

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΑΡΘΡΟ

Η επίδραση της λανθάνουσας HPV λοίμωξης στα χαρακτηριστικά και πρόγνωση των καρκινωμάτων λάρυγγα

Κ. ΚΟΥΡΕΛΗΣ, Θ. ΠΑΠΑΔΑΣ, Ν. ΜΑΣΤΡΟΝΙΚΟΛΗΣ, Σ. ΝΑΞΑΚΗΣ, Κ. ΣΠΥΡΟΠΟΥΛΟΣ, Ε. ΠΑΠΑΔΕΑΣ, Β. ΜΑΡΓΑΡΙΤΗΣ, Π. ΓΚΟΥΜΑΣ
ΩΡΛ Κλινική Πανεπιστημίου Πατρών

Σκοπός: Η χρόνια υποκλινική λοίμωξη του λαρυγγικού επιθηλίου από τον ιό των Ανθρώπινων Θηλωμάτων (Human Papilloma Virus - HPV) έχει ενοχοποιηθεί στην ανάπτυξη καρκίνου. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η εκτίμηση των επιπτώσεων της χρόνιας HPV λοίμωξης στα κλινικοπαθολογοανατομικά γνωρίσματα και την πρόγνωση των καρκινωμάτων λάρυγγα εκ πλακώδους επιθηλίου.

Υλικό και μέθοδος: Εξήντα ασθενείς με καρκίνο λάρυγγα μελετήθηκαν ως προς τα επιδημιολογικά στοιχεία, χαρακτηριστικά της νόσου, και την εξέλιξή της σε 5ετές follow-up. Τα παραπάνω δεδομένα συσχετίστηκαν με την παρουσία πιθανής HPV λοίμωξης, σύμφωνα με ιστοπαθολογικά κριτήρια.

Αποτελέσματα: Οι ενδείξεις HPV λοίμωξης σχετίζονται με όγκους χαμηλού T, χαμηλού κλινικού σταδίου και καλύτερης διαφοροποίησης. Οι δύο τελευταίες συσχετίσεις ελέγχθηκαν οριακά μη σημαντικές ($P=0.063$ & $P=0.071$, αντίστοιχα).

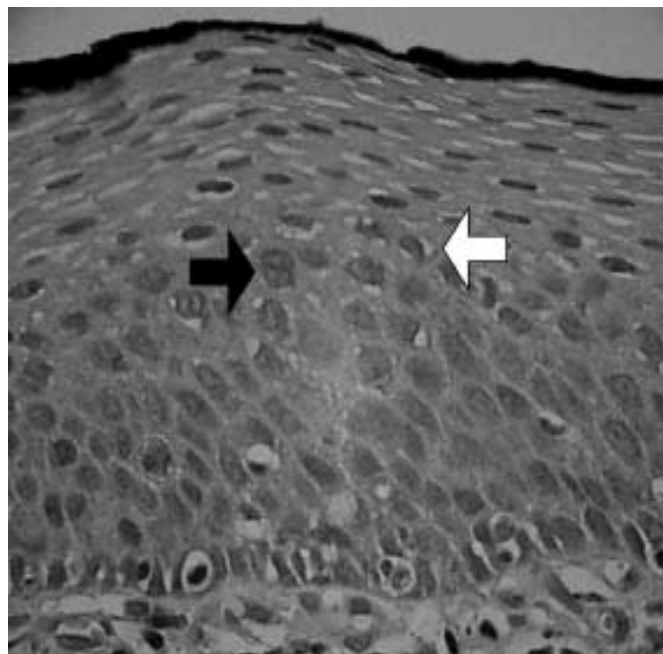
Συμπέρασμα: Τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των λαρυγγικών νεοπλασμάτων στους HPV-θετικούς ασθενείς πιθανόν υποδηλώνουν μια ιδιαίτερη παραλλαγή του καρκίνου λάρυγγα, ως προς την αιτιολογία, συμπεριφορά και ενδεικνυόμενη αντιμετώπιση.

Λέξεις κλειδιά: καρκίνος λάρυγγα, HPV, πρόγνωση.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα καρκινώματα εκ πλακώδους επιθηλίου που αναπτύσσονται στην περιοχή του λάρυγγα και του γειτονικού λαρυγγοφάρυγγα αποτελούν τη συχνότερη κακοήθεια Κεφαλής & Τραχήλου.

Οι κλασικοί παράγοντες κινδύνου, κάπνισμα και κατανάλωση αλκοόλ, ενοχοποιούνται σε 90% των περιστατικών, ενώ ο ακριβής ρόλος άλλων λιγότερο σημαντικών παραγόντων, όπως γαστρο-οισοφαγική παλινδρόμηση και HPV λοίμωξη παραμένει ασαφής. Η τελευταία αποκτάει ιδιαίτερη βαρύτητα για δύο λόγους: αφενός ο ιός αποτελεί τον αιτιολογικό παράγοντα της θηλωμάτωσης λάρυγγα, που συνιστά τη συχνότερη καλοήγη νεοπλασματική νόσο του οργάνου αφετέρου, υπάρχει ισχυρή τεκμηρίωση της παθογενετικής σημασίας της HPV λοίμωξης στην ανάπτυξη καρκίνου στον τράχηλο της μήτρας. Ο HPV είναι DNA ιός που ανήκει στην οικογένεια Papovaviridae. Παρουσιάζει τροπισμό προς τα πλακώδη επιθήλια, όπου προκαλεί την ανάπτυξη καλοήθων υπερπλαστικών αλλοιώσεων (θηλώματα λάρυγγα, οξυτενή κονδυλώματα πρωκτογεννητικής περιοχής). Ενδέχεται όμως η λοίμωξη να είναι ασυμπτω-



Εικόνα 1. Χαρακτηριστικές κυτοπαθητικές αλλοιώσεις (κοιλοκύτωση - λευκό βέλος, διπύρνα κύτταρα - μαύρο βέλος) της HPV λοίμωξης σε φυσιολογικό επιθήλιο ασθενή του δείγματος, ο οποίος έπασχε από καρκίνωμα λάρυγγα υψηλής διαφοροποίησης και κλινικού σταδίου I κατά τη διάγνωση.



ΠΙΝΑΚΑΣ 1. ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΑΝΑΛΟΓΩΣ ΤΗΣ ΥΠΑΡΞΗΣ HPV ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΚΑΙ Η ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΤΗΣ ΣΗΜΑΣΙΑ.

Χαρακτηριστικό	HPV - (%)	HPV + (%)	P		
Φύλο					
Άνδρες	32	(56.1)	25	(43.9)	
Γυναίκες	2	(66.7)	1	(33.3)	0.601
Ηλικία					
≤60	15	(57.7)	11	(42.3)	
>60	18	(54.5)	15	(45.5)	0.509
Εντόπιση					
Γλωττιδική	25	(55.6)	20	(44.4)	
Υπεργλωττιδική	9	(60.0)	6	(40.0)	
Μέγεθος Πρωτοπαθούς Όγκου					
T1-T2	15	(48.4)	16	(51.6)	
T3-T4	19	(65.5)	10	(34.5)	0.141
Τραχηλικές Μεταστάσεις					
N0	29	(54.7)	24	(45.3)	
N+	5	(71.4)	2	(28.6)	0.339
Απομακρυσμένες Μεταστάσεις					
M0	34	(56.7)	26	(43.3)	
M1	-		-		
Κλινικό Στάδιο					
I-II	13	(44.8)	16	(55.2)	
III-IV	21	(61.8)	10	(38.5)	0.063
Βαθμός Διαφοροποίησης					
I	9	(75.0)	3	(25.0)	
II	11	(40.7)	16	(59.3)	
III	14	(41.2)	7	(26.9)	0.071
Υποτροπή εντός 5ετίας					
Όχι	18	(51.4)	17	(48.6)	
Ναι	16	(64.0)	9	(36.0)	0.241
Επιβίωση εντός 5ετίας					
Ναι	23	(56.1)	18	(43.9)	
Όχι	11	(57.9)	8	(42.1)	0.561

ματική, δηλαδή χωρίς μακροσκοπικές επιθηλιακές αλλοιώσεις, με τον ιό να παραμένει σε λανθάνουσα κατάσταση στα κύτταρα, τα οποία αποκτούν μικροσκοπικά κυτοπαθητικά γνωρίσματα (κοιλοκυττάρωση, πυρηνική ατυπία, πολυπύρρηνα κύτταρα) (εικόνα 1).

Ο ιός αρχικά προσβάλλει τα βασικά κύτταρα του επιθηλίου και το DNA του εισέρχεται στον πυρήνα τους, οπότε ακολουθεί είτε η παραγωγική λοίμωξη με την απελευθέρωση νέων αντιγράφων HPV, είτε η μη παραγωγική όπου παρασκευάζονται ορισμένες μόνο ιικές πρωτεΐνες. Στον καρκίνο τραχήλου της μήτρας, που έχει μελετηθεί εκτενέστερα, η κακοήθης εξαλλαγή συνδυάζεται συχνά με την ενσωμάτωση του ιικού DNA στο κυτταρικό γονιδίωμα, ενώ ογκογόνος θεωρείται και η δράση των HPV-πρωτεϊνών E6 και E7, οι οποίες παράγονται κατά τη λανθάνουσα λοίμωξη. Στην περίπτωση του καρκίνου του λάρυγγα, περισσότερες από 40 μελέτες έχουν διερευνήσει τη συμμετοχή του HPV, ανιχνεύοντας τον ιό σε 25% των όγκων. Εντούτοις, τυχόν επίδραση της HPV λοίμωξης στα κλινικο-παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά των καρκινωμάτων αλλά και στην πρόγνωση της νόσου δεν έχει εκτιμηθεί. Η παρούσα εργασία εξετάζει τη συσχέτιση μεταξύ πιθανής HPV λοίμωξης του λάρυγγα και μιας σειράς από κλινικο-προγνωστικές παραμέτρους σε ασθενείς με καρκινώματα λάρυγγα εκ πλακώδους επιθηλίου.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στην παρούσα αναδρομική μελέτη συμπεριλήφθηκαν 60 πάσχοντες από καρκίνο λάρυγγα, στους οποίους η διάγνωση και αντιμετώπιση έλαβαν χώρα στις Λαρυγγολογικές Κλινικές των Νοσοκομείων της Πάτρας α. Γενικό Νοσοκομείο «Ο Άγιος Ανδρέας» και β. Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ρίου, κατά την περίοδο 1996-2002. Η κατανομή φύλου ήταν 57 άνδρες (95%) και 3 γυναίκες (5%), ενώ η μέση ηλικία προσέγγισε τα 61 έτη (εύρος 40-80 έτη). Οι ασθενείς στη διάγνωση σταδιοποιήθηκαν κατά UICC, σύμφωνα με τα κλινικά και απεικονιστικά ευρήματα. Οι ασθενείς δεν είχαν υποβληθεί σε προηγούμενη ακτινο- ή χημειο-θεραπεία.

Ακολούθησε η θεραπευτική προσέγγιση και όλοι οι ασθενείς τέθηκαν σε τακτικό follow-up διάρκειας 5 ετών.

Από τον έλεγχο των αρχείων προέκυψε υποτροπή της νόσου (τοπική ή μετάσταση) σε 25 ασθενείς (42%) ενώ 19 ασθενείς (32%) τελικά απεβίωσαν από τη νόσο. Η μέση ελεύθερη νόσου επιβίωση και η μέση συνολική επιβίωση υπολογίστηκαν αντίστοιχα σε 40 και 48 μήνες.

Στο σύνολο των ασθενών, οι τομές ιστών αιματοξυλίνης-πασίνης που προέκυψαν είτε από την πρώτη βιοψία, είτε από τη μετέπειτα λαρυγγεκτομή, εφόσον αυτό αποτελούσε την αρχική θεραπευτική προσέγγιση, επανελέγχθηκαν από παθολογοανατόμο ειδικά ως προς τις χαρακτηριστικές μικροσκοπικές αλλοιώσεις της HPV λοίμωξης (εικόνα 1). Έγινε κάθε προσπάθεια να εξεταστούν περιοχές απομακρυσμένες από τον όγκο, ώστε οι κυτοπαθητικές αλλοιώσεις της ιογενούς προσβολής να είναι πιο αξιόπιστες. Η ύπαρξη ισχυρής ένδειξης HPV λανθάνουσας λοίμωξης, που καταγράφηκε σε 28 περιπτώσεις (43%), συσχετίστηκε τόσο

με τα δημογραφικά και κλινικο-παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά των ασθενών, όσο και με την ανταπόκριση στη θεραπεία και εξέλιξη της νόσου. Οι συσχετίσεις ελέγχθηκαν στατιστικά με τη δοκιμασία χ^2 , πλην εκείνων όπου ήταν δυνατό να εφαρμοστεί ο έλεγχος με Fisher's Exact Test, χρησιμοποιώντας το λογισμικό SPSS 13.0. Τιμή $P < 0.05$ καθορίστηκε ως στατιστικά σημαντική.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στον πίνακα 1 κατανέμονται τα δημογραφικά και κλινικο-παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά του δείγματος της μελέτης, σε σχέση με την ένδειξη HPV λοίμωξης, καθώς και η στατιστική τους σημασία.

Εδώ αξίζει να αναφερθεί η υπεροχή καρκινωμάτων υψηλής διαφοροποίησης σε άτομα που δεν εμφανίζουν πιθανή HPV λοίμωξη, οριακά χωρίς στατιστική σημασία ($P=0.072$). Επιπλέον παρατηρείται μικρότερο μέγεθος πρωτοπαθούς όγκου (T) σε ασθενείς που δεν προσβλήθηκαν από HPV, το οποίο οδηγεί και σε ευνοϊκότερη κλινική σταδιοποίηση, αποτέλεσμα που μπορεί να χαρακτηριστεί επίσης οριακά μη σημαντικό ($P=0.063$). Αποτέλεσμα των παραπάνω είναι τα χαμηλότερα ποσοστά υποτροπών και θνητότητας στην ομάδα χωρίς υποψία HPV προσβολής, τα οποία δεν πλησιάζουν όμως επίπεδα σημαντικότητας.

Προκειμένου να αναλυθεί το εύρημα του υψηλού κλινικού σταδίου σε ασθενείς που δεν είχαν νοσήσει από HPV, το δείγμα ομαδοποιήθηκε περαιτέρω ως προς την εντόπιση του πρωτοπαθούς όγκου. Διαπιστώθηκε πως υπεργλωττιδικό όγκο χαμηλού μεγέθους (T1 & T2) εμφανίζονται συχνότερα σε μη πάσχοντες από HPV λοίμωξη [57.1% έναντι 42.9% των HPV(+)], ενώ αντίθετα στα γλωττιδικά νεοπλασμάτα αντίστοιχου σταδίου T, υπερέχουν άτομα με ενδείξεις της ιογενούς προσβολής [54.2% έναντι 45.8% των HPV(-)].

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα εργασία εξετάζει την επίδραση της λανθάνουσας λοίμωξης του λαρυγγικού επιθηλίου από τον ιό HPV στις κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους και την πρόγνωση των λαρυγγικών καρκινωμάτων που εξορμούν από αυτό. Η ανάδειξη της HPV λοίμωξης με ιστολογικά κριτήρια, όπως εφαρμόστηκε στην μελέτη μας, σαφώς υστερεί σε ευαισθησία και ειδικότητα έναντι σύγχρονων μοριακών μεθόδων. Ειδικότερα, η συνολική προβλεπτική αξία των ιστοπαθολογικών κριτηρίων έχει προσδιοριστεί σε 72.41%, με την κοιλοκυττάρωση να αποτελεί τον πιο ευαίσθητο δείκτη (88.89%)⁸. Κρίθηκε όμως αναγκαία η συγκεκριμένη διαγνωστική προσέγγιση προκειμένου να επιτευχθεί μια αναδρομική μελέτη σε ικανοποιητικό αριθμό ασθενών με πλήρες 5ετές follow-up, δεδομένου ότι σε αρκετές περιπτώσεις ο αρχαιακός ιστός προερχόταν μόνο από μια βιοψία και δεν θα επαρκούσε ποσοτικά για μοριακή επεξεργασία.

Η λανθάνουσα HPV λοίμωξη εντοπίστηκε σε όλο το φάσμα των ηλικιών του δείγματος με την ίδια συχνότητα, γεγονός που υποδηλώνει πως συμβαίνει συνήθως σε νεαρή ηλικία και παραμένει σε χρονιότητα.

Από τη συσχέτιση των κλινικοπαθολογοανατομικών γνω-



► ρισμάτων προέκυψε πως ασθενείς με καρκίνο του λάρυγγα και ενδείξεις υποκλινικής HPV λοίμωξης, χαρακτηρίζονται συχνότερα από χαμηλό μέγεθος όγκου και συνεπώς κλινικό στάδιο κατά τη διάγνωση, καθώς και καλύτερα διαφοροποιημένο ιστολογικό τύπο του νεοπλασματος. Μάλιστα για τις δύο τελευταίες παραμέτρους η διαφορά προσγγίζει οριακά το επίπεδο σημαντικότητας.

Τα παραπάνω χαρακτηριστικά εξηγούν και την ευνοϊκότερη πρόγνωση που παρουσιάζει η συγκεκριμένη ομάδα, σε σχέση με ασθενείς στους οποίους δεν ανιχνεύτηκε ιστοπαθολογικά η προσβολή από τον HPV. Από περαιτέρω ανάλυση των λοιπών δεδομένων του δείγματός μας, προέκυψε ελαφρά υπεροχή των υπεργλωττιδικών νεοπλασμάτων χαμηλού T στην ομάδα που δεν είχε προσβληθεί από τον ιό. Ως γνωστόν, οι υπεργλωττιδικοί όγκοι μικρού μεγέθους συχνά παραμένουν ασυμπτωματικοί και πιθανόν εξηγείται μερικώς η διάγνωση καρκινωμάτων προχωρημένου σταδίου στους HPV(-) ασθενείς.

Τα παραπάνω έρχονται και σε συμφωνία με μελέτες που αναφέρουν ως πιο κοινή εντόπιση των θηλωμάτων λάρυγγα τις γνήσιες φωνητικές χορδές, φανερώνοντας ίσως το χαμηλό τροπισμό του ιού προς το επιθήλιο της υπεργλωττιδικής μοίρας.

Σύμφωνα με τα ευρήματά μας, τα καρκινώματα λάρυγγα που παρατηρούνται σε ασθενείς με πιθανή HPV λοίμωξη εμφανίζουν λιγότερο επιθετικούς χαρακτήρες και πιθανόν ευνοϊκότερη πρόγνωση. Στην παρούσα φάση, οπωσδήποτε δεν υπάρχει τεκμηριωμένη σύνδεση μεταξύ καρκίνου λάρυγγα και HPV. Τα αποτελέσματά μας συσχετίζουν μεν ένα συγκεκριμένο προφίλ καρκινώματος λάρυγγα με τη χρόνια λοίμωξη από τον ιό των θηλωμάτων, όμως δεν επαρκούν για να τεκμηριώσουν και να εξηγήσουν μια τυχόν ευνοϊκή επίδραση της λοίμωξης στη βιολογική συμπεριφορά του όγκου. Θα ήταν ίσως πιο ασφαλές να μελετηθεί ο καρκίνος λάρυγγα στους συγκεκριμένους ασθενείς ως ένας διακριτός τύπος με ιδιαίτερη αιτιολογία, βιολογικά και κλινικά γνωρίσματα, καθώς και εξέλιξη. Εξάλλου, τα καρκινώματα εκ πλακώδους επιθηλίου Κεφαλής & Τραχήλου παρουσιάζουν γενικότερα μια ετερογένεια ως προς την αιτιολογία τους, η οποία μάλιστα αντανακλά στη βιολογική συμπεριφορά τους.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο καρκίνος ρινοφάρυγγα, μια υποκατηγορία του οποίου συνδέεται με λοίμωξη από τον ιό Epstein Barr Virus, και αποτελεί διακριτή κλινική οντότητα. Συνεπώς αξίζει πιθανόν να εκτιμηθεί το ενδεχόμενο ύπαρξης δύο διακριτών υποκατηγοριών και στον καρκίνο του λάρυγγα: αυτής που σχετίζεται με HPV λοίμωξη και εκείνης που δεν συνδέεται με την προσβολή από τον ιό των θηλωμάτων. Η πρώτη υποκατηγορία είναι σκόπιμο να μελετηθεί σε ασθενείς χωρίς ιστορικό έκθεσης στους συνήθεις παράγοντες κινδύνου (κάπνισμα, αλκοόλ). Σήμερα, που το ζήτημα του εμβολιασμού κατά του HPV ως προστασία από τον καρκίνο τραχήλου της μήτρας είναι πιο επίκαιρο από ποτέ, θα ήταν δυνατό να σχεδιαστεί ένα υπερ-εκλεκτικό πρόγραμμα εμβολιασμού ατόμων με προ-καρκινικές αλλοιώσεις, ενδείξεις HPV λοίμωξης και απουσία άλλων παραγόντων κινδύνου.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Τα καρκινώματα λάρυγγα που εξορμούν από πλακώδες επιθήλιο με στοιχεία λανθάνουσας HPV λοίμωξης, παρουσιάζουν ενδείξεις ιδιαίτερης βιολογικής και κλινικής συμπεριφοράς, ώστε να αποτελούν ενδεχομένως μια διακριτή παθολογική οντότητα.

Summary

Clinicopathologic and prognostic effect of latent HPV infection on laryngeal cancer

AIM: Chronic latent Human Papilloma Virus (HPV) infection of laryngeal epithelium has long been implicated in carcinogenesis. This study aims to determine the influence of HPV infection on clinicopathologic characteristics and prognosis of laryngeal Squamous Cell Carcinomas (SCCs).

MATERIALS & METHODS: Sixty laryngeal cancer patients were evaluated regarding their epidemiologic data, tumor features, as well as a complete 5-year follow-up. Clinicopathologic and survival data were then correlated with the patients' HPV status, established by the typical histopathological hallmarks.

RESULTS: HPV infection is associated with low tumor size, less advanced clinical stage and higher differentiation. The latter two associations barely failed to reach statistical significance ($P=0.063$ & $P=0.072$, respectively).

CONCLUSION: The distinct tumor profile of HPV(+) patients suggests an HPV-related subset of laryngeal SCCs, in terms of etiology, behaviour and proper management.

Key words: laryngeal cancer, HPV, prognosis.

Βιβλιογραφία

1. Weisman R, Kris S, Orloff L. Neoplasms of the larynx and laryngopharynx. In: Snow J, Ballenger J, editors. Ballenger's Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery. 16 ed.: BC Decker; 2003. p.1255-97.
2. Lehmann W, Raymond L, Faggiano F, Sancho-Garnier H, Blanchet F, Del Moral A, et al. Cancer of the endolarynx, epilarynx and hypopharynx in south-western Europe: assessment of tumoral origin and risk factors. Adv Otorhinolaryngol 1991; 46:145-56.
3. Herrero R. Chapter 7: Human papillomavirus and cancer of the upper aerodigestive tract. J Natl Cancer Inst Monogr 2003(31):47-51.
4. Aaltonen LM, Rihkanen H, Vaheri A. Human papillomavirus in larynx. Laryngoscope 2002; 112(4):700-07.
5. Richman DD, J. WR, G. HF. HPV infections. In: anonymous, editor. Clinical Virology: Churchill-Livingstone; 1997. p. 569-611.
6. Rosai J. Larynx and trachea. In: Rosai J, Ackerman LV, editors. Ackerman's Surgical Pathology. 8 ed. Philadelphia: Mosby; 1996. p. 314-31.
7. Syrjanen S. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. J Clin Virol 2005; 32 Suppl 1:559-66.
8. Salvia PN, Bergo SM, Bonesso-Sabadini PI, Tagliarini EB, Hackel C, De Angelo AnL. Correlation between histological criteria and human papillomavirus presence based on PCR assay in cervical biopsies. Int J Gynecol Cancer 2004; 14(1):126-32.
9. Raitiola H, Pukander J, Laippala P. Glottic and supraglottic laryngeal carcinoma: differences in epidemiology, clinical characteristics and prognosis. Acta Otolaryngol 1999; 119(7):847-51.
10. Capper JW, Jenkins CM, Michaels L. Squamous papillomas of the larynx in adults. A review of 63 cases. Clin Otolaryngol Allied Sci 1983; 8(2):109-19.
11. Raab-Traub N. Epstein-Barr virus in the pathogenesis of NPC. Semin Cancer Biol 2002; 12(6):431-41.
12. Paavonen J, Jenkins D, Bosch FX, Naud P, Salmeron J, Wheeler CM, et al. Efficacy of a prophylactic adjuvanted bivalent L1 virus-like-particle vaccine against infection with human papillomavirus types 16 and 18 in young women: an interim analysis of a phase III double-blind, randomised controlled trial. Lancet 2007; 369(9580):2161-70.