



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ
ΩΤΟΡΙΝΟΛΑΡΥΓΓΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΗΡV ΜΕ ΘΗΛΩΜΑΤΩΔΕΙΣ
ΠΡΟΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΤΟΥ ΛΑΡΥΓΓΑ**

**ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ ΔΗΜΗΤΡΙΟΥ ΔΙΑΝΟΥ
ΙΑΤΡΟΣ
ΩΤΟΡΙΝΟΛΑΡΥΓΓΟΛΟΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2020



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΝΕΥΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΙΣΘΗΤΗΡΙΩΝ
ΩΤΟΡΙΝΟΛΑΡΥΓΓΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΑΠΟ ΤΟΝ ΙΟ ΗΡV ΜΕ ΘΗΛΩΜΑΤΩΔΕΙΣ
ΠΡΟΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ ΤΟΥ ΛΑΡΥΓΓΑ**

**ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ ΔΗΜΗΤΡΙΟΥ ΔΙΑΝΟΥ
ΙΑΤΡΟΣ
ΩΤΟΡΙΝΟΛΑΡΥΓΓΟΛΟΓΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2020

«...Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου
Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα...»

[Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)]

Ημερομηνία αίτησης της κ. Λιανού Αικατερίνης: 5-3-2015

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 777^α/19-5-2015

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Καστανιουδάκης Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Ασημακόπουλος Δημήτριος, Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Αναστασόπουλος Δημήτριος, Καθηγητής Νευρολογίας, του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 18-6-2015

«Συσχέτιση λοίμωξης από τον ιό HPV με θηλωματώδεις προκαρκινικές και καρκινικές βλάβες του λάρυγγα»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 920^α/5-5-2020

Αναστασόπουλος Δημήτριος	τ. Καθηγητής Νευρολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Ασημακόπουλος Δημήτριος	ομότιμος Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Καστανιουδάκης Ιωάννης	Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Ψυχογιός Γεώργιος	Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Ράγκος Βασίλειος	Αναπληρωτής Καθηγητής Γναθοπροσωπικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Αλεξίου Γεώργιος	Επίκουρος Καθηγητής Νευροχειρουργικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Κατσάνος Ανδρέας	Επίκουρος Καθηγητής Οφθαλμολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 29-5-2020

Ιωάννινα 5-6-2020

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Άννα Μπατισιάτου

Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας



Η Γραμματέας του Τμήματος

ΜΑΡΙΑ ΚΑΠΙΤΟΠΟΥΛΟΥ

Στον πατέρα μου και στη μητέρα μου που είναι το στήριγμά μου...

Στις κόρες μου, την Βαλέρια μου και την Έλενά μου...

Στον αδελφό μου, το πρότυπό μου...

Στο σύζυγό μου, Κωνσταντίνο...

Στον Καθηγητή μου...

ΠΡΟΛΟΓΟΣ – ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε με μεγάλο ενθουσιασμό από εμένα.

Για την ολοκλήρωσή της θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή μου, τον καταξιωμένο Διευθυντή της Ωτορινολαρυγγολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, κ. Καστανιουδάκη Ιωάννη που μου έδωσε την ευκαιρία αναθέτοντάς μου το θέμα αυτό και με τίμησε με την εμπιστοσύνη του. Η συμβολή του και η στήριξη ήταν καθοριστική καθ' όλη τη διάρκεια, καθώς με τις γνώσεις του και τη συνεχή του παρουσία συνέβαλε στην τελειοποίηση της παρούσας μελέτης.

Θα ήταν παράλειψη να μην αναφερθώ στην προσφορά του πρώτου μου και άξιου Δασκάλου μου κυρίου Ασημακόπουλου Δημήτριου, διακεκριμένου Καθηγητή Ομότιμου Ωτορινολαρυγγολογίας με διεθνή επιστημονική απήχηση, που με δική του πρωτοβουλία με παρότρυνε και μου ανέθεσε την εκπόνηση της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής, κατά την διάρκεια της εξαιρετικής Διευθυντικής του θητείας. Τον ευχαριστώ θερμά, καθότι συνέβαλε ουσιαστικά στην πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης, με την εμπειρία και τις γνώσεις του.

Η πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης θα ήταν αδύνατη, χωρίς την ουσιαστική συμβολή του τρίτου μέλους της τριμελούς επιτροπής, Καθηγητή Νευρολογίας Αναστασόπουλου Δημήτριου, τον οποίον και ευχαριστώ θερμά.

Ευχαριστώ επίσης θερμά την κυρία Γκρέπη Κωνσταντίνα, Βιολόγο του Παθολογοανατομικού εργαστηρίου του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων για την ανοσοϊστοχημική επεξεργασία και ανάλυση των δειγμάτων, καθώς και την Καθηγήτρια κ. Μπατιστάτου Άννα για την παραχώρηση του εργαστηρίου της Παθολογικής Ανατομίας για την ολοκλήρωση της εργασίας.

Τέλος ένα πολύ μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου Ελένη και Δημήτρη που με δημιούργησαν, με σπούδασαν και είναι συνεχώς δίπλα μου, με αμέριστη αγάπη και διαρκή υποστήριξη όλα αυτά τα χρόνια. Χωρίς αυτούς τίποτα δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί. Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον αδερφό μου Γιώργο, για τη συνεχή και αδιάκοπη βοήθεια σε κάθε μου εγχείρημα και φυσικά τον σύζυγό μου Κωνσταντίνο, για την υπομονή και την κατανόηση που έδειξε στο δύσκολο αυτό έργο.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7
A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	11
1.1 ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ ΛΑΡΥΓΓΑ	11
1.2 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΛΑΡΥΓΓΑ	12
1.2.1 Θέση λάρυγγα	12
1.2.2 Διαστάσεις λάρυγγα	13
1.2.3 Χόνδροι λάρυγγα.....	13
1.2.4 Αρθρώσεις λάρυγγα	14
1.2.5 Σύνδεσμοι λάρυγγα	15
1.2.6 Περιοχές ή επίπεδα λάρυγγα	16
1.2.7 Μύες λάρυγγα	17
1.2.8 Αγγεία και νεύρα λάρυγγα	19
1.2.9 Λεμφαγγεία λάρυγγα.....	21
1.3 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΛΑΡΥΓΓΑ	22
1.3.1 Προστασία αεραγωγού.....	22
1.3.2 Αναπνοή	22
1.3.3 Φώνηση	22
1.3.4 Αύξηση ενδοθωρακικής πίεσης	23
1.4 ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ ΛΑΡΥΓΓΑ	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	24
2.1 ΚΑΛΟΗΘΕΙΣ ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ ΤΟΥ ΛΑΡΥΓΓΑ	24
2.1.1 Θηλώματα	24
2.2 ΚΑΚΟΗΘΕΙΣ ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ ΤΟΥ ΛΑΡΥΓΓΑ	27
2.2.1 Προκαρκινωμάτωσης καταστάσεις	27
2.2.2 In situ καρκίνωμα	28
2.2.3 Καρκίνος του λάρυγγα	28
2.2.3.1 Επιδημιολογία	28
2.2.3.2 Παράγοντες κινδύνου.....	29

2.2.3.3	Ιστολογικά ευρήματα	31
2.2.3.4	Ταξινόμηση κατά θέση εμφάνισης.....	32
2.2.3.5	Μεταστάσεις.....	33
2.2.3.6	Συμπτώματα.....	33
2.2.3.7	Διάγνωση	34
2.2.3.8	TNM ταξινόμηση και σταδιοποίηση κατά AJCC	37
2.2.3.9	Θεραπευτικοί μέθοδοι	41
2.2.3.10	Διαχείριση ασθενούς – Θεραπευτικές επιλογές	44
2.2.3.11	Πρόγνωση.....	46
2.2.3.12	Παρακολούθηση.....	47
2.2.3.13	Επιπλοκές	47
2.2.3.14	Κακοήθεις όγκοι άλλων ιστολογικών τύπων	48
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.....		49
3.1 ΙΟΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΘΗΛΩΜΑΤΩΝ (HPV).....		49
3.1.1	Βιολογία-Δομή	50
3.1.2	Παθοφυσιολογία-Μηχανισμός του ιού και λαρυγγικές βλάβες.....	51
3.1.3	Αιτιολογία.....	54
3.1.4	Παράγοντες κινδύνου	57
3.1.5	Επιδημιολογία.....	58
3.1.5.1	Στατιστικά ΗΠΑ.....	58
3.1.6	Πρόγνωση.....	60
3.1.7	Μη γεννητική νόσος του βλεννογόνου.....	61
3.1.8	Διάγνωση	62
3.1.9	Ιστολογικά ευρήματα	62
3.1.10	Πρόληψη.....	63
3.1.11	Αντιμετώπιση	63
Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ		65
4. ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ		67
5. ΥΛΙΚΟ – ΜΕΘΟΔΟΙ.....		68
5.1 ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΑΣΘΕΝΩΝ.....		68

5.2 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ	69
5.3 ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΟΥ ΙΟΥ HPV:	
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΩΝ	70
5.3.1 Συστατικά και συντήρηση kit CLART HPV 2 GENOMICA	75
5.3.2 Άλλα εξαρτήματα.....	76
5.3.3 Πρόσθετο υλικό.....	76
5.3.3.1 Αντιδραστήρια και υλικό	76
5.3.3.2 Εξοπλισμός.....	77
5.3.3.3 Γενικές συστάσεις	77
5.3.4 Λήψη δειγμάτων.....	78
5.3.4.1 Επιχρίσματα	79
5.3.4.2 Εναιωρήματα κυττάρων	79
5.3.4.3 Δείγματα σε φορμόλη, αιθανόλη και παραφίνη.....	79
5.3.5 Πρωτόκολλο εργασίας	80
5.3.6 Αυτόματη εξαγωγή του HPV DNA	82
5.3.6.1 Ενίσχυση μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR)	82
5.3.6.2 Υβριδισμός και έκλυση.....	84
5.3.7 Ερμηνεία αποτελεσμάτων	85
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	89
7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	147
8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	157
9. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	159
10. SUMMARY	161
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ	163

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι εξελίξεις στη συσχέτιση της λοίμωξης από τον ιό HPV στους καρκίνους της κεφαλής και του τραχήλου τα τελευταία χρόνια υπήρξαν ραγδαίες. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία έχει επιβεβαιωθεί ότι η λοίμωξη από τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV), αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου στον πλακώδη καρκίνο του στοματοφάρυγγα. Ο ρόλος όμως του HPV καθώς και οι υψηλού κινδύνου υπότυποί του, σε μη στοματοφαρυγγικούς καρκίνους της κεφαλής και του τραχήλου, όπως στον καρκίνο του λάρυγγα, αποτελεί σημείο έντονης επιστημονικής συζήτησης και βρίσκεται στο “κέντρο” του επιστημονικού ενδιαφέροντος τα τελευταία χρόνια, καθώς αποτελεί το δεύτερο πιο κοινό καρκίνο του αναπνευστικού συστήματος μετά τον καρκίνο του πνεύμονα. Ο καρκίνος του λάρυγγα αντιπροσωπεύει το 0,8% όλων των νέων περιπτώσεων καρκίνου στις Η.Π.Α, καταλαμβάνοντας την 20η θέση κατά σειρά συχνότητας. Η επίπτωσή του μεταβάλεται με την πάροδο του χρόνου σε μεγάλο μέρος του κόσμου και αυτή η μεταβολή είναι γενικά αποδεκτή και σχετίζεται με αλλαγές στην κατανάλωση καπνού και αλκοόλ.

Η ιστορία του ιού HPV στην περιοχή της κεφαλής και του τραχήλου ξεκινά το 1901 όταν περιγράφηκε πρώτη φορά η μετάδοση θηλωμάτων στη στοματική κοιλότητα μέσω του στοματικού σεξ, αν και η ιογενής αιτιολογία της νόσου επιβεβαιώθηκε το 1907. Οι Parsons και Kidd περιέγραψαν τη φυσική ιστορία των θηλωμάτων (PV) της στοματικής κοιλότητας στα κουνέλια ήδη από το 1942, αλλά αυτά τα ευρήματα επιβεβαιώθηκαν στους ανθρώπους σχετικά πρόσφατα. Ο Ullman ήταν ο πρώτος που συσχέτισε τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV) με τα θηλώματα του λάρυγγα. Η «κοιλοκυτταρική ατυπία» που περιγράφεται από τους Koss και Durfee το 1956, αναγνωρίστηκε ως ένδειξη HPV μόλυνσης σε προκαρκινικές αλλοιώσεις του τραχήλου της μήτρας, το 1976-1977. Αυτό οδήγησε σε εκτεταμένη έρευνα στην περιοχή της κεφαλής και του τραχήλου για την ανίχνευση κοιλοκυττάρωσης, από τα τέλη της δεκαετίας του 1970. Από τις αρχές της δεκαετίας του 2000, η έρευνα για τον HPV στον καρκίνο εκ πλακωδών κυττάρων της κεφαλής και του τραχήλου (HNSCC) έχει σημειώσει εντυπωσιακή πρόοδο. Όμως, η συσχέτιση του καρκίνου του λάρυγγα με τον ιό HPV δεν έχει επαρκώς διευκρινισθεί και ως εκ τούτου δεν υπάρχει μέχρι σήμερα στη διεθνή βιβλιογραφία ομοφωνία απόψεων σχετικά με αυτό το θέμα.

Η παρούσα μελέτη αποτελείται από δύο μέρη. Στο γενικό μέρος γίνεται αναφορά στην εμβρυολογική καταβολή του λάρυγγα με στοιχεία ανατομικής και λειτουργικής φυσιολογίας του. Επίσης περιγράφονται οι καλοήθειες και οι κακοήθειες νεοπλασίες του λάρυγγα καθώς και παθοφυσιολογικά και επιδημιολογικά χαρακτηριστικά του ιού HPV. Το ειδικό μέρος αναφέρεται στις μεθόδους ανίχνευσης και τυποποίησης του HPV, οι οποίες αναπτύσσονται συνεχώς από τη δεκαετία του 1970 έως και σήμερα, και συγκεκριμένα στις **μικροσυστοιχίες** που αποτελούν μια από τις πλέον **σύγχρονες** μεθοδολογίες μοριακής ανίχνευσης και τυποποίησης του HPV. Στηρίζονται στην ανάπτυξη ενός συστήματος ανίχνευσης των HPV γονοτύπων με τη βοήθεια μιας υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας PCR και στην υβριδοποίηση των PCR προϊόντων με τη χρήση της τεχνολογίας των μικροσυστοιχιών μικρής πυκνότητας (Clinical Array Technology:σωληνάριο ArrayTube).

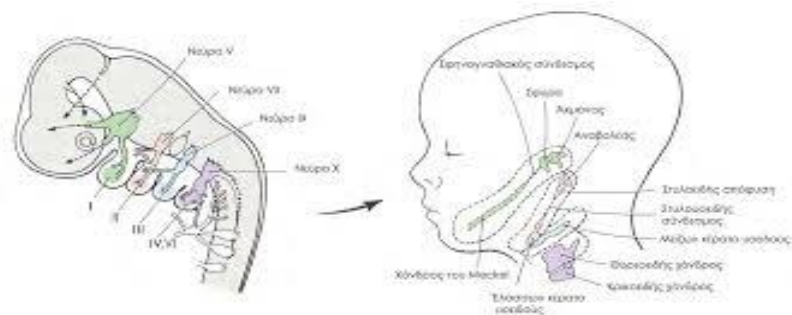
Συνολικά αναλύθηκε βιοπτικό υλικό λάρυγγα από 55 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μικρολaryγγοσκόπηση υπό γενική αναισθησία στην Ωτορινολaryγγολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Σε κάθε δείγμα ασθενούς πραγματοποιήθηκε έλεγχος για την παρουσία HPV-DNA, ανάλυση για την ανεύρεση συγκεκριμένου υποτύπου HPV-DNA καθώς και συσχέτιση των αποτελεσμάτων με τα χαρακτηριστικά των ασθενών που προέκυψαν από αναλυτική λήψη του ιστορικού τους. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Παθολογικής Ανατομίας της Ιατρικής σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

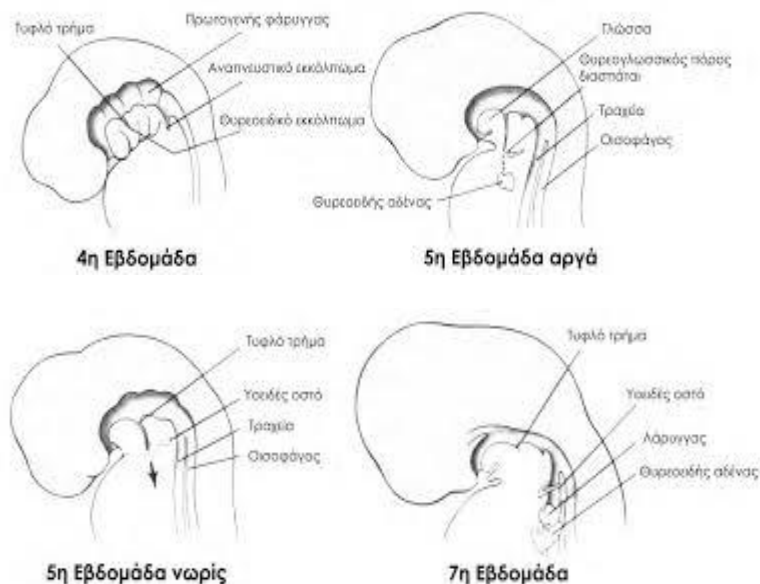
1.1 ΕΜΒΡΥΟΛΟΓΙΑ ΛΑΡΥΓΓΑ

Το αναπνευστικό σύστημα αποτελεί εκβολή του πεπτικού συστήματος (1). Η επιθηλιακή επένδυση του λάρυγγα προέρχεται από ενδοδερμικούς ιστούς του κρανιακού άκρου του λαρυγγοτραχειακού σωλήνα, ο οποίος σχηματίζεται από τη συνένωση των χειλέων της λαρυγγοτραχειακής αύλακας την 4^η εμβρυική εβδομάδα. Πρέπει να αναφερθεί ότι από αυτόν τον σωλήνα αναπτύσσεται ολόκληρο το αναπνευστικό σύστημα. Το κεφαλικό του άκρο δημιουργεί τον λάρυγγα, το μεσαίο του τμήμα την τραχεία, ενώ στο περιφερικό του άκρο εμφανίζεται μια πνευμονική καταβολή η οποία διαιρείται σε δύο βρογχικές καταβολές στις αρχές της πέμπτης εβδομάδας. Ο λάρυγγας με τους χόνδρους που τον περιβάλλουν αναπτύσσεται από το μεσέγχυμα του τέταρτου και του έκτου ζεύγους των βραγχιακών ή φαρυγγικών τόξων. Οι αρυταινοειδείς σχηματίζονται στο κρανιακό άκρο του λαρυγγοτραχειακού σωλήνα από τον πολλαπλασιασμό του μεσεγχυματικού ιστού. Αυξάνονται προς τη γλώσσα και θα αποτελέσουν την πρωταρχική γλωττίδα. Καθώς αναπτύσσεται περαιτέρω το μεσόδερμα του 4^{ου} και 5^{ου} βραγχιακού τόξου, μετατρέπει την αρχέγονη σχισμή σε μια λαρυγγική γλωττίδα σχήματος T. Προσωρινή απόφραξη της λαρυγγικής εισόδου συμβαίνει την 7^η εβδομάδα λόγω του γρήγορου πολλαπλασιασμού της επιθηλιακής επένδυσης του λάρυγγα ο οποίος θα επανασηραγγοποιηθεί την 9^η και 10^η εβδομάδα σχηματίζοντας ζεύγη πλαγίων αναδιπλώσεων και κοιλοτήτων. Αυτά τα ζεύγη θα αποτελέσουν τα δομικά πρότυπα των φωνητικών χορδών και λαρυγγικών κοιλιών, αντίστοιχα. Οι λαρυγγικές κοιλίες περιβάλλονται από ιστό που εξελίσσεται σε γνήσιες και νόθες φωνητικές χορδές. Ο πολλαπλασιασμός του μεσεγχύματος στο κοιλιακό τμήμα του 3^{ου} και 4^{ου} φαρυγγικού τόξου θα σχηματίσει τον υποφάρυγγα, αργότερα από την επιγλωττίδα η οποία προέρχεται από το 4^ο βραγχιακό τόξο και αναπτύσσεται από το ουραίο τμήμα της υποβραγχιακής προεξοχής (2) (Εικόνα 1).



Εικόνα 1: Εμβρυογένεση του λάρυγγα (πηγή: <https://nemertes.lis.upatras.gr>).

Οι αρυταινοειδείς και ο κρικοειδής χόνδρος προέρχονται από το 5^ο βραγχιακό τόξο, ενώ ο θυρεοειδής χόνδρος είναι κατά κύριο λόγο ένα παράγωγο του 4^{ου} βραγχιακού τόξου. Όσον αφορά τους μύες του λάρυγγα αυτοί προέρχονται από δύο στιβάδες κυκλικά διατεταγμένων κυττάρων: η εσωτερική ανήκει στο 5^ο βραγχιακό τόξο και δίνει προέλευση σε όλους τους εσωτερικούς μύες, των οποίων η διαφοροποίηση εξαρτάται από την αύξηση των χόνδρων, ενώ η εξωτερική ανήκει στο 4^ο βραγχιακό τόξο και δίνει γένεση στον κρικοθυρεοειδή μυ (5). Προχωρώντας στη νεύρωση του λάρυγγα, το άνω λαρυγγικό νεύρο νευρώνει το τμήμα του λάρυγγα που αναπτύσσεται από το 4^ο φαρυγγικό τόξο, ενώ εκείνα που αποτελούν παράγωγα του 6ου τόξου νευρώνονται από το παλίνδρομο λαρυγγικό νεύρο (4) (Εικόνα 2).



Εικόνα 2: Εμβρυογένεση του λάρυγγα (πηγή: <https://nemertes.lis.upatras.gr>).

1.2 ANATOMIA ΛΑΡΥΓΓΑ

1.2.1 Θέση λάρυγγα

Ο λάρυγγας είναι μέρος του αναπνευστικού συστήματος και εντοπίζεται στην πρόσθια τραχηλική χώρα συνδέοντας το κάτω τμήμα του φάρυγγα με την τραχεία, από το επίπεδο του 3^{ου}- 6^{ου} αυχενικού σπονδύλου (5). Η λαρυγγική κοιλότητα ορίζεται προς τα άνω από το υοειδές οστό, προς τα κάτω από το κατώτερο όριο του κρικοειδούς χόνδρου και πλαγίως από τα έσω όρια του στερνοκλειδομαστοειδούς μυός αμφοτερόπλευρα. Ο

λάρυγγας χωρίζεται από τη σπονδυλική στήλη από την οπίσθια επιφάνεια του στοματοφάρυγγα και του υποφάρυγγα και είναι στενά συνδεδεμένος με τα μεγάλα αιμοφόρα αγγεία του τραχήλου, τα οποία εντοπίζονται πλάγια σε αυτόν. Ακριβώς πίσω από τον λάρυγγα είναι ο οισοφάγος. Επιπλέον η θέση του επηρεάζεται από τις κινήσεις της κεφαλής και του τραχήλου και κατά τη διάρκεια της κατάποσης και της φώνησης. Κατά την έκταση της κεφαλής προς τα πίσω ανυψώνεται ενώ με την κάμψη της κεφαλής προς τα εμπρός συμπιέζεται. Αυτό το γεγονός παρέχει σημαντικές κλινικές πληροφορίες κατά την αντικειμενική εξέταση του λάρυγγα (1).

1.2.2 Διαστάσεις λάρυγγα

Σύμφωνα με τον Sappey, οι μέσες μετρήσεις του λάρυγγα των ενηλίκων είναι οι εξής (6) (Πίνακας 1):

Πίνακας.1: Διαστάσεις λάρυγγα (πηγή: Gray H. Anatomy of the Human Body. 1918).

	Άνδρες	Γυναίκες
Μήκος	44mm	36mm
Επιμήκης Διάμετρος	43mm	41mm
Προσθιο-οπίσθια διάμετρος	36mm	26mm
Περίμετρος	136mm	112mm

1.2.3 Χόνδροι λάρυγγα

Ο λάρυγγας σχηματίζεται από ένα χόνδρινο σκελετό, ο οποίος συγκρατείται με συνδέσμους και μεμβράνες και κινείται με την ενέργεια των μυών κατά τη φώνηση και την αναπνοή. Οι χόνδροι είναι εννέα, τρεις μεγάλοι μονήρεις (θυρεοειδής, κρικοειδής και επιγλωττίδα), ενώ οι άλλοι τρεις σχηματίζουν ζεύγη (αρυταινοειδής, κερατοειδής, σφηνοειδής ή σησαμοειδής) (1). Το υοειδές οστό, παρέχει πρόσφυση στους μύες από πάνω, βοηθώντας στη λαρυγγική κίνηση και ας μην αποτελεί τεχνικά μέρος του λάρυγγα.

Ο θυρεοειδής χόνδρος είναι ο μεγαλύτερος από όλους τους λαρυγγικούς χόνδρους. Σχηματίζεται από δύο αποπλατυσμένα τετράπλευρα πέταλα, τα οποία ενώνονται σε μια οξεία γωνία στην πρόσθια μέση γραμμή και σχηματίζουν έπαρμα σχήματος V, το

Λαρυγγικό έπαρμα ή Μήλο του Αδάμ, που φέρει στο άνω άκρο του τη θυρεοειδή εντομή. Είναι πιο εμφανής στους άνδρες επειδή η γωνία μεταξύ των πετάλων είναι πιο οξεία (90°) σε σχέση με τις γυναίκες (120°). Το οπίσθιο χείλος καθενός από τα δύο πέταλα επιμηκύνεται για να σχηματίσει το άνω και το κάτω θυρεοειδές κέρασ.

Ο κρικοειδής χόνδρος είναι ένας δακτύλιος υαλοειδούς χόνδρου, βρίσκεται στην κατώτερη περιοχή του λάρυγγα και είναι ο μόνος πλήρης χόνδρινος δακτύλιος σε όλη την αναπνευστική οδό. Είναι παχύτερος και ισχυρότερος και βρίσκεται κάτω από το θυρεοειδή χόνδρο. Εμφανίζει ένα στενό τόξο προς τα εμπρός, ένα αποπλατυσμένο πέταλο προς τα πίσω και στη πλάγια πλευρά, υπάρχει αρθρική επιφάνεια. Εκατέρωθεν, στο άνω χείλος, υπάρχουν δύο ρηγά εντυπώματα για την υποδοχή των αρυταινοειδών χόνδρων.

Η επιγλωττίδα είναι μια λεπτή, ευκίνητη δομή, σχήματος φύλλου αποτελούμενη από ελαστικό χόνδρο. Κατά την κατάποση μετακινείται προς τα κάτω κλείνοντας τη γλωττίδα για να προστατεύσει τον λάρυγγα από εισρόφηση τροφίμων ή υγρών. Εμφανίζει την πρόσθια ή γλωσσική ή φαρυγγική επιφάνεια η οποία μέσω των γλωσσοεπιγλωττιδικών βοθρίων αποτελεί τη συνέχεια της βάσης της γλώσσας και την υπόκοιλη οπίσθια ή λαρυγγική επιφάνεια, η οποία αποτελεί το άνω τμήμα του πρόσθιου τοιχώματος του λάρυγγα. Προσφύεται με το μίσχο της στην οπίσθια επιφάνεια του Μήλου του Αδάμ.

Οι αρυταινοειδείς χόνδροι είναι ένα ζεύγος χόνδρων σε σχήμα τρίπλευρης πυραμίδας. Βρίσκονται πάνω από το άνω χείλος του κρικοειδούς χόνδρου, στο οπίσθιο τμήμα του λάρυγγα. Κάθε χόνδρος έχει μια κορυφή προς τα πάνω, μια βάση προς τα κάτω, τη φωνητική απόφυση προς τα εμπρός και την μυική απόφυση προς τα έξω. Στην κορυφή εδράζεται ένα ζεύγος πολύ μικρών χόνδρων, κωνικού σχήματος, οι κερατοειδείς χόνδροι ή χόνδροι του Santorini οι οποίοι τους επιμηκύνουν προς τα πίσω και έσω. Οι σφηνοειδείς χόνδροι ή χόνδροι του Wrisberg, είναι δύο μικροί χόνδροι σχήματος ραβδιού, βρίσκονται μπροστά από τους αρυταινοειδείς χόνδρους πάνω στα ελεύθερα χείλη των αρυταινοεπιγλωττιδικών πτυχών και δεν αρθρώνονται με κανέναν χόνδρο του λάρυγγα (1, 5, 7, 8, 9, 10, 11).

1.2.4 Αρθρώσεις λάρυγγα

Διαμέσου των κρικοθυρεοειδών αρθρώσεων που σχηματίζονται από την διάρθρωση των κάτω λαρυγγικών κεράτων με τις έξω επιφάνειες του κρικοειδούς χόνδρου, πραγματοποιούνται στροφικές κινήσεις και ελαφρά διολίσθηση του θυρεοειδούς χόνδρου

με αποτέλεσμα την αυξομείωση του μήκους των φωνητικών χόνδρων. Μέσω των κρικοαρταινοειδών αρθρώσεων που εντοπίζονται στο οπίσθιο άνω τμήμα του κρικοειδούς χόνδρου επιτυγχάνεται η συμπλησίαση των χόνδρων, η ελαφρά ολίσθηση και οι στροφικές κινήσεις. Οι κινήσεις αυτές είναι πολύ σημαντικές καθώς προσδίδουν τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της φωνής (1, 7, 12).

1.2.5 Σύνδεσμοι λάρυγγα

Διακρίνονται σε εξωτερικούς, που συνδέουν τους χόνδρους του λάρυγγα με τους περιβάλλοντες ιστούς και σε εσωτερικούς, που συνδέουν τους χόνδρους μεταξύ τους.

Εξωτερικοί σύνδεσμοι: Ο θυρεοϋοειδής υμένας είναι ένας ευρύς ινοελαστικός σύνδεσμος που συνδέει το άνω χείλος του θυρεοειδούς χόνδρου με το υοειδές οστό. Στη μεσότητα, ο υμένας παχύνεται και δημιουργείται ο μέσος θυρεοειδικός σύνδεσμος. Ενώ οι πλάγιοι θυρεοειδικοί σύνδεσμοι σχηματίζονται από πάχυνση των οπίσθιων χειλέων του. Εκατέρωθεν στις πλάγιες επιφάνειες ο υμένας διατιτραίνεται από τα σύστοιχα άνω λαρυγγικά αγγεία, από τον έσω κλάδο του άνω λαρυγγικού νεύρου και τα λεμφαγγεία. Ο κρικοτραχειακός σύνδεσμος συνδέει το κάτω χείλος του κρικοειδούς χόνδρου με το πρώτο ημικρικό της τραχείας. Ο υοεπιγλωττιδικός σύνδεσμος εκτείνεται στη μέση γραμμή της άνω επιφάνειας της επιγλωττίδας μέχρι το σώμα του υοειδούς οστού και συνιστά το υπόθεμα των γλωσσοεπιγλωττιδικών βοθρίων.

Εσωτερικοί σύνδεσμοι: Ο ελαστικός κώνος είναι μια υποβλεννογόνια μεμβράνη που περικλείει όλον τον λάρυγγα. Αξίζει να αναφερθεί ότι η γλωττίδα μένει εκτός. Εκτείνεται πάνω από το πρόσθιο τόξο του κρικοειδούς χόνδρου και προσφύεται στον θυρεοειδή χόνδρο μπροστά και στους αρταινοειδείς χόνδρους οπισθίως. Το ελεύθερο ανώτερο άκρο του ελαστικού κώνου παχύνεται για να σχηματίσει τον φωνητικό σύνδεσμο, ο οποίος σχηματίζει τις φωνητικές χορδές. Η τετράπλευρη μεμβράνη ή αρταινοεπιγλωττιδικός υμένας είναι ένα άλλο υποβλεννογόνο στρώμα, που εκτείνεται μεταξύ του πλευρικού ελεύθερου χείλους της επιγλωττίδας και της προσθιοπλάγιας επιφάνειας των αρταινοειδών χόνδρων σε κάθε πλευρά. Το ελεύθερο κατώτερο άκρο της μεμβράνης παχύνεται σχηματίζοντας τη φωνητική πτυχή η οποία είναι το υπόθεμα της νόθου φωνητικής χορδής, ενώ το άνω ελεύθερο χείλος δημιουργεί τον αρταινοεπιγλωττιδικό σύνδεσμο ο οποίος είναι το υπόθεμα της αρταινοεπιγλωττιδικής

πτυχής. Ο θυρεοεπιγλωττιδικός σύνδεσμος συνδέει την επιγλωττίδα με τον θυρεοειδή. Ο οπίσθιος κρικαρυταινοειδής σύνδεσμος ενισχύει την κρικαρυταινοειδή διάρθρωση (5, 8, 9, 10, 11).

1.2.6 Περιοχές ή επίπεδα λάρυγγα

Η κοιλότητα του λάρυγγα έχει σχήμα κλεψύδρας και καλύπτεται από βλεννογόνο Το άνω τμήμα της κοιλότητας ανοίγει στο φάρυγγα ενώ το κάτω είναι συνέχεια με τον αυλό της τραχείας. Διαιρείται σε τρεις περιοχές – επίπεδα (**Εικόνα 3**):

- Υπεργλωττιδική περιοχή.
- Γλωττιδική περιοχή.
- Υπογλωττιδική περιοχή.

Η υπεργλωττιδική περιοχή ονομάζεται το ανώτερο τμήμα της κοιλότητας μεταξύ της λαρυγγικής εισόδου και του οριζόντιου επιπέδου που διέρχεται από τον πυθμένα των λαρυγγικών κοιλιών. Περιλαμβάνει τον επιλάρυγγα, που αποτελείται από την υπερωοειδική μοίρα της επιγλωττίδας, τις αρυταινοεπιγλωττιδικές πτυχές και τους αρυταινοειδείς χόνδρους και τον πρόδομο του λάρυγγα, που αποτελείται από την υποοειδική μοίρα της επιγλωττίδας. Επίσης περιλαμβάνει τις νόθες φωνητικές χορδές που αποτελούν δύο προβολές πάνω από τις γνήσιες φωνητικές χορδές και τις λαρυγγικές κοιλίες.

Η γλωττιδική περιοχή είναι το διάστημα μεταξύ των φωνητικών χορδών και χωρίζεται στη φωνητική μοίρα στα πρόσθια 2/3 και στην αναπνευστική στο οπίσθιο 1/3. Εντοπίζεται μεταξύ του εδάφους των λαρυγγικών κοιλιών έως ένα εκατοστό κάτω από τις γνήσιες φωνητικές χορδές. Περιλαμβάνει την πρόσθια, την οπίσθια εντομή και τις δύο γνήσιες φωνητικές χορδές οι οποίες είναι λευκωπές, λόγω μειωμένης αιμάτωσης και της παρουσίας του φωνητικού συνδέσμου και είναι επενδυμένες με πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο. Μεταξύ της νόθου και της γνήσιας φωνητικής χορδής υπάρχει ένα μικρό κόλπωμα, η επονομαζόμενη Μοργάνειος κοιλία.



Εικόνα 3: Επίπεδα λάρυγγα (πηγή: <https://nemertes.lis.upatras.gr>).

Η υπογλωττιδική περιοχή εκτείνεται 1cm κάτω από το ελεύθερο χείλος των γνήσιων φωνητικών χορδών έως το κατώτερο όριο του κρικοειδούς χόνδρου (1, 7, 10).

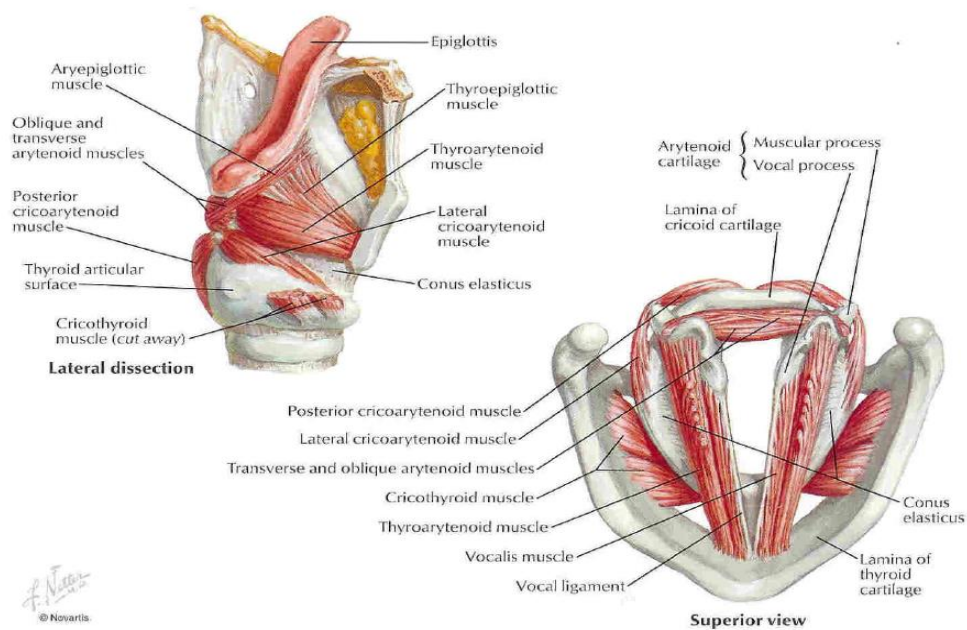
1.2.7 Μύες λάρυγγα

Διακρίνονται στους ετερόχθονες ή εξωτερικούς και στους αυτόχθονες ή εσωτερικούς.

Οι **ετερόχθονες μύες** συνδέουν τον λάρυγγα με γειτονικά όργανα. Διακρίνονται σε άνωθεν του υοειδούς (διγαστορας της κάτω γνάθου, βελονουοειδής, γναθουοειδής και γενειουοειδής), στους μύες του φάρυγγα (βελονοφαρυγγικός, κάτω σφικτήρας του φάρυγγα, σαλπυγοφαρυγγικός και φαρυγγουπερώιος) και στους κάτωθεν του υοειδούς οστού (στερνοθυρεοειδής, στερνουοειδής, ωμουοειδής και θυρεουοειδής) (3, 7, 12).

Οι **αυτόχθονες μύες** του λάρυγγα ρυθμίζουν το μήκος και την τάση των φωνητικών χορδών και το άνοιγμα της γλωττίδας (12). Διακρίνονται σε σφικτήρες, προσαγωγούς και απαγωγούς. Στους **σφικτήρες** ανήκει ο λοξός αρυταινοειδής μυς ο οποίος με τον αρυταινοεπιγλωττιδικό μυ, τον μεσαρυταινοειδή μυ, τους πλάγιους κρικοαρυταινοειδείς μυς κλείνουν τη γλωττίδα. Οι **απαγωγείς των φωνητικών χορδών** είναι ο οπίσθιος κρικοαρυταινοειδής μυς ο οποίος εκτείνεται από την οπίσθια επιφάνεια του πετάλου του κρικοειδούς χόνδρου, προς τα πάνω στη μυϊκή απόφυση του αρυταινοειδούς χόνδρου. Λειτουργία του η περιστροφή πλάγια των αρυταινοειδών χόνδρων, απάγοντας έτσι τις φωνητικές χορδές. Η δράση τους είναι αντίθετη με εκείνη των πλαγίων

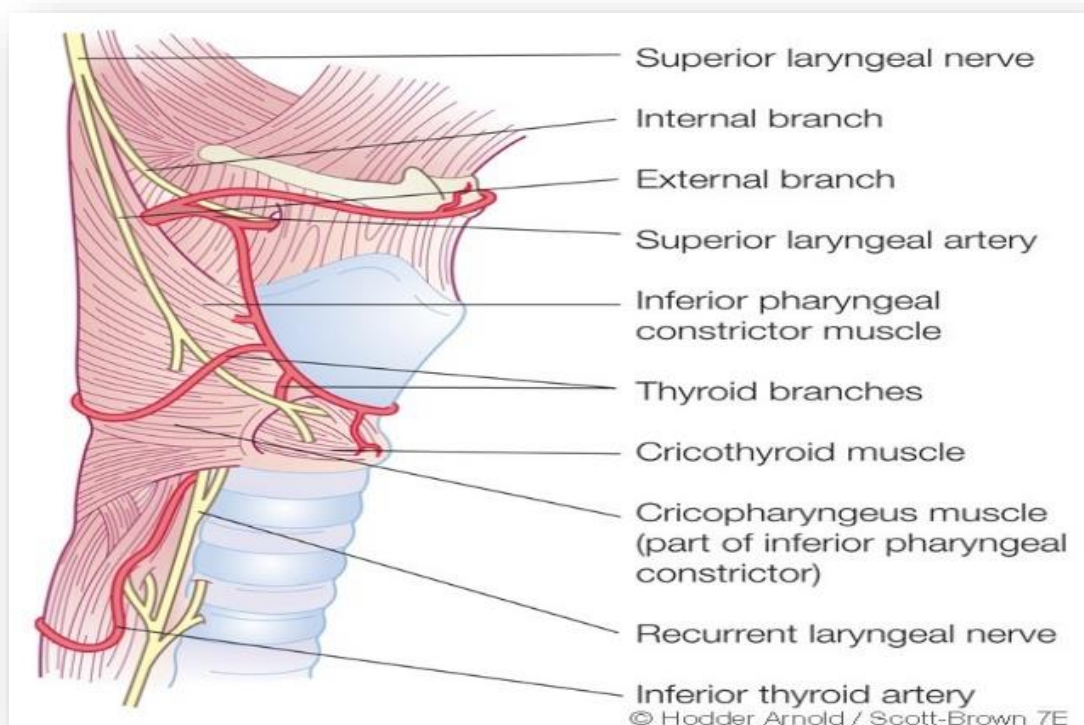
κρικοαρυταινοειδών μυών. Οι οπίσθιοι κρικοαρυταινοειδείς μύες λαμβάνουν νεύρωση από τον παλίνδρομο λαρυγγικό νεύρο, το οποίο νεύρο αποτελεί κλάδο του πνευμονογαστρικού νεύρου. Οι **προσαγωγείς των φωνητικών χορδών**, τρεις σε κάθε πλευρά, είναι οι εξής: Ο πλάγιος κρικοαρυταινοειδής μυς ο οποίος εκφύεται από το άνω χείλος του τόξου του κρικοειδή χόνδρου έως τη μυική απόφυση του αρυταινοειδούς χόνδρου σύστοιχα. Λειτουργία του η περιστροφή του αρυταινοειδή με τέτοιο τρόπο ώστε να γίνεται προσαγωγή της φωνητικής πτυχής. Λαμβάνει νεύρωση από τον παλίνδρομο λαρυγγικό νεύρο. Ο μεσαρυταινοειδής μυς (το εγκάρσιο τμήμα του) εκφύεται από την οπίσθια επιφάνεια του αρυταινοειδούς χόνδρου και καταφύεται στην αντίστοιχη επιφάνεια του ετερόπλευρου αρυταινοειδή. Το έξω τμήμα του θυρεοαρυταινοειδούς μύος εκφύεται από τη γωνία θυρεοειδούς χόνδρου και καταλήγει στην πρόσθιοπλάγια επιφάνεια του αρυταινοειδούς χόνδρου. Οι **τείνοντες των φωνητικών χορδών** μύες, δύο σε κάθε πλευρά, είναι οι εξής: Ο κρικοθυρεοειδής μυς εκφύεται από την πρόσθιοπλάγια επιφάνεια του τόξου του κρικοειδούς χόνδρου και καταφύεται στο θυρεοειδή χόνδρο. Με τη δράση του ανυψώνει το πρόσθιο τόξο του κρικοειδούς χόνδρου και καταστέλλει το οπίσθιο τμήμα του θυρεοειδούς χόνδρου. Αυτό δημιουργεί ένταση και επιμήκυνση των φωνητικών χορδών αλλάζοντας το ύψος της βασικής συχνότητας της παραγόμενης φωνής. Χαρακτηρίζεται ως εξωτερικός τείνων μυς και είναι ο μοναδικός μυς που νευρώνεται από τον έξω κλάδο του άνω λαρυγγικού νεύρου. Ο φωνητικός μυς ή το έσω τμήμα του θυρεοαρυταινοειδούς μύος εκφύεται από τον θυρεοειδή χόνδρο και καταφύεται στον αρυταινοειδή. Χαρακτηρίζεται ως εσωτερικός τείνων μυς και αποτελεί το απόθεμα της φωνητικής χορδής (5, 7, 8, 9, 10, 11, 12) **(Εικόνα 4)**.



Εικόνα 4: Μύες του λάρυγγα (πηγή: Άτλας Βασικών Ιατρικών Επιστημών F. Netter).

1.2.8 Αγγεία και νεύρα λάρυγγα

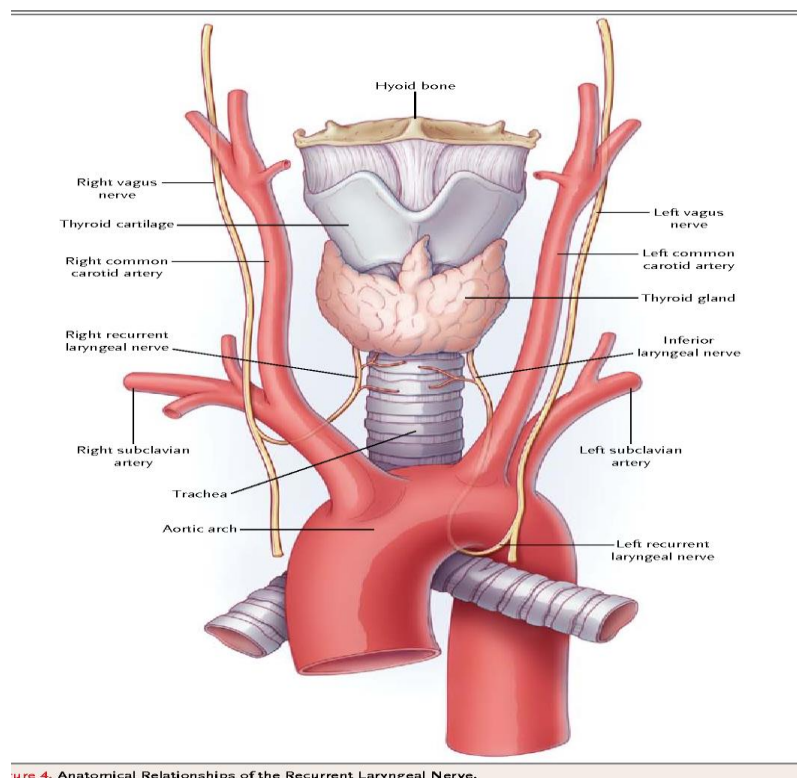
Οι άνω και οι κάτω λαρυγγικές αρτηρίες παρέχουν το μεγαλύτερο μέρος του αίματος στον λάρυγγα. Η άνω λαρυγγική αρτηρία προέρχεται από την άνω θυρεοειδή αρτηρία, η οποία αποτελεί κλάδο της έξω καρωτίδας και εισέρχεται στο λάρυγγα με τον έσω κλάδο του άνω λαρυγγικού νεύρου μέσω της θυρεοειδούς μεμβράνης, αιματώνοντας έτσι το άνω τμήμα του λάρυγγα. Η κρικοθυρεοειδής αρτηρία είναι ένας μικρός κλάδος της άνω θυρεοειδούς αρτηρίας η οποία αιματώνει τον κρικοθυρεοειδή μυ. Η κάτω λαρυγγική αρτηρία προέρχεται από την κάτω θυρεοειδή αρτηρία, η οποία αποτελεί κλάδο του θυρεοαυχενικού στελέχους και αυτό με τη σειρά του αποτελεί κλάδο της υποκλείδιας αρτηρίας. Συμπορεύεται με τον τελικό κλάδο του κάτω παλίνδρομου λαρυγγικού νεύρου και αιματώνει το κατώτερο τμήμα του λάρυγγα. Οι φλέβες συνοδεύουν τις αρτηρίες και τα νεύρα. Η άνω λαρυγγική φλέβα εκβάλλει στην άνω θυρεοειδή φλέβα και στη συνέχεια στην έσω σφαγιτίδα φλέβα. Η κάτω λαρυγγική φλέβα εκβάλλει στην κάτω θυρεοειδή φλέβα και στη συνέχεια στην αριστερή βραχιονοκεφαλική φλέβα (8, 9, 10, 11, 12) **(Εικόνα 5)**.



Εικόνα 5: Αγγείωση και νεύρωση λάρυγγα (πηγή: Hodder Arnold/ Scott-Brown 7E).

Ο λάρυγγας νευρώνεται από το άνω και κάτω λαρυγγικό νεύρο. Τα νεύρα αυτά αποτελούν κλάδους του πνευμονογαστρικού νεύρου (X). Το άνω λαρυγγικό νεύρο, εξέρχεται από τα κατώτερα γάγγλια του πνευμονογαστρικού, δέχεται ένα κλάδο από το άνω αυχενικό συμπαθητικό γάγγλιο και δίνει δύο κλάδους, το έσω και το έξω λαρυγγικό νεύρο. Το άνω έσω λαρυγγικό νεύρο διέρχεται από την θυρεοϋοειδή μεμβράνη με την άνω λαρυγγική αρτηρία και νευρώνει αισθητικά το βλεννογόνο του λάρυγγα μέχρι το επίπεδο των φωνητικών χορδών. Είναι υπεύθυνο για το αντανακλαστικό του βήχα. Το άνω έξω λαρυγγικό νεύρο είναι κινητικό, κατεβαίνει κάτω από το στερνοθυρεοειδή μυ και νευρώνει τον κάτω σφιγκτήρα του φάρυγγα και τον κρικοθυρεοειδή μυ. Η βλάβη σε αυτό το νεύρο κατά τη θυρεοειδεκτομή ή την κρικοθυρεοτομή προκαλεί βράγχος φωνής και αδυναμία παραγωγής ήχων υψηλής συχνότητας. Το κάτω λαρυγγικό ή παλίνδρομο νεύρο αριστερά, έχει πιο μακρά πορεία, εκφύεται από το πνευμονογαστρικό νεύρο στο ύψος του αορτικού τόξου, πορεύεται στην τραχειοοισοφαγική αύλακα, πίσω από το λοβό του θυρεοειδούς αδένα και εισέρχεται στο λάρυγγα στο ύψος του κάτω χείλους του κάτω σφιγκτήρα μυός του φάρυγγα. Το δεξιό κάτω λαρυγγικό εκφύεται από το πνευμονογαστρικό νεύρο στο ύψος της υποκλείδιας αρτηρίας. Διαιρούνται στον οπίσθιο – έσω αισθητικό κλάδο που

νευρώνει το λάρυγγα από τις φωνητικές χορδές και κάτω και τον πρόσθιο - πλάγιο κινητικό, που νευρώνει τους αυτόχθονες μύες του λάρυγγα, εκτός από τον κρικοθυρεοειδή μυ. Μερικές ίνες του έσω κλάδου του άνω λαρυγγικού νεύρου ενώνονται με αντίστοιχες του οπίσθιου – έσω αισθητικού κλάδου του κάτω λαρυγγικού νεύρου και σχηματίζουν την αγκύλη του Galen (Γαλήνιος αγκύλη) (5, 7, 8, 9, 10, 11, 12) (Εικόνα 6).



Εικόνα 6: Ανατομία κάτω λαρυγγικών νεύρων του λάρυγγα (πηγή: www.semanticscholar.org).

1.2.9 Λεμφαγγεία λάρυγγα

Τα λεμφαγγεία της υπεργλωττιδικής μοίρας του λάρυγγα πορεύονται κατά μήκος της άνω λαρυγγικής αρτηρίας, μέσω της θυρεοϋοειδούς μεμβράνης και παροχετεύουν στους άνω εν τω βάθει τραχηλικούς λεμφαδένες. Το λεμφικό δίκτυο της υπεργλωττιδικής μοίρας του λάρυγγα είναι πιο πλούσιο από αυτό της γλωττιδικής, γι'αυτό και οι λεμφαδενικές μεταστάσεις είναι πιο συχνές στους υπεργλωττιδικούς καρκίνους. Οι γνήσιες φωνητικές χορδές διαθέτουν φτωχό λεμφικό δίκτυο. Τα λεμφαγγεία της υπογλωττιδικής μοίρας του λάρυγγα πορεύονται μαζί με την κάτω θυρεοειδική αρτηρία και παροχετεύουν στους προτραχειακούς και παρατραχειακούς λεμφαδένες και στη συνέχεια στους κάτω εν τω βάθει τραχηλικούς λεμφαδένες (8, 9, 10, 11, 12).

1.3 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΛΑΡΥΓΓΑ

Οι λειτουργίες του λάρυγγα είναι η προστασία του αεραγωγού κατά τη διάρκεια της κατάποσης, η αναπνοή και η φώνηση.

1.3.1 Προστασία αεραγωγού

Αποτελεί τη σημαντικότερη λειτουργία. Κατά τη φαρυγγική φάση της κατάποσης επάγεται κλείσιμο του λάρυγγα σε τρία επίπεδα και μια πρόσθια-άνω κίνησή του και του υοειδούς οστού. Ο βλωμός της τροφής εισέρχεται στην οπισθοκρικοειδική περιοχή και στον οισοφάγο περνώντας πάνω από την επιγλωττίδα ή ακολουθώντας τους αποειδείς βόθρους (1, 3, 7, 12).

Σε αυτό το σημείο πρέπει να αναφερθεί ότι στην προστασία του αεραγωγού, είναι αδιαμφισβήτητα σημαντικό το αντανακλαστικό σύγκλεισης της γλωττίδας το οποίο δημιουργείται από το άνω λαρυγγικό και το παλίνδρομο λαρυγγικό νεύρο και εκλύεται περίπου σε 25 msec. Ακραία εκδήλωση του φυσιολογικού αυτού φαινομένου είναι ο λαρυγγόσπασμος, ο οποίος ως γνωστόν επιβαρύνει την αναπνευστική λειτουργία.

Τέλος ο βήχας αποτελεί βασικό στοιχείο της προστασίας του αεραγωγού και της αποβολής των εκκρίσεων του τραχειοβρογχικού δέντρου ή οποιασδήποτε άλλης ερεθιστικής ουσίας και εκλύεται με έντονη σύσπαση των εκπνευστικών μυών, σύγκλειση των φωνητικών χορδών και των κοιλιαίων πτυχών και βίαιη εκπνοή (1, 3, 7, 9, 12).

1.3.2 Αναπνοή

Επιτελείται από το κατώτερο αναπνευστικό, όμως ο λάρυγγας συμμετέχει ενεργά ελέγχοντας τη διάμετρο του αεραγωγού. Αυτό επιτυγχάνεται με τους οπίσθιους κρικοαρυταινοειδείς μύες που είναι οι μόνοι με απαγωγική ικανότητα. Η ενέργεια αυτή υπόκειται σε κεντρικό έλεγχο και ενισχύεται από διάφορα ερεθίσματα όπως η υπερκαπνία, η θερμοκρασία και η υγρασία (1, 3, 7, 12).

1.3.3 Φώνηση

Για να παραχθεί η φωνή απαιτείται ρεύμα αέρα από τους πνεύμονες, δόνηση των φωνητικών χορδών και αντηχεία όπως η μύτη, οι παραρρίνιοι κόλποι, ο φάρυγγας, η στοματική κοιλότητα, η γλώσσα, τα χείλη και τα δόντια. Περιγράφεται ότι η

επικρατέστερη θεωρία είναι η «μυο-ελαστική-αεροδυναμική θεωρία» όπου οι φωνητικές χορδές οι οποίες βρίσκονται στη μέση γραμμή δονούνται από τον εκπνεόμενο αέρα, όταν η υπογλωττιδική πίεση υπερβεί την αντίστασή τους, με αποτέλεσμα να απομακρύνονται από κάτω προς τα πάνω και να ανοίγει η γλωττίδα. Όταν η υπογλωττιδική πίεση γίνει μικρότερη της αντίστασης των φωνητικών χορδών τότε κλείνει η γλωττίδα, αρχικά στο οπίσθιο γλωττιδικό άκρο, ενώ το πρόσθιο άκρο είναι ακόμη ανοιχτό. Αυτή η διαφορά φάσης είναι η ουσία για τον γλωττιδικό κύκλο και αντιστοιχεί στο βλεννογονικό κύμα που βλέπουμε στη στροβοσκόπηση (1, 7, 10, 11, 12).

1.3.4 Αύξηση ενδοθωρακικής πίεσης

Ο χειρισμός Valsava συνιστάται σε σύγκλιση της γλωττίδας που οδηγεί σε καθήλωση του θώρακα και αύξηση της ενδοθωρακικής και της ενδοκοιλιακής πίεσης. Αυτό είναι απαραίτητο σε φυσιολογικές λειτουργίες όπως η ούρηση, η αφόδευση, η άρση βάρους και ο τοκετός (1, 7, 12).

1.4 ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ ΛΑΡΥΓΓΑ

Ο χόνδροι του λάρυγγα είναι υαλοειδείς, εκτός από ορισμένες εξαιρέσεις όπως η επιγλωττίδα, οι κερατοειδείς, οι σφηνοειδείς χόνδροι και οι φωνητικές αποφύσεις των αρυταινοειδών χόνδρων που αποτελούνται από ελαστικό χόνδρο (3). Ο αυλός του λάρυγγα είναι επενδυμένος κυρίως με ψευδοπολύστιβο, κροσσωτό αναπνευστικό επιθήλιο και η υποβλεννογόνια στιβάδα περιέχει άφθονους βλεννώδεις και ορώδεις αδένες. Η λαρυγγική επιφάνεια της επιγλωττίδας, αποτελείται από παρόμοιο αναπνευστικό επιθήλιο. Ωστόσο, η γλωσσική της επιφάνεια, είναι επενδεδυμένη με μη κερατινοποιημένο πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο. Οι φωνητικές χορδές επενδύονται με ένα παχύ μη κερατινοποιημένο, πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο, το οποίο προστατεύει τον βλεννογόνο από την τριβή που προκαλείται από την ταχεία κίνηση του αέρα κατά την αναπνοή και την φώνηση (5, 8, 9, 10, 11). Οι φωνητικές χορδές στερούνται αδένων και γι'αυτό το επιθήλιό τους είναι ευάλωτο στη ξήρανση και η λίπανσή του γίνεται από τις εκκρίσεις των γειτονικών οροβλεννωδών αδένων που αφθονούν στη λαρυγγική κοιλία και τις νόθες φωνητικές χορδές (1).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2.1 ΚΑΛΟΗΘΕΙΣ ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ ΛΑΡΥΓΓΑ

2.1.1 Θηλώματα

Είναι το πιο συχνό καλοήθες νεόπλασμα του λάρυγγα θηλωματώδους μορφολογίας, που μπορεί να εμφανιστεί σε οποιοδήποτε σημείο του αναπνευστικού συστήματος (13, 14). Έχει αποδειχθεί με ανοσοϊστοχημεία και *in situ* υβριδισμό ότι οφείλεται στον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV), συνηθέστερα στους τύπους 6 και 11 (15). Ο τρόπος μετάδοσης διαπιστώθηκε ότι διαφέρει ανάλογα με την ηλικία (15, 16). Η νόσος χωρίζεται σε δύο μορφές, την νεανική υποτροπιάζουσα θηλωμάτωση και την θηλωμάτωση των ενηλίκων με βάση αν εμφανίζεται πριν ή μετά τα 12 χρόνια (13, 17). Η νεανική υποτροπιάζουσα θηλωμάτωση του αναπνευστικού εμφανίζεται από την νεογνική ηλικία έως 12 ετών, με αιχμή στο 3^ο με 4^ο έτος. Η συχνότητα εμφάνισης είναι ίδια για τα δύο φύλα και μεταδίδεται μέσω επαφής με το μολυσμένο κανάλι του κόλπου της μητέρας κατά τον τοκετό (12, 16). Η θηλωμάτωση των ενηλίκων εμφανίζεται κυρίως την 3^η και την 4^η δεκαετία, είναι συχνότερη στους άνδρες και η στοματοφαρυγγική επαφή έχει εμπλακεί ως τρόπος μετάδοσης (12, 15, 16). Ωστόσο δεν είναι βέβαιο αν αυτό μεταδίδει απευθείας τον ιό (16) ή ενεργοποιεί τον αδρανοποιημένο ιό που μεταδόθηκε κατά τον τοκετό (15, 16). Η συχνότητα εμφάνισης είναι περίπου 4,3 περιπτώσεις ανά 100.000 παιδιά και 1,8 περιπτώσεις ανά 100.000 ενήλικες ετησίως (18). Ιστολογικά πρόκειται για θηλώδεις εκβλαστήσεις που επικαλύπτονται από καλά διαφοροποιημένα κύτταρα πλακώδους επιθηλίου. Χαρακτηρίζονται από κοιλοκυττάρωση (διαυγής ζώνης που περιβάλλει τον πυρήνα) και πυρηνική ατυπία (3, 12). Πρέπει να αναφερθεί ότι το συνηθέστερο σύμπτωμα είναι το βράγχος φωνής. Καθώς η νόσος εξελίσσεται, μπορεί να εμφανισθούν δευτεροπαθή συμπτώματα όπως δυσφαγία, πνευμονία, σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας και επαναλαμβανόμενες λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού (19, 20). Στα παιδιά, τα συμπτώματα είναι συνήθως πιο σοβαρά και συχνά εκλαμβάνονται για εκδηλώσεις άλλων ασθενειών (άσθμα, βρογχίτιδα ή υποτροπιάζουσα υπογλωττιδική λαρυγγίτιδα). Έτσι λοιπόν σε πολλές περιπτώσεις η διάγνωση καθυστερεί (20, 21). Η λαρυγγοσκόπηση (έμμεση ή άμεση ή με ενδοσκόπιο) αναδεικνύει την ύπαρξη ανθοκραμβοειδών εξωφυτικών ωχρέρυθρων βλαβών, με ύφη μαλακή παρόμοια με κουνουπίδι, που αναπτύσσονται σε περιοχές που μεταπίπτει το πλακώδες επιθήλιο σε αναπνευστικό (17, 21, 22, 23). Τα θηλώματα συνήθως εμφανίζονται

στις φωνητικές χορδές και στις λαρυγγικές κοιλίες (13, 24, 25) **(Εικόνα 7)**. Μια επιβεβαιωτική διάγνωση επιτυγχάνεται μόνο μέσω άμεσης λαρυγγοσκόπησης υπό γενική αναισθησία και λήψη βιοψίας, που περιλαμβάνει μικροσκοπική εξέταση και εξέταση HPV-DNA του δείγματος (17, 22).

Λίγα είναι γνωστά όσον αφορά την αποτελεσματικότητα των μέσων πρόληψης. Λόγω της χαμηλής πιθανότητας μετάδοσης από μια μολυσμένη μητέρα (μεταξύ 1 στα 231 έως 1 στα 400), δε συνιστάται η έκθεση της μητέρας και του παιδιού στους πρόσθετους κινδύνους της καισαρικής τομής για την πρόληψη της μετάδοσης της νόσου κατά τη διάρκεια του κοιλιακού τοκετού γι' αυτό και θα πρέπει να προτείνεται σε εξατομικευμένη βάση (15, 16). Όσον αφορά το εμβόλιο για τον HPV δεν είναι σίγουρο ότι θα μειώσει την εμφάνιση των θηλωμάτων του αναπνευστικού συστήματος στο μέλλον (12).

Οι θεραπείες έχουν ως στόχο την εξάλειψη και τον περιορισμό των υποτροπών (26). Οι επανειλημμένες θεραπείες απαιτούνται συχνά λόγω της επαναλαμβανόμενης φύσης του ιού, ειδικά για τα παιδιά, καθώς η νεανική μορφή προκαλεί συχνά επιθετικότερες υποτροπές από τη μορφή ενηλίκου. Το πιο σημαντικό δεδομένο είναι ότι η νεανική μορφή της νόσου δεν εξαλλάσσεται (14, 17, 26, 27). Μεταξύ των υποτροπών, η φωνητική θεραπεία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αποκατάσταση ή τη διατήρηση της φωνητικής λειτουργίας των ατόμων (23). Η πρώτη γραμμή θεραπείας είναι αδιαμφισβήτητα η χειρουργική επέμβαση (17, 27). Ειδικότερα η χειρουργική επέμβαση με λέιζερ διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) έχει χρησιμοποιηθεί από τη δεκαετία του 1970 για την αφαίρεση των θηλωμάτων. Ωστόσο, ενέχει κινδύνους και έχει συσχετιστεί με υψηλότερη εμφάνιση εγκυμάτων της αναπνευστικής οδού λόγω θερμικής βλάβης, ανάπτυξης ουλώδους ιστού, στένωσης και τραχειοοισοφαγικών συριγγίων (14, 17, 26, 27). Αν και χρήσιμη η τραχειοτομή προσφέρεται για τις πιο επιθετικές περιπτώσεις, όπου πολλαπλές αποτυχημένες χειρουργικές επεμβάσεις έχουν οδηγήσει σε διαταραχή του αεραγωγού (21). Αυτή η μέθοδος θα πρέπει να αποφεύγεται αν είναι δυνατόν, καθώς μπορεί να χρησιμεύσει ως αγωγός για την εξάπλωση της νόσου πιο κάτω, στο τραχειοβρογχικό δέντρο (14, 17). Τελευταία, για τον ίδιο σκοπό χρησιμοποιείται το λαρυγικό microdebrider, εργαλείο που μπορεί να αναρροφά ιστό σε μια λεπίδα και στη συνέχεια να τον κόβει, είναι λιγότερο δαπανηρό, λιγότερο χρονοβόρο και πιθανότατα μπορεί να δώσει καλύτερη ποιότητα φωνής από τις παραδοσιακές χειρουργικές επεμβάσεις με λέιζερ (14, 27).

Περίπου στο 20% των ατόμων, η χειρουργική επέμβαση δεν επαρκεί για τον έλεγχο της νόσου και είναι αναγκαίες συμπληρωματικές μη χειρουργικές θεραπείες (17). Αυτές περιλαμβάνουν υποδόρια έγχυση ιντερφερόνης, αντιικών φαρμάκων (ιδιαίτερα cidofovir,

αλλά και ribavirin και acyclovir) και φωτοδυναμική θεραπεία με στόχο να επιβραδύνουν την εμφάνιση υποτροπών και να αυξήσουν τα μεσοδιαστήματα μεταξύ των χειρουργικών επεμβάσεων (14, 17, 23, 26, 27). Η εξέλιξη της πάθησης είναι απρόβλεπτη και οι βλάβες μπορούν να επανεμφανιστούν ακόμη και μετά τη θεραπεία (13, 21, 28). Παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν την κλινική πορεία της πάθησης είναι: ο γονότυπος του HPV, η ηλικία κατά την έναρξη της νόσου, ο χρόνος που μεσολαβεί μεταξύ της διάγνωσης και της πρώτης θεραπείας. Άλλοι παράγοντες επίσης, όπως το κάπνισμα ή η παρουσία γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης, μπορεί πιθανότατα να διαδραματίσουν ρόλο στην πρόοδο της νόσου (13, 17, 24). Σε πιο επιθετικές περιπτώσεις, μπορεί να εμφανιστεί βαριά πνευμονία με προοδευτική απόφραξη των αεραγωγών. Αν και σπάνια παρουσιάζεται, πρέπει να αναφερθεί ότι (< 1% των ανθρώπων με λαρυγγική θηλωμάτωση των ενηλίκων), παρατηρείται μετάπτωση από καλοήγη μορφή σε κακοήγη μορφή. Το ποσοστό νοσηρότητας κυμαίνεται περίπου στο 1-2% (19, 20) (Εικόνα 7).



Εικόνα 7: Θηλώματα λάρυγγα

(πηγή: <https://www.chop.edu/conditions-diseases/recurrent-respiratory-papillomas>).

Άλλοι σπάνιοι καλοήθεις όγκοι του λάρυγγα είναι (3, 12):

- Χόνδρωμα
- Νευροίνωμα
- Ραβδομύωμα
- Λειομύωμα
- Αιμαγγείωμα
- Νευροενδοκρινικοί όγκοι
- Λίπωμα
- Ογκοκυτταρικοί όγκοι

2.2 ΚΑΚΟΗΘΕΙΣ ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ ΛΑΡΥΓΓΑ

2.2.1 Προκαρκινωμάτωσης καταστάσεις

Το φυσιολογικό λαρυγγικό επιθήλιο όταν εκτεθεί σε τοξικούς παράγοντες για μεγάλο χρονικό διάστημα υφίσταται μια σειρά αλλοιώσεων. Κάποιες από αυτές δεν οδηγούν σε καρκινωμάτωση εξαλλαγή και όταν απομακρυνθεί ο ερεθιστικός παράγοντας υποχωρούν, ενώ άλλες προδιαθέτουν την εμφάνιση καρκίνου. Στις δεύτερες ανήκουν η λευκοπλακία, η υπερπλασία ή υπερκεράτωση χωρίς ατυπία, η μεταπλασία ή υπερκεράτωση με ατυπία και η δυσπλασία.

Η λευκοπλακία δεν είναι παθολογοανατομική διάγνωση, αλλά μακροσκοπική εικόνα μιας λευκωπής, πάχυνσης ή υπερπλασίας του επιθηλίου που εμφανίζεται κυρίως στις φωνητικές χορδές και απαιτεί βιοψία. Η εμφάνισή της σχετίζεται με το κάπνισμα και άλλους βλαπτικούς παράγοντες της χρόνιας λαρυγγίτιδας (3, 12).

Η υπερπλασία είναι η αύξηση του αριθμού των κυττάρων ενός ιστού, λόγω αυξημένων μιτώσεων, χωρίς αλλοιώσεις στην μορφολογία ή την ωρίμανσή τους. Για μερικούς θεωρείται συνώνυμη με την υπερκεράτωση χωρίς ατυπία του λάρυγγα. Το κάπνισμα και η φωνητική καταπόνηση είναι οι συνηθέστεροι τραυματικοί παράγοντες που προκαλούν πάχυνση του πλακώδους επιθηλίου των φωνητικών χορδών. Η υπερπλασία ξεκινάει από τη βασική στιβάδα του πλακώδους επιθηλίου (Βασική Υπερπλασία). Κλινικά μπορεί να εκδηλωθεί με επίμονο βράγχος φωνής. Η παραπάνω διαδικασία είναι αναστρέψιμη και η άρση των ερεθισμάτων διακόπτει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, οπότε περιγράφεται ότι το επιθήλιο επανέρχεται στην αρχική του κατάσταση (1, 3, 7, 12).

Η μεταπλασία πρόκειται για αναστρέψιμη αλλαγή, στην οποία αντικαθίσταται το επιθήλιο από άλλο κυτταρικό τύπο. Είναι προστατευτικός μηχανισμός του κυλινδρικού λαρυγγικού επιθηλίου, το οποίο αντικαθίσταται από πλακώδες, ως απάντηση στην έκθεση σε ερεθιστικούς παράγοντες (κάπνισμα). Από μόνη της δεν εξαλλάσσεται σε καρκίνο, αλλά αν επιμείνει η έκθεση σε βλαπτικές ουσίες εμφανίζονται προκαρκινικές αλλοιώσεις και τελικά όγκος (1, 3, 7, 12).

Η δυσπλασία είναι η διαταραγμένη αλλά όχι νεοπλασματική επιθηλιακή αρχιτεκτονική που χαρακτηρίζεται από κυτταρική ατυπία, έλλειψη ομοιομορφίας και προσανατολισμού των κυττάρων, ενώ η βασική μεμβράνη είναι άθικτη. Η λαρυγγική δυσπλασία ονομάζεται λαρυγγική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (laryngeal intraepithelial neoplasia,

LIN) όρος που χρησιμοποιήθηκε από τους Friedmann και Ferlito. Ανάλογα με την έκταση της επιθηλιακής βλάβης και το πάχος του επιθηλίου που εμφανίζει απώλεια στιβαδοποίησης η δυσπλασία χωρίζεται σε ήπια (LIN I), μέτρια (LIN II) και βαριά δυσπλασία (LIN III) (3, 12).

2.2.2 In situ καρκίνωμα

Πρόκειται για έντονη δυσπλασία σε όλο το πάχος του επιθηλίου χωρίς ρήξη της βασικής μεμβράνης. Συχνά, αποτελεί προοδευτική εξέλιξη μιας δυσπλασίας, αλλά μπορεί να εμφανισθεί και απευθείας σε φυσιολογικό επιθήλιο. Αποτελεί μη αναστρέψιμη βλάβη, η οποία όμως δε μεθίσταται. Περιγράφεται όμως ότι αν δεν απομακρυνθεί εγκαίρως, θα εξελιχθεί σε διηθητικό καρκίνωμα. Αν παρουσιαστεί διήθηση της βασικής μεμβράνης ονομάζεται μικροδιηθητικό καρκίνωμα (3, 7, 12).

2.2.3 Καρκίνος του λάρυγγα

Αναφέρεται ότι οι κακοήθειες της ανώτερης αερο-πεπτικής οδού είναι η κύρια αιτία θανάτου στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής. Μεταξύ αυτών, το πλακώδες καρκίνωμα είναι το πιο συχνό καρκίνωμα. Περίπου 40.000 νέοι ασθενείς διαγιγνώσκονται κάθε χρόνο με καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων της κεφαλής και του τραχήλου στις Ηνωμένες Πολιτείες (1, 12, 29).

2.2.3.1 Επιδημιολογία

Ο καρκίνος του λάρυγγα, σύμφωνα με διεθνή στοιχεία, αντιπροσωπεύει το 30% έως 40% όλων των κακοήθων όγκων της κεφαλής και του τραχήλου και το 1% έως 2,5% όλων των κακοήθων νεοπλασμάτων του ανθρωπίνου σώματος (34). Επιπλέον, αντιστοιχεί στο 0,7% όλων των νέων περιπτώσεων καρκίνου στις Η.Π.Α, καταλαμβάνοντας την 22η θέση στη σειρά συχνότητας. Είναι ο δεύτερος πιο κοινός καρκίνος του αναπνευστικού συστήματος με πρώτο τον καρκίνο του πνεύμονα. Η επίπτωσή του αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου σε μεγάλο μέρος του κόσμου και αυτή η αύξηση είναι γενικά αποδεκτή και σχετίζεται με τις αλλαγές στην κατανάλωση καπνού και αλκοόλ. Η επίπτωση, προσαρμοσμένη στην ηλικία, είναι 3,6 ανά 100.000 με θνησιμότητα 1.3 ανά 100.000. Το 2017, εκτιμάται ότι υπήρξαν 13.360 νέες περιπτώσεις καρκίνου του λάρυγγα και περίπου

3.660 άνθρωποι κατέληξαν από αυτή την ασθένεια. Το 2018 καταγράφηκαν 13.150 νέες περιπτώσεις και περίπου 3.710 ασθενείς απεβίωσαν ενώ το 2019 έχουν καταγραφεί 12.410 νέα περιστατικά και οι υπολογιζόμενοι θάνατοι ανέρχονται σε 3.760 άτομα (29). Μια μελέτη από τους Marchiano και συν. έδειξε ότι οι καρκίνοι εκ πλακωδών κυττάρων έχουν αναλογία αρρένων προς θήλειες 3,83:1. Η έκθεση περιελάμβανε 889 περιπτώσεις από τη βάση δεδομένων του προγράμματος του Εθνικού Κέντρου Παρακολούθησης, Επιδημιολογίας και Τελικών Αποτελεσμάτων (SEER) του Εθνικού Ινστιτούτου Καρκίνου. Σύμφωνα με τη μελέτη Marchiano, εμφανίζεται κατά κύριο λόγο στους άνδρες κατά την πέμπτη έως την έβδομη δεκαετία της ζωής (30). Περίπου 0,3% των ανδρών και των γυναικών θα διαγνωσθούν με καρκίνο του λάρυγγα κάποια στιγμή κατά τη διάρκεια της ζωής τους.

2.2.3.2 Παράγοντες κινδύνου

Ο σημαντικότερος παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη του καρκίνου του λάρυγγα είναι η χρήση καπνού. Ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του λάρυγγα αυξάνει με το κάπνισμα και μειώνεται μετά τη διακοπή του. Όταν συνδυάζεται με την πρόσληψη αλκοόλ, δημιουργείται ένα ισχυρό συνεργικό αποτέλεσμα. Ωστόσο, το αλκοόλ είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου, ακόμη ασαφής. Οι πιθανοί παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την ανάπτυξη του καρκίνου του λάρυγγα περιλαμβάνουν (1, 3, 7, 12):

- Χρήση καπνού
- Υπερβολική χρήση αιθανόλης
- Ανδρικό φύλο
- Λοίμωξη με ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV)

Ο ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV) είναι ένας μικρός, δίκλωνος DNA ιός. Ο HPV 16 είναι ο πιο συχνός ογκογονικός υπότυπος και είναι υπεύθυνος για περίπου 55% των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας παγκοσμίως (165). Ο καρκίνος του λάρυγγα, ως γνωστόν, προκαλείται κυρίως από το κάπνισμα και την κατανάλωση αλκοόλ. Ωστόσο, ιογενείς λοιμώξεις συμπεριλαμβανομένου του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV), έχουν επίσης συσχετιστεί με τον καρκίνο κεφαλής και τραχήλου (107) και συγκεκριμένα με τον καρκίνο του στοματοφάρυγγα (112, 118). Τα τελευταία χρόνια, μελέτες έχουν δείξει ότι η λοίμωξη από τον ιό HPV μπορεί να είναι υψηλού κινδύνου παράγοντας και για τον καρκίνο του λάρυγγα και να σχετίζεται στενά με την ανάπτυξη και την πρόγνωση του

(132). Ωστόσο, ο ογκογονικός ρόλος της λοίμωξης από τον HPV στο λάρυγγα δεν έχει ακόμη διευκρινηθεί πλήρως. Οι Yang και συν. σε μία ανασκόπηση το 2019, αναφέρουν ότι το ποσοστό μόλυνσης του ιού HPV ήταν σχετικά υψηλότερο σε Κινέζους ασθενείς με καρκίνο του λάρυγγα από τους Ευρωπαίους και τους Αμερικάνους (132). Εντούτοις, άλλες μελέτες ανέδειξαν ότι η HPV λοίμωξη δεν επηρεάζει την εμφάνιση, την ανάπτυξη ή την πρόγνωση του καρκίνου του λάρυγγα. Επί του παρόντος είναι άγνωστο αν υπάρχει αιτιώδης συσχέτιση μεταξύ του HPV και του καρκίνου του λάρυγγα εκ πλακωδών κυττάρων (LSCC), καθώς ο επιπολασμός του ποικίλλει, από 0% έως 75%. Αυτό το ευρύ φάσμα μπορεί οφείλεται στις γεωγραφικές διαφορές των υπό μελέτη πληθυσμών, σε εσφαλμένη ταξινόμηση του όγκου ή σε ανάμειξη των LSCC με όγκους διαφορετικής εντόπισης, όπως τα στοματοφαρυγγικά καρκινώματα. Οι Cui και συν. στη μελέτη τους που δημοσιεύθηκε το 2018 επισημαίνουν ότι η ύπαρξη του HPV σε μια μεταγραφικά ενεργή μορφή αποτελεί το **gold standard** για την ογκογένεση. Επιπλέον, αναφέρουν ότι η αιτιολογική συσχέτιση του HPV στην παθογένεση του SCC περιλαμβάνει: (α) παρουσία τουλάχιστον 1 αντιγράφου του ιικού γονιδιώματος ανά καρκινικό κύτταρο (β) ενεργή μεταγραφή των ικών ογκογονιδίων E6 και E7 και (γ) αλληλεπίδραση των ικών ογκοπρωτεϊνών με κεντρικές κυτταρικές ρυθμιστικές πρωτεΐνες, όπως η p16 (166).

- Αυξημένη ηλικία
- Δίαιτες φτωχές σε φυτικές ίνες
- Δίαιτα πλούσια σε παστό κρέας και διαιτητικά λίπη
- Εργασία σε εργοστάσιο μετάλλων ή πλαστικών
- Έκθεση στο χρώμα
- Έκθεση σε καυσαέρια ντίζελ και βενζίνης
- Έκθεση στον αμίαντο
- Έκθεση σε ακτινοβολία
- Λαρυγγοφαρυγγική παλινδρόμηση

Μια μελέτη του Zhao et al πρότειναν ότι υφίσταται μία συσχέτιση μεταξύ της υπερέκφρασης της HDAC1 και των κλινικών χαρακτηριστικών του καρκίνου του λάρυγγα εκ πλακωδών κυττάρων. Αναλυτικότερα υποδεικνύεται συσχέτιση μεταξύ αυξημένης έκφρασης της HDAC1 και την ταξινόμηση T, το κλινικό στάδιο και τη θέση του όγκου, τις λεμφαδενικές μεταστάσεις και την ευαισθησία του καρκίνου σε ακτινοθεραπεία, με

υψηλότερη έκφραση της HDAC1 σε χαμηλής ευαισθησίας δείγματα καρκίνου. Οι ασθενείς στους οποίους η HDAC1 υπερεκφράστηκε και ήταν χαμηλής ευαισθησίας στην ακτινοθεραπεία είχαν φτωχότερη πενταετή επιβίωση (31).

2.2.3.3 Ιστολογικά ευρήματα

Η συντριπτική πλειονότητα των καρκίνων του λάρυγγα είναι το καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων σε ποσοστό 95% έως 98%, το οποίο ιστολογικά είναι παρόμοιο με τον καρκίνο εκ πλακωδών κυττάρων που ανευρίσκεται οπουδήποτε αλλού στο ανθρώπινο σώμα (34). Το φάσμα κυμαίνεται από υπερπλασία, ήπια έως σοβαρή δυσπλασία, *in situ* και διηθητικό καρκίνωμα. Κατά καιρούς, αυτά τα στάδια δεν μπορούν να παρατηρηθούν σε ένα διηθητικό καρκίνωμα. Επιπλέον, μερικά καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων του λάρυγγα μπορεί να προκύψουν *de novo* χωρίς στάδιο *in situ*. Αυτή η διαδικασία αποδείχθηκε για όγκους του στοματοφάρυγγα και υπάρχουν ενδείξεις που υποδεικνύουν ότι αυτό μπορεί να ισχύει και στους όγκους του λάρυγγα. Μακροσκοπικά οι υπεργλωττιδικοί όγκοι είναι εξωφυτικοί, υβώδεις με εξελκωμένες περιοχές. Το γλωττιδικό καρκίνωμα έχει λευκωπή « ανθοκραμβοειδή » εμφάνιση ενώ οι υπογλωττιδικοί όγκοι είναι επίπεδοι με εξέλκωση. Περίπου 5-7 κυτταρικά στρώματα ανευρίσκονται στο φυσιολογικό λάρυγγα. Σε ορισμένες περιοχές επενδύονται από πλακώδες επιθήλιο, και σε άλλες (π.χ. λαρυγγική κοιλία, νόθες φωνητικές χορδές και υπογλωττιδικά) από ψευδοπολύστιβο αναπνευστικό επιθήλιο. Οι πυρήνες στην βάση είναι επιμήκεις, με το μακρύ άξονά τους κάθετο προς τη βασική μεμβράνη. Στο βασικό υμένα υπάρχουν κανονικές μιτωτικές μορφές που πρέπει να απουσιάζουν από το δεύτερο στρώμα. Καθώς τα κύτταρα μετακινούνται προς την επιφάνεια, οι πυρήνες γίνονται ωοειδείς και έπειτα πλήρεις κύκλοι. Στην τέταρτη με πέμπτη στρώση από τον πυθμένα, όλα τα πλακώδη κύτταρα θα πρέπει να έχουν κυκλικούς πυρήνες. Στη συνέχεια οι πυρήνες συνεχίζουν προς τα επάνω και επιμηκύνονται ξανά, με το μακρύ άξονα παράλληλο προς την επιφάνεια. Η κερατινοποίηση της επιφάνειας μπορεί να είναι παρούσα ή όχι.

Η δυσπλασία υπάρχει όταν οι ωοειδείς πυρήνες και οι μιτωτικές μορφές εμφανίζονται υψηλότερα στο επιθήλιο, πέρα από το δεύτερο στρώμα. Σε ήπιες δυσπλασίες αυτά τα άτυπα κύτταρα εκτείνονται περίπου στο ένα τρίτο της διαδρομής προς την επιφάνεια, στη μέτρια δυσπλασία φθάνουν τα δύο τρίτα προς την επιφάνεια, και στη σοβαρή δυσπλασία περιλαμβάνεται το σύνολο του πάχους του επιθηλίου. Η σοβαρή δυσπλασία είναι

παρόμοια με το *in situ* καρκίνωμα, το οποίο είναι μια βλάβη σε όλο το πάχος του επιθηλίου με τυπικές και άτυπες μιτώσεις. Τα ίδια τα επιμέρους κύτταρα είναι παράξενα στην εμφάνιση, μεγωνιώδεις πυρήνες, μεμιτωτικά σχήματα, με αποπτωτικά κύτταρα, με υπερχρωμία, και αυξημένη σχέση πυρήνα-κυτταροπλάσματος.

Το διηθητικό καρκίνωμα εκπλακωδών κυττάρων σημαίνει ότι τα μη φυσιολογικά πλακώδη κύτταρα, και συχνά η κερατίνη, διηθούν τη βασική μεμβράνη. Τα κύτταρα μπορεί να εκτείνονται βαθιά μέσα στους υποκείμενους ιστούς και μπορεί να διηθούν χόνδρους, νεύρα, αιμοφόρα αγγεία και λεμφαγγεία.

Μικροσκοπικά τα ιστοπαθολογικά χαρακτηριστικά τους είναι: αναρχία στο μέγεθος και στο σχήμα, υπερχρωμία, αύξηση του λόγου πυρήνα / κυτταροπλάσματος, άναρχη κατανομή χρωματίνης στον πυρήνα, μεγάλο μέγεθος πυρηνίσκων, αυξημένες μιτώσεις, ατυπία, δημιουργία πολυπύρηνων γιγαντοκυττάρων, διαταραγμένη αρχιτεκτονική και προσανατολισμός των κακοηθών κυττάρων. Ανάλογα με το βαθμό διαφοροποίησης, τα καρκινώματα διακρίνονται σε τρεις ιστολογικές κατηγορίες: υψηλή, μέτρια και χαμηλή διαφοροποίηση (3, 12, 32, 33).

2.2.3.4 Ταξινόμηση κατά θέση εμφάνισης

Ο λάρυγγας χωρίζεται στην υπεργλωττιδική, τη γλωττιδική και την υπογλωττιδική μοίρα. Γλωττιδικοί όγκοι: Περιλαμβάνουν τις γνήσιες φωνητικές χορδές, την πρόσθια και την οπίσθια εντομή. Συνιστούν το 70% όλων των περιπτώσεων και συνήθως αναπτύσσονται στο πρόσθιο τριτημόριο των φωνητικών χορδών. Εμφανίζουν βραδεία ανάπτυξη αλλά μπορεί να επεκταθούν σε διάφορες κατευθύνσεις όπως στην υπόλοιπη φωνητική χορδή, στην πρόσθια εντομή, στο φωνητικό μυ με καθήλωση της φωνητικής χορδής, στην ετερόπλευρη φωνητική χορδή και τελικά στην υπεργλωττιδική και στην υπογλωττιδική μοίρα. Λεμφαδενικές μεταστάσεις συμβαίνουν σπάνια, σε ποσοστό έως 4-6%.

Υπεργλωττιδικοί όγκοι: Αναπτύσσονται στην περιοχή μεταξύ του άνω ορίου της επιγλωττίδας και της οριζόντιας γραμμής που διέρχεται από τον πυθμένα των λαρυγγικών κοιλιών. Είναι δεύτεροι σε συχνότητα μετά τους γλωττιδικούς όγκους και αποτελούν το 25% των καρκινωμάτων. Στο 1/3 των περιπτώσεων εξορμούνται από την επιγλωττίδα και συχνά διηθούν τον προ-επιγλωττιδικό χώρο. Στα αρχικά στάδια εμφανίζουν άτυπα ενοχλήματα όπως αίσθημα ξένου σώματος, αντανακλαστική ωταλγία μέσω του πνευμονογαστρικού νεύρου (άνω λαρυγγικό - ωτιαίος κλάδος του πνευμονογαστρικού) και

δυσκαταποσία. Μπορεί να επεκταθούν στις φωνητικές χορδές, ενώ η συχνότητα μετάστασης στους τραχηλικούς λεμφαδένες είναι 40% λόγω του πλούσιου λεμφαγγειακού δικτύου της περιοχής και συχνά αποτελούν την αρχική εκδήλωση.

Υπογλωττιδικοί όγκοι: Οι αμιγώς υπογλωττιδικοί όγκοι είναι αρκετά σπάνιοι (<5%). Αναπτύσσονται κυκλοτερώς και συνήθως αποτελούν επέκταση ενός γλωττιδικού καρκινώματος. Διήθηση του κρικοειδούς χόνδρου εμφανίζεται στο 50% των περιπτώσεων ενώ αρκετά συχνά διηθείται ο θυρεοειδής αδένας σε ποσοστό 20%. Μετάσταση τους τραχηλικούς λεμφαδένες εμφανίζεται σε ποσοστό 20% και στους παρατραχειακούς σε ποσοστό 50%.

Διαγλωττιδικοί όγκοι: Είναι επιθετικοί όγκοι που προσβάλλουν και τις τρεις μοίρες του λάρυγγα, δηλαδή διηθούν τις νόθες φωνητικές χορδές, τη λαρυγγική κοιλία και τις γνήσιες φωνητικές χορδές. Αποτελούν λιγότερο από το 5% των καρκινωμάτων. Επεκτείνονται στο παραγλωττιδικό διάστημα και η σταδιοποίηση του όγκου είναι αυτομάτως τουλάχιστον T3. Εμφανίζουν τραχηλικές μεταστάσεις στο 52% των περιπτώσεων, προσβάλλουν έως 50% το σύστοιχο λοβό του θυρεοειδούς αδένος και επεκτείνονται οπισθίως στη κρικοαρταινοειδή άρθρωση (1, 3, 7, 12, 32, 34).

2.2.3.5 Μεταστάσεις

Δυστυχώς τη στιγμή της διάγνωσης περιγράφεται ότι το 18% των ασθενών έχουν μεταστάσεις στους επιχώριους τραχηλικούς λεμφαδένες (IIa,III), περισσότερο σε υπεργλωττιδικούς από ότι σε γλωττιδικούς καρκίνους και 7-12% έχουν απομακρυσμένες μεταστάσεις κυρίως στον πνεύμονα και ακολουθούν το ήπαρ και τα οστά (1, 3).

2.2.3.6 Συμπτώματα

Με δεδομένες τις λειτουργίες του λάρυγγα που αναφέρθηκαν παραπάνω, μπορεί κανείς εύκολα να φανταστεί τις συνέπειες ενός καρκίνου ο οποίος καταστρέφει και / ή παρεμποδίζει τις δομές του λάρυγγα και τις λειτουργίες του. Τα συμπτώματα ποικίλλουν ανάλογα με την θέση της κακοήθειας και τη συνοδό φλεγμονώδη αντίδραση σε (1, 7, 12):

- Βράγχος φωνής / αφωνία
- Δυσφαγία / Δυσκαταποσία
- Δύσπνοια

- Φαρυγγικό κομβίο
- Αιμορραγικά πτύελα
- Κόπωση και αδυναμία
- Καχεξία
- Πόνος
- Χαλίτωση
- Τραχηλική μάζα
- Αντανακλαστική ωταλγία

2.2.3.7 Διάγνωση

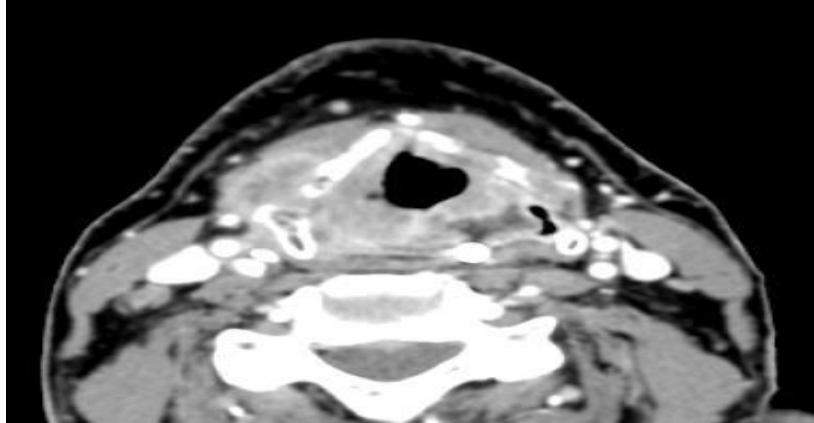
Όπως σε όλες τις κλινικές εκτιμήσεις, το ιστορικό είναι το πρώτο βήμα στη συλλογή των δεδομένων και ο ασθενής πρέπει να ερωτάται αν εμφανίζει τα ακόλουθα (1, 7, 12):

- Απώλεια βάρους
- Κόπωση
- Πόνο
- Δυσκολία στην αναπνοή ή στην κατάποση
- Φωνητικές αλλαγές που παρατηρούνται από τον ασθενή και την οικογένειά του / της
- Ωταλγία
- Αιμόπτυση

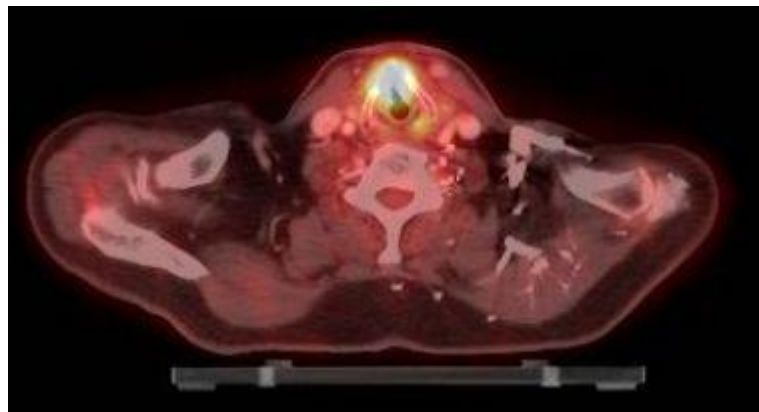
Όσον αφορά τη φυσική εξέταση πρέπει να αξιολογηθεί η γενική και η διατροφική κατάσταση του ασθενούς. Απαιτείται λεπτομερής εξέταση της κεφαλής και του τραχήλου, η οποία περιλαμβάνει επισκόπηση και ψηλάφηση της στοματικής κοιλότητας και του στοματοφάρυγγα για να αποκλειστούν δεύτεροι πρωτοπαθείς όγκοι ή άλλες αλλοιώσεις, καθώς και αξιολόγηση της οδοντοφυΐας. Επιπλέον η αναζήτηση τραχηλικών λεμφαδένων και η λεπτομερής αξιολόγηση των κρανιακών νεύρων είναι πρωταρχική στην αξιολόγηση του ασθενούς. Η εξέταση του λάρυγγα επιτυγχάνεται καλύτερα με τη χρήση εύκαμπτου ή άκαμπτου λαρυγγοσκοπίου που επιτρέπει στον ωτορινολαρυγγολόγο να αξιολογήσει τη λειτουργία και την ανατομία ολόκληρου του λάρυγγα. Η αξιολόγηση της κινητικότητας του φωνητικών χορδών, η θέση και η επέκταση του όγκου είναι κρίσιμης σημασίας για την ακριβή σταδιοποίηση (1).

Πριν από οποιαδήποτε συζήτηση για θεραπευτική αντιμετώπιση απαιτούνται τα εξής:

- εργαστηριακός έλεγχος (γενική αίματος και παράγοντες πήξης λόγω αυξημένου κίνδυνου αιμορραγίας στην περιοχή του τραχήλου, έλεγχος ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας καθώς πολλοί χημειοθεραπευτικοί παράγοντες μεταβολίζονται από το ήπαρ και / ή τους νεφρούς, θυρεοειδικές ορμόνες για να εκτιμηθεί η λειτουργία του θυρεοειδούς αδένος και αέρια αρτηριακού αίματος ανάλογα με τα συμπτώματα ή τα κλινικά ευρήματα του ασθενούς).
- Απλή ακτινογραφία θώρακος και εξετάσεις πνευμονικής λειτουργίας.
- Αξονική τομογραφία με κατάλληλο πάχος διατομής (1-2 mm) προκειμένου να εκτιμηθούν τραχηλικές μάζες ή/και μαγνητική τομογραφία για ανάδειξη της έκτασης της νόσου σε ζωτικές δομές (**Εικόνα 8**).
- PET-CT: πρόκειται για ένα ακτινολογικό εργαλείο που ανιχνεύει μεταβολικά σήματα από κύτταρα με υψηλή μεταβολική δραστηριότητα, όπως τα καρκινικά κύτταρα. Ο ασθενής λαμβάνει ενδοφλεβίως ένα ανάλογο της γλυκόζης που ονομάζεται φλουοροδεοξυγλυκόζη (FDG) που έχει επισημανθεί με ένα ραδιοϊσότοπο. Αυτό το ανάλογο προσλαμβάνεται από κύτταρα με υψηλή μεταβολική δραστηριότητα. Χρησιμοποιείται CT για τη συσχέτιση της εικόνας της πυρηνικής ιατρικής με ανατομικές ανωμαλίες. Προς το παρόν είναι η πιο ευαίσθητη διαθέσιμη δοκιμασία για την ανίχνευση μεταστάσεων ή δευτέρων πρωτοπαθών όγκων. Ο κλινικός ιατρός πρέπει να γνωρίζει, ωστόσο, ότι ο όγκος πρόσληψης FDG μπορεί να ποικίλει και ότι το PET δεν μπορεί να ανιχνεύσει πολύ μικρούς όγκους (<5 mm) (**Εικόνα 9**).
- Βιοψία δια λεπτής βελόνης (FNA) μιας τραχηλικής μάζας είναι χρήσιμη για τη διάγνωση κακοηθών όγκων του λάρυγγα.



Εικόνα 8: Αξονική τομογραφία ενός προχωρημένου καρκίνου λάρυγγα δεξιά, που εισβάλλει μέσω του θυρεοειδούς χόνδρου (πηγή: <https://emedicine.medscape.com/article/848592-overview>).



Εικόνα 9: PET / CT λαρυγγικού καρκίνου με αυξημένη FDG πρόσληψη (πηγή: <https://emedicine.medscape.com/article/848592-workup#c4>).

Η άμεση λαρυγγοσκόπηση παρέχει την ευκαιρία για εξέταση υπό γενική αναισθησία, ψηλάφηση και βιοψία καθώς παρέχει μια εξαιρετική εικόνα της έκτασης του όγκου και της συνολικής κατάστασης του βλεννογόνου του αεραγωγού. Όταν συνδυάζεται με κατάλληλη απεικόνιση (όπως CT), η άμεση λαρυγγοσκόπηση παρέχει τις καλύτερες πληροφορίες για τη σταδιοποίηση των όγκων και το χειρουργικό προγραμματισμό. Η άμεση λαρυγγοσκόπηση παρέχει επίσης την ευκαιρία για λήψη βιοψιών του όγκου. Καλά στοχευμένες βιοψίες αποκαλύπτουν τον ιστολογικό τύπο και τη διαφοροποίηση του όγκου. Πολλαπλές βιοψίες μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για να χαρτογραφηθεί η έκταση του όγκου σε περιπτώσεις όπου τα όρια είναι ασαφή. Αυτό είναι σημαντικό για τον καλύτερο σχεδιασμό της χειρουργικής θεραπείας (1, 7, 12, 35, 36, 168).

2.2.3.8 TNM ταξινόμηση και σταδιοποίηση κατά AJCC

Η ταξινόμηση AJCC 2002 για τους όγκους του λάρυγγα προσδιορίζεται από τους ακόλουθους 3 κύριους παράγοντες (12, 37):

- Αριθμός προσβεβλημένων περιοχών.
- Κινητικότητα φωνητικών χορδών.
- Παρουσία τραχηλικών ή απομακρυσμένων μεταστάσεων.

Επιπλέον, απαιτείται προσοχή σε συγκεκριμένους παράγοντες που είναι απαραίτητοι για την αρχική σταδιοποίηση και μπορούν να βοηθήσουν στον προσδιορισμό της βέλτιστης θεραπευτικής επιλογής για τον ασθενή. Αυτοί οι παράγοντες είναι οι ακόλουθοι:

- Συμμετοχή της βάσης της γλώσσας.
- Προσβολή του προεπιγλωττιδικού χώρου (ορίζεται προς τα άνω από τον υοεπιγλωττιδικό σύνδεσμο και το βλεννογόνο του γλωσσοεπιγλωττιδικού βοθρίου, προς τα εμπρός από το θυρεοειδή σύνδεσμο και προς τα πίσω από την επιγλωττίδα και το θυρεοεπιγλωττιδικό σύνδεσμο).
- Προσβολή του παραγλωττικού χώρου (αφορίζεται επί τα εντός από τον ελαστικό κώνο και επί τα εκτός από το θυρεοειδή χόνδρο μπροστά και το βλεννογόνο του απιοειδούς βόθρου πίσω).
- Προσβολή του θυρεοειδούς χόνδρου.
- Προσβολή των μαλακών μορίων του λάρυγγα.
- Διήθηση της καρωτίδας.
- Προσβολή του οισοφάγου.
- Λεμφαδένες του τραχήλου (ομόπλευροι, αμφοτερόπλευροι, ετερόπλευροι), η θέση τους, το μέγεθος και η εξωλεμφαδενική επέκταση.
- Απομακρυσμένες μεταστάσεις και η θέση τους.

Πρωτοπαθής όγκος (T)

Τα κριτήρια για την αρχική σταδιοποίηση του όγκου εξαρτώνται από τη θέση του όγκου είτε είναι υπεργλωττιδικός, γλωττιδικός ή υπογλωττιδικός.

T_x: Ο πρωτογενής όγκος δεν μπορεί να εκτιμηθεί.

T₀: Δεν υπάρχουν ενδείξεις πρωτοπαθούς όγκου.

T_{is}: in situ καρκίνωμα.

Υπεργλωττιδικός καρκίνος

T₁: Όγκος περιορίζεται σε μία μόνο περιοχή της υπεργλωττιδικής χώρας με φυσιολογική κινητικότητα της φωνητικής χορδής.

T₂: Όγκος διηθεί περισσότερες από μία γειτονικές περιοχές της υπεργλωττιδικής χώρας ή περιοχής έξω από την υπεργλωττιδική χώρα (π.χ. βλεννογόνος της βάσης της γλώσσας, γλωσσοεπιγλωττιδικό βοθρίο, έσω τοίχωμα του απιοειδούς βόθρου) χωρίς καθήλωση του λάρυγγα.

T₃: Όγκος περιορίζεται στον λάρυγγα με καθήλωση της φωνητικής χορδής και / ή διηθεί μία από τις ακόλουθες περιοχές: οπισθοκρικοειδή, προεπιγλωττιδικό χώρο, παραγλωττιδικό χώρο και /ή περιορισμένη διήθηση του θυρεοειδούς χόνδρου (έσω πετάλου).

T_{4a}: Όγκος διηθεί διαμπερώς τον θυρεοειδή χόνδρο και/ή διηθεί ιστούς έξω από τον λάρυγγα, όπως τραχεία, μαλακούς ιστούς του τραχήλου, εν τω βάθει και εξωγενείς μύες της γλώσσας (γενειολωστικός, υογλωσσικός, υπερωιογλωσσικός, βελονογλωσσικός), τους μύες κάτωθεν του υοειδούς, θυρεοειδή αδένα και οισοφάγο.

T_{4b}: Όγκος διηθεί τον προσπονδυλικό χώρο, το μεσοθωράκιο ή περιβρογχίζει την καρωτίδα.

Γλωττιδικός καρκίνος

T₁: Όγκος περιορίζεται στη φωνητική χορδή ή στις φωνητικές χορδές (μπορεί να καταλαμβάνει την πρόσθια ή την οπίσθια εντομή) με φυσιολογική κινητικότητα.

T_{1a}: Όγκος περιορίζεται σε μία φωνητική χορδή (μπορεί να καταλαμβάνει την πρόσθια ή την οπίσθια εντομή) με φυσιολογική κινητικότητα.

T_{1b}: Όγκος καταλαμβάνει και τις δύο φωνητικές χορδές (μπορεί να καταλαμβάνει την πρόσθια ή την οπίσθια εντομή) με φυσιολογική κινητικότητα.

T₂: Όγκος επεκτείνεται στην υπεργλωττιδική ή στην υπογλωττιδική περιοχή με/ή χωρίς περιορισμό της κινητικότητας της φωνητικής χορδής.

T₃: Όγκος περιορίζεται στο λάρυγγα με καθήλωση της φωνητικής χορδής και/ή διηθεί τον παραγλωττιδικό χώρο, και με/ή χωρίς περιορισμένη διήθηση του θυρεοειδούς χόνδρου (έσω πετάλου).

T_{4a}: Όγκος διηθεί διαμέσου του θυρεοειδούς χόνδρου και/ή διηθεί ιστούς έξω από το λάρυγγα, όπως μαλακούς ιστούς του τραχήλου, εν τω βάθει και εξωγενείς μύες της γλώσσας (γενειογλωσσικός, υογλωσσικός, υπερωιογλωσσικός, βελονογλωσσικός), τους μύες κάτωθεν του υοειδούς, θυρεοειδή αδένα και οισοφάγο.

T_{4b}: Όγκος διηθεί τον προσπονδυλικό χώρο, το μεσοθωράκιο ή περιβρογχίζει την καρωτίδα.

Υπογλωττιδικός καρκίνος

T₁: Όγκος περιορίζεται στην υπογλωττιδική περιοχή.

T₂: Όγκος εκτείνεται στις φωνητικές χορδές με φυσιολογική ή περιορισμένη κινητικότητα.

T₃: Όγκος περιορίζεται στο λάρυγγα με καθήλωση της φωνητικής χορδής.

T_{4a}: Όγκος διηθεί διαμέσου του κρικοειδούς ή του θυρεοειδούς χόνδρου και/ή διηθεί ιστούς έξω από το λάρυγγα, όπως μαλακούς ιστούς του τραχήλου, εν τω βάθει και εξωγενείς μύες της γλώσσας (γενειογλωσσικός, υογλωσσικός, υπερωιογλωσσικός, βελονογλωσσικός), τους μύες κάτωθεν του υοειδούς, θυρεοειδή αδένα και οισοφάγο.

T_{4b}: Όγκος διηθεί τον προσπονδυλικό χώρο, το μεσοθωράκιο ή περιβρογχίζει την καρωτίδα.

Περιοχική λεμφαδενοπάθεια (N)

N_x: Οι περιοχικοί λεμφαδένες δεν μπορούν να αξιολογηθούν.

N₀: Απουσία λεμφαδενικών μεταστάσεων.

N₁: Παρουσία μονήρους ομόπλευρης λεμφαδενικής μετάστασης μικρότερης ή ίσης με 3 cm κατά τη μεγαλύτερη διάμετρο.

N_{2a}: Παρουσία μονήρους ομόπλευρης λεμφαδενικής μετάστασης μεγαλύτερης από 3 cm αλλά μικρότερης από 6 cm κατά τη μεγαλύτερη διάμετρο.

N_{2b}: Παρουσία πολλαπλών ομόπλευρων λεμφαδενικών μεταστάσεων μικρότερων από 6 cm κατά τη μεγαλύτερη διάμετρο.

N_{2c}: Παρουσία αμφοτερόπλευρων ή ετερόπλευρων λεμφαδενικών μεταστάσεων μικρότερων από 6 cm κατά τη μεγαλύτερη διάμετρο.

N₃: Παρουσία λεμφαδενικής μεταστατικής διόγκωσης, μεγαλύτερης από 6 cm κατά τη μεγαλύτερη διάμετρο.

Απομακρυσμένες Μεταστάσεις (M)

M_X: Δεν είναι δυνατή η αξιολόγηση απομακρυσμένων μεταστάσεων.

M₀: Απουσία απομακρυσμένων μεταστάσεων.

M₁: Απομακρυσμένες μεταστάσεις.

Πίνακας 2: Ομαδοποίηση TNM

(πηγή: <https://emedicine.medscape.com/article/848592-workup#c8>).

ΣΤΑΔΙΟ	T _α	N	M
Στάδιο 0	T _{is}	N ₀	M ₀
Στάδιο I	T ₁	N ₀	M ₀
Στάδιο II	T ₂	N ₀	M ₀
Στάδιο III	T ₃	N ₀	M ₀
	T ₁	N ₁	M ₀
	T ₂	N ₁	M ₀
	T ₃	N ₁	M ₀
Στάδιο IVA	T _{4a}	N ₀	M ₀
	T _{4a}	N ₁	M ₀
	T ₁	N ₂	M ₀
	T ₂	N ₂	M ₀
	T ₃	N ₂	M ₀
	T _{4a}	N ₂	M ₀
Στάδιο IVB	T _{4b}	Οποιοδήποτε N	M ₀
	Οποιοδήποτε T _α	N ₃	M ₀
Στάδιο IVC	Οποιοδήποτε T _α	Οποιοδήποτε N	M ₁

2.2.3.9 Θεραπευτικοί μέθοδοι

Η θεραπεία των ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα είναι πολύπλοκη, λόγω των σημαντικών λειτουργιών που επιτελεί αυτή η ανατομική περιοχή. Εάν είναι δυνατόν, ο στόχος της θεραπείας είναι η αφαίρεση του όγκου και η πρόληψη της υποτροπής, με διατήρηση της λειτουργίας του λάρυγγα. Η θεραπεία του λαρυγγικού καρκίνου έχει αλλάξει τις τελευταίες δεκαετίες. Μέχρι το 1990 ήταν χειρουργικά κατευθυνόμενη. Η χειρουργική επέμβαση ολικής και μερικής λαρυγγεκτομής ήταν και εξακολουθεί να είναι οι κύριες χειρουργικές τεχνικές για τη θεραπεία κακοήθων όγκων του λάρυγγα. Μία αλλαγή στην θεραπευτική αγωγή συνέβη στις αρχές της δεκαετίας του 1990 με την εμφάνιση θεραπειών διατήρησης του λάρυγγα με τη χρήση ταυτόχρονης χημειο-ακτινοθεραπείας. Αυτή η μέθοδος είχε ποσοστά επιβίωσης παρόμοια με την ολική λαρυγγεκτομή, διατηρώντας παράλληλα τον λάρυγγα σε ποσοστό 63% των ασθενών. Επιπλέον, οι νέες εξελίξεις στις ενδοσκοπικές χειρουργικές τεχνικές και ο εξοπλισμός με Laser ανοίγουν μια νέα εποχή στη θεραπεία των κακοήθων όγκων του λάρυγγα. Αναλυτικά:

Χειρουργική θεραπεία:

- Μικρολαρυγγοσκοπική αφαίρεση: Διενεργείται κατά την άμεση λαρυγγοσκόπηση. Η αφαίρεση της αλλοίωσης γίνεται με ειδικά χειρουργικά εργαλεία ή με χρήση Laser CO₂ (38). Η διαστοματική μικροχειρουργική με laser CO₂ είναι μια ευρέως διαδεδομένη τεχνική από τους Steiner και Ambrosch, ιδανική για τη θεραπεία του πρώιμου γλωττιδικού και του υπεργλωττιδικού καρκίνου. Η επιβίωση και η λαρυγγική διατήρηση είναι συγκρίσιμες με άλλες συμβατικές θεραπείες και έχουν εξαιρετικά λειτουργικά αποτελέσματα σε κατάλληλα επιλεγμένους ασθενείς. Σε μια μελέτη ασθενών με γλωττιδικό καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων T₁, οι Ahmed et al ανέφεραν ότι η μικροχειρουργική με λέιζερ (KTP) είχε παρόμοια έκβαση με την ακτινοθεραπεία. Οι περίοδοι παρακολούθησης (follow-up) στις ομάδες λέιζερ και ακτινοβολίας ήταν 924 και 994 ημέρες αντίστοιχα, με την ομάδα λέιζερ να επιτυγχάνει 98% διατήρηση της λαρυγγικής λειτουργίας, σε σύγκριση με 90% στους ασθενείς που έλαβαν ακτινοβολία. Η ομάδα λέιζερ ήταν ελεύθερη υποτροπών με ποσοστό 88% και ποσοστό επιβίωσης 98%, ενώ τα ποσοστά στην ομάδα της ακτινοβολίας ήταν 85% και 95% αντίστοιχα (39).

- Χειρουργική εκτομή: Τη σημερινή εποχή η επιτυχής χειρουργική αντιμετώπιση του καρκίνου του λάρυγγα, δεν αφορά μόνο την επιβίωση αλλά και την ποιότητα ζωής του ασθενούς. Έτσι αναπτύχθηκε η συντηρητική χειρουργική θεραπεία, με σκοπό την

αφαίρεση του όγκου με ταυτόχρονη διατήρηση, στο βαθμό που είναι δυνατό, της λειτουργίας της κατάποσης, της αναπνοής και της φώνησης. Οι συντηρητικές επεμβάσεις ξεπερνούν τις 30, αλλά οι πιο κοινές καταγράφονται στον πίνακα 3:

Πίνακας 3: Κυριότεροι τύποι τμηματικών λαρυγγικών επεμβάσεων
(πηγή: Σισμάνης Α. Ωτορινολαρυγγολογία Χειρουργική κεφαλής και τραχήλου.
Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου, 2011).

ΕΠΕΜΒΑΣΗ	ΣΤΑΔΙΟ
Αποφλοιώση	In situ
Χορδεκτομή	Γλωττιδικοί όγκοι T1a και T1b
Κάθετη ημιλαρυγγεκτομή	Γλωττιδικοί όγκοι T2 και T3
Πρόσθιο-πλάγια (Μετωπο-πλάγια) μερική λαρυγγεκτομή	Γλωττιδικοί όγκοι T2 και T3 με επέκταση στην πρόσθια γωνία
Οριζόντια υπεργλωττιδική μερική λαρυγγεκτομή	Υπεργλωττιδικοί όγκοι T1 και T2
Υφολική λαρυγγεκτομή (συνδυασμός οριζόντιας και κάθετης ημιλαρυγγεκτομής)	Υπεργλωττιδικοί όγκοι T2 και T3 με επέκταση σε μία φωνητική χορδή ή σε έναν αρυταινοειδή
Υπερκρικοειδής λαρυγγεκτομή με κρυοπηξία	Υπεργλωττιδικοί όγκοι T2 και T3 με επέκταση στη γλωττίδα

Έχουν περιγραφεί διάφορες τεχνικές μερικής λαρυγγεκτομής. Πολλές από αυτές, όπως η κάθετη ημιλαρυγγεκτομή ή υφολική λαρυγγεκτομή, είναι κυρίως ιστορικού ενδιαφέροντος και χρησιμοποιούνται σπάνια σήμερα. Ωστόσο, 2 επεμβάσεις η υπεργλωττιδική μερική λαρυγγεκτομή και υπερκρικοειδική μερική λαρυγγεκτομή, έχουν ρόλο στη σύγχρονη αντιμετώπιση του καρκίνου του λάρυγγα. Η υπεργλωττιδική μερική λαρυγγεκτομή πραγματοποιείται είτε ανοιχτά (σπάνια) είτε ενδοσκοπικά με laser CO₂. Περιλαμβάνει εκτομή αρκετής ή όλης της υπεργλωττιδικής περιοχής (υοειδές οστόν, επιγλωττίδα και τις δύο νόθες φωνητικές χορδές), με διατήρηση των γνήσιων φωνητικών χορδών και των

αρυταινοειδών. Έτσι διατηρείται η λειτουργία του λάρυγγα. Η υπερκρικοειδική μερική λαρυγγεκτομή περιλαμβάνει την εκτομή της φωνητικής πτυχής, του θυρεοειδούς χόνδρου και του παραγλωττικού χώρου, καθώς και της επιγλωττίδας, εάν χρειάζεται (40).

Όταν όμως είναι απαραίτητο να αφαιρεθεί ολόκληρο το όργανο, χρησιμοποιείται η:

- Ολική λαρυγγεκτομή
- Ολική λαρυγγεκτομή με μερική φαρυγγεκτομή ή μερική γλωσσεκτομή.

Μετά όμως τέτοιου είδους ακρωτηριαστικές επεμβάσεις, εμφανίζονται διαταραχές της γεύσης, ρινικές εκκρίσεις, δυσκαταποσία και έλλειψη φυσιολογικής φώνησης, οι οποίες εν μέρει μπορούν να βελτιωθούν, με την κατάλληλη θεραπεία αποκατάστασης. Οι παραπάνω χειρουργικές τεχνικές, όταν είναι απαραίτητο συνδυάζονται με ριζικό ή τροποποιημένο λεμφαδενικό καθαρισμό τραχήλου (1, 3, 12, 36).

Ωστόσο, έχει σημειωθεί αξιοσημείωτη πρόοδος τα τελευταία 20 χρόνια στη διαχείριση του καρκίνου του λάρυγγα. Αν και ολική λαρυγγεκτομή εξακολουθεί να απαιτείται σε περιπτώσεις επιθετικών εκτεταμένων όγκων του λάρυγγα, στρατηγικές διατήρησης χρησιμοποιώντας πρωτόκολλα χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας έχουν γίνει πλέον το πρότυπο αντιμετώπισης για πολλές μορφές καρκίνου του λάρυγγα.

Ακτινοθεραπεία: Επιλέγεται σε ασθενείς με πρώιμο καρκίνο του λάρυγγα (στάδιο I-II) καθώς έχει την ίδια αποτελεσματικότητα με τη χειρουργική αφαίρεση. Επίσης χρησιμοποιείται σε περιπτώσεις όπου αντενδείκνυται η χειρουργική επέμβαση ή δεν είναι αποδεκτή από τον ασθενή. Χρησιμοποιείται μαζί με τη χειρουργική αντιμετώπιση, προ- ή μετεγχειρητικά σε καρκινώματα σταδίου III-IV καθώς και σε περιπτώσεις υποτροπής μετά από ριζική επέμβαση. Πλέον χρησιμοποιείται η **IMRT** (Intensity Modulated Radiation Therapy – Ακτινοβολία Διαμορφούμενης Έντασης Δέσμης) η οποία είναι μια εξελιγμένη τεχνική που βασίζεται σε ένα γραμμικό επιταχυντή, παρέχοντας ακτινοθεραπεία υψηλής ακρίβειας, καθώς διαμορφώνει τη δέσμη ακτινοβολίας, έτσι ώστε να προσαρμόζεται ακριβέστερα στη τρισδιάστατη μορφή του όγκου. Η **IMRT** χρησιμοποιεί πολλαπλές μικρές δέσμες φωτονίων με ποικίλες εντάσεις για την ακτινοβολία του όγκου με ακρίβεια. Ο γραμμικός επιταχυντής αποτελείται από μια συσκευή λεπτών φύλλων μολύβδου τα οποία κινούνται ανεξάρτητα και σχηματίζουν σχήματα που ταιριάζουν ακριβώς γύρω από την περιοχή θεραπείας. Αυτό σημαίνει ότι ο όγκος λαμβάνει υψηλή δόση ακτινοβολίας ενώ τα φυσιολογικά υγιή κύτταρα που βρίσκονται πλησίον λαμβάνουν πολύ χαμηλότερη

δόση. Η **IMRT** δηλαδή επιτρέπει την κατανομή της δόσης ακτινοβολίας στον όγκο - στόχο με τη διαμόρφωση ή τον έλεγχο της έντασης της δέσμης ακτινοβολίας και είναι τεχνική αιχμής για την ακτινοθεραπεία της κεφαλής και του τραχήλου (95).

Χημειοθεραπεία: Μελέτες ορόσημο, όπως η Veteran Affairs Laryngeal Cancer Study Group το 1991 και η RTOG 91-11 βοήθησαν να διαμορφωθεί η βάση για τις θεραπείες συντήρησης του λάρυγγα χρησιμοποιώντας τη χημειοθεραπεία (σισπλατίνη και φθοριοουρακίλη) και πρωτόκολλα θεραπείας με ακτινοβολία (41). Από τις δοκιμές αυτές διαπιστώθηκε ότι η χημειο-ακτινοθεραπεία είναι ισοδύναμη με τη χειρουργική επέμβαση στον ογκολογικό έλεγχο της νόσου, ενώ επιτρέπει σε ένα σημαντικό αριθμό ασθενών να αποφύγουν μετέπειτα τη λαρυγγεκτομή. Στη συνέχεια ακολούθησαν πολλές κλινικές μελέτες οι οποίες υποστήριξαν τη χημειοθεραπεία ως μέρος μιας πολυπαραγοντικής προσέγγισης καταδεικνύοντας τα πλεονεκτήματα της ταυτόχρονης χημειο-ακτινοθεραπείας. Τρέχουσες κατευθυντήριες οδηγίες του NCCN Practice Guidelines in Oncology για να επιτευχθεί διατήρηση του λάρυγγα σε περιπτώσεις τοπικά προχωρημένου καρκίνου είναι η ταυτόχρονη θεραπεία με ακτινοβολία και cisplatin 100 mg / m² κατά τις ημέρες 1, 22, και 43 (42). Η ακτινοβολία ως μονοθεραπεία χρησιμοποιείται σε ασθενείς οι οποίοι είναι ιατρικά ακατάλληλοι να υποβληθούν σε χημειοθεραπεία. Παρά την αυξημένη χρήση της χημειο-ακτινοβολίας στη θεραπεία του προχωρημένου καρκίνου του λάρυγγα, απαιτείται συχνά χειρουργική επέμβαση. Τα πρωτόκολλα χημειο-ακτινοβολίας συνδέονται με σημαντικές πρώιμες και όψιμες τοξικότητες (διαταραχή της κατάποσης και επεισόδια εισρόφησης απειλητικά για τη ζωή που απαιτούν ολική λαρυγγεκτομή) που οδήγησαν σε στοχευμένες θεραπείες με μονοκλωνικά αντισώματα (π.χ. cetuximab) και νεότερα φάρμακα, όπως τα ανάλογα του ρετινοϊκού οξέος, που δε στοχεύουν σε κυτταροτοξικό αποτέλεσμα αλλά στην τροποποίηση της διαφοροποίησης, καθώς και στην εκλέπτυνση τεχνικών ακτινοβολίας, όπως η IMRT. Η λαρυγγεκτομή απαιτείται επί αποτυχίας της χημειο-ακτινοβολίας έως και στο ένα τρίτο των ασθενών.

2.2.3.10 Διαχείριση ασθενούς – Θεραπευτικές επιλογές

Η θεραπεία δεν έχει "αντενδείξεις", ωστόσο πρέπει να συζητάται ένα πλήθος ζητημάτων για να αποφασιστεί ποια θεραπεία είναι ιδανική για κάθε ασθενή (εξατομικευμένη θεραπεία). Αυτό γίνεται στο ογκολογικό συμβούλιο το οποίο αποτελείται από Ογκολόγο, Ακτινοθεραπευτή και Ωτορινολαρυγγολόγο. Αυτά τα θέματα περιλαμβάνουν το στάδιο του όγκου, τη θέση του (γλωττιδικός, υπεργλωττιδικός ή υπογλωττιδικός), τη συνοσηρότητα, τις προηγούμενες θεραπείες και φυσικά τις επιθυμίες του ασθενούς.

Πρωτοπαθής όγκος:

Καρκίνωμα in situ: Η ενδοσκοπική χειρουργική εκτομή (αποφλοιώση ή χορδεκτομή με ή χωρίς laser) ή η ακτινοθεραπεία είναι εξίσου αποτελεσματικές με παρόμοια λειτουργικά αποτελέσματα. Η προσεκτική παρακολούθηση του ασθενή ανά τρίμηνο για την ανίχνευση υποτροπής είναι απαραίτητη.

Γλωττιδικά καρκινώματα: Όγκοι σταδίου T₁, T₂ αντιμετωπίζονται κατά κανόνα είτε με ακτινοβολία ή με ενδοσκοπικές χειρουργικές τεχνικές (χορδεκτομή με ή χωρίς laser) διατηρώντας τη λειτουργία του λάρυγγα. Όγκοι σταδίου T₃, T₄ αντιμετωπίζονται συνήθως είτε με συνδυασμένη χημειο-ακτινοθεραπεία, με καλή πιθανότητα να διατηρηθεί ο λάρυγγας του ασθενή, είτε με χειρουργική αφαίρεση και μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία. Σε περίπτωση ανθεκτικής ή υποτροπιάζουσας νόσου, θεραπεία διάσωσης είναι η ολική λαρυγγεκτομή με μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία.

Υπεργλωττιδικά καρκινώματα: Πρώιμος υπεργλωττιδικός καρκίνος σταδίου T₁, T₂ αντιμετωπίζεται κατά κανόνα είτε με ακτινοθεραπεία είτε με χειρουργική εκτομή (ενδοσκοπική μερική λαρυγγεκτομή με laser ή οριζόντια υπεργλωττιδική λαρυγγεκτομή) με εξίσου ικανοποιητικά λειτουργικά αποτελέσματα. Επί παρουσίας θετικών λεμφαδένων (N+) η χειρουργική θεραπεία μάλλον έχει καλύτερα αποτελέσματα. Σε προχωρημένα καρκινώματα σταδίων T₃, T₄ συνήθως η χειρουργική θεραπεία σε συνδυασμό με την ακτινοθεραπεία (προ ή μετά) ή η συνδυασμένη χημειο-ακτινοθεραπεία έχουν τα ίδια ποσοστά τοπικού ελέγχου της νόσου. Σε T₄ όγκους συνιστάται κατά κανόνα ολική λαρυγγεκτομή με μετεγχειρητική ακτινοβολία.

Οι υπογλωττιδικοί όγκοι είναι σπάνιοι (5%), διαγιγνώσκονται σε προχωρημένο στάδιο και έχουν κακή πρόγνωση. Αντιμετωπίζονται συνήθως με ολική λαρυγγεκτομή και μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία στον τράχηλο και στο μεσοθωράκιο. Μικροί όγκοι σταδίου T₁, T₂ μπορούν να αντιμετωπιστούν με ακτινοθεραπεία.

Οι διαγλωττιδικοί όγκοι είναι εξ'ορισμού σταδίου τουλάχιστον T₃ και αντιμετωπίζονται συνήθως με συνδυασμένη χημειο-ακτινοθεραπεία ή με χειρουργική αφαίρεση (οριζόντια υπεργλωττιδική λαρυγγεκτομή και κάθετη ημιλαρυγγεκτομή) και μετεγχειρητική ακτινοβολία. Σε στάδιο T₄ συνιστάται κατά κανόνα ολική λαρυγγεκτομή με μετεγχειρητική ακτινοβολία.

Περιοχική λεμφαδενοπάθεια (N):

Επί αρνητικών λεμφαδένων (N0) οι όγκοι του λάρυγγα αντιμετωπίζονται χωρίς λεμφαδενικό καθαρισμό, εκτός αν η πιθανότητα ύπαρξης μικροσκοπικών λεμφαδενικών μεταστάσεων είναι πάνω από 20%-30%, οπότε τότε ενδείκνυται λεμφαδενικός καθαρισμός ή ακτινοβολία. Ο τρόπος αντιμετώπισης που επιλέγουμε είναι ίδιος με αυτόν που ακολουθήθηκε για την αντιμετώπιση της πρωτοπαθούς εστίας. Οι κλινικά θετικοί λεμφαδένες (N+) συνήθως αντιμετωπίζονται με τροποποιημένο λεμφαδενικό καθαρισμό και στάδιο N2 ή μεγαλύτερο αποτελεί ένδειξη μετεγχειρητικής ακτινοθεραπείας. Σε περίπτωση υποτροπής της νόσου στον τράχηλο μετά από λεμφαδενικό καθαρισμό, εφαρμόζεται ακτινοθεραπεία.

Παρηγορητική θεραπεία: Σε νόσο τελικού σταδίου, χρησιμοποιούνται διάφορα παρηγορητικά σχήματα, όπως μεθοτρεξάτη, 5 φθοριουρακίλη και cisplatinum που έχουν ως στόχο να ελέγξουν την νόσο τοπικά, να ανακουφίσουν από τον πόνο και να παρατείνουν όσο είναι δυνατό την ζωή του ασθενούς (1, 3, 7, 12).

2.2.3.11 Πρόγνωση

Τα αποτελέσματα στον καρκίνο του λάρυγγα μετριοούνται με βάση την 5 ετή επιβίωση. Τα δεδομένα από την Εθνική Βάση Δεδομένων Καρκίνου βασισμένα σε ασθενείς που διαγνώστηκαν μεταξύ 1998-1999 είναι τα εξής:

Υπεργλωττιδικό Ca: Στάδιο I - 59%, Στάδιο II - 59%, Στάδιο III-53%, Στάδιο IV-34%

Γλωττιδικό Ca: Στάδιο I - 90%, Στάδιο II - 74%, Στάδιο III-56%, Στάδιο IV-44%

Υπογλωττιδικό Ca: Στάδιο I - 65%, Στάδιο II - 56%, Στάδιο III-47%, Στάδιο IV-32%

Τα αποτελέσματα εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την αρχική σταδιοποίηση. Σε γενικές γραμμές, η νόσος πρώιμου σταδίου αντιμετωπίζεται με μονοθεραπεία, είτε χειρουργική είτε ακτινοθεραπεία. Το ποσοστό 5 ετούς επιβίωσης στις πρώιμες νόσους πλησιάζουν πάνω από το 90%. Η προχωρημένη νόσος (στάδιο III-IV) αντιμετωπίζεται με ταυτόχρονη χημειο-ακτινοθεραπεία ή χειρουργική επέμβαση και μετεγχειρητική ακτινοθεραπεία. Το ποσοστό 5 ετούς επιβίωσης ποικίλλει ανάλογα με τον τρόπο θεραπείας. Μετά από ταυτόχρονη χημειο-ακτινοθεραπεία είναι 54% με διατήρηση 88% του λάρυγγα σε 2 χρόνια. Η πενταετής επιβίωση μετά από ενδοσκοπική χειρουργική του λάρυγγα με λέιζερ είναι 55%. Είναι ενδιαφέρον ότι ο καρκίνος του λάρυγγα είναι ίσως ο μόνος καρκίνος που

εμφανίζει μείωση του ποσοστού επιβίωσης τις τελευταίες δεκαετίες (43). Η αυξανόμενη χρήση της μη χειρουργικής θεραπείας έχει εμπλακεί σε αυτή τη μείωση, καθώς η ποιότητα ζωής αποτελεί μέτρο επιτυχίας της θεραπείας του καρκίνου του λάρυγγα.

2.2.3.12 Παρακολούθηση

Απαραίτητη θεωρείται η μετέπειτα φροντίδα και η παρακολούθηση των ασθενών αυτών, διότι άλλοι πρωτοπαθείς όγκοι, υποτροπές και μεταγενέστερες μεταστάσεις είναι πιθανόν να εμφανιστούν. Κατά τη διάρκεια της ζωής, το ένα τρίτο των ασθενών με καρκίνο της κεφαλής και του τραχήλου μπορεί να αναπτύξει και άλλο καρκίνο. Επίσης χρήσιμη είναι η βοήθεια των λογοθεραπευτών και των φυσιοθεραπευτών με εμπειρία στον έλεγχο της κατάποσης.

2.2.3.13 Επιπλοκές

Οι επιπλοκές και οι συνέπειες της χειρουργικής επέμβασης, της ακτινοθεραπείας και της χημειοθεραπείας είναι γνωστές. Ωστόσο, στον λάρυγγα, πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κάποιες μοναδικές ή τουλάχιστον ασυνήθιστες επιπλοκές. Αυτές είναι οι εξής (44):

- Απώλεια σωματικής αντοχής μετά τη λαρυγγεκτομή
- Ψυχοκοινωνικό τραύμα μετά από τη χειρουργική επέμβαση και / ή ακτινοθεραπεία
- Περιορισμένη κινητικότητα του λαιμού
- Καθημερινή φροντίδα του στόματος
- Φωνητική απώλεια
- Πνευμονία εισρόφησης
- Δυσφαγία
- Φαρυγγο-δερματικό συρίγγιο
- Οστεοραδιονέκρωση
- Χονδροραδιονέκρωση
- Χρόνιος πόνος
- Αναπνευστική δυσχέρεια
- Μολύνσεις στόματος

2.2.3.14 Κακοήθεις όγκοι άλλων ιστολογικών τύπων

Το ακροχορδονώδες καρκίνωμα (verrucous) είναι μια σπάνια μορφή καρκίνου από πλακώδες επιθήλιο που αντιστοιχεί περίπου στο 1-2% των κακοήθων νεοπλασιών του λάρυγγα. Είναι καλοηθέστερο σε σχέση με το πλακώδες καρκίνωμα, αυξάνεται αργά, είναι τοπικά επιθετικό και δε δίνει μεταστάσεις λεμφογενώς και αιματογενώς. Η μακροσκοπική του εμφάνιση είναι θηλωματώδης και η θεραπεία του είναι χειρουργική.

Το basaloid καρκίνωμα είναι μεγάλης κακοήθειας όγκος από πλακώδη κύτταρα. Συνήθως ο ασθενής είναι βαρύς καπνιστής και η θεραπεία του είναι η χειρουργική αφαίρεση (1, 3, 7, 12).

Άλλες τύποι κακοηθειών του λάρυγγα είναι το νευροενδοκρινικό καρκίνωμα (45), το λεμφοεπιθηλιακό καρκίνωμα, το αδenoκαρκίνωμα, και σπάνιοι όγκοι (συμπεριλαμβανομένων των σαρκωμάτων, των λεμφωμάτων και των μεταστάσεων).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3.1 ΙΟΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΘΗΛΩΜΑΤΩΝ (HPV)

Ο HPV (Human papilloma virus, Ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων) είναι ένας DNA ιός, από την οικογένεια των θηλωμάτων, που παράγει επιθηλιακούς όγκους στο δέρμα και στους βλεννογόνους των ανθρώπων και ορισμένων ζώων. Έως τώρα έχουν αναγνωρισθεί 189 υπότυποι του ιού των θηλωμάτων (PV) από τους οποίους οι 120 προσβάλουν τον άνθρωπο – ιός HPV. Μέχρι στιγμής έχει αναλυθεί πλήρως το γονιδίωμα πάνω από 80 υποτύπων και περισσότεροι από 40 είναι σεξουαλικά μεταδιδόμενοι (46, 47). Το τρέχον σύστημα ταξινόμησης για τον HPV, συσχετίζεται με τις 3 κλινικές κατηγορίες που εμφανίζονται στην μόλυνση από HPV:

- Πρωκτογεννητικά ή βλεννογονικά (περαιτέρω ταξινομημένα ως λανθάνοντα - ασυμπτωματικά, υποκλινικά ή κλινικά).
- Μη γεννητικά δερματικά.
- Επιδερμοειδής δυσπλασία verruciformis.

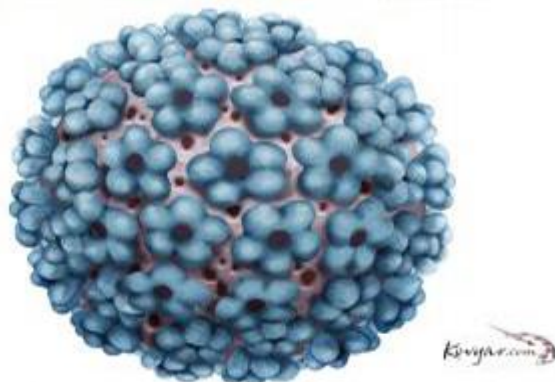
Οι κλινικές αλλοιώσεις είναι εμφανείς, ενώ οι λανθάνουσες λοιμώξεις ανιχνεύονται μόνο με δοκιμές για ιϊκό DNA. Οι υποκλινικές αλλοιώσεις αναγνωρίζονται με εφαρμογή οξικού οξέος 3-5% και έλεγχο υπό μεγέθυνση. Οι περισσότερες λοιμώξεις από HPV είναι λανθάνουσες. Κάποιες μορφές του HPV δημιουργούν κονδυλώματα, ενώ άλλες προκαλούν μόλυνση, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε προ-καρκινικές αλλοιώσεις. Όλοι οι υπότυποι του HPV μεταδίδονται μέσω δερματικής επαφής οδηγώντας σε μια ευρεία ποικιλία κλινικών εκδηλώσεων που αφορούν τις επιδερμικές επιφάνειες, επομένως δεν απαιτείται πλήρης σεξουαλική επαφή για τη μετάδοση. Τα γεννητικά κονδυλώματα αναγνωρίζονται ως καλοήθεις πολλαπλασιασμοί του δέρματος και του βλεννογόνου που προέρχονται από μόλυνση από HPV και μεταδίδονται με τη σεξουαλική επαφή. Περίπου τα δύο τρίτα των ατόμων που έχουν σεξουαλική επαφή με ένα μολυσμένο σύντροφο αναπτύσσουν κονδυλώματα των γεννητικών οργάνων. Ο ακριβής χρόνος επώασης είναι άγνωστος, αλλά εκτιμάται ότι είναι 3 εβδομάδες έως 8 μήνες (48, 49). Παρά την γενικά καλοήγη φύση αυτών των πολλαπλασιασμών, ορισμένοι τύποι HPV μπορούν να θέσουν τους ασθενείς σε υψηλό κίνδυνο για εμφάνιση καρκίνου (50, 51, 52). Οι τύποι HPV 6 και 11 τυπικά χαρακτηρίζονται ως χαμηλού κινδύνου, επειδή η μόλυνση με αυτούς τους τύπους έχει χαμηλό ογκογόνο δυναμικό και συνήθως έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό

κονδυλωμάτων και χαμηλού κινδύνου προκαρκινικών αλλοιώσεων. Οι τύποι HPV 16 και 18 είναι τύποι υψηλού κινδύνου επειδή είναι υπεύθυνοι για τις περισσότερες ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις υψηλού βαθμού (high-grade) που μπορεί να εξελιχθούν σε καρκινώματα, ιδιαίτερα εκείνα της κατηγορίας των βλεννογονικών. Η κατανόηση από τους ιατρούς του φυσικού ιστορικού της νόσου του HPV έχει βελτιωθεί σημαντικά τα τελευταία 20 χρόνια, αλλά βασικά θέματα παραμένουν αναπάντητα. Θέματα που απαιτούν περαιτέρω έρευνα περιλαμβάνουν HPV αποτελέσματα ειδικά για την ηλικία, την πιθανότητα εξέλιξης ή υποτροπής της νόσου και παράγοντες σημαντικούς για την απόκτηση ανοσίας μετά τη μόλυνση (53, 55).

3.1.1 Βιολογία – Δομή

Οι ιοί των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV) ανήκουν στην οικογένεια Papovae. Ονομάζονται έτσι επειδή προκαλούν θηλώματα (papillomas). Είναι μη επικαλυμμένοι, μικροί ιοί εικοσαεδρικής συμμετρίας, διαμέτρου 54nm με 72 καψομερή τα οποία περιβάλλουν ένα γονιδίωμα που περιέχει δίκλωνο κυκλικό DNA με περίπου 8000 ζεύγη βάσεων και κάψα εξωτερικά. Η κάψα αποτελείται από πρωτεΐνες και προφυλάσσει το ιικό γονιδίωμα (54) **(Εικόνα 10)**.

Human Papilloma Virus

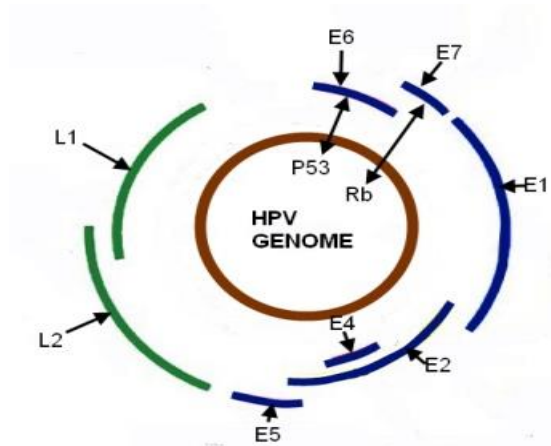


Εικόνα 10: Ιός HPV

(πηγή: <http://www.cmdrc.com/womens-health/sexually-transmitted-diseases-std/hpv/>).

Το γονιδίωμα τους χωρίζεται στις ακόλουθες 3 κύριες λειτουργικές περιοχές (56) **(Εικόνα 11)**:

- Η πρώιμη (E) περιοχή κωδικοποιεί για 6 μη δομικά γονίδια, μερικά από τα οποία συνδέονται με τον κυτταρικό μετασχηματισμό.
- Η όψιμη (L) περιοχή κωδικοποιεί για 2 δομικές πρωτεΐνες, L1 και L2, που σχηματίζουν το καψίδιο.
- Η περιοχή μακρού ελέγχου είναι μια μη κωδικοποιημένη περιοχή που ρυθμίζει την αναπαραγωγή και τη γονιδιακή λειτουργία.



Εικόνα 11: Περιοχές γονιδιώματος HPV

(πηγή: https://www.labce.com/spg326556_hpv_genome_and_proteins.aspx).

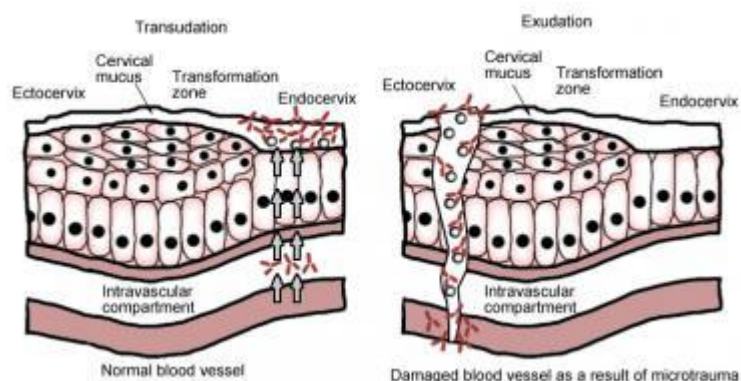
3.1.2 Παθοφυσιολογία - Μηχανισμός του ιού και λαρυγγικές βλάβες

Οι ιοί των θηλωμάτων είναι ιδιαίτερα ειδικοί και δε μολύνουν άλλα είδη, ακόμη και σε εργαστηριακές συνθήκες. Οι άνθρωποι είναι η μόνη γνωστή δεξαμενή για τον HPV. Οι θηλωματοϊοί δεν έχουν αναπτυχθεί ποτέ *in vitro* αλλά έχουν χαρακτηριστεί με μοριακές μεθόδους. Αυτοί οι ιοί ταξινομούνται από τη μοριακή ομοιότητα του γενετικού τους υλικού και τους αποδίδεται ένας αριθμός γονότυπου. Αν και υπάρχει κάποια επικάλυψη, οι περισσότεροι θηλωματοϊοί έχουν ξεχωριστές ανατομικές προσβολές, μολύνοντας μόνο ορισμένες επιδερμικές θέσεις, όπως δερματικό ή γεννητικό βλεννογόνο. Ο ιός έχει τη δυνατότητα να ενσωματωθεί στο DNA του ξενιστή, συχνά με την απώλεια της πρώιμης ρυθμιστικής λειτουργίας. Ο HPV μολύνει το βασικό κερατινοκύτταρο της επιδερμίδας, πιθανώς μέσω διαταραχών της επιδερμίδας ή της επιφάνειας του βλεννογόνου. Σε αυτή τη θέση, ο ιός παραμένει λανθάνων στο κύτταρο ως κυκλικό επίσωμα με χαμηλό αριθμό αντιγράφων. Η διάδοση της λοίμωξης από τον HPV είναι συνήθως μέσω του μολυσμένου δέρματος και όχι με το αίμα. Η κυτταρομεσολαβούμενη ανοσία (CMI) πιθανότατα

διαδραματίζει σημαντικό ρόλο. Οι ασθενείς με ανεπάρκεια CMI είναι ιδιαίτερα ευαίσθητοι στη μόλυνση από τον ιό HPV και είναι δύσκολα θεραπεύσιμοι (57). Οι θηλωματοϊοί πιστεύεται ότι έχουν 2 τρόπους αναπαραγωγής:

- Σταθερή αναπαραγωγή του επισωματικού γονιδιώματος σε βασικά κύτταρα.
- Απελευθέρωση ή αντιγραφή σε περισσότερο διαφοροποιημένα κύτταρα για την παραγωγή ιού από απογόνους.

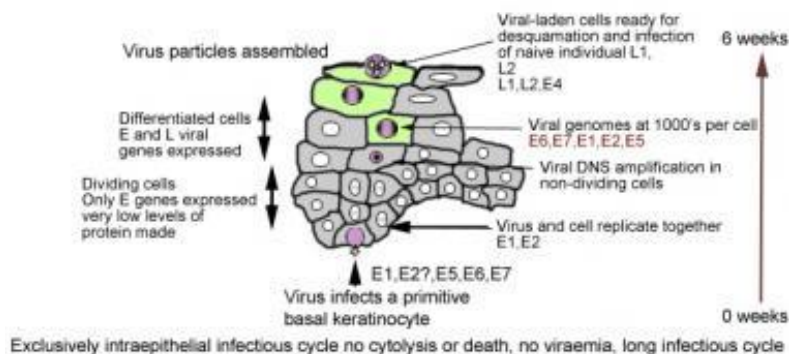
Καθώς τα επιδερμικά κύτταρα διαφοροποιούνται και μεταναστεύουν στην επιφάνεια, ο ιός πυροδοτείται να υποστεί αναπαραγωγή και ωρίμανση. Επιπλέον στο κερατινικό στρώμα ο ιός είναι παρόν σε υψηλό αριθμό αντιγράφων και αποβάλλεται στα κύτταρα απολέπισης. Η διαδικασία της αναπαραγωγής του ιού μεταβάλλει τον χαρακτήρα της επιδερμίδας, με αποτέλεσμα δερματικές ή βλεννογονικές εκδηλώσεις γνωστές ως κονδυλώματα (**Εικόνα 12**).



Εικόνα 12: Το αριστερό πλαίσιο δείχνει τη διαπίδυση αντισωμάτων στο σημείο μόλυνσης από ιό ανθρώπινου θηλώματος και στο δεξί πάνελ φαίνεται η εξίδρωση αντισωμάτων ορού στο σημείο μόλυνσης από ιό ανθρώπινου θηλώματος

(πηγή: <https://emedicine.medscape.com/article/219110-overview#a3>).

Αν και όλα τα κύτταρα μιας αλλοίωσης περιέχουν το ιϊκό γονιδίωμα, η έκφραση των ιϊκών γονιδίων συνδέεται στενά με την κατάσταση της κυτταρικής διαφοροποίησης. Τα περισσότερα ιϊκά γονίδια δεν ενεργοποιούνται μέχρις ότου το μολυσμένο κερατινοκύτταρο εγκαταλείψει το βασικό στρώμα. Η παραγωγή σωματιδίων ιού μπορεί να συμβεί μόνο σε πολύ διαφοροποιημένα κερατινοκύτταρα. Συνεπώς, η παραγωγή ιού λαμβάνει χώρα μόνο στην επιφάνεια του επιθηλίου όπου τα κύτταρα τελικά διοχετεύονται στο περιβάλλον (**Εικόνα 13**).

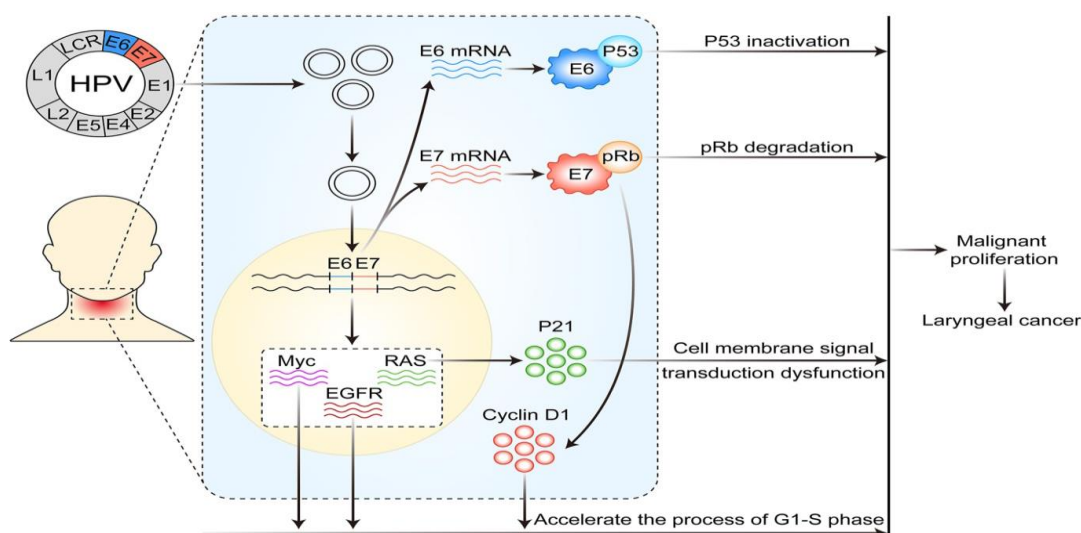


Εικόνα 13: Διείσδυση ιού HPV στο βασικό στρώμα και τελικά απελευθέρωσή του στην επιφάνεια (πηγή: <https://emedicine.medscape.com/article/219110-overview#a3>).

Οι λοιμώξεις από HPV δεν έχουν δείξει ότι είναι κυτταρολυτικές. Αντίθετα, τα ιικά σωματίδια απελευθερώνονται ως αποτέλεσμα του εκφυλισμού των απολεπιστικών κυττάρων. Ο ιός HPV μπορεί να επιβιώσει για πολλούς μήνες και σε χαμηλές θερμοκρασίες χωρίς ξενιστή. Ως εκ τούτου, σε ένα άτομο με πελματιαία κονδυλώματα μπορεί να εξαπλωθεί ο ιός περπατώντας ξυπόλυτος. Ο πολλαπλασιασμός του ιού περιορίζεται στον πυρήνα (58). Κατά συνέπεια, τα μολυσμένα κύτταρα παρουσιάζουν υψηλό βαθμό πυρηνικής ατυπίας. Η κοιλοκυττάρωση αποτελεί έναν συνδυασμό περιπυρηνικού καθαρισμού (hallo) με πυκνωτικό ή συρρικνωμένο (ρασινοειδές) πυρήνα και αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα της παραγωγικής λοίμωξης από ιό θηλώματος. Πολλοί ιικοί γονότυποι έχουν τη δυνατότητα να μετασχηματίζουν κύτταρα και σχετίζονται με επιδερμικές κακοήθειες. Στις καλοήθεις ή χαμηλού κινδύνου βλάβες του HPV, όπως εκείνες που συνδέονται τυπικά με τους τύπους 6 και 11 του HPV, το γονιδίωμα του HPV υπάρχει ως ένα κυκλικό επισωματικό DNA χωριστό από τον πυρήνα του κυττάρου-ξενιστή.

Σε κακοήθεις βλάβες, τα γονιδιώματα τύπων HPV υψηλού κινδύνου 16 και 18 είναι συνήθως ενσωματωμένα στο DNA του κυττάρου ξενιστή. Η ενσωμάτωση του ιικού γονιδιώματος στο γονιδίωμα του κυττάρου-ξενιστή θεωρείται χαρακτηριστικό του κακοήθους μετασχηματισμού. Ήδη από το 1982, οι Syrjänen και συν. (167) ανέφεραν ότι η λοίμωξη από τον HPV συνδέεται στενά με τον καρκίνο του λάρυγγα. Μετά από αυτό, πολλές μελέτες έδειξαν ότι η λοίμωξη με HR-HPV υποτύπους (ειδικά HPV 16 και 18) και η έκφραση των γονιδίων E6 και E7 μπορεί να είναι σημαντικοί παράγοντες κινδύνου για

την εμφάνιση καρκίνου του λάρυγγα (65). Ο πιθανότερος μηχανισμός λοίμωξης του HPV και η ανάπτυξη του καρκίνου του λάρυγγα γίνεται σε τρία επίπεδα: DNA, mRNA και πρωτεΐνης (**Εικόνα 14**).



Εικόνα 14: Μηχανισμός HPV λοίμωξης στην ανάπτυξη καρκίνου του λάρυγγα
(πηγή: Yang D. et al. Effect of HPV Infection on the Occurrence and Development of Laryngeal Cancer: A Review Journal of Cancer 2019; 10(19): 4455-4462).

Αναλυτικότερα, αφού ο HPV μολύνει τα επιθηλιακά κύτταρα του λαρυγγικού βλεννογόνου, το DNA του ενσωματώνεται στο γονιδίωμα των κυττάρων-ξενιστών, με αποτέλεσμα την αλλοιωμένη έκφραση μιας ποικιλίας πρωτο-ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων, την υπερέκφραση των E6 και E7 mRNA και την απενεργοποίηση των πρωτεϊνών καταστολής όγκων του ξενιστή p53 και Rb, οδηγώντας έτσι σε διαταραγμένο μεταβολισμό των κυττάρων, ανεξάντλητο πολλαπλασιασμό και κακοήθη μετασχηματισμό (132).

3.1.3 Αιτιολογία

Οι τύποι του HPV διακρίνονται, αναλόγως με τον κίνδυνο να προκαλέσουν εξαλλαγή σε (59):

- Υψηλού κινδύνου ή ογκογόνοι: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73
- Ενδιάμεσου κινδύνου: 26, 53, 66, 73, 82
- Χαμηλού κινδύνου ή καλοήθεις: 6, 11, 42, 43, 44, 53

Ορισμένοι τύποι του HPV, κυρίως οι 6 και 11, είναι καλοήθεις και ευθύνονται για το 90% των γεννητικών κονδυλωμάτων (μαλακές, σαρκώδεις εκβλαστήσεις στο χρώμα του δέρματος που εντοπίζονται συνηθέστερα στα εξωτερικά γεννητικά όργανα, τον πρωκτό, τον κόλπο και τον τράχηλο της μήτρας). Αποτελούν καλοήθεις, εξαιρετικά μεταδοτικές αλλοιώσεις, προκαλούμενες από τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων, ενώ άλλοι υπότυποι έχει αποδειχθεί ότι ευθύνονται για την εμφάνιση καρκίνου του τραχήλου. Ο HPV έχει επίσης ενοχοποιηθεί και για άλλες μορφές καρκίνου, όπως ο στοματοφαρυγγικός καθώς και για τον καρκίνο του δέρματος σε ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς (60). Έχουν τεκμηριωθεί πολλαπλές κλινικές συσχετίσεις με συγκεκριμένους HPV υπότυπους. Ορισμένες από αυτές παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα (**Πίνακας 4**):

Πίνακας 4: Ασθένειες που σχετίζονται με συγκεκριμένους HPV υπότυπους
(πηγή: <https://emedicine.medscape.com/article/219110-overview#a4>).

Μη γεννητική δερματική νόσος	HPV Τύπος
Κοινά κονδυλώματα	1, 2, 4, 26, 27, 29, 41, 57, 65, 75-78
Μυρμηγκιές	1, 2, 4, 60, 63
Επίπεδα κονδυλώματα	3, 10, 27, 28, 38, 41, 49
Butcher's κονδυλώματα (κοινά κονδυλώματα ανθρώπων που χειρίζονται το κρέας, τα πουλερικά και τα ψάρια)	1-4, 7, 10, 28
Μωσαϊκά κονδυλώματα	2, 27, 57
Καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων	16
Επιδερμοειδής δυσπλασία verruciformis (καλοήθης)	2, 3, 10, 12, 15, 19, 36, 46, 47, 50
Επιδερμοειδής δυσπλασία verruciformis (καλοήθης ή κακοήθης)	5, 8-10, 14, 17, 20-25, 37, 38
Βλεννογονική νόσος	HPV Τύπος
Αναπνευστική θηλωμάτωση	6, 11
Καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων του πνεύμονα	6, 11, 16, 18

Θηλώματα λάρυγγα (61)	2, 6, 11, 16, 30, 40, 57
Θήλωμα γναθιαίου άντρου	57
Καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων των κόλπων	16, 18
Καρκίνος στοματικής κοιλότητας	16, 18
Λευκοπλακία στόματος	16, 18
Καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων του οισοφάγου	16, 18
Νόσος γεννητικών οργάνων	HPV Τύπος
Κονδυλώματα (62)	1-6, 10, 11, 16, 18, 30, 31, 33, 35, 39-45, 51-59, 70, 83
Ασθένεια Bowen	16, 18, 31, 34
Όγκοι Buschke-Löwenstein	6, 11, 57, 72, 73
Απροσδιόριστη ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία	30, 34, 39, 40, 53, 57, 59, 61, 62, 64, 66-69
Χαμηλού βαθμού πλακώδεις ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις (LGSIL)	6, 11, 16, 18, 26, 27, 30, 31, 33-35, 40, 42-45, 51-58, 61, 62, 67-69, 71-74, 79, 81-84
Υψηλού βαθμού πλακώδεις ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις (HGSIL)	6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 42, 44, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 61, 64, 66, 68, 82
Καρκίνωμα αιδοίου	6, 11, 16, 18
Καρκίνωμα κόλπου	16
Καρκίνωμα τραχήλου της μήτρας	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 70, 73, 82
Καρκίνωμα πρωκτού (63)	16, 31, 32, 33
Καρκίνωμα in situ του πέους	16
Καρκίνωμα του πέους	16, 18

Πρέπει εδώ να τονιστεί ότι, μετά από λεπτομερή ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας που διενεργήθηκε, διαπιστώνεται ότι ενώ έχει αποδειχθεί επιστημονικά ότι ο ιός HPV και συγκεκριμένα ο τύπος 16 ευθύνεται για πάνω από το 50% των καρκίνων στο στοματοφάρυγγα (64), παραμένει αδιευκρίνιστο μέχρι σήμερα το αν υπάρχει συσχέτιση της λοίμωξης του ιού HPV με θηλωματώδεις, προκαρκινικές και καρκινικές βλάβες του λάρυγγα (65).

3.1.4 Παράγοντες κινδύνου

Η μόλυνση από HPV μόνο, δεν προκαλεί κακοήγη εξαλλαγή του μολυσμένου ιστού. Η χρήση καπνού, η υπεριώδης ακτινοβολία, η εγκυμοσύνη, η ανεπάρκεια φυλλικού οξέος και η καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος, έχουν εμπλακεί σε αυτή τη διαδικασία. Οι ασθενείς που λαμβάνουν ανοσοκατασταλτικά φάρμακα και ασθενείς με μειωμένη κυτταρική μεσολαβούμενη ανοσία, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που έχουν μολυνθεί από τον ιό HIV, είναι ιδιαίτερα ευαίσθητοι σε λοιμώξεις από HPV (60). Αναλυτικά:

- Σεξουαλική δραστηριότητα

Υπάρχει άμεση συσχέτιση μεταξύ της λοίμωξης των γεννητικών οργάνων από τον HPV και των παραμέτρων σεξουαλικής δραστηριότητας, όπως η ηλικία της πρώτης επαφής και ο αριθμός των σεξουαλικών συντρόφων. Οι γυναίκες με ιστορικό κακοήθων ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων (HGSIL) του τραχήλου της μήτρας ή διηθητικού καρκίνου εκ πλακωδών κυττάρων (SCC) του τραχήλου της μήτρας διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για την επακόλουθη ανάπτυξη διηθητικού κολπικού και πρωκτικού καρκίνου (σχετικοί κίνδυνοι, 5,6 και 4, αντίστοιχα). Ο καρκίνος του πρωκτού συνδέεται έντονα με την ανδρική ομοφυλοφυλία και με συγκεκριμένες πρακτικές, όπως η συμμετοχή στην δεκτική πρωκτική επαφή (ο σχετικός κίνδυνος είναι 33). Ωστόσο, ο επιπολασμός της ασθένειας είναι υψηλότερος στις γυναίκες από ότι στους άνδρες, με αναλογία γυναικών προς αρσενικά 1,5: 1.

- Κάπνισμα

Οι γυναίκες που καπνίζουν έχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης νεοπλασιών της τραχηλικής χώρας. Μέτριες ποσότητες ισχυρού καρκινογόνου, καθώς και αρκετές ενώσεις από τον καπνό τσιγάρων, έχουν ταυτοποιηθεί στον τραχηλικό βλεννογόνο θήλεων που

καπνίζουν. Αυτοί οι παράγοντες είναι πιθανό να διαδραματίσουν κάποιο ρόλο στον αυξημένο επιπολασμό του κακοήθους μετασχηματισμού της λοίμωξης από HPV που παρατηρείται σε ασθενείς που καπνίζουν.

- Χρήση από στόματος αντισυλληπτικών

Οι γυναίκες που λαμβάνουν αντισυλληπτικά από το στόμα για περισσότερο από 5 χρόνια έχουν αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Αυτός ο κίνδυνος μειώνεται μετά τη διακοπή της χρήσης του αντισυλληπτικού από το στόμα και δεν αποδεικνύεται κανένας κίνδυνος σε γυναίκες που έλαβαν αυτούς τους παράγοντες για λιγότερο από 5 χρόνια.

3.1.5 Επιδημιολογία

3.1.5.1 Στατιστικά ΗΠΑ

Η μόλυνση των γεννητικών οργάνων από HPV θεωρείται ότι έχει γίνει δραματικά συχνότερη τις τελευταίες δεκαετίες. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, νέοι ηλικίας 15-24 ετών αντιπροσωπεύουν περίπου το ήμισυ των νέων μολύνσεων από HPV κάθε χρόνο (66). Όπως αναφέραμε προηγουμένως η συχνότητα των γεννητικών λοιμώξεων συνδέεται με τον αριθμό των σεξουαλικών συντρόφων και την ηλικία έναρξης της σεξουαλικής επαφής. Οι ασθενείς που λαμβάνουν ανοσοκατασταλτικά φάρμακα και ασθενείς με μειωμένη κυτταρική μεσολαβούμενη ανοσία, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που έχουν μολυνθεί από τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV), είναι ιδιαίτερα ευαίσθητοι στην εμφάνιση λοιμώξεων από HPV. Χρησιμοποιώντας δεδομένα από 4150 θήλεα σε 4 διαδοχικές έρευνες στον τομέα της υγείας και της διατροφής (2003-2006), ο Hariri et al βρήκε τον HPV στο 42,5% των αμερικανικών θήλεων ηλικίας 14-59 ετών. Ο υψηλότερος ρυθμός μόλυνσης είναι μεταξύ των νέων γυναικών ηλικίας 20-24 ετών (67). Η συχνότητα εμφάνισης κονδυλωμάτων των γεννητικών οργάνων εκτιμήθηκε σε 106 περιπτώσεις ανά 100.000 άτομα στο πληθυσμό του Rochester της Μινεσότα (68) (1975-1978) και σε 160 περιπτώσεις ανά 100.000 κατοίκους στη Manitoba, στον Καναδά (69) (το 1992), με υψηλότερο ποσοστό επίπτωσης σε κατοίκους ηλικίας 20-24 ετών. Τα αριθμητικά στοιχεία 5 Σχεδίων Υγείας του Blue Cross / Blue Shield δείχνουν επίπτωση 105 περιπτώσεων ανά 100.000 κατοίκους (για το 2004). Υπολόγισαν 340.000 περιπτώσεις σε εθνικό επίπεδο το 2004, με οικονομική επιβάρυνση άνω των 220 εκατομμυρίων δολαρίων (70). Αυτά τα

αριθμητικά στοιχεία διέφεραν από αυτά που υποδεικνύονται από τα δεδομένα που συλλέχθηκαν από τις κλινικές STD και τα γραφεία ιδιωτών ιατρών. Χρησιμοποιώντας δεδομένα από αυτές τις πηγές, τα Αμερικανικά Κέντρα Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (CDC) δημοσίευσαν πολύ υψηλότερα αριθμητικά στοιχεία: μια εκτιμώμενη συχνότητα εμφάνισης περισσότερων από 6 εκατομμυρίων νέων ασθενών το χρόνο στις Ηνωμένες Πολιτείες (το 2008) (71-75). Για λόγους σύγκρισης, το CDC εκτιμά ότι 1,6 εκατομμύρια άνθρωποι έχουν έρπη γεννητικών οργάνων και 1,6 εκατομμύρια έχουν χλαμύδια ή γονόρροια. Το 75% των ατόμων που έχουν σεξουαλική επαφή με έναν εταίρο που έχει μολυνθεί από HPV θα αναπτύξει κονδυλώματα των γεννητικών οργάνων (76). Επιπρόσθετα αρκετοί ερευνητές αναφέρουν αυξημένο επιπολασμό λοιμώξεων από HPV κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης. Ο επιπολασμός των κονδυλωμάτων αυξάνεται από το πρώτο έως το τρίτο τρίμηνο και στη συνέχεια μειώνεται σημαντικά μετά τον τοκετό. Η καισαρική μειώνει, αλλά δεν εμποδίζει εντελώς την μετάδοση του HPV με αποτέλεσμα την ανάπτυξη λαρυγγικών θηλωμάτων στο βρέφος (77-80).

Έχει αποδειχθεί ότι η λοίμωξη από τον HPV προκαλεί σχεδόν όλες τις περιπτώσεις καρκίνου του τραχήλου της μήτρας (81, 82). Στις νεοπλασίες του τραχήλου της μήτρας, το γονιδίωμα του HPV μπορεί να ανιχνευθεί σε περισσότερο από 95% των όγκων. Η συχνότητα εμφάνισης μειώθηκε δραματικά τον περασμένο αιώνα λόγω της εφαρμογής του τεστ Παπανικολάου (Pap Test), που ξεκίνησε τη δεκαετία του 1930 και του 1940. Ωστόσο, μεταξύ 1990 και 2001, ο ετήσιος αριθμός των νέων διηθητικών καρκίνων του τραχήλου της μήτρας παρέμεινε σχετικά σταθερός (13.500 και 12.900, αντίστοιχα). Στις Ηνωμένες Πολιτείες, εκτιμάται ότι 2,5 εκατομμύρια γυναίκες έχουν κυτταρολογική διάγνωση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας χαμηλού βαθμού, ετησίως. Τα ποσοστά άλλων καρκίνων που προκαλούνται από ογκογόνους τύπους HPV έχουν ως εξής (82-94):

- Πρωκτικός καρκίνος - 90%
- Καρκίνος αιδοίου - 40%
- Καρκίνος του κόλπου - 40%
- Στοματοφαρυγγικός καρκίνος - 12%
- Καρκίνος του στόματος - 3%

3.1.6 Πρόγνωση

Η λοίμωξη από τον HPV εμπλέκει πρωτίστως τα βασικά επιθηλιακά κύτταρα με αποτέλεσμα οι υποτροπές να είναι συχνές. Η πρόγνωση είναι καλή και οι περισσότερες περιπτώσεις κονδυλωμάτων των γεννητικών οργάνων υποβάλλονται σε θεραπεία. Οι ασθενείς που δεν αναπτύσσουν ανοσία στον HPV μπορούν να αναπτύξουν δυνητικά σοβαρά επακόλουθα. Τα κονδυλώματα των γεννητικών οργάνων μπορεί να υποχωρήσουν, να παραμείνουν αμετάβλητα ή να αυξηθούν σε μέγεθος. Η θεραπεία αυτών των βλαβών δεν επηρεάζει την ανάπτυξη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Περίπου τα δύο τρίτα των ασθενών με μη γεννητικά δερματικά κονδυλώματα εμφανίζουν αυθόρμητη παλινδρόμηση εντός 2 ετών, ωστόσο, μερικά νέα μπορεί να εμφανιστούν.

Η μόλυνση από τον HPV του αιδοίου μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας (δυσπλασία) ή καρκίνου εκ πλακωδών κυττάρων. Οι περισσότερες έρευνες δείχνουν ότι η λοίμωξη με τον HPV συνδέεται στενά με την ανάπτυξη δυσπλασίας και καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Ο HPV ευθύνεται για περισσότερο από το 99% του αποδιδόμενου κινδύνου για την ανάπτυξη της δυσπλασίας του τραχήλου (60). Η κολπική δυσπλασία και ο καρκίνος του κόλπου σχετίζονται επίσης με την έκθεση του HPV. Οι ιστολογικές ενδείξεις μόλυνσης από τον ιό HPV σε ένα τραχηλικό επίχρισμα Pap είναι παρόμοια με την ήπια δυσπλασία. Αυτή η υποκλινική ασθένεια συχνά υποχωρεί αυθόρμητα. Υπάρχει άμεση συσχέτιση μεταξύ της λοίμωξης από HPV και των μέτρων σεξουαλικής δραστηριότητας, όπως η ηλικία της πρώτης επαφής και ο αριθμός των σεξουαλικών συντρόφων σε όλη τη ζωή. Οι γυναίκες με ιστορικό HGSIL του τραχήλου της μήτρας ή διηθητικού SCC του τραχήλου της μήτρας διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο για επακόλουθη ανάπτυξη διηθητικού καρκίνου του κόλπου και του πρωκτού. Σε αυτούς τους ασθενείς, ο σχετικός κίνδυνος του κολπικού καρκίνου είναι 5,6 και ο κίνδυνος πρωκτικού καρκίνου είναι 4.

Οι γυναίκες που είναι ανοσοκατασταλμένες λόγω φαρμακευτικής αγωγής ή λοίμωξης από HIV έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο για επίμονη νόσο. Αυτές οι γυναίκες είναι πιο πιθανό να αναπτύξουν δυσπλασία ή καρκίνο του αιδοίου, του κόλπου ή του τραχήλου.

Ο καρκίνος του πρωκτού συνδέεται έντονα με την ανδρική ομοφυλοφυλία και την δεκτική πρωκτική επαφή. Ο σχετικός κίνδυνος είναι 33, ωστόσο, ο επιπολασμός της ασθένειας είναι υψηλότερος στις γυναίκες απ'ότι στους άνδρες, με αναλογία γυναικών - αντρών 1,5:1. Οι άντρες που έχουν μολυνθεί με τον HPV διατρέχουν κίνδυνο για κονδυλώματα των

γεννητικών οργάνων. Ο κίνδυνος για τα πρώτα δύο χρόνια κυμαινόταν από 57,9% στους άνδρες που είχαν μολυνθεί με HPV τύπου 6 ή τύπου 11 έως 2% σε άνδρες που είχαν μολυνθεί με άλλους τύπους HPV (97).

Ανοσοκατασταλμένοι ασθενείς έχουν υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης EV-HPV από τον γενικό πληθυσμό. Αυτές οι βλάβες μπορούν να υποστούν κακοήγη εξαλλαγή. Περίπου το 10% των ασθενών με EV (Epidermodysplasia Verruciformis) προέρχονται από συγγενείς γάμους, γεγονός που υποδηλώνει έναν αυτοσωματικό υπολειπόμενο τρόπο κληρονομικότητας. Οι περισσότεροι ασθενείς με EV παρουσιάζουν εξέλιξη της νόσου τους κατά την τρίτη ή τέταρτη δεκαετία της ζωής. Κακοήθης εξαλλαγή συνήθως προκύπτει από ακτινικές κερατώσεις, ιδιαίτερα σε ασθενείς που εκτίθενται σε ακτινοβολία. Οι ασθενείς που παραμένουν προστατευμένοι από τις ακτινοβολίες και την έκθεση στον ήλιο γενικά έχουν ικανοποιητική υγεία.

Τέλος το 20% των ασθενών με κονδυλώματα των γεννητικών οργάνων έχουν ταυτόχρονα άλλες σεξουαλικά μεταδιδόμενες ασθένειες (Rochester, Minnesota) (70). Σε μια αυστραλιανή κλινική σεξουαλικής υγείας, το 5% των ασθενών με κονδυλώματα γεννητικών οργάνων βρέθηκε επίσης να έχει χλαμύδια και / ή γονόρροια (98).

3.1.7 Μη γεννητική νόσος του βλεννογόνου

Τα στοματικά κονδυλώματα αντιπροσωπεύουν μόλυνση του στοματικού βλεννογόνου. Αν και είναι διακριτικά και εύκολα διαφεύγουν της προσοχής, είναι αρκετά συνηθισμένα. Οι τύποι HPV 6 και 11 έχουν απομονωθεί από μη γεννητικές βλεννογονικές επιφάνειες. Τα κονδυλώματα έχουν εντοπιστεί στους ρώθωνες, στο στόμα, στον λάρυγγα και στον επιπεφυκότα. Οι τύποι HPV 6 και 11 σχετίζονται με θηλώματα του αναπνευστικού που είναι πιθανώς το αποτέλεσμα μετάδοσης όταν το βρέφος διέρχεται από το γεννητικό κανάλι μιας μητέρας που έχει μολυνθεί από τον ιό HPV. Ωστόσο, υπάρχουν μεμονωμένες αναφορές περιπτώσεων αναπνευστικής θηλωμάτωσης μετά από καισαρική τομή. Οι ασθενείς με λαρυγγικά θηλώματα εμφανίζονται συχνότερα με βραχνάδα σε ηλικία 3 ετών (99).

Η εστιακή επιθηλιακή υπερπλασία (Heck disease) είναι μια διάσπαρτη λοίμωξη από τον HPV του στοματικού βλεννογόνου που συνηθέστερα συνδέεται με τον HPV 32 και τον HPV 13. Αυτή η κατάσταση μπορεί να έχει μια οικογενειακή προτίμηση.

3.1.8 Διάγνωση

Η διάγνωση της λοίμωξης από τον ιό HPV γίνεται με κλινική εξέταση (εξέταση στοματικής κοιλότητας - στοματοφάρυγγα, κολποσκόπηση), με εφαρμογή οξικού οξέος (σε υποψία κονδυλωμάτων των γεννητικών οργάνων) και βιοψία. Η ανίχνευση DNA του ιού HPV είναι πολύτιμο εργαλείο. Η αναγνώριση των γονότυπων είναι διαθέσιμη μόνο σε ερευνητικά εργαστήρια με τη χρήση τεχνικών υβριδισμού DNA (97), συμπεριλαμβανομένης της κηλίδας Southern (ιδιαίτερα ευαίσθητη αλλά χρονοβόρα), της dot κηλίδας και του in situ υβριδισμού. Τα νεότερα HPV test που αναπτύσσονται περιλαμβάνουν τα DNA chip, Linear Array και cycle sequencing (102). Το HPV Test εγκρίθηκε για πρώτη φορά το 2011 για χρήση σε συνδυασμό με ή ως συνέχεια του test Pap (103). Άλλες μέθοδοι περιλαμβάνουν δοκιμασία ανοσοαπορρόφησης συνδεδεμένη με ένζυμο (ELISA) για αντίσωμα ανοσοσφαιρίνης G (IgG) (Ab) έναντι του HPV 16 καψιδίου (100, 101).

Γενικά, ο εργαστηριακός και ο απεικονιστικός έλεγχος έχει περιορισμένο ρόλο στη διάγνωση των λοιμώξεων από HPV. Η αξονική τομογραφία (CT) ή η μαγνητική τομογραφία (MRI) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό της έκτασης της εξάπλωσης του καρκίνου του τραχήλου.

3.1.9 Ιστολογικά ευρήματα

Η ιστοπαθολογία μπορεί να αποσαφηνίσει τη διάγνωση στις περισσότερες περιπτώσεις. Ένα ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μπορεί να αναδείξει ιϊκά σωματίδια στους πυρήνες. Η ανοσοϊστοχημική χρώση με την τεχνική υπεροξειδάσης-αντιπεροξειδάσης κηλιδώνει κύτταρα μολυσμένα από ιϊκά σωματίδια. Ο πολλαπλασιασμός του ιού περιορίζεται στον πυρήνα του κυττάρου ξενιστή. Κατά συνέπεια, τα μολυσμένα κύτταρα παρουσιάζουν υψηλό βαθμό πυρηνικής ατυπίας. Η παρουσία μη φυσιολογικών κοίλοκυττάρων (κερατινοκύτταρα με πυκνωτικούς, βαθιά μπλε πυρήνες που περιβάλλονται από φωτοστέφανο και διαυγές κυτταρόπλασμα με μικρή ποσότητα κόκκων κερατοϋαλίνης) ή η κοίλοκυττάρωση είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα της παραγωγικής λοίμωξης από τον HPV. Άλλοι κυτταρολογικοί δείκτες της HPV λοίμωξης περιλαμβάνουν την ακάνθωση, τη δυσκεράτωση και την πολυπυρήνωση.

3.1.10 Πρόληψη

Τα εμβόλια HPV μπορούν να αποτρέψουν τους πιο συνηθισμένους τύπους λοίμωξης (47). Για να είναι αποτελεσματικά, πρέπει να πραγματοποιούνται πριν από τη μόλυνση και συνιστώνται μεταξύ εννιά και δεκατριών ετών. Σήμερα χρησιμοποιείται το 9δύναμο εμβόλιο του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων (Gardasil 9) το οποίο χορηγείται σε γυναίκες και άνδρες από την ηλικία των 9 έως τα 45 έτη. Προφυλάσσει από την εμφάνιση προκαρκινικών αλλοιώσεων, κονδυλωμάτων γεννητικών οργάνων και καρκίνου τραχηλού της μήτρας, του αιδοίου, του κόλπου και του πρωκτού που προκαλούνται από τους ακόλουθους εννέα υποτύπους HPV (τύποι 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 και 58). Το Gardasil 9 χορηγείται συνήθως σε σχήμα δύο δόσεων ή τριών δόσεων για κορίτσια και αγόρια ηλικίας 9 έως 14 ετών και σχήματος τριών δόσεων για γυναίκες και άνδρες ηλικίας 15 ετών και άνω. Για το σχήμα των δύο δόσεων, η δεύτερη δόση πρέπει να χορηγείται 6 έως 12 μήνες μετά την πρώτη δόση. Αν η δεύτερη δόση χορηγηθεί σε λιγότερο από 5 μήνες μετά την πρώτη δόση, πρέπει να χορηγηθεί μια τρίτη δόση τουλάχιστον 4 μήνες μετά τη δεύτερη δόση. Για το σχήμα των τριών δόσεων, το Gardasil 9 πρέπει να χορηγείται σε 0, 2 και 6 μήνες. Μεταξύ της πρώτης και της δεύτερης δόσης πρέπει πάντα να μεσολαβεί διάστημα τουλάχιστον ενός μήνα, ενώ μεταξύ της δεύτερης και της τρίτης δόσης πρέπει να μεσολαβεί διάστημα τουλάχιστον τριών μηνών. Και οι τρεις δόσεις πρέπει να χορηγούνται μέσα σε διάστημα ενός έτους (96). Οι παράμετροι που μειώνουν την πιθανότητα λοίμωξης από τον ιό HPV περιλαμβάνουν τη σεξουαλική αποχή, τα προφυλακτικά και τον εμβολιασμό (104).

3.1.11 Αντιμετώπιση

Στόχος της είναι η εξάλειψη όσο το δυνατόν περισσότερων ορατών βλαβών έως ότου το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή μπορεί να ελέγξει τον ιικό αναδιπλασιασμό. Η θεραπεία δε συνιστάται για υποκλινική λοίμωξη βλεννογόνων από τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV), ελλείψει συνυπάρχουσας δυσπλασίας. Δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι η θεραπεία εξαλείφει τη λοίμωξη από τον HPV ή ότι μειώνει τη μολυσματικότητα. Στην πραγματικότητα, μπορεί να επανεμφανιστούν αλλοιώσεις μετά τη θεραπεία λόγω της ενεργοποίησης λανθάνοντος ιού που υπάρχει σε υγιή περιοχή πλησίον της βλάβης.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη θεραπεία της νόσου HPV περιλαμβάνουν το μέγεθος, τη μορφολογία, τον αριθμό και την ανατομική θέση των βλαβών, καθώς και το κόστος, τις δυσμενείς επιδράσεις, τα χαρακτηριστικά και τις προτιμήσεις του ασθενούς, την προηγούμενη θεραπεία και την εμπειρία του ιατρού. Η θεραπεία των περισσότερων HPV λοιμώξεων περιλαμβάνει παράγοντες που αφαιρούν άμεσα τις βλάβες (π.χ. χειρουργική εκτομή, χημική αφαίρεση και κρυοπηξία). Η ακατάλληλη χρήση αυτών όμως των παραγόντων μπορεί να προκαλέσει εκτεταμένο και περιττό τραυματισμό με απώλεια ιστού. Οι ασθενείς που είναι θετικοί στον ιό HIV ή είναι ανοσοκατασταλμένοι ως αποτέλεσμα της λήψης ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων συνήθως απαιτούν περισσότερες από μία μεθόδους θεραπείας λόγω ανθεκτικότητας.

Ανεξάρτητα από τον τρόπο θεραπείας η οποία αποτελεί μια ισχυρή πρόκληση για όλους, τα ποσοστά επανεμφάνισης είναι υψηλά και αυτό μπορεί να απογοητεύσει τόσο τον ασθενή, όσο και το θεράποντα ιατρό (105).

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4. ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης είναι ο έλεγχος της πιθανής συσχέτισης της λοίμωξης από τον ιό HPV με θηλωματώδεις, προκαρκινικές και καρκινικές βλάβες του λάρυγγα σε ασθενείς της Βορειοδυτικής Ελλάδας που χειρουργήθηκαν για τις συγκεκριμένες παθολογίες στην Πανεπιστημιακή Ωτορινολαρυγγολογική κλινική των Ιωαννίνων.

Συνολικά αναλύθηκε βιοπτικό υλικό από το λάρυγγα 55 ασθενών που υποβλήθηκαν σε μικρολαρυγγοσκόπηση υπό γενική αναισθησία στην Ωτορινολαρυγγολογική Κλινική του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Σε κάθε δείγμα ασθενούς πραγματοποιήθηκε έλεγχος για την παρουσία HPV-DNA, ανάλυση για την ανεύρεση συγκεκριμένου υποτύπου HPV καθώς και συσχέτιση των αποτελεσμάτων με τα χαρακτηριστικά των ασθενών που προέκυψαν από αναλυτική λήψη του ιστορικού τους (ηλικία, φύλο, επάγγελμα, κληρονομικότητα, κάπνισμα, αλκοόλ κτλ). Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Παθολογικής Ανατομίας της Ιατρικής σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Μέχρι σήμερα στη διεθνή βιβλιογραφία, υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις σχετικά με το θέμα αυτό, το οποίο βρίσκεται στο 'κέντρο' του επιστημονικού ενδιαφέροντος τα τελευταία χρόνια και αποτελεί σημείο έντονης επιστημονικής συζήτησης.

5. ΥΛΙΚΟ – ΜΕΘΟΔΟΙ

Στην μελέτη μας ελήφθη βιοπτικό υλικό από το λάρυγγα ασθενών με θηλωματώδεις, προκαρκινικές και καρκινικές βλάβες, με μικρολαρυγγοσκόπηση υπό γενική αναισθησία. Στη μελέτη μετείχαν 55 ασθενείς, 53 άνδρες ηλικίας 32 έως 86 ετών και 2 γυναίκες ηλικίας 52 και 68 ετών κατά την χρονική περίοδο από 05/12/2014 έως τις 20/12/2017. Μετά το αποτέλεσμα της ιστολογικής εξέτασης τα παρασκευάσματα επεξεργαζόταν στο εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (**Εικόνα 15**).



Εικόνα 15: Το εργαστήριο Παθολογικής Ανατομίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (πηγή: προσωπικό φωτογραφικό αρχείο Α. Λιανού).

5.1 ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΑΣΘΕΝΩΝ

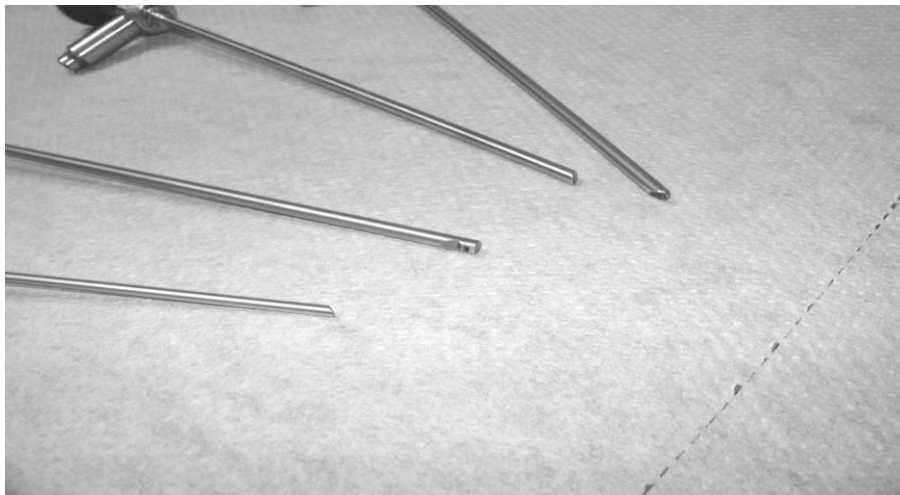
Τα κύρια συμπτώματα των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη μας, εξαιτίας των οποίων προσήλθαν για εξέταση στα Εξωτερικά Ιατρεία ή στο Τμήμα Επειγόντων Περιστατικών του νοσοκομείου μας, περιελάμβαναν το βράγχος φωνής, τη δυσκαταποσία, το φαρυγγικό κομβίο, την αντανακλαστική ωταλγία, την κόπωση και την αδυναμία. Λίγοι ασθενείς εμφάνισαν δύσπνοια ενώ τραχηλική μάζα εντοπίστηκε μόνο σε προχωρημένες περιπτώσεις.

5.2 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ

Το πρώτο μας βήμα στην εξέταση των ασθενών αυτών ήταν η λήψη ενός πλήρους ιστορικού. Ζητήθηκε από τους ασθενείς αναλυτική περιγραφή των συμπτωμάτων τους, της χρονικής στιγμής που εμφανίστηκαν, της διάρκειας τους, της ύπαρξης ή όχι συνοσηροτήτων και της παρουσίας ή όχι θετικού οικογενειακού ιστορικού. Ακολούθησε ενδεδειγμένη εξέταση της κεφαλής και του τραχήλου, η οποία περιελάμβανε επισκόπηση και ψηλάφηση της στοματικής κοιλότητας και του στοματοφάρυγγα και αξιολόγηση της οδοντοφυΐας. Η ενδοσκόπηση του λάρυγγα έγινε με τη χρήση εύκαμπτου ή/και άκαμπτου λαρυγγοσκοπίου όπου εκτιμήθηκε η κινητικότητα των φωνητικών χορδών, το εύρος της γλωττίδας, η θέση και η επέκταση του όγκου. Στη συνέχεια ακολούθησε ψηλάφηση του τραχήλου για αναζήτηση λεμφαδένων καθώς και λεπτομερής αξιολόγηση των κρανιακών νεύρων (**Εικόνα 16, 17**).



Εικόνα 16: Εύκαμπτο ενδοσκόπιο
(πηγή: προσωπικό φωτογραφικό αρχείο Καθηγητή Ι. Καστανιουδάκη).



Εικόνα 17: Άκαμπτα ενδοσκόπια
(πηγή: προσωπικό φωτογραφικό αρχείο Καθηγητή Ι.Καστανιουδάκη).

Σε όλους τους ασθενείς πριν υποβληθούν σε μικρολαρυγγοσκόπηση υπό γενική αναισθησία πραγματοποιήθηκε προεγχειρητικός έλεγχος που περιελάμβανε γενική αίματος, χρόνους πήξης, βιοχημικό έλεγχο για εκτίμηση της ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας, θυρεοειδικές ορμόνες ανάλογα με τα συμπτώματα ή τα κλινικά ευρήματα του ασθενούς, ακτινογραφία θώρακος και/ή εξετάσεις πνευμονικής λειτουργίας.

Τέλος οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε Αξονική τομογραφία με κατάλληλο πάχος διατομής (1-2 mm) προκειμένου να εκτιμηθούν τραχηλικές μάζες ή/και Μαγνητική τομογραφία για ανάδειξη της έκτασης της νόσου σε ζωτικές δομές όπως οι μαλακοί ιστοί και ο θυρεοειδής χόνδρος.

5.3 ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΟΥ ΙΟΥ HPV: ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΩΝ

Από την δεκαετία του 1970 έως και σήμερα έχει αναπτυχθεί μια μεγάλη ποικιλία μεθόδων ανίχνευσης και τυποποίησης του HPV, οι οποίες μπορούν να διαχωριστούν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες:

- I. Τεχνικές βασισμένες στον υβριδισμό.
- II. Τεχνικές βασισμένες στην ενίσχυση των νουκλεϊκών οξέων (PCR).
- III. Τεχνικές βασισμένες στο συνδυασμό τους.

Στην τελευταία κατηγορία ανήκουν οι **Μικροσυστοιχίες**, που αποτελούν μια από τις πλέον **σύγχρονες** μεθοδολογίες Μοριακής ανίχνευσης και τυποποίησης του HPV. Στηρίζονται στην ανάπτυξη ενός συστήματος ανίχνευσης των HPV γονοτύπων με τη βοήθεια:

1. Μιας υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας PCR με ενίσχυση ενός τμήματος 450 bp εντός της εξαιρετικά διατηρημένης περιοχής L1 του ιού. Αυτή η εξαιρετικά διατηρημένη αλληλουχία παρουσιάζει μικρές μεταβολές μεταξύ κάθε ξεχωριστού τύπου HPV που επιτρέπει την γονιδιωματική αναγνώρισή της με αναγνώριση του ιϊκού DNA με ειδικούς ανιχνευτές. Αυτή η μικρή παραλλαγή εγγυάται την εξειδίκευση ανίχνευσης (**Εικόνα 18**).



Εικόνα 18: Kit πολλαπλασιασμού DNA με tubes της PCR
(πηγή: προσωπικό φωτογραφικό αρχείο Α. Λιανού).

2. Στην υβριδοποίηση των PCR προϊόντων με τη χρήση της τεχνολογίας των Μικροσυστοιχιών μικρής πυκνότητας (Clinical Array Technology: σωληνάριο ArrayTube). Η ανίχνευση του προϊόντος που ενισχύεται με PCR διεξάγεται μέσω μιας πλατφόρμας μικροσυστοιχίας χαμηλής πυκνότητας: CLART® (Clinical Array Technology). Η πλατφόρμα βασίζεται σε μια πολύ απλή αρχή, αλλά ταυτόχρονα οικονομικά αποδοτική. Αποτελείται από μια μικροσυστοιχία που τυπώνεται στον πυθμένα ενός φρεατίου πλάκας μικροτίτλου (CLART-Strip® CS) (**Εικόνα 19**), που απλοποιεί ολόκληρη τη διαδικασία υβριδοποίησης και απεικόνισης σε σύγκριση με τα κλασσικά συστήματα microarray.



Εικόνα 19: Εκκινητές - CLART-Strip (CS) με τη μορφή λωρίδας 8 φρεατίων που περιέχει το kit ανίχνευσης γονοτύπων του CLART HPV 2 της GENOMICA (πηγή: προσωπικό φωτογραφικό αρχείο Α. Λιανού).

Με βάση την ενίσχυση συγκεκριμένων θραυσμάτων του ιικού γονιδιώματος και την υβριδοποίησή τους με ειδικούς ανιχνευτές για κάθε τύπο HPV, το kit CLART Human Papillomavirus 2 της Genomica που χρησιμοποιούμε στην μελέτη μας είναι ικανό να ανιχνεύει μολύνσεις και συν-μολύνσεις έως 35 (20HR+15LR) γονοτύπων HPV μόνο σε ένα σωληνάριο (**Εικόνα 22**). Αυτή η προσέγγιση παρουσιάζει ορισμένα πλεονεκτήματα (106):

- ❖ Η υψηλή εξειδίκευση του επιτρέπει την ανίχνευση συγκεκριμένων γονοτύπων HPV αναγνωρίζοντας μια εξαιρετικά διατηρημένη αλληλουχία του ιικού γονιδιώματος.
- ❖ Η υψηλή ευαισθησία του επιτρέπει την ανίχνευση ελάχιστων ποσοτήτων ιογενούς DNA.
- ❖ Παρέχει γενωμική ταυτοποίηση για 35 τύπους HPV με τη μεγαλύτερη κλινική σημασία (όλων των HR και των περισσότερων LR) σε διάστημα 8 ωρών.
- ❖ Διαχωρίζει τη λοίμωξη σε Μονή ή/και Πολλαπλή.
- ❖ Διαθέτει γενωμικούς εσωτερικούς μάρτυρες ελέγχου, σε τριπλέτες.
- ❖ Διαθέτει CE Mark για In Vitro Διάγνωση.
- ❖ Διαγνωστική Ευαισθησία: 98,2% (**Εικόνα 20, 21**)
- ❖ Διαγνωστική Ειδικότητα: 100% (**Εικόνα 20, 21**)

- ❖ Αντικειμενική Ερμηνεία και Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων με αυτόματη υπολογιστική ανάλυση εικόνας.
- ❖ Ταχεία: αποτελέσματα διαθέσιμα σε 48h.
- ❖ Εύκολα εφαρμόσιμη στη ρουτίνα νοσοκομειακών εργαστηρίων.
- ❖ Αξιόπιστη, Επαναληψιμότητα.
- ❖ Παρέχει τη δυνατότητα για Επιδημιολογικές Μελέτες (γεωγραφική επικράτηση).
- ❖ Παρακολούθηση της λοίμωξης: Παροδική/λανθάνουσα - Εκκρίζωση, Υποτροπή – Παραμονή - Εξέλιξη νόσου.
- ❖ Το ποσοστό ακατάλληλων δειγμάτων δεν ξεπερνάει το 3%.

HPV GENOTYPE	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity	PPV	NPV
6	93.75	100	100	99.54
11	100.00	100	100	100.00
16	100.00	100	100	100.00
18	100.00	100	100	100.00
26	100.00	100	100	100.00
31	100.00	100	100	100.00
33	100.00	100	100	100.00
35	100.00	100	100	100.00
39	100.00	100	100	100.00
40	100.00	100	100	100.00
42	100.00	100	100	100.00
43	100.00	100	100	100.00
44	100.00	100	100	100.00
45	100.00	100	100	100.00
51	100.00	100	100	100.00
52	100.00	100	100	100.00
53	96.67	100	100	99.50
54	100.00	100	100	100.00
56	100.00	100	100	100.00
58	95.00	100	100	99.53
59	100.00	100	100	100.00
61	100.00	100	100	100.00
62	91.67	100	100	99.55
66	100.00	100	100	100.00
68	100.00	100	100	100.00
70	100.00	100	100	100.00
71	100.00	100	100	100.00
72	100.00	100	100	100.00
73	100.00	100	100	100.00
81	100.00	100	100	100.00
82	100.00	100	100	100.00
83	100.00	100	100	100.00
84	92.31	100	100	99.54
85	—	100	—	100.00
89	100.00	100	100	100.00

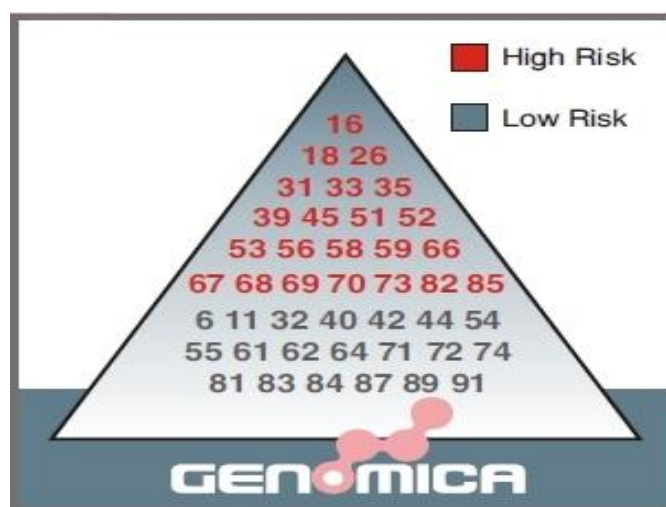
**ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ
ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ /
ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ**

Εικόνα 20: Διαγνωστική ευαισθησία/ειδικότητα
(πηγή: HPV clinical arrays, <http://cytodept.static.otenet.gr/>).

ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

HPV GENOTYPE	10 ² copies	10 ³ copies	10 ⁴ copies	10 ⁵ copies	1 copy
6			100%	<100%	
11			100%	<100%	
16				100%	<100%
18	100%	<100%			
31			100%	<100%	
33			100%	<100%	
35				100%	<100%
39				100%	<100%
45			100%	<100%	
51			100%	<100%	
52			100%	<100%	
56				100%	<100%
58				100%	<100%
59		100%	<100%		
68			100%	<100%	
73	100%	<100%			
82				100%	<100%

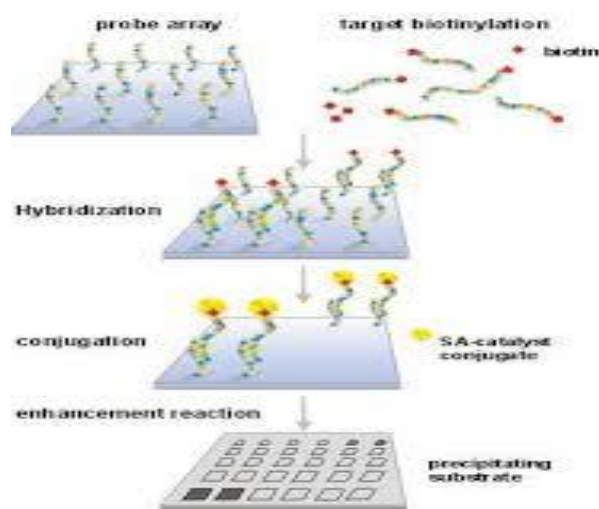
Εικόνα 21: Αναλυτική ευαισθησία
(πηγή: HPV clinical arrays, <http://cytodept.static.otenet.gr/>).



Εικόνα 22: 20HR και 15LR τύποι HPV
(πηγή: HPV clinical arrays, <http://cytodept.static.otenet.gr/>).

Αναλυτικά το kit «CLART Human Papillomavirus 2» ανιχνεύει έως 35 (6, 11, 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 61, 62, 66, 68, 70, 71, 72, 73, 81, 82, 83, 84, 85 και 89) των πλέον κλινικά σχετικών υποτύπων HPV σε ένα ευρύ φάσμα δειγμάτων (επιχρίσματα, κυτταρικά εναιωρήματα, ιστούς σε φορμόλη ή σε παραφίνη) (Εικόνα 22).

Το σύστημα ανίχνευσης του CLART HPV 2 βασίζεται στην καθίζηση ενός αδιάλυτου προϊόντος σε εκείνες τις περιοχές της πλατφόρμας στις οποίες λαμβάνει χώρα η υβριδοποίηση ενισχυμένων προϊόντων με συγκεκριμένους ιχνηθέτες. Αναλυτικά, έχουμε ακινητοποιημένους ιχνηθέτες στην πλατφόρμα της Μικροσυστοιχίας. Κατά τη διάρκεια της PCR, προστίθενται πολυμερισμένα προϊόντα σημασμένα με βιοτίνη. Τα σημασμένα προϊόντα πολυμερισμού αναγνωρίζουν τους αντίστοιχους ιχνηθέτες και ακινητοποιούνται σε συγκεκριμένες και γνωστές περιοχές της μικροσυστοιχίας. Κατόπιν επωάζονται με σύμπλεγμα Στρεπταβιδίνης-Υπεροξειδάσης, το οποίο συνδέεται με τη βιοτίνη των πολυμερισμένων προϊόντων. Με την παρουσία της ένωσης TMB (tramethylbenzidine), η δράση της Υπεροξειδάσης του συμπλέγματος προκαλεί εμφάνιση αδιάλυτου προϊόντος, το οποίο καθιζάνει στις περιοχές υβριδισμού της Μικροσυστοιχίας (**Εικόνα 23**).



Εικόνα 23: Περιγραφή διαδικασίας υβριδισμού
(πηγή: <http://genomica.es/en/documents/CLARTHPV2V10Feb2013English>).

5.3.1 Συστατικά και συντήρηση kit CLART HPV 2 GENOMICA

Το kit CLART Human Papillomavirus 2 περιέχει επαρκή αντιδραστήρια για την εξαγωγή και ανάλυση του DNA από 48 (το οποίο χρησιμοποιούμε στην μελέτη μας) ή 96 κλινικά δείγματα. Αυτά τα αντιδραστήρια παρέχονται σε δύο διαφορετικά κουτιά, ανάλογα με τη θερμοκρασία στην οποία πρέπει να διατηρούνται. Όλα τα αντιδραστήρια εκχύλισης, καθαρισμού και ενίσχυσης που παρέχονται είναι σταθερά υπό τις κατάλληλες συνθήκες μέχρι την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης (106).

5.3.2 Άλλα εξαρτήματα

Για τη σύλληψη και την επακόλουθη επεξεργασία της εικόνας, απαιτείται:

- CAR (Clinical Array Reader): επιτρέπει την αυτόματη ανάγνωση και ερμηνεία έως και 96 δειγμάτων. Κατασκευάζεται και διανέμεται από τη GENOMICA και χρησιμοποιείται αποκλειστικά με τα διαγνωστικά του kit (**Εικόνα 24**).
- Υποστήριξη προσαρμογέα που πρέπει να τοποθετηθεί στο δίσκο CAR πριν από τη σάρωση.
- SAICLART®: λογισμικό που αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε από την GENOMICA για επεξεργασία εικόνας.



Εικόνα 24: Το μηχάνημα ανάγνωσης των μικροσυστοιχιών CAR του εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (πηγή: προσωπικό φωτογραφικό αρχείο Α. Λιανού).

5.3.3 Πρόσθετο υλικό

5.3.3.1 Αντιδραστήρια και υλικό

- Αποσταγμένο νερό.
- Αιθανόλη 96%.
- Γάντια μιας χρήσης.
- Θετικές μετατοπίσεις ή φιλτραρισμένες άκρες πιπέτας.

- Κύπελλο από πάγο.
- Φιαλίδια τύπου Eppendorf των 1.5 mL.
- Πλέγματα σωληνώσεων 1,5 mL.
- Υποδοχέας σωλήνα 0,5 mL / 0,2 mL.
- Αλατούχο διάλυμα 0.9% NaCl

5.3.3.2 Εξοπλισμός

- Μικροφυγόκεντρος.
- Θερμοκύκλωμα.
- Θάλαμος ροής για το εργαστήριο εκχύλισης.
- Τρεις ρυθμιζόμενες μικροπιπέτες (1-20 μ l, 20-200 μ l και 200-1000 μ l) για χρήση στο εργαστήριο εκχύλισης.
- Τρεις ρυθμιζόμενες μικροπιπέτες (1-20 μ l, 20-200 μ l και 200-1000 μ l) για χρήση στο εργαστήριο οπτικοποίησης.
- Θερμικό μπλοκ συμβατό με πλάκες 48 ή 96 φρεατίων και ρυθμιζόμενη ανακίνηση στους 25 ° C, 30 ° C έως 65 ° C.
- Vortex.
- Σύστημα κενού (επιθυμητό).

5.3.3.3 Γενικές συστάσεις

1. Αυτή η δοκιμασία διεξάγεται σε δύο ξεχωριστές περιοχές, προκειμένου να αποφευχθεί μόλυνση του δείγματος με το προηγούμενος ενισχυμένο προϊόν. Χρησιμοποιούμε χωριστά εργαλεία σε κάθε περιοχή (πιπέτες, σωλήνες, πλέγματα, γάντια κ.λπ.) που δεν πρέπει ποτέ να χρησιμοποιούνται εκτός αυτών των περιοχών.

- Περιοχή προ-PCR: Η εκχύλιση του DNA, η προετοιμασία του δείγματος και η προσθήκη του εκχυλισμένου υλικού στους σωλήνες ενίσχυσης πραγματοποιούνται σε αυτήν την περιοχή. Ο χειρισμός των δειγμάτων πραγματοποιείται μέσα σε ένα ερμάριο ασφαλείας (BSC).
- Περιοχή μετά την PCR: Ενίσχυση και οπτικοποίηση του ενισχυμένου προϊόντος πραγματοποιείται σε αυτή την περιοχή. Το υλικό αυτής της περιοχής δεν πρέπει ποτέ να έλθει σε επαφή με το υλικό της περιοχής εξόρυξης. Αποφεύγουμε την είσοδο στην περιοχή προ-PCR αφού έχουμε εργαστεί στην περιοχή απεικόνισης.

2. Χρησιμοποιούμε πάντα γάντια. Συνιστάται να αλλάζουμε τα γάντια αρκετά συχνά και είναι υποχρεωτικό να αλλάζουμε τα γάντια πριν ξεκινήσουμε να εργαζόμαστε σε κάθε μία από τις προαναφερθείσες περιοχές. Τα νέα γάντια τα χρησιμοποιούμε όταν το DNA προστίθεται στους σωλήνες ενίσχυσης.
3. Χρησιμοποιούμε πάντα τις άκρες των φίλτρων και τις πιπέτες με θετική μετατόπιση για να αποφύγουμε τη μόλυνση. Σε κάθε περιοχή χρησιμοποιούμε διαφορετικά σερβιέτες.
4. Χρησιμοποιούμε εργαστηριακό υλικό μιας χρήσης.
5. Δεν αναμειγνύουμε τα αντιδραστήρια από δύο διαφορετικά φιαλίδια, ακόμα κι αν ανήκουν στην ίδια παρτίδα.
6. Κλείνουμε τους σωλήνες αντιδραστηρίων αμέσως μετά τη χρήση, για να αποφύγουμε τη μόλυνση.

5.3.4 Λήψη δειγμάτων

Με το kit CLART HPV2 της GENOMICA δύναται να αναλυθούν επιχρίσματα, ελαιωρήματα κυττάρων ή ιστοί σε φορμόλη ή παραφίνη (όπως στη μελέτη μας) (Εικόνα 25).



Εικόνα 25: HPV DNA Μικροσυστοιχίες «με μια ματιά»
(πηγή: HPV clinical arrays, <http://cytodept.static.otenet.gr/>).

5.3.4.1 Επιχρίσματα

Τα δείγματα λαμβάνονται με καθαρό, στεγνό, βαμβάκι αρκετά μεγάλο ώστε να λαμβάνεται ένα καλό μέγεθος δείγματος. Δεν χρησιμοποιούμε συσκευές που θα μπορούσαν να προκαλέσουν αιμορραγία, καθώς το αίμα μπορεί να επηρεάσει τον προσδιορισμό. Τοποθετούμε το στυλεό στο σωλήνα του, το οποίο δεν πρέπει να περιέχει κανένα μέσο διατήρησης. Το διατηρούμε στους 4 °C αν πρόκειται να υποβληθεί σε επεξεργασία εντός επτά ημερών ή στους -20 °C εάν η επεξεργασία πρόκειται να συμβεί αργότερα.

5.3.4.2 Εναιωρήματα κυττάρων

Μετά τη λήψη του δείγματος με βούρτσα ή σπάτουλα, επανατοποθετούμε το δείγμα σε φιαλίδιο που περιέχει το μέσο μεταφοράς, ανακινώντας τη συσκευή δειγματοληψίας και το κρατάμε στους 4 °C μέχρι να χρησιμοποιηθεί. Οι κυτταρολογικές εξετάσεις του τραχήλου της μήτρας (ThinPrep, Cytoc) ανήκουν σε αυτήν την κατηγορία.

5.3.4.3 Δείγματα σε φορμόλη, αιθανόλη και παραφίνη

Τοποθετούμε τα δείγματα σε φορμόλη για το συντομότερο δυνατό χρόνο (ποτέ περισσότερο από 24 ώρες). Η χρήση μη ρυθμισμένης φορμόλης ή η τοποθέτηση για περισσότερο από 24 ώρες θα μπορούσε να προκαλέσει υποβάθμιση του δείγματος DNA. Πριν κόψουμε το δείγμα, είναι σημαντικό να καθαρίσουμε προσεκτικά τη λεπίδα πριν και μετά το κόψιμο. Αυτό θα βοηθήσει στην αποφυγή τυχόν διασταυρούμενης μόλυνσης των κομμένων δειγμάτων. Αφαιρούμε τυχόν επιπλέον κερί από το δείγμα με άλλη λεπίδα. Χρησιμοποιούμε ένα μικροτόμο για να δημιουργήσουμε τέσσερα ή πέντε τμήματα των 5 μm και τα φυλάσσουμε σε ένα αποστειρωμένο σωλήνα 1,5 ml. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν τα δείγματά μας που ελήφθησαν με μικρολαρυγγοσκόπηση υπό γενική αναισθησία, από 55 ασθενείς με θηλωματώδεις, προκαρκινικές και καρκινικές βλάβες του λάρυγγα οι οποίοι χειρουργήθηκαν για τις συγκεκριμένες παθολογίες στην Πανεπιστημιακή Ωτορινολαρυγγολογική κλινική των Ιωαννίνων.

5.3.5 Πρωτόκολλο εργασίας

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ

- Παρασκεύασμα ρυθμιστικού διαλύματος B3: Ανακατεύουμε καλά το ρυθμιστικό διάλυμα μεταφοράς B1 (που περιέχει 12 ml) στο ρυθμιστικό διάλυμα B2 (που περιέχει 3 ml). Το προκύπτον ρυθμιστικό διάλυμα B3 είναι σταθερό για 5 μήνες όταν αποθηκεύεται στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου.
- Διαλύουμε τη λυοφιλοποιημένη Πρωτεΐνάση K σε αποστειρωμένο απιονισμένο νερό για να φθάσει σε συγκέντρωση αποθεμάτων 20 mg / ml. Φυλάσσεται στους 4 ° C.
- Προετοιμασία ρυθμιστικού διαλύματος B5: Προσθέτουμε 28 ml αιθανόλης 96-100% στη φιάλη Buffer B5 πριν από τη χρήση.
- Το διάλυμα θερμότητας BE στους 70 ° C πριν από τη χρήση.
- Όλες οι φυγοκεντρήσεις πρέπει να διεξάγονται σε θερμοκρασία δωματίου.

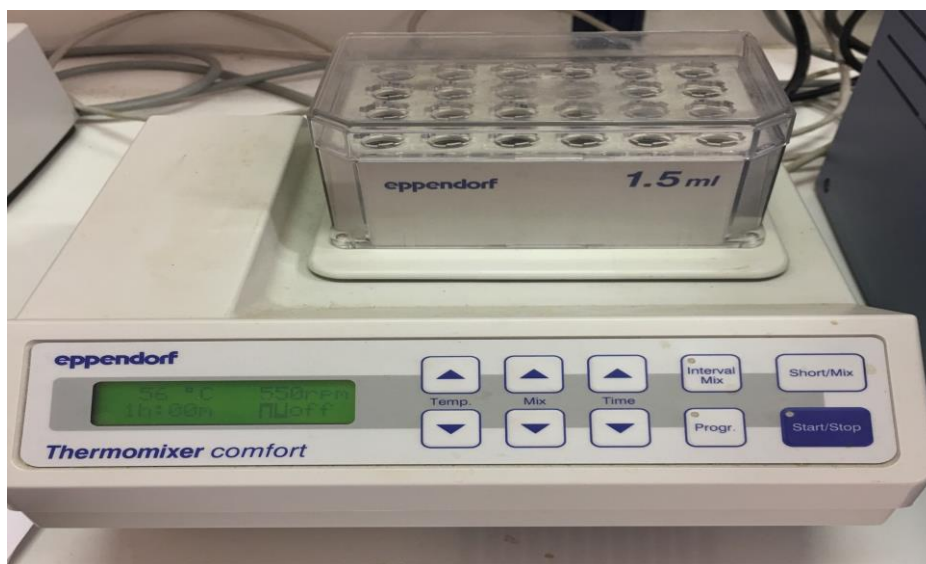
ΕΞΑΓΩΓΗ ΤΟΥ HPV DNA

1. Προετοιμασία δείγματος (Ιστοί σταθεροί σε παραφίνη): Εισάγουμε τα δείγματα σε αποστειρωμένο σωλήνα μικροφυγοκέντρωσης 1,5 ml και προσθέτουμε 180 μl διαλύματος T1 (**Εικόνα 26**).



Εικόνα 26: Αρχή διαδικασίας απομόνωσης DNA (ependorfs)
(πηγή: προσωπικό φωτογραφικό αρχείο Α. Λιανού).

2. Προσθέτουμε 25 μl διαλύματος πρωτεΐνης K και επωάζουμε τα δείγματα στους 56°C για 1-3 ώρες (κατά τη διάρκεια της νύκτας σε περίπτωση ιστών που έχουν ενσωματωθεί σε παραφίνη) σε υδατόλουτρο ή θερμικό μπλοκ (με ανάδευση) έως ότου το δείγμα λυθεί πλήρως. Η ανάδευση δειγμάτων κάθε 15 λεπτά για μερικά δευτερόλεπτα θα επιταχύνει τη λύση (Εικόνα 27).



Εικόνα 27: Θερμομίξερ όπου γίνεται η επώαση της πρωτεΐνης στους 56°C την 1^η ημέρα. Τη δεύτερη ημέρα χρησιμοποιείται στον υβριδισμό (πηγή: προσωπικό φωτογραφικό αρχείο Α. Λιανού).

3. Μετά τη λύση, προσθέτουμε 200 μl του διαλύματος B3 σε κάθε δείγμα. Αναμειγνύουμε καλά τα δείγματα στροβιλίζοντάς τα και επωάζοντάς τα στους 70°C για 10 λεπτά.

4. Προσθέτουμε 210 μl 96% αιθανόλης σε κάθε δείγμα.

Σημείωση: Δεν απορρίπτουμε κανένα λευκό ίζημα που μπορεί να σχηματιστεί μετά την προσθήκη της αιθανόλης. Μαζί με το υπόλοιπο διάλυμα, αυτό το ίζημα πρέπει να προστεθεί στη στήλη καθαρισμού στο επόμενο βήμα.

5. Αφού παρασκευάσουμε μια στήλη καθαρισμού για κάθε δείγμα, προσθέτουμε τα δείγματα και τα φυγοκεντρούμε για 1 λεπτό στις 12,000 rpm. Βεβαιωνόμαστε ότι όλο το διάλυμα έχει υπερβεί εντελώς τη μεμβράνη και απορρίπτουμε το διηθημένο διάλυμα και το σωλήνα συλλογής των 2 ml.

6. Προσθέτουμε 500 μl διαλύματος BW στη στήλη και φυγοκεντρούμε στις 12,000 rpm για 1 λεπτό. Απομακρύνουμε το διηθημένο διάλυμα και το σωλήνα συλλογής των 2 ml.

7. Προσθέτουμε 600 μl διαλύματος B5 στη στήλη και φυγοκεντρούμε στις 12,000 rpm για 1 λεπτό. Απομακρύνουμε το διηθημένο διάλυμα.

8. Φυγοκεντρούμε άλλη μία φορά στις 12.000 rpm για 1 λεπτό για να εξαλείψουμε τυχόν υπόλοιπο διαλύματος B5.

Σημείωση: Οποιαδήποτε υπολειμματική αιθανόλη από το Διάλυμα B5 μπορεί να αναστείλει τις απαιτούμενες ενζυματικές αντιδράσεις. Πρέπει συνεπώς να απομακρυνθεί πλήρως με φυγοκέντρηση.

9. Τοποθετούμε τη στήλη σε καθαρό σωληνάριο μικροφυγοκέντρου 1,5 ml. Επωάζουμε τη στήλη DNA με 100 μl διαλύματος BE (προθερμασμένου στους 70 ° C) για 1 λεπτό και στη συνέχεια φυγοκεντρούμε στις 12,000 rpm για 1 λεπτό.

10. Αποκαθιστούμε το διήθημα (περίπου 100 μl) στο σωληνάριο μικροφυγοκέντρωσης και παίρνουμε 5 μl για την αντίδραση ενίσχυσης. Αποθηκεύουμε τα υπόλοιπα στους -20 ° C (106).

5.3.6 Αυτόματη εξαγωγή του HPV DNA

5.3.6.1 Ενίσχυση μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR)

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) είναι μια μέθοδος, η οποία μας παρέχει τη ικανότητα παραγωγής πολλών αντιγράφων συγκεκριμένου τμήματος DNA ταχύτατα και με μεγάλη ευαισθησία. Η λειτουργία της στηρίζεται στη θερμοανθεκτική Taq πολυμεράση, η οποία χρησιμοποιεί ως βάση ένα μονόκλωνο DNA για την παραγωγή ενός συμπληρωματικού κλώνου. Επίσης, χρειάζονται και δύο εκκινητές (primers), οι οποίοι είναι συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια και ο καθένας από αυτούς είναι συμπληρωματικός με μία μόνο από τις δύο αλυσίδες του αρχικού δίκλωνου DNA του δείγματος. Επιπλέον απαιτείται χλωριούχο μαγνήσιο και ισομοριακό μείγμα τεσσάρων τριφωσφορικών δεοξυριβονουκλεοτιδίων (dATP, dTTP, dCTP, dGTP). Το μηχάνημα που χρησιμοποιείται για την PCR είναι ο θερμικός κυκλοποιητής (**Εικόνα 28**) και η μέθοδος περιλαμβάνει τρία στάδια:



Εικόνα 28: Μηχάνημα της PCR του εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (πηγή: προσωπικό φωτογραφικό αρχείο Α. Λιανού).

- Αποδιάταξη του DNA: Το δίκλωνο DNA αποδιατάσσεται σε μονόκλωνο γιατί σπάνε οι δεσμοί υδρογόνου που συγκρατούν τις δύο αλυσίδες σε υψηλή θερμοκρασία ($92^{\circ}\text{C} - 96^{\circ}\text{C}$).
- Υβριδισμός των εκκινητών: Μείωση της θερμοκρασίας έτσι ώστε να μπορεί να προσδεθεί ο κάθε εκκινητής στη μία από τις αλυσίδες του DNA που αποδιατάχθηκε.
- Επιμήκυνση: Δημιουργία συμπληρωματικών κλώνων DNA επεκτείνοντας το 3' άκρο των εκκινητών με την Taq πολυμεράση. Σε αυτό το στάδιο η θερμοκρασία κυμαίνεται από $70^{\circ}\text{C} - 74^{\circ}\text{C}$ ούτως ώστε να έχουμε τη μέγιστη δράση της πολυμεράσης.

Η διαδικασία της PCR στα δείγματα που ελήφθησαν με μικρολαρυγγοσκόπηση από το λάρυγγα των ασθενών που χειρουργήθηκαν στην κλινική μας πραγματοποιήθηκε με ενίσχυση της περιοχής του L1 γονιδίου, σύμφωνα με τα παρακάτω βήματα:

- Απομάκρυνση των σωλήνων erpendorf των 100 μl με διάλυμα με όλα τα απαραίτητα συστατικά.
- Ανακίνηση του διαλύματος στο vortex για 5 msec.
- Προσθήκη 5μl απομονωμένου DNA στα σωληνάρια erpendorf των 100μl.
- Τοποθέτηση των σωλήνων erpendorf στο θερμικό κυκλοποιητή.
- Έναρξη PCR

Πριν ξεκινήσουμε, ο θερμικός κυκλοποιητής είναι ρυθμισμένος σε συγκεκριμένο πρόγραμμα έτσι ώστε η διάρκεια και η θερμοκρασία που αντιστοιχεί σε κάθε κύκλο να είναι οι κατάλληλες όπως φαίνεται παρακάτω:

Αριθμός κύκλων	Θερμοκρασία	Χρονικό Διάστημα
1	95 ° C	5 min
40	94 ° C	30 sec
	55 ° C	60 sec
	72 ° C	90 sec
1	72 ° C	8 min
Συντήρηση	20 ° C	-

5.3.6.2 Υβριδισμός και έκπλυση

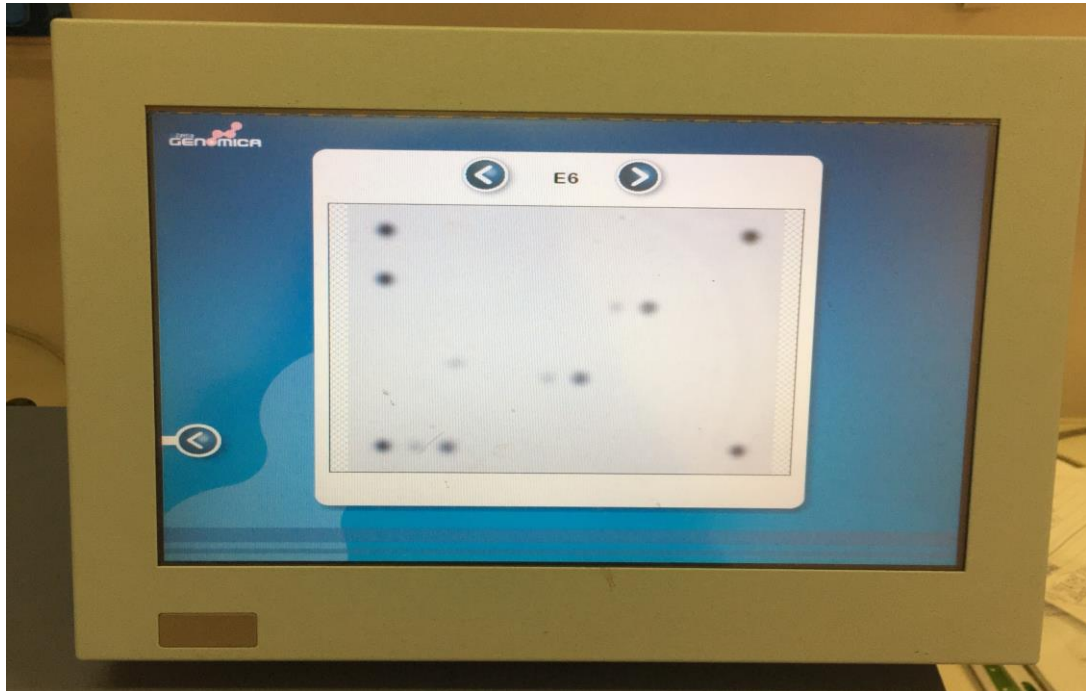
Ο υβριδισμός και η έκπλυση του ενισχυμένου προϊόντος της PCR από τα εξεταζόμενα δείγματα πραγματοποιήθηκε με το Visualization kit. Αναλυτικότερα ακολουθήθηκαν τα παρακάτω βήματα:

- i. Προσθήκη 1ml πυκνού ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης TL (wash buffer TL) και 9ml φυσιολογικού ορού σε ογκομετρικό σωλήνα των 10ml και ανάδευση στο vortex για 5-6 δευτερόλεπτα, για παρασκευή του αραιωμένου ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης TL.
- ii. Προσθήκη 200 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης TL (wash buffer TL) στα φρεάτια που είναι ακινητοποιημένοι οι ιχνηθέτες (CLART-Strip (CS) strips) για πλύσεις και έπειτα αφαίρεση αυτού.
- iii. Προσθήκη 100 μl από το ρυθμιστικό διάλυμα υβριδισμού SH (hybridization solution SH) και 5μl από το προϊόν της PCR στα φρεάτια που είναι ακινητοποιημένοι οι ιχνηθέτες.
- iv. Τοποθέτηση του αντάπτορα με καπάκι που περιείχε τα φρεάτια με τους ακινητοποιημένους ιχνηθέτες στο θερμομίξερ στους 65° C για 1 ώρα, με ρυθμιζόμενη ανάδευση στις 550 (rpm) στροφές (**Εικόνα 27**).
- v. Προσθήκη 200 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης TL στα φρεάτια με τους ακινητοποιημένους ιχνηθέτες για πλύσεις και έπειτα αφαίρεση αυτού.
- vi. Επανάληψη του βηματος V.

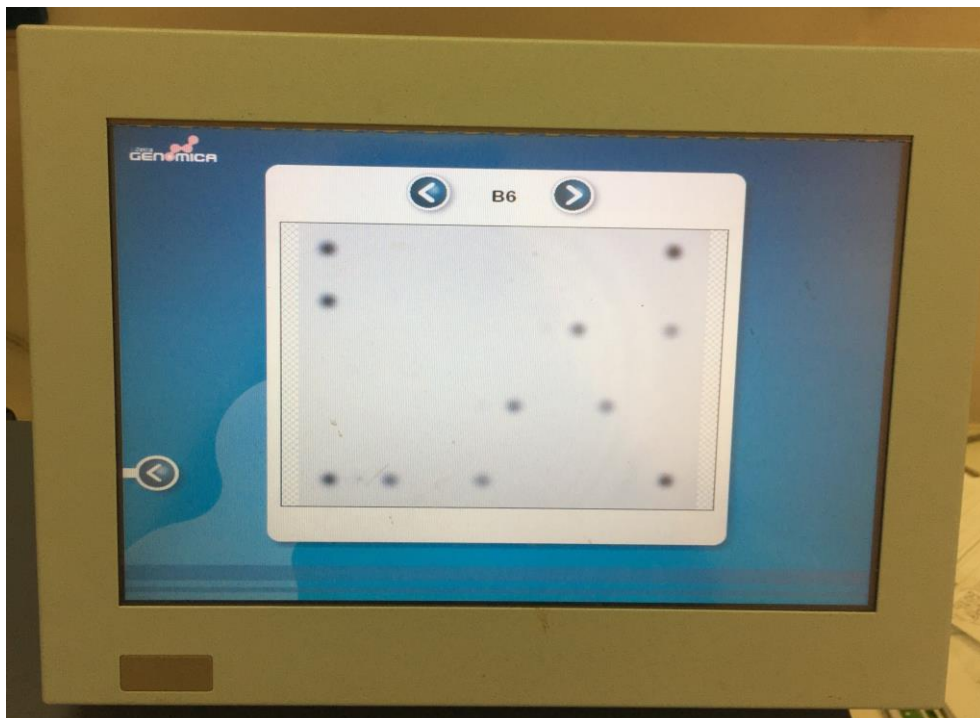
- vii. Προσθήκη 7,5 μl πυκνού ρυθμιστικού διαλύματος σύζευξης CJ (conjugate buffer CJ) (διάλυμα στρεπταβιδάσης – υπεροξειδάσης) και 1350 μl ρυθμιστικού διαλύματος αραίωσης του CJ, το DC (conjugate diluent DC), σε ένα σωλήνα erpendorf των 2ml και ανάδευση στο vortex για 5-6 δευτερόλεπτα, για παρασκευή του αραιωμένου ρυθμιστικού διαλύματος σύζευξης CJ, παράλληλα με το βήμα VI.
- viii. Προσθήκη 100 μl ρυθμιστικού διαλύματος σύζευξης CJ στα φρεάτια με τους ακινητοποιημένους ιχνηθέτες.
- ix. Τοποθέτηση του αντάπτορα με καπάκι που περιείχε τα φρεάτια με τους ακινητοποιημένους ιχνηθέτες στο θερμομίξερ στους 30 ° C για 15 λεπτά, με ρυθμιζόμενη ανάδευση στις 550 (rpm) στροφές.
- x. Προσθήκη 200 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης TL στα φρεάτια με τους ακινητοποιημένους ιχνηθέτες για πλύσεις και έπειτα αφαίρεση αυτού.
- xi. Προσθήκη 200 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης TL στα φρεάτια με τους ακινητοποιημένους ιχνηθέτες για πλύσεις, για 10 λεπτά και έπειτα αφαίρεση αυτού.
- xii. Προσθήκη 100 μl ρυθμιστικό διάλυμα ανάπτυξης RE- χρωμογόνο (development solution RE).
- xiii. Τοποθέτηση του αντάπτορα με καπάκι που περιείχε τα φρεάτια με τους ακινητοποιημένους ιχνηθέτες στο θερμομίξερ στους 25 ° C για 10 λεπτά, χωρίς ανακίνηση.

5.3.7 Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Μετά το τέλος του υβριδισμού και της έκπλυσης οι μικροσυστοιχίες, δηλαδή τα φρεάτια με τους ακινητοποιημένους ιχνηθέτες τοποθετήθηκαν στο ειδικό μηχάνημα ανάγνωσης CAR (Clinical Array Reader) για σάρωση. Το CAR διαθέτει ένα ειδικό λογισμικό κατασκευασμένο από τη Genomica, το SAICLART. Τα δείγματα αξιολογήθηκαν ως κατάλληλα μόνο όταν όλες οι κουκίδες από τους εσωτερικούς μάρτυρες παρήγαγαν σήμα. Οι κουκίδες αποδεικνύουν την επιτυχία της PCR, καθώς και την απουσία επιμόλυνσης του εσωτερικού μάρτυρα ανθρωπίνου ή ιϊκού DNA. Με αυτόν τον τρόπο, αξιολογήθηκαν τα δείγματα ως θετικά ή αρνητικά για τον ιό HPV (**Εικόνα 29, 30**).



Εικόνα 29: Κλινικό δείγμα HPV (-). Οι ανοιχτόχρωμες κουκίδες είναι η PCR Ctl (=δηλώνει επιτυχία της μεθόδου) και οι μαύρες κουκίδες είναι το DNA Ctl (δηλώνει ότι πραγματοποιήθηκε επιτυχώς η απομόνωση του DNA) (πηγή: προσωπικό φωτογραφικό αρχείο Α. Λιανού).



Εικόνα 30: Κλινικό δείγμα (+) με παρουσία δύο υποτύπων HPV. Οι ανοιχτόχρωμες κουκίδες είναι η PCR Ctl (=δηλώνει επιτυχία της μεθόδου) και οι μαύρες κουκίδες είναι το DNA Ctl (δηλώνει ότι πραγματοποιήθηκε επιτυχώς η απομόνωση του DNA).

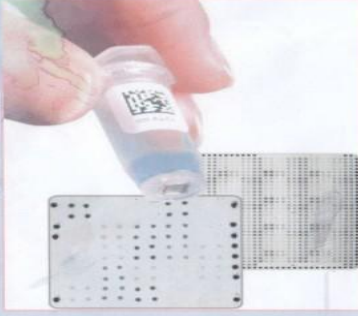
Ένα από τα κύρια μειονεκτήματα της γονιδιακής ενίσχυσης είναι η χρήση δειγμάτων DNA χαμηλής ποιότητας (υπερβολικά σύντομο DNA, αποικοδόμηση του DNA ή απώλεια DNA κατά την εκχύλιση) ή η παρουσία αναστολέων της DNA πολυμεράσης (π.χ. αιμοσφαιρίνη, υπολείμματα παραφίνης, άλατα κλπ.) στα δείγματα που πρόκειται να αναλυθούν, παρεμβαίνοντας έτσι στην γονιδιωματική ενίσχυση και οδηγώντας σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Ωστόσο, το CLART Human Papillomavirus 2 εξαλείφει τα ψευδώς αρνητικά χρησιμοποιώντας εσωτερικά στοιχεία ελέγχου μέσα στον ίδιο σωλήνα όπου αναλύεται το δείγμα και τα οποία ενισχύονται συγχρόνως με το ιϊκό DNA.

Κάθε σωλήνας αντίδρασης (ενίσχυσης) του kit περιέχει τους ακόλουθους εκκινητές **(Εικόνα 31)**:

- Ένα ζεύγος εκκινητών που ενισχύουν ένα θραύσμα του ανθρώπινου γονιδίου CFTR (γονιδιωματικό DNA ή DNA από τον ασθενή). Χρησιμοποιείται ως έλεγχος γονιδιωματικού DNA.
- Ένα ζεύγος εκκινητών που ενισχύουν ένα τροποποιημένο πλασμίδιο που περιλαμβάνεται στο σωλήνα και το οποίο χρησιμοποιείται ως έλεγχος αντίδρασης ενίσχυσης.
- Εκκινητές HPV.

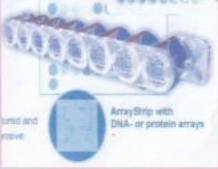

Ο σωλήνας αντίδρασης έχει σχεδιαστεί για να ευνοεί την ενίσχυση του HPV έναντι των άλλων δύο ελέγχων. Μεταξύ αυτών των δύο ελέγχων, το γονιδιωματικό DNA θα ενισχύεται κατά προτίμηση σε σύγκριση με τον έλεγχο αντίδρασης ενίσχυσης. Ο έλεγχος PCR θα είναι ουσιαστικός μόνο εάν δεν υπάρχει ανίχνευση στον σωλήνα, διότι θα βοηθήσει να γίνει διάκριση μεταξύ ανασταλμένης PCR και δείγματος όπου δεν βρέθηκε DNA.

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΟΙΧΙΩΝ



Biochip (3x3mm): 120 ιχνηθέτες

- 35 HPV ιχνηθέτες - σε τριπλέτα
- Εσωτερικούς μάρτυρες για τον έλεγχο DNA του δείγματος (CFTR, 892bp) - σε τριπλέτα
- Εσωτερικούς μάρτυρες για τον έλεγχο της PCR (τροποποιημένο πλασμίδιο, 1202bp) – σε τριπλέτα

Εικόνα 31: Εκκινητές που περιέχει το kit CLART HPV2 της GENOMICA (πηγή: HPV clinical arrays, <http://cytodept.static.otenet.gr/>).

Ωστόσο, όταν τα δείγματα HPV υπάρχουν στο δείγμα, υπάρχει πάντοτε μια προτίμηση για την ενίσχυση των γονότυπων αντί για την ενίσχυση των ελέγχων. Συνεπώς, υπό ορισμένες συνθήκες (δηλ. Υψηλοί αριθμοί αντιγράφων ενός συγκεκριμένου γονότυπου HPV ή αρκετούς γονότυπους HPV που υπάρχουν σε ένα δείγμα), οι εσωτερικοί έλεγχοι μπορεί να μην εμφανίζονται (NO SIGNAL) (106).

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στη μελέτη που διεξάχθηκε συμμετείχαν συνολικά 55 ασθενείς εκ των οποίων μόνο δύο ήταν γυναίκες. Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SPSS v23.0 (statistical Package for the Social Sciences). Η μέση ηλικία των ασθενών αυτών ήταν 62,9 έτη με τυπική απόκλιση 11,6 έτη. Για τους ασθενείς καταγράφηκε ένα σημαντικό πλήθος δημογραφικών και σωματομετρικών παραμέτρων, λεπτομερές ιστορικό, συνοδές παθήσεις, στοιχεία που αφορούν την αγωγή τους αλλά και ιστολογικά χαρακτηριστικά. Καταγράφηκε τέλος αναλυτικά η παρουσία του HPV αλλά και του υποτύπου του. Στους πίνακες που ακολουθούν γίνεται αναλυτική παρουσίαση των χαρακτηριστικών αυτών.

Συνολικά καταγράφηκαν 55 ασθενείς από πόλεις κυρίως της Ηπείρου. Σχετικά με το εργασιακό τους καθεστώς επρόκειτο για ελεύθερους επαγγελματίες σε ποσοστό 52,7% και για ιδιωτικούς υπάλληλους σε ποσοστό 21,8%, ενώ σε μικρότερα ποσοστά καταγράφονται δημόσιοι υπάλληλοι, γεωργοί και κτηνοτρόφοι.

Περιγραφή

Πίνακας 1

		Count	Column N %	
Τόπος διαμονής	Ιωάννινα	13	23,6%	
	Άρτα	8	14,5%	
	Πρέβεζα	9	16,4%	
	Ηγουμενίτσα	8	14,5%	
	Λευκάδα	4	7,3%	
	Καστοριά	2	3,6%	
	Κέρκυρα	6	10,9%	
	Πάργα	2	3,6%	
	Αγρίνιο	1	1,8%	
	Γρεβενά	1	1,8%	
	Αλβανία	1	1,8%	
	Εργασία	Κτηνοτρόφος	3	5,5%
		Γεωργός	4	7,3%
Ιδιωτικός υπάλληλος		12	21,8%	
Δημόσιος υπάλληλος		7	12,7%	
Ελεύθερος επαγγελματίας		29	52,7%	

Στον πίνακα 2 φαίνεται το ελάχιστο και μέγιστο ύψος, βάρος και δείκτης μάζας σώματος (BMI) των ασθενών, όπως επίσης και η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση για τα χαρακτηριστικά αυτά. Οι ασθενείς ξεπερνούν κατά μέσο όρο το φυσιολογικό BMI και εκτιμάται ίσο με 26,8.

Πίνακας 2

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Ύψος	55	159	193	174,55	7,216
Βάρος	55	55,0	134,0	81,982	13,3631
BMI	55	21,40	41,40	26,8142	3,66275

Σύμφωνα με τα στοιχεία του πίνακα 3 που ακολουθεί, με εξαίρεση δύο μόνο ασθενείς, πρόκειται για καπνιστές που σε ποσοστό που αγγίζει το 80% καπνίζουν 2 ή 3 πακέτα ημερησίως. Σημαντικό επίσης ποσοστό των ασθενών αυτών καταναλώνει αλκοόλ (67,3%). Σχεδόν όλοι έχουν φυσιολογικές διαιτητικές συνήθειες, ενώ όπως φαίνεται και από την κατηγοριοποίηση του BMI μόλις 19 είναι κανονικού βάρους σώματος, ενώ συμμετέχουν και 7 παχύσαρκοι.

Πίνακας 3

		Count	Column N %
Κάπνισμα	Όχι ή 1 πακέτο / ημέρα	22	40,0 %
	2 - 3 πακέτα / ημέρα	33	60,0%
Αλκοόλ	Όχι	18	32,7%
	Ναι	37	67,3%
Διαιτητικές συνήθειες	Μη φυσιολογικές	1	1,8%
	Φυσιολογικές	54	98,2%
BMI	Κανονικός	19	34,5%
	Υπέρβαρος	29	52,7%
	Παχύσαρκος	7	12,7%

Ο πίνακας 4 αποδίδει την TNM σταδιοποίηση των ασθενών που έλαβαν μέρος στην παρούσα μελέτη. Το 33,3% των ασθενών είναι T stage 1a, το 26,7% είναι 2 ενώ 4 ασθενείς είναι σταδίου 3 και 4. Σχετικά με το N stage, 21 είναι σταδίου 0 ή 1 ενώ μόνο 1 από τους 30 ασθενείς είναι M stage 1.

Πίνακας 4

		Count	Column N %
T STAGE	1	3	10,0%
	1a	10	33,3%
	1b	5	16,7%
	2	8	26,7%
	3	3	10,0%
	4	1	3,3%
N STAGE	0	11	36,7%
	1	10	33,3%
	2b	4	13,3%
	2c	4	13,3%
	3	1	3,3%
M STAGE	0	29	96,7%
	1	1	3,3%

Στον πίνακα 5 αποδίδονται τα συμπτώματα των ασθενών πριν την εισαγωγή. Δεκαεννιά συνολικά ασθενείς παρουσίασαν βήχα, 3 εμφάνισαν αφυδάτωση και 10 παρουσίασαν γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση. Δύσπνοια παρουσιάστηκε σε 7 άτομα και δυσφαγία σε 8 συνολικά άτομα. Σε όλους (πλην ενός) καταγράφηκε βράγχος φωνής.

Πίνακας 5

		Count	Column N %
ΒΗΧΑΣ	Όχι	36	65,5%
	Ναι	19	34,5%
ΑΦΥΔΑΤΩΣΗ	Όχι	52	94,5%
	Ναι	3	5,5%
ΔΥΣΠΝΟΙΑ	Όχι	48	87,3%
	Ναι	7	12,7%
ΔΥΣΦΑΓΙΑ	Όχι	47	85,5%
	Ναι	8	14,5%

ΓΑΣΤΡΟΙΣΟΦΑΓΙΚΗ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣΗ	Όχι	45	81,8%
	Ναι	10	18,2%
ΒΡΑΓΧΟΣ ΦΩΝΗΣ	Όχι	1	1,8%
	Ναι	54	98,2%

Στον πίνακα 6 καταγράφονται τα συμπτώματα των ασθενών μετά τη θεραπευτική αντιμετώπιση καθώς και οι ιατρικές παρεμβάσεις που απαιτήθηκαν. Παρατηρήθηκε δερματίτιδα σε 12 ασθενείς, χρειάστηκε levine για λήψη τροφής σε 5 άτομα ενώ σε 10 έγινε τραχειοστομία.

Πίνακας 6

		Count	Column N %
ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΑ ΜΕΤΑ ΤΟ ΧΕΙΡΟΥΡΓΕΙΟ	Όχι	54	98,2%
	Ναι	1	1,8%
ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ	Όχι	51	92,7%
	Ναι	4	7,3%
ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ	Όχι	52	94,5%
	Ναι	3	5,5%
ΞΗΡΟΣΤΟΜΙΑ	Όχι	51	92,7%
	Ναι	4	7,3%
ΛΟΙΜΩΞΗ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ	Όχι	53	96,4%
	Ναι	2	3,6%
ΔΕΡΜΑΤΙΤΙΔΑ	Όχι	43	78,2%
	Ναι	12	21,8%
LEVINE ΣΙΤΙΣΗΣ	Όχι	50	90,9%
	Ναι	5	9,1%
ΤΡΑΧΕΙΟΣΤΟΜΙΑ	Όχι	45	81,8%
	Ναι	10	18,2%

Για τους ασθενείς που συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη έγινε και αναλυτική καταγραφή του ιστορικού τους. Στον πίνακα 7 φαίνονται οι συνοδές παθήσεις που καταγράφηκαν για το σύνολο των ασθενών. Καθώς πολλοί ασθενείς είχαν περισσότερες από μία παθήσεις, στον πίνακα παρουσιάζεται το ποσοστό επί του συνόλου των ασθενών αλλά και επί του συνόλου των παθήσεων. Έτσι συχνότερα καταγράφεται η υπέρταση και η δυσλιπιδαιμία με 24 και 15 ασθενείς αντίστοιχα, ενώ ακολουθούν οι καταγραφές για γαστρο-οισοφαγική παλινδρόμηση σε 10 ασθενείς, ο διαβήτης και η στεφανιαία νόσος σε 7. Όλες οι άλλες παθήσεις δε ξεπερνούν τις 5 περιπτώσεις ασθενών, όπως φαίνεται αναλυτικά στον πίνακα.

Πίνακας 7
Συνοδές παθήσεις

	Responses		Percent of Cases
	N	Percent	
HYPERTENSION	24	24,5%	55,8%
CORONARY ARTERY DISEASE	7	7,1%	16,3%
DLP	15	15,3%	34,9%
STROKE	3	3,1%	7,0%
RHEUMATOID ARTHRITIS	2	2,0%	4,7%
HYPOTHEROIDISM	1	1,0%	2,3%
GASTROESOPHAGEAL REFLUX	10	10,2%	23,3%
ALLERGY	1	1,0%	2,3%
PEPTIC ALCER	2	2,0%	4,7%
ALCOHOLIC LIVER CIRRHOSIS	1	1,0%	2,3%
ABDOMINAL AORTIC ANEURYSM	2	2,0%	4,7%
DEPRESSION	4	4,1%	9,3%
COPD	5	5,1%	11,6%
KIDNEY FAILURE	1	1,0%	2,3%
PULMONARY FIBROSIS	1	1,0%	2,3%
PACEMAKER	1	1,0%	2,3%
AF	2	2,0%	4,7%
PSORITIC ARTHRITIS	1	1,0%	2,3%
GALLSTONES	1	1,0%	2,3%
DIABETES	7	7,1%	16,3%
HYPEROURICEMIA	2	2,0%	4,7%
BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA	1	1,0%	2,3%
ASTHMA	1	1,0%	2,3%
AORTIC STENOSIS	1	1,0%	2,3%
ASCENDING AORTIC ANEURISM	1	1,0%	2,3%
GASTRITIS	1	1,0%	2,3%
HCV	1	1,0%	2,3%
Σύνολο	109	100,0%	230,2%

Καταγράφηκαν συνολικά 4 θάνατοι και 10 περιπτώσεις υποτροπής της νόσου στην μελέτη μας, όπως φαίνεται στον πίνακα 8, ενώ στον πίνακα 9 φαίνεται το χρονικό διάστημα που μεσολάβησε μέχρι την υποτροπή.

Πίνακας 8

		Count	Column N %
CAUSE OF DEATH	No	51	92,7%
	Ca larynx with metastasis	3	5,5%
	Hepatic encephalopathy	1	1,8%
LOCAL TUMOR	No	45	81,8%
RECURRENCE	Yes	10	18,2%

Πίνακας 9

		Count	Column N %
TIME (MONTH) OF RECURRENCE	Without	45	81,8%
	1	2	3,6%
	2	3	5,5%
	3	1	1,8%
	4	3	5,5%
	17	1	1,8%

Εκτός από τους θανάτους και τις υποτροπές, ως εκβάσεις μετρώνται η εμφάνιση μεταστατικής νόσου και η εμφάνιση δεύτερου πρωτοπαθούς όγκου. Τα στοιχεία αυτά παρουσιάζονται στον πίνακα 10 και όπως φαίνεται αφορούν δύο μόνο περιπτώσεις ασθενών, για τις οποίες ο πίνακας 11 δίνει στοιχεία σχετικά με το χρόνο εμφάνισή τους.

Πίνακας 10

		Count	Column N %
DISTANT METASTASIS	No	53	96,4%
	Yes	2	3,6%
SECOND (PRIMARY) TUMORS	No	53	96,4%
	Yes	2	3,6%

Πίνακας 11

		Count	Column N %
TIME (MONTH) OF SECOND PRIMARY TUMOR	No	53	96,4%
	Yes (1 month)	1	1,8%
	Yes (20 months)	1	1,8%
SIDE OF SECOND PRIMARY TUMORS	No	53	96,4%
	Yes (liver)	1	1,8%
	Yes (lung with liver metastasis)	1	1,8%

Στον πίνακα 12 φαίνεται το πλήθος των ασθενών που έλαβε ακτινοβολίες αλλά και ο ακριβής αριθμός των συνεδριών που έκανε ο καθένας από τους 21 αυτούς ασθενείς. Οι περισσότεροι υπεβλήθησαν σε 33 ή 35 συνεδρίες.

Πίνακας 12

		Count
RADIATION	No	34
	Yes	21
RADIATION sessions	0	34
	22	1
	30	1
	32	3
	33	5
	34	1
	35	5
	36	1
	37	1
	40	2
	48	1

Στον πίνακα 13 φαίνεται ότι μόνο ένας ασθενής έκανε 33 post operative radiation sessions.

Πίνακας 13

		Count
POSTOPERATIVE RADIATION sessions	No	54
	Yes (33)	1

Στο σύνολο των ασθενών υπήρχαν 23 θετικά αποτελέσματα για τον HPV καθώς και 5 περιπτώσεις χωρίς αποτέλεσμα. Οι 23 θετικές διαγνώσεις διαχωρίζονται σε 16 low risk και σε 7 high risk.

Πίνακας 14

		Count	Column N %
HPV RESULT	Αρνητικό	27	49,1%
	Θετικό	23	41,8%
	Χωρίς αποτέλεσμα	5	9,1%
HPV RISK	Low Risk	16	69,6%
	High Risk	7	30,4%

Οι υπότυποι που ανιχνεύθηκαν στους 23 ασθενείς παρουσιάζονται αναλυτικά στον πίνακα 15. Σε ορισμένους ασθενείς ανιχνεύθηκαν περισσότεροι από ένας υπότυποι οι οποίοι είναι συνολικά 35. Στον πίνακα παρουσιάζεται το ποσοστό επί του συνόλου των ασθενών αλλά και επί του συνόλου των ιστοτύπων. Οι συχνότεροι είναι οι HPV 11, 85, 31 και 89.

Πίνακας 15

Histotype

	Responses		Percent of Cases
	N	Percent	
HPV HISTOTYPE 11	7	20,0%	30,4%
HPV HISTOTYPE 31	5	14,3%	21,7%
HPV HISTOTYPE 40	1	2,9%	4,3%
HPV HISTOTYPE 43	1	2,9%	4,3%

HPV HISTOTYPE 58	1	2,9%	4,3%
HPV HISTOTYPE 59	1	2,9%	4,3%
HPV HISTOTYPE 70	2	5,7%	8,7%
HPV HISTOTYPE 82	2	5,7%	8,7%
HPV HISTOTYPE 83	1	2,9%	4,3%
HPV HISTOTYPE 84	2	5,7%	8,7%
HPV HISTOTYPE 85	7	20,0%	30,4%
HPV HISTOTYPE 89	5	14,3%	21,7%
Total	35	100,0%	152,2%

Ο πίνακας 16 παρουσιάζει στοιχεία που αφορούν τον τρόπο αντιμετώπισης των ασθενών:

Πίνακας 16

		Count	%
FIRST LASER PROCEDURE	No	43	78,2%
	Yes	12	21,8%
SECOND LASER PROCEDURE	No	54	98,2%
	Yes	1	1,8%
FURTHER SURGERY	No	51	92,7%
	Yes (Total Laryngectomy)	3	5,5%
	Yes (Supraglottic Laryngectomy)	1	1,8%
NECK DISSECTION	No	50	90,9%
	Yes (Elective Bilateral Neck Dissection)	3	5,5%
	Yes (Right Neck Dissection IIa-IIb,III,V)	1	1,8%
	Yes (Left Neck Dissection II,III,IV)	1	1,8%

Στον πίνακα 17 φαίνονται χαρακτηριστικά των όγκων των ασθενών σχετικά με την ιστολογική εξέταση, τη διαφοροποίηση και τις διηθήσεις που καταγράφηκαν. Η διαφοροποίηση είναι στις περισσότερες περιπτώσεις μέτρια ή υψηλή, ενώ οι διηθήσεις σχετικά λιγότερες. Σε χημειοθεραπεία υπεβλήθησαν 11 ασθενείς.

Πίνακας 17

		Count	Column N %
Ιστολογική εξέταση	LIN I	6	10,9%
	LIN II	3	5,5%
	LIN III	1	1,8%
	IN SITU	4	7,3%
	SQUAMOUS Ca INVASIVE	26	47,3%
	PARAKERATOSIS,HYPERKERATOSIS	12	21,8%
	PAPILLOMA	2	3,6%
	VERRUCOUS Ca	1	1,8%
Διαφοροποίηση	Χωρίς	34	61,8%
	Χαμηλή	2	3,6%
	Μέτρια	8	14,5%
	Υψηλή	11	20,0%
Διηθήσεις λεμφαγγειακές	Όχι	54	98,2%
	Ναι	1	1,8%
Διηθήσεις περιαγγειακές	Όχι	53	96,4%
	Ναι	2	3,6%
Διηθήσεις περινευρικές	Όχι	55	100,0%
	Ναι	0	0,0%
Χημειοθεραπεία	Όχι	44	80,0%
	Ναι	11	20,0%

Στον πίνακα 18 φαίνεται ότι το θετικό οικογενειακό ιστορικό καταγράφηκε σε 7 ασθενείς, ενώ φαίνεται αναλυτικά και η εντόπιση του όγκου.

Πίνακας 18

		Count	Column N %
Θετικό	Όχι	48	87,3%
οικογενειακό ιστορικό	Ναι	7	12,7%
Εντόπιση	RIGHT TRUE VOCAL CORD	12	21,8%
	LEFT TRUE VOCAL CORD	19	34,5%
	VOCAL CORD BILATERAL	15	27,3%
	LEFT FALSE VOCAL CORD	1	1,8%
	SUBGLOTTIC EXTENSION	1	1,8%
	RIGHT ARYEPIGLOTTIC FOLD	1	1,8%
	EPIGLOTTIS	1	1,8%
	RIGHT FALSE VOCAL CORD	1	1,8%
	TRANSGLOTTIC	1	1,8%
	RIGHT SUPRAGLOTTIS SUBSITE	2	3,6%
	LEFT SUPRAGLOTTIS SUBSITE	1	1,8%

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η συσχέτιση του HPV result με ένα σύνολο παραγόντων που μπορεί να θεωρηθεί ότι έχουν προγνωστικό ρόλο και μπορεί να είναι σημαντικοί για την ανίχνευση του αποτελέσματος σε κάποια πρόιμη χρονική στιγμή. Έτσι ακολουθούν στατιστικοί έλεγχοι στη προσπάθεια να ανιχνεύσουμε στατιστικά σημαντικές σχέσεις με:

- Την κατανάλωση αλκοόλ
- Το κάπνισμα
- Την εργασία
- Την ηλικία
- Το BMI
- Το βάρος
- Το πλήθος των συνοδών παθήσεων
- Το θετικό οικογενειακό ιστορικό
- Τα ιστολογικά αποτελέσματα
- Τη διαφοροποίηση
- Τις διηθήσεις που εξετάζονται.

Σημειώνεται ότι οι παράγοντες αυτοί εξετάζονται ακολούθως για την προγνωστική τους αξία σχετικά με:

- Το αποτέλεσμα του HPV
- Την επανεμφάνιση
- Τη μετάσταση
- Την παρουσία 2^{ου} κύριου όγκου

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΜΕ HPV

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της παρουσίας-ανίχνευσης HPV και του αλκοόλ ($p=0,192$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής θετικό HPV αποτέλεσμα ανάλογα με το αλκοόλ. Το p -value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Αλκοόλ		
		Όχι	Ναι	Total
HPV RESULT	Αρνητικό	7	20	27
	Θετικό	10	13	23
Total		17	33	50

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,705 ^a	1	,192		
Continuity Correction ^b	1,013	1	,314		
Likelihood Ratio	1,708	1	,191		
Fisher's Exact Test				,239	,157
Linear-by-Linear Association	1,671	1	,196		
N of Valid Cases	50				

a. 0 cells (0,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 7,82.

b. Computed only for a 2x2 table

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της παρουσίας-ανίχνευσης HPV και του καπνίσματος ($p=0,126$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής θετικό HPV αποτέλεσμα ανάλογα με το αν είναι καπνιστής ή όχι. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

HPV RESULT * Κάπνισμα Crosstabulation

		Count		
		Κάπνισμα		Total
		έως 1 πακέτο / ημέρα	2-3 πακέτα / ημέρα	
HPV RESULT	Αρνητικό	14	13	27
	Θετικό	7	16	23
Total		21	29	50

Chi-Square Tests^c

	Value	Df	Asymptotic Significance			Point Probability
			(2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	
Pearson Chi-Square	2,339 ^a	1	<u>,126</u>	,158	,107	
Continuity Correction ^b	1,542	1	,214			
Likelihood Ratio	2,369	1	,124	,158	,107	
Fisher's Exact Test				,158	,107	
Linear-by-Linear Association	2,292 ^d	1	,130	,158	,107	
N of Valid Cases	50					

a. 0 cells (0,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 9,66.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. The standardized statistic is 1,514.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της παρουσίας-ανίχνευσης HPV και του τύπου της εργασίας των ασθενών ($p=0,626$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής θετικό HPV αποτέλεσμα ανάλογα με την εργασία του. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Εργασία					Total
		Κτηνοτρόφος	Γεωργός	Ιδιωτικός υπάλληλος	Δημόσιος υπάλληλος	Ελεύθερος επαγγελματίας	
HPV	Αρνητικό	1	0	6	4	16	27
RESULT	Θετικό	2	2	5	3	11	23
Total		3	2	11	7	27	50

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Monte Carlo Sig. (2-sided)		
				Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pearson Chi-Square	3,193 ^a	4	,526	,602	,593	,612
Likelihood Ratio	3,958	4	,412	,608	,598	,617
Fisher's Exact Test	2,981			<u>,626</u>	,617	,636
Linear-by-Linear Association	1,568 ^c	1	,210	,242	,233	,250
N of Valid Cases	50					

a. 6 cells (60,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,92.

c. The standardized statistic is -1,252.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του αποτελέσματος HPV και της συνοσηρότητας ($p=0,121$). Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		DISEASE FREE		
		Όχι	Ναι	Total
HPV RESULT	Αρνητικό	25	2	27
	Θετικό	17	6	23
Total		42	8	50

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	3,224 ^a	1	,073		
Continuity Correction ^b	1,984	1	,159		
Likelihood Ratio	3,306	1	,069		
Fisher's Exact Test				<u>,121</u>	,079
Linear-by-Linear Association	3,160	1	,075		
N of Valid Cases	50				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,68.

b. Computed only for a 2x2 table

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του αποτελέσματος HPV και του θετικού οικογενειακού ιστορικού ($p=1,000$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής θετικό HPV αποτέλεσμα ανάλογα με το θετικό οικογενειακό ιστορικό του. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Θετικό οικογενειακό ιστορικό		
		Όχι	Ναι	Total
HPV RESULT	Αρνητικό	23	4	27
	Θετικό	20	3	23
Total		43	7	50

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,032 ^a	1	,857		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,032	1	,857		
Fisher's Exact Test				<u>1,000</u>	,593
Linear-by-Linear Association	,032	1	,859		
N of Valid Cases	50				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,22.

b. Computed only for a 2x2 table

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του αποτελέσματος HPV και της ιστολογικής εξέτασης ($p=0,920$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής θετικό αποτέλεσμα ανάλογα με την ιστολογική του εξέταση. Το p -value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		HPV RESULT		
		Αρνητικό	Θετικό	Total
Ιστολογική εξέταση	LIN I	4	2	6
	LIN II	1	1	2
	LIN III	1	0	1
	IN SITU	2	2	4
	SQUAMOUS Ca INVASIVE	14	10	24
	PARAKERATOSIS,HYPERKERATOSIS	4	6	10
	PAPILLOMA	1	1	2
	VERRUCOUS Ca	0	1	1
Total		27	23	50

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Monte Carlo Sig. (2-sided)		
				Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pearson Chi-Square	3,435 ^a	7	,842	,935	,930	,940
Likelihood Ratio	4,204	7	,756	,935	,930	,940
Fisher's Exact Test	3,933			<u>,920</u>	,914	,925
Linear-by-Linear Association	1,398 ^c	1	,237	,259	,251	,268
N of Valid Cases	50					

a. 13 cells (81,3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,46.

c. The standardized statistic is 1,183.

Τα odds ratio που προέκυψαν εκτιμήθηκαν με βάση τα αποτελέσματα των πινάκων από τους ελέγχους χ^2 . Παρ' όλα αυτά, σε όλες τις περιπτώσεις δεν ήταν διαφορετικά της μονάδας, με p value σημαντικά μεγαλύτερο από 0,05.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του αποτελέσματος HPV και της διαφοροποίησης ($p=0,691$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής θετικό αποτέλεσμα ανάλογα με τη διαφοροποίηση. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Διαφοροποίηση				Total
		Χωρίς	Χαμηλή	Μέτρια	Υψηλή	
HPV RESULT	Αρνητικό	17	2	3	5	27
	Θετικό	14	0	4	5	23
Total		31	2	7	10	50

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Monte Carlo Sig. (2-sided)		
				Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pearson Chi-Square	2,127 ^a	3	,547	,649	,640	,658
Likelihood Ratio	2,886	3	,409	,618	,608	,627
Fisher's Exact Test	1,867			<u>,691</u>	,681	,700
Linear-by-Linear Association	,172 ^c	1	,678	,736	,728	,745
N of Valid Cases	50					

a. 5 cells (62,5%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,92.

c. The standardized statistic is ,415.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του αποτελέσματος HPV και της λεμφαγγειακής διήθησης ($p=1,000$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής θετικό αποτέλεσμα ανάλογα με τη λεμφαγγειακή διήθηση. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Διηθήσεις λεμφαγγειακές		
		Όχι	Ναι	Total
HPV RESULT	Αρνητικό	26	1	27
	Θετικό	23	0	23
Total		49	1	50

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,869 ^a	1	,351		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	1,250	1	,264		
Fisher's Exact Test				<u>1,000</u>	,540
Linear-by-Linear Association	,852	1	,356		
N of Valid Cases	50				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,46.

b. Computed only for a 2x2 table

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του αποτελέσματος HPV και της περιαγγειακής διήθησης ($p=1,000$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής θετικό αποτέλεσμα ανάλογα με τη περιαγγειακή διήθηση. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Διηθήσεις περιαγγειακές		
		Όχι	Ναι	Total
HPV	Αρνητικό	26	1	27
RESULT	Θετικό	22	1	23
Total		48	2	50

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,013 ^a	1	,908		
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,013	1	,908		
Fisher's Exact Test				<u>1,000</u>	,713
Linear-by-Linear Association	,013	1	,909		
N of Valid Cases	50				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,92.

b. Computed only for a 2x2 table

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του αποτελέσματος HPV και της περινευρικής διήθησης καθώς δε παρατηρήθηκε σε κανένα ασθενή.

Crosstab

Count		Διηθήσεις περινευρικές	
		Όχι	Total
HPV RESULT	Αρνητικό	27	27
	Θετικό	23	23
Total		50	50

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του αποτελέσματος HPV και της εντόπισης ($p=0,430$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής θετικό αποτέλεσμα ανάλογα με την εντόπιση. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

HPV RESULT * Εντόπιση Crosstabulation

Count		Εντόπιση			Total
		Glottic	Subglottic	Supraglottic	
HPV RESULT	Αρνητικό	21	1	5	27
	Θετικό	21	0	2	23
Total		42	1	7	50

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Monte Carlo Sig. (2-sided)		
				Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pearson Chi-Square	1,978 ^a	2	,372	,427	,418	,437
Likelihood Ratio	2,394	2	,302	,427	,418	,437
Fisher's Exact Test	1,853			,427	,418	,437
Linear-by-Linear Association	1,233 ^c	1	,267	,324	,315	,333
N of Valid Cases	50					

a. 4 cells (66,7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is,46.

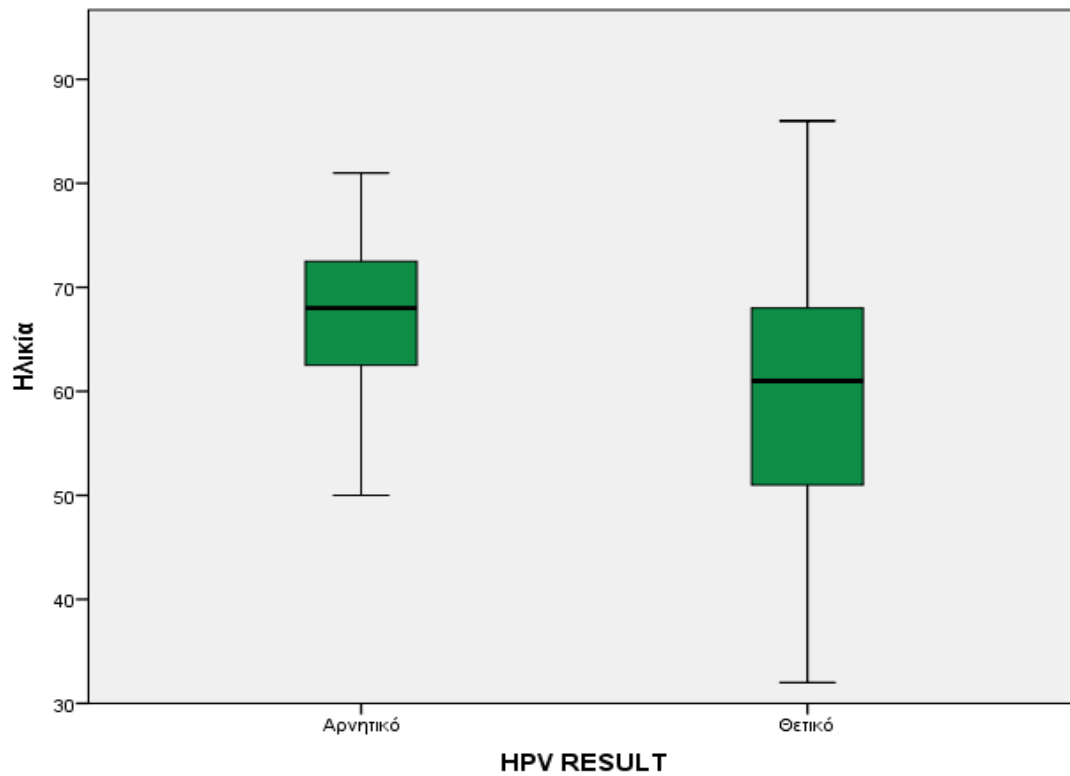
c. The standardized statistic is -1,110.

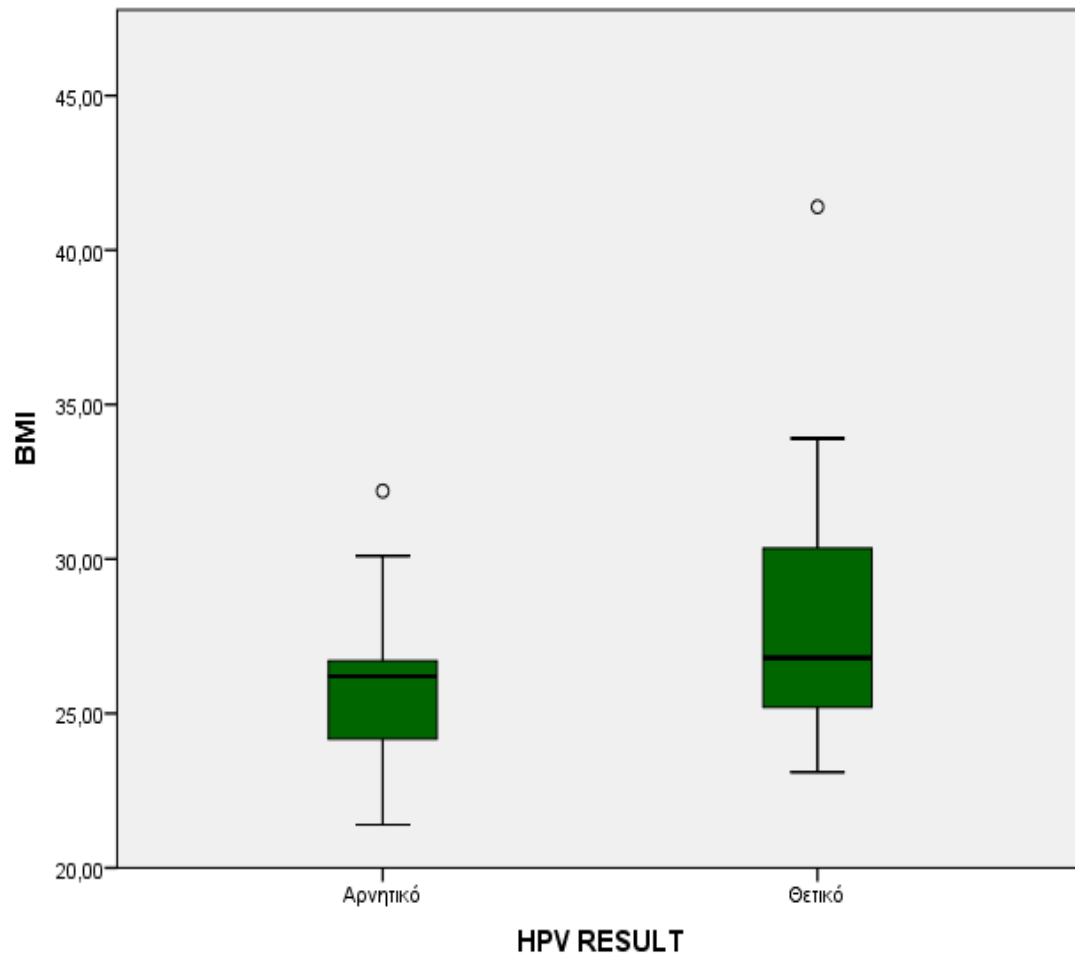
Από τους ελέγχους t- test για δύο ανεξάρτητα δείγματα φαίνεται ότι παρατηρήθηκε **στατιστικά σημαντική διαφορά** στην **ηλικία** των ασθενών που είχαν θετικό HPV αποτέλεσμα σε σχέση με αυτή των ασθενών που είχαν αρνητικό HPV αποτέλεσμα (**p=0,014**). Επίσης, πρέπει να τονιστεί εδώ ότι στην παρούσα μελέτη προκύπτει στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς το **BMI (p=0,039)**, ενώ για το βάρος και το πλήθος των άλλων παθήσεων δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά (p=0,206 και 0,164 αντίστοιχα).

Group Statistics

	HPV RESULT	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	p-value
					Mean	
Ηλικία	Αρνητικό	27	67,30	7,917	1,524	,014
	Θετικό	23	58,83	13,859	2,890	
BMI	Αρνητικό	27	25,8363	2,32316	,44709	,039
	Θετικό	23	27,9435	4,17382	,87030	
Βάρος	Αρνητικό	27	79,963	13,7603	2,6482	,206
	Θετικό	23	84,957	13,7129	2,8593	
Πλήθος άλλων παθήσεων	Αρνητικό	27	2,11	1,847	,355	,164
	Θετικό	23	1,52	1,039	,217	

Σχετικά με την ηλικία όπως φαίνεται και στο συγκριτικό θηκόγραμμα, οι ασθενείς με θετικά HPV αποτελέσματα είναι κατά μέσο όρο χαμηλότερης ηλικίας από τους ασθενείς που είχαν αρνητικό HPV αποτέλεσμα.





Παράλληλα, η παρούσα ανάλυση ανέδειξε ότι οι ασθενείς με αρνητικά HPV αποτελέσματα έχουν κατά μέσο όρο χαμηλότερο BMI από τους ασθενείς που είχαν θετικά HPV αποτελέσματα($p=0,039$).

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΥΠΟΤΡΟΠΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ (LOCAL RECURRENCE)

Από τον έλεγχο Pearson Chi Square φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της υποτροπής (Local Recurrence) και του αλκοόλ ($p=0,198$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να εμφανίσει ένας ασθενής υποτροπή της νόσου ανάλογα με την χρήση αλκοόλ. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Αλκοόλ		
		Όχι	Ναι	Total
LOCAL TUMOR	Όχι	13	32	45
RECURRENCE	Ναι	5	5	10
Total		18	37	55

Chi-Square Tests^c

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	1,656 ^a	1	<u>,198</u>	,268	,179	
Continuity Correction ^b	,836	1	,361			
Likelihood Ratio	1,579	1	,209	,268	,179	
Fisher's Exact Test				,268	,179	
Linear-by-Linear Association	1,626 ^d	1	,202	,268	,179	,128
N of Valid Cases	55					

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3,27.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. The standardized statistic is -1,275.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι υπάρχει **στατιστικά σημαντική σχέση** μεταξύ της υποτροπής και του καπνίσματος (**p=0,032**). Επομένως αναμένεται να είναι περισσότερο πιθανό να εμφανίσει ένας ασθενής υποτροπή όταν καπνίζει. Σημειώνεται εδώ ότι στο σύνολο των ασθενών καταγράφηκαν μόνο 2 μη καπνιστές. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά, ενώ η σχέση αποδίδεται από το αντίστοιχο γράφημα.

LOCAL TUMOR RECURRENCE * Κάπνισμα Crosstabulation

		Κάπνισμα		
		έως 1 πακέτο / ημέρα	2-3 πακέτα / ημέρα	Total
LOCAL TUMOR	Όχι	21	24	45
RECURRENCE	Ναι	1	9	10
	Total	22	33	55

Chi-Square Tests^c

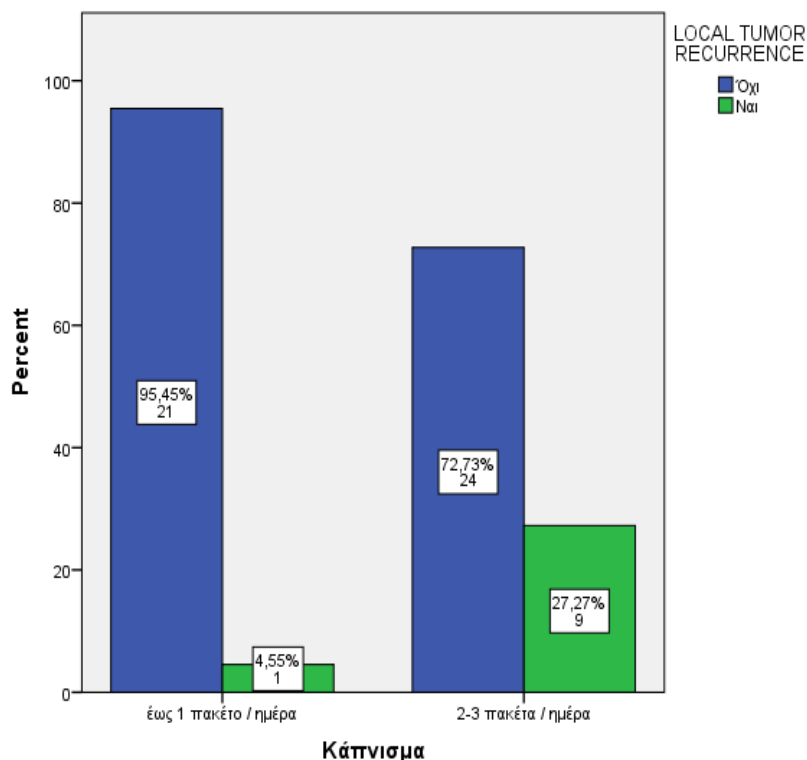
	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	4,583 ^a	1	<u>,032</u>	,070	,032	
Continuity Correction ^b	3,183	1	,074			
Likelihood Ratio	5,347	1	,021	,039	,032	
Fisher's Exact Test				,039	,032	
Linear-by-Linear Association	4,500 ^d	1	,034	,070	,032	,029
N of Valid Cases	55					

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4,00.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. The standardized statistic is 2,121.



Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της υποτροπής και του τύπου εργασίας ($p=0,579$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής υποτροπή ανάλογα με την εργασία του. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Εργασία					Total
		Κτηνοτρόφος	Γεωργός	Ιδιωτικός υπάλληλος	Δημόσιος υπάλληλος	Ελεύθερος επαγγελματίας	
LOCAL TUMOR	Όχι	3	4	11	6	21	45
RECURRENCE	Ναι	0	0	1	1	8	10
Total		3	4	12	7	29	55

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Monte Carlo Sig. (2-sided)		
				Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pearson Chi-Square	4,134 ^a	4	,388	,427	,418	,437
Likelihood Ratio	5,367	4	,252	,324	,315	,333
Fisher's Exact Test	2,786			<u>,579</u>	,569	,588
Linear-by-Linear Association	3,850 ^c	1	,050	,062	,057	,066
N of Valid Cases	55					

a. 6 cells (60,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,55.

c. The standardized statistic is 1,962.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της υποτροπής και της συνοσηρότητας ($p=0,667$). Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		DISEASE FREE		
		Όχι	Ναι	Total
		LOCAL TUMOR	Όχι	35
RECURRENCE	Ναι	9	1	10
Total		44	11	55

Chi-Square Tests^c

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Continuity Correction ^b	,191	1	,662			
Likelihood Ratio	,869	1	,351	,451	,351	
Fisher's Exact Test				<u>,667</u>	,351	
Linear-by-Linear Association	,750 ^d	1	,386	,667	,351	,267
N of Valid Cases	55					

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,00.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. The standardized statistic is -,866.

Από τον έλεγχο Pearson Chi Square φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της υποτροπής και του θετικού οικογενειακού ιστορικού ($p=0,775$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής υποτροπή ανάλογα με το θετικό οικογενειακό ιστορικό του. Το p -value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Θετικό οικογενειακό ιστορικό		
		Όχι	Ναι	Total
LOCAL TUMOR	Όχι	39	6	45
RECURRENCE	Ναι	9	1	10
Total		48	7	55

Chi-Square Tests^c

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	,082 ^a	1	<u>,775</u>	1,000	,625	
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000			
Likelihood Ratio	,086	1	,769	1,000	,625	
Fisher's Exact Test				1,000	,625	
Linear-by-Linear Association	,080 ^d	1	,777	1,000	,625	,401
N of Valid Cases	55					

a. 1 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,27.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. The standardized statistic is -,283.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της υποτροπής και της ιστολογικής εξέτασης ($p=0,229$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής υποτροπή ανάλογα με την ιστολογική του εξέταση. Το p -value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		LOCAL TUMOR		Total
		RECURRENCE		
		Όχι	Ναι	
Ιστολογική εξέταση	LIN I	5	1	6
	LIN II	2	1	3
	LIN III	1	0	1
	IN SITU	2	2	4
	SQUAMOUS Ca INVASIVE	22	4	26
	PARAKERATOSIS, HYPERKERATOSIS	11	1	12
	PAPILLOMA	2	0	2
	VERRUCOUS Ca	0	1	1
	Total	45	10	55

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Monte Carlo Sig. (2-sided)		
				Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pearson Chi-Square	9,280 ^a	7	,233	,243	,235	,252
Likelihood Ratio	8,175	7	,317	,380	,370	,389
Fisher's Exact Test	8,406			<u>,229</u>	,221	,237
Linear-by-Linear Association	,012 ^c	1	,912	,923	,917	,928
N of Valid Cases	55					

a. 14 cells (87,5%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,18.

c. The standardized statistic is -,111.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της υποτροπής και της διαφοροποίησης ($p=0,784$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής υποτροπή ανάλογα με τη διαφοροποίηση. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Διαφοροποίηση				Total
		Χωρίς	Χαμηλή	Μέτρια	Υψηλή	
LOCAL TUMOR	Όχι	27	2	6	10	45
RECURRENCE	Ναι	7	0	2	1	10
Total		34	2	8	11	55

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Monte Carlo Sig. (2-sided)		
				Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pearson Chi-Square	1,438 ^a	3	,697	,784	,776	,792
Likelihood Ratio	1,881	3	,597	,673	,664	,682
Fisher's Exact Test	1,255			<u>,784</u>	,776	,792
Linear-by-Linear Association	,398 ^c	1	,528	,575	,565	,585
N of Valid Cases	55					

a. 4 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,36.

c. The standardized statistic is -,631.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της υποτροπής και της λεμφαγγειακής διήθησης ($p=1,000$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής υποτροπή ανάλογα με τη λεμφαγγειακή διήθηση. Το p -value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Διηθήσεις λεμφαγγειακές		
		Όχι	Ναι	Total
LOCAL TUMOR	Όχι	44	1	45
RECURRENCE	Ναι	10	0	10
Total		54	1	55

Chi-Square Tests^c

	Value	Df	Asymptotic			Point Probability
			Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	
Pearson Chi-Square	,226 ^a	1	,634	1,000	,818	
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000			
Likelihood Ratio	,405	1	,524	1,000	,818	
Fisher's Exact Test				<u>1,000</u>	,818	
Linear-by-Linear Association	,222 ^d	1	,637	1,000	,818	,818
N of Valid Cases	55					

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,18.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. The standardized statistic is -,471.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της υποτροπής και της περιαγγειακής διήθησης ($p=0,333$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής υποτροπή ανάλογα με τη περιαγγειακή διήθηση. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Διηθήσεις περιαγγειακές		
		Όχι	Ναι	Total
LOCAL TUMOR	Όχι	44	1	45
RECURRENCE	Ναι	9	1	10
Total		53	2	55

Chi-Square Tests^c

	Value	Df	Asymptotic	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
			Significance (2-sided)			
Pearson Chi-Square	1,412 ^a	1	,235	,333	,333	
Continuity Correction ^b	,065	1	,799			
Likelihood Ratio	1,091	1	,296	,333	,333	
Fisher's Exact Test				<u>,333</u>	,333	
Linear-by-Linear Association	1,387 ^d	1	,239	,333	,333	,303
N of Valid Cases	55					

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,36.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. The standardized statistic is 1,178.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της υποτροπής (Local Recurrence) και της περινευρικής διήθησης καθώς δε παρατηρήθηκε σε κανένα ασθενή.

Crosstab

Count		Διηθήσεις περινευρικές	
		Όχι	Total
LOCAL TUMOR	Όχι	45	45
RECURRENCE	Ναι	10	10
Total		55	55

Από τους ελέγχους t- test για δύο ανεξάρτητα δείγματα φαίνεται ότι δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σε κάποια από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν στους ασθενείς που είχαν υποτροπή σε σχέση με τους ασθενείς δεν είχαν. Ως προς την ηλικία το BMI, το βάρος και το πλήθος των άλλων παθήσεων δε βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0,857$ $0,899$ $0,676$ και $0,886$ αντίστοιχα).

Group Statistics

	LOCAL TUMOR RECURRENCE		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	p-value
	Όχι	Ναι					
Ηλικία	Όχι	45	62,76	11,703	1,745	,857	
	Ναι	10	63,50	11,947	3,778		
BMI	Όχι	45	26,8440	3,94015	,58736	,899	
	Ναι	10	26,6800	2,13791	,67607		
Βάρος	Όχι	45	81,622	14,5513	2,1692	,676	
	Ναι	10	83,600	5,7194	1,8086		
Πλήθος άλλων παθήσεων	Όχι	45	1,82	1,600	,238	,886	
	Ναι	10	1,90	1,287	,407		

**ΜΕΛΕΤΗ ΕΚΛΥΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΓΙΑ ΑΠΟΜΑΚΡΥΣΜΕΝΕΣ
ΜΕΤΑΣΤΑΣΕΙΣ (DISTANT METASTASIS)**

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της εμφάνισης μεταστατικής νόσου και του αλκοόλ ($p=1,000$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής μετάσταση ανάλογα με το αλκοόλ. Το p -value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Αλκοόλ		
		Όχι	Ναι	Total
DISTANT	Όχι	18	35	53
METASTASIS	Ναι	0	2	2
Total		18	37	55

Crosstab

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,010 ^a	1	,315	,552	,448
Continuity Correction ^b	,056	1	,812		
Likelihood Ratio	1,622	1	,203	,552	,448
Fisher's Exact Test				<u>1,000</u>	,448
Linear-by-Linear Association	,991 ^d	1	,319	,552	,448
N of Valid Cases	55				

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της εμφάνισης μεταστατικής νόσου και του καπνίσματος ($p=0,511$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής μετάσταση ανάλογα με το κάπνισμα. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

DISTANT METASTASIS * Κάπνισμα Crosstabulation

		Count		
		Κάπνισμα		Total
		έως 1 πακέτο / ημέρα	2-3 πακέτα / ημέρα	
		DISTANT	Όχι	22
METASTASIS	Ναι	0	2	2
	Total	22	33	55

Chi-Square Tests^c

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	1,384 ^a	1	,239	,511	,356	
Continuity Correction ^b	,195	1	,659			
Likelihood Ratio	2,093	1	,148	,511	,356	
Fisher's Exact Test				<u>,511</u>	,356	
Linear-by-Linear Association	1,358 ^d	1	,244	,511	,356	,356
N of Valid Cases	55					

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,80.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. The standardized statistic is 1,166.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της εμφάνισης μεταστατικής νόσου και του είδους της εργασίας ($p=1,000$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής μετάσταση ανάλογα με το είδος της εργασίας του. Το p -value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Εργασία					Total
		Κτηνοτρόφος	Γεωργός	Ιδιωτικός υπάλληλος	Δημόσιος υπάλληλος	Ελεύθερος επαγγελματίας	
DISTANT	Όχι	3	4	12	7	27	53
METASTASIS	Ναι	0	0	0	0	2	2
Total		3	4	12	7	29	55

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Monte Carlo Sig. (2-sided)		
				Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pearson Chi-Square	1,861 ^a	4	,761	,772	,764	,780
Likelihood Ratio	2,628	4	,622	,772	,764	,780
Fisher's Exact Test	2,371			<u>1,000</u>	1,000	1,000
Linear-by-Linear Association	1,334 ^c	1	,248	,481	,471	,490
N of Valid Cases	55					

a. 7 cells (70,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,11.

c. The standardized statistic is 1,155.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της εμφάνισης μεταστατικής νόσου και της συνοσηρότητας ($p=0,667$). Το p -value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		DISEASE FREE		
		Όχι	Ναι	Total
DISTANT	Όχι	43	10	53
METASTASIS	Ναι	1	1	2
Total		44	11	55

Chi-Square Tests^c

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	1,167 ^a	1	,280	,363	,363	
Continuity Correction ^b	,032	1	,857			
Likelihood Ratio	,936	1	,333	,363	,363	
Fisher's Exact Test				<u>,363</u>	,363	
Linear-by-Linear Association	1,146 ^d	1	,284	,363	,363	,326
N of Valid Cases	55					

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,40.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. The standardized statistic is 1,071.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της εμφάνισης μεταστατικής νόσου και του θετικού οικογενειακού ιστορικού ($p=0,775$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής μετάσταση ανάλογα με την κληρονομικότητά του. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Θετικό οικογενειακό ιστορικό		
		Όχι	Ναι	Total
DISTANT	Όχι	47	6	53
METASTASIS	Ναι	1	1	2
Total		48	7	55

Chi-Square Tests^c

	Value	df	Asymptotic	Exact Sig.	Exact Sig.
			Significance (2-sided)	(2-sided)	(1-sided)
Pearson Chi-Square	2,596 ^a	1	,107	,240	,240
Continuity Correction ^b	,281	1	,596		
Likelihood Ratio	1,720	1	,190	,240	,240
Fisher's Exact Test				<u>,240</u>	,240
Linear-by-Linear Association	2,549 ^d	1	,110	,240	,240
N of Valid Cases	55				

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is, 25.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. The standardized statistic is 1,596.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της εμφάνισης μεταστατικής νόσου και της ιστολογικής εξέτασης ($p=0,461$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής μετάσταση ανάλογα με την ιστολογική του εξέταση. Το p -value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		DISTANT METASTASIS		
		Όχι	Ναι	Total
Ιστολογική εξέταση	LIN I	6	0	6
	LIN II	3	0	3
	LIN III	1	0	1
	IN SITU	3	1	4
	SQUAMOUS Ca INVASIVE	25	1	26
	PARAKERATOSIS,HYPERKERATOSIS	12	0	12
	PAPILLOMA	2	0	2
	VERRUCOUS Ca	1	0	1
Total		53	2	55

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Monte Carlo Sig. (2-sided)		
				Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pearson Chi-Square	6,157 ^a	7	,522	,413	,404	,423
Likelihood Ratio	4,207	7	,756	,461	,452	,471
Fisher's Exact Test	9,206			<u>,461</u>	,452	,471
Linear-by-Linear Association	,017 ^c	1	,897	1,000	1,000	1,000
N of Valid Cases	55					

a. 13 cells (81,3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,04.

c. The standardized statistic is -,129.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της εμφάνισης μεταστατικής νόσου και της διαφοροποίησης ($p=0,377$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής μετάσταση ανάλογα με τη διαφοροποίηση. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Διαφοροποίηση				Total
		Χωρίς	Χαμηλή	Μέτρια	Υψηλή	
DISTANT	Όχι	33	2	7	11	53
METASTASIS	Ναι	1	0	1	0	2
Total		34	2	8	11	55

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Monte Carlo Sig. (2-sided)		
				Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pearson Chi-Square	2,331 ^a	3	,507	,377	,368	,387
Likelihood Ratio	2,132	3	,546	,377	,368	,387
Fisher's Exact Test	3,245			<u>,377</u>	,368	,387
Linear-by-Linear Association	,007 ^c	1	,934	1,000	1,000	1,000
N of Valid Cases	55					

a. 5 cells (62,5%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,07.

c. The standardized statistic is ,083.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της εμφάνισης μεταστατικής νόσου και της λεμφαγγειακής διήθησης ($p=1,000$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής μετάσταση ανάλογα με τη λεμφαγγειακή διήθηση. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Διηθήσεις λεμφαγγειακές		
		Όχι	Ναι	Total
DISTANT	Όχι	52	1	53
METASTASIS	Ναι	2	0	2
Total		54	1	55

Chi-Square Tests^c

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,038 ^a	1	,845	1,000	,964
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,075	1	,785	1,000	,964
Fisher's Exact Test				<u>1,000</u>	,964
Linear-by-Linear Association	,038	1	,846	. ^d	. ^d
N of Valid Cases	55				

a. 3 cells (75,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,04.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. Cannot be computed because there is insufficient memory.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της εμφάνισης μεταστατικής νόσου και της περιαγγειακής διήθησης ($p=1,000$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής μετάσταση ανάλογα με τη περιαγγειακή διήθηση. Το p -value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Διηθήσεις περιαγγειακές		
		Όχι	Ναι	Total
DISTANT	Όχι	51	2	53
METASTASIS	Ναι	2	0	2
Total		53	2	55

Chi-Square Tests^c

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,078 ^a	1	,780	1,000	,928
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,151	1	,698	1,000	,928
Fisher's Exact Test				<u>1,000</u>	,928
Linear-by-Linear Association	,077 ^d	1	,782	1,000	,928
N of Valid Cases	55				

a. 3 cells (75,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,07.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. The standardized statistic is -,277.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της εμφάνισης μεταστατικής νόσου και της περινευρικής διήθησης καθώς δε παρατηρήθηκε σε κανένα ασθενή.

Crosstab

Count		Διηθήσεις περινευρικές	
		Όχι	Total
DISTANT	Όχι	53	53
METASTASIS	Ναι	2	2
Total		55	55

Από τους ελέγχους t- test για δύο ανεξάρτητα δείγματα φαίνεται ότι δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σε κάποια από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν στους ασθενείς που είχαν μετάσταση σε σχέση με τους ασθενείς δεν είχαν. Ως προς την ηλικία το BMI, το βάρος και το πλήθος των άλλων παθήσεων δε βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0,418$ $0,280$, $0,914$ και $0,279$ αντίστοιχα).

Group Statistics

	DISTANT		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	p-value
	METASTASIS						
Ηλικία	Όχι	53	62,64	11,569	1,589	,418	
	Ναι	2	69,50	16,263	11,500		
BMI	Όχι	53	26,7638	3,34934	,46007	,280	
	Ναι	2	24,1500	1,48492	1,05000		
Βάρος	Όχι	53	81,943	13,6035	1,8686	,914	
	Ναι	2	83,000	4,2426	3,0000		
Πλήθος άλλων παθήσεων	Όχι	53	1,79	1,549	,213	,279	
	Ναι	2	3,00	,000	,000		

**ΜΕΛΕΤΗ ΕΚΛΥΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΓΙΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗ 2^{ου} ΠΡΩΤΟΠΑΘΟΥΣ
ΟΓΚΟΥ (SECOND PRIMARY TUMOUR)**

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της ύπαρξης 2^{ου} πρωτοπαθούς όγκου (Second Primary Tumour) και του αλκοόλ ($p=1,000$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής 2^ο πρωτοπαθή όγκο ανάλογα με τη χρήση αλκοόλ. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Αλκοόλ		Total
		Όχι	Ναι	
SECOND (PRIMARY)TUMORS	Όχι	18	35	53
	Ναι	0	2	2
Total		18	37	55

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1,010 ^a	1	,315	,552	,448
Continuity Correction ^b	,056	1	,812		
Likelihood Ratio	1,622	1	,203	,552	,448
Fisher's Exact Test				<u>1,000</u>	,448
Linear-by-Linear Association	,991 ^d	1	,319	,552	,448
N of Valid Cases	55				

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της ύπαρξης 2^{ου} πρωτοπαθούς όγκου και του καπνίσματος ($p=0,511$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής 2^ο πρωτοπαθή όγκο ανάλογα με το κάπνισμα. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

SECOND (PRIMARY)TUMORS * Κάπνισμα Crosstabulation

		Count		
		Κάπνισμα		Total
		έως 1 πακέτο / ημέρα	2-3 πακέτα / ημέρα	
SECOND (PRIMARY)TUMORS	Όχι	22	31	53
	Ναι	0	2	2
Total		22	33	55

Chi-Square Tests^c

	Value	df	Asymptotic			Point Probability
			Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	
Pearson Chi-Square	1,384 ^a	1	,239	,511	,356	
Continuity Correction ^b	,195	1	,659			
Likelihood Ratio	2,093	1	,148	,511	,356	
Fisher's Exact Test				<u>,511</u>	,356	
Linear-by-Linear Association	1,358 ^d	1	,244	,511	,356	
N of Valid Cases	55					

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,80.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. The standardized statistic is 1,166.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της ύπαρξης 2^{ου} πρωτοπαθούς όγκου και της εργασίας ($p=0,360$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής 2^ο πρωτοπαθή όγκο ανάλογα με την εργασία του. Το p -value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Εργασία					Total
		Κτηνοτρόφος	Γεωργός	Ιδιωτικός υπάλληλος	Δημόσιος υπάλληλος	Ελεύθερος επαγγελματίας	
SECOND (PRIMARY) TUMORS	Όχι	3	3	12	7	28	53
	Ναι	0	1	0	0	1	2
Total		3	4	12	7	29	55

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Monte Carlo Sig. (2-sided)		
				Significance	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound	
Pearson Chi-Square	6,043 ^a	4	,196	,302	,293	,310
Likelihood Ratio	3,985	4	,408	,360	,350	,369
Fisher's Exact Test	4,877			<u>,360</u>	,350	,369
Linear-by-Linear Association	,334 ^c	1	,564	,758	,749	,766
N of Valid Cases	55					

a. 7 cells (70,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,11.

c. The standardized statistic is -,578.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της ύπαρξης 2^{ου} πρωτοπαθούς όγκου και της συνοσηρότητας (p=1,000). Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		DISEASE FREE		
		Όχι	Ναι	Total
SECOND	Όχι	42	11	53
(PRIMARY)TUMORS	Ναι	2	0	2
Total		44	11	55

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,519 ^a	1	,471	1,000	,637
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,911	1	,340	1,000	,637
Fisher's Exact Test				<u>1,000</u>	,637
Linear-by-Linear Association	,509 ^d	1	,475	1,000	,637
N of Valid Cases	55				

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της ύπαρξης 2^{ου} πρωτοπαθούς όγκου και του θετικού οικογενειακού ιστορικού ($p=1,000$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής 2^ο πρωτοπαθή όγκο ανάλογα με το θετικό οικογενειακό ιστορικό του. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Θετικό οικογενειακό ιστορικό		
		Όχι	Ναι	Total
SECOND (PRIMARY)TUMORS	Όχι	46	7	53
	Ναι	2	0	2
Total		48	7	55

Chi-Square Tests^c

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	,303 ^a	1	,582	1,000	,760	
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000			
Likelihood Ratio	,555	1	,456	1,000	,760	
Fisher's Exact Test				<u>1,000</u>	,760	
Linear-by-Linear Association	,297 ^d	1	,586	1,000	,760	,760
N of Valid Cases	55					

a. 2 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,25.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. The standardized statistic is -,545.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της ύπαρξης 2^{ου} πρωτοπαθούς όγκου και της ιστολογικής εξέτασης ($p=0,778$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής 2^ο πρωτοπαθή όγκο ανάλογα με την ιστολογική του εξέταση. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		SECOND (PRIMARY)TUMORS		
		Όχι	Ναι	Total
Ιστολογική εξέταση	LIN I	6	0	6
	LIN II	3	0	3
	LIN III	1	0	1
	IN SITU	4	0	4
	SQUAMOUS Ca INVASIVE	25	1	26
	PARAKERATOSIS,HYPERKERATOSIS	11	1	12
	PAPILLOMA	2	0	2
	VERRUCOUS Ca	1	0	1
Total	53	2	55	

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Monte Carlo Sig. (2-sided)		
				Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pearson Chi-Square	1,400 ^a	7	,986	1,000 ^b	1,000	1,000
Likelihood Ratio	1,822	7	,969	1,000 ^b	1,000	1,000
Fisher's Exact Test	7,008			<u>,778^b</u>	,770	,786
Linear-by-Linear Association	,499 ^c	1	,480	,606 ^b	,596	,615
N of Valid Cases	55					

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της ύπαρξης 2^{ου} πρωτοπαθούς όγκου και της διαφοροποίησης (p=0,377). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής 2^ο πρωτοπαθή όγκο ανάλογα με τη διαφοροποίηση. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Διαφοροποίηση				Total
		Χωρίς	Χαμηλή	Μέτρια	Υψηλή	
SECOND (PRIMARY)TUMORS	Όχι	33	2	7	11	53
	Ναι	1	0	1	0	2
Total		34	2	8	11	55

Chi-Square Tests

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Monte Carlo Sig. (2-sided)		
				Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pearson Chi-Square	2,331 ^a	3	,507	,377	,368	,387
Likelihood Ratio	2,132	3	,546	,377	,368	,387
Fisher's Exact Test	3,245			<u>,377</u>	,368	,387
Linear-by-Linear Association	,007 ^c	1	,934	1,000	1,000	1,000
N of Valid Cases	55					

a. 5 cells (62,5%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,07.

c. The standardized statistic is ,083.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της ύπαρξης 2^{ου} πρωτοπαθούς όγκου και της λεμφαγγειακής διήθησης ($p=1,000$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής 2^ο πρωτοπαθή όγκο ανάλογα με τη λεμφαγγειακή διήθηση. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Διηθήσεις λεμφαγγειακές		
		Όχι	Ναι	Total
SECOND (PRIMARY)TUMORS	Όχι	52	1	53
	Ναι	2	0	2
Total		54	1	55

Chi-Square Tests^c

	Value	df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,038 ^a	1	,845	1,000	,964
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,075	1	,785	1,000	,964
Fisher's Exact Test				<u>1,000</u>	,964
Linear-by-Linear Association	,038	1	,846	. ^d	. ^d
N of Valid Cases	55				

a. 3 cells (75,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,04.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. Cannot be computed because there is insufficient memory.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της ύπαρξης 2^{ου} πρωτοπαθούς όγκου και της περιαγγειακής διήθησης (p=1,000). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής 2^ο πρωτοπαθή όγκο ανάλογα με τη περιαγγειακή διήθηση. Το p-value φαίνεται υπογραμμισμένο στον πίνακα που ακολουθεί αμέσως μετά.

Crosstab

Count		Διηθήσεις περιαγγειακές		
		Όχι	Ναι	Total
SECOND	Όχι	51	2	53
(PRIMARY)TUMORS	Ναι	2	0	2
Total		53	2	55

Chi-Square Tests^c

	Value	Df	Asymptotic Significance (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	,078 ^a	1	,780	1,000	,928
Continuity Correction ^b	,000	1	1,000		
Likelihood Ratio	,151	1	,698	1,000	,928
Fisher's Exact Test				<u>1,000</u>	,928
Linear-by-Linear Association	,077 ^d	1	,782	1,000	,928
N of Valid Cases	55				

a. 3 cells (75,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,07.

b. Computed only for a 2x2 table

c. For 2x2 crosstabulation, exact results are provided instead of Monte Carlo results.

d. The standardized statistic is -,277.

Από τον έλεγχο Fisher's exact test φαίνεται ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ δεύτερου πρωτοπαθούς όγκου και της περινευρικής διήθησης καθώς δε παρατηρήθηκε σε κανένα ασθενή.

Crosstab

Count		Διηθήσεις περινευρικές	
		Όχι	Total
SECOND (PRIMARY)TUMORS	Όχι	53	53
	Ναι	2	2
Total		55	55

Από τους ελέγχους t- test για δύο ανεξάρτητα δείγματα φαίνεται ότι δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σε κάποια από τις παραμέτρους που εξετάστηκαν στους ασθενείς που εμφάνισαν 2^ο πρωτοπαθή όγκο σε σχέση με τους ασθενείς δεν είχαν. Ως προς την ηλικία το BMI, το βάρος και το πλήθος των άλλων παθήσεων δε βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά (p=0,493 0,759 0,917 και 0,213 αντίστοιχα).

Group Statistics

	SECOND (PRIMARY) TUMORS		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	p-value
	Όχι	Ναι					
Ηλικία	Όχι	Ναι	53	62,68	11,716	1,609	,493
BMI	Όχι	Ναι	53	26,6958	3,38604	,46511	,759
Βάρος	Όχι	Ναι	53	82,019	13,5937	1,8672	,917
Πλήθος άλλων παθήσεων	Όχι	Ναι	53	1,89	1,540	,212	,213
	Όχι	Ναι	2	,50	,707	,500	

ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ ΓΙΑ ΤΟ RECURRENCE

Εξετάζεται τέλος η επίδραση των παραμέτρων που παρατέθηκαν νωρίτερα στο χρονικό διάστημα μέχρι την υποτροπή. Καθώς δε προέκυψαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις προηγουμένως δεν αναμένεται να υπάρξουν και στην διαδικασία αυτή (ανάλυση επιβίωσης), με εξαίρεση ίσως το κάπνισμα.

Το κάπνισμα όμως φαίνεται να μην παίζει ρόλο στο χρόνο μέχρι την υποτροπή ($p=0,054$).

Means and Medians for Survival Time

Κάπνισμα	Mean ^a				Median
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate
			Lower Bound	Upper Bound	
έως 1 πακέτο / ημέρα	,773	,755	,000	2,252	,000
2-3 πακέτα / ημέρα	1,091	,310	,483	1,699	,000
Overall	3,091	,884	1,358	4,824	,000

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Overall Comparisons

	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	3,800	1	,054

Test of equality of survival distributions for the different levels of Smoking.

Το αλκοόλ επίσης δε φαίνεται να παίζει ρόλο στο χρόνο μέχρι την υποτροπή ($p=0,621$).

Means and Medians for Survival Time

Αλκοόλ	Mean ^a				Median			
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound	Upper Bound
Όχι	5,400	2,943	,000	11,168	3,000	1,095	,853	5,147
Ναι	2,600	,600	1,424	3,776	2,000	,548	,926	3,074
Overall	4,000	1,491	1,078	6,922	2,000	,791	,450	3,550

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Overall Comparisons

	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	,245	1	,621

Test of equality of survival distributions for the different levels of Alcohol.

Η μη συνοσυρότητα φαίνεται να παίζει ρόλο στη μη υποτροπή, παρόλα αυτά η διαφορά οφείλεται σε μία μόνο τιμή και είναι επομένως επισφαλής η διεξαγωγή ενός τέτοιου συμπεράσματος.

Means and Medians for Survival Time

DISEASE	Mean ^a				Median			
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound	Upper Bound
Όχι	4,333	1,624	1,149	7,517	3,000	1,491	,078	5,922
Ναι	1,000	,000	1,000	1,000	1,000	.	.	.
Overall	4,000	1,491	1,078	6,922	2,000	,791	,450	3,550

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Overall Comparisons

	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	4,000	1	,046

Το θετικό οικογενειακό ιστορικό φαίνεται να παίζει ρόλο στην υποτροπή, παρόλα αυτά η διαφορά οφείλεται σε μία μόνο τιμή και είναι επομένως επισφαλής η διεξαγωγή ενός τέτοιου συμπεράσματος.

Means and Medians for Survival Time

Θετικό οικογενειακό ιστορικό	Mean ^a				Median			
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound	Upper Bound
Όχι	4,333	1,624	1,149	7,517	3,000	1,491	,078	5,922
Ναι	1,000	,000	1,000	1,000	1,000	.	.	.
Overall	4,000	1,491	1,078	6,922	2,000	,791	,450	3,550

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Overall Comparisons

	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	4,000	1	,046

Test of equality of survival distributions for the different levels of Heredity.

Η περιαγγειακή διήθηση φαίνεται να παίζει ρόλο στην υποτροπή, παρόλα αυτά η διαφορά οφείλεται σε μία μόνο τιμή και είναι επομένως επισφαλής η διεξαγωγή ενός τέτοιου συμπεράσματος.

Means and Medians for Survival Time

Διηθήσεις περιαγγειακές	Mean ^a				Median			
	Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval		Estimate	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound			Lower Bound	Upper Bound
Όχι	4,333	1,624	1,149	7,517	3,000	1,491	,078	5,922
Ναι	1,000	,000	1,000	1,000	1,000	.	.	.
Overall	4,000	1,491	1,078	6,922	2,000	,791	,450	3,550

a. Estimation is limited to the largest survival time if it is censored.

Overall Comparisons

	Chi-Square	df	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	4,000	1	,046

Test of equality of survival distributions for the different levels of Διηθήσεις περιαγγειακές.

Επίσης δε φαίνεται να παίζουν ρόλο στο χρόνο μέχρι την υποτροπή οι παράμετροι:

- Ηλικία,
- Δείκτης μάζας σώματος (BMI),
- Βάρος,
- Πλήθος άλλων παθήσεων

και αυτό φαίνεται στον ακόλουθο πίνακα.

ΧΡΟΝΟΣ ΜΕΧΡΙ ΤΗΝ ΥΠΟΤΡΟΠΗ

Ηλικία	P=0,740
BMI	P=0,990
Βάρος	P=0,108
Πλήθος άλλων παθήσεων	P=0,672

7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη περιλαμβάνει 55 ασθενείς οι οποίοι υπεβλήθησαν σε μικρολαρυγγοσκόπηση υπό γενική αναισθησία στην Ωτορινολαρυγγολογική κλινική του Π.Γ.Ν.Ι λόγω καλοήθων και κακοήθων βλαβών. Τα παρασκευάσματα τοποθετήθηκαν σε block παραφίνης και στη συνέχεια με τη βοήθεια του kit HPV2 της Genomica, μέσω της τεχνολογίας των Μικροσυστοιχιών (microarrays), αναλύθηκαν με στόχο την ανίχνευση της παρουσίας HPV – DNA καθώς και των υποτύπων του (LR, HR).

Από τους 55 ασθενείς, 53 ήταν άνδρες και δύο γυναίκες, με μέση ηλικία 62,9 έτη με τυπική απόκλιση 11,6 έτη. Στο σύνολο των ασθενών ανιχνεύθηκαν 23 HPV θετικά αποτελέσματα (41,8%), 27 HPV αρνητικά αποτελέσματα (49,1%) και 5 περιπτώσεις χωρίς αποτέλεσμα. Από την υποομάδα των 23 HPV θετικών ασθενών ανευρέθηκαν 7 HR (30,4%) και 16 LR (69,6%). Οι πιο συχνοί υπότυποι είναι ο HPV 11 (20%), ο HPV 85 (20%), ο HPV 31(14,3%) και ο HPV 89 (14,3%). Οι λοιποί υπότυποι, που παρατηρήθηκαν σε μικρότερα ποσοστά στο δείγμα της μελέτης μας, απεικονίζονται στον Πίνακα 15, ενώ επισημαίνεται η απουσία ανεύρεσης του HPV 16 στο σύνολο των ασθενών. Σε ορισμένους ασθενείς ανιχνεύθηκαν περισσότεροι από ένας υπότυποι οι οποίοι είναι συνολικά 35. Στον Πίνακα 15 παρουσιάζεται το ποσοστό επί του συνόλου των ασθενών αλλά και επί του συνόλου των ιστοτύπων.

Πίνακας 15

Histotype	Responses		Percent of Cases
	N	Percent	
HPV HISTOTYPE 11	7	20,0%	30,4%
HPV HISTOTYPE 31	5	14,3%	21,7%
HPV HISTOTYPE 40	1	2,9%	4,3%
HPV HISTOTYPE 43	1	2,9%	4,3%
HPV HISTOTYPE 58	1	2,9%	4,3%
HPV HISTOTYPE 59	1	2,9%	4,3%
HPV HISTOTYPE 70	2	5,7%	8,7%
HPV HISTOTYPE 82	2	5,7%	8,7%
HPV HISTOTYPE 83	1	2,9%	4,3%
HPV HISTOTYPE 84	2	5,7%	8,7%
HPV HISTOTYPE 85	7	20,0%	30,4%
HPV HISTOTYPE 89	5	14,3%	21,7%
Total	35	100,0%	152,2%

Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας παρατηρήθηκε ασθενής συσχέτιση του ιού HPV με προκαρκινικές και καρκινικές αλλοιώσεις του λάρυγγα. Τα ευρήματά μας συνάδουν με αυτά κάποιων πρόσφατων δημοσιευμένων μελετών (107, 108). Ο Onerci Celebi και οι συν. κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο ιός HPV δεν αποτελεί αιτία για την εμφάνιση του καρκίνου του λάρυγγα, καθώς ο ιός δεν ανιχνεύθηκε σε κανέναν από τους 82 ασθενείς με καρκίνο του λάρυγγα εκ πλακωδών κυττάρων (LSCC) που συμμετείχαν στη μελέτη (107). Επιπρόσθετα, ο Xu και οι συν. σε μια πολύ μεγάλη μελέτη 674 ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα στην Κίνα, αναφέρουν ότι η λοίμωξη από τον ιό HPV δεν αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου για το LSCC διότι ανευρέθηκε μόνο στο 4,9% των ασθενών τους (108).

Από τη δική μας μελέτη μετά την ανάλυση των στοιχείων δε διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της παρουσίας του ιού HPV με την κατανάλωση αλκοόλ ($p=0,192$), τις καπνιστικές συνήθειες ($p=0,126$), το είδος της εργασίας ($p=0,626$), τις συνοδές παθήσεις (π.χ. ΑΥ, ΣΝ, ΔΛΠ, ΑΕΕ, ΓΟΠ, ΝΑ, ΣΔ κ.λπ.) ($p=0,121$), το θετικό οικογενειακό ιστορικό ($p=1,000$), το αποτέλεσμα της ιστολογικής εξέτασης ($p=0,920$), τη διαφοροποίηση ($p=0,691$), την εντόπιση ($p=0,430$) και την τοποπεριοχική επέκταση (λεμφαγγειακή ($p=1,000$), περιαγγειακή ($p=1,000$), περινευρική διήθηση). Ακόμα, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της υποτροπής με την κατανάλωση αλκοόλ ($p=0,198$), το είδος της εργασίας ($p=0,579$), τις συνοδές παθήσεις ($p=0,667$), το θετικό οικογενειακό ιστορικό ($p=0,775$), το αποτέλεσμα της ιστολογικής εξέτασης ($p=0,229$), τη διαφοροποίηση ($p=0,784$) και την τοποπεριοχική επέκταση (λεμφαγγειακή ($p=1,000$), περιαγγειακή ($p=0,333$), περινευρική διήθηση). Από τους 55 συνολικά ασθενείς, 10 ασθενείς εμφάνισαν υποτροπή (18,2%) (local recurrence). Αναλυτικότερα, δύο ασθενείς εμφάνισαν υποτροπή σε 1 μήνα (3,6%), τρεις σε 2 μήνες (5,5%), ένας σε 3 μήνες (1,8%), τρεις ασθενείς σε 4 μήνες (5,5%) και ένας ασθενής σε 17 μήνες (1,8%). Από αυτούς τους 10 ασθενείς, οι 8 ήταν HPV θετικοί (80%), ενώ μόνο δύο ασθενείς ήταν HPV HR(+). Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της εμφάνισης μεταστατικής νόσου με την κατανάλωση αλκοόλ ($p=1,000$), τις καπνιστικές συνήθειες ($p=0,511$), το είδος της εργασίας ($p=1,000$), τις συνοδές παθήσεις ($p=0,667$), το θετικό οικογενειακό ιστορικό ($p=0,775$), το αποτέλεσμα της ιστολογικής εξέτασης ($p=0,461$), τη διαφοροποίηση ($p=0,377$) και την τοποπεριοχική επέκταση (λεμφαγγειακή ($p=1,000$), περιαγγειακή ($p=1,000$), περινευρική διήθηση). Συνολικά από

τους 55 ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη, 2 μόνο εμφάνισαν μεταστατική νόσο (3,6%) και από αυτούς ο ένας ήταν HPV (+), ενώ ο δεύτερος ήταν HPV (-). Επιπρόσθετα, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας δεύτερου πρωτοπαθούς όγκου με την κατανάλωση αλκοόλ ($p=1,000$), τις καπνιστικές συνήθειες ($p=0,511$), το είδος της εργασίας ($p=0,360$), τις συνοδές παθήσεις ($p=1,000$), το θετικό οικογενειακό ιστορικό ($p=1,000$), το αποτέλεσμα της ιστολογικής εξέτασης ($p=0,778$), τη διαφοροποίηση ($p=0,377$) και την τοποπεριοχική επέκταση (λεμφαγγειακή ($p=1,000$), περιαγγειακή ($p=1,000$), περινευρική διήθηση). Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε MRI με σκιαγραφικό, για την απεικόνιση παρουσίας υποτροπής, μετάστασης ή 2^{ου} πρωτοπαθούς όγκου.

Εδώ πρέπει να τονιστεί ότι από τη συγκεκριμένη μελέτη αναδεικνύεται στατιστικά σημαντική συσχέτιση της παρουσίας του ιού HPV με την ηλικία των ασθενών και το δείκτη μάζας σώματος (BMI) των ασθενών. Αναλυτικότερα, οι ασθενείς με HPV θετικό αποτέλεσμα είναι κατά μέσο όρο χαμηλότερης ηλικίας (23 ασθενείς, μέση ηλικία 58,83 και Std. Deviation: 13,859) από τους ασθενείς που εμφάνισαν HPV αρνητικό αποτέλεσμα (27 ασθενείς, μέση ηλικία 67,3 και Std. Deviation: 7,917) ($p=0,014$). Επιπλέον, η ανάλυση ανέδειξε ότι οι ασθενείς με αρνητικά HPV αποτελέσματα έχουν κατά μέσο όρο χαμηλότερο BMI από τους ασθενείς που είχαν θετικό HPV αποτέλεσμα ($p=0,039$). Διαφαίνεται λοιπόν από την παρούσα μελέτη ότι οι νεότεροι σε ηλικία ασθενείς είναι θετικοί για τον ιό HPV σε σχέση με τους ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας. Επιστημονικά δεδομένα συνηγορούν υπερ των ευρημάτων αναφορικά με την παρουσία HPV σε νεότερους ηλικιακά ασθενείς. Ο Hernandez και οι συν. σε μια αναδρομική μελέτη αναφέρουν ότι ο HPV ανιχνεύθηκε σε 31 (21%) από τους 148 ασθενείς οι οποίοι διαγνώστηκαν με διηθητικό καρκίνο λάρυγγα από το 1993 έως το 2004. Από αυτούς, οι 20 ήταν < 60 ετών (64,5%), δηλαδή νεότεροι ηλικιακά ασθενείς ήταν θετικοί για τον ιό HPV (adjusted OR: 0,97, 95% CI: 0,93–1,01), με τις γυναίκες ασθενείς να είναι πιο πιθανό να έχουν HPV-θετικούς όγκους του λάρυγγα σε σύγκριση με τους άνδρες (adjusted OR: 2.84, 95% CI: 1.07–7.51) (161). Επιπλέον, ο Baumann και οι συν. σε μια αναδρομική μελέτη 38 ασθενών με πρώιμο καρκίνο του λάρυγγα (T1 ή in situ), όπου ο ιός HPV ανευρέθηκε σε 6 (16%) από τους 38 ασθενείς, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ασθενείς με HPV-θετικά καρκινώματα του λάρυγγα ήταν νεότερης ηλικίας και ήταν κάπως λιγότερο πιθανό να έχουν ιστορικό χρήσης καπνού (162). Επιπρόσθετα, ο Nikolov και οι συν. σε μια

προοπτική μελέτη 43 ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα, όπου ανευρέθηκε HPV (+) HR σε ποσοστό 39,5%, οι ασθενείς με HPV (+) καρκίνο του λάρυγγα ήταν νεότεροι ηλικιακά (8 έτη κατά μέσο όρο). Οι συγγραφείς αναφέρουν ότι οι παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη του HPV (+) καρκίνου λάρυγγα αφορούσαν υψηλότερο αριθμό σεξουαλικών συντρόφων και την πρακτική του στοματικού σεξ (163). Επομένως η παρούσα μελέτη επιβεβαιώνει τα επιστημονικά τεκμηριωμένα δεδομένα. Παράλληλα, οι υπέρβαροι ασθενείς παρουσιάζουν μεγαλύτερες πιθανότητες να είναι HPV θετικοί σε σχέση με τους κανονικού βάρους σώματος ασθενείς. Ύστερα από εκτενή αναζήτηση στο διαδίκτυο διαφαίνεται ότι η παχυσαρκία συνδέεται με την εμφάνιση διαφόρων τύπων καρκίνων, μεταξύ αυτών, με τον καρκίνο του θυρεοειδούς και με το αδενοκαρκίνωμα του οισοφάγου (164). Εξορμώντας από αυτή την παρατήρηση καταγράψαμε το BMI των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη και ανευρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της παρουσίας του ιού HPV με το δείκτη μάζας σώματος (BMI). Επίσης αναδεικνύεται στη μελέτη μας ότι η εμφάνιση υποτροπής της νόσου συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με το κάπνισμα ($p=0,032$), εύρημα που ενοχοποιεί το κάπνισμα ως ισχυρό παράγοντα κινδύνου για το LSCC.

Μέχρι σήμερα έχει διαπιστωθεί μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της λοίμωξης με τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV) και τον καρκίνο του οροφάρυγγα, ενώ παρόμοια σχέση δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί για τον καρκίνο του λάρυγγα (159). Ο καρκίνος εκ πλακωδών κυττάρων της κεφαλής και του τραχήλου (HNSCC) έχει αιτιολογικά συνδεθεί με το κάπνισμα και / ή την κατανάλωση αλκοόλ (109, 110). Παρόλο που αυτοί οι δύο παράγοντες κινδύνου έχουν μελετηθεί ευρέως, έρευνα τις τελευταίες δύο δεκαετίες αποκάλυψε τις συνέπειες της λοίμωξης του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV) στην ανάπτυξη ενός υποσυνόλου των HNSCCs (111, 112, 113, 114). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία έχει επιβεβαιωθεί ότι η λοίμωξη από τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV), αναγνωρίστηκε ως παράγοντας κινδύνου για τον καρκίνο του οροφάρυγγα το 2007 από το Διεθνές Κέντρο Έρευνας για τον Καρκίνο (IARC). Τονίζεται επίσης ότι όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των σεξουαλικών συντρόφων και η συχνότητα του στοματικού sex, τόσο αυξάνεται ο κίνδυνος για καρκίνο του στοματοφάρυγγα που σχετίζεται με τον ιό HPV (158). Δηλαδή η έκθεση στον ιό HPV στην περιοχή της κεφαλής και του τραχήλου συνδέεται με συγκεκριμένες σεξουαλικές συμπεριφορές, αυξάνοντας έτσι τον κίνδυνο για HNSCC (115). Η συσχέτιση μεταξύ της λοίμωξης από τον ιό HPV με

την καρκινογένεση της κεφαλής και του τραχήλου βασίζεται στις μορφολογικές ομοιότητες μεταξύ του πρωκτογεννητικού επιθηλίου και του πλακώδους επιθηλίου της κεφαλής και του τραχήλου, καθώς και στην ανίχνευση των συνηθέστερων ογκογονικών υπότυπων HPV τόσο στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας όσο και στον καρκίνο εκ πλακωδών κυττάρων της κεφαλής και του τραχήλου (HNSCC) (116, 117). Έγκυρα μοριακά δεδομένα στον καρκίνο του οροφάρυγγα, αναφέρουν ότι η έκφραση των ογκοπρωτεϊνών E6 και E7 των υψηλού κινδύνου HPV υπότυπων έχει ως αποτέλεσμα επίμονη HPV λοίμωξη (118). Έχει τεκμηριωθεί ότι παθολογική έκφραση των E6 και E7 ογκοπρωτεϊνών σε διαιρεμένα κύτταρα οδηγεί σε διαταραχή της φυσιολογικής διαδικασίας του κυτταρικού κύκλου και διαφοροποίηση (119). Με βάση επιδημιολογικά στοιχεία, περίπου 12,8-59,9% όλων των HNSCC παγκοσμίως σχετίζονται με μόλυνση με τον ιό HPV (120, 121, 122) ενώ η εκτιμώμενη επίπτωση του HPV για τους Ευρωπαίους είναι 40% (123). Σε μια παγκόσμια μετανάλυση, που συμπεριέλαβε 148 μελέτες, με δείγμα από 12.163 άτομα, για το χρονικό διάστημα από τις 15 Ιουλίου 1990 έως τις 29 Φεβρουαρίου 2012, ο HPV βρέθηκε σε ποσοστό 45,8% στον καρκίνο του οροφάρυγγα, 22,1% στον καρκίνο του λάρυγγα και 24,2% στον καρκίνο της στοματικής κοιλότητας (124). Αρκετές μελέτες ανέφεραν ισχυρή συσχέτιση της HPV μόλυνσης με HNSCC και ιδιαίτερα για καρκίνο του οροφάρυγγα (125, 109, 126, 127). Αντιθέτως, μελετώντας τη βιβλιογραφία η συσχέτιση του HPV με τον καρκίνο του λάρυγγα ήταν μέτρια ή ασθενής, πιθανώς λόγω της εσφαλμένης ταξινόμησης των όγκων και της επίδρασης παραγόντων όπως το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ (128).

Σε μια πρόσφατη δημοσιευμένη μελέτη, ο Zhu και οι συν. διερεύνησαν τη σημασία της ύπαρξης του HPV-DNA και συγκεκριμένα του υποτύπου HPV 16 και της πρωτεΐνης p16 σε πολύ μεγάλη σειρά ασθενών (812 ασθενείς) με LSCC. Τα ευρήματά τους δείχνουν ότι ο συνδυασμός θετικού HPV 16 και p16 μπορεί να επηρεάσει θετικά την επιβίωση των ασθενών με LSCC, ιδιαίτερα των μη καπνιστών (129). Αντιθέτως η μελέτη του Hughes και των συνεργατών του αναφέρει ότι ο HPV δε φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά την επιβίωση και τον έλεγχο της νόσου σε ασθενείς με καρκίνο του λάρυγγα ή του υποφάρυγγα (130). Στον αντίποδα σε μια μεταανάλυση οι συγγραφείς αναφέρουν ότι η λοίμωξη από τον ιό HPV και συγκεκριμένα από τον υπότυπο HPV-16 έχει σημαντική συσχέτιση με το πλακώδες καρκίνο του λάρυγγα (131). Επιπλέον σε μια προσφάτως δημοσιευμένη ανασκόπηση οι συγγραφείς αναφέρουν ότι οι τα ποσοστά μόλυνσης από τον

ιό HPV κυμαίνονται από 8% - 83% σε διάφορες επιδημιολογικές μελέτες. Αυτές οι διαφορές στα ευρήματα μπορεί να οφείλονται σε διάφορους παράγοντες όπως είναι οι διαφορές στη γεωγραφική κατανομή του πληθυσμού, στην ποιότητα του δείγματος, στην ευαισθησία και στην εξειδίκευση των χρησιμοποιούμενων μεθόδων δοκιμής. Ωστόσο, καταλήγουν ότι οφείλονται κυρίως στον ασαφή μοριακό μηχανισμό του λαρυγγικού καρκίνου που προκαλείται από τη λοίμωξη από τον ιό HPV και από τις διαφορετικές μεθόδους ανίχνευσης (PCR, Genotyping Assay RT-PCR, NA, Nested PCR, automated DNA sequencing, ISH, IHC) (132). Μία ακόμα μελέτη στην οποία συμμετείχαν 332 ασθενείς με καρκίνο του λάρυγγα εκ πλακωδών κυττάρων (LSCC) διενεργήθηκε στο νοσοκομείο Tongren στην Κίνα, μεταξύ 2005 και 2011. Διάφορα δεδομένα όπως η ηλικία, το φύλο, η κατανάλωση καπνού / αλκοόλ και το στάδιο TNM συλλέχθηκαν και επεξεργάστηκαν. Επίσης, ελέγχθηκε η παρουσία HPV DNA γονοτύπων χρησιμοποιώντας τη μέθοδο PCR-RDB σε ιστούς σταθεροποιημένους με παραφίνη. Όλα τα δείγματα αξιολογήθηκαν για p16 INK4A, p21 WAF1/CIP1, P53, Κυκλίνη D1 και Ki67 ανοσοϊστοχημικά με μικροσυστοιχία ιστού. Τα αποτελέσματα της μελέτης ανέδειξαν ότι HPV DNA ανιχνεύθηκε σε 45 από τους 332 (13,55%) ασθενείς με LSCC, με τον HPV-16 να είναι ο κυρίαρχος υπότυπος και να συσχετίζεται σημαντικά με καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων basaloid τύπου, με λεμφαδενικές μεταστάσεις ($P < 0,05$). Επίσης σχετίζεται με το p16 INK4A, εκδηλώνοντας υψηλότερο δείκτη Ki-67 και έκφραση p21 WAF1/CIP1 από ότι οι αρνητικοί για HPV-16 όγκοι (133).

Πρόσφατα, η p16 έχει συμπεριληφθεί στην κατευθυντήρια γραμμή του TNM για τα οροφαρυγγικά καρκινώματα. Ο ρόλος του HPV και του p16 στον καρκίνο του υποφάρυγγα και του λάρυγγα δεν έχει ακόμη καθοριστεί επαρκώς. Ο Dahm και οι συν. τον Ιούλιο του 2018 δημοσίευσαν μια αναδρομική μελέτη όπου συμμετείχαν 134 ασθενείς συνολικά, 85 με καρκίνο του λάρυγγα και 49 με καρκίνο του υποφάρυγγα. Το 8% των ασθενών ήταν HPV θετικοί και ο μέσος χρόνος παρακολούθησης ήταν 58 μήνες. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι το στάδιο του όγκου και η έκθεση στη νικοτίνη δρουν επιβαρυντικά σε σχέση με την επιβίωση στους ασθενείς αυτούς, ενώ σύμφωνα με τα μέχρι σήμερα επιστημονικά δεδομένα και σε συγκεκριμένα δείγματα μελέτης, που τα αποτελέσματά τους αδυνατούν να γενικευθούν σε επίπεδο πληθυσμού, δεν υπάρχει καλύτερη επιβίωση σε p16 θετικούς ή HPV θετικούς ασθενείς (134).

Στην Ελλάδα, σχετικά περιορισμένα δεδομένα είναι διαθέσιμα σχετικά με την λοίμωξη από τον ιό HPV σε HNSCCs, με το ποσοστό HPV λοίμωξης να κυμαίνεται από 0% έως 95% σε ασθενείς με καρκίνο της στοματικής κοιλότητας σύμφωνα με τον Romanitan και τους συν. σε μια αναδρομική μελέτη 115 Ελλήνων ασθενών μεταξύ 1986-2007 (135), την Adamorouλου και τους συν. σε μια προοπτική μελέτη σε 43 γυναίκες ασθενείς (136), την Blioumi και τους συν. σε μια αναδρομική μελέτη 258 ατόμων (137) και την Tsimplaki και τους συν. σε μια προοπτική μελέτη 53 Ελλήνων ασθενών (138). Σε ασθενείς με καρκίνο του οροφάρυγγα το ποσοστό HPV λοίμωξης κυμαίνεται από 0% έως 43% σύμφωνα με τον Romanitan και τους συν. σε μια αναδρομική μελέτη 115 Ελλήνων ασθενών μεταξύ του 1986-2007 (135) και τον Argytis και τους συν. σε μια αναδρομική μελέτη 44 ασθενών μεταξύ 1993-2008 (139). Όσο αφορά τον καρκίνο του λάρυγγα το ποσοστό HPV λοίμωξης κυμαίνεται από 10% έως 40% σύμφωνα με τον Souvrinos και τους συν. σε μια προοπτική μελέτη 37 ασθενών (140), τον Vlachtsis και τους συν. σε μια προοπτική μελέτη 100 ασθενών μεταξύ 1999-2002 (141) και τον Laskaris και τους συν. σε μια προοπτική ανάλυση 54 ασθενών (142). Λαμβάνοντας υπόψη, τα αναφερόμενα αντικρουόμενα αποτελέσματα που αφορούν τόσο στην επίπτωση του HPV όσο και στη συσχέτισή του με καρκίνους της κεφαλής και του τραχήλου η Tsimplaki και οι συν. στη μελέτη που δημοσιεύθηκε το 2017, στην οποία συμπεριλήφθηκαν 172 ασθενείς με καρκίνο κεφαλής και τραχήλου εκ πλακωδών κυττάρων (HNSCC) και 91 άτομα υγιή (ομάδα ελέγχου), ανέδειξαν ισχυρή συσχέτιση της λοίμωξης με υψηλού κινδύνου HPV υποτύπους σε ασθενείς με καρκίνο του οροφάρυγγα και του λάρυγγα στην Ελλάδα, 20.3 (95% CI: 1.7–250.1) και 22.8 (95% CI: 2.5–206.2) αντίστοιχα, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, ενώ ο HPV δεν συσχετίστηκε σημαντικά με τον καρκίνο της στοματικής κοιλότητας. Ακόμα ανέφεραν ότι η λοίμωξη από high risk HPV υποτύπους συσχετίζεται με χαμηλής διαφοροποίησης όγκους (OR: 2,8, 95% CI: 1,1-7,5). Συγκεκριμένα κυτταρολογικό υλικό ή ιστός ελήφθη από 172 ασθενείς με καρκίνο κεφαλής και τραχήλου εκ πλακωδών κυττάρων (HNSCC) καθώς και κυτταρολογικά δείγματα από την ομάδα ελέγχου, τα οποία αναλύθηκαν για ανίχνευση HPV-DNA χρησιμοποιώντας την τεχνική των Μικροσυστοιχιών (microarrays) (143). Αυτά τα ευρήματα συμφωνούν με αποτελέσματα προηγούμενων προοπτικών μελετών, όπως του D' Souza και των συν. το 2007 σε ένα δείγμα 100 ασθενών (127) και του Pintos και των συν. το 2008 σε 72 ασθενείς (144) σχετικά με

τον καρκίνο του οροφάρυγγα, καθώς και του Garcia-Milian και των συν. το 1998 σε 33 ασθενείς (145) και του Ribeiro και των συν. σε μια αναδρομική μελέτη 2.214 ασθενών (146) όσον αφορά τον καρκίνο του λάρυγγα. Εν τούτοις άλλες μελέτες, όπως ο Smith και οι συν. σε 44 ασθενείς με Ca λάρυγγα και με ο Morik και οι συν. σε 292 ασθενείς με HNSCC έχουν δείξει χαμηλότερη ORs, 3.0 και 2.2 (95% CI: 1.4-3.4) αντίστοιχα για τον καρκίνο του λάρυγγα (147, 148),. ενώ ο Herrero και οι συν. σε 1.670 ασθενείς, ο Smith και οι συν. σε 193 ασθενείς και ο Furniss και οι συν. σε 486 ασθενείς είχαν ORs 3.5 (95% CI = 2.1 to 5.9), 6.2 (95% CI: 2.7–14.5) και 4.9 (95% CI: 2.4-10.0) για τον καρκίνο του οροφάρυγγα αντίστοιχως (109, 113, 149). Ο Li και οι συν. και ο Hobbs και οι συν. σε δύο μετααναλύσεις, ασθενών με καρκίνο του λάρυγγα καταλήγουν ότι ήταν λιγότερο πιθανό να συσχετίζονται με λοίμωξη με υψηλού κινδύνου (HR) HPV υποτύπους ORs 5.74 (95% CI: 3.05–10.80) και 2.0 (95% CI: 1.0-4.2) αντίστοιχα (131, 150). Η ετερογένεια στα ποσοστά συσχέτισης της λοίμωξης του ιού HPV με τον HNSCC και συγκεκριμένα με τον καρκίνο του λάρυγγα μεταξύ των μελετών μπορεί να αποδοθεί στις διαφορετικές τεχνικές ανίχνευσης του HPV που χρησιμοποιούνται, όπως η ανίχνευση του HPV-DNA σε κυτταρολογικά ή ιστολογικά δείγματα, η παρουσία αντισωμάτων έναντι της πρωτεΐνης L1 του HPV ή η παρουσία αντισωμάτων έναντι των ογκοπρωτεϊνών E6 και E7 του HPV στον ορό (128, 150, 151).

Έχει ήδη αναφερθεί ότι η συσχέτιση μεταξύ του ιού HPV και του HNSCC είναι ισχυρότερη στον καρκίνο του στοματοφάρυγγα, ειδικά των παρίσθμιων αμυγδαλών και της βάσης της γλώσσας (109, 112, 125, 152). Η παρουσία του HPV στον οροφάρυγγα πιθανόν οφείλεται στο κρυπτικό επιθήλιο των αμυγδαλών, όπου η επαφή του ιού με τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, καθιστά το επιθήλιο ευάλωτο στη λοίμωξη από τον HPV και στον μετέπειτα ογκογονικό μετασχηματισμό του (109). Όσον αφορά το λάρυγγα η ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της λοίμωξης από τους υψηλού κινδύνου υποτύπους HPV με τον καρκίνο του λάρυγγα που ανευρέθηκε σε ορισμένες μελέτες που αναφέραμε προηγουμένως, υποδεικνύει ότι ο HPV μπορεί να είναι ένας ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για τη λαρυγγική καρκινογένεση. Το συμπέρασμα αυτό συνάδει με τη μεταανάλυση του Rees και των συν. (153) και με την ανασκόπηση του Torrente και των συν. (154) και θα μπορούσε ενδεχομένως να εξηγηθεί από την παρουσία μετάπτωσης του κυλινδρικού επιθηλίου σε πλακώδες στην περιοχή της λαρυγγικής κοιλίας σύμφωνα με τον Anniko et al (1). Ειδικότερα, το μικροπεριβάλλον στην περιοχή

της γλωττίδας μπορεί να διευκολύνει την μόλυνση από τον ιό HPV, εξαιτίας του γεγονότος ότι η ζώνη μετάπτωσης του επιθηλίου στη λαρυγγική κοιλία είναι με επιφύλαξη παρόμοια με τη ζώνη μετάπτωσης του τραχήλου της μήτρας (131, 155). Στη δική μας μελέτη, αν και οι πλειοψηφία των αλλοιώσεων ήταν στη γλωττιδική περιοχή (glottic=42, supraglottic=7, subglottic=1) δεν ανευρέθηκε ισχυρή συσχέτιση με την λοίμωξη από τον ιό HPV (HPV(+)=21 άτομα, HPV(-)=21 άτομα). Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι η ανάλυση μας έδειξε ότι δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ του αποτελέσματος HPV και του καπνίσματος ($p=0,126$) καθώς και μεταξύ του αποτελέσματος HPV με το αλκοόλ ($p=0,192$). Επομένως δεν αναμένεται να είναι περισσότερο ή λιγότερο πιθανό να έχει ένας ασθενής θετικό HPV αποτέλεσμα σε σχέση με τους καθιερωμένους παράγοντες κινδύνου (κάπνισμα και κατανάλωση αλκοόλ) για τον καρκίνο της κεφαλής και του τραχήλου. Ωστόσο, είναι πιθανό ότι αυτό οφείλεται σε έλλειψη στοιχείων σχετικά με συσσωρευτικές δόσεις καπνού και αλκοόλ, όπως αναφέρεται στη μελέτη του Gillison και των συν. (112). Εντούτοις έχει αναφερθεί ότι τόσο οι δόσεις καπνού (αριθμός πακέτων/ημέρα) όσο και η διάρκεια του καπνίσματος, συνδέονται με την ανάπτυξη και την υποτροπή του HNSCC (156). Το εύρημα αυτό διαπιστώθηκε και στη δική μας μελέτη καθώς ανευρέθηκε ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική σχέση μεταξύ της υποτροπής και του καπνίσματος ($p=0,032$). Όσον αφορά τη δική μας μελέτη, δεν υπάρχει αμφιβολία ότι έχει διάφορους περιορισμούς, όπως τα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά της συγκεκριμένης ομάδας μελέτης, recall και information bias κατά τη συλλογή των δεδομένων από τους συμμετέχοντες, αναφορά συγχυτικών παραγόντων όπως φύλο και ηλικία του δείγματος μελέτης, μικρό μέγεθος δείγματος μελέτης, ύπαρξη πιθανών συγχυτικών παραγόντων που δε διερευνήθηκαν από τους μελετητές, κλπ.).

Καταλήγοντας λόγω της αξιοσημείωτης μεταβολής της εμφάνισης του καρκίνου της κεφαλής και του τραχήλου σε σχέση με αιτιολογικούς παράγοντες τα τελευταία 20 χρόνια (157, 160) πολλαπλές μελέτες όπως αναφέραμε ανωτέρω, έχουν διερευνήσει την πιθανή συσχέτιση του ιού HPV με την εμφάνιση του HNSCC. Παρ' όλα αυτά, μετά από εκτεταμένη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας τα στοιχεία δείχνουν μεγάλη απόκλιση όσον αφορά τον συσχετισμό της μόλυνσης από τον ιό HPV με τον καρκίνο του λάρυγγα. Είναι εμφανές ότι περισσότερες μελέτες προοπτικού χαρακτήρα, πολυκεντρικές, με μεγαλύτερο αριθμό ασθενών είναι απαραίτητες έτσι ώστε να αξιολογηθούν τα αποτελέσματά μας και

να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα. Επί του παρόντος η διεθνής επιστημονική κοινότητα αναζητά απαντήσεις στα κάτωθι ερωτήματα «η πιθανή συσχέτιση του ιού HPV με θηλωματώδεις, προκαρκινικές και καρκινικές αλλοιώσεις του λάρυγγα καθώς και η πιθανή συσχέτιση του ιού με επιμέρους παραμέτρους – παράγοντες».

8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο καρκίνος του λάρυγγα είναι ο δεύτερος πιο κοινός καρκίνος της κεφαλής και του τραχήλου παγκοσμίως. Εξαιτίας της μεταβολής της επίπτωσης του με την πάροδο του χρόνου, σε μεγάλο μέρος του κόσμου σε σχέση τους παράγοντες κινδύνου, αποτελεί αντικείμενο έντονης επιστημονικής συζήτησης τις τελευταίες δύο δεκαετίες.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο έλεγχος της πιθανής συσχέτισης της λοίμωξης από τον ιό HPV με θηλωματώδεις, προκαρκινικές και καρκινικές βλάβες του λάρυγγα, σε ασθενείς της Βορειοδυτικής Ελλάδας, που υποβλήθηκαν σε μικρολaryγγοσκόπηση για τις συγκεκριμένες παθολογίες στην Πανεπιστημιακή Ωτορινολaryγγολογική κλινική των Ιωαννίνων. Συνολικά μετείχαν 55 ασθενείς, 53 άνδρες και δύο γυναίκες, με μέση ηλικία 62,9 έτη με τυπική απόκλιση 11,6 έτη. Σε κάθε δείγμα ασθενούς πραγματοποιήθηκε έλεγχος για την ανίχνευση HPV-DNA και των υποτύπων του, με τις **Μικροσυστοιχίες**, που αποτελούν μια από τις πλέον **σύγχρονες** μεθοδολογίες Μοριακής ανίχνευσης και τυποποίησης του HPV. Ακολούθησε συσχέτιση των αποτελεσμάτων με τα χαρακτηριστικά των ασθενών που προέκυψαν από αναλυτική λήψη του ιστορικού τους (ηλικία, φύλο, επάγγελμα, κληρονομικότητα, κάπνισμα, αλκοόλ κτλ).

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων μας εξάγονται τα ακόλουθα συμπεράσματα. Στην παρούσα προοπτική κλινική μελέτη αναδείχτηκε ότι η λοίμωξη από τον ιό HPV δεν συσχετίζεται στατιστικά σημαντικά με την εμφάνιση προκαρκινικών και καρκινικών αλλοιώσεων στον λάρυγγα. Από τους 55 ασθενείς οι 23 εμφάνισαν HPV θετικό αποτέλεσμα (41,8%), οι 27 HPV αρνητικό αποτέλεσμα (49,1%) και 5 περιπτώσεις χωρίς αποτέλεσμα.

Από την υποομάδα των 23 HPV θετικών ασθενών, 7 ασθενείς ήταν HPV HR (30,4%) και 16 HPV LR (69,6%). Συνολικά ανιχνεύθηκαν 9 χαμηλού κινδύνου υπότυποι (LR) και 3 υψηλού κινδύνου υπότυποι (HR). Οι πιο συχνοί εμφανιζόμενοι υπότυποι ήταν ο HPV 11 (20%), ο HPV 85 (20%), ο HPV 31 (14,3%) και ο HPV 89 (14,3%). Από αυτούς ο HPV 11, ο HPV 85 και ο HPV 89 είναι low risc (LR), ενώ ο HPV 31 είναι high risc (HR). Ο HPV 16 δεν ανιχνεύθηκε στο σύνολο των ασθενών.

Σύμφωνα με τα δικά μας ευρήματα, η παρουσία του ιού HPV σχετίζεται σημαντικά με την ηλικία των ασθενών και με το δείκτη μάζας σώματος (BMI). Οι ασθενείς δηλαδή που είναι θετικοί στον ιό HPV είναι κατά μέσο όρο χαμηλότερης ηλικίας (23 ασθενείς, μέση ηλικία

58,83 και Std. Deviation: 13,859) από αυτούς που εμφάνισαν αρνητικό HPV αποτέλεσμα (27 ασθενείς, μέση ηλικία 67,3 και Std. Deviation: 7,917) ($p=0,014$). Αυτό ίσως να συσχετίζεται με το στοματικό σεξ ιδιαίτερα στους νέους ασθενείς.

Επιπρόσθετα, οι ασθενείς με HPV θετικό αποτέλεσμα έχουν κατά μέσο όρο υψηλότερο BMI σε σχέση με εκείνους οι οποίοι ήταν αρνητικοί για τον ιό HPV ($p=0,039$). Δηλαδή, οι υπέρβαροι ασθενείς παρουσιάζουν μεγαλύτερες πιθανότητες να είναι HPV θετικοί σε σχέση με τους κανονικού βάρους σώματος ασθενείς. Επίσης αναδεικνύεται στην παρούσα μελέτη ότι οι καπνιστές σχετίζονται στατιστικά σημαντικά ($p=0,032$) με την πιθανότητα εμφάνισης υποτροπής της νόσου, εύρημα που ενοχοποιεί το κάπνισμα ως ισχυρό παράγοντα κινδύνου για το LSCC.

Επίσης η συσχέτιση της μη συνοσυρότητας με την απουσία υποτροπής (local recurrence) ($p=0,046$), της κληρονομικότητας με την υποτροπή της νόσου ($p=0,046$) και της περιαγγειακής διήθησης με την εμφάνιση υποτροπής ($p=0,046$) φαίνεται πιθανή στην παρούσα μελέτη, αν και ο αριθμός των δειγμάτων σε αυτές τις περιπτώσεις είναι πολύ μικρός για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων.

Εν κατακλείδι, έχει αποδειχθεί ότι όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των σεξουαλικών συντρόφων και η συχνότητα του στοματικού sex, τόσο αυξάνεται ο κίνδυνος για καρκίνο του στοματοφάρυγγα που σχετίζεται με τον ιό HPV. Ο ρόλος όμως του HPV καθώς και οι πιο υψηλού κινδύνου υπότυποι του, σε μη στοματοφαρυγγικούς καρκίνους της κεφαλής και του τραχήλου, όπως στον καρκίνο του λάρυγγα, δεν έχουν ακόμη αποσαφηνιστεί πλήρως. Η λοίμωξη από τον HPV είναι ένας σημαντικός προγνωστικός παράγοντας που συνδέεται με ευνοϊκό αποτέλεσμα σε καρκίνους της κεφαλής και του τραχήλου. Περίπου 30 έως 40% των ασθενών με HNSCC είναι πρώιμου σταδίου I / II. Αυτοί οι ασθενείς αντιμετωπίζονται είτε με ακτινοβολία είτε με χειρουργική επέμβαση μόνο. Το Cetuximab, το ανθρωποποιημένο μονοκλωνικό αντίσωμα αντι-EGFR IgG1 από ποντίκι, βελτιώνει τον τοπικοπεριοχικό έλεγχο της νόσου σε συνδυασμό με ακτινοθεραπεία σε τοπικά προχωρημένους όγκους, αλλά με αυξημένο κόστος καρδιακής νοσηρότητας και θνησιμότητας.

Τέλος, η βελτιωμένη ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία και στην ακτινοθεραπεία σε HPV θετικούς ασθενείς στο στοματοφαρυγγικό καρκίνο, υποδηλώνει ότι απαιτείται ανίχνευση της κατάστασης του HPV και στον καρκίνο του λάρυγγα, για τον καλύτερο σχεδιασμό και την εξατομίκευση της θεραπείας των ασθενών.

Τίτλος μελέτης: Συσχέτιση λοίμωξης από τον ιό HPV με θηλωματώδεις, προκαρκινικές και καρκινικές βλάβες του λάρυγγα.

Υπό: Αικατερίνη Δ. Λιανού

9. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο καρκίνος του λάρυγγα είναι ο δεύτερος πιο κοινός καρκίνος της κεφαλής και του τραχήλου και εμφανίζεται συχνότερα στους άνδρες απ' ότι στις γυναίκες. Το καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων είναι ο κυρίαρχος ιστολογικός τύπος (>95%) και μπορεί να εμφανιστεί απευθείας σε φυσιολογικό επιθήλιο ή σε έδαφος διαφόρων προκαρκινικών αλλοιώσεων, οι οποίες δημιουργούνται όταν το φυσιολογικό λαρυγγικό επιθήλιο εκτεθεί σε διάφορους τοξικούς παράγοντες για μεγάλο χρονικό διάστημα. Αυτές είναι η λευκοπλακία, η υπερπλασία ή υπερκεράτωση χωρίς ατυπία, η μεταπλασία ή υπερκεράτωση με ατυπία και η δυσπλασία. Όταν η δυσπλασία είναι έντονη σε όλο το πάχος του επιθηλίου, χωρίς ρήξη της βασικής μεμβράνης, ονομάζεται καρκίνωμα *in situ*, το οποίο αν δεν απομακρυνθεί εγκαίρως εξελίσσεται σε διηθητικό καρκίνωμα. Στις καλοήθεις νεοπλασίες του λάρυγγα ανήκουν τα θηλώματα, τα οποία μπορούν να εμφανιστούν σε οποιοδήποτε σημείο του αναπνευστικού συστήματος και χαρακτηρίζονται από συχνές υποτροπές.

Ο σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης είναι η διερεύνηση της πιθανής συσχέτισης της λοίμωξης από τον ιό των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV) με θηλωματώδεις, προκαρκινικές και καρκινικές αλλοιώσεις του λάρυγγα σε ασθενείς της Βορειοδυτικής Ελλάδας που χειρουργήθηκαν για τις συγκεκριμένες παθολογίες στην Ωτορινολαρυγγολογική κλινική του νοσοκομείου μας. Η μελέτη περιελάμβανε 55 ασθενείς, 53 άνδρες και 2 γυναίκες. Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική HPV-DNA μικροσυστοιχίες για τη μοριακή ανίχνευση και την τυποποίηση του HPV και των υποτύπων του. Ακολούθησε συσχέτιση των αποτελεσμάτων με την ηλικία, το φύλο, την εντόπιση, τις διατροφικές συνήθειες, το επάγγελμα, το κάπνισμα, το αλκοόλ, το δείκτη μάζας σώματος (BMI), κτλ.

Η στατιστική ανάλυση των στοιχείων ανέδειξε ασθενή συσχέτιση του ιού HPV με προκαρκινικές και καρκινικές αλλοιώσεις του λάρυγγα. Επιπλέον, δεν ανέδειξε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της παρουσίας του ιού HPV με την κατανάλωση αλκοόλ, το

κάπνισμα, το είδος της εργασίας, τις συνοδές παθήσεις, την κληρονομικότητα, το αποτέλεσμα της ιστολογικής εξέτασης, τη διαφοροποίηση και τις διηθήσεις (λεμφαγγειακή, περιαγγειακή, περινευρική). Επιπρόσθετα, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της υποτροπής, της εμφάνισης μεταστατικής νόσου και της παρουσίας δεύτερου πρωτοπαθούς όγκου με τις παραμέτρους που αναφέρθηκαν προηγουμένως.

Αντιθέτως, αναδείχθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της παρουσίας του ιού HPV με την ηλικία των ασθενών και το δείκτη μάζας σώματος (BMI) των ασθενών. Αναλυτικότερα, οι ασθενείς με HPV θετικό αποτέλεσμα είναι κατά μέσο όρο χαμηλότερης ηλικίας από τους ασθενείς που εμφάνισαν HPV αρνητικό αποτέλεσμα ($p=0,014$). Επιπλέον, η ανάλυση ανέδειξε ότι οι ασθενείς με αρνητικά HPV αποτελέσματα έχουν κατά μέσο όρο χαμηλότερο BMI, από τους ασθενείς που είχαν θετικό HPV αποτέλεσμα ($p=0,039$). Επίσης αναδεικνύεται στην παρούσα μελέτη ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της υποτροπής και του καπνίσματος ($p=0,032$) εύρημα που ενοχοποιεί το κάπνισμα ως ισχυρό παράγοντα κινδύνου για το LSCC. Ακόμη πιθανή φαίνεται η συσχέτιση της μη συνοσυρότητας με την απουσία υποτροπής (local recurrence) ($p=0,046$), της κληρονομικότητας με την υποτροπή της νόσου ($p=0,046$) και της περιαγγειακής διήθησης με την εμφάνιση υποτροπής ($p=0,046$), αν και ο αριθμός των δειγμάτων σε αυτές τις περιπτώσεις είναι πολύ μικρός για την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων.

Καινούριες μελέτες με πολύ περισσότερα δείγματα ασθενών είναι απαραίτητες, έτσι ώστε να επιβεβαιωθούν ή να καταρριφθούν τα ευρήματά μας.

Λέξεις – Κλειδιά: Καρκίνος λάρυγγα, Ιός HPV, Τεχνολογία Μικροσυστοιχιών, Υπότυποι HPV

Study title: Colleration of HPV infection in patients with papillary, precancerous and cancerous laryngeal lesions.

By: Aikaterini D. Lianou

10. SUMMARY

Laryngeal cancer is the second most common head and neck cancer and it is more common in men than in women. Squamous cell carcinoma is the predominant histological type (>95%) and can occur directly in normal epithelium or on the ground of various precancerous lesions, which arise when the normal laryngeal epithelium is exposed to various toxic agents for a long time. These are leukoplakia, hyperplasia or hyperplasia without atypia, metaplasia or hyperplasia with atypia and dysplasia. When the malignancy is severe throughout the thickness of the epithelium without rupture of the basement membrane it is called in situ carcinoma, which if not removed in time, develops into invasive carcinoma. Benign neoplasms of the larynx include papillomas which can appear anywhere in the respiratory system and are characterized by frequent recurrence.

The purpose of this study was to identify the possible colleration of human papillomavirus (HPV) with papillary, precancerous and cancerous lesions of the larynx in patients in Northwestern Greece who underwent surgery for these pathologies in our clinic. The study included 55 patients, 53 men and 2 women. HPV-DNA microarrays technique was used for molecular detection and standardization of HPV and its subtypes. There was a colleration of results with age, sex, location, dietary habits, profession, smoking, alcohol, body mass index (BMI), etc.

Statistical analysis of the data revealed a weak association of HPV with pre-cancerous and cancerous lesions of the larynx. In addition, it did not show a statistically significant association between the presence of HPV with alcohol consumption, smoking, type of work, concomitant diseases, heredity, histological examination result, differentiation and invasions (lymphatic, peripheral, perivascular). In addition, no statistically significant association was observed between local recurrence, metastatic disease and the presence of a second primary tumor with the parameters previously reported.

In contrast, there was a statistically significant association between the presence of HPV and the age of patients and body mass index (BMI). More specifically, patients with HPV

positive result were on average younger than patients who had HPV negative result ($p = 0.014$). In addition, the analysis showed that patients with negative HPV results had on average lower BMI than patients who had a positive HPV result ($p = 0.039$). It is also highlighted in the present study that there is a statistically significant correlation between recurrence and smoking ($p = 0.032$), a finding that implicates smoking as a strong risk factor for LSCC. The association between no comorbidity with absence of local recurrence ($p = 0.046$), heredity with local recurrence of disease ($p = 0.046$) and perivascular invasion with recurrence ($p = 0.046$) were also possible, although the number of samples in these cases is too small to draw safe conclusions.

However, more new studies with much more patient samples are needed to confirm or disprove our findings.

Key words: Laryngeal cancer, HPV virus, Microarrays technology, HPV subtypes

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Anniko M, Bernal-Sprekelsen M, Bonkowsky V, Bradley P, Lurato S. Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery. Arnold W, Ganzer U, Series Editors. Springer; 2010.
2. Available at <https://embryology4genius.weebly.com/development-of-larynx.html>
3. Κουρελής Κ. Μορφολογική μελέτη του μοριακού δικτύου των μεταγραφικών παραγόντων PPAR γ , RXR α , NF-K β , του υποδοχέα EGFR και του ενζύμου COX-2, κατά την καρκινογένεση, στο λαρυγγικό επιθήλιο και το μικροπεριβάλλον του. Μεταπτυχιακή Διατριβή. Πανεπιστήμιο Πατρών; 2006.
4. Frazer JE. Development of the larynx. J Anat. 1910; 44: 156-191.
5. Merati AL, Bielamowicz SA. Textbook of Laryngology. San Diego: Plural Publishing Inc; 2006.
6. Gray H. Anatomy of the Human Body. 1918.
7. Δανηλίδης Ι, Ασημακόπουλος Δ. Ωτορινολαρυγγολογία. Παθολογία – Χειρουργική Κεφαλής και Τραχήλου. Εκδόσεις University Studio Press; 2006.
8. Standring S. The Anatomical Basis of Clinical Practice. Gray's Anatomy. 40th. Edition. Philadelphia: Churchill Livingstone. Elsevier; 2008.
9. Ross MH, Pawlina W. Histology: A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology. 6th. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Williams; 2010.
10. Lalwani AK. Current Diagnosis & Treatment Otolaryngology: Head and Neck Surgery. 3rd ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2011.
11. Flint PW, Haughey BH, Lund VJ, Niparko JK, Richardson MA, Robbins KT, et al. Cummings Otolaryngology – Head and Neck Surgery. 5th. Philadelphia: Mosby; 2010.
12. Σισμάνης Α. Ωτορινολαρυγγολογία Χειρουργική κεφαλής και τραχήλου. Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου; 2011.
13. El-Naggar A, Chan J, Grandis J, et al. Tumours of the Hypopharynx, Larynx, Trachea and Parapharyngeal Space. World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours. Lyon: International Agency for Research on Cancer. 2017; p. 93–95.

14. Carifi M, Napolitano D, Morandi M, et al. Recurrent respiratory papillomatosis: current and future perspectives. *Therapeutics and clinical risk management*. 2015;11: 731–8.
15. Larson D, Derkay C. Epidemiology of recurrent respiratory papillomatosis. *APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*. 2010; 118 (6–7): 450–454.
16. Barnes, Leon. *Pathology and genetics of head and neck tumours*. IARC Press Lyon; 2005. p. 144–145.
17. Fortes HR, Von Ranke FM, Escuissato DL, et al. Recurrent respiratory papillomatosis: A state-of-the-art review. *Respiratory medicine*. 2017;126: 116–121.
18. Armstrong LR, Derkay CS, Reeves WC. Initial results from the national registry for juvenile-onset recurrent respiratory papillomatosis. RRP Task Force. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1999; 125(7):743-8.
19. Mehta A, Jain P, Gildea T. *Diseases of the central airways: a clinical guide*. Springer; 2016. p. 215–218.
20. Venkatesan N, Pine H, Underbrink M. Recurrent respiratory papillomatosis. *Otolaryngologic Clinics of North America*. 2012; 45 (3): 671–694.
21. <https://www.nidcd.nih.gov/health/recurrent-respiratory-papillomatosis>
22. Grimes J, Fagerberg K,; Smith L. Laryngeal Papillomatosis. *Sexually Transmitted Disease: An Encyclopedia of Diseases, Prevention, Treatment, and Issues*. Greenwood; 2014. p. 401–403.
23. Colton R, Casper J, Leonard R. (2011). *Understanding Voice Problems: A Physiological Perspective for Diagnosis and Treatment*(4th ed.). Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 171–172, 224–228.
24. Wenig B. Tumors of the Upper Respiratory Tract. In: Fletcher, MD, Christopher D. M. *Diagnostic Histopathology of Tumors*. Fletcher, Christopher D. M., (4th ed.). Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier; 2013. p. 92–98.
25. Grant D, Mirchall M, Bradley P. Surgery for Benign Tumors of the Adult Larynx. In: Remacle M, Eckel E. *Surgery of Larynx and Trachea*. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2010; p. 91–112.

26. Alfano DM. Human papillomavirus laryngeal tracheal papillomatosis. *Journal of pediatric health care: official publication of National Association of Pediatric Nurse Associates & Practitioners*. 2014; 28 (5): 451–5.
27. Avelino M, Zaiden T, Gomes O. Surgical treatment and adjuvant therapies of recurrent respiratory papillomatosis. *Brazilian Journal of Otorhinolaryngology*. 2013; 79 (5): 636–642.
28. Drejet H, Stacey M, Skopelja P, et al. A Systematic Review. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery*. 2017; 156 (3): 435–441.
29. SEER Stat Fact Sheets: Laryngeal Cancer. Available at <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/laryn.html>
30. Marchiano E, Patel DM, Patel TD, et al. Subglottic Squamous Cell Carcinoma: A Population-Based Study of 889 Cases. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2016; 154(2):315-21.
31. Zhao R, Chen K, Cao J, et al. A correlation analysis between HDAC1 over-expression and clinical features of laryngeal squamous cell carcinoma. *Acta Otolaryngol*. 2016;136(2):172-6.
32. Rosai J. *Ackerman’s Surgical Pathology*. 8th Ed. Mosby; 1996. p. 314-331.
33. Cotran R. S, Kumar V, Robbins S. L. *Robbins Pathologic Basis of Disease*. 5th Ed. W.B. Saunders; 1994. p 35-50, 241-303, 744-746.
34. Markou K, Christoforidou A, Karasmanis I, et al. Laryngeal cancer: epidemiological data from Northern Greece and review of the literature. *Hippokratia*. 2013; 17(4): 313–318.
35. Scott-Brown. *Otolaryngology*. 6th Ed. Butterworth-Heinemann; 1997. Vol. 1 Ch. 12, Vol. 5 Ch. 11.
36. Ballenger J. J. *Diseases of the nose, throat, ear, head, and neck*. 14th Ed. Lea & Febiger; 1991. p. 478-496, 682-739.
37. Edge S, Byrd DR, Compton CC, et al. *American Joint Committee on Cancer - Head and Neck cancer staging 2007*. 7th. Philadelphia: Springer; 2010.

38. Lehman W, et al. Cancer of the endolarynx, epilarynx and hypopharynx in SouthWestern Europe: assessment of tumoral origin and risk factors. *Adv Otorhinolayngol.* 1991; 46: 145-156
39. Ahmed J, Ibrahim ASG, M Freedman L, et al. Oncologic outcomes of KTP laser surgery versus radiation for T1 glottic carcinoma. *Laryngoscope.* 2018; 128(5)
40. Laccourreye O, Ishoo E, de Mones E, et al. Supracricoid hemilaryngopharyngectomy in patients with invasive squamous cell carcinoma of the pyriform sinus. Part I: Technique, complications, and long-term functional outcome. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2005; 114(1 Pt 1):25-34.
41. The Department of Veterans Affairs Laryngeal Cancer Study Group, Wolf GT, Fisher SG, et al. Induction chemotherapy plus radiation compared with surgery plus radiation in patients with advanced laryngeal cancer. *N Engl J Med.* 1991; 324(24):1685-90.
42. NCCN Practice Guidelines in Oncology - v.2.2013 - Head and Neck Cancers. National Comprehensive Cancer Network. Available at http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/PDF/head-and-neck.pdf.
43. Hoffman HT, Porter K, Karnell LH, et al. Laryngeal cancer in the United States: changes in demographics, patterns of care, and survival. *Laryngoscope.* 2006; 116(9 Pt 2 Suppl 111):1-13.
44. De Santis M, Tripodi D. The laryngectomized patient as a psychologically maladjusted person. *Valsalva.* 1968; 44(3):138-45.
45. Angouridakis N, Goudakos J, Karayannopoulou G, et al. Primary neuroendocrine neoplasms of the larynx. A series of 4 cases reported and a review of the literature. *Head Neck.* 2013 Jun;35(6):E187-93.
46. Bzhalava D, Guan P, Franceschi S, et al. A systematic review of the prevalence of mucosal and cutaneous human papillomavirus types. *Virology.* 2013; 445 (1–2): 224–31
47. What is HPV? Available at <https://www.cdc.gov/hpv/parents/whatishpv.html>
48. Becker TM, Stone KM, Alexander ER. Genital human papillomavirus infection. A growing concern. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1987; 14(2):389-96.

49. Winer RL, Lee SK, Hughes JP, et al. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol.* 2003; 157(3):218-26.
50. Chuang TY. Condylomata acuminata (genital warts). An epidemiologic view. *J Am Acad Dermatol.* 1987; 16(2 Pt 1):376-84.
51. Chuang TY, Perry HO, Kurland LT, et al. Condyloma acuminatum in Rochester, Minn, 1950-1978. II. Anaplasias and unfavorable outcomes. *Arch Dermatol.* 1984; 120(4):476-83.
52. Nebesio CL, Mirowski GW, Chuang TY. Human papillomavirus: clinical significance and malignant potential. *Int J Dermatol.* 2001; 40(6):373-9.
53. Insinga RP, Dasbach EJ, Elbasha EH. Epidemiologic natural history and clinical management of Human Papillomavirus (HPV) Disease: a critical and systematic review of the literature in the development of an HPV dynamic transmission model. *BMC Infect Dis.* 2009; 9:119.
54. Zur Hausen H. Papilloma viruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cnacer.* 2002; 2:342-350
55. Braaten KP, Laufer MR. Human Papillomavirus (HPV), HPV – Related Disease, and the HPV Vaccine. *Rev Obstet Gynecol.* 2008; 1(1):2-10
56. Available at https://www.labce.com/spg326556_hpv_genome_and_proteins.aspx
57. Rhea WG Jr, Bourgeois BM, Sewell DR. Condyloma acuminata: a fatal disease?. *Am Surg.* 1998; 64(11):1082-7.
58. Human Papillomavirus (HPV). Available at <https://emedicine.medscape.com/article/219110-overview#a3>
59. Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, et al. Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine.* 2006; 24 (3): S1–S10.
60. Stoler M.H. Human papillomaviruses and cervical neoplasia: A model for carcinogenesis. *Int J Gynecol Pathol.* 2000; 19:16-28.
61. Lee LA, Cheng AJ, Fang TJ, et al. High incidence of malignant transformation of laryngeal papilloma in Taiwan. *Laryngoscope.* 2008; 118(1):50-5.

62. Bernard HU, Burk RD, Chen Z, et al. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology*. 2010; 25. 401(1):70-9.
63. Palefsky J, Holly E, Ralston M, et al. Prevalence and Risk Factors for Human Papillomavirus Infection of the Anal Canal in Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Positive and HIV-Negative Homosexual Men. Departments of Laboratory Medicine, Stomatology, and Epidemiology Biostatistics, University of California, San Francisco. *The Journal of Infectious Diseases* Oxford University Press; 1988.
64. Stein AP, Saha S, Kraninger JL, et al. Prevalence of Human Papillomavirus in Oropharyngeal Cancer: A Systematic Review. *Cancer J*. 2015 21(3):138-46.
65. Torrente MC, Rodrigo JP, Haigentz M Jr, et al. Human papillomavirus infections in laryngeal cancer. *Head Neck*. 2011; 33(4):581-6.
66. Weinstock H, Berman S, Cates W Jr. Sexually transmitted diseases among American youth: incidence and prevalence estimates, 2000. *Perspect Sex Reprod Health*. 2004; 36(1):6-10.
67. Hariri S, Unger ER, Sternberg M, et al. Prevalence of genital human papillomavirus among females in the United States, the National Health And Nutrition Examination Survey, 2003-2006. *J Infect Dis*. 2011; 15. 204(4):566-73.
68. Chuang TY, Perry HO, Kurland LT, et al. Condyloma acuminatum in Rochester, Minn., 1950-1978. I. Epidemiology and clinical features. *Arch Dermatol*. 1984; 120(4):469-75.
69. Kliwer EV, Demers AA, Elliott L, et al. Twenty-year trends in the incidence and prevalence of diagnosed anogenital warts in Canada. *Sex Transm Dis*. 2009; 36(6):380-6.
70. Hoy T, Singhal PK, Willey VJ, et al. Assessing incidence and economic burden of genital warts with data from a US commercially insured population. *Curr Med Res Opin*. 2009; 25(10):2343-51.
71. Koutsky LA, Galloway DA, Holmes KK. Epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Epidemiol Rev*. 1988; 10:122-63.

72. Nuovo GJ. Detection of human papillomavirus DNA in the lower genital tract. *Infect Urol.* 1994; 87-93.
73. Beutner KR, Reitano MV, Richwald GA, et al. External genital warts: report of the American Medical Association Consensus Conference. AMA Expert Panel on External Genital Warts. *Clin Infect Dis.* 1998; 27(4):796-806.
74. Fleischer AB Jr, Parrish CA, Glenn R, et al. Condylomata acuminata (genital warts): patient demographics and treating physicians. *Sex Transm Dis.* 2001; 28(11):643-7.
75. Cates W Jr. Estimates of the incidence and prevalence of sexually transmitted diseases in the United States. American Social Health Association Panel. *Sex Transm Dis.* 1999; 26(4 Suppl):S2-7.
76. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin. Clinical Management Guidelines for Obstetrician-Gynecologists. Number 61, April 2005. Human papillomavirus. *Obstet Gynecol.* 2005; 105(4):905-18.
77. Peng TC, Searle CP 3rd, Shah KV, et al. Prevalence of human papillomavirus infections in term pregnancy. *Am J Perinatol.* 1990; 7(2):189-92
78. Rando RF, Lindheim S, Hasty L, et al. Increased frequency of detection of human papillomavirus deoxyribonucleic acid in exfoliated cervical cells during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1989; 161(1):50-5.
79. Schneider A, Hotz M, Gissmann L. Increased prevalence of human papillomaviruses in the lower genital tract of pregnant women. *Int J Cancer.* 1987; 15. 40(2):198-201.
80. Shah K, Kashima H, Polk BF, et al. Rarity of cesarean delivery in cases of juvenile-onset respiratory papillomatosis. *Obstet Gynecol.* 1986; 68(6):795-9.
81. Bosch FX, Manos MM, Munoz N, et al. 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.
82. Parkin DM, Bray F. Chapter 2: The burden of HPV-related cancers. *Vaccine.* 2006; 24 Suppl 3:S3/11-25.
83. Syrjanen K, Syrjanen S. Epidemiology of human papilloma virus infections and genital neoplasia. *Scand J Infect Dis Suppl.* 1990; 69:7-17.

84. Pham TH, Nguyen TH, Herrero R, et al. Human papillomavirus infection among women in South and North Vietnam. *Int J Cancer*. 2003; 104(2):213-20.
85. Kjaer SK, Svare EI, Worm AM, et al. Human papillomavirus infection in Danish female sex workers. Decreasing prevalence with age despite continuously high sexual activity. *Sex Transm Dis*. 2000; 27(8):438-45.
86. Hippelainen M, Syrjanen S, Hippelainen M, et al. Prevalence and risk factors of genital human papillomavirus (HPV) infections in healthy males: a study on Finnish conscripts. *Sex Transm Dis*. 1993; 20(6):321-8.
87. Sankaranarayanan R, Nene BM, Shastri SS, et al. HPV screening for cervical cancer in rural India. *N Engl J Med*. 2009; 360(14):1385-94.
88. Schiffman M, Wacholder S. From India to the world--a better way to prevent cervical cancer. *N Engl J Med*. 2009; 360(14):1453-5.
89. Bruni L, Diaz M, Castellsague X, et al. Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings. *J Infect Dis*. 2010; 202(12):1789-99.
90. Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States. *JAMA*. 2007; 297(8):813-9.
91. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, et al. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med*. 1998; 338(7):423-8.
92. Burk RD, Ho GY, Beardsley L, et al. Sexual behavior and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. *J Infect Dis*. 1996; 174(4):679-89.
93. Figueroa JP, Ward E, Luthi TE, et al. Prevalence of human papillomavirus among STD clinic attenders in Jamaica: association of younger age and increased sexual activity. *Sex Transm Dis*. 1995; 22(2):114-8.
94. Dinh TH, Sternberg M, Dunne EF, et al. Genital warts among 18- to 59-year-olds in the United States, national health and nutrition examination survey, 1999--2004. *Sex Transm Dis*. 2008; 35(4):357-60.

95. Intensity modulated radiotherapy (IMRT). Available at <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/cancer-in-general/treatment/radiotherapy/external/types/intensity-modulated-radiotherapy-imrt>.
96. 9 Types of Human Papillomavirus (HPV) – Merck Vaccines. Available at <https://www.merckvaccines.com/Products/Gardasil9/hpv-types>.
97. Arima Y, Winer RL, Feng Q, et al. Development of genital warts after incident detection of human papillomavirus infection in young men. *J Infect Dis.* 2010;. 202(8):1181-4.
98. Sturgiss EA, Jin F, Martin SJ, et al. Prevalence of other sexually transmissible infections in patients with newly diagnosed anogenital warts in a sexual health clinic. *Sex Health.* 2010; 7(1):55-9.
99. Sinal SH, Woods CR. "Human papillomavirus infections of the genital and respiratory tracts in young children". *Seminars in Pediatric Infectious Diseases.* 2005; 16 (4): 306–16.
100. Huh WK, Ault KA, Chelmow D, et al. Use of primary high-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening: interim clinical guidance. *Obstet Gynecol.* 2015; 125(2):330-7.
101. Saslow D, Solomon D, Lawson HW, et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology screening guidelines for the prevention and early detection of cervical cancer. *CA Cancer J Clin.* 2012; 62(3):147-72.
102. Lee JK, Kim MK, Song SH, et al. Comparison of human papillomavirus detection and typing by hybrid capture 2, linear array, DNA chip, and cycle sequencing in cervical swab samples. *Int J Gynecol Cancer.* 2009; 19(2):266-72.
103. Nelson R. FDA OKs HPV DNA Test for Primary Cervical Cancer Screening. *Medscape Medical News.* 2014.
104. Sawaya GF, Kulasingam S, Denberg TD, et al. Clinical Guidelines Committee of American College of Physicians. Cervical Cancer Screening in Average-Risk Women: Best Practice Advice From the Clinical Guidelines Committee of the American College of Physicians. *Annals of Internal Medicine.* 2015; 162 (12): 851–9.

105. Beutner KR, Wiley DJ, Douglas JM, et al. Genital warts and their treatment. *Clin Infect Dis.* 1999; Suppl 1:S37-56.
106. Clart Human papillomavirus 2, Genotyping of human papillomavirus via genomic identification for in vitro diagnosis. Available at <http://genomica.es/en/documents/CLARTHPV2V10Feb2013English>
107. Onerci Celebi O, Sener E, Hosal S, et al. Human papillomavirus infection in patients with laryngeal carcinoma. *BMC Cancer.* 2018;18(1):1005.
108. Xu Y, Liu S, Yi H. et al. Human papillomavirus infection in 674 Chinese patients with laryngeal squamous cell carcinoma. *PLoS One.* 2014; 9:e115914.
109. Herrero R, Castelselsague X, Pawlita M, et al. Human papillomavirus and oral cancer: the international agency for research on cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst.* 2003; 95 (23):1772–1778.
110. Gillison M, D’Souza G, Westra W, et al. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst.* 2008; 100:407–420.
111. Smith EM, Hoffman HT, Summersgill KS, et al. Human papillomavirus and risk of oral cancer. *Laryngoscope.* 1998; 108:1098–1103.
112. Gillison ML, Koch WM, Capone RB, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92:709–720.
113. Smith EM, Ritchie JM, Summersgill KF, et al. Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers. *Int J Cancer.* 2004; 108:766–772.
114. Smith EM, Rubenstein LM, Haugen TH, et al. Complex etiology underlies risk and survival in head and neck cancer human papillomavirus, tobacco, and alcohol: A case for multifactor disease. *J Oncol.* 2012; 2012:571862.
115. Heck JE, Berthiller J, Vaccarella S, et al. Sexual behaviours and the risk of head and neck cancers: A pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology (INHANCE) consortium. *Int J Epidemiol.* 2009; 39:166–181.

116. Nair S, Pillai MR. Human papillomavirus and disease mechanisms: Relevance to oral and cervical cancers. *Oral Dis.* 2005; 11:350–359.
117. Rubenstein LM, Smith EM, Pawlita M, et al. Human papillomavirus serologic follow-up response and relationship to survival in head and neck cancer: A case-comparison study. *Infect Agent Cancer.* 2011; 6:9.
118. Gillison ML. Human papillomavirus associated head and neck cancer is a distinct epidemiologic, clinical, and molecular entity. *Semin Oncol.* 2004; 31:744–754.
119. El-Mofty SK. Human papillomavirus (HPV) related carcinomas of the upper aerodigestive tract. *Head Neck Pathol.* 2007; 1:181–185.
120. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, et al. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: A systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005; 4:467–475.
121. Dayyani F, Etzel CJ, Liu M, et al. Meta-analysis of the impact of human papillomavirus (HPV) on cancer risk and overall survival in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC). *Head Neck Oncol.* 2010; 2:15.
122. Mehanna H, Beech T, Nicholson T, et al. Prevalence of human papillomavirus in oropharyngeal and nonoropharyngeal head and neck cancer--Systematic review and metaanalysis of trends by time and region. *Head Neck.* 2013; 35(5):747–755.
123. Abogunrin S, Di Tanna GL, Keeping S, et al. Prevalence of human papillomavirus in head and neck cancers in European populations: A meta-analysis. *BMC Cancer.* 2014; 14:968.
124. Ndiaye C, Mena M, Alemany L, et al. HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2014;15:1319–1331.
125. Mork J, Lie AK, Glattre E, et al. Human papillomavirus infection as a risk factor for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med.* 2001; 344:1125–1131.
126. Hansson BG, Rosenquist K, Antonsson A, et al. Strong association between infection with human papillomavirus and oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma: A population-based case-control study in southern Sweden. *Acta Otolaryngol.* 2005; 125:1337–1344.

127. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med*. 2007; 356:1944–1956.
128. Chaturvedi AK. Epidemiology and clinical aspects of HPV in head and neck cancers. *Head Neck Pathol*; 2012. 6:S16–S24.
129. Zhu Y, Xia X, Gross N, et al. Prognostic implications of human papillomavirus status and p16 expression in laryngeal squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2019.
130. Hughes RT, Beuerlein WJ, O'Neill SS, et al. Human papillomavirus-associated squamous cell carcinoma of the larynx or hypopharynx: Clinical outcomes and implications for laryngeal preservation. *Oral Oncol*. 2019; 98:20-27.
131. Li X, Gao L, Li H, et al. Human papillomavirus infection and laryngeal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis*. 2013; 207(3):479-88.
132. Yang D, Shi Y, Tang Y, et al. Effect of HPV Infection on the Occurrence and Development of Laryngeal Cancer: A Review. *J Cancer*. 2019; 10(19): 4455–4462.
133. Cui L, Qu C, Liu H. Association study of cell cycle proteins and human papillomavirus in laryngeal cancer in Chinese population. *Clin Otolaryngol*. 2019; 44(3):323-329.
134. Dahm V, Haitel A, Kaider A, et al. Cancer stage and pack-years, but not p16 or HPV, are relevant for survival in hypopharyngeal and laryngeal squamous cell carcinomas. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2018;275(7):1837-1843.
135. Romanitan M, Nasman A, Ramqvist T, et al. Human papillomavirus frequency in oral and oropharyngeal cancer in Greece. *Anticancer Res*. 2008; 28:2077–2080.
136. Adamopoulou M, Vairaktaris E, Nkenke E, et al. Prevalence of human papillomavirus in saliva and cervix of sexually active women. *Gynecol Oncol*. 2013; 129:395–400.
137. Blioumi E, Chatzidimitriou D, Pazartzi Ch, et al. 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; 50:840–847.

138. Tsimplaki E, Argyri E, Xesfyngi D, et al. Prevalence and expression of human papillomavirus in 53 patients with oral tongue squamous cell carcinoma. *Anticancer Res.* 2014; 34:1021–1025.
139. Argyris PP, Kademani D, Pambuccian SE, et al. Comparison between p16 INK4A immunohistochemistry and human papillomavirus polymerase chain reaction assay in oral papillary squamous cell carcinoma. *J Oral Maxillofac Surg.* 2013; 71:1676–1682.
140. Sourvinos G, Rizos E, Spandidos DA. P53 Codon 72 polymorphism is linked to the development and not the progression of benign and malignant laryngeal tumors. *Oral Oncol.* 2001; 37:572–578.
141. Vlachtsis K, Nikolaou A, Markou K, et al. Clinical and molecular prognostic factors in operable laryngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2005; 262:890–898.
142. Laskaris S, Sengas I, Maragoudakis P, et al. Prevalence of human papillomavirus infection in Greek patients with squamous cell carcinoma of the larynx. *Anticancer Res.* 2014; 34:5749–5753.
143. Tsimplaki E, Argyri E, Sakellaridis A, et al. Oropharyngeal and Laryngeal But Not Oral Cancers Are Strongly Associated With High-Risk Human Papillomavirus in 172 Greek Patients. *Journal of Medical Virology.* 2017; 89:170–176.
144. Pintos J, Black MJ, Sadeghi N, et al. Human papillomavirus infection and oral cancer: A case-control study in Montreal, Canada. *Oral Oncol.* 2008; 44:242–250.
145. Garcia-Milian R, Hernandez H, Panade L, et al. Detection and typing of human papillomavirus DNA in benign and malignant tumors of laryngeal epithelium. *Acta Otolaryngol.* 1998; 118:754–758.
146. Ribeiro KB, Levi JE, Pawlita M, et al. Low human papillomavirus prevalence in head and neck cancer: Results from two large case-control studies in high-incidence regions. *Int J Epidemiol.* 2011; 40:489–502.
147. Smith EM, Summersgill KF, Allen J, et al. Human papillomavirus and risk of laryngeal cancer. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2000; 109:1069–1076.
148. Mork J, Lie AK, Glattre E, et al. Human papillomavirus infection as a risk factor for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med.* 2001; 344:1125–1131.

149. Furniss CS, McClean MD, Smith JF. Human papillomavirus 16 and head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*. 2007; 120:2386–2392.
150. Hobbs CG, Sterne JA, Bailey M, et al. Human papillomavirus and head and neck cancer: A systematic review and meta-analysis. *Clin Otolaryngol*. 2006; 31:259–266.
151. Gillison ML, Alemany L, Snijders P, et al. HPV and diseases of the upper airway: Head and neck cancer and respiratory papillomatosis. *Vaccine*. 2012; 30:F34–F54.
152. Ernster JA, Sciotto CG, O'Brien MM, et al. Rising incidence of oropharyngeal cancer and the role of oncogenic human papilloma virus. *Laryngoscope*. 2007; 117:2115–2128.
153. Rees L, Birchall M, Bailey M, et al. A systematic review of case-control studies of human papillomavirus infection in laryngeal squamous cell carcinoma. *Clin Otolaryngol Allied Sci*. 2004; 29:301–306.
154. Torrente MC, Ojeda JM. 2007. Exploring the relation between human papilloma virus and larynx cancer. *Acta Otolaryngol*. 2007; 127:900–906.
155. Lee SY, Cho NH, Choi EC, et al. Is human papillomavirus a causative factor of glottic cancer? *J Voice*. 2011; 25:770–774.
156. Berthiller J, Straif K, Agudo A, et al. Low frequency of cigarette smoking and the risk of head and neck cancer in the INHANCE consortium pooled analysis. *Int J Epidemiol*. 2016; 45(3):835-45
157. Lajer CB, von Buchwald C. The role of human papillomavirus in head and neck cancer. *APMIS* 2010; 118:510–519.
158. Kobayashi, Hisamatsu, Suzui, et al. A review of HPV – Related Head and Neck Cancer. *J Clin Med*. 2018; 7(9):241.
159. Lianou AD, Ragos V, Fotiades PP, et al. Molecular aspects in HPV-dependent laryngeal and oropharyngeal carcinoma. *J BUON*. 2018;23(1):19-22.
160. Goon PK, Stanley MA, Ebmeyer J, et al. HPV & head and neck cancer: a descriptive update. *Head Neck Oncol*. 2009;1:36.
161. Hernandez B, Goodman M, Lynch C, et al. Human Papillomavirus Prevalence in Invasive Laryngeal Cancer in the United States. *PLoS One*. 2014; 9(12).

162. Baumann JL, Cohen S, Evjen AN, et al. Human papillomavirus in early laryngeal carcinoma. *Laryngoscope*. 2009;119(8):1531-7.
163. Nikolov G, Valkov A, Karcheva M, Popovska S, Karaivanov M, Duhlenki B. Carcinoma of the larynx and human papilloma virus infection. *Journal of IMAB*. 2016; vol. 22, issue 1.
164. <https://www.cancer.net>.>Obesity,Weight and Cancer Risk.
165. de Sanjose S, Diaz M, Castellsague X, et al. Worldwide prevalence and genotype distribution of cervical human papillomavirus DNA in women with normal cytology: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007; 7: 453-459.
166. Cui L, Qu C, Liu H. Human papillomavirus infection and its biomarkers' expressions in laryngeal basaloid squamous cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2018;11(11):5379-5386.
167. Syrjanen K, Syrjanen S, Pyrhonen S. Human papilloma virus (HPV) antigens in lesions of laryngeal squamous cell carcinomas. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*. 1982; 44: 323-34.
168. Ασημακόπουλος Δ. Σύγχρονη Ωτορινολαρυγγολογία Γηριατρικής, Εκδόσεις Ροτόντα, Θεσσαλονίκη, 2016

