of four human papillomavirus (HPV) DNA in oral squamous cell



- carcinomas by in situ hybridization and polymerase chain reaction. *Arch. Dermatol. Res.* 282,493 (1990)
- De Villiers, E-M.*: Heterogeneity of the human papillomavirus group. *J. Virol.* 65, 4898 (1989)
- Du Vivia, A., P.H. Mc Kee*: Ιογενείς λοιμώξεις του δέρματος. Μυρμηκίες. In: *Warts: Κλινική Δερματολογία*. Εκδόσεις Πασχαλίδη (2η επανέκδοση), Αθήνα, 1997, σελ. 12.10-12.15
- Eversole, L.R., P.J. Laipis, P. Merrell, E. Choi*: Demonstration of the HPV DNA in the oral condylomata acuminatum. *J. Oral Pathol. Med.* 16, 266 (1987)
- Felix, D.H., H. Jalal, H.A. Cubie, J.C. Southam, D. Wray, N.J. Maitland*: Detection of Epstein-Barr virus and human papillomavirus type 16 in oral hairy leukoplakia and the polymerase chain reaction. *J Oral Pathol. Med.* 22, 277 (1993)
- Flaitz, C.M., Y.T. Jin, M.J. Hicks, C.M. Nichols, Y.W. Wang, I.J. Su*: Kaposi's sarcoma-associated herpesviruslike DNA sequences (KSHV/HHV-8) in oral AIDS- Kaposi's sarcoma: A PCR and clinicopathologic study. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 83, 259 (1997)
- Ficarra, G., L.R. Eversole*: Polymerase chain reaction: Relevance for oral pathology. *Minerva Stomatol.* 41, 425 (1992)
- Hofmann, K.J., M.P. Neeper, H.Z. Markus, D.R. Brown, M. Muller, K.U. Jansen*: Sequence conservation within the major capsid protein of HPV 18 and formation of HPV 18 virus like particles in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Gen. Virol.* 77, 465 (1996)
- Jansen, Ku., M. Rosolowsky, L.D. Schult, H.Z. Markus, J.C. Cook, J.J. Donnelly, D. Matinez, R. W. Ellis, A.R. Shaw*: Vaccination with yeast- expressed cottontail rabbit papillomavirus (CRPV) virus like particles protects rabbits from CRPV- induced papilloma formation. *Vaccine* 13, 1509 (1995)
- Kellokoski, J.K, S.M. Syrjanen, F. Chang, M. Yliskoski, K.J. Syrjanen*: Southern blot hybridization and PCR in detection of oral human papillomavirus (HPV) infections in women with genital HPV infections *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 21, 459 (1992a)
- Kellokoski, J., S. Syrjanen, M. Yliskoski, K. Syrjanen*: Dot blot hybridization in detection of human papillomavirus (HPV) infections in the oral cavity of women with genital HPV infections. *Oral Microbiol. Immunol.* 7, 19 (1992b).
- Kempf, W., V. Adams, S. Hassan, M. Schmid, R. Moos, J. Briner, M. Pfaltz*: Detection of human herpesvirus type 6, herpesvirus type 7, cytomegalovirus & human papillomavirus in cutaneous AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Verh. Dtsch. Ges. Pathol.* 78, 260 (1994)
- Laskaris, G.*: Oral manifestations of infectious diseases. *Dental Clinics of North America* 40,395 (1996)
- Laskaris, G., S. Papanikolaou, A. Angelopoulos*: Focal epithelial hyperplasia. The first reported case from Greece. *Dermatologica* 162, 254 (1981)
- Loning, T., H. Ikenbag, J. Becker, L. GissInan, J. Heppa, H. Zur-Hallsen*: Analysis of oral papillomas, leukoplakias and invasive carcinoma for human papillomavirus type-related DNA. *J. Invest. Dermatol.* 84, 417 (1985)
- Λούμπος, Π., Γ. Λάσκαρης, Μ. Λάσκαρη, Ε. Χατζηόλου*: Εστιακή επιθηλιακή υπερπλασία του βλεννογόνου του στόματος παιδιού ηλικίας 10 ετών. *Παιδοδοντία* 7, 146 (1993)
- Maitland, N.J., T. Bromidge, M.F. Cox, I.J. Crane, S.S. Prime, C. Scully*: Detection of human papillomavirus genes in human oral tissue biopsies and cultures by polymerase chain reaction. *Br. J. Cancer* 59, 698 (1989)
- Maitland, N.J., M.F. Cox, C. Lunas, S.S. Prime, C.A. Meanwell, C. Scully*: Detection of human papillomavirus DNA in biopsies of human oral tissue. *Br. J. Cancer* 56, 245 (1987)
- Mao, E.-J.*: Prevalence of human papillomavirus 16 and nucleolar organizer region counts in oral exfoliated cells from normal and malignant epithelia. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 80, 320 (1995)
- Neville, B. W., D.D. Danmm, C.M. Alien, J.E. Bouquot*: Oral and Maxillofacial Pathology. W.B. Saunders Co., Orlando, 1995, pp 204, 282
- Reinchart, P.*: The biological approach in oral diagnosis. *International Dental Journal* 43, 355 (1993)
- Σκλαβούνου, Α., Ν. Μορτάκης*: Οξυτενή κονδυλώματα στοματικού βλεννογόνου. Μια σπάνια επιθηλιακή ιογενής βλάβη. Ανασκόπηση και αναφορά δύο περιπτώσεων. *Ελλ. Π. Στομ. Γναθοπροσωπ. Χειρ.* 5, 31 (1990).
- Scully, C., J. Epstein, S. Porter, M. Cox*: Viruses and chronic disorders involving the human oral mucosa. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 72, 537 (1991)
- Schreier, A.A., J. Gruber*: Transformation mechanisms of papillomaviruses. *J Natl. Cancer Inst.* 78, 779 (1987)
- Swan, R.H., R.K. McDaniel, B.B. Dreiman, W.C. Rome*: Condylomata acuminatum involving the oral mucosa. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 51, 503 (1981)
- Syrjanen, K.J.*: Human papillomavirus (HPV) infection of the female genital tract and their association with intra-epithelial neoplasia and squamous cell carcinoma. *Pathol. Ann.* 21, 53 (1986)
- Syrjanen, K.J., L. Gissman, L.G. Koss (eds.)*: Papillomaviruses and human disease. Springer Verlag, Heidelberg, 1987
- Van Heerden, W.F.P., E.J. van Rensburg, E.J. Raubenheimer, E.H. Venta*: Detection of human papillomavirus DNA in an ameloblastoma using the in situ hybridization technique. *J. Oral Pathol. Med.* 22, 109 (1993)
- Woods, K V., E.J. Shillitoe, M.R. Spitz, S.P. Schantz, K. Adler-Storthz*: Analysis of HPV DNA in oral squamous cell carcinoma. *J. Oral Pathol. Med.* 22, 101 (1993)

Διεύθυνση για ανάτυπα:

Αλεξάνδρα  
Σκλαβούνου  
Σισμανόγλου 5  
154 52 Π. Ψυχικό