

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
Δ' ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ Π.Γ.Ν.Α "ΑΤΤΙΚΟΝ"  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: Ν. ΑΡΚΑΔΟΠΟΥΛΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Συσχέτιση του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων με  
επιδημιολογικούς κλινικομορφολογικούς και  
μοριακούς παράγοντες στον καρκίνο του μαστού**

Υποψήφια διδάκτωρ:

**ΑΝΔΡΙΑΝΑ ΚΟΥΛΟΥΡΑ**

ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ ΜΑΣΤΟΥ

Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή:

Νικολαΐδου Ηλέκτρα

Αρκαδόπουλος Νικόλαος

Σμυρνιώτης Βασίλειος

ΑΘΗΝΑ 2018

Επταμελής Επιτροπή

Copyright © Κουλούρα Ανδριάνα, 2018

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο πλαίσιο των απαιτήσεων του Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η έγκρισή της δεν υποδηλώνει απαραίτητως και την αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Βεβαιώνω ότι η παρούσα διδακτορική διατριβή είναι αποτέλεσμα δικής μου δουλειάς και δεν αποτελεί προϊόν αντιγραφής. Στις δημοσιευμένες ή μη δημοσιευμένες πηγές που αναφέρω έχω χρησιμοποιήσει εισαγωγικά όπου απαιτείται και έχω παραθέσει τις πηγές τους στο τμήμα της βιβλιογραφίας.

Υπογραφή: .....

## Πρόλογος

Στην Ελλάδα, όπως και στις περισσότερες χώρες του Δυτικού Κόσμου, ο καρκίνος του Μαστού είναι η πιο διαδεδομένη μορφή καρκίνου στις γυναίκες, γεγονός που με οδήγησε να θελήσω να ασχοληθώ με την περαιτέρω κατανόηση αυτής της τόσο συχνής νόσου.

Τα τελευταία χρόνια έρευνες προσπάθησαν και κατάφεραν να συσχετίσουν τους καρκίνους με παθογόνους οργανισμούς. Ως προς τον καρκίνο του μαστού ωστόσο, παρατηρείται έντονη διχογνωμία όσον αφορά στη συσχέτισή του με ιούς και συγκεκριμένα με τον ιό των ανθρωπίνων Θηλωμάτων. Αυτό μου έδωσε το έναυσμα να μελετήσω σε βάθος αυτή τη συσχέτιση, χρησιμοποιώντας τα πιο σύγχρονα εργαλεία εντοπισμού του ιού.

Αισθάνομαι την ανάγκη να εκφράσω από καρδιάς τις θερμότερες ευχαριστίες στην τριμελή επιτροπή μου, για την υπέροχη συνεργασία μας, που με τις γνώσεις και την εμπειρία τους συνέβαλαν καθοριστικά στην εκπόνηση της παρούσας διατριβής. Και συγκεκριμένα στην επιβλέπουσα αναπληρώτρια καθηγήτρια δερματολογίας κα. Ηλέκτρα Νικολαΐδου, για την ουσιαστική καθοδήγηση, επιστημονική υποστήριξη και αμέριστη συμπαράσταση της. Είμαι ευγνώμων στον Καθηγητή Χειρουργικής κ. Νικόλαο Αρκαδόπουλο, καταρχάς για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπο μου στην ανάθεση της παρούσας έρευνας, την καθοριστική συμβολή του στα διάφορα στάδια αυτής και τις καίριας σημασίας επισημάνσεις του στη δομή και συγγραφή της διατριβής. Το ίδιο θερμά θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Χειρουργικής κ. Βασίλειο Σμυρνιώτη, για το αμείωτο ενδιαφέρον και συμπαράσταση του καθόλη τη διάρκεια διεκπεραίωσης της μελέτης μου.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Ιωάννη Μισιτζή, διευθυντή του τμήματος μαστού του Αγίου Σάββα για την πολύτιμη βοήθεια του στη συλλογή των δειγμάτων, καθώς και όλου του προσωπικού της κλινικής μαστού και του χειρουργείου για τη συνεισφορά τους στη συλλογή και μεταφορά των δειγμάτων.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τη διευθύντρια του τμήματος Ιολογίας του αγίου Σάββα κα. Ευη Πανοτοπούλου, την κα. Ελένη Αργύρη και όλο το επιστημονικό

προσωπικό του τμήματος Ιολογίας του Αγίου Σάββα, για τη συνεισφορά τους στην εξέταση των δειγμάτων για τον εντοπισμό του ιού. Στον κ.Άγγελο Γκριζάπη, βιολόγο ανοσολόγο του Αγίου Σάββα, για την βοήθεια του στην ανάλυση του τεχνικού μέρους της έρευνας.

Επίσης θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην κα. Νίκη Αρνογιαννάκη, διευθύντρια Παθολογοανατομικού τμήματος του Αγίου Σάββα και τους συνεργάτες του τμήματος της για τη βοήθεια τους στην ιστολογική εξέταση και διαλογή των δειγμάτων.

Δε θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή μου Paolo Veronesi, καθηγητή Χειρουργικής και διευθυντή του τμήματος Μαστού στο Ευρωπαϊκό Ινστιτούτο Ογκολογίας του Μιλάνο, για τη δημιουργική κριτική της μελέτης και τις πολύτιμες συμβουλές που μου προσέφερε, όπως επίσης και στον επίκουρο καθηγητή χειρουργικής του Πανεπιστημίου του Μιλάνο, Giovanni Corso, για τα εποικοδομητικά του σχόλια.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω ολόψυχα την οικογένεια μου, για την αμέριστη αγάπη, την αφοσίωση, την ενθάρρυνση και την ανεκτίμητη συμπαράσταση τους σε κάθε μου βήμα.

*Στους γονείς μου,  
Γιώργο και Ελένη*

## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	9
Περίληψη στην Αγγλική Γλώσσα .....	10
Κατάλογος Πινάκων .....	11
Κατάλογος Σχημάτων ή Εικόνων και Γραφημάτων .....	12
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	15
<b>Εισαγωγή</b> .....	15
<b>Κεφάλαιο 1: Καρκίνος μαστού</b> .....	16
1.1 Επιδημιολογία.....	16
1.2 Συμπτώματα.....	19
1.3 Διάγνωση .....	20
1.4 Θεραπεία .....	22
1.5 Πρόγνωση .....	23
<b>Κεφάλαιο 2: Ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων</b> .....	24
2.1 Εισαγωγή.....	24
2.2 Ιστορική αναδρομή.....	25
2.3 Επιδημιολογία του HPV .....	27
2.4 Βιολογία του HPV.....	31
2.5 HPV και καρκινογένεση .....	32
2.6 Μετάδοση .....	33
2.7 Παράγοντες που προάγουν τη μετάδοση .....	35
2.8 Πρόληψη.....	38
2.9 Αντιμετώπιση .....	39
<b>Κεφάλαιο 3: Τεχνικές ανίχνευσης του HPV</b> .....	40
3.1 Φαινοτυπικές και μοριακές τεχνικές χωρίς ενίσχυση.....	40
3.2 Τεχνικές κυκλικής ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων .....	40
3.3 Τεχνικές υβριδοποίησης.....	41
3.3.1. Φθορίζων εντοπισμένος / επιτόπιος υβριδισμός .....	41
3.4 Μικροσυστοιχίες γονιδίων .....	42
3.4.1 Τυποποίηση HPV με Microarrays .....	43
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	44
<b>Κεφάλαιο 4: Σκοπός και στόχοι</b> .....	44
4.1 Σκοπός.....	44

4.2 Στόχος.....	44
<b>Κεφάλαιο 5: Υλικό και μέθοδος .....</b>	<b>45</b>
5.1 Κέντρα .....	45
5.2 Ασθενείς.....	45
5.3 Μέθοδος .....	45
5.4 Θέματα Ηθικής και Δεοντολογίας .....	47
5.5 Κριτήρια επιλογής - αποκλεισμού .....	47
5.6 Τεχνική επεξεργασίας .....	48
5.7 Φύλαξη και συντήρηση .....	52
5.8 Ερωτηματολόγιο .....	52
5.9 Στατιστική ανάλυση .....	53
<b>Κεφάλαιο 6: Αποτελέσματα .....</b>	<b>54</b>
6.1 Αποτελέσματα .....	54
<b>Κεφάλαιο 7: Συζήτηση .....</b>	<b>75</b>
7.1 Συζήτηση .....	75
7.2 Θεωρία HIT & RUN.....	81
7.3 Περιορισμοί της έρευνας.....	82
<b>Κεφάλαιο 8: Συμπεράσματα .....</b>	<b>83</b>
<b>Βιβλιογραφία .....</b>	<b>84</b>
<b>Παράρτημα: Ερωτηματολόγιο .....</b>	<b>97</b>



## Περίληψη

Ο καρκίνος του μαστού είναι ο συχνότερος καρκίνος στις γυναίκες. Τα τελευταία χρόνια, με την ανάπτυξη της μοριακής τεχνολογίας, όλο περισσότεροι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί έχουν κατανοηθεί και ταυτοποιηθεί, που σχετίζονται είτε με την εμφάνιση είτε με τα κλινικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά του καρκίνου του μαστού. Οι ιοί γενικά έχουν ενοχοποιηθεί για καρκινογένεση. Ο πιο μελετημένος ιός που αποδεδειγμένα είναι ογκογόνος είναι ο ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων. Τα τελευταία χρόνια έχουν δημοσιευθεί πολλές μελέτες που προσπάθησαν να συσχετίσουν τον ιό με τον καρκίνο του μαστού, όμως μέχρι σήμερα τα αποτελέσματα τους είναι αντικρουόμενα. Ο στόχος της παρούσας έρευνας είναι να μελετήσει την πιθανή συσχέτιση του HPV με τον καρκίνο του μαστού, δίνοντας έμφαση τόσο στη μέθοδο συλλογής όσο και στην τεχνική επεξεργασία του δείγματος, ώστε να περιοριστεί όσο το δυνατόν η πιθανότητα επιμόλυνσης και τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα. Στο πλαίσιο αυτό, η συλλογή του δείγματος έγινε από την ερευνήτρια στο αποστειρωμένο πεδίο του χειρουργείου και η επεξεργασία του υλικού για την ανίχνευση του HPV έγινε με τη χρήση των μικροσυστοιχιών (micro arrays), που μέχρι σήμερα θεωρούνται μια από τις πιο αξιόπιστες και ευαίσθητες τεχνικές ανίχνευσης του ιού. Από τον Απρίλιο του 2013 έως τον Ιούνιο του 2016 εντοπίστηκαν 201 ασθενείς που πληρούσαν τις προϋποθέσεις ένταξης στο πρωτόκολλο της έρευνας. Ο μέσος όρος ηλικίας ήταν τα 59,7 έτη. Παρά το γεγονός ότι χρησιμοποιήθηκε μια τεχνική υψηλής ευαισθησίας, δε βρέθηκε DNA από τον ιό HPV σε κανένα δείγμα από το μαστό ή το λεμφαδένα φρουρό. Ωστόσο η ανάλυσή έδειξε ότι σε ασθενείς με θετικό τραχηλικό δείγμα για HPV, υπάρχει αυξημένη πιθανότητα λοβιακού τύπου καρκίνου του μαστού με θετικούς προγεστερονικούς υποδοχείς καθώς επίσης και αυξημένη πιθανότητα να έχουν 3 με 4 θετικούς μασχαλιαίους λεμφαδένες. Σε αυτή τη μελέτη, ο συνδυασμός προσεκτικής συλλογής δειγμάτων και η χρήση τεχνικής υψηλής ευαισθησίας δεν αν έδειξε συσχέτιση μεταξύ του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV) και καρκίνου του μαστού. Παρ' όλα αυτά, ορισμένα χαρακτηριστικά των καρκίνων του μαστού ήταν διαφορετικά μεταξύ των ασθενών με παρουσία HPV DNA στα τραχηλικά τους δείγματα.

## Περίληψη στην Αγγλική Γλώσσα

Human papilloma virus (HPV) is a well-known causative factor that has been implicated in several types of epithelial cancers, mainly cervical. During the last decades more and more studies associate HPV with breast cancer. Despite the fact that the number of studies has increased over the last two decades, no firm conclusions have been reached. Many researchers develop theories about the possible mechanisms that HPV can infect breast tissue and their role in carcinogenesis or in breast cancer prognosis. But, so far, there are controversial reports regarding the role of HPV in breast cancer. The aim of this study was to detect the prevalence of HPV in breast cancer, normal adjacent tissue and axillary lymph nodes using a microarray technique, and to investigate not only the possible association between breast cancer and HPV infection, but also a possible synchronous breast and cervical infection. In the present prospective study, 201 breast cancer patients were included. During the operation, under sterile conditions, two samples were collected, one from the tumor and one from the healthy adjacent tissue. The samples were deposited in two containers with preservative liquid (ThinPrep®). In patients with positive sentinel nodes, one extra sample was collected from the lymph node. In addition, for each patient a cervical sample was collected in a liquid based cytology container. All the samples were analyzed for HPV DNA with microarray technique. From the data analysis no direct implication of HPV on breast cancer was found neither in cancer nor healthy tissue or lymph nodes. However, among patients with known HPV infection, the morphological and histological characteristics of breast cancer were significantly different compared to patients without HPV infection.

## Κατάλογος Πινάκων

- Πίνακας 1.1: Εκτιμώμενος αριθμός νέων περιστατικών καρκίνου του μαστού και θνησιμότητα για το 2017
- Πίνακας 1.2: Ιστολογικοί τύποι καρκίνου του μαστού
- Πίνακας 2.1: Ταξινόμηση των HPV ανάλογα με την δυνατότητα τους να προκαλούν καρκινογένεση
- Πίνακας 2.2: Τρόπος μετάδοσης των γεννητικών HPV. Πηγή : Μορτάκης 2007
- Πίνακας 5.1 :Δεδομένα που καταγράφονται για κάθε ασθενή
- Πίνακας 6.1: Δημογραφικά στοιχεία των συμμετεχουσών
- Πίνακας 6.2: Στοιχεία από το γυναικολογικό ιστορικό των συμμετεχουσών
- Πίνακας 6.3: Στοιχεία σχετικά με την HPV λοίμωξη των συμμετεχουσών
- Πίνακας 6.4: Θεραπεία για τον Ca μαστού των συμμετεχουσών
- Πίνακα 6.5: Κλινικά χαρακτηριστικά της παρούσας νόσου των συμμετεχουσών
- Πίνακας 6.6: Δημογραφικά στοιχεία των συμμετεχουσών, ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.
- Πίνακας 6.7: Γυναικολογικό ιστορικό των συμμετεχουσών ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.
- Πίνακας 6.8: Στοιχεία σχετικά με την HPV λοίμωξη των συμμετεχουσών, ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ
- Πίνακα 6.9: Θεραπεία για τον Ca μαστού των συμμετεχουσών, ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ
- Πίνακας 6.10: Κλινικά χαρακτηριστικά της παρούσας νόσου των συμμετεχουσών, ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ
- Πίνακα 6.11: Ποσοστό θετικών C-erb-B2 ανάλογα με το αν είχαν HPV ή φλεγμονή τραχήλου της μήτρας στο τελευταίου Τεστ ΠΑΠ

## Κατάλογος Σχημάτων ή Εικόνων και Γραφημάτων

- Εικόνα 1.1: Χάρτης με την επίπτωση του καρκίνου του μαστού στον κόσμο. Πηγή: GLOBOCAN 2018
- Γράφημα 1.2: Γραφική απεικόνιση της επίπτωσης (αριστερά) και της θνησιμότητας (δεξιά) των καρκίνων στην Ελλάδα. Πηγή: European cancer Observatory, 2018
- Γράφημα 1.3: Γραφική απεικόνιση της θνησιμότητας από καρκίνο του μαστού πριν και μετά από την έναρξη των προγραμμάτων διαλογής με ετήσια μαστογραφία στη Δανία. Πηγή: Jørgensen et al. 2018
- Γράφημα 1.4: Γραφική απεικόνιση της 5ετούς και 10ετούς επιβίωσης από καρκίνο του μαστού ανά στάδιο και ηλικία. Πηγή: SEER 2018
- Εικόνα 2.1: Ο ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων. Φωτογραφία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Πηγή: Laboratory of Tumor Virus Biology
- Εικόνα 2.2: Επιπολασμός του HPV ανά ηλικιακές ομάδες. Πηγή: Markowitz et al. 2016
- Εικόνα 2.3: Ο επιπολασμός οκτώ τύπων HPV ανάλογος με την προκαρκινική αλλοίωση. Πηγή: De Vuyst et al. 2009
- Εικόνα 2.4: Ο επιπολασμός οκτώ τύπων HPV ανάλογος με τον τύπο του καρκίνου. Πηγή: De Vuyst H et al. 2009
- Εικόνα 2.5: Ο μηχανισμός εισόδου του HPV στο κύτταρο. 1. Ο HPV δημιουργεί δεσμούς είτε με τον υποδοχέα HSPG, που βρίσκεται στον εξωκυττάριο χώρο ή στην κυτταρική μεμβράνη, είτε με τον υποδοχέα laminin-5. 2. Το παραπάνω σύμπλεγμα μέσω ενός δευτερογενή υποδοχέα ενώνεται στην κυτταρική μεμβράνη, 3. Ενεργοποιείται η διαδικασία της ενδοκυττάρωσης. Πηγή: Horvath et al, 2010
- Εικόνα 2.6 : Ο Μηχανισμός καρκινογένεσης στον τράχηλο από τον HPV. Πηγή: The Nobel Committee for Physiology or Medicine 2008. Illustration Annika Rohl
- Εικόνα 2.7: Ποσοστό Ανδρών και Γυναικών που ΔΕΝ είχαν ολοκληρωμένες σεξουαλικές επαφές. Πηγή: Stigum H., 2010

- Εικόνα 2.8: Σύνολο ερωτικών συντρόφων σε κορίτσια 13-18 ετών. Πηγή: Koutsky & Kiviat 1999
- Εικόνα 2.9: Σχηματική απεικόνιση των σεξουαλικών δικτύων (Sexual networks).
- Εικόνα 3.1: Σχηματική απεικόνιση της τεχνικής ανιχνεύσεις του DNA με μικροσυστοιχίες γονιδίων
- Εικόνα 5.1: Διαδικασία λήψης δείγματος
- Εικόνα 5.2: Boom Technology (πηγή: [www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com))
- Γράφημα 6.1: Φάση της έμμηνου ρύσης που βρίσκονται οι συμμετέχουσες
- Γράφημα 6.2: Στοιχεία σχετικά με την HPV λοίμωξη των συμμετεχουσών
- Γράφημα 6.3: Ο τύπος επέμβασης των συμμετεχουσών
- Γράφημα 6.4: Συμπληρωματική θεραπεία που πήραν οι συμμετέχουσες
- Γράφημα 6.5: Grade των συμμετεχουσών
- Γράφημα 6.6: Ποσοστό των συμμετεχουσών με αρνητικούς υποδοχείς σε C-erb-B2, οιστρογόνα, προγεστερόνη καθώς και Triple Negative
- Γράφημα 6.7: Το T και το N των συμμετεχουσών
- Γράφημα 6.8: Ποσοστά των συμμετεχουσών που κάπνιζαν ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ
- Γράφημα 6.9: Ποσοστά των συμμετεχουσών που εργάζονταν ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.
- Γράφημα 6.10: Ποσοστά των προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών συμμετεχουσών ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.
- Γράφημα 6.11: Ποσοστά των συμμετεχουσών που έπαιρναν αντισυλληπτικά ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ
- Γράφημα 6.12: Ποσοστά των συμμετεχουσών που είχαν κάνει κολποσκόπηση ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ
- Γράφημα 6.13: Ποσοστά των συμμετεχουσών με θετικούς προγεστερονικούς υποδοχείς ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ
- Γράφημα 6.14: Διάμεσες τιμές προγεστερονικών υποδοχέων ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ

- Γράφημα 6.15: Ποσοστό θετικών λεμφαδένων των συμμετεχουσών ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ
- Γράφημα 6.16: Ki67 ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ

# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## Εισαγωγή

---

Ο καρκίνος του μαστού δεν είναι μόνο ένα πρόβλημα υγείας που αφορά ένα άτομο αλλά ένα πρόβλημα με κοινωνικές διαστάσεις. Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί με μεγάλη διαφορά τον συχνότερο καρκίνο στις γυναίκες και υπολογίζεται ότι περίπου μια στις οκτώ γυναίκες θα νοσήσουν. Τα τελευταία χρόνια με την εξέλιξη της τεχνολογίας στον τομέα της διάγνωσης και της θεραπείας ο καρκίνος του μαστού είναι σχεδόν ιάσιμος στα αρχικά στάδια γεγονός που συνεπάγεται ότι οι επιζήσαντες από καρκίνο μαστού είναι ένας συνεχώς αυξανόμενος πληθυσμός.

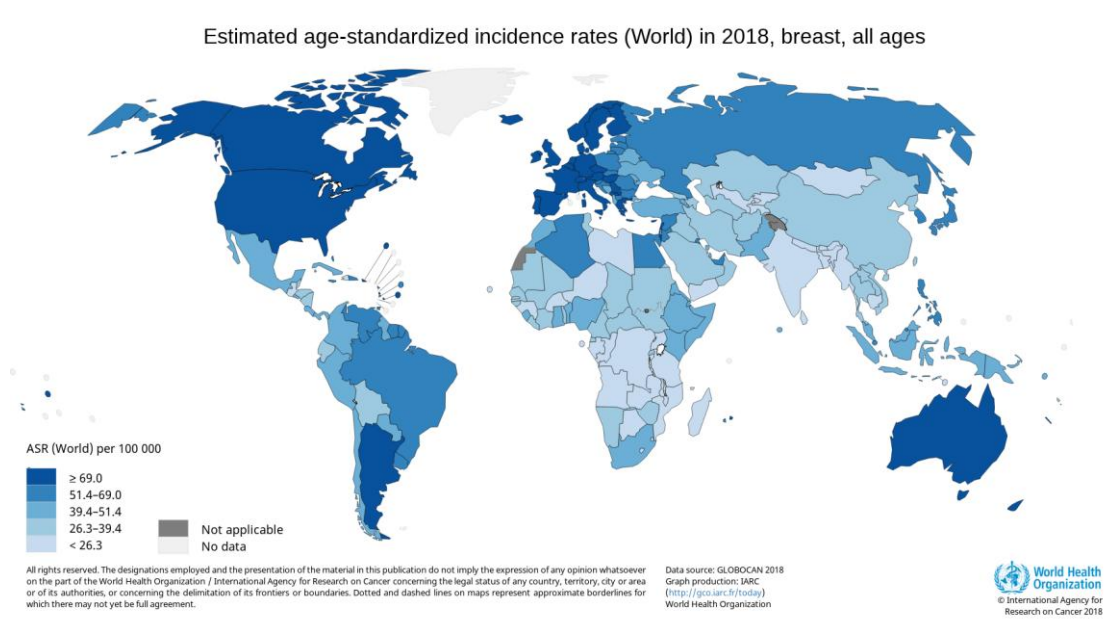
Η βελτίωση των τεχνικών ανίχνευσης του DNA άνοιξαν ένα νέο πεδίο στην έρευνα της μελέτης της βιολογικής συμπεριφοράς του καρκίνου του μαστού. Στα πλαίσια αυτών των μελετών, αναπτύχθηκε και μια θεωρία που ενοχοποιεί τους μικροοργανισμούς τόσο για την καρκινογένεση όσο και για την προαγωγή του καρκίνου. Η συσχέτιση των μικροοργανισμών με την καρκινογένεση και την προαγωγή του καρκίνου είναι τεκμηριωμένη γνώση στην ιατρική (evidence based).

Ο ιός που έχει μελετηθεί περισσότερο και έχει συσχετισθεί άμεσα και έμμεσα είναι ο ιός των ανθρώπινων κονδυλωμάτων (HPV). Ο HPV συσχετίζεται άμεσα με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, του πέους, του πρωκτού, του ρινοφάρυγγα και με άλλους επιθηλιακούς καρκίνους. Τα τελευταία χρόνια έχει δημοσιευθεί ένας μεγάλος αριθμός ερευνών στην παγκόσμια βιβλιογραφία, που εντοπίζουν το DNA του ιού στα καρκινικά κύτταρα του μαστού. Όμως η αδυναμία ανάπτυξης ικανοποιητικής θεωρίας για τον μηχανισμό προσβολής των κυττάρων του μαστού θέτει την κλινική σημασία των παραπάνω ευρημάτων υπό αμφισβήτηση. Επίσης ένας μεγάλος αριθμός ερευνών δεν εντοπίζει τον ιό γεγονός που επίσης αποδυναμώνει τα παραπάνω ευρήματα. Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι να εξετάσει την πιθανή σχέση του HPV με τα κλινικά μορφολογικά και μοριακά χαρακτηριστικά του καρκίνου του μαστού.

# Κεφάλαιο 1: καρκίνος μαστού

## 1.1 Επιδημιολογία

Ο καρκίνος του μαστού είναι ο συχνότερος καρκίνος στις γυναίκες σε όλο τον κόσμο, όσον αφορά στη συχνότητα εμφάνισης νέων περιστατικών στην πλειοψηφία των χωρών, με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας να ακολουθεί στις υπόλοιπες, [GLOBOCAN 2018]. Παγκοσμίως γύρω στα 2,1 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις καρκίνου του μαστού θα διαγνωσθούν με αναλογία 1 στα 4 περιστατικά καρκίνου. [GLOBOCAN 2018]. Υπολογίζεται ότι μια στις οκτώ γυναίκες κάποια στιγμή της ζωής τους θα εμφανίσει καρκίνο του μαστού και επίσης είναι η κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο σε γυναίκες από 35 έως 55,8 ετών [SEER 2014]. Στην Ευρώπη καταγράφονται , περίπου 362,000 χιλιάδες νέες περιπτώσεις κάθε χρόνο αλλά η επίπτωση και η θνητότητα φαίνεται να διαφέρουν μεταξύ των κρατών (εικόνα 1.1) [GLOBOCAN 2018].

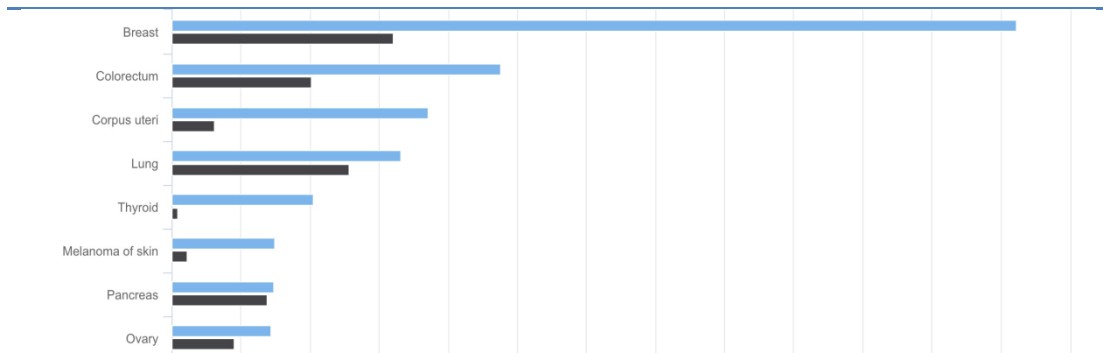


Εικόνα 1.1: Χάρτης με την επίπτωση του καρκίνου του μαστού στον κόσμο. Πηγή: GLOBOCAN 2018

Η Ελλάδα, σύμφωνα με τον παγκόσμιο οργανισμό υγείας, κατέχει μια από τις τελευταίες θέσεις στην Ευρώπη στην επίπτωση και θνητότητα του καρκίνου του



μαστού, κάθε χρόνο εμφανίζονται περίπου 4.500 νέα περιστατικά και αποτελεί το 24% των καρκίνων στις γυναίκες (γράφημα 1.2) [European cancer Observatory, 2018].



**Γράφημα 1.2:** Γραφική απεικόνιση της επίπτωσης (αριστερά) και της θνησιμότητας (δεξιά) των καρκίνων στην Ελλάδα. Πηγή: European cancer Observatory, 2018

Στην Ελλάδα υπολογίζεται ότι μια στις 12 γυναίκες θα εμφανίσουν καρκίνο του μαστού κάποια στιγμή στη ζωή τους [Αντσακλής 2011]. Σύμφωνα με στοιχεία από τον Organization for Economic Co-operation and Development, ο καρκίνος του μαστού κατέχει την πρώτη θέση ανάμεσα στις αιτίες θανάτου από καρκίνο με περίπου 1150 θανάτους ανά έτος [Organization for Economic Co-operation and Development, 2018]. Ωστόσο, από την ανασκόπηση της διεθνούς και της ελληνικής βιβλιογραφίας φαίνεται ότι και στο καρκίνο του μαστού τα στοιχεία μπορεί να είναι εν μέρει πλασματικά, λόγω σφαλμάτων ταξινόμησης και κυρίως λόγω της έλλειψης εθνικού αρχείου νεοπλασιών δεν υπάρχει ολοκληρωμένη καταγραφή των περιστατικών.

Παρόλο που πολύ συχνά ο καρκίνος του μαστού εμφανίζεται σε γυναίκες χωρίς κάποιο γνωστό παράγοντα κινδύνου, ισχυρή συσχέτιση, έχει βρεθεί με μεταβλητούς και μη μεταβλητούς παράγοντες. Η ηλικία είναι ένας βασικός παράγοντας κινδύνου, παγκοσμίως τα περισσότερα κρούσματα εντοπίζονται σε γυναίκες μεγαλύτερες από 60 ετών, αλλά καταγράφεται αύξηση της επίπτωσης καρκίνου το μαστού σε νεότερες γυναίκες [Haines et al. 2010, D'Aloisio 2017]. Παράλληλα παράγοντες αυξημένου κινδύνου αποτελούν η πρώιμη εμμηναρχή, η καθυστερημένη εμμηνόπαυση, η ηλικία της πρώτης τελειόμηνης κύησης, η χρήση αντισυλληπτικών ή ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης μετεμμηνοπαυσιακά, όπως επίσης οι

διατροφικές συνήθειες και άλλες ανθρωπομετρικές παράμετροι (βάρους ,ανάστημα, αυξημένος δείκτης μάζας σώματος).Αντιθέτως ο θηλασμός και η φυσική άσκηση αποτελούν προστατευτικούς παράγοντες.

Οι πρωτογενείς παράγοντες κινδύνου δεν είναι μεταβλητοί δεδομένου ότι οφείλονται σε παρατεταμένη ενδογενή ορμονική έκθεση, πάραυτα η πρόληψη μέσω της διάδοσης του θηλασμού για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα, της φυσικής άσκησης ή η υιοθέτηση σωστών διατροφικών συνηθειών θα ήταν ωφέλιμη ως προς την πρόληψη και προστασία των γυναικών [Brinton et al 2017, GLOBOCAN 2018 ]

Υπολογίζεται ότι 5-10% όλων των καρκίνων του μαστού, 5-20% καρκίνου του μαστού στον άνδρα και 15-20% των οικογενών καρκίνων μπορεί να αποδοθεί σε μεταλλάξεις υψηλής διεισδυτικότητας. Οι μεταλλάξεις αυτές είναι σπάνιες (λιγότερο από 1%) στο γενικό πληθυσμό αλλά μπορεί να εμφανιστεί συχνότερα σε γεωγραφικά απομονωμένες ομάδες ανθρώπων όπως οι Εβραίοι Ασkenaζι (Ανατολική Ευρώπη)[Tung 2016].

Αυτό το ποσοστό μεταβάλλεται με την ηλικία, με περίπου 1/3 των περιπτώσεων καρκίνου του μαστού σε ηλικίες μικρότερες των 30 να αποδίδονται σε κληρονομικούς παράγοντες.

Τα γονίδια BRCA1 και BRCA2 καθώς και μεταλλαγές υψηλής διεισδυτικότητας όπως αυτές των p53, CHEK2, PTEN/MMC1, είναι υπεύθυνα για μεγάλο ποσοστό οικογενούς καρκίνου του μαστού αλλά για μικρό ποσοστό του συνόλου των περιπτώσεων της νόσου. [Matloff & Brierley 2010, Xu 2017]. Ωστόσο αξίζει να σημειωθεί ότι οι σημαντικότεροι λόγοι, όσον αφορά στις διαφορές ως προς τη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού μεταξύ διαφορετικών εθνοτήτων, δεν αφορούν την κληρονομικότητα. Έρευνες μεταναστών , στις οποίες οι μεταβολές στην επίπτωση εκτιμώνται σε γυναίκες που μετακινήθηκαν από χώρες χαμηλού σε χώρες υψηλού κινδύνου, η επίπτωση εξομοιώθηκε με την αντίστοιχη της χώρας υποδοχής, καταλήγοντας ότι οι διεθνείς διαφοροποιήσεις στους δείκτες του καρκίνου του μαστού οφείλονται κατά το μεγαλύτερο μέρος σε διαφοροποιήσεις

του μικρό και μακροπεριβάλλοντος κ όχι σε γενετικούς παράγοντες [Ziegler et al. 2016, GLOBOCAN 2018].

Αυξημένη επίπτωση καρκίνου μαστού παρουσιάζουν οι γυναίκες με ιστορικό καρκίνου του μαστού ή/και γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου μαστού και ωθηκών ιδίως σε συγγενή πρώτου βαθμού(γονείς, τέκνο, αδέρφια). Συγκριτικά με γυναίκες με αρνητικό οικογενειακό ιστορικό ο κίνδυνος διπλασιάζεται όταν υπάρχει ένας συγγενής ενώ τετραπλασιάζεται όταν υπάρχουν πάνω από δυο συγγενείς πρώτου βαθμού [Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. 2001].

Age	In Situ Cases		Invasive Cases		Deaths	
	Number	%	Number	%	Number	%
<40	1,610	3%	11,160	4%	990	2%
40-49	12,440	20%	36,920	15%	3,480	9%
50-59	17,680	28%	58,620	23%	7,590	19%
60-69	17,550	28%	68,070	27%	9,420	23%
70-79	10,370	16%	47,860	19%	8,220	20%
80+	3,760	6%	30,080	12%	10,910	27%
<b>All ages</b>	<b>63,410</b>		<b>252,710</b>		<b>40,610</b>	

Estimates are rounded to the nearest 10. Percentages may not sum to 100 due to rounding.

©2017, American Cancer Society, Inc., Surveillance Research

**Πίνακας 1.1: Εκτιμώμενος αριθμός νέων περιστατικών καρκίνου του μαστού και θνησιμότητα για το 2017**

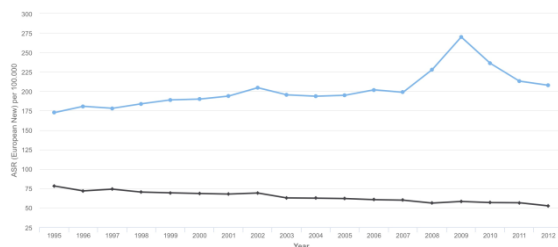
## 1.2 Συμπτώματα

Ο καρκίνος του μαστού σε αρχικά στάδια ουσιαστικά δεν έχει συμπτώματα και για αυτό τον λόγο ο μόνος τρόπος για έγκαιρη διάγνωση είναι η συχνή εξέταση των μαστών. Τα πρώτα συμπτώματα της νόσου είναι η εμφάνιση ψηλαφητής μάζας, συνήθως ανώδυνης, μεταβολή στο σχήμα ,στο μέγεθος και στην υφή του μαστού ή/και αναλόγως το σημείο που βρίσκεται ο όγκος, έκκριση αιματηρού, κίτρινου ή πράσινου υγρού από τη θηλή, εισολκή ή έκζεμα θηλής, αλλαγή στο δέρμα του μαστού κ.ο.κ. Σε πιο προχωρημένα στάδια, τα συμπτώματα περιλαμβάνουν πόνο στο μαστό, ψηλαφητούς επιχώριους λεμφαδένες, εξέλκωση και οίδημα στο άνω άκρο, πόνο στα οστά, δύσπνοια, λόγω της παρουσίας απομακρυσμένων μεταστάσεων στον πνεύμονα και στα οστά. Τα μη ειδικά συμπτώματα εμφανίζονται σε προχωρημένα στάδια της νόσου [Jay et al. 2000].

### 1.3 Διάγνωση

Ο καρκίνος του μαστού σε αρχικά στάδια είναι ιάσιμος, όμως λόγω τις μη εμφάνισης συμπτωμάτων για να επιτευχθεί η έγκαιρη διάγνωση, σε ατομικό επίπεδο, οι γυναίκες πάνω από 40 ετών θα πρέπει να είναι τακτικές στον ετήσιο έλεγχο και σε επίπεδο δημόσιας υγείας και θα πρέπει να εφαρμοσθούν οργανωμένα και μαζικά προγράμματα ενημέρωσης και διαλογής. Η κυριότερη διαγνωστική εξέταση είναι η μαστογραφία [Jay et al. 2000]. Είναι γενικά αποδεκτό ότι η εφαρμογή προγραμμάτων διαλογής με μαστογραφία σε γυναίκες 50 έως 74 ετών μείωσε την θνησιμότητα από καρκίνο του μαστού (γράφημα 1.3) [Jørgensen et al. 2010, Bellhouse 2017].

Φυσική εξέταση των μαστών, βάση των κατευθυντήριων οδηγιών (NCCN 2012), προτείνεται να γίνεται περιοδικά, στις γυναίκες 18-39 ετών και ετήσια στις γυναίκες μετά τα 40 [NCCN 2018]. Ο ρόλος της αυτό-εξέτασης για την έγκαιρη διάγνωση του καρκίνου του μαστού δεν είναι εύκολο να εκτιμηθεί καθώς



**Γράφημα 1.3:** Γραφική απεικόνιση της θνησιμότητας από καρκίνο του μαστού πριν και μετά από την έναρξη των προγραμμάτων διαλογής με ετήσια μαστογραφία στη Δανία. Πηγή: Jørgensen et al. 2018

υπάρχουν αντικρουόμενα ευρήματα σε μελέτες για την αποτελεσματικότητα του [Jay et al. 2000]. Ωστόσο η Αμερικάνικη ογκολογική εταιρία κατέληξε στο ότι η αυτοεξεταση είναι εξίσου αποτελεσματική με την κλινική εξέταση [Thomas et. al. 2002].

Μια επίσης σημαντική διαγνωστική μέθοδος είναι η μαγνητική τομογραφία, όσον αφορά σε ασθενείς υψηλού κινδύνου, φορείς γονιδιακών μεταλλάξεων, ασθενείς με ενθέματα σιλικόνης, ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ακτινοθεραπεία στο θώρακα λόγω λεμφώματος Hodgkin σε ηλικία 10 με 30 ετών, ασθενείς με γονιδιακές νόσους όπως το σύνδρομο Li-Fraumeni Bannayan-Riley-Ruvalcaba (οι ίδιοι ή συγγενείς πρώτου βαθμού), ασθενείς με ατομικό ιστορικό άτυπης επιθηλιακής υπερπλασίας ή άτυπης λοβιακής υπερπλασίας ή DCIS, LCIS, όπως επίσης και σε ασθενείς με πολύ πυκνούς μαστούς [Saslow et. al. 2007].

Στην ανίχνευση του καρκίνου του μαστού σημαντικό εργαλείο αποτελεί ο υπέρηχος. Μελέτες ανέδειξαν ότι ο υπέρηχος επιτυγχάνει την ανίχνευση περισσότερων καρκίνων σε συνδυασμό με τη μαστογραφία σε σχέση με τη μεμονωμένη μαστογραφία [Tagliafico et. al. 2016].

Αρχικά, η κλινική σταδιοποίηση του όγκου περιλαμβάνει τον εντοπισμό των διαστάσεων, της τοπογραφίας του όγκου και τυχόν διογκωμένων λεμφαδένων [Jay et al. 2000].

Η ύπαρξη διογκωμένων λεμφαδένων δεν αποδεικνύει την ύπαρξη μεταστάσεων

καθώς το 40% των ασθενών με λεμφαδενικές μεταστάσεις δεν έχουν διογκωμένους λεμφαδένες. Για αυτόν τον λόγο μπορεί να κριθεί απαραίτητη η χειρουργική βιοψία του λεμφαδένα φρουρού [Jay et al. 2000]. Είναι επίσης σημαντικό να πραγματοποιηθούν επιπλέον απεικονιστικές εξετάσεις για τον εντοπισμό τυχόν απομακρυσμένων μεταστάσεων. Ασθενής με εντοπισμένη βλάβη στο μαστό υποβάλλεται σε ιστολογική ταυτοποίηση για να προσδιοριστεί τόσο η φύση της βλάβης όσο η εκταση της διασποράς της. [Jay et al. 2000]. Η σταδιοποίηση (πίνακας 1.1) είναι απαραίτητη για τον σχεδιασμό της θεραπείας και είναι προγνωστικός παράγοντας για την επιβίωση της ασθενούς [Kuerer 2010]

Για τη σταδιοποίηση χρησιμοποιείται το σύστημα TNM, μάλιστα το 2018, στην 8η έκδοση αυτής της σταδιοποίησης, συμπεριλαμβάνονται και οι βιολογικοί παράγοντες, και εφόσον αυτό καθοριστεί η περαιτέρω σταδιοποίηση στα 4 στάδια που επεξηγούνται ακολούθως [Giuliano 2017]:

Πίνακας 1.2: Ιστολογικοί τύποι καρκίνου του μαστού

**Πορογενές καρκίνωμα:**

- α. Ενδοπορικό καρκίνωμα (DCIS) και β. Διθητικό πορογενές καρκίνωμα με ειδικά χαρακτηριστικά (βλενώδες, θηλώδες, σωληνώδες και μυελοειδές καρκίνωμα).
- γ. Διθητικό πορογενές καρκίνωμα χωρίς ειδικά χαρακτηριστικά (NOS)

**Λοβιακό:**

- A. Λοβιακό καρκίνωμα in situ.
- B. Διθητικό λοβιακό καρκίνωμα.

**Σπάνιες οντότητες – σάρκωμα, πρωτοπαθές λέμφωμα.**

Μεταστάσεις στο μαστό (κακήθες μελάνωμα, καρκίνος πνεύμονα, νεφρού, ωοθηκών, λέμφωμα).

**Άγνωστο πρωτοπαθές καρκίνωμα μαστού ή της θηλής.**

**Νόσος Paget**

**Στάδιο 0.** Στο στάδιο αυτό εντάσσεται το ενδοπορικό καρκίνωμα ή καρκίνος in situ.

**Στάδιο I.** Το μέγεθος του όγκου είναι μικρότερο από 2εκ., δεν υπάρχει διήθηση στο δέρμα ή στη θηλή και δεν υπάρχουν διηθημένοι λεμφαδένες ή απομεμακρυσμένες μεταστάσεις.

**Στάδιο IIA.** Το μέγεθος του όγκου φτάνει μέχρι τα 5εκ. και υπάρχει διήθηση στους σύστοιχους μασχαλιαίους λεμφαδένες, οι οποίοι παραμένουν κινητοί.

**Στάδιο IIB.** Το μέγεθος του όγκου μπορεί να υπερβαίνει τα 5εκ. Υπάρχει διήθηση του δέρματος ή της θηλής και των σύστοιχων μασχαλιαίων λεμφαδένων, οι οποίοι παραμένουν κινητοί.

**Στάδιο IIIA.** Το μέγεθος του όγκου μπορεί να υπερβαίνει τα 5εκ. Υπάρχει διήθηση του δέρματος ή της θηλής και των σύστοιχων μασχαλιαίων λεμφαδένων οι οποίοι είναι καθηλωμένοι στο δέρμα ή στη μασχαλιαία κοιλότητα.

**Στάδιο IIIB.** Το μέγεθος του όγκου ποικίλλει, υπάρχει άμεση διήθηση του δέρματος ή του θωρακικού τοιχώματος. Οι έσω μαστικοί λεμφαδένες είναι διηθημένοι χωρίς απομεμακρυσμένες μεταστάσεις.

**Στάδιο IV.** Το μέγεθος του όγκου ποικίλλει, υπάρχει διήθηση του δέρματος ή του θωρακικού τοιχώματος και απομεμακρυσμένες μεταστάσεις.

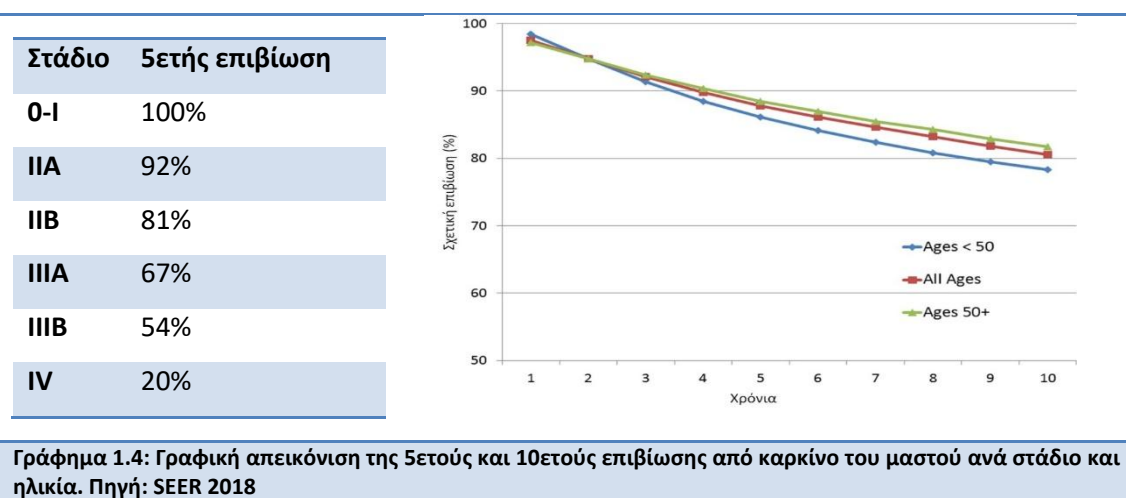
## 1.4 Θεραπεία

Οι βασικότεροι παράγοντες για τον σχεδιασμό της θεραπείας είναι το στάδιο, ο ιστολογικός τύπος του όγκου, η ύπαρξη υποδοχέων οιστρογόνων και η έκφραση του γονιδίου HER2. Ο στόχος της θεραπείας του καρκίνου του μαστού, στα πρώτα στάδια, είναι η ίαση των ασθενών και η μείωση της πιθανότητας υποτροπής, σε συνδυασμό με ένα καλό αισθητικό αποτέλεσμα. Ενώ σε προχωρημένο στάδιο ο στόχος είναι η παράταση της ζωής. Η χειρουργική αφαίρεση ανάλογα με το στάδιο μπορεί να είναι από ογκεκτομή (lumpectomy), τροποποιημένη ριζική μαστεκτομή με ταυτόχρονη χειρουργική βιοψία λεμφαδένα φρουρού ή λεμφαδενικό καθαρισμό

μασχάλης όταν κρίνεται απαραίτητο ,καθώς και προφυλακτική αμφοτερόπλευρη μαστεκτομή σε ασθενείς φορείς γονιδίων [NCCN 2018]. Συνήθως η χειρουργική θεραπεία συνδυάζεται με συστημακή θεραπεία η οποία περιλαμβάνει ακτινοθεραπεία , χημειο/ορμονοθεραπεία και στοχευμένη φαρμακευτική θεραπεία (πίνακας 1.1).Η παρουσία τοπικά προχωρημένων όγκων ή/και μεταστατικής νόσου αποτελούν ένδειξη προεγχειρητικής συστημακής θεραπείας(neoadjuvant) [Mauri et. al. 2005].

## 1.5 Πρόγνωση

Η ηλικία (γράφημα 1.4, δεξιά) το στάδιο (γράφημα 1.4, αριστερά) και το συνολικό επίπεδο υγείας της ασθενούς παίζουν καθοριστικό ρόλο για την επιβίωση μετά το τέλος της θεραπείας [Rachet et al. 2009, SEER 2018].



Η 5ετής επιβίωση των ασθενών με καρκίνο του μαστού είναι 90%, των σταδίων 0 και I είναι περίπου 99% και μειώνεται στο 20% για τις ασθενείς του IV σταδίου. Αυτά τα ποσοστά επιβίωσης παραμένουν σταθερά και για την 10ετή επιβίωση [SEER 2018].

# Κεφάλαιο 2: Ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων

---

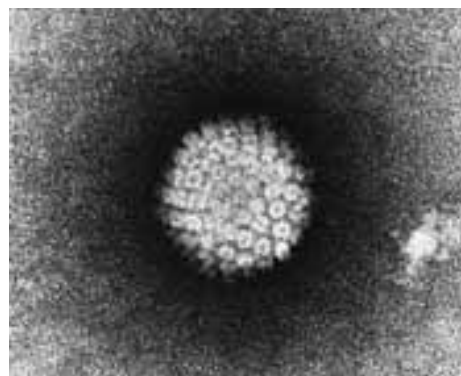
## 2.1 Εισαγωγή

Ο Ιός των Ανθρωπίνων Θηλωμάτων (HPV) (Εικόνα 2.1) είναι το πιο συχνό σεξουαλικά μεταδιδόμενο νόσημα (ΣΜΝ). Υπολογίζεται ότι περισσότερο από το 80% των σεξουαλικά ενεργών ανθρώπων έχουν μολυνθεί από τον ιό κάποια στιγμή της ζωής τους [Onon et al 2011].

Με τη βοήθεια της τεχνολογίας έχουν αναγνωριστεί περισσότεροι από 100 διαφορετικοί τύποι HPV, εκ των οποίων περίπου 30 προσβάλλουν την περιγεννητική περιοχή (genital warts) [Onon et al 2011]. Αν και το μεγαλύτερο ποσοστό των λοιμώξεων δεν προκαλούν σοβαρά προβλήματα, κάποιοι τύποι του ιού (ογκογόνοι) έχουν συνδεθεί με την εμφάνιση καρκίνων. Οι καρκίνοι με τους οποίους έχει συνδεθεί ο HPV (εικόνα 2.2)

είναι κυρίως: (1) ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας, (2) ο καρκίνος του πρωκτού, (3) του στοματοφάρυγγα, καθώς και (4) ο καρκίνος του πέους στους άνδρες [Tiro et al 2008].

Από όλους τους καρκίνους που έχουν συσχετισθεί με τον HPV, ο συχνότερος είναι ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας [DiSaia 2007] ο οποίος είναι ο δεύτερος συχνότερος καρκίνος στις γυναίκες, μετά από τον καρκίνο του μαστού [SEER 2018]. Έρευνες δείχνουν ότι στο περισσότερο από το 95% των περιπτώσεων η μόλυνση, με κάποιους από τους ογκογόνους τύπους, είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την εμφάνιση του καρκίνου [Tiro et al 2008].



Εικόνα 2.1: Ο ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων. Φωτογραφία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Πηγή: Laboratory of Tumor Virus Biology



Λόγω της άμεσης σχέσης με τον HPV, ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας μπορεί να προληφθεί, εάν αποφευχθεί η HPV λοίμωξη. Όπως για όλα τα σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα, έτσι και για τον HPV υπάρχουν συγκεκριμένες συμπεριφορές, οι οποίες προάγουν την μετάδοση του [Li et al 2017]. Η μικρή ηλικία έναρξης σεξουαλικής ζωής και συμπεριφορές όπως, η σεξουαλική επαφή χωρίς προφυλάξεις, η συχνή αλλαγή ερωτικών συντρόφων ή η οι παράλληλες σχέσεις μπορούν να προάγουν την μετάδοση του HPV [Fernández-Esquer et al 2000]. Οι συμπεριφορές αυτές παρατηρούνται πιο συχνά στις ηλικίες από 20 έως 35 ετών, παρόλο που στις μέρες μας υπάρχει η τάση όλο και μικρότερες ηλικίες να υιοθετούν τις παραπάνω συμπεριφορές [Fernández-Esquer et al 2000, Li et al 2017].

Γενικά, όλες οι συμπεριφορές που προάγουν τη μετάδοση των ΣΜΝ, αναπτύσσονται βάσει των επιρροών που δέχεται ένα νέο άτομο από την οικογένεια και τον κοινωνικό του περίγυρο, καθώς και από τις γνώσεις του σχετικά με τα ΣΜΝ [Blanc & Way 1998]. Φαίνεται λοιπόν ότι οι συμπεριφορές αυτές είναι τροποποιήσιμες, άρα με κατάλληλα προγράμματα αγωγής υγείας θα μπορούσαν να υιοθετηθούν συμπεριφορές που να παρεμποδίζουν τη μετάδοση των ΣΜΝ και κατά συνέπεια και του HPV, οπότε θα ήταν δυνατό να περιοριστεί και η εμφάνιση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Για να αναπτυχθούν όμως τα κατάλληλα προγράμματα, θα πρέπει πρώτα να εντοπιστεί ο πληθυσμός-στόχος και στη συνέχεια να μελετηθούν οι γνώσεις, οι στάσεις και οι πεποιθήσεις του. Πρέπει να τονιστεί ότι τα παραπάνω προγράμματα θα πρέπει να γίνονται σε συνδυασμό με τον εμβολιασμό και τον ετήσιο γυναικολογικό έλεγχο.

## 2.2 Ιστορική αναδρομή

Το 1974 σε αυτοψία που πραγματοποιήθηκε σε μούμια 3000 χρόνων βρέθηκε η αρχαιότερη απόδειξη ύπαρξης του HPV [Onon et al 2011]. Οι πρώτες αναφορές για τον ιό των ανθρωπίνων Θηλωμάτων (HPV) βρίσκονται σε γραπτά Ρωμαίων γιατρών το 10 αιώνα μΧ. [Onon et al 2011]

Από τις αρχές του 16<sup>ου</sup> αιώνα έως και τον 19<sup>ο</sup> αιώνα τα κονδυλώματα θεωρούνταν ως εκδήλωση της σύφιλης. Ο Benjamin Bell απέδειξε το 1793 ότι τα κονδυλώματα δεν έχουν το ίδιο αίτιο με τη σύφιλη [Bell 1973] και στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα ο

Ciuffo περιέγραψε τον μολυσματικό χαρακτήρα των κονδυλωμάτων [Ciuffo 1907]. Αν και από τον 16<sup>ο</sup> αιώνα, από πιστοποιητικά θανάτου, είχε παρατηρηθεί ότι ο καρκίνος του μαστού ήταν πιο συχνός στις καλόγριες ενώ ο καρκίνος του τραχήλου ήταν πιο συχνός στις ιερόδουλες [Onon et al 2011]. Ωστόσο ο Fabien Gagnon στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα, ήταν ο επιστήμονας που κατέταξε τον καρκίνο του τραχήλου ως σεξουαλικά μεταδιδόμενο νόσημα. Για να φτάσει σε αυτό το συμπέρασμα μελέτησε 13.000 καλόγριες και παρατήρησε ότι καμία δεν έπασχε από καρκίνο του τραχήλου (Nun factor) [Onon et al 2011].

Το 1931 περιγράφονται κονδυλώματα του πέους τα οποία έχουν εμφάνιση επιδερμοειδούς καρκινώματος και δεν δίνουν μεταστάσεις [Buschke & Lowenstein 1931]. Το 1949 με την βοήθεια του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου παρατηρήθηκαν σωματίδια του ιού σε θηλώματα δέρματος [Strauss et al 1949].

Η σεξουαλική μετάδοση των κονδυλωμάτων τεκμηριώθηκε κατά τον πόλεμο της Κορέας με την λεγόμενη “μελέτη της Κορέας”. Οι γυναίκες των στρατιωτών που επέστρεφαν από τον πόλεμο της Κορέας με κονδυλώματα πέους, ανέπτυξαν οι ίδιες κονδυλώματα του αιδοίου [Barret et al, 1984].

Το 1969 οι Almeida και συνεργάτες υποθέτουν την ύπαρξη διαφορετικών στελεχών του ιού HPV [Almeida et al 1969] και το 1974 επιβεβαιώνεται η ύπαρξη περισσότερων του ενός γονότυπου HPV με την μέθοδο του υβριδισμού και μέχρι το 1977 έχουν εντοπισθεί τέσσερις διαφορετικοί τύποι HPV [Zur et al 1977].

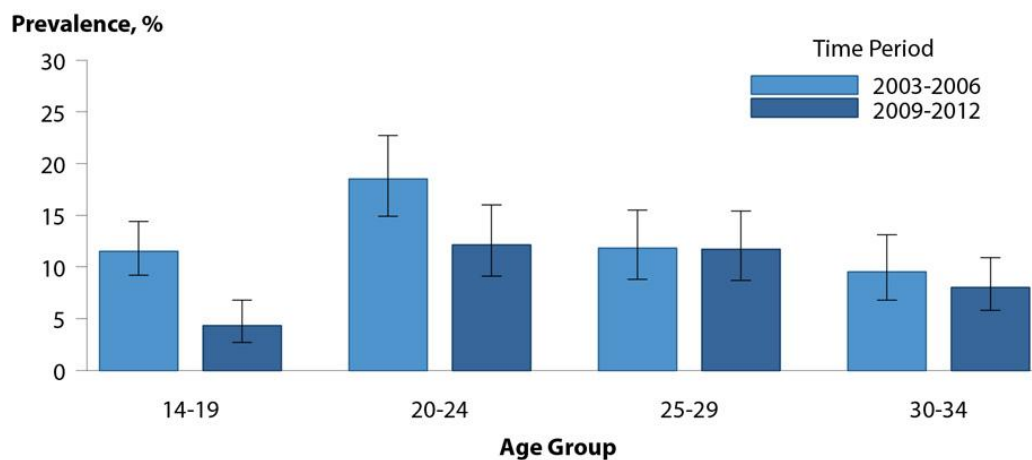
Στην δεκαετία του 70 με την βοήθεια του μικροσκοπίου εισάγεται ο όρος “κοιλοκυτταρική ατυπία” για να περιγράψει στο κολποτραχηλικό επίχρισμα την παρουσία πλακώδους κυττάρου με ευμεγέθη, υπερχρωματικό πυρήνα και μεγάλη διαυγή, περιπυρηνική κοιλότητα, γνωστό σήμερα ως κοιλοκύτταρο. Τα χαρακτηριστικά αυτά κύτταρα ανευρίσκονται τόσο σε HPV φλεγμονές όσο και σε δυσπλασίες ή καρκίνους του τραχήλου της μήτρας [Koss & Durfee 1965] Το 1980 με την μέθοδο της ανοσοϊπεροξειδάσης αποδεικνύεται η παρουσία του ιού σε 50% των δυσπλασιών του τραχήλου της μήτρας [Shah et al, 1980]. Οι Zur H. και συνεργάτες του συνέλεξαν ιολογικά και επιδημιολογικά δεδομένα για τον ρόλο του

HPV στον επιθηλιακό καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και έτσι συσχέτισαν τους τύπους 16 και 18 και τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας [Zur & de Villiers 1994].

Το 1989 τεκμηριώθηκε ότι οι ήπιες γενικά δυσπλασίες περιέχουν τους τύπους 6 ή 11 ή και τους δύο μαζί. Οι τύποι 16/18 και 31/33/51 βρέθηκαν σε υψηλού βαθμού δυσπλασίες και σε διηθητικούς καρκίνους [Roman & Fife 1989]. Το 1992 δημοσιεύονται επιδημιολογικές έρευνες σχετικά με τις λοιμώξεις από τους ιούς HPV ως παράγοντα υψηλού κινδύνου για την ανάπτυξη νεοπλασιών στον τράχηλο της μήτρας [Munoz et al 1992].

### 2.3 Επιδημιολογία του HPV

Η HPV λοίμωξη είναι το συχνότερο σεξουαλικά μεταδιδόμενο νόσημα στον κόσμο [Onon et al 2011]. Περίπου το 24% των γυναικών κάτω των 30 ετών είναι φορείς ενός από τους δύο καρκινογόνους τύπους του ιού [CDC 2018]. Μεγάλες επιδημιολογικές έρευνες έδειξαν ότι ο επιπολασμός του HPV είναι μεγαλύτερος στις γυναίκες κάτω των 25 ετών, τόσο στις αναπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες. Στην Ευρώπη ο επιπολασμός του HPV σταδιακά μειώνεται έως τις ηλικίες 45-54 και έκτοτε ακολουθεί μια ελαφρώς ανοδική πορεία και σταθεροποιείται στις ηλικίες άνω των 54. Αντίθετα στις αναπτυσσόμενες χώρες ο επιπολασμός παραμένει υψηλός σε γυναίκες άνω των 54 ετών (Εικόνα 2.3)[ Bosch et. al. 2008, Markowitz et. at. 2016].



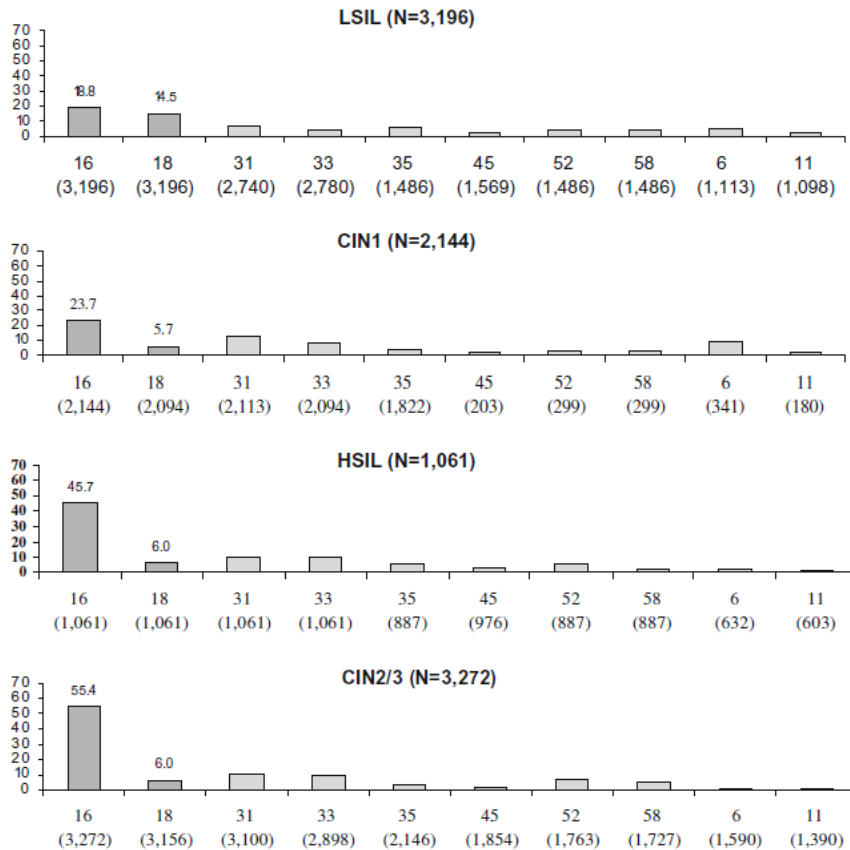
Εικόνα 2.2: Επιπολασμός του HPV ανά ηλικιακές ομάδες. Πηγή: Markowitz 2016

Μετά την ηλικία των 65 ετών παρατηρείται πάλι μια μικρή αύξηση στις περισσότερες χώρες πλην των ασιατικών [Franceschi et al 2016]. Ο λόγος για τον οποίο συμβαίνει αυτή η αύξηση δεν έχει ακόμα αποσαφηνιστεί, αλλά κάποιοι ερευνητές [Trottier & Franco 2006] πιστεύουν ότι οι γυναίκες αυτές είχαν μολυνθεί από τον ιό σε νεότερη ηλικία, αλλά δεν έγινε διάγνωση και, καθώς η άμυνα του οργανισμού μειώθηκε (λόγω της ηλικίας), ο ιός επανενεργοποιήθηκε.

Συγκρίνοντας επιδημιολογικές έρευνες ευρωπαϊκών κρατών παρατηρούνται μεγάλες αριθμητικές διαφορές στον επιπολασμό του HPV (και κυρίως των υψηλού κινδύνου τύπων HPV 16 και 18). Οι χώρες του ευρωπαϊκού νότου και η Ολλανδία εμφανίζουν χαμηλό επιπολασμό (>5%), ενώ η Γαλλία και η Αγγλία εμφανίζουν υψηλά ποσοστά (>10%) [De Vuyst et al 2009]. Οι διαφορές αυτές φαίνεται να οφείλονται κυρίως στα διαφορετικά κριτήρια που χρησιμοποιούνται από τους ερευνητές της κάθε χώρας, καθώς και από την τεχνική της τυποποίησης.

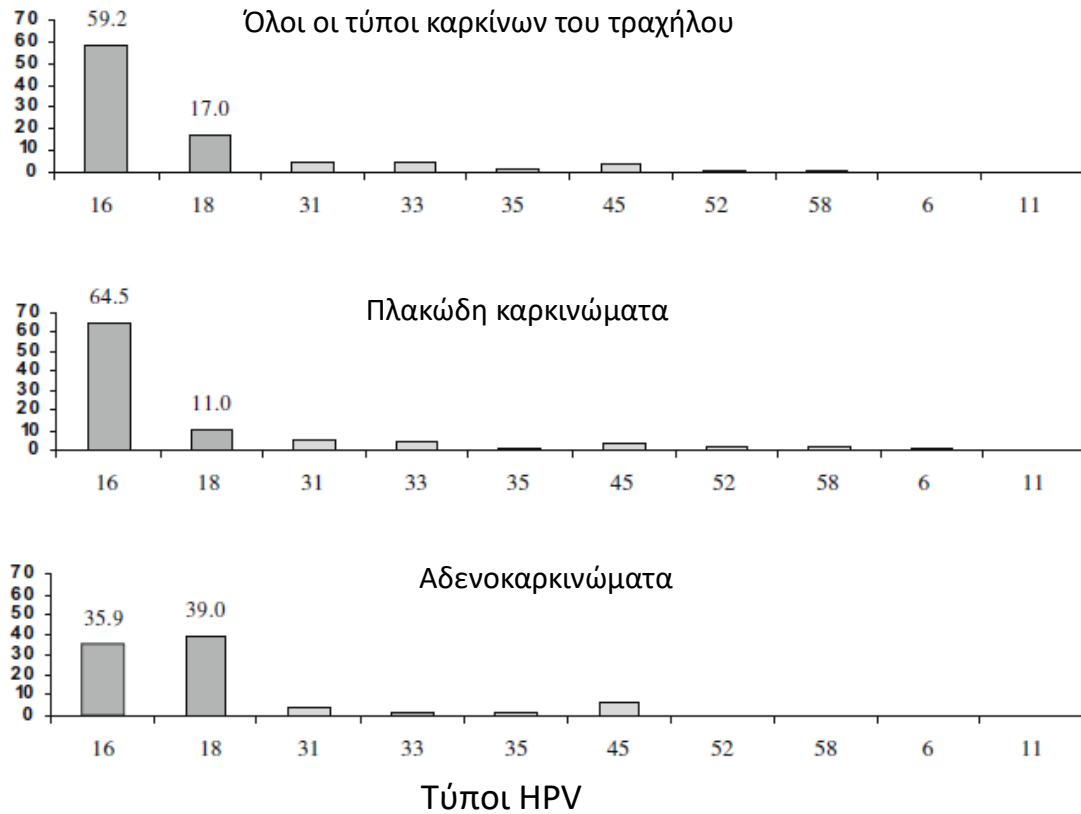
Οι οδηγίες για τα προγράμματα διαλογής για τον HPV απευθύνονται σε γυναίκες από 21 έως 64 ετών [American cancer society 2016]. Παρόλο που έρευνες στην Αγγλία έδειξαν ότι η συχνότητα εμφάνισης CIN 3 έχει αυξητικές τάσεις μεταξύ γυναικών έως 25 ετών, μείωση της ηλικίας έναρξης της διαλογής θα οδηγούσε σε περισσότερα θετικά HPV τεστ και ενδεχομένως να οδηγούσε σε επεμβατικές θεραπείες για αλλοιώσεις που μπορεί να ήταν αυτοϊάσιμες [Arbyn et al 2008, US preventive disease task Force 2014].

Στην Ευρώπη, η αναλογία του HPV 16 και 18 μεταξύ των HPV θετικών γυναικών είναι 29,8% και 12% αντιστοίχως [Kjaer et al 2008, Peto et al 2004]. Συγκρίνοντας την βαρύτητα των προκαρκινικών αλλοιώσεων με τον τύπο του ιού φαίνεται ότι η συχνότητα εμφάνισης του τύπου 16 αυξάνεται καθώς αυξάνεται και η βαρύτητα της αλλοίωσης, ενώ δεν συμβαίνει το ίδιο για τον 18 (Εικόνα 2.4).



Εικόνα 2.3: Ο επιπολασμός οκτώ τύπων HPV ανάλογος με την προκαρκινική αλλοίωση. Πηγή: De Vuyst et al 2009

Οι τύποι 16 και 18 εμφανίζονται στο 33,3% των LSIL, στο 29,4% των CIN1, στο 51,7% HSIL και στο 61,4% των CIN2/3 [Kjaer et al 2008, Peto et al 2004]. Στους διηθητικούς καρκίνους ο τύπος 16 εντοπίζεται πολύ συχνότερα στα πλακώδη καρκινώματα, ενώ το ποσοστό εντοπισμού του στα αδενωκαρκινώματα είναι περίπου το ίδιο με αυτό του τύπου 18. Η συσχέτιση των υψηλού κινδύνου τύπων του ιού με τους τύπους διηθητικών καρκίνων του τραχήλου της μήτρας φαίνεται στην εικόνα 1.5 [Kjaer et al 2008, Peto et al 2004].



Εικόνα 2.4: Ο επιπολασμός οκτώ τύπων HPV ανάλογος με τον τύπο του καρκίνου. Πηγή: De Vuyst H et al, 2009

Το 2006 κυκλοφόρησε ένα διδύναμο και το 2007 ένα τετραδύναμο εμβόλιο, τα οποία προστατεύουν από τους πιο συχνούς υψηλού κινδύνου τύπους HPV. Αν και είναι σχετικά μικρό το χρονικό διάστημα από την κυκλοφορία των εμβολίων μέχρι σήμερα, τα πρώτα στοιχεία δείχνουν ότι τα εμβόλια είναι αποτελεσματικά και μελλοντικά μπορούμε να αναμένουμε αισθητή μείωση των κρουσμάτων του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας [Onon et al 2011]. Όλες οι χώρες της Ευρώπης εντάξαν τον εμβολιασμό στα εθνικά προγράμματα ανοσοποίησης [Nicula et al 2009, Cofie et al 2017]. Μελλοντικά, θα μπορούσε να μειωθεί έως και 40% ο αριθμός των HR-HPV ευρημάτων στα προγράμματα διαλογής. Οι πιο αισιόδοξες έρευνες προβλέπουν μείωση έως και 76% σε όλους τους διηθητικούς τύπους καρκίνου του τραχήλου της μήτρας [Cofie et al 2017], καθώς και μικρότερη μείωση σε όλους του HPV σχετιζόμενους καρκίνους [Nicula et al 2009, Cofie et al 2017].

## 2.4 Βιολογία του HPV

Ο HPV ανήκει στην οικογένεια των Papovaviridae και είναι DNA ιός που απαρτίζεται από διπλή κυκλική έλικα DNA και περιλαμβάνει 8000 ζεύγη βάσεων που χωρίζονται σε 3 τμήματα: [González 2007].

- Τμήμα 1: early region (E) που αποτελείται από περίπου 4000 βάσεις και κωδικοποιεί πρωτεΐνες που σχετίζονται με την αντιγράφη του ιικού DNA
- Τμήμα 2: late section (L) που αποτελείται από περίπου 4000 βάσεις και κωδικοποιεί πρωτεΐνες που σχετίζονται με την κάψα του ιού
- Τμήμα 3 : μια μη κωδικοποιησιμη περιοχή περίπου 1.000 kb (LCR) που σχετίζεται με την προέλευση της αντιγραφής του ιικού DNA και των μεταγραφικών ρυθμιστικών στοιχείων

Το γονιδίωμα περιβάλλεται από την κάψα που αποτελείται από 2 δομικές πρωτεΐνες: εξωτερικά από την πρωτεΐνη L1, που αποτελείται από 72 καψομερίδια και έχει καθοριστικό ρόλο στην εγκατάσταση της λοίμωξης [Horvath CA, 2010] και εσωτερικά από την πρωτεΐνη L2 που έχει ρόλο στο genome encapsidation [Horvath et al, 2010]. Οι ιοί των ανθρώπινων θηλωμάτων βάση της δυνατότητας τους να προκαλούν καρκίνο, ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες, τους ιούς χαμηλού και τους ιούς υψηλού κινδύνου (Πίνακας 2.1).

Τα στελέχη του HPV δεν μπορούν να πολλαπλασιαστούν από μόνα τους. Εισέρχονται στο κύτταρο και χρησιμοποιούν τον μηχανισμό της κυτταρικής διαίρεσης του ξενιστή, προκειμένου να πολλαπλασιαστούν.

Πίνακας 2.1: Ταξινόμηση των HPV ανάλογα με την δυνατότητα τους να προκαλούν καρκινογένεση	
Ταξινόμηση	Στελέχη HPV
Χαμηλού κινδύνου	6, 11, 30, 40-45, 51, 54
Υψηλού κινδύνου	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58

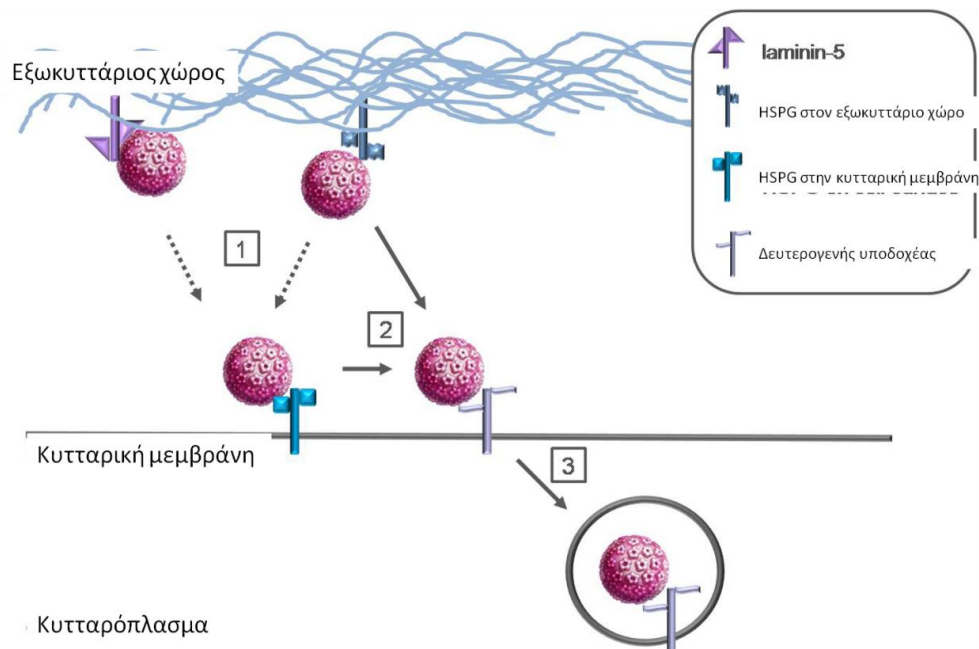
Επειδή οι κυτταρικές διαιρέσεις συμβαίνουν στα κύτταρα της βασικής στοιβάδας, εκεί εγκαθίσταται και ο HPV [Horvath et al, 2010]

Η αρχική, λοιπόν, μόλυνση αφορά στα κύτταρα της βασικής στοιβάδας του επιθηλίου του τραχήλου. Η μολυσμένη βασική στοιβάδα ανατροφοδοτεί με μολυσμένα κύτταρα και τις υπόλοιπες στοιβάδες του επιθηλίου [de Villiers et al 2004]. Για να έχει ο ιός πρόσβαση στα κύτταρα της βασικής στοιβάδας θα πρέπει να έχουμε ασυνέχεια του επιθηλίου όπως για παράδειγμα από κάποιον τραυματισμό. Οι μικροτραυματισμοί

του δέρματος και των βλεννογόνων κατά τη σεξουαλική επαφή δίνουν την ευκαιρία στον ιό HPV να μολύνει την βασική στοιβάδα των κυττάρων του επιθηλίου και να αρχίσει να πολλαπλασιάζεται εκμεταλλευόμενος τη φυσιολογική λειτουργία της ανανέωσης των κυττάρων του οργανισμού [de Villiers et al 2004].

## 2.5 HPV και καρκινογένεση

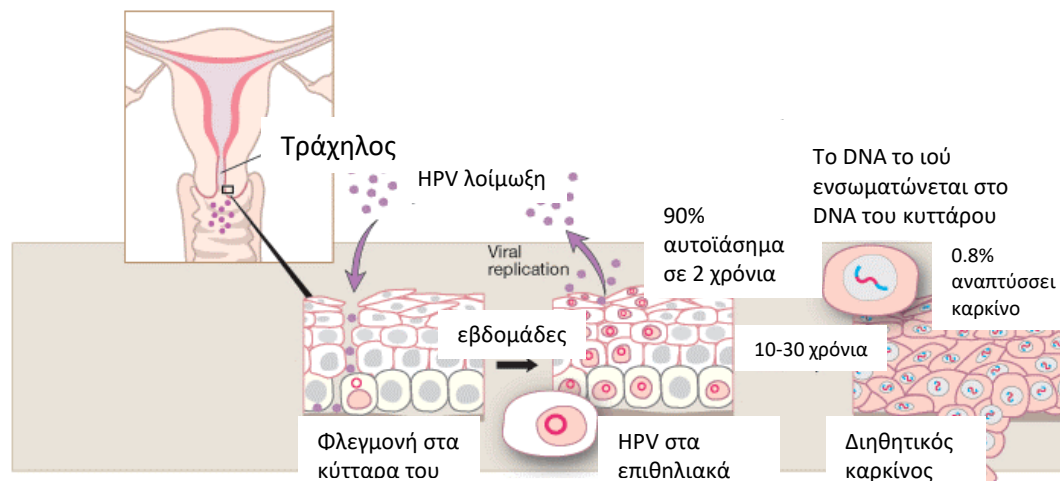
Ο ακριβής μηχανισμός που ο HPV προσβάλλει τα επιθηλιακά κύτταρα και προκαλεί καρκινογένεση δεν είναι απόλυτα κατανοητός, αλλά βάσει της επικρατέστερης θεωρίας ο ιός εισέρχεται στο κύτταρο μέσω του υποδοχέα Heparan sulfate proteoglycans (HSPG) και ενός δευτερογενούς υποδοχέα (secondary receptor). Ο HSPG βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων και ρυθμίζει πολλές κυτταρικές λειτουργίες. Η διαδικασία της ενδοκυττάρωσης του ιού πραγματοποιείται σε δύο βήματα. Αρχικά η πρωτεΐνη της κάψας L1 δημιουργεί ένα δεσμό με τον υποδοχέα HSPG και στην συνέχεια η πρωτεΐνη L2 ενώνεται με τον δευτερογενή υποδοχέα και ενεργοποιείται ο μηχανισμός της ενδοκυττάρωσης (εικόνα 2.6) [Horvath et al 2010].



Εικόνα 2.5: Ο μηχανισμός εισόδου του HPV στο κύτταρο. 1. Ο HPV δημιουργεί δεσμούς είτε με τον υποδοχέα HSPG, που βρίσκεται στον εξωκυττάρια χώρο ή στην κυτταρική μεμβράνη, είτε με τον υποδοχέα laminin-5. 2. Το παραπάνω σύμπλεγμα μέσω ενός δευτερογενή υποδοχέα ενώνεται στην κυτταρική μεμβράνη, 3. Ενεργοποιείται η διαδικασία της ενδοκυττάρωσης. Πηγή: Horvath et al 2010



Όταν ο ιός βρεθεί μέσα στο κυτταρόπλασμα “σπάει” η κάψα και το DNA του εισέρχεται στον πυρήνα του επιθηλιακού κυττάρου. Αμέσως μετά σχηματίζεται το mRNA που κωδικοποιεί τις ιϊκές πρωτεΐνες E1 και E2, οι οποίες ελέγχουν την αντιγραφή του ιϊκού DNA. Στους ιούς υψηλού κινδύνου η πρωτεΐνη E2 ενεργοποιεί την παραγωγή των πρωτεϊνών E6 και E7, οι οποίες δημιουργούν δεσμούς με ογκοκατασταλτικές πρωτεΐνες (tumor suppressor proteins) και ενεργοποιούν την κυτταρική διαίρεση [Thomas et al 1999, Munger et al 2004] (Εικόνα 2.7).



Εικόνα 2.6 : Ο Μηχανισμός καρκινογένεσης στον τράχηλο από τον HPV.

Πηγή: The Nobel Committee for Physiology or Medicine 2008. Illustration Annika Rohl

Δεν είναι δυνατό να προβλεφθεί η εξέλιξη της μόλυνσης, από τη στιγμή που θα μολυνθεί μια γυναίκα από τον ιό. Συνήθως το υψηλό ιικό φορτίο είναι ενδεικτικό της εξέλιξης κυρίως αν συνοδεύεται από φλεγμονή του επιθηλίου και κυτταρολογικές αλλοιώσεις, αλλά ακόμα και στις περιπτώσεις αυτές υπάρχει το ενδεχόμενο της αυτοϊάσης [Munger et al 2004].

## 2.6 Μετάδοση

Η σεξουαλική επαφή (κολπική ή πρωκτική) αποτελεί τον συνηθέστερο τρόπο μετάδοσης για τους ιούς HPV. Άλλοι τρόποι σεξουαλικής επαφής (τριβή των γεννητικών οργάνων με το χέρι ή με τη στοματο-γεννητική επαφή) είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε φλεγμονή, εφόσον υπάρχουν ρήξεις στο επιθήλιο και μείωση της

λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος (θεωρούνται σπανιότεροι τρόποι μετάδοσης)(πίνακας 2.2).

Το DNA των ιών HPV έχει ανευρεθεί σε αντικείμενα στο περιβάλλον (είδη υγιεινής, πόμολα κτλ.) Δεν έχει επιβεβαιωθεί, όμως, επιστημονικά αυτός ο τρόπος μετάδοσης από άψυχα αντικείμενα, παρότι έχουν αναφερθεί κάποιες σπάνιες περιπτώσεις μη σεξουαλικής μετάδοσης. Σε γυναίκες που αναφέρουν ότι δεν έχουν ολοκληρωμένες σεξουαλικές σχέσεις το DNA του HPV ανευρίσκεται σε ποσοστό μικρότερο από 2% [Μορτάκης 2007].

Μόλυνση μπορεί να προέλθει και από κάθετη μετάδοση. Η περιγεννητική μετάδοση του ιού HPV

από μια πάσχουσα μητέρα στο νεογνό της φαίνεται ότι μπορεί να συμβεί. Σε αυτό συνηγορεί (1) η εύρεση του ιού HPV στο στοματικό βλεννογόνο και το λάρυγγα νεογέννητων, (2) αντισώματα κατά του ιού στον ορό του αίματος παιδιών, (3) καθώς και DNA του ιού στο αμνιακό υγρό [Cason et al 1995]. Στον τρόπο αυτό μετάδοσης συνηγορούν και μελέτες ταυτοποίησης των στελεχών του ιού σε μητέρα και νεογνά [Cofie et al 2017].

**Πίνακας 2.2: Τρόπος μετάδοσης των γεννητικών HPV. Πηγή : Μορτάκης 2007**

**1) μεγαλύτερη πιθανότητα μετάδοσης**

κολπική σεξουαλική επαφή χωρίς προφυλακτικό  
πρωκτική σεξουαλική επαφή χωρίς προφυλακτικό

**2) μικρότερη πιθανότητα μετάδοσης**

με κολπική ή πρωκτική επαφή με προφυλακτικό  
με στοματογεννητική επαφή  
με τριβή της γεννητικής χώρας με γεννητικά όργανα  
με μολυσμένα αντικείμενα, ή δάκτυλα.

**3) πολύ μικρή πιθανότητα μετάδοσης**

από κοινή χρήση πετσετών

**4) καμία πιθανότητα μετάδοσης**

από κάθισμα της τουαλέτας  
από πόμολα, χειρολαβές, βρύσες κτλ.  
από κατοικίδια ζώα

## 2.7 Παράγοντες που προάγουν τη μετάδοση

Γενικά ως συμπεριφορές αυξημένου κινδύνου ορίζονται οι συμπεριφορές οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν άμεσα ή απώτερα προβλήματα στην υγεία του ατόμου. Σεξουαλικές συμπεριφορές αυξημένου κινδύνου μπορεί να οδηγήσουν σε μια ανεπιθύμητη εγκυμοσύνη ή να προάγουν τη μετάδοση μολυσματικών νόσων. Όσον αφορά τον HPV η σεξουαλική επαφή είναι ο πιο συχνός τρόπος μετάδοσης του σε όλο τον κόσμο [Cofie et al 2017]. Ο ιός εκτός από τη σεξουαλική επαφή μεταδίδεται με δερματική επαφή (Skin to skin contact), άρα μπορεί να γίνει μετάδοση του ιού και χωρίς ολοκληρωμένη σεξουαλική επαφή [Plummer et al 2007]. Ωστόσο, η εμφάνιση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, του πρωκτού ή του στοματοφάρυγγα χωρίς σεξουαλική επαφή, είναι εξαιρετικά σπάνια [Cofie et al 2017]. Επειδή όλοι οι τύποι του HPV που προσβάλλουν τα γεννητικά όργανα μεταδίδονται με τον ίδιο τρόπο, πολύ συχνά παρατηρούνται μολύνσεις με παραπάνω από ένα διαφορετικούς τύπους HPV στο ίδιο άτομο [Stoler & Schiffman 2001, Cofie et al 2017].

### 2.7.1 Σεξουαλική συμπεριφορά

Η Σεξουαλική συμπεριφορά του ανθρώπου δεν αποτελείται μόνο από τις συμπεριφορές που σχετίζονται με την αναπαραγωγή του είδους αλλά είναι το σύνολο των συμπεριφορών, των στάσεων και των πεποιθήσεων ενός ατόμου σχετικά με το σεξ. Για τη μελέτη της σεξουαλικής συμπεριφοράς είναι απαραίτητη η καταγραφή των στάσεων, των πεποιθήσεων μιας κοινωνίας απέναντι στη σεξουαλικότητα, καθώς και των σεξουαλικών πρακτικών των μελών της. Η κατανόηση της σεξουαλικής συμπεριφοράς των μελών μια κοινωνίας, αποτελεί τη βασική παράμετρο στην κατανόηση των συνθηκών μετάδοσης, αλλά και πρόληψης της μόλυνσης από σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα και κατά συνέπεια και από τον HPV. Οι δυτικές κοινωνίες, κυρίως τα τελευταία 50 χρόνια, έχουν γίνει πιο δεκτικές σε διάφορες σεξουαλικές συμπεριφορές που μπορούν να διευκολύνουν τη μετάδοση των ΣΜΝ και κατά συνέπεια και του HPV [Herrera-Ortiz et al 2017]. Η κοινωνικοοικονομική κατάσταση του ατόμου και το επίπεδο μόρφωσης (του ατόμου, αλλά και της οικογένειας) είναι δυο ρυθμιστικοί παράγοντες, οι οποίοι διαμορφώνουν το σύνολο της σεξουαλικής συμπεριφοράς. Οι πιο συχνές

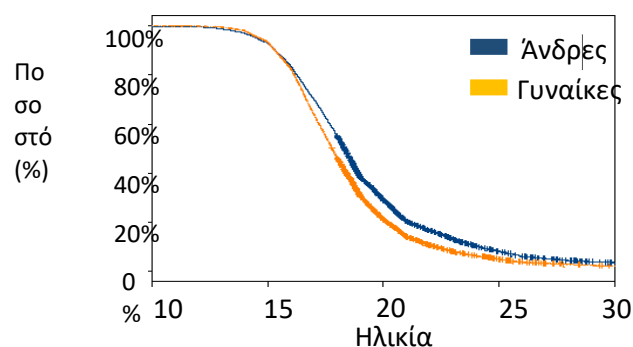
σεξουαλικές συμπεριφορές που προάγουν την μετάδοση των σεξουαλικώς μεταδιδόμενων ασθενειών είναι οι ακόλουθες:

### 1. Ηλικία έναρξης της σεξουαλικής ζωής

Η έναρξη της σεξουαλικής ζωής πριν την ηλικία των 15 ετών ορίζεται από τον W.H.O. ως πρόωμη [Herrera-Ortiz et al 2017]. Τα τελευταία χρόνια επιδημιολογικές έρευνες σε Ευρώπη και Αμερική καταγράφουν μείωση στην ηλικία έναρξης σεξουαλικής δραστηριότητας, η οποία ξεκίνησε να καταγράφεται εντονότερα μετά από το 1960 και τη λεγόμενη “σεξουαλική επανάσταση” [Youatt et al 2017]. Τη δεκαετία του 70’ το 5% των κοριτσιών 15 ετών και το 32% των κοριτσιών 17 ετών είχαν ολοκληρωμένες σεξουαλικές επαφές [The Alan Guttmacher Institute 1994]. Με το πέρασμα των χρόνων η ηλικία έναρξης σεξουαλικής ζωής σταδιακά μειώνεται. Έρευνα των Stigum και συνεργατών του, το 2010, έδειξαν ότι το 4% των κοριτσιών έως 14 ετών είχαν ολοκληρωμένες σεξουαλικές επαφές αλλά το ποσοστό αυτό αυξάνεται στο 30% σε ηλικίες έως 16 ετών και στο 62% έως 18 ετών (εικόνα 2.8) [Stigum et al 2010].

Έρευνα του Anderson έδειξε ότι όσο πιο μικρό είναι το διάστημα από την εμμηναρχή έως την πρώτη ολοκληρωμένη σεξουαλική επαφή, τόσο μεγαλύτερος είναι και ο κίνδυνος εμφάνισης προκαρκινικών αλλοιώσεων από τυχόν μόλυνση με HPV [Anderson 1999]. Οι λόγοι αυτής της συσχέτισης, φαίνεται να

είναι ότι όσο νωρίτερα ξεκινήσουν τη σεξουαλική τους ζωή οι νέες γυναίκες τόσο μεγαλύτερο αριθμό ερωτικών συντρόφων αναμένεται να έχουν και επειδή υπάρχει μια τάση οι νέες γυναίκες να επιλέγουν μεγαλύτερους σε ηλικία ερωτικούς συντρόφους ως δήθεν «έμπειρους», έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα να εκτεθούν στον ιό [Kahn et al 2002]. Ορισμένες άλλες μελέτες [Silbernagl & Lang 2009] αναφέρουν επίσης ότι και βιολογικοί παράγοντες μπορεί να παίζουν ρόλο στη

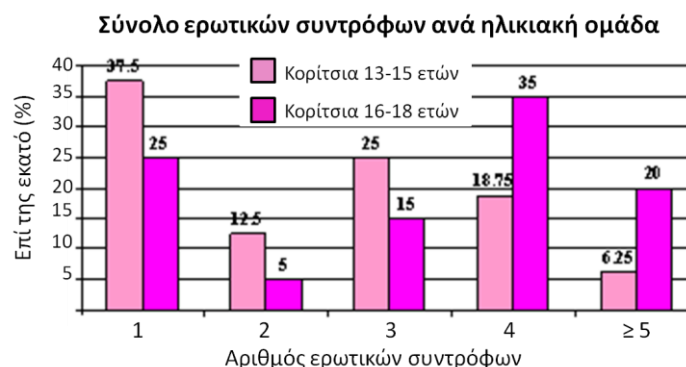


Εικόνα 2.7: Ποσοστό Ανδρών και Γυναικών που ΔΕΝ είχαν ολοκληρωμένες σεξουαλικές επαφές. Πηγή: Stigum H., 2010

συσχέτιση ηλικίας και μόλυνσης με τον HPV όπως για παράδειγμα, η μη ολοκληρωμένη ωρίμανση του τραχήλου ή/και η μειωμένη παραγωγή της προστατευτικής βλέννης της μήτρας, όπως συμβαίνει στις νεαρές γυναίκες (μικρότερες από 15 χρονών).

## 2. Αριθμός ερωτικών συντρόφων

Μια από τις πρώτες σεξουαλικές συμπεριφορές που συσχετίστηκαν με την αύξηση της πιθανότητας για εμφάνιση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας είναι η συχνή αλλαγή ερωτικών συντρόφων. Ο μεγάλος αριθμός των σεξουαλικών συντρόφων είναι ένας από τους βασικότερους λόγους μετάδοσης όλων των σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων [Kahn et al 2002]. Πολλές εναλλαγές συντρόφων παρατηρούνται κυρίως μεταξύ των νεότερων γυναικών παρά των μεγαλύτερων οι οποίες τείνουν να συνάπτουν πιο μακροχρόνιες και σταθερές σχέσεις [Aral & Holmes 1999]. Είναι φανερό ότι ο μεγάλος αριθμός σεξουαλικών συντρόφων αυξάνει την πιθανότητα επαφής με τον ιό. Τα τελευταία χρόνια, αφενός μεν η μείωση της ηλικίας έναρξης σεξουαλικής ζωής, αφετέρου δε οι μακρόχρονες σπουδές και η καθυστερημένη είσοδος στην παραγωγική διαδικασία, έχουν ως αποτέλεσμα νεότερες σε ηλικία γυναίκες να έχουν περισσότερους ερωτικούς συντρόφους. Από επιδημιολογικά στοιχεία φαίνεται ότι πάνω από έναν ερωτικό σύντροφο έχει περίπου το 63% των κοριτσιών 13-15 ετών, περίπου το 75% των κοριτσιών 16-18 ετών και το 20% αυτής της ηλικιακής ομάδας έχουν πάνω από 5 ερωτικούς συντρόφους (εικόνα 2.9)[ Koutsky & Kiviat 1999].



Εικόνα 2.8: Σύνολο ερωτικών συντρόφων σε κορίτσια 13-18 ετών. Πηγή: Koutsky & Kiviat 1999

### 3. Χαρακτηριστικά ερωτικών συντρόφων και σεξουαλική δραστηριότητα

Είναι γνωστό από αρκετές μελέτες ότι οι άνδρες εμφανίζουν σε μεγαλύτερο βαθμό πολυμειξική συμπεριφορά απ' ό,τι οι γυναίκες, που σημαίνει ότι η προηγούμενη σεξουαλική ζωή των ανδρών σχετίζεται άμεσα με τη μετάδοση του ιού στις γυναίκες. Με άλλα λόγια όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των σεξουαλικά ενεργών μελών μια κοινότητας και όσο πιο πολλές μείξεις μεταξύ των μελών συμβαίνουν τόσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός διασποράς του ιού (εικόνα 2.10) [Van Doornum et al 1994].

### 4. Μονογαμία και παράλληλες σχέσεις

Οι παράλληλες σχέσεις δεν είναι σπάνιο φαινόμενο. Έρευνες των Doherty et al έδειξαν ότι στις Η.Π.Α 32-54% των εφήβων και 12-40% των ενηλίκων διατηρούν πάνω από μία σχέση παράλληλα [Doherty et al 2005]. Αυτό σημαίνει ότι αν μόνο ένα από τα δύο μέλη μιας σχέσης είναι μονογαμικό δεν μειώνεται η πιθανότητα μετάδοσης ενός σεξουαλικά μεταδιδόμενου νοσήματος.



Εικόνα 2.9: Σχηματική απεικόνιση των σεξουαλικών δικτύων (Sexual networks).

### 5. Συχνότητα αλλαγής ερωτικών συντρόφων

Έχει μελετηθεί ότι στις μονογαμικές νεαρές γυναίκες στις Η.Π.Α, το διάστημα μεταξύ δύο σχέσεων είναι περίπου 8-10 μήνες, διάστημα που δεν είναι αρκετό για τον οργανισμό να εξουδετερώσει την μόλυνση με τον HPV. Άρα ακόμα και μεταξύ των μονογαμικών σχέσεων υπάρχει πιθανότητα μετάδοσης του ιού [Drumright et al 2004, Kraut-Becher & Aral 2003, Burchell 2010].

## 2.8 Πρόληψη

Η σημαντικότερη παρέμβαση των επαγγελματιών υγείας σε ότι αφορά τα σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα αφορά στον τομέα της πρόληψης. Τόσο σε ατομικό επίπεδο όσο και σε κοινωνικό, στοιχεία της σεξουαλικής συμπεριφοράς παίζουν καθοριστικό ρόλο για τη μετάδοση και διασπορά των σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων.

## 2.9 Αντιμετώπιση

Προς το παρόν δεν υπάρχει θεραπεία κατά του HPV. Περίπου το 90% των HPV λοιμώξεων είναι αυτοϊάσιμες και έτσι οι θεραπευτικές προσπάθειες επικεντρώνονται στις αλλοιώσεις που προκαλεί ο ιός [IARC 2015]. Στις μέρες μας είναι διαθέσιμες αρκετές τεχνικές (π.χ κρυοθεραπεία, κωνοειδής εκτομή) και χημειοθεραπευτικά μέσα (podophylline, 5-FU, bleomycine), για τη θεραπεία των κονδυλωμάτων και των ενδοεπιθηλιακών αλλοιώσεων [IARC 2015]. Ορισμένες νεότερες μελέτες αναφέρονται στη θεραπεία με ιντερφερόνες, όπου τα αποτελέσματα είναι καλύτερα [Yang et al, 2009].

Πάντως ο πρωταρχικός στόχος είναι ο σωστός διαχωρισμός και η έγκαιρη αντιμετώπιση των αλλοιώσεων πριν εξελιχθούν σε διηθητικό καρκίνο του τραχήλου της μήτρας [IARC 2015]. Για αυτόν τον σκοπό οι γυναικολογικές εταιρίες του κόσμου προτείνουν ετήσιο έλεγχο του τραχήλου είτε με test Pap και με κολποσκόπηση όπου χρειάζεται, για όλες τις γυναίκες μεταξύ των 30 και 65 ετών [Arbyn et al, 2011].

## Κεφάλαιο 3:

# Τεχνικές ανίχνευσης και τυποποίησης μικροοργανισμών

---

### 3.1 Φαινοτυπικές και μοριακές τεχνικές χωρίς ενίσχυση

Παραδοσιακά η ταυτοποίηση των μικροοργανισμών γινόταν βάση των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών τους, για παράδειγμα οι δοκιμασίες αφομοίωσης θρεπτικών υλικών των βακτηρίων, η μορφολογία των μυκητιασικών αναπαραγωγικών οργάνων, η μορφολογία πρωτοζωικών και μεταζωικών παρασίτων και τα κυτταροπαθολογικά συμπτώματα των ιογενών νόσων. Μερικά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά είναι ειδικά για κάθε μικροοργανισμό, ωστόσο τα περισσότερα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά δεν παρέχουν επαρκή ευαισθησία για την ανίχνευση ούτε επαρκή ειδικότητα για την ταυτοποίηση και την τυποποίηση του στελέχους. Επίσης η τεχνική αυτή δεν μπορεί να εντοπίσει τις συνλοιμώξεις.

### 3.2 Τεχνικές κυκλικής ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων

Η μελέτη των νουκλεϊκών οξέων με την τεχνολογία ενίσχυσης άνοιξε νέες πόρτες στη μικροβιακή διάγνωση και τυποποίηση. Η ανακάλυψη της PCR επέτρεψε την ανάπτυξη μοριακών εργαλείων, τα οποία αποσκοπούν στη γενετική τυποποίηση, το χαρακτηρισμό και τη φυλογενετική ανάλυση των παθογόνων οργανισμών [Salis 2009].

Τέτοιες τεχνικές είναι η LMA (ligation-mediated amplification) και η TBA (transcription-based amplification). Στη συνέχεια αυτές οι τεχνικές εξελίχθηκαν περαιτέρω, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη νέων όπως η TMA (transcription-mediated amplification), η NASBA (nucleic acid sequence-based amplification), η LCR (ligase chain reaction), η SDA (strand displacement amplification), η LLA (linear linked amplification) και η LAMP (loop mediated isothermal amplification), που αποτελούν διαφορετικές προσεγγίσεις βελτιστοποίησης της ενίσχυσης των νουκλεϊκών οξέων [Simonsen et.al.2018].



### 3.3 Τεχνικές υβριδοποίησης

#### 3.3.1. Φθορίζων εντοπισμένος/επιτόπιος υβριδισμός.

Ο φθορίζων εντοπισμένος/επιτόπιος υβριδισμός (fluorescence in situ hybridization, FISH) είναι μια κυτταρογενετική-μοριακή τεχνική, η οποία χρησιμοποιεί DNA ή RNA ιχνηθέτες σημασμένους με φθοριοφόρο μόριο. Η τεχνική DNA-FISH χρησιμοποιείται κυρίως για την παρατήρηση μεμονωμένων γονιδίων, τμημάτων ή ολόκληρων χρωμοσωμάτων, η αποσαφήνιση ισοροπημένων ή μη μεταθέσεων, η αναγνώριση χρωματοσωμικών διπλασιασμών και ανασυνδυασμών. Οι παραλλαγές της FISH που αναπτύχθηκαν τα τελευταία χρόνια είναι η TSA-FISH (tyramide signal amplification) και η two-pass TSA-FISH που έχουν ακόμα μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα ανίχνευσης SNP, καθώς βασίζονται στη μέθοδο Real Time PCR [Amann & Fuchs 2008].

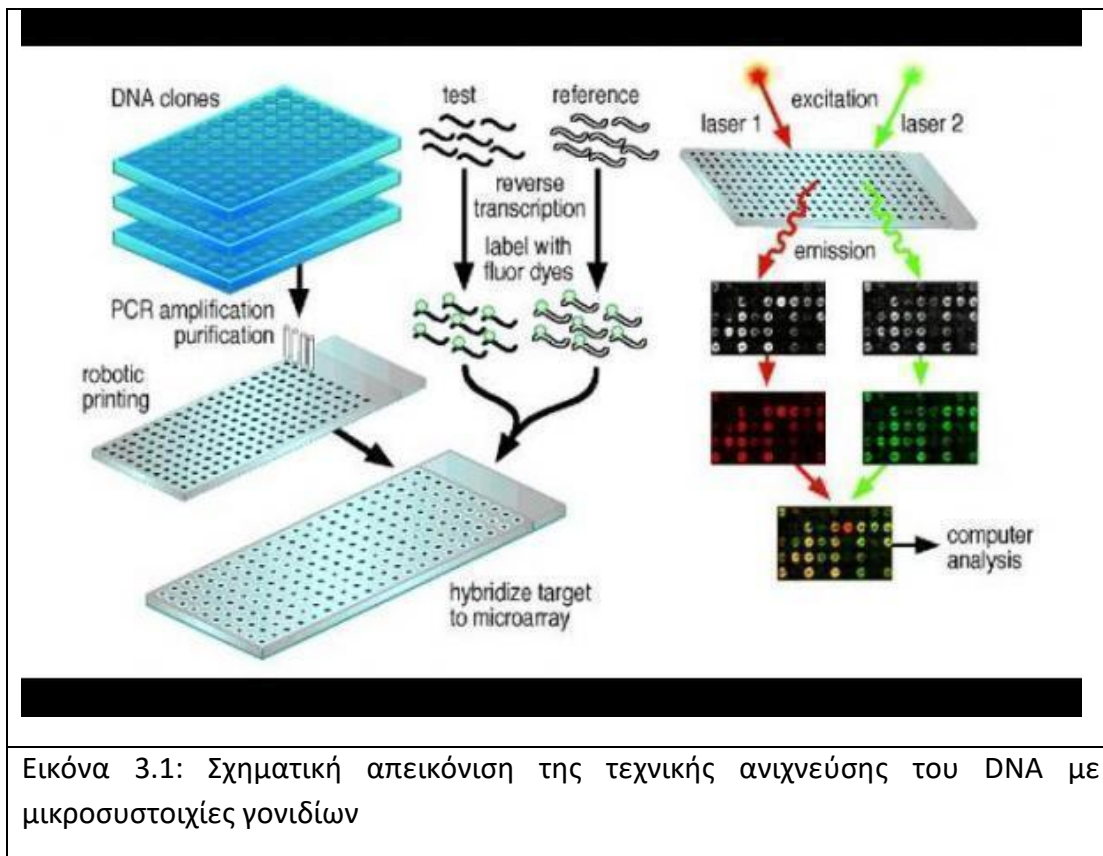
Για την πραγματοποίηση της μεθοδολογίας FISH χρησιμοποιούνται διάφοροι τύποι ιχνηθετών, όπως αυτοί των επαναλαμβανόμενων DNA αλληλουχιών, οι συνθετικοί DNA ιχνηθέτες, οι εξειδικευμένοι ιχνηθέτες συγκεκριμένων γονιδίων ή γενετικών τόπων (gene specific probes, locus specific probes, LSI) και, τέλος, οι ιχνηθέτες ολόκληρων χρωμοσωμάτων [Haroon et.al. 2013].

Η γενική διαδικασία για τη FISH περιλαμβάνει τη μονιμοποίηση των χρωμοσωμάτων ή των ιστών επάνω σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα. Το πρωτογενές υλικό στη συνέχεια έρχεται σε επαφή με χημικές ουσίες προκειμένου τα κύτταρα να καταστούν διαπερατά και να αποδιαταχθεί το DNA, έτσι ώστε ο ιχνηθέτης να μπορεί ευκολότερα να υβριδοποιηθεί με το υπόστρωμα-στόχο. Ο σημασμένος είτε με ραδιενέργεια είτε με φθορισμό ιχνηθέτης σχεδιάζεται ώστε να είναι συμπληρωματικός του νουκλεϊκού οξέος-στόχου. Για να καταστεί εφικτή η υβριδοποίηση, η αντικειμενοφόρος διαβρέχεται με διάλυμα που περιέχει το σημασμένο ιχνηθέτη. Η περίσσεια του ιχνηθέτη ξεπλένεται και στη συνέχεια ανιχνεύεται η θέση ή και η ύπαρξη του ιχνηθέτη με αυτοραδιογραφία, ανοσοκυτταροχημεία και μικροσκοπία. Τα σήματα των ιχνηθετών γίνονται ορατά με μικροσκόπιο φθορισμού χρησιμοποιώντας ειδικά φίλτρα για τον ακριβή διαχωρισμό των φθοριοχρωμάτων και πρόσφατα με τη χρήση ειδικών μηχανών λήψης (CCD), οι οποίες προσέδωσαν στην τεχνική FISH μεγάλη ευαισθησία, αλλά

και δυνατότητες ποσοτικής μέτρησης των εικόνων φθορισμού και ανίχνευσης σημάτων σε μήκη κύματος πέραν του ορατού, για το ανθρώπινο μάτι, φάσματος. Η FISH μπορεί να εφαρμοστεί σε κυτταρολογικό και βιοπτικό υλικό μετά από ειδική επεξεργασία [Haroon et.al. 2013].

### 3.4 Μικροσυστοιχίες γονιδίων

Οι μικροσυστοιχίες γονιδίων (ή αλλιώς γονιδιακό ή γενωμικό τσιπ, DNA chip είτε διάταξη γονιδίων) είναι μία διάταξη μικροσκοπικών σημείων που αντιπροσωπεύουν μοναδικά γονίδια και ακινητοποιούνται με ομοιοπολικούς δεσμούς σε μία στερεή επιφάνεια. Χρησιμοποιούνται για την ανάληψη του DNA ή χρησιμοποιούν DNA για το σύστημα ανίχνευσής τους [Churchill 2002].



Εικόνα 3.1: Σχηματική απεικόνιση της τεχνικής ανίχνευσης του DNA με μικροσυστοιχίες γονιδίων

Ποσοτικές ή ποιοτικές μετρήσεις με μικροσυστοιχίες γονιδίων εκμεταλλεύονται την εκλεκτική φύση της αρχής της συμπληρωματικότητας μεταξύ νουκλεϊκών οξέων DNA-DNA ή DNA-RNA ή πρόσφατα και μεταξύ των αμινοξέων των πρωτεϊνών, υπό αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας και με τη χρήση φθορίζουσων

ουσιών. Οι μικροσυστοιχίες γονιδίων χρησιμοποιούνται σήμερα για την εξέταση της γονιδιακής έκφρασης υπό ειδικές συνθήκες και για την ανίχνευση νουκλεϊκών οξέων παθογόνων οργανισμών π.χ. επιβλαβών ιών σε δείγματα ελέγχου [Sarwat & Yamdagni 2016].

Αυτή η μέθοδος μοριακής βιολογίας έχει το πλεονέκτημα ότι δύναται να εξετάζει ταυτόχρονα την έκφραση χιλιάδων γονιδίων, και ενδείκνυται για συγκριτικές μελέτες γονιδιωμάτων. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου έγκεινται στο υψηλό κόστος και στη συχνή ανακρίβεια των αποτελεσμάτων λόγω τεχνικών προβλημάτων όπως η μη ειδική υβριδοποίηση φθορίζουσων χρωστικών σε λάθος γονίδια [Berthet 2013]

#### 3.4.1 Τυποποίηση HPV με Microarrays

Η τυποποίηση του HPV με Microarrays αναλύεται στο κεφάλαιο 5.6

# ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## Κεφάλαιο 4: Σκοποί και στόχοι

---

### 4.1 Σκοπός

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω, ο ρόλος του HPV στον καρκίνο του μαστού παραμένει υπο αμφισβήτηση, ως εκ τούτου είναι απαραίτητη περαιτέρω έρευνα ώστε εάν αποδειχτεί ότι ο HPV σχετίζεται με τον καρκίνο του μαστού, θα πρέπει να σχεδιαστούν νέες, κυρίως προληπτικές αλλά και θεραπευτικές στρατηγικές. Σκοποί της έρευνας είναι:

1. Η ανίχνευση του HPV σε καρκίνους του μαστού
2. Ο προσδιορισμός βιολογικών δεικτών, μορφολογικών και μοριακών-παραγόντων πρόγνωσης (prognostic factors) και παραγόντων πρόβλεψης (predictive factors)
3. Σύγκριση των καρκίνων όπου θα εντοπισθεί ο ιός με τους καρκίνους όπου δεν θα εντοπισθεί

### 4.2 Στόχοι

Στόχος της έρευνας είναι να μελετήσει την πιθανή συσχέτιση του HPV με τον καρκίνο του μαστού, δίνοντας έμφαση τόσο στη μέθοδο συλλογής όσο και στην τεχνική επεξεργασία του δείγματος, ώστε να περιοριστεί όσο το δυνατόν η πιθανότητα επιμόλυνσης και τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα.

# Κεφάλαιο 5: Υλικό και μέθοδος

---

## 5.1 Κέντρα

Η έρευνα πραγματοποιήθηκε στις κλινικές:

- Δ' Πανεπιστημιακή Χειρουργική κλινική του ΠΓΝΑ "Αττικών" στο Γενικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο "Αττικών"
- Χειρουργική κλινική μαστού του Αντικαρκινικού Ογκολογικού Νοσοκομείου "Ο Άγιος Σάββας".

## 5.2 Ασθενείς

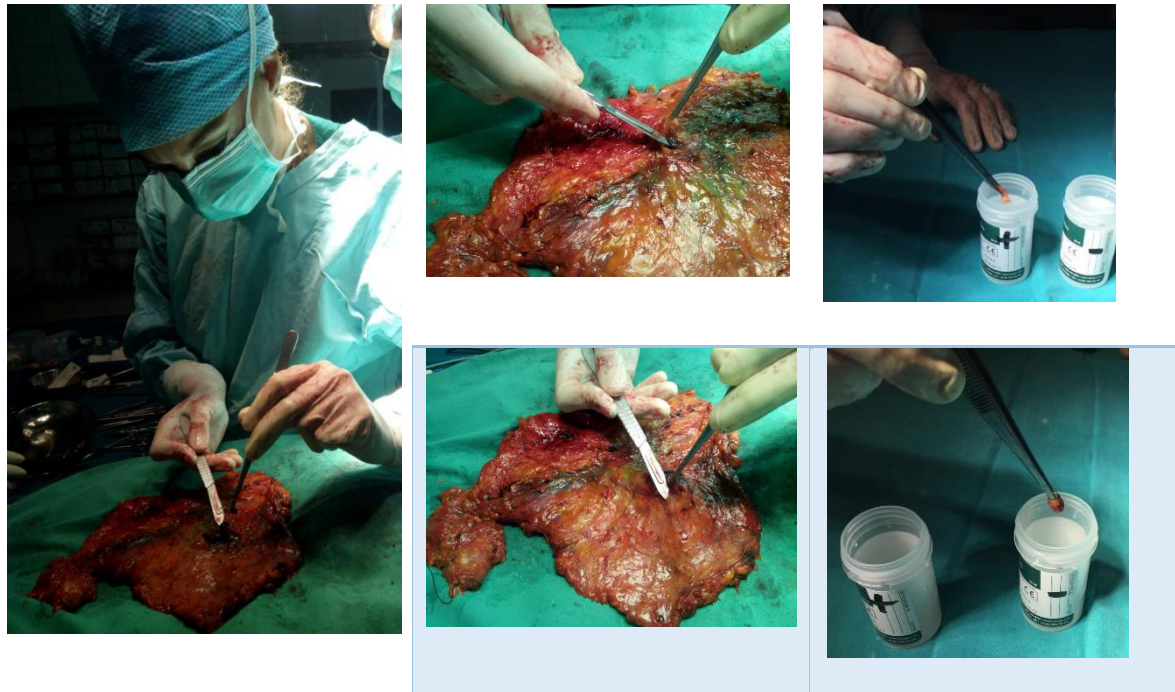
Το δείγμα της παρούσας έρευνας αποτελείται από ασθενείς με διαγνωσμένο καρκίνο του μαστού, ανεξαρτήτως τύπου(πορογενές, λοβιακό, DCIS, LCIS) (ομάδα έρευνας) και από ασθενείς με καλοήθεις συμπαγείς αλλοιώσεις του μαστού (ομάδα ελέγχου). Από τον Απρίλιο του 2013 έως τον Ιούνιο του 2016 εντοπίστηκαν 201 ασθενείς που πληρούσαν τις προϋποθέσεις ένταξης στο πρωτόκολλο της έρευνας. Ο μέσος όρος ηλικίας είναι τα 59,7 έτη. Τα χαρακτηριστικά του δείγματος φαίνονται αναλυτικά στον πίνακα 6.1

## 5.3 Μέθοδος

Από όλες τις γυναίκες, προ του χειρουργείου, έγινε λήψη αναλυτικού ιατρικού και οικογενειακού ιστορικού, με ιδιαίτερη έμφαση στους παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου του μαστού, καθώς και ιστορικό παλαιότερης HPV λοίμωξης. Η λήψη του ιστορικού έγινε με μορφή συνέντευξης από την ερευνήτρια. Το ερωτηματολόγιο που χρησιμοποιήθηκε περιγράφεται στο κεφάλαιο 5.9 και παρατίθεται στο παράρτημα 1. Στην συνέχεια από τον ιατρικό φάκελο της ασθενούς καταγράφηκαν τα κλινικά, απεικονιστικά και εργαστηριακά ευρήματα.

Διεγχειρητικά, από κάθε ασθενή ελήφθησαν 2 δείγματα από το χειρουργικό παρασκεύασμα, ένα από την αλλοίωση και ένα από τον παρακείμενο υγιή ιστό. Η λήψη πραγματοποιήθηκε υπό άσηπτες συνθήκες. Η ερευνήτρια φορώντας αποστειρωμένα γάντια και με τη χρήση καινούργιου αποστειρωμένου νυστεριού

πραγματοποίησε της λήψης αμέσως μετά την εξαίρεση του παρασκευάσματος. Κατά αυτό τον τρόπο μειώθηκε η πιθανότητα επιμόλυνσης του δείγματος. Τα δείγματα στην συνέχεια τοποθετούνταν για συντήρηση σε φιαλίδια υγρής κυτταρολογίας (ThinPrep®).



**Εικόνα 5.1: Διαδικασία λήψης δείγματος**

Στα περιστατικά όπου εντοπίσθηκε θετικός λεμφαδένας φρουρός ελήφθη ένα επιπλέον δείγμα με την ίδια διαδικασία αλλά για πρακτικού λόγους η λήψη έγινε στο παθολογοανατομικό εργαστήριο, αφού πρώτα επιβεβαιωνόταν η παρουσία μεταστατικής διήθησης. Όλα τα δείγματα εστάλησαν για αποθήκευση και επεξεργασία στο ιολογικό εργαστήριο. Ο μέγιστος χρόνος συντήρησης των δειγμάτων μέχρι την επεξεργασία τους δεν ξεπέρασε τις 8 μέρες. Ο έλεγχος έγινε με την τεχνική PCR. Αναλυτικά η τεχνική περιγράφεται στο κεφάλαιο 5.6.

Μετα το χειρουργείο έγινε αναλυτική καταγραφή, των ιστολογικών ευρημάτων (τύπος, grade, ορμονικοί υποδοχείς κλπ), του σταδίου της νόσου καθώς και το πόρισμα του ογκολογικού συμβουλίου για το πλάνο της θεραπείας μετά την επέμβαση. Τέλος από όλες τις ασθενείς έγινε λήψη κολποτραχηλικού επιχρίσματος, το υλικό αποθηκεύτηκε σε φιαλίδια υγρής κυτταρολογίας (ThinPrep®) που επίσης

υπέστη επεξεργασία για τον εντοπισμό του HPV. Η λήψη έγινε είτε πριν το χειρουργείο είτε κατά την έξοδο της ασθενούς ανάλογα με το πρόγραμμα των εξετάσεων κάθε ασθενούς.

#### **5.4 Θέματα Ηθικής και Δεοντολογίας**

Το Ερευνητικό πρωτόκολλο κατατέθηκε και εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας των Νοσοκομείων όπου έγινε η διεξαγωγή της έρευνας. Επίσης ενημερώθηκαν: ο Διευθυντής Ιατρός και η Προϊσταμένη Νοσηλεύτρια του Τμήματος που διεξαχθεί η μελέτη και εξασφαλίστηκε η συναίνεσή τους για την έρευνα.

Για την ένταξη των ασθενών στο πρωτόκολλο εξασφαλίστηκε η ενυπόγραφη συναίνεσή τους. Σε περίπτωση άρνησης της ασθενούς για συμμετοχή στη μελέτη, αυτό δε θα γινόταν γνωστό σε κανένα από τα μέλη της θεραπευτικής ομάδας (ιατρούς ή νοσηλεύτες) και δε θα είχε καμία επίπτωση στην περαιτέρω φροντίδα του. Επίσης εξασφαλίστηκε η ανωνυμία και εμπιστευτικότητα των στοιχείων που συλλέχθηκαν και δεν γνωστοποιήθηκαν σε καμία φάση της μελέτης. Αμέσως μετά την ολοκλήρωση της μελέτης, τόσο τα δείγματα όσο και τα στοιχεία θα διατηρηθούν για τουλάχιστον 3 χρόνια. Προκειμένου να εξασφαλισθεί η ανωνυμία, κάθε ασθενής συστοιχίστηκε με έναν κωδικό αριθμό, ο οποίος χρησιμοποιήθηκε σε όλα τα στάδια καταγραφής, επεξεργασίας και ανάλυσης των στοιχείων.

Η διαχείριση και η διασφάλιση του απορρήτου των προσωπικών δεδομένων των εξεταζομένων έγινε βάσει των διατάξεων των άρθρων 16 της Συνθήκης για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης (ΣΛΕΕ) και 7 και 8 του Χάρτη των Θεμελιωδών Δικαιωμάτων της ΕΕ.

#### **5.5 Κριτήρια επιλογής – αποκλεισμού**

Στο πρωτόκολλο μπορούσαν να ενταχθούν όλες οι γυναίκες με διαγνωσμένο καρκίνο του μαστού ανεξαρτήτως σταδίου και ασθενείς με καλοήθεις συμπαγείς αλλοιώσεις του μαστού. Οι ηλικίες που συμπεριλήφθηκαν είναι από 18-70ετών.

Κριτήρια αποκλεισμού της παρούσας έρευνας είναι η ηλικία των ασθενών μεγαλύτερη από 80 έτη, υποτροπή καρκίνου μαστού καθώς και προηγηθείσα χημειοθεραπεία/ακτινοθεραπεία.

## 5.6 Τεχνική επεξεργασίας

Πολλές τεχνικές ανίχνευσης έχουν αναπτυχθεί κατά τα τελευταία χρόνια για την ανίχνευση και τυποποίηση του DNA του HPV (κεφάλαιο 3) τα τελευταία χρόνια έχει επικρατήσει η τεχνική με την χρήση των μικροσυστοιχιών (Microarrays).

Για να πραγματοποιηθεί αυτή η τεχνική, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια υγρής κυτταρολογίας και πραγματοποιείται η διαδικασία απομόνωσης του DNA. Η διαδικασία ανίχνευσης του DNA του ιού, η τυποποίηση των HPV γονότυπων και ο προσδιορισμός των ογκοπρωτεϊνών απαιτούσε μια διαδικασία 3<sup>ων</sup> σταδίων:

- Στάδιο 1: Απομόνωση κυτταρικού εγχύματος από τα δείγματα
- Στάδιο 2: Απομόνωση νουκλεϊκών οξέων
- Στάδιο 3: Υβριδοποίηση του προϊόντος PCR σε ακινητοποιημένες μικροσυστοιχίες DNA χαρακτηριστικές για κάθε τύπο HPV, χρήση ειδικού σαρωτή (scanner) για την ανίχνευση φθορισμού στις αλληλουχίες που υβριδοποιήθηκαν και κατάλληλο λογισμικό για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Τα στάδια 1 και 2 περιγράφονται μαζί γιατί αποτελούν τμήμα κοινής και αυτοματοποιημένης διαδικασίας στο εργαστήριο.

### Στάδιο 1 και 2: Απομόνωση κυτταρικού εγχύματος από τα δείγματα και απομόνωση νουκλεϊκών οξέων

Η απομόνωση του DNA έγινε σύμφωνα με την μέθοδο απομόνωσης Boom χρησιμοποιώντας τον Nuclisens Extractor (bioMerieux) και το πρωτόκολλο για την αυτοματοποιημένη απομόνωση.

Αρχικά 5ml διαλύματος κυττάρων από το ThinPrep φυγοκεντρήται ώστε να προκύψει 1ml ιζήματος κυττάρων από όπου θα απομονωθεί το DNA. Στη συνέχεια το ίζημα τοποθετήθηκε σε lysis buffer ώστε να γίνει λύση της κυτταρικής



μεμβράνης. Το DNA εκλείεται σε 55μl διαλύματος έκλουσης (1mmol/L Tris-HCl pH) και αποθηκεύεται στους  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Η μέθοδος που ακολουθεί βασίζεται στο μαγνητικό πυρίτιο.



Εικόνα 5.2: Boom Technology (πηγή: [www.biomerieux.com](http://www.biomerieux.com))

- Τα δείγματα λύνονται στο buffer λύσης που περιέχει χαστροπικό παράγοντα θειοκυανικό άλας γουανίνης (GuSCN). Τα κύτταρα, και οι ιοί που είναι παρόντες στο δείγμα λύνονται και οι πρωτεΐνες όπως ο νουκλεάσες μετουσιώνονται. Τα νουκλειικά οξέα (RNA και DNA) απελευθερώνονται και προσδένονται σε μόρια πυριτίου.
- Ακολουθούν πολλά πλυσίματα με wash buffers
- Τελικά τα νουκλειικά οξέα εκχυλίζονται από τα μόρια του πυριτίου. Το εκχυλισμα είναι υψηλής καθαρότητας και πυκνότητας για ακολουθούμενες ενίσχυσης, αλληλούχισεις και άλλες μοριακές διαγνωστικές μεθόδους

Πρωτόκολλο απομόνωσης νουκλειικών οξέων

1. Καλή ανάδευση του δείγματος στο διάλυμα ThinPrep®
2. Μεταφορά 5ml στο διάλυμα σε καθαρό falcon 15ml
3. Φυγοκέντριση δειγμάτων για 10 λεπτά στις 2000 στροφές το λεπτό
4. Απομάκρυνση του υπερκείμενου ώστε να παραμείνει 1ml διαλύματος
5. Επαναδιαλυτοποίηση ιζήματος

6. Μεταφορά διαλύματος κυττάρων στο lysis buffer και σφράγισμα του tube
7. Καλή ανάδευση
8. Τα δείγματα μένουν σε θερμοκρασία δωματίου για τουλάχιστον 10 λεπτά
9. Προετοιμασία οργάνου απομόνωσης
10. Μεταφορά λυμένων δειγμάτων στα δοχεία του οργάνου (vessel)
11. Προετοιμασία προμίγματος: προσθήκη 550μl αραιωτικού προμίγματος
12. Καλή ανάδευση
13. Μεταφορά 100μl από το παραπάνω διάλυμα σε κάθε δείγμα που βρίσκεται στα vessel
14. Με την ολοκλήρωση της διαδικασίας απομονώνονται περίπου 55-60μl νουκλεϊκά οξέα

### Στάδιο 3: Υβριδοποίηση του προϊόντος PCR σε ακινητοποιημένες μικροσυστοιχίες

Το PapiloCheck HPV-Screening Test (Greiner Bio-One GmbH Frickenhausen, Germany) είναι ένα DNA σύστημα μικροσυστοιχιών (microarray) βασισμένο στην μέθοδο PCR για την ανίχνευση και ταυτοποίηση 24 γενοτύπων HPV, συμπεριλαμβανομένων 15 τύπων υψηλού κινδύνου (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82), 2 πιθανώς υψηλού κινδύνου (53, 66) και 7 τύπων χαμηλού κινδύνου (6, 11, 40, 42, 43, 44, 70). Κάθε πλακάκι περιλαμβάνει 12 υπερυψωμένα κελιά όπου περιέχει μία μικροσυστοιχία με 28 πρόδρομα μόρια σε 5 αντίγραφα σημεία (κηλίδες). Αυτά τα 140 σημεία είναι τοποθετημένα σε διάταξη 10X14 σε μια περιοχή περίπου 10mm<sup>2</sup>.

Η αρχή της δοκιμασίας βασίζεται στην ανίχνευση ενός θραύσματος του γονιδίου E1 του HPV. Ιικό και ανθρώπινο DNA απομονώνονται από και από το δείγμα καρκίνου του μαστού/υγιούς ιστού και μεταστατικού λεμφαδένα. Στη συνέχεια ένα θραύσμα DNA 350 περίπου νουκλεοτιδίων του γονιδίου E1 πολλαπλασιάζεται με την παρουσία συγκεκριμένων εκκινητών (primers) με την αλυσιδωτή αντίδραση πολμεράσης (PCR). Οι ίδιοι εκκινητές παράγουν επίσης ένα προϊόν PCR από το πρότυπο ελέγχου PCR, το οποίο βρίσκεται στο PapiloCheck MasterMix. Επιπρόσθετα, ένα θραύσμα από ανθρώπινο γονίδιο ADAT1 πολλαπλασιάζεται και σημαίνεται με την φθορίζουσα χρωστική ουσία Cy5 στην ίδια αντίδραση.

Έπειτα τα προϊόντα της αντιγραφής υβριδοποιούνται με συγκεκριμένους ανιχνευτές που βρίσκονται ακινητοποιημένο DNA chip. Κάθε τύπος HPV ανιχνεύεται από έναν συγκεκριμένο ανιχνευτή, ο οποίος βρίσκεται σε 5 μικροσκοπικά σημεία σε κάθε συστοιχία. Κατά τη διάρκεια των επακόλουθων σταδίων πλυσίματος μη ειδικά προσδεμένα προϊόντα. Η σήμανση με φθορίζουσα ουσία λαμβάνει μέρος κατά τη διάρκεια της PCR και το στάδιο του υβριδισμού. Μετά τον υβριδισμό και την επακόλουθη έκπλυση το PapilloCheck DNA chip σαρώνεται με το CheckScanner σε μήκη κύματος 532 και 635 nm. Το φως του φθορισμού από τα προσδεμένα και σημασμένα προϊόντα ανιχνεύεται ύστερα από διέγερση με μονοχρωματικό φως. Με το λογισμικό ανάλυσης CheckReport γίνεται η σάρωση η αξιολόγηση και η ανάλυση των αποτελεσμάτων.

#### Σημεία ελέγχου σε κάθε πλακάκι

Σε κάθε πηγάδι υπάρχουν επίσης σε 5 αντίγραφα διαφορετικά σημεία (control) που ελέγχουν τα διάφορα στάδια της όλης διαδικασίας ( απομόνωση, ενίσχυση, υβριδισμός και προσανατολισμός του δείγματος) Αυτά τα σημεία ελέγχου πρέπει να δίνουν θετικό σήμα και τα πέντε τόσο στο μήκος κύματος των 532 όσο και των 635 nm. Αποτέλεσμα παίρνουμε μόνο εφόσον όλα τα control είναι έγκυρα.

#### Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)

Σε αυτή τη φάση γίνεται αντιγραφή ες θραύσματος DNA 350 περίπου νουκλεοτιδίων του γονιδίου E1 το οποίο πολλαπλασιαζεται με την παρουσία συγκεκριμένων εκκινιτών με την PCR. Η PCR διεξάγεται σε ολικό όγκο 25 μl χρησιμοποιώντας 0.2 ml σωληνάκια αντίδρασης PCR με λεπτά τοιχώματα.

#### Υβριδισμός και πλυσίματα

Αναμειγνύουμε 30 μl από το PapilloCheck διάλυμα υβριδισμού σε ένα σωληνάκι αντίδρασης με 5ml από το προϊόν της PCR σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολουθεί γρήγορη φυγοκέντριση και κατόπιν μεταφέρονται 25 μl μείγματος σε κάθε πηγαδάκι στο πλακάκι. Επωάζουμε το πλακάκι για ακριβώς 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.

Ξεπλένουμε το πλακάκι σε θερμοκρασία δωματίου στο διάλυμα πλυσίματος για 10 δευτερόλεπτα. Στη συνέχεια ακολουθεί έκπλυση του πλακιδίου για 60

δευτερόλεπτα στους 50 βαθμούς. Τέλος κάνουμε έκπλυση του chip σε θερμοκρασία δωματίου, απομακρύνουμε την υγρασία από την επιφάνεια του chip. Και μετά είναι έτοιμο να σαρωθεί .

## 5.7 Φύλαξη και συντήρηση

Το σύνολο των δειγμάτων τοποθετήθηκε πριν και μετά την επεξεργασία σε φιαλίδιο με ειδικό συντηρητικό υγρό (Thin Prep®). Η συντήρηση έγινε βάση των οδηγιών της κατασκευάστριας εταιρίας. Κάθε φιαλίδιο αποθηκεύτηκε σε σκιερό μέρος σε θερμοκρασία δωματίου. Υπό αυτές τις συνθήκες τα κύτταρα και ο HPV διατηρούνται για αρκετούς μήνες.

## 5.8 Ερωτηματολόγιο

Για τη σφαιρική καταγραφή των ασθενών, παράλληλα, με τα δείγματα ιστού καταγράφηκαν συγκεκριμένα στοιχεία από το ιστορικό. Οι ασθενείς προ του χειρουργείου έλαβαν ένα ερωτηματολόγιο 30 ερωτήσεων που συμπληρώθηκε μετά από συνέντευξη. Τα δεδομένα που καταγράφηκαν με το ερωτηματολόγιο φαίνονται στον πίνακα 5.1. Το πλήρες ερωτηματολόγιο παρατίθεται στο παράρτημα.

**Πίνακας 5.1 :Δεδομένα που καταγράφονται για κάθε ασθενή**

### Στοιχεία ιστορικού

- Παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση καρκίνου του μαστού
- Καταγραφή δημογραφικών δεδομένων (ηλικία, εθνικότητα, ατομικό και κληρονομικό αναμνηστικό).
- Γυναικολογικό ιστορικό (εμμηνουρσιακή κατάσταση, κύηση, αντισυλληπτικές θεραπείες.)

### Test- Pap

- Πρόσφατο τεστ Παπ

### Προσδιορισμός προγνωστικών παραγόντων

- Ιστολογικός τύπος του όγκου
- Κατάσταση των σύστοιχων μασχαλιαίων λεμφαδένων
- Μέγεθος του όγκου
- Βαθμός διαφοροποίησης του όγκου
- Κλινική σταδιοποίηση κατά TNM (Tumor, Node, Metastasis)
- Κατάσταση των υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης

## 5.9 Στατιστική ανάλυση

Οι μέσες τιμές (mean), οι τυπικές αποκλίσεις (Standard Deviation=SD) και οι διάμεσοι (median) και τα ενδοτεταρτημοριακά εύρη (interquartile range) χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των ποσοτικών μεταβλητών. Οι απόλυτες (N) και οι σχετικές (%) συχνότητες χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των ποιοτικών μεταβλητών. Για τη σύγκριση αναλογιών χρησιμοποιήθηκε το Pearson's  $\chi^2$  test ή το Fisher's exact test όπου ήταν απαραίτητο. Για τη σύγκριση ποσοτικών μεταβλητών μεταξύ δυο ομάδων χρησιμοποιήθηκε το Student's t-test ή το μη παραμετρικό κριτήριο Mann-Whitney. Τα επίπεδα σημαντικότητας είναι αμφίπλευρα και η στατιστική σημαντικότητα τέθηκε στο 0,05. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 19.0.

## Κεφάλαιο 6: Αποτελέσματα

### 6.1 Αποτελέσματα

Το δείγμα αποτελείται από 201 γυναίκες με μέση ηλικία τα 59,7 έτη ( $SD=13,8$  έτη). Στον πίνακα 6.1 που ακολουθεί δίνονται δημογραφικά στοιχεία των συμμετεχουσών.

Πίνακας 6.1: δημογραφικά στοιχεία των συμμετεχουσών	
	N (%)
Ηλικία, μέση τιμή (SD)	59,7 (13,8)
Κάπνισμα	
Όχι	93 (46,3)
Ναι	108 (53,7)
Μορφωτικό επίπεδο	
Πρωτοβάθμια	123 (61,2)
Δευτεροβάθμια	70 (34,8)
Τριτοβάθμια	8 (4,0)
Επαγγελματική κατάσταση	
Εργαζόμενη	40 (19,9)
Άνεργη	19 (9,5)
Οικιακά	82 (40,8)
Συνταξιούχος	60 (29,9)
Οικογενειακή κατάσταση	
Έγγαμη	142 (70,6)
Σε σταθερή σχέση	8 (4,0)
Σε ευκαιριακή σχέση	5 (2,5)
Χωρίς σχέση	6 (3,0)
Διαζευγμένη	12 (6,0)
Χήρα	28 (13,9)

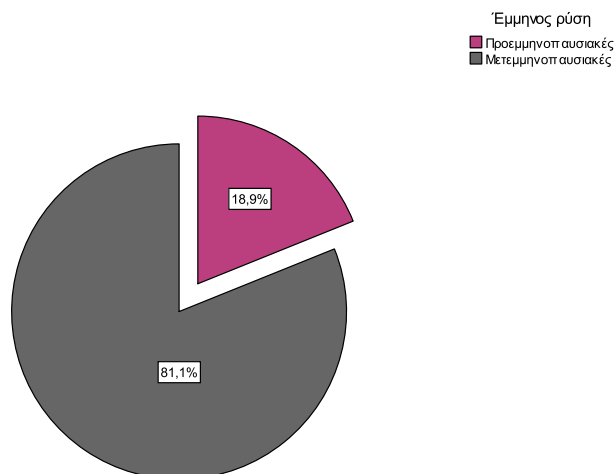
Το 53,7% των συμμετεχουσών κάπνιζε. Η πλειονότητα των συμμετεχουσών ήταν πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης με το ποσοστό να φτάνει το 61,2%. Το 40,8% των συμμετεχουσών ασχολούνταν με τα οικιακά και το 70,6% ήταν έγγαμες.

Στοιχεία από το γυναικολογικό ιστορικό των συμμετεχουσών δίνονται στον ακόλουθο πίνακα.

<b>Πίνακας 6.2: Στοιχεία από το γυναικολογικό ιστορικό των συμμετεχουσών</b>	
	<b>N (%)</b>
Ηλικία 1ης σεξουαλικής επαφής, μέση τιμή (SD)	<b>20,9 (2,7)</b>
Ηλικία εμμηναρχής, μέση τιμή (SD)	<b>12,9 (1,2)</b>
Έμμηνος ρύση	
<b>Προεμμηνοπαυσιακές</b>	<b>38 (18,9)</b>
<b>Μετεμμηνοπαυσιακές</b>	<b>163 (81,1)</b>
Αντισυλληπτικά	
<b>Όχι</b>	<b>193 (96,0)</b>
<b>Ναι</b>	<b>8 (4,0)</b>
Αριθμός κυήσεων, διάμεσος (ενδ. εύρος)	<b>2 (1 - 2)</b>
Αριθμός τοκετών, διάμεσος (ενδ. εύρος)	<b>2 (1 - 2)</b>
Θηλασμός	
<b>Όχι</b>	<b>46 (22,9)</b>
<b>Ναι</b>	<b>155 (77,1)</b>
Διάστημα θηλασμού	
<b>Λιγότερο από 3 μήνες</b>	<b>10 (6,5)</b>
<b>3 έως 6 μήνες</b>	<b>118 (76,1)</b>
<b>Περισσότερο από 6 μήνες</b>	<b>27 (17,4)</b>
Τεστ Παπ	
<b>&lt;1 έτος</b>	<b>30 (14,9)</b>
<b>1-3 έτη</b>	<b>113 (56,2)</b>
<b>&gt;3 έτη</b>	<b>58 (28,9)</b>
Άλλες γυναικολογικές παθήσεις	
<b>Όχι</b>	<b>201 (100,0)</b>
Άλλες επεμβάσεις	
<b>Όχι</b>	<b>186 (92,5)</b>
<b>Επεμβάσεις τραχήλου</b>	<b>15 (7,5)</b>
Οικογενειακό ιστορικό	
<b>Όχι</b>	<b>147 (73,1)</b>
<b>Ναι</b>	<b>54 (26,9)</b>

Η μέση ηλικία πρώτης σεξουαλικής επαφής ήταν τα 20,9 έτη (SD=2,7 έτη) και η μέση ηλικία εμμηναρχής ήταν τα 12,9 έτη (SD=1,2 έτη). Οι περισσότερες από τις συμμετέχουσες ήταν μετεμμηνοπαυσιακές με το ποσοστό να είναι 81,1%. Αντισυλληπτικά έπαιρνε το 4,0% των συμμετεχουσών. Ο διάμεσος αριθμός κυήσεων και τοκετών ήταν 2 (1-2). Το 77,1% των συμμετεχουσών είχαν θηλάσει και το 56,2% αυτών είχε θηλάσει 3 έως 6 μήνες. Καμία από τις συμμετέχουσες δεν είχε κάποια άλλη γυναικολογική πάθηση ενώ το 92,5% δεν είχε κάνει κάποια άλλη επέμβαση. Το 26,9% των συμμετεχουσών είχε οικογενειακό ιστορικό.

Στο γράφημα που ακολουθεί δίνεται η φάση της έμμηνου ρύσης που βρίσκονται οι συμμετέχουσες.



**Γράφημα 6.1: φάση της έμμηνου ρύσης που βρίσκονται οι συμμετέχουσες**

Στον παρακάτω πίνακα δίνονται στοιχεία σχετικά με την HPV λοίμωξη των συμμετεχουσών.

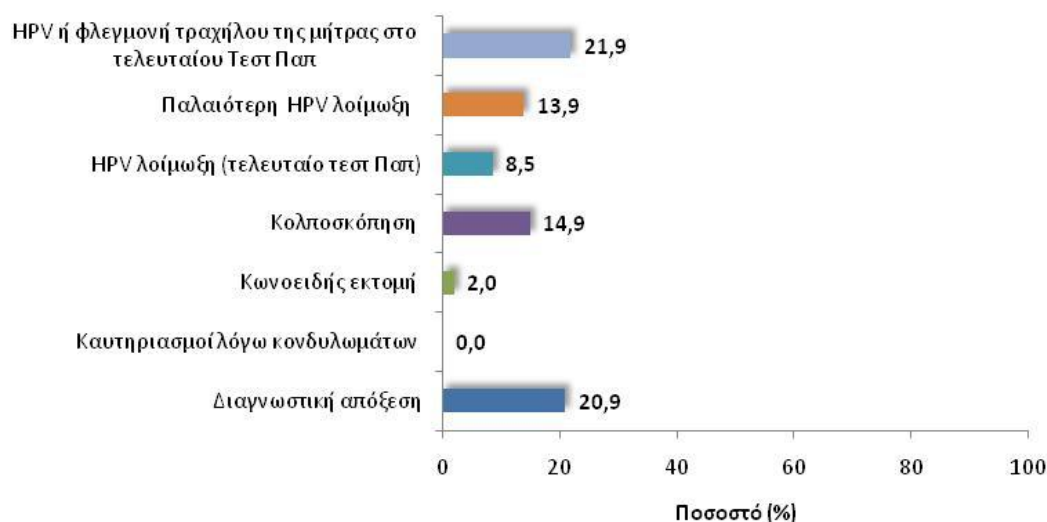
Πίνακας 6.3: Στοιχεία σχετικά με την HPV λοίμωξη των συμμετεχουσών	
	N (%)
HPV ή φλεγμονή τραχήλου της μήτρας στο τελευταίου Τεστ Παπ	44 (21,9)
Παλαιότερη HPV λοίμωξη	28 (13,9)
HPV λοίμωξη (τελευταίο τεστ Παπ)	17 (8,5)
Κολποσκόπηση	30 (14,9)
Κωνοειδής εκτομή	4 (2,0)
Καυτηριασμοί λόγω κονδυλωμάτων	0 (0,0)
Διαγνωστική απόξεση	42 (20,9)

Το 21,9% των συμμετεχουσών είχε HPV ή φλεγμονή τραχήλου της μήτρας στο τελευταίο Τεστ Παπ και το 13,9% είχε παλαιότερη HPV λοίμωξη. Στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ το 8,5% είχε HPV λοίμωξη. Επίσης, κολποσκόπηση είχε κάνει το 14,9%,



κωνοειδή εκτομή το 2,0% το 20,9% διαγνωστική απόξεση ενώ καμία δεν είχε κάνει καυτηριασμούς λόγω κονδυλωμάτων.

Στο ακόλουθο γράφημα δίνονται στοιχεία σχετικά με την HPV λοίμωξη των συμμετεχουσών.



**Γράφημα 6.2: στοιχεία σχετικά με την HPV λοίμωξη των συμμετεχουσών**

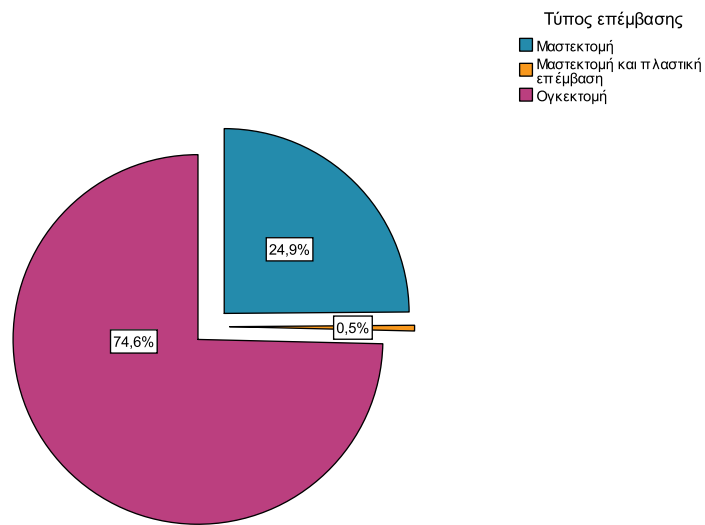
Στον πίνακα που ακολουθεί δίνεται η θεραπεία για τον Ca μαστού των συμμετεχουσών.

**Πίνακας 6.4: Θεραπεία για τον Ca μαστού των συμμετεχουσών**

	N (%)
Τύπος επέμβασης	
<b>Μαστεκτομή</b>	50 (24,9)
<b>Μαστεκτομή και πλαστική επέμβαση</b>	1 (0,5)
<b>Ογκεκτομή</b>	150 (74,6)
Συμπληρωματική θεραπεία	
<b>ΧΜΘ</b>	147 (73,1)
<b>Ακτινοθεραπεία</b>	16 (8,0)
<b>Ορμονοθεραπεία</b>	36 (17,9)
<b>Όχι</b>	2 (1,0)

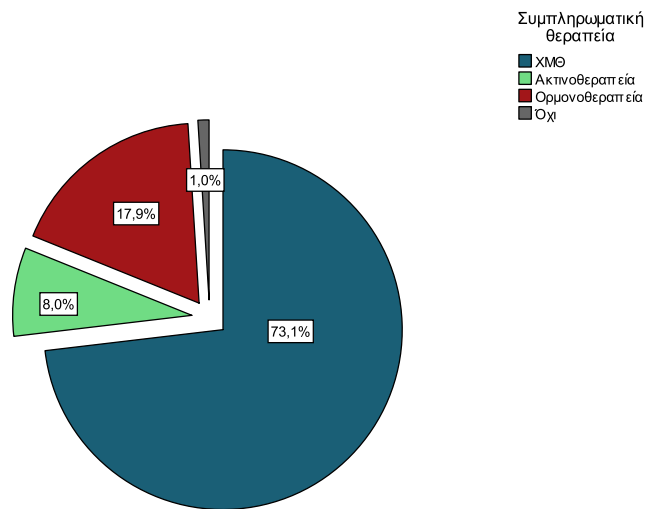
Το 74,6% των συμμετεχουσών είχε κάνει ογκεκτομή και το υπόλοιπο 25,4% είχε κάνει μαστεκτομή. Το 73,1% των συμμετεχουσών είχε κάνει χημειοθεραπεία και το 17,9% είχε κάνει ορμονοθεραπεία. Ο έλεγχος για HPV στον ιστό από τον όγκο που αφαιρέθηκε δεν ανέδειξε κανένα θετικό δείγμα.

Στο γράφημα που ακολουθεί δίνεται ο τύπος επέμβασης των συμμετεχουσών.



**Γράφημα 6.3: ο τύπος επέμβασης των συμμετεχουσών**

Στο γράφημα που ακολουθεί δίνεται συμπληρωματική θεραπεία που πήραν οι συμμετέχουσες.



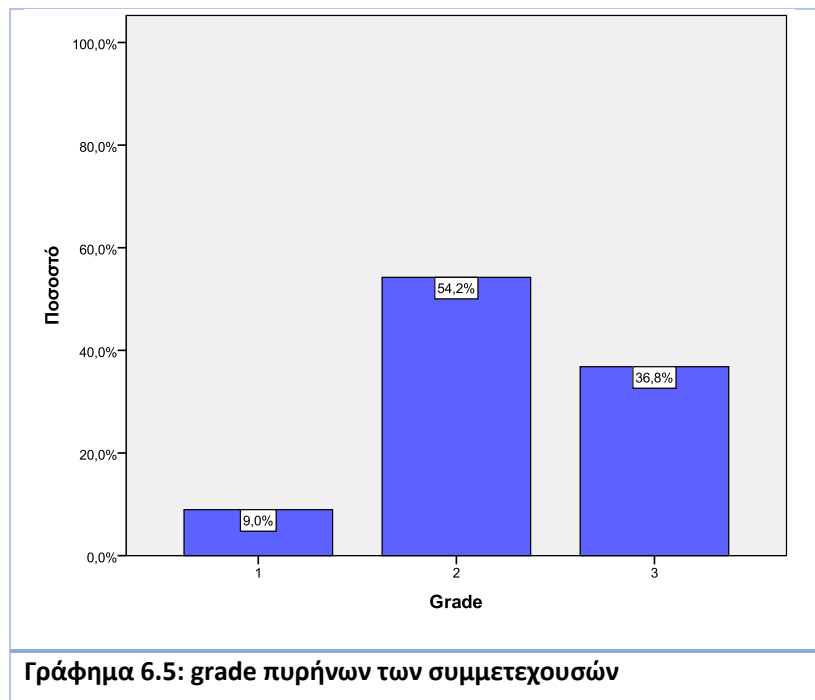
**Γράφημα 6.4: συμπληρωματική θεραπεία που πήραν οι συμμετέχουσες**

Στον πίνακα που ακολουθεί δίνονται τα κλινικά χαρακτηριστικά της παρούσας νόσου των συμμετεχουσών. Το 72,1% των συμμετεχουσών είχε πορογενές καρκίνωμα και το 13,9% είχε in situ. Οι περισσότερες από τις μισές συμμετέχουσες είχαν grade 2 με το ποσοστό να φτάνει το 54,2%. Μεταστάσεις σε λεμφαδένες είχε το 43,8%. Θετικό C-erb-B2 είχε το 33,8%, θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς το 79,6% και θετικούς προγεστερικούς υποδοχείς το 62,2% ενώ το 14,4% ήταν αρνητικό και στα 3 παραπάνω χαρακτηριστικά. Η μέση τιμή του Κί67 ήταν 20,8 μονάδες (SD=15,5 μονάδες). Το 53,8% των συμμετεχουσών είχε T 2 και το 34,6% είχε 1. Ακόμα, το 57,7% των συμμετεχουσών είχε N 0 και το 29,9% είχε 1.

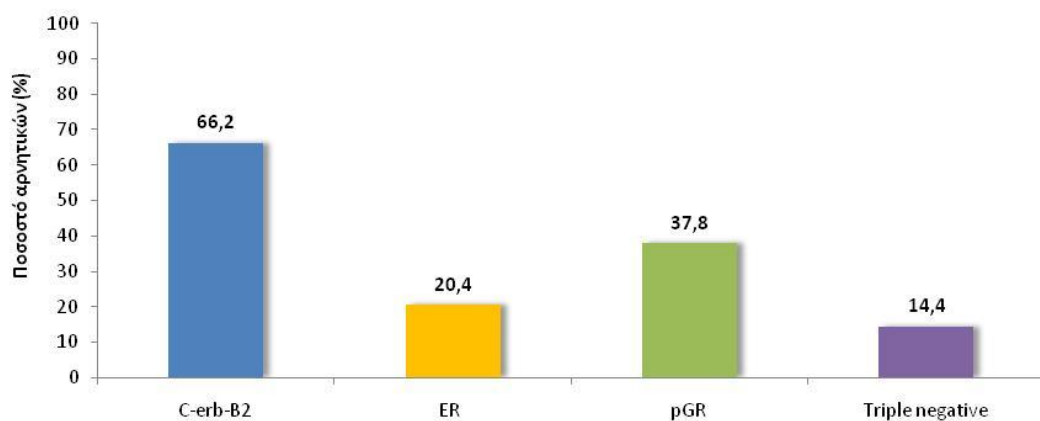
**Πίνακα 6.5: κλινικά χαρακτηριστικά της παρούσας νόσου των συμμετεχουσών**

	<b>N (%)</b>
Τύπος	
<b>In situ</b>	28 (13,9)
<b>ADH</b>	1 (0,5)
<b>Βλενώδες</b>	4 (2,0)
<b>Λοβιακό</b>	20 (10,0)
<b>Μικτό</b>	2 (1,0)
<b>Μικροδιηθητικό</b>	1 (0,5)
<b>Πορογενές</b>	145 (72,1)
Grade	
<b>1</b>	18 (9,0)
<b>2</b>	109 (54,2)
<b>3</b>	74 (36,8)
Μεταστάσεις σε λεμφαδένες	
<b>Όχι</b>	113 (56,2)
<b>Ναι</b>	88 (43,8)
C-erb-B2	
<b>Αρνητικό</b>	133 (66,2)
<b>Θετικό</b>	68 (33,8)
ER, μέση τιμή (SD)	1,9 (1,1)
ER	
<b>Αρνητικό</b>	41 (20,4)
<b>Θετικό</b>	160 (79,6)
PR, μέση τιμή (SD)	1,3 (1,2)
pGR	
<b>Αρνητικό</b>	76 (37,8)
<b>Θετικό</b>	125 (62,2)
Triple negative	
<b>Όχι</b>	172 (85,6)
<b>Ναι</b>	29 (14,4)
Κί67, μέση τιμή (SD)	20,8 (15,5)
T	
<b>1</b>	36 (34,6)
<b>2</b>	56 (53,8)
<b>3</b>	9 (8,7)
<b>4</b>	3 (2,9)
N	
<b>0</b>	116 (57,7)
<b>1</b>	60 (29,9)
<b>2</b>	17 (8,5)
<b>3</b>	8 (4)

Στο παρακάτω γράφημα δίνεται το grade πυρήνων των συμμετεχουσών.

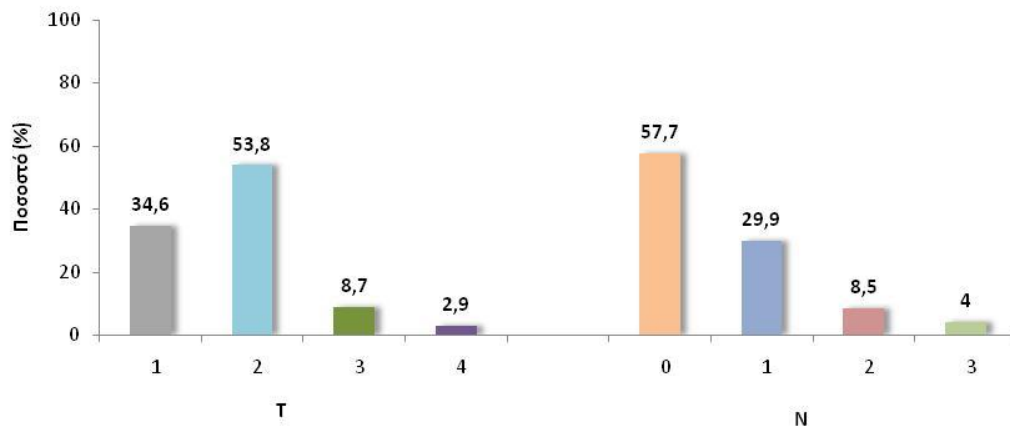


Στο γράφημα που ακολουθεί δίνεται το ποσοστό των συμμετεχουσών με αρνητικούς υποδοχείς σε C-erb-B2, οιστρογόνα, προγεστερόνη καθώς και Triple Negative.



**Γράφημα 6.6: ποσοστό των συμμετεχουσών με αρνητικούς υποδοχείς σε C-erb-B2, οιστρογόνα, προγεστερόνη καθώς και Triple Negative**

Στο ακόλουθο γράφημα δίνεται το T και το N των συμμετεχουσών.



**Γράφημα 6.7: το T και το N των συμμετεχουσών**

Συσχέτιση της ύπαρξης HPV λοίμωξης από το τελευταίο τεστ ΠΑΠ με δημογραφικά και λοιπά στοιχεία των συμμετεχόντων.

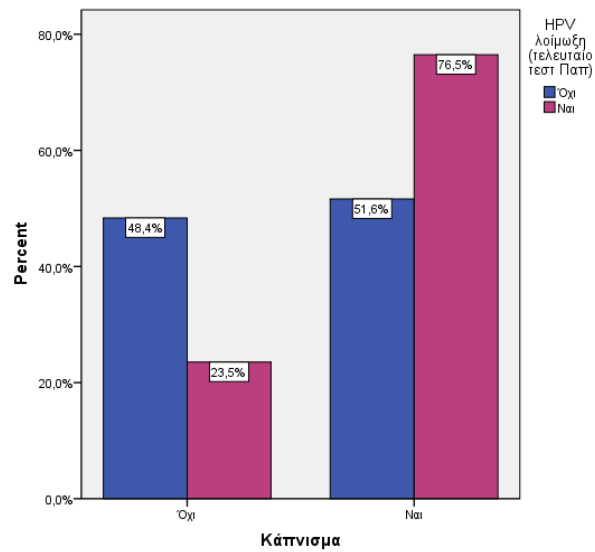
Στον πίνακα που ακολουθεί δίνονται δημογραφικά στοιχεία των συμμετεχουσών, ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ. Οι συμμετέχουσες που είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ ήταν σημαντικά μικρότερης ηλικίας σε σύγκριση με τις συμμετέχουσες που δεν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ. Ακόμα, οι συμμετέχουσες με HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ κάπνιζαν σε σημαντικά υψηλότερο ποσοστό σε σύγκριση με τις συμμετέχουσες που δεν είχαν HPV λοίμωξη. Όμοια, οι συμμετέχουσες με HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ ήταν σε σημαντικά υψηλότερο ποσοστό δευτεροβάθμιας/τριτοβάθμιας εκπαίδευσης και εργαζόμενες σε σύγκριση με εκείνες που δεν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.

**Πίνακας 6.6: δημογραφικά στοιχεία των συμμετεχουσών, ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.**

	HPV λοίμωξη (τελευταίο τεστ Παπ)		P Pearson's $\chi^2$ test
	Όχι N (%)	Ναι N (%)	
Ηλικία, μέση τιμή (SD)	60,4 (13,6)	51,4 (13,3)	0,010 <sup>++</sup>
<b>Κάπνισμα</b>			
<b>Όχι</b>	89 (48,4)	4 (23,5)	<b>0,049</b>
<b>Ναι</b>	95 (51,6)	13 (76,5)	
<b>Μορφωτικό επίπεδο</b>			
<b>Πρωτοβάθμια</b>	118 (64,1)	5 (29,4)	<b>0,005</b>
<b>Δευτεροβάθμια/ Τριτοβάθμια</b>	66 (35,9)	12 (70,6)	
<b>Επαγγελματική κατάσταση</b>			
<b>Εργαζόμενη</b>	31 (16,8)	9 (52,9)	<b>0,002</b>
<b>Άνεργη</b>	17 (9,2)	2 (11,8)	
<b>Οικιακά</b>	77 (41,8)	5 (29,4)	
<b>Συνταξιούχος</b>	59 (32,1)	1 (5,9)	
<b>Εργάζεστε</b>			
<b>Όχι</b>	153 (83,2)	8 (47,1)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Ναι</b>	31 (16,8)	9 (52,9)	
<b>Οικογενειακή κατάσταση</b>			
<b>Έγγαμη/ Σε σταθερή σχέση</b>	138 (75,0)	12 (70,6)	<b>0,771<sup>+</sup></b>
<b>Σε ευκαιριακή σχέση/ Χωρίς σχέση/ Διαζευγμένη/ Σε διάσταση/ Χήρα</b>	46 (25,0)	5 (29,4)	

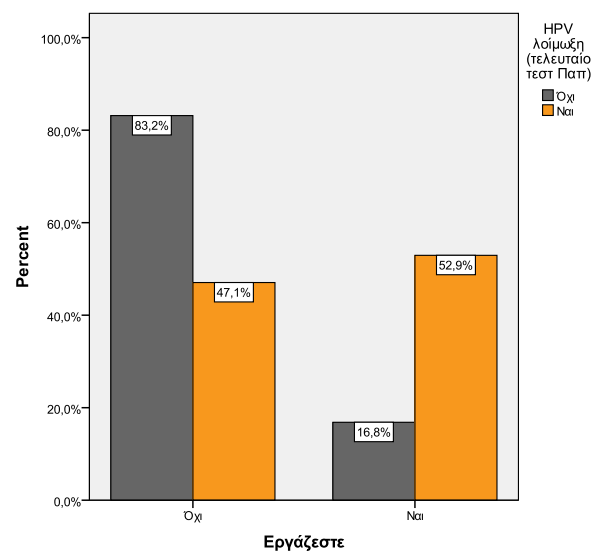
<sup>+</sup>Fisher's exact test <sup>++</sup>Student's t-test

Στο παρακάτω γράφημα δίνονται τα ποσοστά των συμμετεχουσών που κάπνιζαν ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.



**Γράφημα 6.8: ποσοστά των συμμετεχουσών που κάπνιζαν ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ**

Στο παρακάτω γράφημα δίνονται τα ποσοστά των συμμετεχουσών που εργάζονταν ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.



**Γράφημα 6.9: ποσοστά των συμμετεχουσών που εργάζονταν ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.**



Στοιχεία από το γυναικολογικό ιστορικό των συμμετεχουσών δίνονται στον ακόλουθο πίνακα, ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.

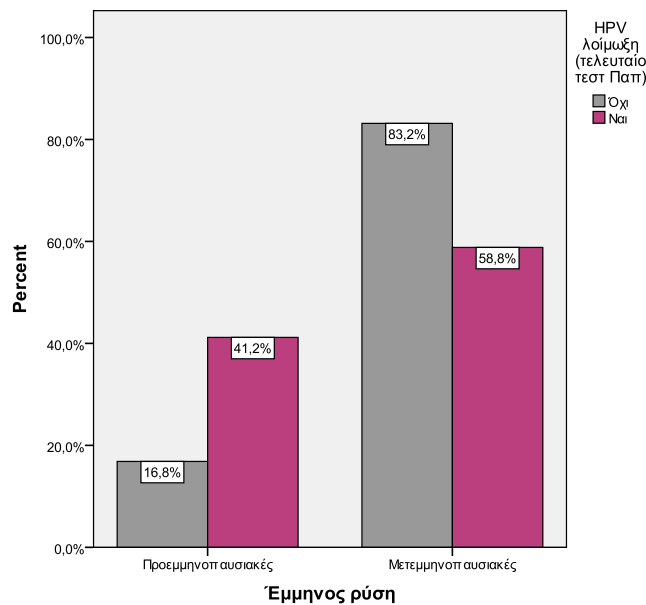
**Πίνακας 6.7: γυναικολογικό ιστορικό των συμμετεχουσών ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.**

	HPV λοίμωξη (τελευταίο τεστ Παπ)		P Fisher's exact test
	Όχι	Ναι	
	N (%)	N (%)	
Ηλικία 1ης σεξουαλικής επαφής , μέση τιμή (SD)	20,9 (2,6)	20,1 (2,8)	0,189 <sup>++</sup>
Ηλικία εμμηναρχής, μέση τιμή (SD)	12,9 (1,2)	13,2 (1)	0,236 <sup>++</sup>
Έμμηνος ρύση			
<b>Προεμμηνοπαυσιακές Μετεμμηνοπαυσιακές</b>	31 (16,8) 153 (83,2)	7 (41,2) 10 (58,8)	<b>0,023</b>
Αντισυλληπτικά			
<b>Όχι Ναι</b>	179 (97,3) 5 (2,7)	14 (82,4) 3 (17,6)	<b>0,022</b>
Αριθμός κυήσεων, διάμεσος (ενδ. εύρος)	2 (1 - 2)	2 (0 - 2)	0,059 <sup>+</sup>
Αριθμός τοκετών, διάμεσος (ενδ. εύρος)	2 (1 - 2)	2 (0 - 2)	0,059 <sup>+</sup>
Θηλασμός			
<b>Όχι Ναι</b>	41 (22,3) 143 (77,7)	5 (29,4) 12 (70,6)	0,548
Διάστημα θηλασμού			
<b>Λιγότερο από 3 μήνες 3 έως 6 μήνες Περισσότερο από 6 μήνες</b>	9 (6,3) 109 (76,2) 25 (17,5)	1 (8,3) 9 (75) 2 (16,7)	0,868
Τεστ Παπ			
<b>&lt;1 έτος 1-3 έτη &gt;3 έτη</b>	26 (14,1) 102 (55,4) 56 (30,4)	4 (23,5) 11 (64,7) 2 (11,8)	0,209
Άλλες επεμβάσεις			
<b>Όχι</b>	170 (92,4)	16 (94,1)	1,000
<b>Επεμβάσεις τραχήλου</b>	14 (7,6)	1 (5,9)	
Οικογενειακό ιστορικό			
<b>Όχι Ναι</b>	133 (72,3) 51 (27,7)	14 (82,4) 3 (17,6)	0,568

<sup>+</sup>Mann-Whitney test <sup>++</sup>Student's t-test

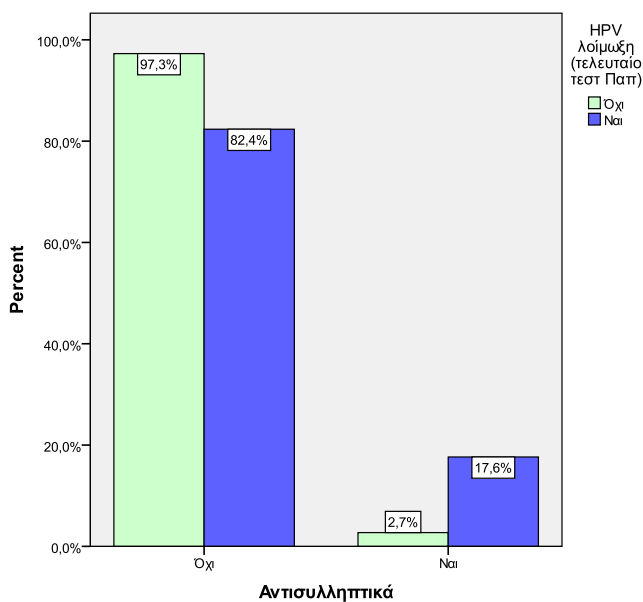
Οι συμμετέχουσες με HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ ήταν σε σημαντικά υψηλότερο ποσοστό προεμμηνοπαυσιακές σε σύγκριση με εκείνες που δεν είχαν HPV λοίμωξη. Επίσης, το ποσοστό των συμμετεχουσών που έπαιρναν αντισυλληπτικά ήταν σημαντικά υψηλότερο σε εκείνες που είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.

Στο παρακάτω γράφημα δίνονται τα ποσοστά των προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών συμμετεχουσών ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.



**Γράφημα 6.10: ποσοστά των προεμμηνοπαυσιακών και μετεμμηνοπαυσιακών συμμετεχουσών ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.**

Στο παρακάτω γράφημα δίνονται τα ποσοστά των συμμετεχουσών που έπαιρναν αντισυλληπτικά ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.



**Γράφημα 6.11: ποσοστά των συμμετεχουσών που έπαιρναν αντισυλληπτικά ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ Παπ**

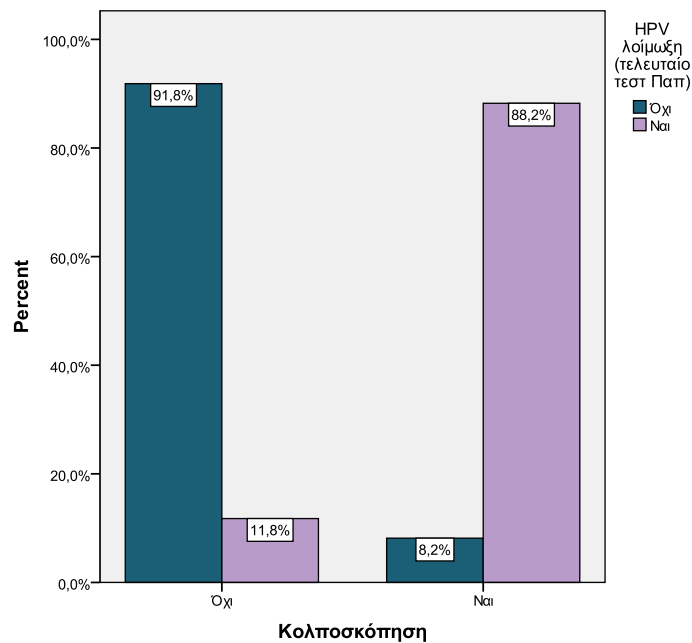
Στον παρακάτω πίνακα δίνονται στοιχεία σχετικά με την HPV λοίμωξη των συμμετεχουσών, ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ Παπ.

**Πίνακας 6.8: στοιχεία σχετικά με την HPV λοίμωξη των συμμετεχουσών, ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ Παπ**

	HPV λοίμωξη (τελευταίο τεστ Παπ)		P Fisher's exact test
	Όχι	Ναι	
	N (%)	N (%)	
HPV ή φλεγμονή τραχήλου της μήτρας στο τελευταίου Τεστ Παπ			
Όχι	157 (85,3)	0 (0,0)	<b>&lt;0,001</b>
Ναι	27 (14,7)	17 (100,0)	
Παλαιότερη HPV λοίμωξη			
Όχι	173 (94,0)	0 (0,0)	<b>&lt;0,001</b>
Ναι	11 (6,0)	17 (100,0)	
Κολποσκόπηση			
Όχι	169 (91,8)	2 (11,8)	<b>&lt;0,001</b>
Ναι	15 (8,2)	15 (88,2)	
Κωνοειδής εκτομή			
Όχι	180 (97,8)	17 (100,0)	1,000
Ναι	4 (2,2)	0 (0,0)	
Διαγνωστική απόξεση			
Όχι	147 (79,9)	12 (70,6)	0,359
Ναι	37 (20,1)	5 (29,4)	

Οι συμμετέχουσες με HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ είχαν σε σημαντικά υψηλότερο ποσοστό HPV ή φλεγμονή τραχήλου της μήτρας στο τελευταίο Τεστ Παπ και Παλαιότερη HPV λοίμωξη σε σύγκριση με τις συμμετέχουσες που δεν είχαν HPV λοίμωξη. Ακόμα, οι συμμετέχουσες με HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ είχαν κάνει σε σημαντικά υψηλότερο ποσοστό κολποσκόπηση σε σύγκριση με εκείνες που δεν είχαν HPV λοίμωξη.

Στο παρακάτω γράφημα δίνονται τα ποσοστά των συμμετεχουσών που είχαν κάνει κολποσκόπηση ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.



**Γράφημα 6.12: ποσοστά των συμμετεχουσών που είχαν κάνει κολποσκόπηση ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ**

Στον πίνακα που ακολουθεί δίνεται η θεραπεία για τον Ca μαστού των συμμετεχουσών, ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.

**Πίνακα 6.9: Θεραπεία για τον Ca μαστού των συμμετεχουσών, ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ**

	HPV λοίμωξη (τελευταίο τεστ Παπ)		P Fisher's exact test
	Όχι N (%)	Ναι N (%)	
Τύπος επέμβασης			
<b>Μαστεκτομή/ Μαστεκτομή και πλαστική επέμβαση</b>	46 (25,0)	5 (29,4)	0,771
<b>Ογκεκτομή</b>	138 (75,0)	12 (70,6)	
Συμπληρωματική θεραπεία			
<b>ΧΜΘ</b>	135 (73,4)	12 (70,6)	0,853
<b>Ακτινοθεραπεία</b>	15 (8,2)	1 (5,9)	
<b>Ορμονοθεραπεία</b>	32 (17,4)	4 (23,5)	
<b>Όχι</b>	2 (1,1)	0 (0,0)	

Δεν διέφεραν σημαντικά τα στοιχεία του παραπάνω πίνακα μεταξύ των γυναικών που είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ και εκείνων που δεν είχαν.

Στον πίνακα που ακολουθεί δίνονται τα κλινικά χαρακτηριστικά της παρούσας νόσου των συμμετεχουσών, ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.

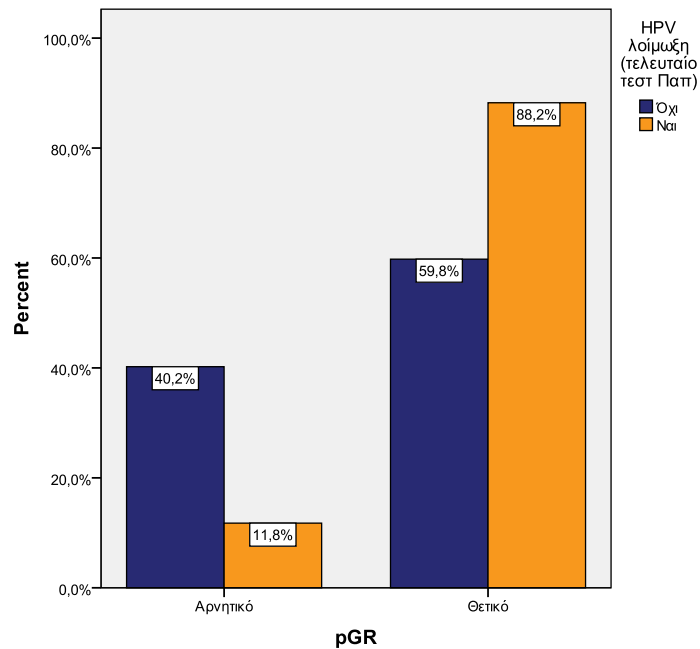
Οι συμμετέχουσες που είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ είχαν σε σημαντικά υψηλότερο ποσοστό θετικούς προγεστερονικούς υποδοχείς σε σύγκριση με εκείνες που δεν είχαν HPV λοίμωξη. Επίσης, το ποσοστό των συμμετεχουσών που είχαν 2-3 θετικούς λεμφαδένες ήταν σημαντικά υψηλότερο σε εκείνες που είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.

**Πίνακας 6.10: κλινικά χαρακτηριστικά της παρούσας νόσου των συμμετεχουσών, ανάλογα με την ύπαρξη HPV λοίμωξης στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ**

	HPV λοίμωξη (τελευταίο τεστ Παπ)		P Pearson's $\chi^2$ test
	Όχι N (%)	Ναι N (%)	
Τύπος			
In situ	26 (14,1)	2 (11,8)	0,347 <sup>+</sup>
ADH	1 (0,5)	0 (0,0)	
Βλεννώδες	4 (2,2)	0 (0,0)	
Λοβιακό	17 (9,2)	3 (17,6)	
Μικτό	1 (0,5)	1 (5,9)	
Μικροδιηθητικό	1 (0,5)	0 (0,0)	
Πορογενές	134 (72,8)	11 (64,7)	
Grade			
1	16 (8,7)	2 (11,8)	0,259
2	103 (56,0)	6 (35,3)	
3	65 (35,3)	9 (52,9)	
Μεταστάσεις σε λεμφαδένες			
Όχι	104 (56,5)	9 (52,9)	0,776
Ναι	80 (43,5)	8 (47,1)	
C-erb-B2			
Αρνητικό	121 (65,8)	12 (70,6)	0,687
Θετικό	63 (34,2)	5 (29,4)	
ER, μέση τιμή (SD)	1,9 (1,1)	2,2 (0,9)	0,385 <sup>++</sup>
ER			
Αρνητικό	39 (21,2)	2 (11,8)	0,533 <sup>+</sup>
Θετικό	145 (78,8)	15 (88,2)	
PR, μέση τιμή (SD)	1,3 (1,2)	1,7 (1,1)	0,155 <sup>++</sup>
pGR			
Αρνητικό	74 (40,2)	2 (11,8)	<b>0,021</b>
Θετικό	110 (59,8)	15 (88,2)	
Triple negative			
Όχι	156 (84,8)	16 (94,1)	0,476 <sup>+</sup>
Ναι	28 (15,2)	1 (5,9)	
Κi67, μέση τιμή (SD)	20,6 (15,6)	22,4 (14,5)	0,675 <sup>++</sup>
T			
1	35 (36,8)	1 (11,1)	0,222 <sup>+</sup>
2	49 (51,6)	7 (77,8)	
3-4	11 (11,6)	1 (11,1)	
N			
0-1	164 (89,1)	12 (70,6)	<b>0,043<sup>+</sup></b>
2-3	20 (10,9)	5 (29,4)	

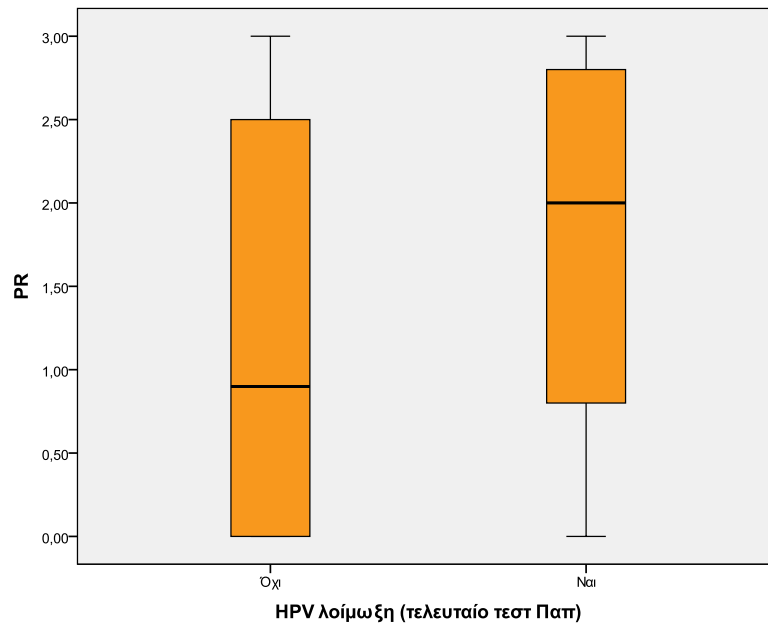
<sup>+</sup>Fisher's exact test <sup>++</sup>Student's t-test

Στο παρακάτω γράφημα δίνονται τα ποσοστά των συμμετεχουσών με θετικούς προγεστερονικούς υποδοχείς ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.



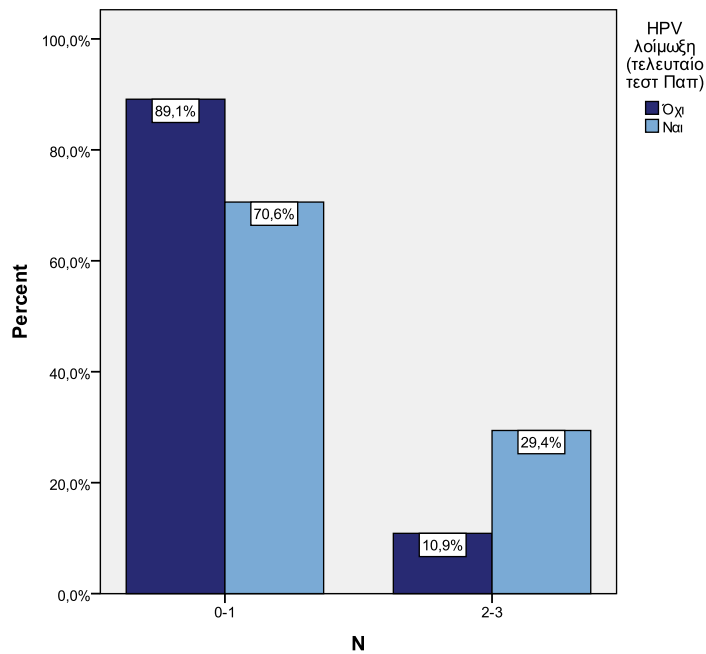
**Γράφημα 6.13: ποσοστά των συμμετεχουσών με θετικούς προγεστερονικούς υποδοχείς ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ**

Στο παρακάτω γράφημα δίνονται οι διάμεσες τιμές προγεστερονικών υποδοχέων ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.



**Γράφημα 6.14: διάμεσες τιμές προγεστερονικών υποδοχέων ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ**

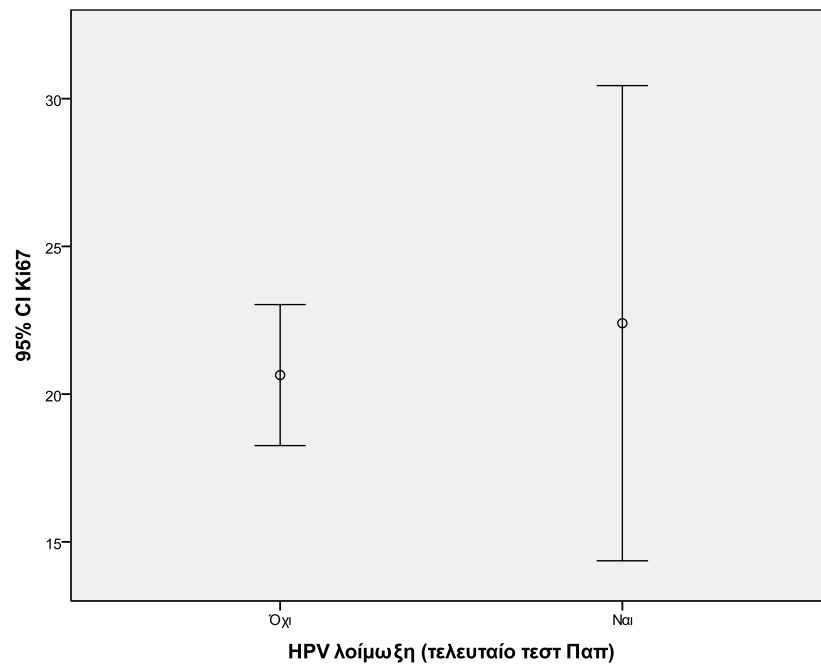
Στο παρακάτω γράφημα δίνεται το ποσοστό θετικών λεμφαδένων των συμμετεχουσών ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.



**Γράφημα 6.15: ποσοστό θετικών λεμφαδένων των συμμετεχουσών ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ**



Στο παρακάτω γράφημα δίνεται το Ki67 ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ.



**Γράφημα 6.16: Ki67 ανάλογα με το αν είχαν HPV λοίμωξη στο τελευταίο τεστ ΠΑΠ**

Συσχέτιση του C-erb-B2 των συμμετεχουσών ανάλογα με το αν είχαν HPV ή φλεγμονή τραχήλου της μήτρας στο τελευταίου Τεστ ΠΑΠ.  
 Στον πίνακα που ακολουθεί δίνεται το ποσοστό θετικών C-erb-B2 ανάλογα με το αν είχαν HPV ή φλεγμονή τραχήλου της μήτρας στο τελευταίου Τεστ ΠΑΠ.

**Πίνακα 6.11: ποσοστό θετικών C-erb-B2 ανάλογα με το αν είχαν HPV ή φλεγμονή τραχήλου της μήτρας στο τελευταίου Τεστ ΠΑΠ**

C-erb-B2	HPV ή φλεγμονή τραχήλου της μήτρας στο τελευταίου Τεστ Παπ		P Pearson's x <sup>2</sup> test
	Όχι	Ναι	
	N (%)	N (%)	
<b>Αρνητικό</b>	109 (69,4)	24 (56,8)	<i>0,065</i>
<b>Θετικό</b>	48 (30,6)	20 (43,2)	

Βρέθηκε ενδεικτικά σημαντικά διαφορά στο ποσοστό θετικών C-erb-B2 ανάλογα με το αν είχαν ή όχι HPV ή φλεγμονή τραχήλου της μήτρας στο τελευταίο Τεστ ΠΑΠ. Ενδεικτικά υψηλότερο ποσοστό θετικών C-erb-B2 υπάρχει στις γυναίκες με HPV ή φλεγμονή τραχήλου της μήτρας στο τελευταίο Τεστ ΠΑΠ.

# Κεφάλαιο 7: Συζήτηση

---

## 7.1 Συζήτηση

Ο καρκίνος του μαστού, εκτός από συχνή και πιθανώς θανατηφόρα ασθένεια, αποτελεί ένα σοβαρό κοινωνικό πρόβλημα με σωματικές, ψυχολογικές και οικονομικές προεκτάσεις. Οι περισσότερες ανεπτυγμένες χώρες εφαρμόζουν προγράμματα διαλογής για τον καρκίνο του μαστού. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μειωθεί η θνησιμότητα, πάραυτα υπολογίζεται ότι περίπου 41.000 γυναίκες καταλήγουν από καρκίνο του μαστού στις ΗΠΑ κάθε χρόνο [CDC 2017, Parkin et.al. 2005].

Η ανάπτυξη της κακοήθειας είναι μια περίπλοκη και πολυπαραγοντική διαδικασία που σχετίζεται με την ηλικία, την πυκνότητα του μαστού, το οικογενειακό ιστορικό, τις γονιδιακές μεταλλάξεις καθώς και με άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Σε πολλές περιπτώσεις δεν είναι εφικτό να εντοπισθεί κάποιος επιβαρυντικός παράγοντας, αυτό έχει ως αποτέλεσμα την περαιτέρω αναζήτηση παραγόντων που μπορεί να σχετίζονται με την εμφάνιση του καρκίνου του μαστού [Armstrong & Doll 1975]. Οι ιοί έχουν αποδεδειγμένα συσχετισθεί με την ανάπτυξη κακοήθειας. Σε παγκόσμια κλίμακα υπολογίζεται ότι περίπου το 12% των καρκίνων σχετίζονται με κάποια ιογενή λοίμωξη, όπως για παράδειγμα το λέμφωμα Burkitt που σχετίζεται με τον ιό Epstein-Barr ή τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας που σχετίζεται με τον HPV [Parkin 2005, Naushad et.al 2017].

Παρόλο που ο ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων έχει συσχετισθεί με διάφορες μορφές επιθηλιακών καρκίνων, όπως για παράδειγμα του τραχήλου της μήτρας, του αιδοίου, του πέους, ο πιθανός ρόλος του στον καρκίνο του μαστού παραμένει ακόμα ασαφής.

Υπάρχουν αρκετές αντικρουόμενες μελέτες όσον αφορά στη σχέση του HPV με τον καρκίνο του μαστού και παρά το γεγονός ότι ο αριθμός των μελετών έχει αυξηθεί την τελευταία δεκαετία, ακόμα δεν υπάρχει ξεκάθαρο αποτέλεσμα. Πολλές μοριακές και επιδημιολογικές μελέτες συνηγορούν υπέρ του ρόλου του HPV στον

καρκίνο του μαστού [Di Lonardo et.al. 1992, Hennig et.al. 1999, Damin et.al. 2004, Widschwendter et.al. 2004, de Villiers et.al. 2005, Kan et.al. 2005, Heng et.al. 2007, Tsai et.al. 2007], ενώ άλλες δεν εντοπίζουν καμία συσχέτιση [Chang et.al. 2012, Zhou et.al. 2015, Herrera-Romano et.al. 2012, Silva et.al. 2011, Yavuzer et.al. 2010, Vernet-Tomas et.al. 2015].

Η διερεύνηση του συγκεκριμένου ζητήματος είναι σημαντική καθώς η HPV λοίμωξη είναι πολύ συχνή και είναι ιδιαίτερα έκδηλη στις νεότερες ηλικιακές ομάδες. Συμφωνά με τα στατιστικά στοιχεία των Η.Π.Α., το 39,9% των ενηλίκων μεταξύ 18-59 έχουν εκτεθεί κάποια στιγμή της ζωής τους στον ιό. [CDC, Nasional Center of Health Statistics 2017].

Στην παρούσα μελέτη έγινε η προσπάθεια να εντοπισθεί το DNA του ιού σε ασθενείς με ιστολογικά επιβεβαιωμένη κακοήθεια, με τη χρήση των μικροσυστοιχιών (micro array). Πρόκειται για μια τεχνική που η ακρίβεια της είναι επιβεβαιωμένη από πολλές μελέτες. Επίσης στην παρούσα μελέτη δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή στην λήψη του δείγματος ώστε να αποφευχθεί τυχών επιμόλυνση του δείγματος.

Παρόλο που δεν εντοπίστηκε ο ιός ούτε στον υγιή, ούτε στον καρκινικό ιστό, όπως επίσης ούτε και στους μεταστατικούς λεμφαδένες, οι ασθενείς με πρόσφατη ή παλαιά λοίμωξη με τον ιό στον τράχηλο της μήτρας, παρουσίαζαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα μορφολογικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά του όγκου σε σχέση με τις ασθενείς που δεν είχαν εκτεθεί στον ιό.

Η πρώτη μελέτη που συσχέτισε τον HPV με τον καρκίνο του μαστού πραγματοποιήθηκε από τους Di Lonardo και συνεργάτες το 1992 [Di Lonardo et.al. 1992]. Στην έρευνα αυτή εντοπίστηκε το DNA του HPV 16 στο 29.4% των δειγμάτων που μελετήθηκαν. Για την ανίχνευση χρησιμοποιήθηκε PCR και οι ιστοί είχαν συντηρηθεί σε παραφίνη. Την ίδια χρονιά οι Wrede [Wrede et.al. 1992] και συνεργάτες χρησιμοποίησαν την ίδια τεχνική σε 95 γυναίκες με καρκίνο του μαστού και δεν εντόπισαν κανένα θετικό δείγμα. Το έναυσμα για τις παραπάνω μελέτες έδωσε μια πειραματική (in vivo) έρευνα των Band και συνεργάτες το 1990, που

κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το DNA του HPV μπορεί να συμβάλει στην καρκινογένεση στον μαστό, προκαλώντας αθανασία των κυττάρων και μέσω της ευαισθητοποίησης τους, στους αυξητικούς παράγοντες [Band et.al. 1990]. Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε καλλιέργειες ανθρώπινων κυττάρων αλλά δεν κατάφερε να συσχετίσει τον HPV με τον καρκίνο του μαστού [Band et.al. 1990]. Έκτοτε έχουν δημοσιευθεί πολλές μελέτες που εντοπίζουν τον ιό στον καρκίνο του μαστού [π.χ. Damin et.al. 2004, Kroupis et.al. 2006, Gumus et.al. 2006], αλλά και πολλές που δεν τον εντοπίζουν καθόλου παρόλο που χρησιμοποιήθηκαν παρόμοιες τεχνικές [π.χ. Lindel et.al. 2007, de Cremoux 2008].

Το 2017 οι Atique και συνεργάτες δημοσίευσαν μια αναδρομική μελέτη, όπου κατέγραψαν 800.000 ασθενείς με επιβεβαιωμένη λοίμωξη από τον HPV και παρατήρησαν ότι οι ασθενείς αυτοί παρουσίαζαν υψηλότερη επίπτωση καρκίνου του μαστού από τον γενικό πληθυσμό [Atique et.al. 2017]. Αντίστοιχο εύρημα είχε παρουσιαστεί και στην μεταανάλυση των Bae και Kim (2016), όπου βρέθηκε τάση για αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού σε γυναίκες που είχαν μολυνθεί από τον HPV, αν και δεν καταγράφηκε στατιστικά σημαντική διαφορά από τον γενικό πληθυσμό (ομάδα ελέγχου) [Bae & Kim 2016].

Η διχογνωμία των ερευνών ως προς τον ρόλο του HPV στον καρκίνο του μαστού εγείρει αρκετά ερωτήματα ως προς τους πιθανούς μηχανισμούς που μπορεί ο ιός να προσβάλλει το μαστό, την κατάλληλη τεχνική απομόνωσης του ιού και την κλινική σημασία αυτού του ευρήματος. [Bae & Kim 2016].

Ο HPV μολύνει τον επιθηλιακό βλεννογόνο ή τις επιδερμικές επιφάνειες μετά την άμεση έκθεση των κυττάρων στον ιό [Walboomers et.al. 1999]. Όσον αφορά τα κύτταρα του μαστού, μερικές μελέτες έχουν δείξει ότι ο HPV μπορεί να υπάρχει στις θηλές και στο μητρικό γάλα, υποδεικνύοντας ότι ο HPV μπορεί να μεταφερθεί από τις θηλές στους γαλακτοφόρους πόρους [de Villiers et.al 2005]. Αν αυτή η θεωρία ευσταθεί και θεωρήσουμε ότι ακολουθείται ο ίδιος μηχανισμός καρκινογένεσης με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, τότε θα έπρεπε αφενός να υπάρχουν προκαρκινικές αλλοιώσεις και αφετέρου να μπορούσε να εντοπισθεί ο ιός και στον

φυσιολογικό μαζικό αδένα. Μέχρι στιγμής καμία μελέτη δεν ανίχνευσε τον HPV στον υγιή ιστό του μαστού.

Ένας άλλος πιθανός μηχανισμός, που προτείνεται από ορισμένους συγγραφείς, είναι η αιματογενής ή/και η λεμφική μεταφορά [Widschwendter et.al 2004]. Σε αυτή την περίπτωση το DNA του ιού HPV θα πρέπει να ανιχνεύεται σε διάφορα επιθηλιακά κύτταρα του σώματος, όπως για παράδειγμα στο πάγκρεας ή το στομάχι.

Τέλος, μια άλλη πιθανή εξήγηση είναι η επιμόλυνση του δείγματος κατά τη διάρκεια της διαδικασίας λήψης του δείγματος. Στην παρούσα μελέτη, προκειμένου να αποφευχθεί τυχών επιμόλυνση, όλα τα δείγματα συλλέχθηκαν υπό αυστηρά άσηπτες συνθήκες. Σε παρόμοια μελέτη των Eslamifar και συνεργάτες (2015), στην οποία δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ της λοίμωξης από τον HPV και του καρκίνου του μαστού, χρησιμοποίησαν αποστειρωμένα γάντια και νυστέρι για κάθε δείγμα κατά τη διάρκεια της λήψης του δείγματος και του PCR, προκειμένου να αποφευχθεί η επιμόλυνση [Eslamifar et.al 2015].

Ένας πολύ σημαντικός παράγοντας στην ανίχνευση του ιού στο μαστό είναι η τεχνική εντοπισμού. Τρεις μελέτες με αρνητικά επίσης αποτελέσματα χρησιμοποίησαν TS-PCR [Tsai et.al. 2007] και ένα κιτ LiPA HPV Genotyping [Vernet-Tomas et.al. 2015] ενώ ο Chang και συνεργάτες (2012), χρησιμοποίησε in situ υβριδισμό και ανέφερε 10% θετικά δείγματα τα οποία κατέστησαν αρνητικά μετά την κατάψυξη στους -70 °C [Chang et.al. 2012]. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν μικροσυστοιχίες (micro arrays) σε φρέσκους ιστούς, μία από τις καλύτερες διαθέσιμες τεχνικές για την ανίχνευση πολύ χαμηλού ιικού φορτίου HPV και η αποφυγή επιμόλυνσης. Ωστόσο, μια μελέτη των Akil και συνεργάτες το 2008, που χρησιμοποίησε την ίδια τεχνική σε ιστούς που είχαν συντηρηθεί σε παραφίνη, εντόπισε τον HPV στο 61% των δειγμάτων, ενώ ο τύπος 33 ήταν ο συνηθέστερος [Akil et.al 2008]. Άλλες μελέτες, που εντόπισαν τον ιό από τις ΗΠΑ [Liu et.al. 2001] και την Αυστραλία [Kan et.al. 2005] ανέφεραν ότι οι συνηθέστεροι τύποι ήταν 11, 16 και 18. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι η μόλυνση από τον ιό HPV ακολουθεί ένα

πρότυπο γεωγραφικής κατανομής που μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στον επιπολασμό της λοίμωξης από HPV.

Όπως αναφέρθηκε από τους Bruni και συνεργάτες σε μεταανάλυση με πληθυσμό 1 εκατομμύριο γυναίκες, που μελέτησαν τον επιπολασμό του HPV σε 5 ηπείρους, οι αφρικανικές και λατινοαμερικανικές περιοχές έδειξαν υψηλότερες μέσες τιμές επιπολασμού του HPV από ότι οι ευρωπαϊκές, βόρειες αμερικανικές και ασιατικές περιοχές [Bruni et.al. 2017]. Οι περιοχές με υψηλό επιπολασμό HPV είναι αυτές με την υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, ενώ οι περιοχές με χαμηλότερο επιπολασμό είχαν τη χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του τραχήλου. Στην Ευρώπη, η Ανατολική Ευρώπη έχει υψηλό επιπολασμό HPV (21,4%), ενώ οι χώρες της δυτικής Ευρώπης, στις οποίες ανήκει και η Ελλάδα, εμφανίζουν χαμηλότερα ποσοστά. Στην Ελλάδα, παρόλο που οι συνηθέστεροι τύποι HPV είναι ο 16 και ο 18, η συχνότητα εμφάνισης, του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, των υψηλού βαθμού τραχηλικών αλλοιώσεων αλλά και των άλλων καρκίνων που σχετίζονται με τον HPV, είναι από τους χαμηλότερους στην Ευρώπη [Ferlay et.al. 2013, Rasmussen et.al. 2018]. Οι τύποι 16 και 18 του HPV, είναι οι πιο διαδεδομένοι τύποι παγκοσμίως, που όμως από το 2007 έχουν αναπτυχθεί εμβόλια.

Πολλοί συγγραφείς επίσης πρότειναν την πιθανή επίδραση των μικροοργανισμών μέσω της ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος ή της αλλαγής γονιδιακής έκφρασης [Kipnis 2018]. Οι Alvarez και συνεργάτες (2017) μελέτησαν τους δείκτες του ανοσοποιητικού συστήματος προκειμένου να εξηγήσουν την αλληλεπίδραση μεταξύ τραχηλικών βλαβών που σχετίζονται με τον HPV και του ανοσοποιητικού συστήματος. Η μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα ουδετερόφιλα και ο παράγοντας G-CSF μπορεί να αποτελούν μέρος των μηχανισμών του ανοσοποιητικού συστήματος που μπορεί να προκαλέσουν το συστημικό αποτέλεσμα του HPV. Ωστόσο ένας βασικός περιορισμός της μελέτης είναι ότι οι ασθενείς που συμπεριελήφθησαν στην έρευνα είχαν ήδη διαγνωσθεί με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, οπότε η επίδραση της HPV λοίμωξης ή των

προκαρκινικών βλαβών στο ανοσοποιητικό σύστημα δεν είναι καλά τεκμηριωμένη [Alvarez et.al. 2017].

Οι τύποι HPV υψηλού κινδύνου ασκούν το καρκινογενετικό τους δυναμικό κυρίως μέσω της μεταγραφής των γονιδίων E6 και E7. Οι πρωτεΐνες E6 και E7 απορρυθμίζουν τον κύκλο ανάπτυξης κυττάρου ξενιστή με δέσμευση και απενεργοποίηση της πρωτεΐνης p53 και του προϊόντος γονιδίου ρετινοβλαστώματος, pRB, αντιστοιχώς. Ως αποτέλεσμα, καταργείται ο κανονικός έλεγχος κυτταρικού κύκλου [Wilting & Steenberg 2016]. Επιπλέον, ο ρόλος της HPV E6 ογκοπρωτεΐνης έχει μελετηθεί και σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου [Rasmussen et.al. 2018] και καρκίνο του πνεύμονα, τα αποτελέσματα όμως ήταν ασαφή [Salman et.al. 2017].

Στη μελέτη μας μεταξύ των ασθενών με HPV, η έκφραση του PR ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με ασθενείς χωρίς λοίμωξη από HPV, ενώ η έκφραση ER ήταν παρόμοια. Η ER και PR θετικότητα συνδέεται άμεσα με υψηλότερο συνολικό ποσοστό επιβίωσης. Έτσι, ο καρκίνος του μαστού σε ασθενείς με HPV τραχήλου μπορεί να έχει καλύτερη πρόγνωση. Παρομοίως, οι ασθενείς με καρκίνο του αιδοίου που σχετίζονται με τον HPV έχουν συνήθως καλύτερα συνολικά ποσοστά επιβίωσης χωρίς νοσο [Rasmussen et.al. 2018]. Ο επιπολασμός του λοβιακού καρκίνου ήταν υψηλότερος μεταξύ των HPV θετικών ασθενών σε σύγκριση με τον HPV αρνητικών, αλλά αυτό το εύρημα δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντική διαφορά. Αυτό το συμπέρασμα έρχεται σε αντίθεση με τη μελέτη του Salaman et. al. που ανέφερε ότι ο επιπολασμός του DNA του HPV ήταν υψηλότερος στις γυναίκες με διηθητικό καρκίνωμα του πνεύμονα και χαμηλότερο στο λοβιακό καρκίνωμα [Salman et.al. 2017].

Παρά τα ευρήματά μας, εάν οι μελλοντικές μελέτες δείχνουν μια σαφή σύνδεση μεταξύ του HPV και του καρκίνου του μαστού τότε η χρήση εμβολίων κατά των ιών μπορεί να βρει ένα ρόλο στην πρόληψη του καρκίνου του μαστού. Δεδομένου ότι η μεγάλη πλειονότητα των λοιμώξεων από HPV περιλαμβάνει τύπους υψηλού κινδύνου, παρόλο που τα ευρήματα ποικίλλουν σε μεγάλο βαθμό ανάλογα με τον



πληθυσμό, ένα πρόγραμμα εμβολιασμού κατά αυτών των τύπων μπορεί να προσφέρει ικανοποιητικό επίπεδο προστασίας από τον καρκίνο.

## 7.2 Θεωρία HIT & RUN

Η θεωρία ότι οι ιοί σχετίζονται με καρκινογένεση έχει διατυπωθεί εδώ και περισσότερο από 50 χρόνια. Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, για να διατηρηθεί ο μετασχηματισμένος κυτταρικός φαινότυπος των κυττάρων τα ιικά ογκογονίδια πρέπει να εκφράζονται συνέχεια ή περιοδικά σε αυτά τα κύτταρα [Nevins & Vogt 1996]

Ωστόσο πολλές φορές δεν είναι εφικτός ο εντοπισμός των ογκογονιδίων αυτών στα κύτταρα. Αυτή η παρατήρηση οδήγησε στην ανάπτυξη της υπόθεσης "hit-and-run". Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, που προτάθηκε αρχικά από τον Skinner το 1976, [Skinner 1976] οι ιοί μπορούν να μεσολαβήσουν στον κυτταρικό μετασχηματισμό μέσω ενός αρχικού "χτυπήματος", ενώ η διατήρηση της μετασχηματισμένης κατάστασης είναι συμβατή με την απώλεια ("τρέξιμο") ιικών μορίων. Οι συσσωρευτικές μεταλλάξεις που συχνά παρατηρούνται στα καρκινικά κύτταρα μπορούν να προκαλέσουν την πλήρη εξαφάνιση του γονιδιώματος του ιού και έτσι τα καρκινικά κύτταρα που παραμένουν θετικά στον ιό να αντιπροσωπεύουν μόνο ένα μικρό κλάσμα εκείνων στα οποία αρχικά η λοίμωξη είχε συμβάλει στην καρκινογένεση [Nevels et.al. 2001].

Η ιδέα του "hit-and-run" αυξάνει κατά πολύ την πιθανότητα οι ιοί να σχετίζονται με περισσότερες μορφές καρκίνων από ότι υπολογίζεται σήμερα, καθώς τα καρκινικά κύτταρα μπορεί να στερούνται οποιονδήποτε ιικών γονιδίων ή/και πρωτεϊνών συνεπώς ο εντοπισμός του ιού δεν είναι εφικτός. Βάση αυτής της θεωρίας θα μπορούσε να εξηγηθεί και ο ρόλος του HPV στην καρκινογένεση του καρκίνου του μαστού, καθώς και η διαφορά μεταξύ των μελετών.

Περισσότερες μελέτες πρέπει να γίνουν για να επιβεβαιωθεί αυτή η θεωρία. Ωστόσο, αυτό μπορεί να εξηγήσει το γεγονός ότι πολλοί καρκίνοι συνδέονται με ιούς ακόμα και αν δεν υπάρχουν άμεσες ενδείξεις για ιικό φορτίο [Salman et.al. 2017].

### 7.3 Περιορισμοί της έρευνας

Για τη μελέτη της συμπεριφοράς και της φυσικής εξέλιξης μια ασθένειας, απαιτούνται μακροχρόνιες έρευνες. Επίσης, όσο συχνότερη είναι η πάθηση και ο παράγοντας υπό διερεύνηση, τόσο μεγαλύτερος αριθμός ατόμων χρειάζεται. Παρόλο που συγκριτικά με αντίστοιχες μελέτες η παρούσα έρευνα έχει ικανοποιητικό αριθμό δειγμάτων, για την εξαγωγή σίγουρων αποτελεσμάτων είναι αναγκαία περισσότερα δείγματα.

Ένας σημαντικός περιορισμός της έρευνας είναι ότι πολλές φορές ο ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων στο κοιλικό-τραχηλικό επίχρισμα δεν είναι ανιχνεύσιμος. Αυτό σημαίνει ότι μια ομάδα ασθενών με καρκίνο του μαστού μπορεί να είχε αλλοιώσεις από τον HPV στον τράχηλο παλαιότερα, που να μην είχαν εντοπισθεί, και τη στιγμή που διενεργήθηκε η έρευνα να μην ήταν εφικτός ο εντοπισμός του ιού. Αυτός ο περιορισμός θα μπορούσε να ξεπεραστεί με μακροχρόνιες προοπτικές επιδημιολογικές μελέτες μεταξύ ασθενών με γνωστές αλλοιώσεις από τον HPV στον τράχηλο. Ωστόσο οι μελέτες αυτές θα απαιτούσαν παρακολούθηση που μπορεί να ξεπερνάει τα 30 χρόνια.

## Κεφάλαιο 8: Συμπεράσματα

---

Στην παρούσα έρευνα δεν βρέθηκε κάποια άμεση συσχέτιση μεταξύ του HPV και του καρκίνου του μαστού. Η τεχνική που χρησιμοποιήθηκε είναι πολύ αξιόπιστη ενώ η ειδικότητα και η ευαισθησία της επιβεβαιώνεται από πολλές δημοσιευμένες μελέτες. Επίσης η μεθοδολογία της έρευνας περιορίζει κατά πολύ την πιθανότητα επιμόλυνσης του δείγματος, καθώς η λήψη των δειγμάτων έγινε στο χειρουργείο υπό άσηπτες συνθήκες.

Παρόλα αυτά, από την ανάλυση των δεδομένων φαίνεται ότι τα μοριακά και τα κλινικομορφολογικά χαρακτηριστικά του καρκίνου του μαστού είναι διαφορετικά μεταξύ των ασθενών που έχουν εκτεθεί (επιβεβαιωμένα) σε κάποιο στέλεχος του HPV. Τόσο, όσον αναφορά στην έκφραση των υποδοχέων της προγεστερόνης που παρατηρείται αυξημένη, όσο και στον ιστολογικό τύπο, καθώς φαίνεται ότι ο λοβιακός τύπος είναι πιο συχνός μεταξύ των ασθενών που έχουν εκτεθεί στον ίο.

Άρα παρόλο που δεν προκύπτει να υπάρχει κάποια άμεση συσχέτιση μεταξύ του HPV και του καρκίνου του μαστού, φαίνεται ότι έμμεσα επηρεάζει τα μορφολογικά και μοριακά χαρακτηριστικά του καρκίνου, συνεπώς και τα κλινικά του χαρακτηριστικά. Για την ακριβέστερη μελέτη της φυσικής πορείας της νόσου μεταξύ των ασθενών που έχουν εκτεθεί στον ίο, πρέπει να πραγματοποιηθούν μεγαλύτερες μελέτες που να επικεντρώνονται στο πώς η HPV λοίμωξη επηρεάζει τη φυσική εξέλιξη του καρκίνου του μαστού καθώς και στους πιθανούς μηχανισμούς που μπορεί να προκαλέσουν καρκινογένεση.

## Βιβλιογραφία

---

- Akil N, Yasmeen A, Kassab A, Ghabreau L, Darnel AD, Al Moustafa AE. High-risk human papillomavirus infections in breast cancer in Syrian women and their association with Id-1 expression: a tissue microarray study. *Br J Cancer*. 2008 Aug 5;99(3):404-7
- Almeida JD, Oriel JD, Stannard LM. Characterization of the virus found in genital warts. *Microbiology* 1969, 3:225
- Alvarez KLF, Beldi M, Sarmanho F, Rossetti RAM, Silveira CRF, Mota GR, et. al. Local and systemic immunomodulatory mechanisms triggered by Human Papillomavirus transformed cells: a potential role for G-CSF and neutrophils. *Sci Rep*. 2017 Aug 21;7(1):9002.
- Amann R, Fuchs BM. Single-cell identification in microbial communities by improved fluorescence in situ hybridization techniques. *Nat Rev Microbiol*. 2008 May;6(5):339-48
- American cancer society 2016. Cancer Facts & Figures 2016. <https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2016.html>. (Ημερομηνία ανάκτησης 12/05/2018)
- Anderson RM. Transmission dynamics of sexually transmitted infections. *Sexually transmitted diseases*. New York: McGraw-Hill; 1999. p. 25–37
- Aral SO, Holmes KK. Social and behavioral determinants of epidemiology of STDs: industrialized and developing countries. *Sexually transmitted diseases*. New York: McGraw-Hill; 1999. p. 39–76.
- Arbyn M, Castellsagué X, de Sanjosé S, Bruni L, Saraiya M, Bray F, Ferlay J. Worldwide burden of cervical cancer in 2008. *Ann Oncol*. 2011 Dec;22(12):2675-86.
- Arbyn M, Dillner J, Schenck U, et al. Methods for screening and diagnosis. Office for Official Publications of the European Communities. Luxemburg 2008 p. 69–152

- Armstrong B, Doll R. Environmental factors and cancer incidence and mortality in different countries, with special reference to dietary practices. *Int J Cancer*. 1975 Apr 15;15(4):617-31
- Atique S, Hsieh CH, Hsiao RT, Iqbal U, Nguyen PAA, Islam MM, Li YJ, Hsu CY, Chuang TW, Syed-Abdul S. Viral warts (Human Papilloma Virus) as a potential risk for breast cancer among younger females. *Comput Methods Programs Biomed*. 2017 Jun;144:203-207.
- Bae JM, Kim EH. Human papillomavirus infection and risk of breast cancer: a meta- analysis of case-control studies. *Infect Agent Cancer*. 2016 Mar 14;11:14.
- Band V, Zajchowski D, Kulesa V, Sager R. Human papilloma virus DNAs immortalize normal human mammary epithelial cells and reduce their growth factor requirements. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990 Jan;87(1):463-7
- Barret TJ, Silbar JD, McGinley JP. Genital warts-a venereal disease. *J Amec Med Assoc* 1984, 154:333
- Bell B. *A Treatise on Gonorrhoea Virulenta and Lues Venerea*. Edinburgh: Watson, Mudie and Murray, 1973;vol 2:100
- Bellhouse S, McWilliams L, Firth J, Yorke J, French DP. Are community-based health worker interventions an effective approach for early diagnosis of cancer? A systematic review and meta-analysis. *Psychooncology*. 2018 Apr;27(4):1089-1099.
- Berthet N. Resequencing microarrays: a rapid tool for better identification and understanding of viral and bacterial emergence. *Bull Acad Natl Med*. 2013 Dec;197(9):1669-82.
- Blanc AK, Way AA. Sexual behaviour and contraceptive knowledge and use among adolescents in developing countries. *Studies Fam Plann* 1998;29:106± 16
- Bosch FX, Burchell AN, Schiffman M, Giuliano AR, de Sanjose S, Bruni L, et al. Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia. *Vaccine* 2008;26(Suppl 10): K1–K16

- Brinton, L. (2017). In *The Evolution of Pragmatic Markers in English: Pathways of Change* (pp. 300-324). Cambridge: Cambridge University Press.
- Bruni L, Barrionuevo-Rosas L, Albero G, Serrano B, Mena M, Gómez D, Muñoz J, Bosch FX, de Sanjosé S. ICO Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Greece. Summary Report 27 July 2017. (Ημερομηνία ανάκτησης 17/11/2017)
- Burchell AN, Tellier PP, Hanley J, Coutlée F, Franco EL. Human papillomavirus infections among couples in new sexual relationships. *Epidemiology*. 2010 Jan;21(1):31-7
- Buschkea A, Lowenstein L. Uber carcinomahuliche condylomata acuminata de penis. *Arch Derm Syph* 1931, 163:30
- CDC National Center of Health Statistics. <https://www.cdc.gov/nchs/index.htm> (Ημερομηνία ανάκτησης 20.12.2017)
- CDC, centres for disease control and prevention. Breast cancer. <https://www.cdc.gov/cancer/breast/index.htm> (Ημερομηνία ανάκτησης 20.12.2017).
- CDC. FDA licensure of bivalent human papillomavirus vaccine (HPV2, Cervarix) for use in females and updated HPV vaccination recommendations from the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR* 2010;59(No. 20):626-9.
- Chang P, Wang T, Yao Q, Lv Y, Zhang J, Guo W, Wang L, Chen J. Absence of human papillomavirus in patients with breast cancer in north-west China. *Med Oncol*. 2012 Jun;29(2):521-5.
- Churchill GA. Fundamentals of experimental design for cDNA microarrays. *Nat Genet*. 2002 Dec;32 Suppl:490-5.
- Ciuffo G. Innesto positive confiltrato di verruca volgare. *Gior Ital Vener* 1907, 48:12
- Cofie LE, Hirth JM, Guo F, Berenson AB, Markides K, Wong R. HPV Vaccination Among Foreign-Born Women: Examining the National Health Interview Survey 2013-2015. *Am J Prev Med*. 2018 Jan;54(1):20-27.

- Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet*. 2001;358: 1389-1399.
- D'Aloisio AA, Nichols HB, Hodgson ME, Deming-Halverson SL, Sandler DP. Validity of self-reported breast cancer characteristics in a nationwide cohort of women with a family history of breast cancer. *BMC Cancer*. 2017 Oct 23;17(1):692.
- Damin AP, Karam R, Zettler CG, Caleffi M, Alexandre CO. Evidence for an association of human papillomavirus and breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat*. 2004 Mar;84(2):131-7.
- de Cremoux P, Thioux M, Lebigot I, Sigal-Zafrani B, Salmon R, Sastre-Garau X; Institut Curie Breast Group. No evidence of human papillomavirus DNA sequences in invasive breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat*. 2008 May;109(1):55-8
- de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology*. 2004 Jun 20;324(1):17-27.
- de Villiers EM, Sandstrom RE, zur Hausen H, Buck CE. Presence of papillomavirus sequences in condylomatous lesions of the mamillae and in invasive carcinoma of the breast. *Breast Cancer Res*. 2005;7(1):R1-11.
- De Vuyst H, Clifford G, Li N, Franceschi S. HPV infection in Europe. *Eur J Cancer*. 2009 Oct;45(15):2632-9.
- Di Lonardo A, Venuti A, Marcante ML. Human papillomavirus in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1992;21(2):95-100.
- DiSaia Ph., Creasman W. *Clinical Gynecologic Oncology*. Mosby US, 2007
- Doherty IA, Padian NS, Marlow C, Aral SO. Determinants and consequences of sexual networks as they affect the spread of sexually transmitted infections. *J Infect Dis* 2005;191(Suppl 1):S42–54.
- Drumright LN, Gorbach PM, Holmes KK. Do people really know their sex partners? Concurrency, knowledge of partner behavior, and sexually

transmitted infections within partnerships. *Sex Transm Dis* 2004;31(7):437–42.

- Eslamifar A, Ramezani A, Azadmanesh K, Bidari-Zerehpooch F, Banifazl M, Aghakhani A. Assessment of the Association between Human Papillomavirus Infection and Breast Carcinoma. *Iran J Pathol*. 2015 Winter;10(1):41-6.
- European cancer Observatory. <http://eu-cancer.iarc.fr/cancer-13-breast.html>, en (Ημερομηνία ανάκτησης 15/9/2018)
- Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. GLOBOCAN 2012 v1.2, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013.
- Fernández-Esquer ME, Ross MW, Torres I. The importance of psychosocial factors in the prevention of HPV infection and cervical cancer. *Int J STD AIDS*. 2000 Nov;11(11):701-13.
- Franceschi S, Chantal Umulisa M, Tshomo U, Gheit T, Baussano I, Tenet V, Tshokey T, Gatera M, Ngabo F, Van Damme P, Snijders PJ, Tommasino M, Vorsters A, Clifford GM. Urine testing to monitor the impact of HPV vaccination in Bhutan and Rwanda. *Int J Cancer*. 2016 Aug 1;139(3):518-26.
- Giuliano AE, Connolly JL, Edge SB, et al. Breast Cancer – Major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin*. 2017;67: 290
- GLOBOCAN 2018. <http://globocan.iarc.fr/>
- González M. A. Molecular biology of cervical cancer. *Clin Transl Oncol*. 2007 Jun;9(6):347-54
- Gumus M, Yumuk PF, Salepci T, Aliustaoglu M, Dane F, Ekenel M, Basaran G, Kaya H, Barisik N, Turhal NS. HPV DNA frequency and subset analysis in human breast cancer patients' normal and tumoral tissue samples. *J Exp Clin Cancer Res*. 2006 Dec;25(4):515-21.
- Haines RJ, Bottorff JL, Barclay McKeown S, Ptolemy E, Carey J, Sullivan K. Breast cancer messaging for younger women: gender, femininity, and risk. *Qual Health Res*. 2010 Jun;20(6):731-42.



- Haroon MF, Skennerton CT, Steen JA, Lachner N, Hugenholtz P, Tyson GW. In-solution fluorescence in situ hybridization and fluorescence-activated cell sorting for single cell and population genome recovery. *Methods Enzymol.* 2013;531:3-19.
- Heng B, Glenn WK, Ye Y, Tran B, Delprado W, Lutze-Mann L, Whitaker NJ, Lawson JS. Human papilloma virus is associated with breast cancer. *Br J Cancer.* 2009 Oct 20;101(8):1345-50.
- Hennig EM, Suo Z, Thoresen S, Holm R, Kvinnsland S, Nesland JM. Human papillomavirus 16 in breast cancer of women treated for high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN III). *Breast Cancer Res Treat.* 1999 Jan;53(2):121-35.
- Herrera-Ortiz A, Conde-Glez CJ, Olamendi-Portugal ML, García-Cisneros S, Plett-Torres T, Sánchez-Alemán MA. College women, HPV genotyping and sexual behavior before HPV vaccination: Results from samples stored for a long time. *J Infect Public Health.* 2018 Mar - Apr;11(2):286-289.
- Herrera-Romano L, Fernández-Tamayo N, Gómez-Conde E, Reyes-Cardoso JM, Ortiz-Gutierrez F, Ceballos G, Valdivia A, Piña P, Salcedo M. Absence of human papillomavirus sequences in epithelial breast cancer in a Mexican female population. *Med Oncol.* 2012 Sep;29(3):1515-7.
- Horvath CA, Boulet GA, Renoux VM, Delvenne PO, Bogers JP. Mechanisms of cell entry by human papillomaviruses: an overview. *Virology.* 2010 Jan 20;7:11
- IARC. IARC handbooks of cancer prevention: Cervix cancer screening, vol. 10. Lyon: IARC Press; 2005
- Jay RH, Marc EL, Monica M, Kent O. *Diseases of the Breast.* Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia PA: 2000
- Jørgensen KJ, Zahl PH, Gøtzsche PC. Breast cancer mortality in organized mammography screening in Denmark: comparative study. *BMJ.* 2010 Mar 23;340:c1241.
- Kahn JA, Rosenthal SL, Succop PA, Ho GY, Burk RD. The interval between menarche and age of first sexual intercourse as a risk factor for subsequent

HPV infection in adolescent and young adult women. *J Pediatr* 2002;141(5):718–23

- Kan CY, Iacopetta BJ, Lawson JS, Whitaker NJ. Identification of human papillomavirus DNA gene sequences in human breast cancer. *Br J Cancer*. 2005 Oct 17;93(8):946-8.
- Kipnis J. Immune system: The "seventh sense". *J Exp Med*. 2018 Feb 5;215(2):397- 398.
- Kjaer SK, Breugelmans G, Munk C, Junge J, Watson M, Iftner T. Population-based prevalence, type- and age-specific distribution of HPV in women before introduction of an HPV-vaccination program in Denmark. *Int J Cancer* 2008;123:1864–70
- Koss LG, Durfee GR. Unusual patterns of squamous epithelium of the uterine cervix. Cytologic and pathologic study of koilocytotic atypia. *Annual NY Acad Sci* 1956, 63:1245
- Koutsky LA, Kiviat NB. *Genital human papillomavirus*. McGraw-Hill; New York: 1999. p. 347–59.
- Kraut-Becher JR, Aral SO. Gap length: an important factor in sexually transmitted disease transmission. *Sex Transm Dis* 2003;30(3):221–5.
- Kroupis C, Markou A, Vourlidis N, Dionyssiou-Asteriou A, Lianidou ES (2006) Presence of high-risk human papillomavirus sequences in breast cancer tissues and association with histopathological characteristics. *Clin Biochem* 39: 727–731
- Kuerer HM. Rational individualised selection of adjuvant therapy for ductal carcinoma in situ. *Lancet Oncol*. 2011 Jan;12(1):2-3.
- Li B, Wang H, Yang D, Ma J. Prevalence and distribution of cervical human papillomavirus genotypes in women with cytological results from Sichuan province, China. *J Med Virol*. 2019 Jan;91(1):139-145.
- Lindel K, Forster A, Altermatt HJ, Greiner R, Gruber G. Breast cancer and human papillomavirus (HPV) infection: no evidence of a viral etiology in a group of Swiss women. *Breast*. 2007 Apr;16(2):172-7.

- Liu Y, Klimberg VS, Andrews NR, Hicks CR, Peng H, Chiriva-Internati M, Henry-Tillman R, Hermonat PL. Human papillomavirus DNA is present in a subset of unselected breast cancers. *J Hum Virol*. 2001;4:329–334
- Markowitz LE, Liu G, Hariri S, Steinau M, Dunne EF, Unger ER. Prevalence of HPV After Introduction of the Vaccination Program in the United States. *Pediatrics*. 2016 Mar;137(3):e20151968.
- Matloff ET, Brierley KL. The double-helix derailed: the story of the BRCA patent. *Lancet*. 2010 Jul 31;376(9738):314-5.
- Mauri D, Pavlidis N, Ioannidis JP. Neoadjuvant versus adjuvant systemic treatment in breast cancer: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97: 188-194.
- Münger K, Baldwin A, Edwards KM, Hayakawa H, Nguyen CL, Owens M, et al. Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. *J Virol*. 2004 Nov;78(21):11451-60.
- Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Tafur L, Izarzugaza I, Gili M, Viladiu P, Navarro C, Martos C, Ascunce N, et al. The causal link between human papilloma virus and invasive cervical cancer, a population based study in Columbia and Spain. *Int J Cancer* 1992, 52: 743.
- National Comprehensive Cancer Network. NCCN Practice Guidelines <http://www.nccn.org/index.asp>. (Ημερομηνία ανάκτησης 12/09/2018)
- Naushad W, Surriya O, Sadia H. Prevalence of EBV, HPV and MMTV in Pakistani breast cancer patients: A possible etiological role of viruses in breast cancer. *Infect Genet Evol*. 2017 Oct;54:230-237.
- Nevels M, Täuber B, Spruss T, Wolf H, Dobner T. "Hit-and-run" transformation by adenovirus oncogenes. *J Virol*. 2001 Apr;75(7):3089-94.
- Nevins J R, Vogt P K. Cell transformation by viruses. In: Fields B N, Knipe D M, Howley P M, editors. *Virology*. 3rd ed. Vol. 1. New York, N.Y: Lippincott-Raven; 1996. pp. 301–343.
- Nicula FA, Anttila A, Neamtiiu L, Zakelj MP, Tachezy R, Chil A, et al. Challenges in starting organised screening programmes for cervical cancer in the new

member states of the European Union. *Eur J Cancer*. 2009 Oct;45(15):2679-84

- Onon TS. History of human papillomavirus, warts and cancer: What do we know today? *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011 Oct;25(5):565-74
- Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). Health at a Glance Europe 2018. <http://www.oecd.org/els/health-systems/HealthAtAGlanceEurope2012.pdf> (ημερομηνία ανάκτησης: 15/1/2013)
- Cason J, Kaye JN, Best JM, Raju KS. Cancer associated human papillomaviruses: perinatal transmission and persistence. *Br J Obstet Gynaecol*. 1995 Jul;102(7):583.
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2005 Mar-Apr;55(2):74-108.
- Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer*. 2006 Jun 15;118(12):3030-44.
- Peto J, Gilham C, Deacon J, Taylor C, Evans C, Binns W, et al. Cervical HPV infection and neoplasia in a large population-based prospective study: the Manchester cohort. *Br J Cancer* 2004;91:942–53
- Plummer M, Schiffman M, Castle PE, Maucort-Boulch M, Wheeler CM. A 2-year prospective study of HPV persistence among women with ASCUS or LSIL cytology. *J Infect Dis* 2007; 195: 1582–89
- Rachet B, Maringe C, Nur U, Quaresma M, Shah A, Woods LM, Ellis L, Walters S, Forman D, Steward J, Coleman MP. Population-based cancer survival trends in England and Wales up to 2007: an assessment of the NHS cancer plan for England. *Lancet Oncol*. 2009 Apr;10(4):351-69.
- Rasmussen CL, Sand FL, Hoffmann Frederiksen M, Kaae Andersen K, Kjaer SK. Does HPV status influence survival after vulvar cancer? *Int J Cancer*. 2018 Mar 15;142(6):1158-1165.
- Rasmussen CL, Sand FL, Hoffmann Frederiksen M, Kaae Andersen K, Kjaer SK. Does HPV status influence survival after vulvar cancer? *Int J Cancer*. 2018 Mar 15;142(6):1158-1165.

- Roman A, Fife KH. Human papillomaviruses: are we ready to type? Clin Microbiol Rev. 1989 Apr;2(2):166-90Shah et al, 1980
- Salis AD (2009). "Applications in Clinical Microbiology". Real-Time PCR: Current Technology and Applications. Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-39-4.
- Salman NA, Davies G, Majidy F, Shakir F, Akinrinade H, Perumal D, Ashrafi GH. Association of High Risk Human Papillomavirus and Breast cancer: A UK based Study. Sci Rep. 2017 Feb 27;7:43591.
- Sarwat M, Yamdagni MM. DNA barcoding, microarrays and next generation sequencing: recent tools for genetic diversity estimation and authentication of medicinal plants. Crit Rev Biotechnol. 2016;36(2):191-203
- Saslow D, Boetes C, Burke W, et al. American Cancer Society guidelines for breast screening with MRI as an adjunct to mammography. CA Cancer J Clin. 2007;57: 75-89
- SEER Monograph, Gynecologic Cancer Survival 2017. [http://www.igcs.org/professionalEducation/treatmentResources/NCI\\_SEER2007/NCI\\_SEER2007.html](http://www.igcs.org/professionalEducation/treatmentResources/NCI_SEER2007/NCI_SEER2007.html). (Ημερομηνία ανάκτησης 12/2/2018)
- Shah LC, Ogbimi AO, Johnson PM. A cell membrane antigen expressed by both human breast carcinoma cells and normal human trophoblast. Placenta. 1980 Oct-Dec;1(4):299-307.
- Silbernagl S., Lang F.,Color Atlas of Pathophysiology.Theame Medical Publiser, NY 2009
- Silva RG Jr, da Silva BB. No evidence for an association of human papillomavirus and breast carcinoma. Breast Cancer Res Treat. 2011 Jan;125(1):261-4.
- Simonsen AT, Hansen MC, Kjeldsen E, Møller PL, Hindkjær JJ, Hokland P, Aggerholm A. Systematic evaluation of signal-to-noise ratio in variant detection from single cell genome multiple displacement amplification and exome sequencing. BMC Genomics. 2018 Sep 17;19(1):681.

- Skinner G R. Transformation of primary hamster embryo fibroblasts by type 2 simplex virus: evidence for a “hit and run” mechanism. *Br J Exp Pathol.* 1976;57:361–376.
- Stigum H, Samuelsen SO, Traeen B. Analysis of first coitus. *Arch Sex Behav.* 2010 Aug;39(4):907-14.
- Stoler MH, Schiffman M. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *JAMA* 2001; 285: 1500–5
- Strauss MF, Shaw EW, Bunting H, Melnick JL. “Crystalline” virus-like particles from skin papillomas characterised by intranuclear inclusion bodies. *Proc Soc Exp Biol Med* 1949, 72:46
- Tagliafico AS, Calabrese M, Mariscotti G, et al. Adjunct Screening With Tomosynthesis or Ultrasound in Women With Mammography-Negative Dense Breasts: Interim Report of a Prospective Comparative Trial. *J Clin Oncol.* 2016
- The Alan Guttmacher Institute. *Sex and America’s teenagers.* New York: The Institute; 1994.
- The Nobel Committee for Physiology or Medicine 2008. Illustration Annika Rohl
- Thomas DB, Gao DL, Ray RM, et al. Randomized trial of breast self-examination in Shanghai: final results. *J Natl Cancer Inst.* 2002;94: 1445-145
- Thomas M, Pim D, Banks L. The role of the E6-p53 interaction in the molecular pathogenesis of HPV. *Oncogene* 1999 18:7690–7700
- Tiro JA, Saraiya M, Jain N, Liddon N, Cokkinides V, Lai SM, Breen N, Wideroff L. Human papillomavirus and cervical cancer behavioral surveillance in the US. *Cancer.* 2008 Nov 15;113(10 Suppl):3013-30.
- Trottier H, Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine* 2006;24(Suppl 1):S4–S15
- Tsai JH, Hsu CS, Tsai CH, Su JM, Liu YT, Cheng MH, Wei JC, Chen FL, Yang CC. Relationship between viral factors, axillary lymph node status and survival in breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2007 Jan;133(1):13-21.

- Tung N, Lin NU, Kidd J, et al. Frequency of Germline Mutations in 25 Cancer Susceptibility Genes in a Sequential Series of Patients With Breast Cancer. *J Clin Oncol*. 2016;34: 1460-1468
- US preventive disease task Force 2014. <https://www.uspreventiveservicestaskforce.org/Announcements/News/Item/2014-appointment-of-new-us-preventive-services-task-force-members>.
- Van Doornum GJ, Prins M, Juffermans LH, Hooykaas C, van den Hoek JA, Coutinho RA, Quint WG. Regional distribution and incidence of human papillomavirus infections among heterosexual men and women with multiple sexual partners: a prospective study. *Genitourin Med*. 1994 Aug;70(4):240-6
- Vernet-Tomas M, Mena M, Alemany L, et al. Human papillomavirus and breast cancer: no evidence of association in a Spanish set of cases. *Anticancer Res*. 2015;35:851–6.
- Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *The Journal of pathology*. 1999;189(1):12–9
- Widschwendter A, Brunhuber T, Wiedemair A, Mueller-Holzner E, Marth C. Detection of human papillomavirus DNA in breast cancer of patients with cervical cancer history. *J Clin Virol*. 2004 Dec;31(4):292-7.
- Widschwendter A, Brunhuber T, Wiedemair A, Mueller-Holzner E, Marth C. Detection of human papillomavirus DNA in breast cancer of patients with cervical cancer history. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2004;31(4):292–7.
- Wilting SM, Steenberg RDM. Molecular events leading to HPV-induced high-grade neoplasia. *Papillomavirus Res* 2016;2:85-88
- Wrede D, Luqmani YA, Coombes RC, Vousden KH. Absence of HPV 16 and 18 DNA in breast cancer. *Br J Cancer*. 1992 Jun;65(6):891-4
- Xu Y, Ouyang T, Li J, Wang T, Fan Z, Fan T, Lin B, Xie Y. Predictive value of BRCA1/2 mRNA expression for response to neoadjuvant chemotherapy in BRCA-negative breast cancers. *Cancer Sci*. 2018 Jan;109(1):166-173.

- Yang J, Pu YG, Zeng ZM, Yu ZJ, Huang N, Deng QW. Interferon for the treatment of genital warts: a systematic review. *BMC Infect Dis.* 2009 Sep 21;9:156
- Yavuzer D, Salepci T, Karadayi N, et al. Human papillomavirus is not associated with breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat.* 2010; 122:899–900.
- Youatt EJ, Harris LH, Harper GW, Janz NK, Bauermeister JA. Sexual Health Care Services among Young Adult Sexual Minority Women. *Sex Res Social Policy.* 2017 Sep;14(3):345-357.
- Zhou Y, Li J, Ji Y, Ren M, Pang B, Chu M, Wei L. Inconclusive role of human papillomavirus infection in breast cancer. *Infect Agent Cancer.* 2015 Oct 26;10:36.
- Ziegler YS, Moresco JJ, Yates JR 3rd, Nardulli AM. Integration of Breast Cancer Secretomes with Clinical Data Elucidates Potential Serum Markers for Disease Detection, Diagnosis, and Prognosis. *PLoS One.* 2016 Jun 29;11(6):e0158296.
- Zur H., de Villiers EM. Human Papilloma viruses. *Ann Rev Microbiol,* 1994, 48:427
- Αντσακλής Α. Μαιευτική και Γυναικολογία β έκδοση. Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνου, Αθήνα 2011
- Μορτάκης ΕΑ. Γυναίκα και HPV, πρόληψη της μόλυνσης και των επιπλοκών της. Αθήνα 2007



# Παράρτημα: Ερωτηματολόγιο

---

## Δημογραφικά στοιχεία

1. Ονοματεπώνυμο:

2. Κωδικός Ασθενή:

3. Ημερομηνία γέννησης: \_\_/\_\_/\_\_

4. Βάρος:

5. Ύψος:

6. Τόπος μόνιμης κατοικίας (περιοχή):

7. Εθνικότητα:

8. Τηλέφωνο:

Πιθανές ώρες επικοινωνίας:

9. Κάπνισμα:

Ναι

Όχι

10. Μορφωτικό επίπεδο:

Πρωτοβάθμια (βασική εκπαίδευση)

Δευτεροβάθμια (Λύκειο ή τεχνική εκπαίδευση)

Τριτοβάθμια (Πολυτεχνείο ή Πανεπιστημιακή εκπαίδευση)

11. Επάγγελμα:

12. Επαγγελματική κατάσταση:

Εργαζόμενη

Άνεργη

Οικιακά

Συνταξιούχος

13. Οικογενειακή κατάσταση:

Έγγαμη

Άγαμη

Διαζευγμένη

Σε διάσταση

Χήρα

Σε σταθερή σχέση

Σε ευκαιριακή  
σχέση

Χωρίς σχέση

## Μαιευτικό αναμνηστικό

14. Ηλικία 1ης σεξουαλικής επαφής

15. Ηλικία εμμηναρχής:

16. ΤΕΡ (τελευταία έμμηνος ρύση) \_\_/\_\_/\_\_\_\_

17. Ηλικία εμμηνόπαυσης:

18. Λαμβάνετε αντισυλληπτικά:

- Ναι
- Όχι

19. Αριθμός κυήσεων: \_\_

20. Αριθμός τοκετών:

Φυσιολογικός τοκετός: \_\_  
Καισαρική τομή: \_\_

21. Θηλασμός:

- Ναι
- Όχι

Αν ναι πόσο διάστημα:

- Λιγότερο από 3 μήνες
- 3 έως 6 μήνες
- Περισσότερο από 6 μήνες

## Γυναικολογικό αναμνηστικό

22. Ημερομηνία τελευταίου Τεστ Παπ: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

23. Παρουσία HPV ή φλεγμονή τραχήλου της μήτρας στο τελευταίου Τεστ Παπ:

- Ναι
- Όχι

24. Παλαιότερη HPV λοίμωξη

- Ναι
- Όχι

25. Κολποσκόπηση

- Ναι
- Όχι

26. Κωνοειδής εκτομή:

- Ναι
- Όχι

**27.Καυτηριασμοί λόγω κονδυλωμάτων:**

- Ναι  
 Όχι

**28.Διαγνωστική απόξεση:**

- Ναι  
 Όχι

**29.Άλλες γυναικολογικές παθήσεις:****30.Άλλες παθήσεις του μαστού:****Στοιχεία οικογενειακού ιστορικού**

Έχει (είχε) κάποιος από τους παρακάτω συγγενείς σας εμφανίσει κάποια μορφή καρκίνου;

	Τύπος καρκίνου	Ηλικία διάγνωσης
<b>Μητέρα</b> <input type="checkbox"/> Ναι <input type="checkbox"/> Όχι		
<b>Πατέρας</b> <input type="checkbox"/> Ναι <input type="checkbox"/> Όχι		
<b>Αδέλφια</b> <input type="checkbox"/> Ναι <input type="checkbox"/> Όχι  1.  2.  3.		
<b>Συγγενής 1<sup>ου</sup> βαθμού</b> <input type="checkbox"/> Ναι <input type="checkbox"/> Όχι  1.  2.  3.		

## Από τον Φάκελο νοσηλείας:

### Στοιχεία πάθησης

Ηλικία κατά την διάγνωση:

Τύπος πάθησης:

Στάδιο της πάθησης (εφόσον γνωρίζετε):

Τύπος επέμβασης:

- Μαστεκτομή
- Μαστεκτομή και πλαστική επέμβαση
- Ογκεκτομή

Ημερομηνία επέμβασης:

Συμπληρωματική θεραπεία (εφόσον έγινε):

Χημειοθεραπεία

Ακτινοθεραπεία

Ορμονοθεραπεία

Ημερομηνία παύσης συμπληρωματικής θεραπείας (εφόσον έγινε):