



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ ΚΑΙ  
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΛΙΚΩΝ

**Μελέτη και βιοπληροφορική ανάλυση των διαφορετικών  
τύπων του ιού των Ανθρωπίνων Θηλωμάτων (HPV)**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μαρία Κ. Ατζάμπου

Επιβλέπων : Δημήτριος - Διονύσιος Κουτσούρης  
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Οκτώβριος, 2015





ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ ΚΑΙ  
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΥΛΙΚΩΝ

## Μελέτη και βιοπληροφορική ανάλυση των διαφορετικών τύπων του ιού των Ανθρωπίνων Θηλωμάτων (HPV)

### ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Μαρία Κ. Ατζάμπου

Επιβλέπων : Δημήτριος – Διονύσιος Κουτσούρης  
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Εγκρίθηκε από την τριμελή εξεταστική επιτροπή την 13<sup>η</sup> Οκτωβρίου 2015.

.....  
Δ. – Δ. Κουτσούρης  
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

.....  
Κ. Νικήτα  
Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

.....  
Γ. Ματσόπουλος  
Επ. Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Οκτώβριος, 2015

.....  
Μαρία Κ. Ατζάμπου

Διπλωματούχος Ηλεκτρολόγος Μηχανικός και Μηχανικός Υπολογιστών Ε.Μ.Π.

Copyright © Μαρία Κ. Ατζάμπου

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα.

Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

«Μικρότερο κακό είναι η αγραμματοσύνη, παρά η κακή και χωρίς μέθοδο εκπαίδευση.  
Είναι βέβαιο πως ανάμεσα στους αγράμματους ευκολότερα βρίσκει κανείς άνθρωπο  
ενάρετο, παρά ανάμεσα σ' εκείνους που εκπαιδεύτηκαν χωρίς σωστή μέθοδο.»

Αδαμάντιος Κοραΐς



## ***ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ***

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους εκείνους που συνέβαλλαν και βοήθησαν στην πραγματοποίηση αυτής της διπλωματικής εργασίας.

Θα ήθελα, αρχικά, να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή, κ. Δημήτριο Κουτσούρη, που μου έδωσε τη δυνατότητα να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον και σύγχρονο θέμα, καθώς επίσης, και τη συνολική υποστήριξή του. Θα ήθελα, επίσης, να ευχαριστήσω τον συνεπιβλέποντα κ. Ιωάννη Μακρή για τη συνεχή και αποτελεσματική βοήθειά του, καθώς και την αμέριστη συμπαράσταση του καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας. Επίσης, ευχαριστώ τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής, την Καθηγήτρια κα. Κωνσταντίνα Νικήτα και τον Επικ. Καθηγητή κ. Γεώργιο Ματσόπουλο. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους εκείνους που έβαλαν έστω και ένα μικρό λιθαράκι στην περάτωση της διπλωματικής μου εργασίας και, φυσικά, τους γονείς μου για τη συμπαράσταση και την υπομονή τους.

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Η παρούσα εργασία ασχολείται με τη μελέτη και τη βιοπληροφορική ανάλυση των διαφορετικών τύπων του ιού των Ανθρωπίνων Θηλωμάτων, ή όπως είναι ευρέως γνωστός, με τον ιό HPV, με σκοπό τη βελτίωση των τρόπων πρόληψης της HPV λοίμωξης, των μέσων διάγνωσης αυτής καθώς και των μεθόδων θεραπείας, ώστε να μειωθούν τα κρούσματα του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, για τα οποία ευθύνεται.

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας είναι η τρίτη πιο συχνή μορφή καρκίνου που παρατηρείται στις γυναίκες, με εκτιμώμενους 265.653 θανάτους κάθε χρόνο παγκοσμίως και με 527.624 εκτιμώμενα νέα κρούσματα ετησίως. Το 75% αυτών οφείλεται στην προσβολή από τον τύπο HPV 16 του ιού και το 15% από τον τύπο HPV 18, δύο από τους υψηλού κινδύνου τύπους του ιού. Το γεγονός αυτό, καθιστά αναγκαία την ταυτοποίηση και την ανάλυση των γονιδιωμάτων του ιού αυτού καθώς, μόνο μελετώντας μια σειρά από πολλά γονίδια μπορούμε να ανιχνεύσουμε τις ιδιαιτερότητες που έχει ένας ιός από έναν άλλον παρόμοιο με αυτόν, ώστε να είμαστε σε θέση να ανταποκριθούμε στις απαιτήσεις που έχει καθένας ή και κάποιιοι από αυτούς.

Στο πρώτο κεφάλαιο, μελετήθηκε ο τράχηλος της μήτρας στον οποίο εμφανίζεται και αναπτύσσεται η νόσος. Στο δεύτερο κεφάλαιο, αναπτύχθηκαν βασικές βιολογικές έννοιες, ορίστηκε η έννοια του καρκίνου και συνδέθηκε ο ιός των κονδυλωμάτων με την HPV λοίμωξη και τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Επιπλέον, εξετάστηκε λεπτομερώς η δομή και η μορφολογία του ιού, ο κύκλος ζωής και δράσης του, όπως επίσης, παρουσιάστηκαν και κάποιοι τρόποι διάγνωσης και θεραπείας αυτού. Στο τρίτο κεφάλαιο, παρουσιάστηκε το BLAST, ένα βιοπληροφορικό εργαλείο που χρησιμοποιεί στατιστικές μεθόδους για να συγκρίνει ακολουθίες DNA και με τη βοήθεια του, μελετήθηκαν και αναλύθηκαν οι διαφορετικοί τύποι υψηλού κινδύνου του ιού HPV. Με τη χρήση φυλογενετικών δέντρων παρουσιάστηκαν ταξινομικά και επιδημιολογικά στοιχεία του.

Από τη μελέτη αυτή συμπεράναμε πως οι τύποι του ιού είναι τόσο όμοιοι μεταξύ τους και, παράλληλα, και τόσο διαφορετικοί. Ανάλογα με τα ποσοστά ομοιότητας των γονιδιωμάτων τους, ομαδοποιήθηκαν σε δύο ομάδες και μελετήθηκαν ξεχωριστά, όπως επίσης, συγκρίθηκαν και παραλλαγές του ίδιου τύπου του ιού. Επιπρόσθετα, είδαμε την κοινή καταγωγή τους και την εξέλιξη τους στο πέρασμα των χρόνων. Κατέστη η ανάγκη ύπαρξης ενός ενιαίου συστήματος ονοματολογίας ώστε να μπορούν οι διάφορες μελέτες να αλληλοσυμπληρώνονται και να παράγεται ένα πιο ολοκληρωμένο επιστημονικό αποτέλεσμα.

Τέλος, με γνώμονα πως η πρόληψη είναι η καλύτερη θεραπεία, επιβεβαιώθηκε η σπουδαιότητα της γονιδιακής ανάλυσης, αφού προληπτικά εμβόλια με πιο ευρύ ή πιο εξειδικευμένο φάσμα απαιτούνται αλλά και νέες εφευρετικότερες μέθοδοι διάγνωσης. Όσον αφορά στη θεραπεία, η συμβολή της γονιδιακής θεραπείας κατέστη σαφής.

## **ΛΕΞΕΙΣ - ΚΛΕΙΔΙΑ:**

Ιός Ανθρωπίνων Θηλωμάτων, καρκίνος τραχήλου μήτρας, HPV λοίμωξη, διαφορετικοί τύποι του ιού HPV, φυλογενετικά δέντρα, πρόληψη καρκίνου τραχήλου μήτρας, θεραπεία καρκίνου τραχήλου μήτρας



## ***ABSTRACT***

The present paper deals with the study and the bioinformatic analysis of the different types of the Human Papillomavirus or, as it is widely known, with the HPV, with the aim of improving the ways of preventing the HPV infection, the diagnostic tools and the treatment methods, so as to reduce the incidence of cervical cancer, for which it is responsible for.

Cervical cancer is the third most frequent cancer among women and current estimates indicate that every year 527,624 women are diagnosed with cervical cancer and 265,653 die from the disease. 75% of these due to infection by the HPV16 type and 15% by the HPV18 type, two of the high-risk types of the virus. This requires the identification and the analysis of the virus' genome, due to the fact that, only by studying a long series of genes we can detect the features from which a virus is different from a similar one, in order to be able to respond to the demands which each or some of them may have.

In the first chapter, the cervix was studied in which the disease appears and develops. In the second chapter, basic biological definitions were given, the concept of cancer was explained and the HPV was connected to the HPV infection and to the cervical cancer. In addition, the structure and the morphology of the virus, the virus' life cycle and action and some prevention and therapy methods were examined. In the third chapter, BLAST was presented, a bioinformatics tool which uses statistical methods to compare DNA sequences and with its assistance, I studied and analysed the different high-risk HPV types. Using phylogenetic trees, taxonomic and epidemiological data of the virus were presented.

From this study came across that the types of the virus are so similar between them, and at the same time, so different. According to the genome percentage similarity, the types were divided into to groups and were studied separately, as well as different variants of the same HPV type were compared. In addition, we have seen the common origin and their evolution over time. The need of a nomenclature system has become clear, in order various studies around the world to fill each other and a more comprehensive scientific result can be produced.

Finally, on the basis that prevention is the best treatment, the importance of gene analysis was confirmed since preventive vaccines with more general or more specific range and more efficient diagnostic methods are required. As far as treatment is concerned, the importance of the gene therapy contribution was noted.

## ***KEY WORDS***

HPV, Human Papillomavirus, Cervical cancer, HPV infection, different HPV types, HPV variants, phylogenetic trees, cervical cancer prevention, cervical cancer treatment

## **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ:**

Κατάλογος εικόνων .....	12
Κατάλογος πινάκων.....	14
Κεφάλαιο 1 <sup>ο</sup> : ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	15
1.1.Ανατομία του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος.....	15
1.2.Ανατομία του τραχήλου της μήτρας.....	16
1.3.Μεταπλασία και ζώνη μετάπλασης .....	17
Κεφάλαιο 2 <sup>ο</sup> : Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ.....	18
2.1. Βασικές βιολογικές έννοιες .....	18
2.1.1. Βασικές αρχές της ζωής .....	18
2.2. Γενικά για τον καρκίνο.....	20
2.3. Καρκίνος του τραχήλου της μήτρας.....	20
2.3.1. Ο ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV).....	21
2.3.1.1 Ιστορική αναδρομή .....	21
2.3.1.2 Δομή και μορφολογία του ιού .....	22
2.3.1.3 Ταξινόμηση.....	24
2.3.1.4 Ο κύκλος ζωής και δράσης του ιού .....	25
2.3.1.5 Φυσική εξέλιξη της HPV λοίμωξης.....	27
2.3.1.6 Τρόποι μετάδοσης.....	28
2.3.1.7 Δευτερογενείς παράγοντες τραχηλικής νεοπλασίας .....	28
2.3.1.8 Συμπτώματα .....	29
2.3.1.9 Εξετάσεις και διάγνωση.....	29
2.3.1.10 Θεραπεία .....	31
2.4 Μέτρα πρόληψης κατά του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.....	32
2.4.1 Γενικά μέτρα .....	32
2.4.2 Προληπτικά εμβόλια .....	32
Κεφάλαιο 3 <sup>ο</sup> : ΟΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΙ ΤΥΠΟΙ ΤΟΥ ΙΟΥ HPV .....	34
3.1 BLAST.....	34
3.1.1 Σύγκριση γονιδιωμάτων.....	35
3.1.2 Σχολιασμός αποτελεσμάτων .....	40
3.2 Οι διαφορετικοί τύποι του HPV .....	46
3.2.1 Ο HPV 16.....	46
3.2.2 Ο HPV 18.....	48
3.2.3 Ο HPV 31.....	49

3.2.4 Ο HPV 33.....	51
3.2.5 Ο HPV 35.....	52
3.2.6 Ο HPV 39.....	54
3.2.7 Ο HPV 45.....	56
3.2.8 Ο HPV 51.....	58
3.2.9 Ο HPV 52.....	58
3.2.10 Ο HPV 56.....	60
3.2.11 Ο HPV 58.....	61
3.2.12 Ο HPV 59.....	62
3.2.13 Ο HPV 68.....	64
3.2.14 Σχολιασμός αποτελεσμάτων .....	65
3.3 Εξελικτικά και Ταξινομικά στοιχεία.....	65
3.3.1 Εξελικτικά και Ταξινομικά στοιχεία για την HPV16 ομάδα ειδών .....	66
3.3.2 Εξελικτικά και Ταξινομικά στοιχεία για την HPV18 ομάδα ειδών .....	74
Κεφάλαιο 4 <sup>ο</sup> : ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ.....	83
4.1 Πρόληψη και Διάγνωση.....	83
4.2 Θεραπεία.....	84
Βιβλιογραφία.....	86

## **ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ:**

Εικόνα 1 : Η ανατομία των γυναικείων γεννητικών οργάνων [1].....	15
Εικόνα 2: Τραχηλικό στόμιο πριν την εγκυμοσύνη, μετά από εγκυμοσύνη, μετά την εμμηνόπαυση [3] .....	16
Εικόνα 3: Οι πέντε κυτταρικές στιβάδες του ενδοκολπικού τμήματος του τραχήλου [4]....	17
Εικόνα 4: Σωματίδιο του ιού HPV [14] .....	23
Εικόνα 5: Το γονιδίωμα του ιού HPV 16 και οι περιοχές από τις οποίες αποτελείται [16]..	24
Εικόνα 6: Τύποι του HPV και οι αλλοιώσεις που προκαλούν [19] .....	25
Εικόνα 7: Σχηματική αναπαράσταση των σταδίων του κύκλου ζωής του HPV στο πλακώδες επιθήλιο [15].....	27
Εικόνα 8: Τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (CIN) [14].....	28
Εικόνα 9: Κολποσκόπιο [24].....	30
Εικόνα 10: Διαδικασία λήψης τεστ Παπ [28] .....	30
Εικόνα 11: Διαθέσιμα προληπτικά εμβόλια και λεπτομέρειες σχετικά με τις δόσεις εμβολιασμών [33].....	33
Εικόνα 12: Γενεαλογική σχέση ομάδας 1 .....	41
Εικόνα 13: Χρωματικό διάγραμμα ομάδας 1 .....	42
Εικόνα 14: Γενεαλογική σχέση ομάδας 2 .....	43
Εικόνα 15: Χρωματικό διάγραμμα ομάδας 2 .....	44
Εικόνα 16: Φυλογενετικό δέντρο τύπων υψηλού κινδύνου .....	44
Εικόνα 17: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 16.....	47
Εικόνα 18: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 18.....	48
Εικόνα 19: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 31.....	50
Εικόνα 20: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 33.....	51
Εικόνα 21: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 35.....	53
Εικόνα 22: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 39.....	55
Εικόνα 23: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 45.....	57
Εικόνα 24 : Γενεαλογικό δέντρο του HPV 52.....	59
Εικόνα 25: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 56.....	60
Εικόνα 26: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 58.....	61
Εικόνα 27: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 59.....	63
Εικόνα 28: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 68.....	64
Εικόνα 29 : Φυλογενετικό δέντρο HPV 31 .....	67
Εικόνα 30: Φυλογενετικό δέντρο HPV 33 .....	68

Εικόνα 31 : Φυλογενετικό δέντρο HPV 35 .....	69
Εικόνα 32: Φυλογενετικό δέντρο HPV 52 .....	70
Εικόνα 33: Φυλογενετικό δέντρο HPV 58 .....	71
Εικόνα 34: Φυλογενετικό δέντρο της Alpha-9.....	72
Εικόνα 35: Φυλογενετικό δέντρο HPV 18 .....	75
Εικόνα 36: Φυλογενετικό δέντρο HPV 39 .....	76
Εικόνα 37: Φυλογενετικό δέντρο HPV 45 .....	77
Εικόνα 38: Φυλογενετικό δέντρο HPV 59 .....	78
Εικόνα 39: Φυλογενετικό δέντρο HPV 68 .....	79
Εικόνα 40 : Φυλογενετικό δέντρο της Alpha-7.....	80

## ***ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ:***

Πίνακας 1: Βασικά χαρακτηριστικά σελίδων αναζήτησης BLAST (Basic BLAST) [37]....	35
Πίνακας 2: Αποτελέσματα BLAST σύγκρισης γονιδιωμάτων .....	36
Πίνακας 3: Μέση διαφορά ( $\pm$ τυπικό σφάλμα) των alpha-9 πλήρων γονιδιωμάτων .....	73
Πίνακας 4: Μέση διαφορά ( $\pm$ τυπικό σφάλμα) των alpha-7 πλήρων γονιδιωμάτων .....	81

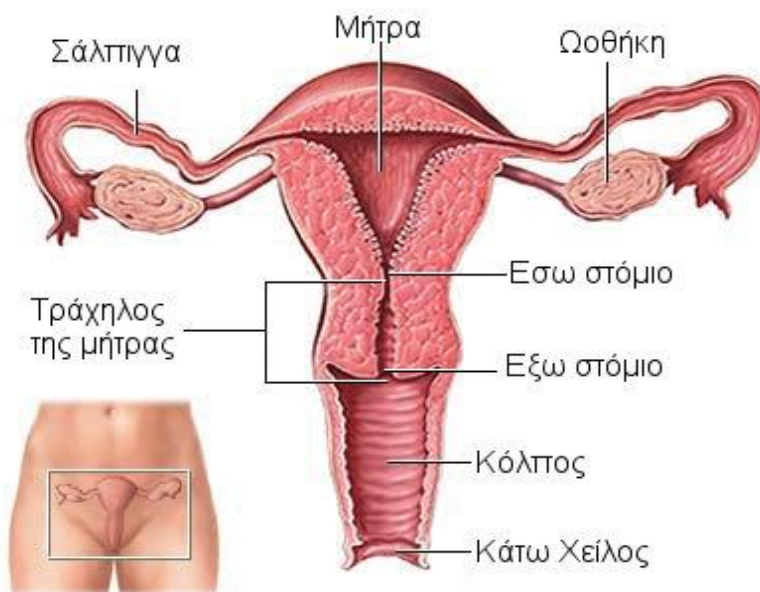
# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1ο

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1.1 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΟΥ ΓΥΝΑΙΚΕΙΟΥ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Το γυναικείο αναπαραγωγικό σύστημα αποτελείται από τα εξωτερικά γεννητικά όργανα (αιδοίο) και από τα εσωτερικά γεννητικά όργανα: τις ωοθήκες, τις σάλπιγγες, τη μήτρα, τον τράχηλο της μήτρας και τον κόλπο.

Οι ωοθήκες του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος είναι οι γεννητικοί αδένες της γυναίκας. Είναι δύο και βρίσκονται η μία δεξιά και η άλλη αριστερά από τη μήτρα, συνδεδεμένες με τις σάλπιγγες. Το μέγεθος της φυσιολογικής ωοθήκης ποικίλλει και οι διαστάσεις της μπορούν να φτάσουν τα 5x3x3mm (Anderson & Genadry 2002). Έχουν αναπαραγωγική αλλά και ενδοκρινική λειτουργία. Αναπαραγωγική, διότι είναι υπεύθυνες για την παραγωγή των γεννητικών της κυττάρων, των ωαρίων, και ενδοκρινική, διότι ρυθμίζουν τις ορμόνες για τον εμμηνορρυσιακό κύκλο, την εναπόθεση λίπους, την ανάπτυξη των μαστών και άλλα.



**Εικόνα 1 : Η ανατομία των γυναικείων γεννητικών οργάνων [1]**

Οι σάλπιγγες είναι δύο λεπτοί αγωγοί που ο ρόλος τους είναι να μεταφέρουν τα ωάρια των ωοθηκών στον αυλό τους, με σκοπό να συναντήσουν τα σπερματοζώαρια και να τα γονιμοποιήσουν. Το μήκος τους είναι περίπου 10 με 12 εκατοστά, ανάλογα με την ηλικία και την ανατομία κάθε γυναίκας.

Η μήτρα είναι το κοίλο, μυώδες όργανο σχήματος αχλαδιού και μήκους 6 έως 8 εκατοστά που βρίσκεται μέσα στην πυελική κοιλότητα ανάμεσα στην ουροδόχο κύστη και τον ορθό, μέσα στο οποίο θα εγκατασταθεί και θα αναπτυχθεί το γονιμοποιημένο ωάριο. Αποτελείται από δύο τμήματα: το σώμα, προς τα πάνω, και τον τράχηλο, προς τα κάτω.

Ο τράχηλος είναι το χαμηλότερο τμήμα της μήτρας, ένα μέρος του οποίου εισέρχεται στον κόλπο. Είναι κυλινδρικός και συμμετρικός. Έχει μήκος περίπου 3 εκατοστά και διάμετρο 2 έως 2,5 εκατοστά. Είναι ινομυώδες όργανο και καλύπτεται από βλέννη.

Τέλος, ο κόλπος είναι ένας κυλινδρικός ινομυώδης σωλήνας μήκους 8 έως 10 εκατοστών περίπου, που συνδέει τον υμένα με τη μήτρα. Το πάνω άκρο του κόλπου περιβάλλει τον τράχηλο της μήτρας, έτσι ώστε η κάτω μοίρα του τραχήλου να προβάλλει μέσα στον κόλπο. [2]

Ο τράχηλος της μήτρας είναι το σημείο στο οποίο επικεντρωνόμαστε στην παρούσα εργασία, καθώς είναι το όργανο στο οποίο εμφανίζεται και αναπτύσσεται η νόσος του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, που μαστίζει εκατομμύρια γυναίκες σε ολόκληρο τον πλανήτη και για τον οποίο αναφερόμαστε αναλυτικότερα στη συνέχεια.

## 1.2 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ

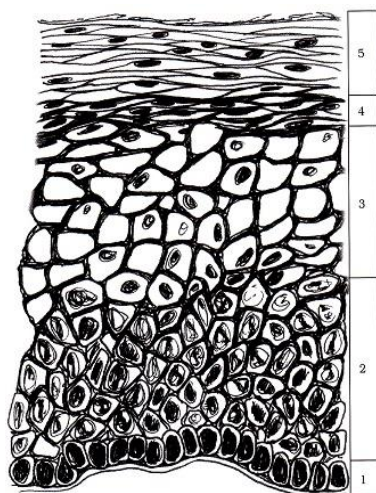
Ο τράχηλος διασχίζεται εσωτερικά από τον ενδοτραχηλικό σωλήνα που καλύπτεται από αδενικό επιθήλιο και ο οποίος, προς τα πάνω, βρίσκεται σε συνέχεια με το σώμα της μήτρας, στον ισθμό. Προς τα κάτω, βρίσκεται σε συνέχεια με τον κόλπο, στο τραχηλικό στόμιο (Εικόνα 1). Το σχήμα του τραχηλικού στομίου ποικίλλει. Στην άτοκο γυναίκα είναι μικρό και κυκλικό. Μετά την εγκυμοσύνη μοιάζει με σχισμή. Μετά την εμμηνόπαυση μπορεί να είναι τόσο στενό όσο η αιχμή μιας καρφίτσας (Εικόνα 2). [3]



**Εικόνα 2: Τραχηλικό στόμιο πριν την εγκυμοσύνη, μετά από εγκυμοσύνη, μετά την εμμηνόπαυση [3]**

Το ενδοκολπικό τμήμα του τραχήλου καλύπτεται από πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο και, ουσιαστικά, είναι μια βλεννογονική μεμβράνη. Ο τράχηλος δεν έχει κεράτινη στιβάδα, με εξαίρεση τις περιπτώσεις που υπάρχει πρόπτωση και ο τράχηλος είναι εκτεθειμένος στο όξινο περιβάλλον του κόλπου. Έχει πέντε στιβάδες διαφόρων κυτταρικών τύπων. Η πρώτη στιβάδα είναι μια μονή στιβάδα βασικών κυττάρων που βρίσκεται ακριβώς πάνω στη βασική μεμβράνη που χωρίζει το επιθήλιο από το υποκείμενο στρώμα. Η δεύτερη στιβάδα, ή ακανθωτή, αποτελείται από ορισμένες στιβάδες κυττάρων που είναι μεγαλύτερα από τα βασικά κύτταρα και έχουν σχετικά περισσότερο κυτταρόπλασμα. Η τρίτη στιβάδα αποτελείται από κύτταρα που παράγουν γλυκογόνο και είναι μεγαλύτερα από εκείνα της ακανθωτής στιβάδας. Η τέταρτη στιβάδα αποτελείται από μη κενοτοπιώδη επίπεδα κύτταρα. Η πέμπτη στιβάδα, ή κερατινοποιημένη, αποτελείται από προοδευτικά πλατύτερα, επιμηκυμένα κύτταρα που δεν έχουν κενοτόπια. (Εικόνα 3)





**Εικόνα 3: Οι πέντε κυτταρικές στιβάδες του ενδοκολπικού τμήματος του τραχήλου [4]**

Ο ενδοτράχηλος αποτελείται από μια απλή στιβάδα υψηλών, κυλινδρικών, βλεννοεκκριτικών επιθηλιακών κυττάρων με βασικούς πυρήνες. Αυτή η στιβάδα επενδύει τον ενδοτράχηλο περίπου από το ύψος του εξωτερικού στομίου μέχρι το ύψος του εσωτερικού στομίου.[4]

### **1.3 ΜΕΤΑΠΛΑΣΙΑ ΚΑΙ ΖΩΝΗ ΜΕΤΑΠΛΑΣΗΣ**

Η αδеноπλακώδης συμβολή βρίσκεται στο σημείο όπου το κυλινδρικό επιθήλιο συναντά το πλακώδες επιθήλιο. Κάτω από τα δυο αυτά επιθήλια βρίσκεται ένα σκληρό στρώμα κολλαγόνου. [5] Η θέση αυτή ποικίλλει κατά τη διάρκεια ζωής, ως αποτέλεσμα των μεταπλαστικών αλλαγών στο κυλινδρικό επιθήλιο του τραχήλου. Συνήθως, πριν την εφηβεία η αδеноπλακώδης συμβολή βρίσκεται στο έξω στόμιο του τραχήλου, μετά την εγκυμοσύνη στον εξωτράχηλο και, μετά την εμμηνόπαυση μέσα στον ενδοτραχηλικό σωλήνα. Ως εκ τούτου, η αδеноπλακώδης συμβολή μπορεί να κινηθεί προς τα έξω, στο πάνω μέρος του κόλπου, όπου εκτείνεται στο όξινο περιβάλλον του κόλπου. Το εκτεθειμένο κυλινδρικό επιθήλιο μπορεί να υποβληθεί σε φυσιολογική μεταπλασία και να μετατραπεί σε σκληρό μεταπλαστικό πλακώδες επιθήλιο σε μερικές μέρες ή εβδομάδες, το οποίο μόλις ωριμάσει είναι παρόμοιο με το αυθεντικό πλακώδες επιθήλιο. Με άλλα λόγια, μεταπλασία είναι η διαδικασία κατά την οποία, ένας τύπος επιθηλίου, που είναι πλήρως διαφοροποιημένος, μετατρέπεται σε άλλο τύπο επιθηλίου. Η ασταθής αυτή ζώνη επιθηλίου μεταξύ των δυο συμβολών ονομάζεται ζώνη μετάπλασης του τραχήλου της μήτρας. [6]. Η μεταπλασίες αυτές, συνήθως, οφείλονται σε κάποιο ερεθισμό ή σε κάποια ορμονική αντίδραση, και ενώ πολλές φορές είναι αναστρέψιμες, αυτό δεν ισχύει πάντα. [7]

Ο Fulhman περιέγραψε πέντε στάδια πλακώδους μετάπλασης. Το Στάδιο 1 αποτελείται από πλακώδη διαφοροποίηση των υποεπιθηλιακών εφεδρικών κυττάρων. Στο Στάδιο 2, τα άωρα κύτταρα διαιρούνται και σχηματίζουν μια στιβάδα πέντε έως έξι σειρών ερυθρόχρωμων πολυεδρικών κυττάρων που ανασηκώνουν και απομακρύνουν τα κυλινδρικά κύτταρα από τη βασική μεμβράνη. Στο Στάδιο 3, τα νέα πλακώδη κύτταρα σχηματίζουν 8 έως 12 στιβάδες και αρχίζουν να διαφοροποιούνται, με το αδενικό επιθήλιο να εκβάλλεται στον ενδοτραχηλικό αυλό. Στα Στάδια 4 και 5, συνεχίζεται η διαφοροποίηση και κορυφώνεται με το σχηματισμό 20 έως 30 στιβάδων ώριμων πλακωδών κυττάρων που εμπεριέχουν τους πέντε προηγούμενους τύπους κυττάρων.[4]

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 20**

### **Ο ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ**

#### **2.1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ**

Σε αυτό το σημείο, είναι σημαντικό να αναφερθούμε σε κάποιες βασικές βιολογικές έννοιες, οι οποίες θα κάνουν πιο σαφείς τις αναφορές που γίνονται στις παρακάτω παραγράφους της παρούσας εργασίας.

##### **2.1.1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΖΩΗΣ**

Η ζωή εξαρτάται από την ικανότητα των κυττάρων ν' αποθηκεύουν, ν' ανακλούν και να μεταφράζουν τις γενετικές πληροφορίες που απαιτούνται για τη δημιουργία και τη συντήρηση ενός ζωντανού οργανισμού. Οι κληρονομικές πληροφορίες μεταβιβάζονται από ένα κύτταρο στα θυγατρικά κύτταρα κατά την κυτταρική διαίρεση και από γενεά σε γενεά των οργανισμών μέσω των αναπαραγωγικών κυττάρων. Αυτές οι οδηγίες αποθηκεύονται σε κάθε ζωντανό κύτταρο ως γονίδια (genes): τα πληροφοριακά γενετικά στοιχεία τα οποία καθορίζουν τα χαρακτηριστικά ενός είδους στο σύνολό του αλλά και τα χαρακτηριστικά των ξεχωριστών οργανισμών που ανήκουν στο είδος αυτό.

Κατά τη διάρκεια της ζωής ενός πολυκύτταρου οργανισμού, οι γενετικές πληροφορίες των γονιδίων αντιγράφονται και μεταβιβάζονται από ένα κύτταρο στους απογόνους του εκατομμύρια φορές. Κατά τη διάρκεια της όλης διαδικασίας επιβιώνουν και παραμένουν ουσιαστικά αμετάβλητες. Οι γενετικές πληροφορίες αποτελούνται, κυρίως, από οδηγίες για την κατασκευή πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες είναι τα μακρομόρια που επιτελούν τις περισσότερες κυτταρικές λειτουργίες: λειτουργούν ως δομικοί λίθοι για διάφορες κυτταρικές δομές, δρουν ως ένζυμα που καταλύουν όλες τις χημικές αντιδράσεις του κυττάρου, ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων, προσδίδουν στα κύτταρα την ικανότητα να μετακινούνται και να επικοινωνούν μεταξύ τους. Επομένως, οι ιδιότητες και οι λειτουργίες ενός κυττάρου καθορίζονται, σχεδόν αποκλειστικά, από τις πρωτεΐνες που μπορεί να συνθέσει.

Τα περισσότερα ανθρώπινα κύτταρα έχουν ένα πυρήνα που λειτουργεί ως κέντρο ελέγχου και φέρει 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων. Τα χρωμοσώματα έχουν δομή ινών που σχηματίζονται από το DNA. Σε κάθε χρωμόσωμα εδράζονται εκατοντάδες ή χιλιάδες γονίδια. [34]

Στον άνθρωπο, κάθε κύτταρο φέρει συνολικά 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων (22 ζεύγη αυτοσωμικά χρωμοσώματα και 1 ζεύγος φυλετικών χρωμοσωμάτων). Ο καθορισμός του φύλου βασίζεται στην παρουσία ή απουσία του Y φυλετικού χρωμοσώματος, στο οποίο πρόσφατα βρέθηκε ένα καταλυτικό αρρενοκαθοριστικό γονίδιο, το [SRY]. Έτσι, ο καρύοτυπος (η ταξινόμηση των χρωμοσωμάτων ενός ατόμου σύμφωνα με το μέγεθος και το σχήμα τους) ενός φυσιολογικού θήλεος ατόμου είναι 46,XX και ενός φυσιολογικού αρρενοατόμου 46,XY. Χωρίς το Y χρωμόσωμα το άτομο αναπτύσσεται σε θηλυκό, παρουσία του Y αναπτύσσεται σε αρσενικό. Ενώ τα 22 ζεύγη αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων είναι μορφολογικά όμοια στα αρσενικά και στα θηλυκά άτομα, τα κύτταρα των θηλυκών ατόμων περιέχουν δύο χρωμοσώματα X (γονότυπος XX), ενώ τα κύτταρα των αρσενικών ατόμων ένα X και ένα μικρότερο Y χρωμόσωμα (γονότυπος XY). Κατά τη γαμετογένεση (αλληλουχία γεγονότων που οδηγούν στην παραγωγή των σπερματοζωαρίων

στους άρρενες και των ωαρίων στα θήλα), ακολουθείται μια διαδικασία κατά την οποία αρχέγονα κύτταρα που φέρουν 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων «διασπώνται» και δίδουν γένεση σε θυγατρικά κύτταρα που φέρουν το μισό αριθμό χρωμοσωμάτων (γαμέτες), ούτως ώστε όταν ενωθεί ένα ωάριο με ένα σπερματοζώαριο το κύτταρο που δημιουργείται (ζυγωτό) να φέρει και πάλι 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων για να «αρχίσει η ζωή». Δεδομένου ότι τα χρωμοσώματα είναι κομμάτια DNA τυλιγμένα σαν κουβάρι γύρω από πρωτεΐνες και ότι το DNA αποτελεί το γενετικό υλικό του ανθρώπου που περιέχει όλες τις πληροφορίες που είναι απαραίτητες για τις λειτουργίες του οργανισμού σε ειδικές μονάδες που ονομάζονται γονίδια, μπορούμε να θεωρήσουμε τα χρωμοσώματα ως "τόμους" και τα γονίδια ως "σελίδες" του "βιβλίου της ζωής". [35]

DNA είναι η συντομογραφία του deoxyribonucleic acid ή δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος και ονομάζεται το νουκλεϊκό οξύ, το οποίο περιέχει τις γενετικές πληροφορίες που καθορίζουν τη βιολογική ανάπτυξη όλων των κυτταρικών μορφών ζωής επάνω στον πλανήτη. Το 1953, ο James Watson και ο Francis Crick απέδειξαν, με τη βοήθεια ακτίνων X, πως το DNA αποτελείται από δύο κλώνους που περιελίσσονται σε μια έλικα. Ένα μόριο DNA αποτελείται από δύο συμπληρωματικές αλυσίδες νουκλεοτιδίων. Συνίσταται, δηλαδή, από δύο μακριές πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες, οι οποίες αποτελούνται από τέσσερα είδη νουκλεοτιδίων. Καθεμιά από αυτές τις αλυσίδες αναφέρεται ως αλυσίδα DNA (DNA chain) ή κλώνος DNA (DNA strand). Οι δύο αλυσίδες συγκρατούνται με δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των βάσεων των νουκλεοτιδίων. Τα νουκλεοτίδια αποτελούνται από μια πεντόζη, με την οποία συνδέονται μία ή περισσότερες φωσφορικές ομάδες και μια αζωτούχα βάση. Στην περίπτωση των νουκλεοτιδίων του DNA, η πεντόζη είναι δεοξυριβόζη που συνδέεται με μια φωσφορική ομάδα, ενώ η βάση μπορεί να είναι αδενίνη (A), κυτοσίνη (C), θυμίνη (T) ή γουανίνη (G).

Οι δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες στη διπλή έλικα του DNA συγκρατούνται με δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των βάσεων των διαφορετικών κλώνων. Επομένως, όλες οι βάσεις βρίσκονται στο εσωτερικό της έλικας, ενώ ο σακχαρο- φωσφορικός σκελετός στο εξωτερικό της. Ωστόσο, οι βάσεις δε ζευγαρώνουν στην τύχη: η A πάντα ζευγαρώνει με την T και η G με τη C.

Όταν ένα κύτταρο διαιρείται, οι βιολογικές πληροφορίες που περιέχουν τα γονίδια πρέπει ν' αντιγραφούν με ακρίβεια και να μεταβιβαστούν στα δύο θυγατρικά κύτταρα. Το DNA κωδικοποιεί πληροφορίες με τη σειρά, ή την αλληλουχία, των νουκλεοτιδίων κατά μήκος ενός κλώνου. Η κάθε βάση -A, C, G, T- μπορεί να θεωρηθεί σαν ένα γράμμα από ένα αλφάβητο με τέσσερα γράμματα, που χρησιμοποιείται για να ορθογραφούνται βιολογικά μηνύματα στη χημική δομή του DNA. Οι οργανισμοί διαφέρουν μεταξύ τους επειδή τ' αντίστοιχα μόρια του DNA τους έχουν διαφορετική αλληλουχία νουκλεοτιδίων και, συνεπώς, περιέχουν διαφορετικά βιολογικά μηνύματα.

Τα γονίδια περιέχουν τις οδηγίες για την παραγωγή των πρωτεϊνών. Συνεπώς, τα μηνύματα του DNA πρέπει να κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες. Οι ιδιότητες μιας πρωτεΐνης, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη βιολογική λειτουργία της, καθορίζονται από την τρισδιάστατη δομή της και η δομή της πρωτεΐνης, με τη σειρά της, καθορίζεται από την αλληλουχία των αμινοξέων από τα οποία αποτελείται.

Το σύνολο των πληροφοριών στο DNA ενός οργανισμού ονομάζεται γονιδίωμα (genome) του οργανισμού (ο ίδιος όρος αναφέρεται επίσης για το DNA που περιέχει αυτές τις πληροφορίες). Ένα γονίδιο ορίζεται ως το τμήμα του DNA που περιέχει τις πληροφορίες για την παρασκευή μιας ορισμένης πρωτεΐνης. Το γενετικό υλικό ενός ευκαρυωτικού κυττάρου εμπεριέχεται σ' ένα ή περισσότερα χρωμοσώματα. Κάθε χρωμόσωμα σχηματίζεται από ένα εξαιρετικά μακρύ μόριο DNA, το οποίο περιέχει πολλά γονίδια. Εκτός από τα γονίδια, το DNA ενός χρωμοσώματος περιέχει πολλές αφηρητές αντιγραφής.

Οι αλληλουχίες αυτές εξασφαλίζουν ότι το χρωμόσωμα μπορεί ν' αντιγράφεται αποτελεσματικά και να μεταβιβάζεται στα θυγατρικά.

Η παρουσίαση του συνόλου των 46 χρωμοσωμάτων του ανθρώπου αποκαλείται καρυότυπος του ανθρώπου. Αν τμήματα διαφόρων χρωμοσωμάτων χαθούν ή ανταλλάγουν μεταξύ χρωμοσωμάτων, οι αλλαγές αυτές μπορεί ν' ανιχνευτούν από τις αλλαγές στα πρότυπα της ζώνωσης. Οι κυτταρογενετιστές χρησιμοποιούν τις αλλαγές αυτές για ν' ανιχνεύσουν χρωμοσωμικές ανωμαλίες που σχετίζονται με ορισμένα κληρονομικά ελαττώματα ή με συγκεκριμένα είδη καρκίνου. [34]

## **2.2 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ**

Ο καρκίνος είναι μια νόσος που οφείλεται στην αποτυχία ρύθμισης της ανάπτυξης των ιστών. Προκειμένου ένα φυσιολογικό κύτταρο να μεταμορφωθεί σε ένα καρκινικό κύτταρο, τα γονίδια που ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση πρέπει να τροποποιηθούν. [8]

Τα γονίδια που επηρεάζονται χωρίζονται σε δύο ευρείες κατηγορίες: τα ογκογονίδια και τα ογκοσταλτικά γονίδια. Τα ογκογονίδια είναι γονίδια που προάγουν την ανάπτυξη των κυττάρων και την αναπαραγωγή τους. Τα ογκοσταλτικά γονίδια είναι γονίδια που αναστέλλουν την κυτταρική διαίρεση και την επιβίωσή τους. Κακοήθης μετασχηματισμός μπορεί να συμβεί μέσω του σχηματισμού νέων ογκογονιδίων, την υπερανάπτυξη των φυσιολογικών ογκογονιδίων, ή την απενεργοποίηση των ογκοσταλτικών γονιδίων. Τυπικά, τροποποιήσεις σε μεγάλο αριθμό γονιδίων απαιτούνται για να μετατραπεί ένα φυσιολογικό κύτταρο σε καρκινικό. [9]

Γενετικές αλλαγές μπορούν να συμβούν σε διαφορετικά επίπεδα και με διαφορετικούς μηχανισμούς. Το κέρδος ή η απώλεια ενός ολόκληρου χρωμοσώματος μπορεί να προκύψει μέσα από λάθη της μίτωσης. Μίτωση είναι η διαδικασία διχοτόμησης του κυτταρικού πυρήνα στα ευκαρυωτικά κύτταρα, ώστε από το ένα αρχικό κύτταρο να προκύψουν δύο θυγατρικά. [10] Πιο κοινές είναι οι μεταλλάξεις, οι οποίες είναι μετατροπές της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας ενός γονιδίου, ομάδας γονιδίων ή ολόκληρων χρωμοσωμάτων.

Όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί υφίστανται μεταλλάξεις ως αποτέλεσμα των φυσιολογικών λειτουργιών των οργανισμών. Όταν, όμως, ο ρυθμός των μεταλλάξεων αυξηθεί πολύ, οδηγούμαστε σε αλλαγές που τροποποιούν τη δομή του DNA τους. Αυτές οι αλλαγές είναι χρωμοσωμικές μεταλλάξεις (αλλαγές στον αριθμό ή στη δομή των χρωμοσωμάτων) ή γονιδιακές μεταλλάξεις (με σημειακές μεταλλάξεις ή μεταλλάξεις ανακατάταξης του γενετικού υλικού). Μετά από τέτοιες αλλαγές, η πολυπεπτιδική αλυσίδα μπορεί να είναι πλήρως, μερικώς ή καθόλου λειτουργική. [11]

## **2.3 ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ**

Ο παθολογικός και ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός των κυττάρων που, όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 1.1.2.1, λαμβάνει χώρα στη ζώνη μετάπλασης του τραχήλου της μήτρας, ονομάζεται καρκίνος του τραχήλου της μήτρας. Ο κυριότερος λόγος που προκαλείται αυτή η κακοήθης αλλαγή των κυττάρων του τραχήλου της μήτρας είναι η ενσωμάτωση του γονιδιώματος του ιού HPV στον πυρήνα αυτών των κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά καθιστούνται με αυτόν τον τρόπο καρκινικά και, αντί να πεθάνουν στο συνήθη χρόνο που αποπίπτουν τα φυσιολογικά κύτταρα, πολλαπλασιάζονται ταχύτατα και συσσωρεύονται σε ένα σημείο, με αποτέλεσμα τη δημιουργία όγκου. [12]

## 2.3.1 Ο ΙΟΣ ΤΩΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΩΝ ΘΗΛΩΜΑΤΩΝ (HPV)

### 2.3.1.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΦΟΡΗ

Τα κονδυλώματα των γεννητικών οργάνων στον άνθρωπο, ή αλλιώς, HPV λοίμωξη, οφείλεται στη μόλυνση του ατόμου από τον ιό των ανθρώπινων κονδυλωμάτων. Συνώνυμο των κονδυλωμάτων είναι οι μυρμηκιές και οι ακροχορδόνες. Ο ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων (κονδυλωμάτων) είναι γνωστός με την ονομασία HPV, τα αρχικά του Human Papilloma Virus. Είναι σημαντικό να τονιστεί πως τα οξυτενή κονδυλώματα είναι καλοήθεις αλλοιώσεις, σε αντίθεση με τα επίπεδα που θεωρούνται προκαρκινικές αλλοιώσεις (Ahmed, 2010).

Τα κονδυλώματα που προκαλεί ο HPV είναι μια πάθηση που συναντάμε πολύ συχνά στις μέρες μας. Υπογραμμίζεται πως η πάθηση αυτή υπάρχει εδώ και πέντε περίπου χιλιετίες. Πρώτη φορά εντοπίστηκε γύρω στα 2400 π.Χ. σε μια μούμια της Αιγύπτου. Σημαντικές αναφορές έχουμε και από Έλληνες γιατρούς, από την εποχή του Ιπποκράτη (460-377 π.Χ.) κιόλας. Ο Πατέρας της ιατρικής, αναφέρει σε κείμενά του τη λέξη «κονδύλωμα» ή «κονδύλωσις» και μιλά για παθολογικές καταστάσεις των οστών, ενώ για τα γεννητικά κονδυλώματα, αναφέρεται σε «θύμιον» και «κίων», δηλαδή σε εκβλάστηση του αιδοίου, το οποίο χρήζει χειρουργικής αφαίρεσης.

Αναφορές έχουμε και από τη Ρωμαϊκή εποχή. Ο Έλληνας γιατρός από την Πέργαμο, Γαληνός (138-201 μ.Χ.), αναφέρει ότι το κονδύλωμα είναι σκληρή, χρόνια διόγκωση των πτυχών του δακτυλίου του ορθού, λόγω φλεγμονής (Αποστολίδης, 1997) αλλά αναφορές έχουμε και από τον Πατέρα της Γυναικολογίας, τον Σωρανό τον Εφέσιο τον 2<sup>ο</sup> αι. μ.Χ. .

Τους Βυζαντινούς χρόνους, αναφορές έχουμε από τον Έλληνα γιατρό, Παύλο Νικαίο (6<sup>ος</sup> αι. μ.Χ.), ενώ ο Dionysius, τον ίδιο αιώνα, αιτιολογεί τα κονδυλώματα ως αποτέλεσμα «παραφύσιν ερωτικής συμπεριφοράς».

Αναφορές για άλλου είδους σεξουαλικά μεταδιδόμενων νοσημάτων δεν υπήρξαν από την πτώση της Ρωμαϊκής αυτοκρατορίας και, σχεδόν, μέχρι τον 13<sup>ο</sup> αι. όταν, για πρώτη φορά, περιγράφεται μια λοιμώδης μεταδοτική ουρηθρίτιδα, πιθανόν η γονόρροια (βλεννόρροια). (Oriol, 1981)

Στον Μεσαίωνα και στην Αναγέννηση, έχουμε περιγραφές λιγότερο σαφείς από την αρχαιότητα. Ο Lanfranc (1306) μιλά για «βλάβες πέους» που οφείλονται σε μολυσμένη, ακάθαρτη γυναίκα (Oriol, 1981). Στις αρχές του 16<sup>ου</sup> αι. οι γνώσεις για σεξουαλικά μεταδιδόμενα νοσήματα ήταν ασαφείς και δεν υπήρχε αιτιολογική διάκριση μεταξύ σύφιλης, γονόρροιας και γεννητικών θηλωμάτων. [13]

Ο διαχωρισμός μεταξύ της σύφιλης και των κονδυλωμάτων δεν άργησε, όμως, να γίνει. Στα τέλη του 18<sup>ου</sup> αιώνα, ο Benjamin Bell υποστήριξε την άποψη πως ήταν διαφορετικές ασθένειες και δεν είχαν καμία συγγένεια. Στα τέλη του 19<sup>ου</sup> αιώνα, ο Joseph Payne διέδωσε την άποψη πως τα κονδυλώματα είναι μεταδοτικά. Στα μέσα του 20<sup>ου</sup> αιώνα οι Barrett, Silbar και McGuinley απέδειξαν πως με την σεξουαλική επαφή μεταδίδονται τελικά τα κονδυλώματα (Kreider et al., 1985).

Με την πάροδο του χρόνου, όλο και περισσότεροι άνθρωποι μολύνονταν με αποτέλεσμα να κινεί το ενδιαφέρον στους επιστήμονες να ανακαλύψουν ποια ήταν τα βασικά αίτια. Το 1907, ο Ciuffo δημοσιεύει την άποψη πως για να προκληθούν τα θηλώματα θα πρέπει να υπάρξει κάποιος μολυσματικός παράγοντας. Στηρίζει την άποψή του στο γεγονός δημιουργίας θηλωμάτων σε άνθρωπο ύστερα από ενδοδερμική ένεση μολυσμένων εκχυλισμάτων που το είχαν απαλλάξει από κύτταρα.

Σύμφωνα με την ιστορία ο πρώτος papilloma ιός ανακαλύφθηκε από τον Richard Shope το 1933, ο οποίος απομόνωσε τον ιό από τα κουνέλια. Από το 1970 και ύστερα, δόθηκε ευκαιρία για περαιτέρω μελέτη των ιών διότι δεν αναπτύσσονται in vitro. Οι

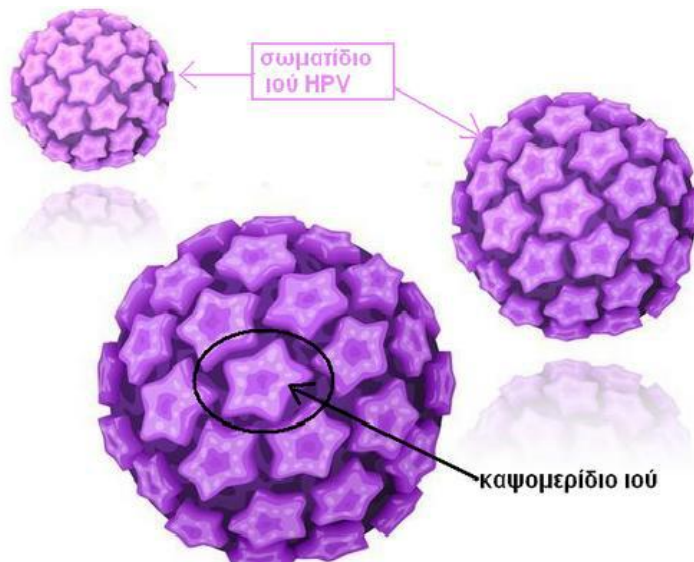
papilloma ιοί δεν αναπτύσσονται σε κυτταροκαλλιέργειες διότι καθίστανται αναγκαία η παρουσία ειδικών πυρηνικών παραγόντων για την αντιγραφή και αναπαραγωγή τους. Είναι γνωστό πως η έλευση της μοριακής βιολογίας στο χώρο της επιστήμης βοήθησε πολλούς τομείς, ένας από τους οποίους ήταν το ξεκίνημα μελέτης των ιών. Μεγαλύτερη πηγή πληροφοριών προέρχεται από τον ιό (Bovine Papillomavirus) για την μελέτη του οποίου υπάρχουν ζωικά συστήματα για την ανάπτυξή του. Τονίζεται πως οι HPV ιοί αναπτύσσονται στο πλακώδες επιθήλιο του δέρματος και των βλεννογόνων και προκαλούν υπερπλαστικές θηλωματώδεις αλλοιώσεις. Υπογραμμίζεται πως αυτές οι αλλοιώσεις αυτοϊώνται γιατί συνήθως είναι καλοήθειες, ενώ σπάνια μπορούν να υποστούν κακοήθη εξαλλαγή. Το 1976, οι Measles και Fortin αποδεικνύουν για πρώτη φορά το φαινόμενο της κοιλοκυτταρικής ατυπίας, και περιγράφουν πρώτοι τα κοιλοκύτταρα και επισημαίνουν το γεγονός ότι εντοπίζονται τόσο σε καλοήθειες κονδυλωματώδεις αλλοιώσεις όσο και σε προκαρκινικές αλλοιώσεις του τραχήλου της μήτρας. Το 1978, βέβαια, ο Orth έκανε την ανακάλυψη ειδικών τύπων HPV σε καρκινώματα και σε ακροχορδονώδη δυσπλασία της επιδερμίδας. Το 1980 οι τύποι 6 και 1 περιγράφονται από τους Gissman και zur Hausen και το 1982 ο Chen δημοσίευσε τη πλήρη σύνθεση του DNA του τύπου 1 θηλωματοϊού των βοειδών. Το 1983 έγινε από τον Dürst η εντόπιση του HPV 16 σε καρκινώματα του τραχήλου της μήτρας και το 1984 έγινε η εντόπιση του HPV 18 από τον Boshart και πάλι σε καρκινώματα του τραχήλου της μήτρας. Το 1985 και ύστερα από τη κορύφωση των ανακαλύψεων δημοσιεύονται από τον Schartz και από τον Yee οι πρώτες πληροφορίες για την ενσωμάτωση του DNA του HPV στα χρωμοσώματα του ξενιστή σε περιπτώσεις καρκίνων του τραχήλου της μήτρας.

Τα πειράματα δεν άργησαν να γίνουν και έτσι, το 1985, επιχειρείται από τον Kreider η πρόκληση κονδυλωματωδών αλλοιώσεων «in vivo». Μοσχεύματα από τον τράχηλο της μήτρας με HPV 11 τοποθετήθηκαν κάτω από την κάψα ποντικών. Το 1986, ο Yasimoto προκάλεσε κακοήθη εξαλλαγή σε κύτταρα από το DNA του HPV 16. Το 1987 έγινε η αθανатоποίηση ανθρωπίνων κερατινοκυττάρων με HPV 16. Τέλος, το 1988-1992 ανακαλύπτεται η σημασία των περιοχών E6 και E7 του γονιδιώματος του ιού και πώς αυτοί συμβάλλουν στη καρκινογένεση. Στις μέρες μας, η συσχέτισή τους με το καρκίνο των γεννητικών οργάνων έχει μεγαλώσει και αναζωπυρώσει το ενδιαφέρον για τη μελέτη των ιών αυτών (M Dürst et al., 1991).

Ο 21<sup>ος</sup> αιώνας σηματοδοτήθηκε από την ανακάλυψη του εμβολίου κατά του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας και του τεστ Παπανικολάου, το οποίο όχι μόνο δεν το υποκαθιστά και καταργεί, αλλά το θεωρεί απαραίτητο για την εφαρμογή του (Bosch et al., 1995). [15]

### **2.3.1.2 ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΙΟΥ HPV**

Ο ιός HPV ανήκει στην οικογένεια Papovaviridae και το γένος Papillomavirus. Οι papilloma ιοί είναι μικροί σε μέγεθος, περιβάλλονται από πρωτεϊνική κάψα σφαιρικού σχήματος και δεν έχουν εξωτερικό λιποπρωτεϊνικό περίβλημα. Το πρωτεϊνικό καψίδιο αποτελείται από 72 καψομερίδια εικοσάεδρης συμμετρίας, που περιβάλλουν το γονιδίωμα (Εικόνα 5). Το γονιδίωμα του ιού είναι κυκλικό DNA διπλής έλικας, μεγέθους περίπου 7900 ζευγών βάσεων και περιέχει περίπου 20 ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης. Σημειώνουμε ότι ως ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης ορίζεται κάθε σειρά κωδικονίων στο DNA του γονιδιώματος του ιού που κωδικοποιεί την παραγωγή ενός πολυπεπτιδίου. (Chuang, 1987, Chuang et al., 1984, Nebesio et al., 2001, Rhea, 1998 Koutsky, 1997 και Danos, 1992). [15]



**Εικόνα 4: Σωματίδιο του ιού HPV [14]©**

Το γονιδίωμα του HPV παρουσιάζει τρεις περιοχές:

1. Την άνω ρυθμιστική περιοχή URR (Upper Regulatory Region) που δεν κωδικοποιεί πρωτεΐνες αλλά παίζει ρυθμιστικό ρόλο στην αναπαραγωγή του ιού και τη μεταφορά ακολουθιών στην E περιοχή.

2. Την πρώιμη περιοχή E (Early) που περιέχει λειτουργικά γονίδια (open reading frames-ORFs) που κωδικοποιούν πρωτεΐνες σημαντικές στον πολλαπλασιασμό του ιού (ο οποίος συμβαίνει «νωρίς» (early) στον κύκλο ζωής του). Έχουν προσδιοριστεί τα παρακάτω ORFs που κωδικοποιούν αντίστοιχες πρωτεΐνες:

E1: έναρξη διπλασιασμού ιικού DNA

E2: ρύθμιση της μεταγραφής του DNA και υποστήριξη της αντιγραφής του

E3: ασαφής λειτουργία, πιθανώς προάγει την ογκογένεση

E4: διάσπαση των κυτταροκερατινών των μολυσμένων κυττάρων και απελευθέρωση ιικών σωματιδίων

E5: αρνητική ρύθμιση ανοσολογικών απαντήσεων ξενιστή και ενεργοποίηση υποδοχέων EGF και PGF

E6: αποδόμηση p53 ογκοσταλτικής πρωτεΐνης

E7: σύνδεση με την pRb ογκοσταλτικής πρωτεΐνης

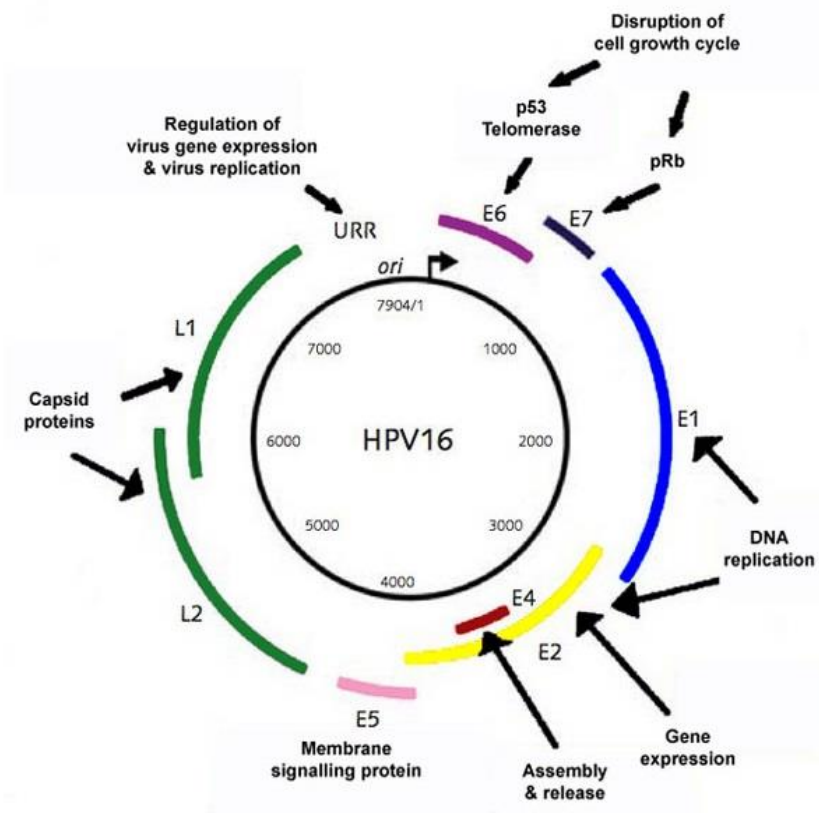
3. Την όψιμη περιοχή L (Late) της οποίας τα ORFs κωδικοποιούν δομικές πρωτεΐνες της κάψας του ιού (η οποία συντίθεται «αργά» (late) στον κύκλο ζωής του στα κύτταρα των ανώτερων στιβάδων). Έχουν προσδιοριστεί δύο ORFs:

L1: κωδικοποιεί την κύρια πρωτεΐνη του καψιδίου

L2: κωδικοποιεί τη δευτερεύουσα πρωτεΐνη του καψιδίου

Είναι σημαντικό να σημειώσουμε πως ο ιός χωρίς την κάψα του δεν είναι μολυσματικός και η παραγωγή πρωτεϊνών της στα κύτταρα των ανώτερων στιβάδων του επιθηλίου είναι πρωταρχικής σημασίας για τη μετάδοσή του σε άλλα κύτταρα.

Η αδρανοποίηση των σημαντικότερων ογκοσταλτικών μηχανισμών (E6, E7) έχει σαν αποτέλεσμα τη συσσώρευση, με το χρόνο, τυχαίων μεταλλάξεων, οι οποίες οδηγούν σε άναρχο πολλαπλασιασμό και «αθανатоποίηση» του κυττάρου. [17]



**Εικόνα 5:** Το γονιδίωμα του ιού HPV 16, οι περιοχές από τις οποίες αποτελείται και οι πρωτεΐνες τις οποίες κωδικοποιεί [16]

### 2.3.1.3 ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Περισσότεροι από 100 τύποι HPV έχουν ταυτοποιηθεί και περίπου 40 μπορούν να μολύνουν την περιοχή των γεννητικών οργάνων. Οι γεννητικοί HPV τύποι έχουν υποδιαιρεθεί σε δύο κατηγορίες: στους χαμηλού κινδύνου τύπους και στους υψηλού κινδύνου τύπους. Οι χαμηλού κινδύνου τύποι προσβάλλουν, κυρίως, τα γεννητικά όργανα και οι υψηλού κινδύνου τύποι συνδέονται συχνά με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Ανάλογα με την ομάδα στην οποία ανήκουν οι γονότυποι του ιού, υψηλού ή χαμηλού κινδύνου, προκαλούν και τις αντίστοιχες αλλοιώσεις.

Ο αριθμός των θεωρούμενων υψηλού κινδύνου τύπων κυμαίνεται από 13 έως 19 και οι ταυτοποιημένοι τύποι είναι οι 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 και μπορούν να προκαλέσουν καρκίνο. [18] Οι τύποι 16 και 18 είναι υπεύθυνοι για το 70% των περιπτώσεων του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

Ως χαμηλού κινδύνου τύποι έχουν ταυτοποιηθεί οι 6, 11, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 73, 81. Οι τύποι 6 και 11 προκαλούν το 90% των γενετικών κονδυλωμάτων και είναι οι πιο κοινοί. Παρόλο που οι χαμηλού κινδύνου τύποι δεν προκαλούν καρκίνο, δεν αποκλείεται αυτή η πιθανότητα. [15]



Γονότυπος HPV	Προκαλούμενες αλλοιώσεις
A 1-4, 7, 10, 26-29, 41, 48, 49, 57, 60, 63, 65	Ακροχόρδωνες του δέρματος
B 2, 6, 11, 13, 16, 32	Στο ανώτερο αναπνευστικό σύστημα και στο μάτι: θηλώματα στόματος, μύτης, επιπεφυκότος, υποτροπιάζουσα θηλωμάτωση λάρυγγος, εστιακές επιθηλιακές υπερπλασίες βλεννογόνων.
Γ 5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19, 20-25, 36, 38, 47, 50	Ακροχορδονώδης δυσπλασία της επιδερμίδας (βλατιδώδεις αλλοιώσεις, με πιθανότητα εξέλιξης σε επιθηλιακά καρκινώματα από πλακώδη κύτταρα).
Δ Γεννητικοί τύποι HPV χαμηλού κινδύνου: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 73, 81 κ.ά.	Κονδυλώματα (κλινικώς εμφανή και υποκλινικές κονδυλωματώδεις αλλοιώσεις) δέρματος και βλεννογόνων στο κατώτερο γεννητικό σύστημα (σε άνδρες και γυναίκες) και στην περιπρωκτική χώρα.
Ε Γεννητικοί τύποι HPV υψηλού κινδύνου: 16, 18, 26, 31, 33, 34, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82 κ.ά.	Υποκλινικές αλλοιώσεις με μικρή πιθανότητα εξέλιξης σε επιθηλιακούς καρκίνους τραχήλου μήτρας, αιδοίου, πρωκτού, κόλπου και πέους.

**Εικόνα 6: Τύποι του HPV και οι αλλοιώσεις που προκαλούν [19]**

#### **2.3.1.4 Ο ΚΥΚΛΟΣ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΙΟΥ**

Οι ιοί HPV είναι παθογόνοι ιοί που μολύνουν δερματικά ή βλεννογόνα επιθήλια στα οποία προκαλούν κονδυλώματα ή καλοήθεις βλάβες που συνήθως υποχωρούν. Ο κύκλος ζωής του HPV είναι άρρηκτα συνδεδεμένος με τη διαφοροποίηση του επιθηλίου του ξενιστή που μολύνει. Έτσι, όταν βλάπτεται η ακεραιότητα του επιθηλίου, λόγω κάποιου τραυματισμού ή εκδοράς όπου εκθέτουν τομείς της βασικής μεμβράνης, ο ιός καταφέρνει να μολύνει τα κύτταρα της βασικής στιβάδας του επιθηλίου, τα οποία είναι και τα μόνα κύτταρα που διαιρούνται ενεργά (Ozbun- Meyers, 1998). Τότε, το DNA του ιού μεταφέρεται στον πυρήνα του ξενιστή ώστε να ξεκινήσουν οι διαδικασίες της μεταγραφής και του αναδιπλασιασμού.

Το DNA του ιού παραμένει με τη μορφή επισώματος στον πυρήνα των κυττάρων και αναπαράγεται μαζί με το γονιδίωμα του ξενιστή. Οι πρωτεΐνες E1 και E2 βοηθούν στην αναπαραγωγή του DNA του ιού και στο διαχωρισμό του γενετικού υλικού κατά την κυτταρική διαίρεση (Schiller et al., 2010 και Madison 2003).

Όταν τα επιθηλιακά κύτταρα της βασικής στιβάδας διαιρούνται, τότε τα θυγατρικά κύτταρα μεταναστεύουν στις ανώτερες στιβάδες, όπου εκεί τα βασικά μη μολυσμένα κύτταρα εισέρχονται στη φάση της τελικής διαφοροποίησης (Florin et al., 2002). Καθώς τα μολυσμένα κύτταρα μεταναστεύουν στις ανώτερες στιβάδες του επιθηλίου, ξεκινά η έκφραση των L1 και L2 πρωτεϊνών (Romanczuk- Howley, 1992). Αυτές οι πρωτεΐνες σχηματίζουν το καψίδιο των ιών, στο οποίο ενσωματώνεται το DNA του ιού και σχηματίζονται νέα σωματίδια του ιού. Η κύρια πρωτεΐνη του καψιδίου, η L1, εκφράζεται

μετά την L2, τη δευτερεύουσα πρωτεΐνη του καψιδίου, και επιτρέπει τη σύνθεση ιδίων του ιού στα ανώτερα στρώματα του επιθηλίου. Αυτά τα ιοσωματίδια, μόλις ελευθερωθούν, μπορούν και μολύνουν άλλα κύτταρα της βασικής στιβάδας του επιθηλίου (Chatuverdi-Gillison, 2010).

Η έκφραση των ογκοπρωτεϊνών E6 και E7 στα μολυσμένα κύτταρα της βασικής στιβάδας είναι χαμηλή σε περίπτωση που το DNA του ιού παραμείνει με τη μορφή επισώματος. Όταν, όμως, το DNA του ιού ενσωματωθεί στο DNA του κυττάρου-ξενιστή, αναστέλλεται η δράση της E2, η οποία καταστέλλει τη δράση των E6 και E7. Επομένως με αυτή την ενσωμάτωση, ευνοείται η παραγωγή των E6 και E7 (Longworth-Laimins, 2004). Επιπλέον, τα προϊόντα της μετάφρασης είναι πιο σταθερά συγκριτικά με αυτά του επισώματος. Έπειτα, οι E6 και E7 ενεργοποιημένες πρωτεΐνες αδρανοποιούν δύο άλλες βασικές πρωτεΐνες καταστολής όγκων (McDougall, 1996). Πιο συγκεκριμένα, η πρωτεΐνη E6 αποδομεί την ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη p53, όπου συνδέεται με αυτή μέσω της E6AP (E6-associated protein).

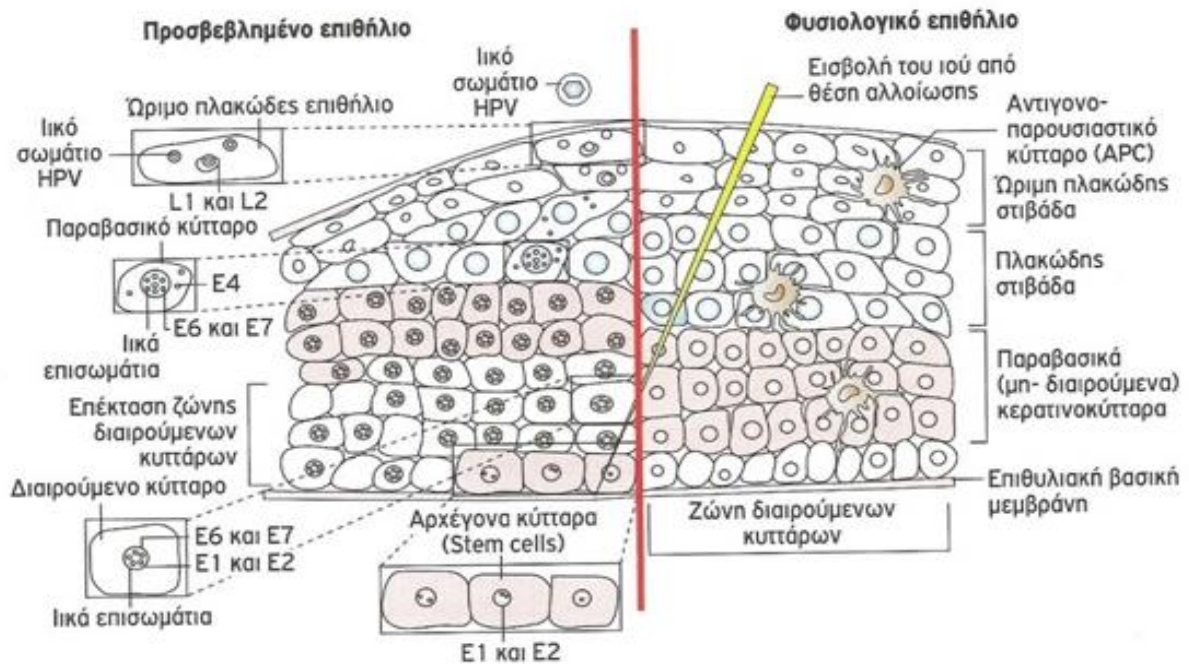
Η πρωτεΐνη p53 ρυθμίζει την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης ενός κυττάρου, όταν το DNA του έχει υποστεί βλάβη. Σε ήπια βλάβη του DNA, η p53 προκαλεί παρατεταμένη αναστολή του κυτταρικού κύκλου, ενώ όταν η βλάβη είναι σοβαρή, στην απόπτωση του κυττάρου (Rozendaal et al., 1996).

Η πρωτεΐνη E7 εμπλέκεται στη διαδικασία της καρκινογένεσης όταν συνδέεται με την ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος (pRb). Στα φυσιολογικά κύτταρα, η pRb είναι υποφωσφορυλιωμένη και συνδέεται με τους E2F μεταγραφικούς παράγοντες. Οι παράγοντες αυτοί, όταν είναι ελεύθεροι, προωθούν την είσοδο του κυττάρου στη φάση της μίτωσης. Έτσι, όταν συνδέονται οι E2F με την pRb δημιουργούνται συμπλέγματα που λειτουργούν σαν καταστολείς της μεταγραφής συγκεκριμένων γονιδίων, τα οποία συμμετέχουν στη σύνθεση του DNA και στην είσοδο του κυτταρικού κύκλου στη φάση της μίτωσης (McDougall, 1996). Επιπροσθέτως, η E7 επάγει την αποδόμηση της pRb. Η δράση της E7 καθιστά δυνατό τον πολλαπλασιασμό των ιών HPV στα ανώτερα στρώματα του επιθηλίου, όπου εκεί, τα φυσιολογικά μη μολυσμένα κύτταρα δεν πολλαπλασιάζονται, μόνο διαφοροποιούνται (Schiller et al., 2010 και Madison 2003).

Η συνδεδεμένη δράση της E6 και E7 δημιουργεί τα κατάλληλο περιβάλλον που οδηγεί στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, ενώ παράλληλα, διαταράσσονται οι φυσιολογικοί μηχανισμοί ελέγχου του κυτταρικού κύκλου. Αυτό επιτρέπει να εμφανίζονται περιοδικές μιτώσεις και ανεξέλεγκτα λάθη, τα οποία συμβάλλουν στην εξαλλαγή των κυττάρων (White et al., 1994). Είναι, πλέον, βέβαιο ότι τα ογκογονίδια E6 και E7 είναι ισχυροί καρκινογόνοι παράγοντες, οι οποίοι οδηγούν στην αθανασία των μολυσμένων κυττάρων και στην έναρξη της καρκινογένεσης (Schiller et al., 2010 και Madison 2003).

Το DNA των στελεχών 'υψηλού κινδύνου' των HPV εμφανίζει μεγαλύτερη τάση ενσωμάτωσης στο DNA του ξενιστή, ενώ το DNA των στελεχών 'χαμηλού κινδύνου' συνήθως παραμένει ως κυκλικό επίσωμα.

Η ανάπτυξη του καρκίνου του τραχήλου είναι μία σταδιακή συνδυασμένη διεργασία επίμονης HPV λοίμωξης, διατάραξης των ικών ογκογονιδίων και συσσώρευσης περαιτέρω γενετικών δεδομένων, που οδηγούν στη νεοπλασία (Μαυρομαρά, 1997, Castle et al., 2011 και White et al., 1994). [15]

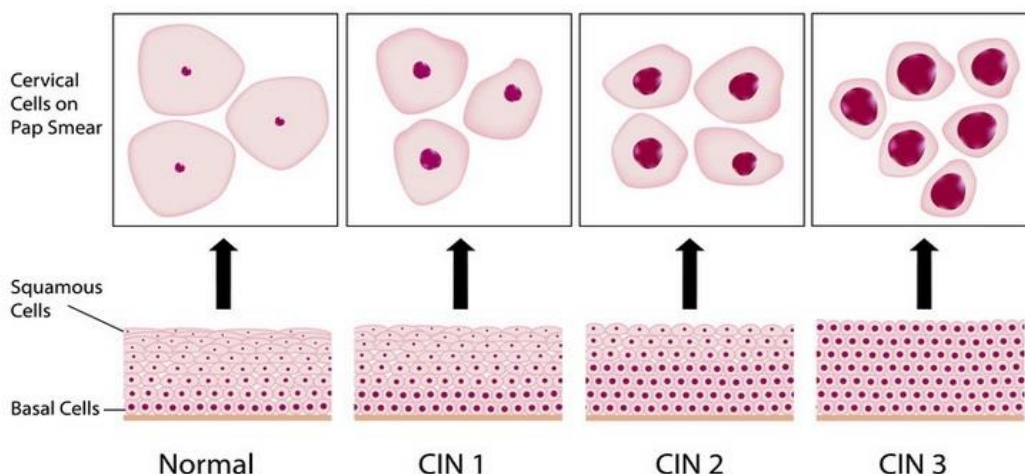


**Εικόνα 7: Σχηματική αναπαράσταση των σταδίων του κύκλου ζωής του HPV στο πλακώδες επιθήλιο[15]**

### 2.3.1.5 ΦΥΣΙΚΗ ΕΞΕΛΙΞΗ HPV ΛΟΙΜΩΣΗΣ

Υπάρχουν πολλά προτεινόμενα μοντέλα σχετικά με τη φυσική εξέλιξη της HPV λοίμωξης. Σύμφωνα με ένα από αυτά, ο χρόνος από την πρωτολοίμωξη μέχρι την εμφάνιση μιας ελαφράς δυσπλασίας (CIN-1) είναι 1 έως 6 μήνες, ανάλογα βέβαια με τον τύπο του ιού. Αξίζει να σημειωθεί εδώ, ότι λιγότερο από το 10% των λοιμώξεων θα εξελιχθεί, ενώ οι περισσότερες ηνν λοιμώξεις αυτοϊώνται. Ο ισχυρότερος παράγοντας κινδύνου για την εξέλιξη σε νεοπλασία είναι η επίμονη λοίμωξη από ένα γονότυπο του ιού που ανήκει στην ομάδα υψηλού κινδύνου. Η CIN-1 δυσπλασία δεν έχει ανάγκη άμεσης αντιμετώπισης, διότι υπάρχει η μεγάλη πιθανότητα να αυτοϊαθεί. Στην περίπτωση επιδείνωσης της λοίμωξης, θα περάσουν 5 έως 7 χρόνια, μέσα στα οποία η CIN-1 θα εξελιχθεί σε CIN-2 και CIN-3 βαριές κυτταρικές προκαρκινικές δυσπλασίες, έως ότου την αρχόμενη Ca in situ κακοήθεια, η οποία απαιτεί οπωσδήποτε θεραπεία, αλλιώς η επιθετική Ca κακοήθεια θα είναι αναπόφευκτη. [14]

## Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN)



Εικόνα 8: Τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία (CIN) [14]

### 2.3.1.6 ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ

Για να μεταφερθεί ο ιός απαιτείται άμεση επαφή με δέρμα ή με βλεννογόνο ατόμου που έχει προσβληθεί από τον ιό HPV. Δεν αρκεί, όμως, η απλή επαφή αλλά πρέπει να έχει υπάρξει μικροτραυματισμός για να μπορέσει ο ιός να εισχωρήσει στο επιθήλιο. Γι' αυτό το λόγο, η σεξουαλική επαφή αποτελεί τον ευκολότερο και πιο συνηθισμένο τρόπο μετάδοσης του ιού. Πριν δώσουμε περισσότερες πληροφορίες γι' αυτόν τον τρόπο μετάδοσης, αξίζει να αναφέρουμε δραστηριότητες που δεν μεταφέρεται ο ιός:

- α. Από κάθισμα τουαλέτας
- β. Από πόμολα, χειρολαβές κτλ
- γ. Από κατοικίδια ζώα [19]

Όπως αναφέραμε, ο συνηθέστερος τρόπος μετάδοσης του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων είναι η σεξουαλική επαφή. Το φιλί είναι, επίσης, ένας πιθανός τρόπος μετάδοσης, καθώς οι μικροτραυματισμοί στην στοματική κοιλότητα είναι πολύ συχνοί. Η χρήση προφυλακτικού δεν εγγυάται προστασία από τον ιό, καθώς ο ιός μπορεί να υπάρχει σε περιοχές δέρματος που δεν καλύπτονται από αυτό.

Τα γεννητικά κονδυλώματα είναι πολύ μεταδοτικά και διαδίδονται μέσω στοματικής, κολπικής ή πρωκτικής επαφής με μολυσμένο σύντροφο [20]. Πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει πως το 20% των ανθρώπων που έρχονται σε επαφή με άτομα που έχουν προσβληθεί από τα κονδυλώματα των γεννητικών οργάνων, θα αναπτύξουν κονδυλώματα και οι ίδιοι, συνήθως, εντός έξι μηνών από την επαφή. Η ίδια έρευνα δείχνει πως δεν υπάρχει διαφορά στο ρυθμό της μετάδοσης από άνδρα σε γυναίκα και από γυναίκα σε άνδρα. [21]

### 2.3.1.7 ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΙΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΡΑΧΗΛΙΚΗΣ ΝΕΟΠΛΑΣΙΑΣ

Αν και οι λοιμώξεις του τραχήλου της μήτρας από HPV ιούς είναι σεξουαλικά μεταδιδόμενες, σύμφωνα με έρευνες, υπάρχουν και άλλοι, δευτερογενείς παράγοντες που μπορούν να προκαλέσουν νεοπλασία όπως:

- α. Η σεξουαλική δραστηριότητα: η ηλικία της πρώτης συνουσίας και ο αριθμός των ερωτικών συντρόφων αυξάνουν τις πιθανότητες συνουσίας με κάποιον φορέα του ιού.

β. Το κάπνισμα: οι καρκινογόνες ουσίες του καπνού διπλασιάζουν την πιθανότητα εμφάνισης του καρκίνου του τραχήλου του μήτρας και δρουν συνεργιστικά με τον ιό στην εξέλιξη της τραχηλικής νεοπλασίας

γ. Τα αντισυλληπτικά: η χρήση αντισυλληπτικών για 10 χρόνια και άνω αυξάνει δυο φορές την πιθανότητα καρκίνου του τραχήλου

δ. Η διατροφή: Μια διατροφή πλούσια σε β-καροτίνη, βιταμίνες και λαχανικά βοηθά στην εξασφάλιση της υγείας και, πιθανώς, στην πρόληψη του καρκίνου, ενώ μια διατροφή με λίπη, φτωχή σε βιταμίνη Α και ρετινόλη ευνοούν την ανάπτυξή του. [22]

### **2.3.1.8 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ**

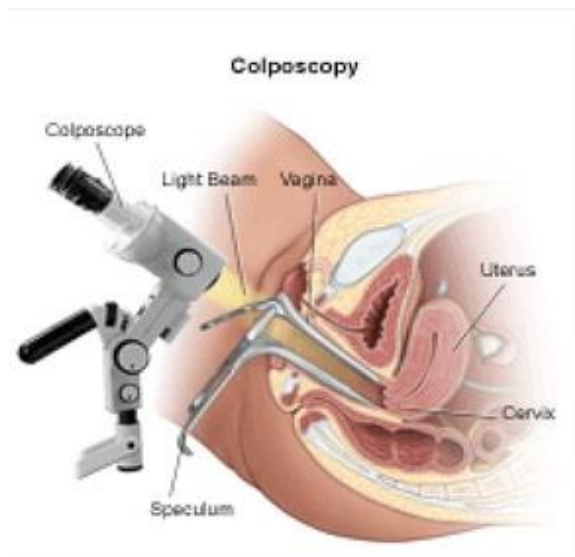
Τα συμπτώματα από τον HPV ιό ποικίλλουν ανάλογα με την περιοχή την οποία προσβάλλουν. Στα γεννητικά όργανα, στα οποία εστιάζουμε στην παρούσα εργασία, ο ιός συνήθως δεν παρουσιάζει συμπτώματα, εκτός από την περίπτωση που αναπτύσσονται οξυτενή κονδυλώματα στα έξω γεννητικά όργανα (αιδοίο, κόλπος, τράχηλος, πρωκτός). Τα οξυτενή κονδυλώματα είναι μαλακές, σαρκώδεις εκβλαστήσεις στο χρώμα του δέρματος. Ο ιός των ανθρωπίνων θηλωμάτων ανιχνεύεται με μια από τις ειδικές εξετάσεις που υπάρχουν γ' αυτόν τον σκοπό, με πιο γνωστή το τεστ Παπανικολάου (τεστ Παπ). [12]

### **2.3.1.9 ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ**

Όπως σε όλα τα είδη καρκίνων, έτσι και στην περίπτωση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, η έγκαιρη διάγνωση είναι πολύ σημαντική καθώς, όσο νωρίτερα αντιληφθούν τυχόν τραχηλικές αλλοιώσεις, τόσο πιο αποτελεσματικά μπορεί να αντιμετωπιστούν. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με ειδικές εξετάσεις, οι οποίες μπορούν να ανιχνεύσουν την ύπαρξη ή όχι του ιού. Κάποιες από αυτές είναι το τεστ Παπ, η οπτική εξέταση, η βιοψία μέσω κολποσκόπησης, , το mRNA test, το p16 test, το Flow Cytometry test και από τις μοριακές τεχνικές ανίχνευσης του ιού: το HPV DNA test, οι τεχνικές πολλαπλασιασμού σήματος, οι τεχνικές πολλαπλασιασμού στόχου, οι τεχνικές μη πολλαπλασιασμού, οι υβριδισμοί Southern Blot, Dot Blot και In Siti και η μέθοδος Fish. [15] Ενδεικτικά θα αναφερθούν λίγο πιο αναλυτικά κάποιες από αυτές.

α. Οπτική εξέταση: Στην εξέταση αυτή, οι τραχηλικές αλλοιώσεις επισημαίνονται με ασετικό οξύ και με ιώδιο Lugol. Ασετικό οξύ εφαρμόζεται στον τράχηλο με τη βοήθεια βαμβακιού στην άκρη ενός ειδικού εργαλείου (Cherrol) και μετά από 1 λεπτό ο τράχηλος φωτίζεται με μια λάμπα των 100 W. Με την εξέταση αυτή, ο γιατρός μπορεί να διαγνώσει αν υπάρχει μεταπλασία, τραχηλίτιδα, κυστίτιδα, κονδύλωμα, CIN 1, CIN 2, CIN 3 νεοπλασία ή καρκίνος κ.α. Αν εμποτιστεί ο τράχηλος με το ιώδιο Lugol, μπορεί να διαγνωστεί αν ο τράχηλος είναι φυσιολογικός, μη φυσιολογικός ή πιθανόν καρκινικός. Το ιώδιο Lugol εμποτίζει το φυσιολογικό επιθήλιο γιατί είναι πλούσιο σε γλυκογόνο. Έτσι, αν το επιθήλιο είναι χρωματισμένο είναι υγιές ενώ αν δεν είναι, το επιθήλιο είναι μη φυσιολογικό. [23]

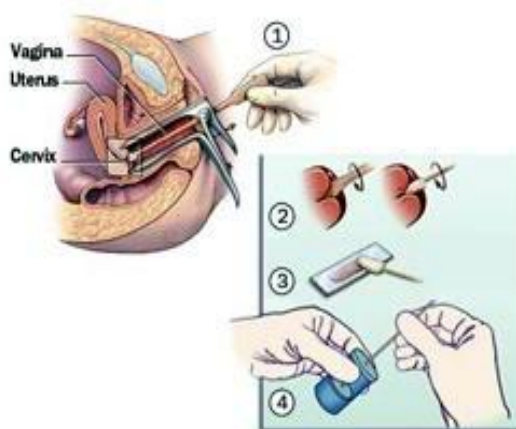
β. Βιοψία μέσω κολποσκόπησης: με τη βοήθεια του κολποσκοπίου, ο εκάστοτε γιατρός μπορεί να προσδιορίσει τυχόν ανώμαλες περιοχές στο τραχηλικό επιθήλιο, να εντοπίσει τα όρια τους καθώς και περιοχές «στόχους» για βιοψία, να πραγματοποιήσει βιοψία για ιστολογική εξέταση και να σχηματίσει διάγνωση για την καλύτερη θεραπεία. [15]



**Εικόνα 9: Κολποσκόπιο [24]**

γ. Τεστ Παπ: ονομάστηκε έτσι προς τιμήν του Έλληνα γιατρού, Γεώργιου Παπανικολάου, που ανακάλυψε τη σπουδαία χρησιμότητά του, το 1928. Είναι μια προληπτική εξέταση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, κατά την οποία χρησιμοποιείται ένα μικρό βουρτσάκι για να πάρει ένα δείγμα τραχηλικών κυττάρων. Αυτά τα κύτταρα τίθενται σε μικροσκοπικό έλεγχο για να ελεγχθεί αν υπάρχουν τυχόν κυτταρικές αλλαγές στην επιφανειακή στιβάδα των κυττάρων του τραχήλου, προτού μετατραπούν σε καρκίνο. [25]

Είναι η μόνη αναγνωρισμένη εξέταση για την πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας και κρίνεται απαραίτητη από σημαντικούς ανθρώπους του τομέα. [26] Είναι σημαντικό να αναφέρουμε πως πέρα από κακοήθειες και προκακοήθειες αλλαγές στον τράχηλο της μήτρας, με το τεστ Παπ μπορούν να εντοπιστούν και άλλες τοπικές καταστάσεις όπως ιογενείς λοιμώξεις, ο απλός έρπης, τα κονδυλώματα, οι μύκητες, κολπίτιδες, τραχηλίτιδες και άλλα. [27] Τέλος, πρέπει να σημειωθεί πως το τεστ Παπ δεν είναι πάντα έγκυρο αλλά η ευαισθησία του αγγίζει το 68,1 % . Γι' αυτό το λόγο, σε περιπτώσεις ασάφειας , θα πρέπει να συνδυάζεται και με άλλη εξέταση. [29]



**Εικόνα 10 : Διαδικασία λήψης τεστ Παπ [28]**

δ. HPV DNA test: Το HPV DNA test είναι μια νέα, αυτοματοποιημένη εξέταση της μοριακής κυτταρολογίας που έρχεται να αντικαταστήσει το συμβατικό τεστ Παπ, καθώς είναι πιο ευαίσθητη και πιο αξιόπιστη αυτό. Αυτό συμβαίνει διότι τα κύτταρα που θα ληφθούν από την απόξεση θα εξεταστούν γενετικά, ώστε να ανιχνευθεί το DNA του HPV που πιθανόν να έχει μολύνει τον τράχηλο και, ταυτόχρονα, θα ταυτοποιηθεί ο τύπος του. Η διαδικασία της εξέτασης είναι ακριβώς ίδια με αυτήν του τεστ Παπ. Αξίζει να σημειωθεί πως ο συνδυασμός του με το τεστ Παπ μπορεί να αγγίζει και το 100% αξιοπιστίας. [25],[29] Παρόλ' αυτά, η εξέταση αυτή δε χρησιμοποιείται μόνο για προληπτικό έλεγχο, αλλά και ως βοηθητικό μέσο της κυτταρολογίας ως μέθοδος παρακολούθησης έπειτα από θεραπεία, ώστε να αποφευχθεί το ενδεχόμενο υποτροπής (Denny- Wright, 2005).

### **2.3.1.10 ΘΕΡΑΠΕΙΑ**

Εφόσον διαγνωστεί μόλυνση από τον ιό των ανθρώπινων κονδυλωμάτων με κάποιο από τα προαναφερθέντα τεστ, ακολουθεί η κατάλληλη θεραπεία για την αντιμετώπισή του. Οι θεραπείες για CIN (βλ. παρ. 2.3.1.5) και άλλες παρόμοιες αλλοιώσεις περιλαμβάνουν, κυρίως, αφαιρετικές θεραπείες, που σκοπός τους είναι να εξαλειφθεί η βλάβη στους HPV-προσβεβλημένους ιστούς, αφήνοντας άθικτους τους υγιείς ιστούς του τραχήλου. [30,31] Η υστερεκτομή, όμως, δεν είναι αποδεκτή ως κύρια θεραπεία υψηλού βαθμού CIN, επειδή οι περισσότεροι ασθενείς είναι γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας. [30,32] Οι αφαιρετικές θεραπείες περιλαμβάνουν κρυοπηξία, επεμβάσεις εκτομής, θεραπεία με λέιζερ και ηλεκτροχειρουργική.

Οι μη χειρουργικές θεραπείες που χρησιμοποιούνται για να σκοτώνουν τα μολυσματικά κύτταρα με τη επαφή εφαρμόζονται ως πρώτη εναλλακτική θεραπεία των κονδυλωμάτων, με την προοπτική να αποφευχθεί η υστερεκτομή. Κάποιες από αυτές είναι τοπικές χορηγήσεις, είτε σε υγρή μορφή είτε σε μορφή κρέμας, με τριχλωροοξεϊκό οξύ (Trichloroacetic acid) που προκαλεί χημικό έγκαυμα στις παθήσες περιοχές, με ποδοφυλλοτοξίνη (Podophyllotoxin), με ιμικουιμόδη (Imiquimod), με Polyphenon και με Cidofovir.

Τέλος, υπάρχουν και θεραπευτικά εμβόλια όπως τα εμβόλια που έχουν ως βάση τους πεπτίδια, εμβόλια με ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες (L1VLPE7, SGN-00101, HPV16 E6/E7, TA-CIN), DNA εμβόλια (pConE6E7, ZYC101a, Amolimogene, Sig-E7 (detox)-HSP70), εμβόλια ανασυνδυασμένου ιού (υκοί φορείς) (TA-HPV, TG4001, MVA E2, MVA-E1) και DC-based εμβόλια που χρησιμοποιούν δένδρικά κύτταρα με HPV αντιγόνα. [30]

Το αν θα υπάρξει υποτροπή ή όχι εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως ο τύπος του ιού, η εξαίρεση της βλάβης επί υγιών ορίων, η άμυνα του οργανισμού, το κάπνισμα, ασθένειες που επηρεάζουν το ανοσοποιητικό σύστημα και άλλα. Η συστηματική αντιμετώπιση των υποτροπών, εάν υπάρχουν, η ενδυνάμωση της φυσικής κατάστασης του ασθενούς σε συνδυασμό με το γεγονός ότι στη μεγαλύτερη πλειοψηφία των ανθρώπων ο ίδιος ο οργανισμός θα θέσει τον ιό υπό έλεγχο, οδηγούν στην τελική ίαση.

Σημειώνουμε πως σημαντική πρόοδο στην εκρίζωση της λοίμωξης από τα επικίνδυνα για καρκίνο στελέχη, αποτελεί η εφαρμογή των νέων εμβολίων σε νεαρά κορίτσια πριν την έναρξη της σεξουαλικής τους ζωής. Στόχος είναι η καταπολέμηση του καρκίνου του τραχήλου στις γυναίκες. Ίσως στο μέλλον εφαρμοστούν εμβολιασμοί για το σύνολο των ιών HPV, με σκοπό την πλήρη εκρίζωση της λοίμωξης. [15]

## **2.4 ΜΕΤΡΑ ΠΡΟΛΗΨΗΣ ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΤΡΑΧΗΛΟΥ ΤΗΣ ΜΗΤΡΑΣ**

### **2.4.1 ΓΕΝΙΚΑ ΜΕΤΡΑ**

Η πρόληψη από τον ιό των ανθρωπίνων κονδυλωμάτων παίζει πάρα πολύ σπουδαίο ρόλο στην εξάπλωσή του, αφού μια σωστή και μεθοδευμένη σειρά ενεργειών, τόσο από το κράτος αλλά και από τον καθένα ξεχωριστά, μπορεί να αποτρέψει μελλοντικές λοιμώξεις από αυτόν. Είναι γνωστό, πως όσο νωρίτερα ανιχνευθεί η τραχηλική αλλοίωση, τόσο αποτελεσματικότερη θα είναι η αντιμετώπισή του.

Καταρχάς, ο προληπτικός πληθυσμιακός έλεγχος για ανίχνευση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας είναι, αφενός, ευθύνη του κράτους και, αφετέρου, κάθε σεξουαλικά ενεργής γυναίκας. Από την πλευρά του το κράτος έχει μεριμνήσει για την προληπτική εξέταση του τεστ Παπ και αποζημιώνεται από τον ΕΟΠΥΥ. Ωστόσο, παρά την αποδεδειγμένη αξία του, μόνο ένα μικρό ποσοστό των Ελληνίδων (λιγότερο του 30%) το κάνει σε τακτική βάση. [26]

Ίσως θα έπρεπε, λοιπόν, να ληφθούν και τα κατάλληλα μέτρα για την ενημέρωση του γυναικείου, κυρίως, πληθυσμού σχετικά με τη σπουδαιότητα αυτής της εξέτασης αλλά και για τον ιό HPV, γενικά.

Όσον αφορά στα μέτρα που θα πρέπει να παίρνει ο γυναικείος πληθυσμός για την εμπόδιση της μετάδοσης του ιού, το κυριότερο είναι η χρήση προφυλακτικού κατά τη διάρκεια της ερωτικής επαφής. Παρόλο που η χρήση του δεν παρέχει 100% προστασία, διότι το πρυφυλακτικό αφήνει ακάλυπτες δερματικές περιοχές πιθανώς μολυσματικές, έχει αποδειχτεί πως μειώνουν αρκετά τον κίνδυνο των μολύσεων. Αξίζει να σημειωθεί πως το προφυλακτικό δεν εμποδίζει μόνο την επαφή των, όποιων, μολυσματικών περιοχών αλλά έρευνες έχουν δείξει πως βοηθά στην αντιμετώπιση δυνητικών προκαταρκτικών αλλοιώσεων στον τράχηλο, καθώς το σπέρμα περιέχει μια ουσία που αυξάνει τον κίνδυνο προκαρκινικών αλλαγών. [15] Συμπληρωματικά, όπως έχει αναφερθεί και σε άλλη παράγραφο, η σωστή διατροφή και η αποφυγή του καπνίσματος μπορεί να αποτρέψει τέτοιες αλλοιώσεις.

Αφήσαμε για το τέλος, ίσως, το πιο σημαντικό μέτρο πρόληψης των μολύνσεων από τον ιό HPV και δεν είναι άλλο από το «εμβόλιο κατά του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας», όπως είναι ευρέως γνωστό. Υπάρχουν πολλές απόψεις σχετικά με το αν θα πρέπει να γίνεται και αν, όντως, προστατεύει, δεν είναι όμως αντικείμενο αυτής της εργασίας. Στις επόμενες σειρές θα παρουσιαστούν και θα περιγραφούν αυτά τα εμβόλια.

### **2.4.2 ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΑ ΕΜΒΟΛΙΑ**

Δύο σύγχρονα εμπορικά προφυλακτικά εμβόλια για τον ιό HPV κυκλοφορούν σήμερα στην αγορά: το Gardasil της Sanofi Pasteur MSD/Merck και το Cervarix της Glaxo –Smith- Klein.

Τόσο το Cervarix όσο και το Gardasil αποτελούνται από ανασυνδυασμένες πρωτεΐνες του L1 καψιδίου του HPV16 και 18, οι οποίες σχηματίζουν σωματίδια όμοια με το ιό (virus like particles- VLPs), συνδυαζόμενες με ένα βοηθητικό σωματίδιο. Το Gardasil είναι ένα τετραδύναμο εμβόλιο, το οποίο περιέχει VLPs και για τους υπότυπους 6 και 11, πλην των 16 και 18. Οι υπότυποι 6 και 11 είναι ιοί HPV χαμηλού κινδύνου, υπεύθυνοι για το 90% των εξωτερικών γεννητικών κονδυλωμάτων και για ένα μικρό ποσοστό χαμηλού βαθμού δυσπλασίας του τραχήλου της μήτρας. Το Cervarix είναι ένα διδύναμο εμβόλιο, το



οποίο περιέχει VLPs για τους 16 και 18 υποτύπους, συνδυαζόμενο με ένα βοηθητικό σωματίδιο, το AS04, το οποίο περιέχει ένα τρισδιάστατο μόριο μονοφωσφορικού λιπιδίου A (MPL), το οποίο επάγει ανοσοδιεγερτικά την παραγωγή αντισωμάτων.

Κλινικές μελέτες σχετικά με τη χρήση των εμβολίων αυτών κατέληξαν σε υψηλή παρεχόμενη προστασία σε ό,τι αφορά:

- α. Την πρόληψη HPV λοίμωξης
- β. Την προστασία από επίμονη HPV λοίμωξη από τους υπότυπους 16 και 18
- γ. Την πρόληψη εξελίξεως των προκακοηθών καταστάσεων. [29]

Στη χώρα μας, ο εμβολιασμός έναντι του ιού HPV έχει ενταχθεί επίσημα στο Εθνικό Πρόγραμμα Εμβολιασμών του Υπουργείου Υγείας και τα εμβόλια αυτά χορηγούνται δωρεάν σε όλα τα κορίτσια και τις νέες γυναίκες ηλικίας 12- 26 ετών. Ο εμβολιασμός γίνεται σε 3 δόσεις μέσα σε περίοδο 6 μηνών.

	<b>Cervarix</b>	<b>Gardasil</b>
Τύπος HPV	16,18	16,18 και 6,11
Εμβολιασμός	0,2,6 μήνες	0,1,6 μήνες
Δόση αντιγόνων	VLP 16 (20 µg) 18 (20 µg)	VLP 16 (40 µg) 18 (20 µg) 6 (20 µg) 11 (40 µg)

**Εικόνα 11: Διαθέσιμα προληπτικά εμβόλια και λεπτομέρειες σχετικά με τις δόσεις εμβολιασμών [33]**

Αξίζει να αναφερθεί πως τα εμβόλια αυτά δρουν μόνο για την πρόληψη 2 έως 4 τύπων HPV, έναντι των 20 περίπου υψηλού κινδύνου. Γι' αυτό το λόγο, όσοι εμβολιάζονται δε θα πρέπει να επαναπαύονται αλλά θα πρέπει να εξακολουθούν να λαμβάνουν τακτικό έλεγχο (τεστ Παπ). Επίσης, οι τύποι που είναι υπεύθυνοι για την εμφάνιση του καρκίνου του τραχήλου ποικίλλουν από χώρα σε χώρα. Για παράδειγμα, στην Ιαπωνία λιγότερο των 60% των περιπτώσεων του καρκίνου του τραχήλου οφείλονται στους HPV 16 και 18.[30]

Τέλος, όπως σε όλα τα φάρμακα, έτσι και στα εμβόλια αυτά, υπάρχουν πιθανές ανεπιθύμητες παρενέργειες. Ενώ ο εμβολιασμός αυτός είναι γενικά καλά ανεκτός, έχουν αναφερθεί παρενέργειες, οι συχνότερες από τις οποίες περιλαμβάνουν πυρετό και αντιδράσεις στο σημείο της ένεσης όπως ερυθρότητα, πόνος, οίδημα. Ο πλήρης κατάλογος των ανεπιθύμητων ενεργειών που αναφέρθηκε έως το 2006 στο σύστημα αναφοράς ανεπιθύμητων ενεργειών εμβολίων (VAERS) του Αμερικάνικου Οργανισμού Φαρμάκων και Τροφίμων (FDA) είναι: συγκοπή, ζάλη, πυρετός, εξάνθημα, παραισθησία, κνησμός, πονοκέφαλος, εμετός, μυαλγία. Ως γενετικό προϊόν που δέχτηκε σωρεία επιθέσεων για πρόκληση τερατογενέσεων και γονιδιακών βλαβών, ο κίνδυνος δεν έχει εκτιμηθεί πλήρως και δεν έχει διασαφηνιστεί εκ των εταιρειών. [29]

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 30**

### **ΟΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΙ ΤΥΠΟΙ ΤΟΥ ΙΟΥ HPV**

#### **3.1 BLAST**

Η σύγκριση νουκλεοτιδικών ή πρωτεϊνικών ακολουθιών ιδίων ή διαφορετικών οργανισμών είναι ένα πολύ ισχυρό εργαλείο στη μοριακή βιολογία. Με την εύρεση ομοιοτήτων μεταξύ ακολουθιών, οι επιστήμονες μπορούν να συμπεραίνουν τη λειτουργία νεοευρεθέντων ακολουθιών γονιδίων, να προβλέπουν νέα μέλη οικογενειών γονιδίων και να εξερευνούν τις εξελικτικές τους σχέσεις. Τώρα που έχουν βρεθεί ακολουθίες ολόκληρων γονιδιωμάτων, η αναζήτηση ομοιοτήτων μεταξύ ακολουθιών μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να προβλέψει τη θέση και τη λειτουργία των πρωτεϊνών στις διάφορες περιοχές γονιδιωματικού DNA.

Στο παρόν κεφάλαιο θα κάνουμε χρήση του BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) που αναπτύχθηκε το 1989 και μας παρέχεται από το National Center for Biotechnology Information (NCBI) των National Institutes Of Health (NIH). Το εργαλείο αυτό χρησιμοποιεί στατιστικές μεθόδους για να συγκρίνει ακολουθίες DNA ή αλληλουχίες πρωτεϊνών σε μια βάση δεδομένων αλληλουχιών και επιστρέφει τις ακολουθίες αυτές οι οποίες έχουν ένα σημαντικό βαθμό ομοιότητας με την αλληλουχία που έχουμε εισαγάγει αρχικά. Παρόλο που το BLAST είναι ένα πολύπλοκο σύνολο προγραμμάτων με πολλές λειτουργίες και εφαρμογές, η πιο δημοφιλής χρήση του – συγκρίσεις ακολουθιών- είναι αρκετά απλή, χάρη στη διαδικτυακή πύλη του NCBI.

Αναλυτικότερα, ο αλγόριθμος BLAST υπολογίζει βαθμολογίες ομοιότητας για τοπικές ευθυγραμμίσεις (πχ. τις πλέον παρόμοιες περιοχές μεταξύ δύο αλληλουχιών) μεταξύ της αλληλουχίας ερωτήματος (query sequence) και της προκειμένης αλληλουχίας (subject sequence) χρησιμοποιώντας ειδικές μήτρες βαθμολόγησης και επιστρέφει έναν πίνακα των καλύτερων αποτελεσμάτων (hits) από τη βάση δεδομένων. Ο πίνακας των αποτελεσμάτων περιλαμβάνει αρκετές πληροφορίες, συμπεριλαμβανομένων των σκορ ομοιότητας, την κάλυψη της αλληλουχίας ερωτήματος (ποσοστό της ακολουθίας ερωτήματος που επικαλύπτει την προκειμένη ακολουθία), το max identity (το ποσοστό ομοιότητας μεταξύ της ακολουθίας ερωτήματος και της προκειμένης ακολουθίας επί του μήκους της περιοχής κάλυψης) και το e-value. Το e-value είναι μια παράμετρος που περιγράφει τον αριθμό των hits που μπορεί να εμφανιστούν κατά τύχη κατά την αναζήτηση της βάσης δεδομένων ενός συγκεκριμένου μεγέθους. Ουσιαστικά, περιγράφει έναν τυχαίο θόρυβο. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή αυτή, τόσο πιο τυχαίο το αποτέλεσμα. [41]

Υπάρχουν πέντε σελίδες αναζήτησης BLAST και η καθεμία εκτελεί ένα συγκεκριμένο είδος στοίχισης αλληλουχιών. Αυτές οι σελίδες είναι το θεμέλιο της υπηρεσίας του NCBI BLAST και θα αναφερθούν ενδεικτικά παρακάτω. Ο πίνακας 1 που ακολουθεί συνοψίζει τις βασικές πτυχές των σελίδων αυτών. Οι σελίδες αυτές έχουν πρόσβαση σε ένα σύνολο βάσεων δεδομένων. [37]

<u>Σελίδα αναζήτησης</u>	<u>Συνδυασμός αλληλουχίας ερωτήματος και βάσης δεδομένων</u>	<u>Τύπος στοίχισης</u>	<u>Προγράμματα και συναρτήσεις</u>
nucleotide blast	νουκλεοτίδιο με νουκλεοτίδιο	νουκλεοτίδιο με νουκλεοτίδιο	-megablast -discontiguous megablast -blastn
protein blast	πρωτεΐνη με πρωτεΐνη	πρωτεΐνη με πρωτεΐνη	-blastp -DELTA- BLAST -PSI-BLAST -PHI-BLAST
blastx	μεταφρασμένο νουκλεοτίδιο με πρωτεΐνη	πρωτεΐνη με πρωτεΐνη	blastx
tblastn	πρωτεΐνη με μεταφρασμένο νουκλεοτίδιο	πρωτεΐνη με πρωτεΐνη	tblastn
tblastx	μεταφρασμένο νουκλεοτίδιο με μεταφρασμένο νουκλεοτίδιο	πρωτεΐνη με πρωτεΐνη	tblastx

**Πίνακας 1: Βασικά χαρακτηριστικά σελίδων αναζήτησης BLAST (Basic BLAST) [37]**

### **3.1.1 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΩΝ ΜΕ ΤΟ BLAST**

Κάνοντας χρήση του nucleotide BLAST, μέσα από τη διαδικτυακή σελίδα του National Center for Biotechnology Information (NCBI) , έγινε σύγκριση ολόκληρων ή μερών του γονιδιώματος των τύπων του ιού HPV υψηλού κινδύνου, με σκοπό να βρεθούν τυχόν ομοιότητες μεταξύ αυτών. Ο πίνακας 1 που ακολουθεί παρουσιάζει τα αποτελέσματα του αλγορίθμου. Σημειώνουμε πως τα αποτελέσματα που καταγράφηκαν είναι:

- Max score: η υψηλότερη βαθμολογία ευθυγράμμισης ενός συνόλου ευθυγραμμισμένων τμημάτων της ακολουθίας ερωτήματος και της προκείμενης ακολουθίας. Η βαθμολογία υπολογίζεται από το άθροισμα των πόντων ομοιότητας και ανομοιότητας, των ανοικτών κενών και των κυρώσεων για κάθε τμήμα ανεξάρτητα.
- Total score: Το άθροισμα των βαθμολογιών ευθυγράμμισης όλων των τμημάτων σύγκρισης.
- Query coverage: Το ποσοστό του μήκους της ακολουθίας εισόδου που περιλαμβάνεται στα ευθυγραμμισμένα τμήματα.
- E-value: παράμετρος που περιγράφει τον αριθμό των hits που μπορεί να εμφανιστούν κατά τύχη κατά την αναζήτηση της βάσης δεδομένων ενός συγκεκριμένου μεγέθους
- Maximum Identity: το υψηλότερο ποσοστό ομοιότητας από ένα σύνολο ευθυγραμμισμένων τμημάτων. [36]

Για την εν λόγω σύγκριση, χρησιμοποιήθηκαν ολόκληρες οι ακολουθίες γονιδιώματος των ιών, εκτός του τύπου 51, όπου συγκρίθηκε μόνο η L1 περιοχή. Παρέχονται από τη βάση δεδομένων του NCBI και μπορούν να βρεθούν στις παρακάτω συνδέσεις:

- HPV type 16: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/399526128?report=fasta>
- HPV type 18: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/145968208?report=fasta>
- HPV type 31: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/337238008?report=fasta>
- HPV type 33: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/337238198?report=fasta>
- HPV type 35: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/337238470?report=fasta>
- HPV type 39: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/537802122?report=fasta>
- HPV type 45: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/537802272?report=fasta>
- HPV type 51: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/1209160?report=fasta>
- HPV type 52: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/337238651?report=fasta>
- HPV type 56: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/138374731?report=fasta>
- HPV type 58: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/337238986?report=fasta>
- HPV type 59: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/537802353?report=fasta>
- HPV type 68: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/537802373?report=fasta>

Καταγράφηκαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

**Πίνακας 2: Αποτελέσματα BLAST σύγκρισης γονιδιωμάτων**

HPV types	16	18	31	33	35	39	45	51	52	56	58	59	68
16	Max score: 14255	Max score: 726	Max score: 4450	Max score: 1391	Max score: 4518	Max score: 715	Max score: 845	Max score: 158	Max score: 1460	Max score: 827	Max score: 1436	Max score: 879	Max score: 747
	Total score: 14255	Total score: 1649	Total score: 4450	Total score: 3044	Total score: 4556	Total score: 1559	Total score: 1750	Total score: 158	Total score: 2763	Total score: 1541	Total score: 3042	Total score: 2009	Total score: 1560
	Query cover: 100%	Query cover: 42%	Query cover: 91%	Query cover: 80%	Query cover: 91%	Query cover: 49%	Query cover: 50%	Query cover: 5%	Query cover: 83%	Query cover: 48%	Query cover: 79%	Query cover: 52%	Query cover: 46%
	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 8e-42	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0
	Ident: 100%	Ident: 71%	Ident: 74%	Ident: 69%	Ident: 74%	Ident: 70%	Ident: 73%	Ident: 68%	Ident: 69%	Ident: 72%	Ident: 69%	Ident: 72%	Ident: 70%
	Max score: 726	Max score: 14170	Max score: 765	Max score: 738	Max score: 756	Max score: 1876	Max score: 7122	Max score: 170	Max score: 715	Max score: 964	Max score: 756	Max score: 4020	Max score: 3434
	Total score: 1649	Total score: 14170	Total score: 1658	Total score: 1559	Total score: 1636	Total score: 3828	Total score: 7122	Total score: 170	Total score: 1559	Total score: 1789	Total score: 1604	Total score: 4020	Total score: 3434
	Query cover: 42%	Query cover: 100%	Query cover: 48%	Query cover: 42%	Query cover: 45%	Query cover: 85%	Query cover: 99%	Query cover: 5%	Query cover: 44%	Query cover: 57%	Query cover: 43%	Query cover: 99%	Query cover: 88%
	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 1e-45	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0
	Ident: 71%	Ident: 100%	Ident: 71%	Ident: 72%	Ident: 70%	Ident: 71%	Ident: 80%	Ident: 69%	Ident: 71%	Ident: 68%	Ident: 71%	Ident: 72%	Ident: 71%
	Max score: 726	Max score: 14170	Max score: 765	Max score: 738	Max score: 756	Max score: 1876	Max score: 7122	Max score: 170	Max score: 715	Max score: 964	Max score: 756	Max score: 4020	Max score: 3434
	Total score: 1649	Total score: 14170	Total score: 1658	Total score: 1559	Total score: 1636	Total score: 3828	Total score: 7122	Total score: 170	Total score: 1559	Total score: 1789	Total score: 1604	Total score: 4020	Total score: 3434
	Query cover: 42%	Query cover: 100%	Query cover: 48%	Query cover: 42%	Query cover: 45%	Query cover: 85%	Query cover: 99%	Query cover: 5%	Query cover: 44%	Query cover: 57%	Query cover: 43%	Query cover: 99%	Query cover: 88%
	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 1e-45	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0	E value: 0.0
Ident: 71%	Ident: 100%	Ident: 71%	Ident: 72%	Ident: 70%	Ident: 71%	Ident: 80%	Ident: 69%	Ident: 71%	Ident: 68%	Ident: 71%	Ident: 72%	Ident: 71%	
18													

HPV types	16	18	31	33	35	39	45	51	52	56	58	59	68
31	Max score: 4450 Total score: 4450 Query cover: 91% E value: 0.0 Ident: 74%	Max score: 765 Total score: 1658 Query cover: 48% E value: 0.0 Ident: 71%	Max score: 14222 Total score: 14222 Query cover: 100% E value: 0.0 Ident: 100%	Max score: 1364 Total score: 2984 Query cover: 76% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 4605 Total score: 4649 Query cover: 88% E value: 0.0 Ident: 75%	Max score: 726 Total score: 1286 Query cover: 40% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 877 Total score: 1594 Query cover: 46% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 217 Total score: 217 Query cover: 5% E value: 0.0 Ident: 71%	Max score: 1198 Total score: 2739 Query cover: 82% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 823 Total score: 1725 Query cover: 64% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 1317 Total score: 2822 Query cover: 74% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 962 Total score: 1946 Query cover: 53% E value: 0.0 Ident: 72%	Max score: 850 Total score: 1676 Query cover: 46% E value: 0.0 Ident: 73%
33	Max score: 1391 Total score: 3044 Query cover: 80% E value: 0.0 Ident: 69%	Max score: 738 Total score: 1559 Query cover: 42% E value: 0.0 Ident: 72%	Max score: 1364 Total score: 2984 Query cover: 76% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 14123 Total score: 14123 Query cover: 100% E value: 0.0 Ident: 100%	Max score: 1416 Total score: 3150 Query cover: 78% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 681 Total score: 1275 Query cover: 52% E value: 0.0 Ident: 69%	Max score: 760 Total score: 1602 Query cover: 41% E value: 0.0 Ident: 71%		Max score: 4316 Total score: 4316 Query cover: 89% E value: 0.0 Ident: 74%	Max score: 664 Total score: 1441 Query cover: 45% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 8004 Total score: 8004 Query cover: 99% E value: 0.0 Ident: 83%	Max score: 746 Total score: 1597 Query cover: 48% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 747 Total score: 1417 Query cover: 45% E value: 0.0 Ident: 71%
35	Max score: 4518 Total score: 4556 Query cover: 91% E value: 0.0 Ident: 74%	Max score: 756 Total score: 1636 Query cover: 45% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 4605 Total score: 4649 Query cover: 88% E value: 0.0 Ident: 75%	Max score: 1416 Total score: 14210 Query cover: 78% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 14210 Total score: 14210 Query cover: 100% E value: 0.0 Ident: 100%	Max score: 742 Total score: 1352 Query cover: 48% E value: 0.0 Ident: 68%	Max score: 875 Total score: 1693 Query cover: 49% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 161 Total score: 161 Query cover: 5% E value: 7e-43 Ident: 68%	Max score: 1370 Total score: 2984 Query cover: 78% E value: 0.0 Ident: 69%	Max score: 789 Total score: 1428 Query cover: 46% E value: 0.0 Ident: 71%	Max score: 1393 Total score: 2871 Query cover: 78% E value: 0.0 Ident: 71%	Max score: 996 Total score: 2083 Query cover: 51% E value: 0.0 Ident: 73%	Max score: 870 Total score: 1653 Query cover: 53% E value: 0.0 Ident: 69%
39	Max score: 715 Total score: 1559 Query cover: 49% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 1876 Total score: 3828 Query cover: 85% E value: 0.0 Ident: 71%	Max score: 726 Total score: 1286 Query cover: 40% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 681 Total score: 1275 Query cover: 52% E value: 0.0 Ident: 69%	Max score: 742 Total score: 1352 Query cover: 48% E value: 0.0 Ident: 68%	Max score: 14175 Total score: 14175 Query cover: 100% E value: 0.0 Ident: 100%	Max score: 2569 Total score: 3837 Query cover: 89% E value: 0.0 Ident: 71%	Max score: 132 Total score: 132 Query cover: 5% E value: 3e-34 Ident: 68%	Max score: 619 Total score: 1517 Query cover: 49% E value: 2e-179 Ident: 69%	Max score: 688 Total score: 1899 Query cover: 59% E value: 0.0 Ident: 69%	Max score: 684 Total score: 1453 Query cover: 53% E value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 3622 Total score: 3749 Query cover: 94% E value: 0.0 Ident: 72%	Max score: 5227 Total score: 6487 Query cover: 97% E value: 0.0 Ident: 81%

HPV types	16	18	31	33	35	39	45	51	52	56	58	59	68	
45	Max score: 845 Total score: 1750 Query cover: 50% Evaluate: 0.0 Ident: 73%	Max score: 7122 Total score: 7122 Query cover: 99% Evaluate: 0.0 Ident: 80%	Max score: 877 Total score: 1594 Query cover: 46% Evaluate: 0.0 Ident: 70%	Max score: 760 Total score: 1602 Query cover: 41% Evaluate: 0.0 Ident: 71%	Max score: 875 Total score: 1693 Query cover: 49% Evaluate: 0.0 Ident: 70%	Max score: 2569 Total score: 3837 Query cover: 89% Evaluate: 0.0 Ident: 71%	Max score: 14155 Total score: 14155 Query cover: 100% Evaluate: 0.0 Ident: 100%	Max score: 187 Total score: 187 Query cover: 5% Evaluate: 2e-50 Ident: 70%	Max score: 728 Total score: 1505 Query cover: 42% Evaluate: 0.0 Ident: 71%	Max score: 881 Total score: 1929 Query cover: 57% Evaluate: 0.0 Ident: 71%	Max score: 776 Total score: 1748 Query cover: 46% Evaluate: 0.0 Ident: 72%	Max score: 3974 Total score: 3974 Query cover: 99% Evaluate: 0.0 Ident: 72%	Max score: 3378 Total score: 3378 Query cover: 92% Evaluate: 0.0 Ident: 71%	
51	Max score: 158 Total score: 158 Query cover: 5% Evaluate: 8e-42 Ident: 68%	Max score: 170 Total score: 170 Query cover: 5% Evaluate: 1e-45 Ident: 69%	Max score: 217 Total score: 217 Query cover: 5% Evaluate: 0.0 Ident: 71%	Max score: 161 Total score: 161 Query cover: 5% Evaluate: 7e-43 Ident: 68%	Max score: 132 Total score: 132 Query cover: 5% Evaluate: 3e-34 Ident: 68%	Max score: 187 Total score: 187 Query cover: 5% Evaluate: 2e-50 Ident: 70%	Max score: 816 Total score: 816 Query cover: 100% Evaluate: 0.0 Ident: 100%	Max score: 141 Total score: 141 Query cover: 71% Evaluate: 6e-37 Ident: 70%	Max score: 214 Total score: 214 Query cover: 99% Evaluate: 1e-58 Ident: 71%	Max score: 174 Total score: 174 Query cover: 100% Evaluate: 1e-46 Ident: 69%	Max score: 161 Total score: 161 Query cover: 100% Evaluate: 7e-43 Ident: 68%	Max score: 158 Total score: 158 Query cover: 100% Evaluate: 8e-42 Ident: 68%	Max score: 158 Total score: 158 Query cover: 100% Evaluate: 8e-42 Ident: 68%	
52	Max score: 1460 Total score: 2763 Query cover: 83% Evaluate: 0.0 Ident: 69%	Max score: 715 Total score: 1559 Query cover: 44% Evaluate: 0.0 Ident: 71%	Max score: 1198 Total score: 2739 Query cover: 82% Evaluate: 0.0 Ident: 70%	Max score: 4316 Total score: 4316 Query cover: 89% Evaluate: 0.0 Ident: 74%	Max score: 1370 Total score: 2984 Query cover: 78% Evaluate: 0.0 Ident: 69%	Max score: 619 Total score: 1517 Query cover: 49% Evaluate: 2e-179 Ident: 69%	Max score: 728 Total score: 1505 Query cover: 42% Evaluate: 0.0 Ident: 71%	Max score: 141 Total score: 141 Query cover: 71% Evaluate: 6e-37 Ident: 70%	Max score: 14327 Total score: 14327 Query cover: 100% Evaluate: 0.0 Ident: 100%	Max score: 717 Total score: 1560 Query cover: 57% Evaluate: 0.0 Ident: 71%	Max score: 4473 Total score: 4473 Query cover: 89% Evaluate: 0.0 Ident: 74%	Max score: 782 Total score: 1782 Query cover: 47% Evaluate: 0.0 Ident: 71%	Max score: 641 Total score: 1375 Query cover: 47% Evaluate: 0.0 Ident: 69%	Max score: 641 Total score: 1375 Query cover: 47% Evaluate: 0.0 Ident: 69%
56	Max score: 827 Total score: 1541 Query cover: 48% Evaluate: 0.0 Ident: 72%	Max score: 964 Total score: 1789 Query cover: 57% Evaluate: 0.0 Ident: 68%	Max score: 823 Total score: 1725 Query cover: 64% Evaluate: 0.0 Ident: 70%	Max score: 664 Total score: 1441 Query cover: 45% Evaluate: 0.0 Ident: 70%	Max score: 789 Total score: 1428 Query cover: 46% Evaluate: 0.0 Ident: 71%	Max score: 688 Total score: 1899 Query cover: 59% Evaluate: 0.0 Ident: 69%	Max score: 881 Total score: 1929 Query cover: 57% Evaluate: 0.0 Ident: 71%	Max score: 214 Total score: 214 Query cover: 99% Evaluate: 1e-58 Ident: 71%	Max score: 717 Total score: 1560 Query cover: 57% Evaluate: 0.0 Ident: 71%	Max score: 14186 Total score: 14186 Query cover: 100% Evaluate: 0.0 Ident: 100%	Max score: 706 Total score: 1574 Query cover: 46% Evaluate: 0.0 Ident: 72%	Max score: 818 Total score: 1807 Query cover: 53% Evaluate: 0.0 Ident: 72%	Max score: 807 Total score: 1753 Query cover: 52% Evaluate: 0.0 Ident: 71%	Max score: 807 Total score: 1753 Query cover: 52% Evaluate: 0.0 Ident: 71%

HPV types	16	18	31	33	35	39	45	51	52	56	58	59	68
58	Max score: 1436 Total score: 3042 Query cover: 79% Evalue: 0.0 Ident: 69%	Max score: 756 Total score: 1604 Query cover: 43% E value: 0.0 Ident: 71%	Max score: 1317 Total score: 2822 Query cover: 74% E Value: 0.0 Ident: 70%	Max score: 8004 Total score: 8004 Query cover: 99% Evalue: 0.0 Ident: 83%	Max score: 1393 Total score: 2871 Query cover: 78% Evalue: 0.0 Ident: 71%	Max score: 684 Total score: 1453 Query cover: 53% Evalue: 0.0 Ident: 70%	Max score: 776 Total score: 1748 Query cover: 46% Evalue: 0.0 Ident: 72%	Max score: 174 Total score: 174 Query cover: 100% Evalue: 1e-46 Ident: 69%	Max score: 4473 Total score: 4473 Query cover: 89% Evalue: 0.0 Ident: 74%	Max score: 706 Total score: 1574 Query cover: 46% Evalue: 0.0 Ident: 72%	Max score: 14103 Total score: 14103 Query cover: 100% Evalue: 0.0 Ident: 100%	Max score: 816 Total score: 1661 Query cover: 49% Evalue: 0.0 Ident: 71%	Max score: 737 Total score: 1512 Query cover: 49% Evalue: 0.0 Ident: 71%
59	Max score: 879 Total score: 2009 Query cover: 52% Evalue: 0.0 Ident: 72%	Max score: 4020 Total score: 4020 Query cover: 99% E value: 0.0 Ident: 72%	Max score: 962 Total score: 1946 Query cover: 53% E value: 0.0 Ident: 72%	Max score: 746 Total score: 1597 Query cover: 48% Evalue: 0.0 Ident: 70%	Max score: 996 Total score: 2083 Query cover: 51% Evalue: 0.0 Ident: 73%	Max score: 3622 Total score: 3749 Query cover: 94% Evalue: 0.0 Ident: 72%	Max score: 3974 Total score: 3974 Query cover: 99% Evalue: 0.0 Ident: 72%	Max score: 161 Total score: 161 Query cover: 100% Evalue: 7e-43 Ident: 68%	Max score: 782 Total score: 1782 Query cover: 47% Evalue: 0.0 Ident: 71%	Max score: 818 Total score: 1807 Query cover: 53% Evalue: 0.0 Ident: 72%	Max score: 816 Total score: 1661 Query cover: 49% Evalue: 0.0 Ident: 71%	Max score: 14244 Total score: 14244 Query cover: 100% Evalue: 0.0 Ident: 100%	Max score: 3680 Total score: 3680 Query cover: 91% Evalue: 0.0 Ident: 72%
68	Max score: 747 Total score: 1560 Query cover: 46% Evalue: 0.0 Ident: 70%	Max score: 3434 Total score: 3434 Query cover: 88% E value: 0.0 Ident: 71%	Max score: 850 Total score: 1676 Query cover: 46% E value: 0.0 Ident: 73%	Max score: 747 Total score: 1417 Query cover: 45% Evalue: 0.0 Ident: 71%	Max score: 870 Total score: 1653 Query cover: 53% Evalue: 0.0 Ident: 69%	Max score: 5227 Total score: 6487 Query cover: 97% Evalue: 0.0 Ident: 81%	Max score: 3378 Total score: 3378 Query cover: 92% Evalue: 0.0 Ident: 71%	Max score: 158 Total score: 158 Query cover: 100% Evalue: 8e-42 Ident: 68%	Max score: 641 Total score: 1375 Query cover: 47% Evalue: 0.0 Ident: 69%	Max score: 807 Total score: 1753 Query cover: 52% Evalue: 0.0 Ident: 71%	Max score: 737 Total score: 1512 Query cover: 49% Evalue: 0.0 Ident: 71%	Max score: 3680 Total score: 3680 Query cover: 91% Evalue: 0.0 Ident: 72%	Max score: 14107 Total score: 14107 Query cover: 100% Evalue: 0.0 Ident: 100%

### 3.1.2 ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Από τον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε πως όλοι οι τύποι του HPV μοιάζουν λίγο-πολύ μεταξύ τους. Αυτό είναι κάτι αναμενόμενο, αφού μιλάμε για διαφορετικούς τύπους του ίδιου ιού και σαφώς θα μοιάζουν σε ένα συγκεκριμένο βαθμό μεταξύ τους.

Μπορούμε να κατηγοριοποιήσουμε τις ομοιότητες αυτές με δύο τρόπους:

α. με βάση το υψηλότερο ποσοστό ομοιότητας του συνόλου των ευθυγραμμισμένων τμημάτων (maximum identity)

β. με βάση το ποσοστό του μήκους της ακολουθίας εισόδου που περιλαμβάνεται στα ευθυγραμμισμένα τμήματα με αυτά της προκειμένης ακολουθίας (Query coverage)

Μελετώντας το maximum identity των συγκρίσεων του πίνακα 2 συμπεραίνουμε πως το ελάχιστο υψηλότερο ποσοστό ομοιότητας του συνόλου των ευθυγραμμισμένων τμημάτων είναι το 68% και το μέγιστο είναι το 83%. Αυτά τα ποσοστά, βέβαια, αποτελούν μέγιστες τιμές και δεν μπορούμε να βγάλουμε ακριβή συμπεράσματα σχετικά με την ομοιότητα ολόκληρου του γονιδιώματος μεταξύ των διαφορετικών τύπων υψηλού κινδύνου του ιού HPV. Ενδεικτικά αναφέρουμε ότι τα ζεύγη τύπων με αυτά τα ποσοστά είναι:

- Ελάχιστο (68%):

Ζεύγη τύπων	16-51	18-56	35-39	35-51	39-51	51-68	51-59
-------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

- Μέγιστο (83%):

Ζεύγη τύπων	33-58
-------------	-------

Ο τύπος 51 έχει το μικρότερο max identity όταν συγκρίνεται με τα υπόλοιπα στελέχη του ιού και αυτό οφείλεται στο γεγονός πως συγκρίθηκε μόνο η περιοχή του L1 με ολόκληρο το γονιδίωμα των υπολοίπων και, συνεπώς, δεν μπορούμε να βγάλουμε ακριβή συμπεράσματα σχετικά με την ομοιότητα αυτού και των άλλων τύπων. Πέρα από αυτόν, και οι τύποι 18 και 56 έχουν το μικρότερο max identity 68%, καθώς και οι τύποι 35 και 39. Οι τύποι 33 και 58 μοιάζουν περισσότερο από τους υπόλοιπους με υψηλότερο ποσοστό ομοιότητας του συνόλου ευθυγραμμισμένων τμημάτων τους 83% και, μάλιστα, στο 99% του μήκους της ακολουθίας ερωτήματος. Παρακάτω θα αναλυθεί περισσότερο η ομοιότητα αυτή.

Μελετώντας το Query coverage των αποτελεσμάτων του πίνακα 2, μπορούμε να διακρίνουμε δύο ομάδες, οι οποίες αποτελούνται από στελέχη του ιού που, σύμφωνα με τους αλγόριθμους του BLAST, παρουσιάζουν πολύ μεγάλη στατιστική ομοιότητα όσον αφορά στο γονιδίωμά τους και, κατ' επέκταση, στις λειτουργίες και στις ιδιότητές τους. Οι ομάδες αυτές είναι:

1. Ομάδα 1 : τύποι 16, 31, 33, 35, 52, 58
2. Ομάδα 2 : τύποι 18, 45, 39, 59, 68

Καθεμία ομάδα από αυτές αποτελείται από στελέχη του ιού με υψηλό ποσοστό ομοιότητας επικαλυμένων περιοχών συγκρίσεως. Στη συνέχεια, εξετάζεται κάθε ομάδα ξεχωριστά.

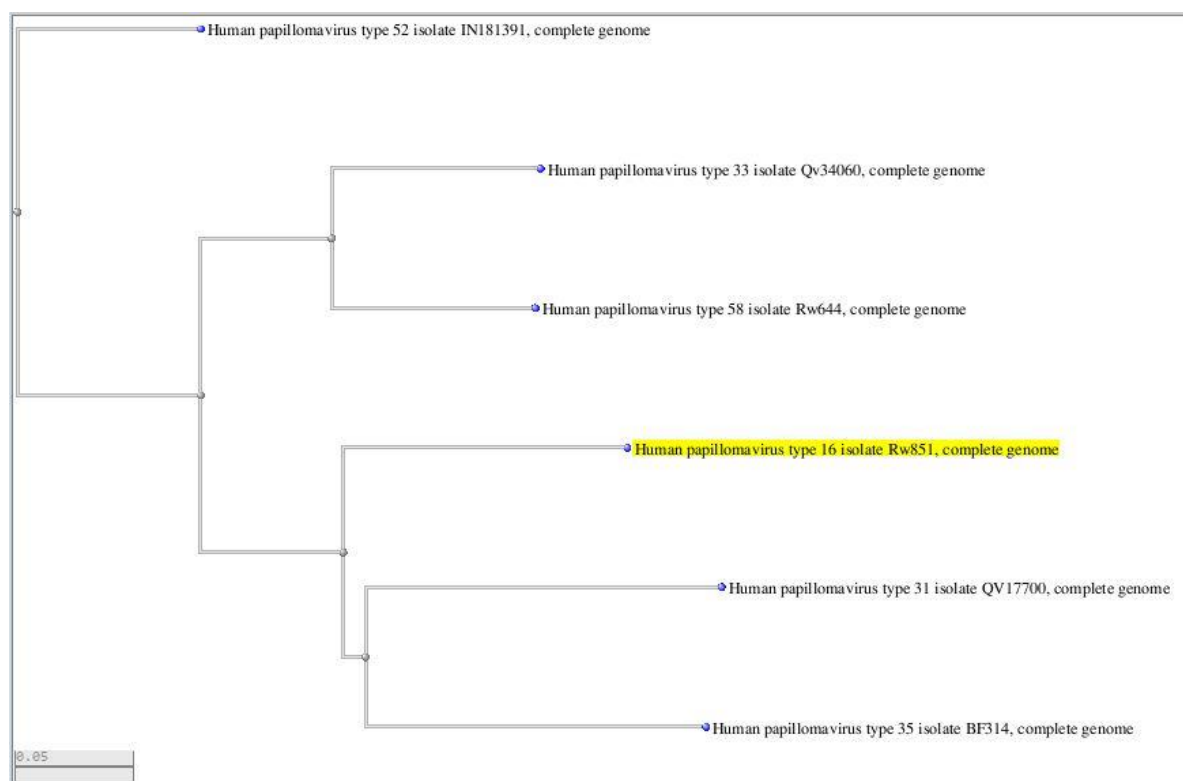


Σημειώνουμε πως παρακάτω θα χρησιμοποιηθούν φυλογενετικά δέντρα ώστε να κάνουν πιο κατανοητές τις ομοιότητες και τις διαφορές των διαφορετικών τύπων και παραλλαγών του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων. Με εξαίρεση τους μονοζυγωτικούς διδύμους και τους μικροοργανισμούς που ανήκουν στον ίδιο κλώνο, όλοι οι υπόλοιποι οργανισμοί διαφέρουν μεταξύ τους. Παρά τις διαφορές που τους χαρακτηρίζουν, οι επιστήμονες κατατάσσουν τους οργανισμούς σε ομάδες, ανάλογα με το βαθμό ομοιότητάς τους, με σκοπό την κατάταξη και τη σύγκρισή τους. Επιπλέον, η κατάταξη των οργανισμών σε ομάδες αντανακλά και τον τρόπο με τον οποίο αυτοί έχουν εξελιχθεί. Για το λόγο αυτό, χρησιμοποιούνται τα φυλογενετικά δέντρα που αποτελούν απεικονίσεις της εξελικτικής ιστορίας και των φυλογενετικών σχέσεων των διαφόρων ομάδων οργανισμών. Τα μήκη των κλάδων του δέντρου υποδηλώνουν τη χρονική διάρκεια μεταξύ των γεγονότων από τη στιγμή που συνέβη ο διαχωρισμός των ομάδων. Σε κάθε γενεαλογικό δέντρο σημειώνεται κάτω αριστερά η μονάδα μέτρησης της διαφοράς, σύμφωνα με την οποία διαμορφώθηκαν τα μήκη σε κάθε δέντρο και τα οποία, με τη βοήθεια της μεθόδου αλυσίδας Monte Carlo (MCMC) μπορούν να υπολογιστούν οι χρονικές διάρκειες μεταξύ των γεγονότων. Για παράδειγμα, το εύρος < 3% αντιστοιχεί σε γεγονότα που συνέβησαν περίπου 0.2-1 εκατομμύρια χρόνια πριν. [39] Οι κόμβοι των δέντρων αναπαριστούν – γνωστούς ή υποθετικούς- κοινούς προγόνους μεταξύ των οργανισμών. [40]

### ➤ Ομάδα 1:

Αποτελείται από τους HPV 16, HPV 31, HPV 33, HPV 35, HPV 52, HPV 58.

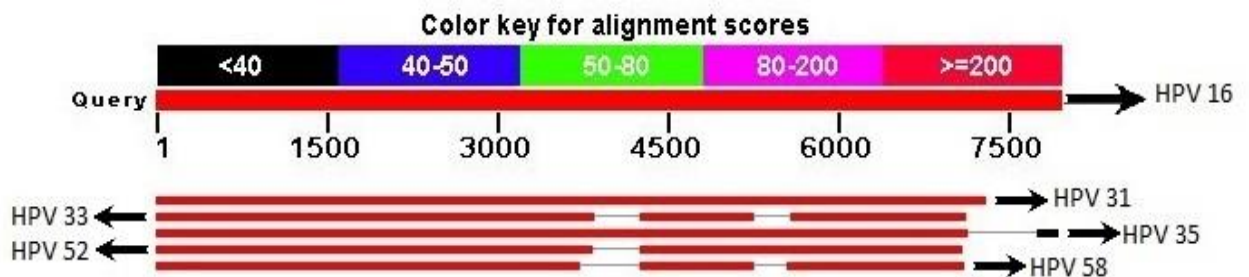
Το BLAST μας παρέχει τη δυνατότητα να ερευνήσουμε τη γενεαλογική σχέση της ομάδας 1 και παρουσιάζεται με τη μορφή δέντρου στην εικόνα 12.



**Εικόνα 12: Γενεαλογική σχέση ομάδας 1**

Από το δέντρο αυτό παίρνουμε την πληροφορία πως οι τύποι 31 και 35 είναι πιο συγγενικοί μεταξύ τους, συνεπώς θα μοιάζουν και περισσότερο. Αυτοί με τη σειρά τους είναι συγγενικοί με τον τύπο 16 καθώς και οι τρεις τύποι αυτοί έχουν κοινό πρόγονο. Ταυτόχρονα, οι τύποι 33 και 58 αποτελούν «αδερφικά» φύλα με κοινό πρόγονο, πρόγονο όλων των υπόλοιπων των τύπων . Είναι προφανής η σχέση όλων των τύπων αυτών μεταξύ τους.

Τα συμπεράσματα αυτά, σχετικά με τους τύπους της ομάδας 1 και τις ομοιότητες μεταξύ αυτών, απορρέουν και από το χρωματικό διάγραμμα των αποτελεσμάτων του BLAST, όταν στοιχίσουμε τους τύπους της ομάδας 1 μεταξύ τους και παρουσιάζεται στην εικόνα 13.



**Εικόνα 13: Χρωματικό διάγραμμα ομάδας 1**

Στο διάγραμμα αυτό, η πρώτη κόκκινη γραμμή αντιπροσωπεύει το γονιδίωμα του ιού HPV 16 και, ουσιαστικά, είναι τα 7849 νουκλεοτίδια από τα οποία αποτελείται. Οι οριζόντιες γραμμές που ακολουθούν αντιπροσωπεύουν τα γονιδιώματα των HPV 31, HPV 33, HPV 35, HPV 52, HPV 58 αντίστοιχα, όπως έχουν σημειωθεί στην εικόνα 13. Η καθεμιά από αυτές τις γραμμές χωρίζεται (ή όχι ) σε κάποια τμήματα και, ανάλογα με το χρώμα το οποίο έχουν τα τμήματα αυτά, στοιχίζονται λίγο ή πολύ με τα νουκλεοτίδια της ακολουθίας ερωτήματος.

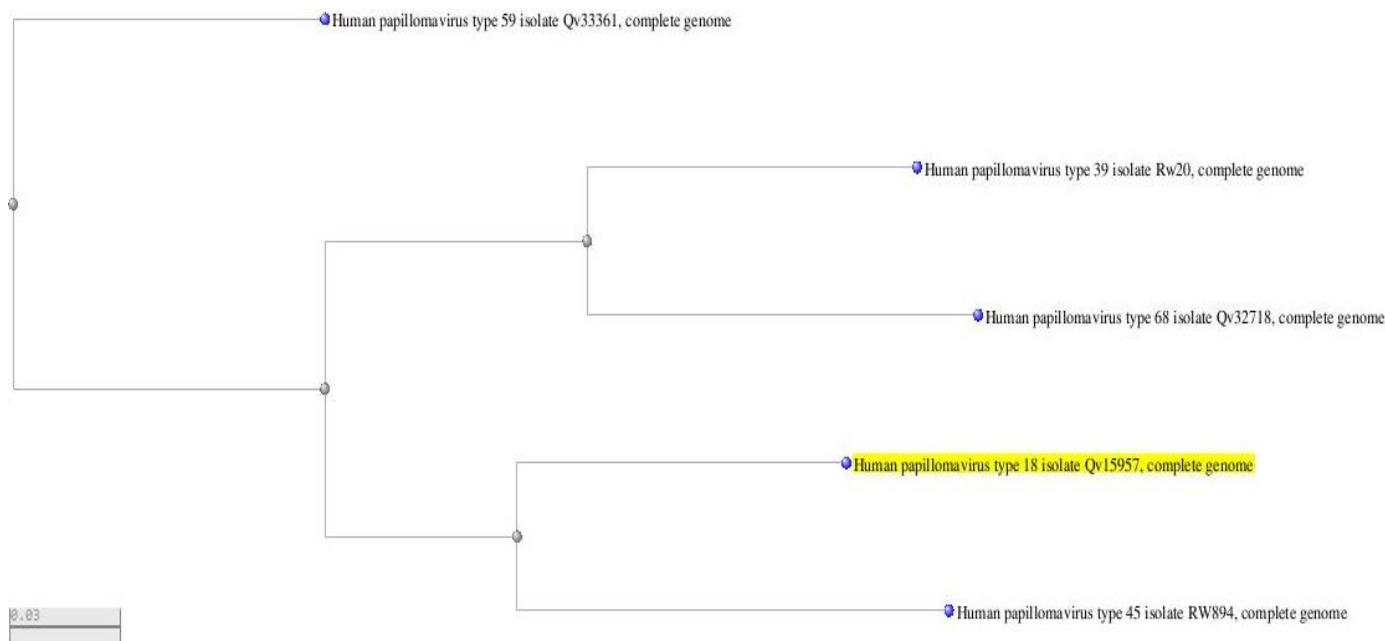
Στην περίπτωση μας, μεγαλύτερη αντιστοιχισή μεταξύ τους έχουν οι τύποι 16, 31 και 35, και είναι σε ένα πολύ μεγάλο βαθμό αντιστοιχισμένοι (query coverage 91%), οι τύποι 33, 52 και 58 είναι αντιστοιχισμένοι στα ίδια ακριβώς τμήματα με τον τύπο 16 (query coverage 79-83%) ενώ, παράλληλα, αντιστοιχίζονται και όλοι μεταξύ τους. Οι «συγγενικότητες» αυτές επιβεβαιώνουν το γενελογικό δέντρο της εικόνας 12.

Αναζητώντας στο διαδίκτυο, τα αποτελέσματα αυτά επαληθεύτηκαν. Η «ομάδα 1», όπως την ονομάσαμε εδώ, έχει επίσημο όνομα και λέγεται «Ομάδα ειδών HPV 16» (Human papillomavirus 16 species group) (alpha-9) του γένους Alphapapillomavirus. Η ομάδα αυτή ευθύνεται για το 75% των κρουσμάτων καρκίνων του τραχήλου παγκοσμίως. Στην παράγραφο 3.3.1 θα παρουσιαστούν κάποια εξελικτικά και ταξινομικά στοιχεία της ομάδας αυτής.

### ➤ Ομάδα 2:

Αποτελείται από τους HPV 18, HPV 39, HPV 45, HPV 59 και HPV 68.

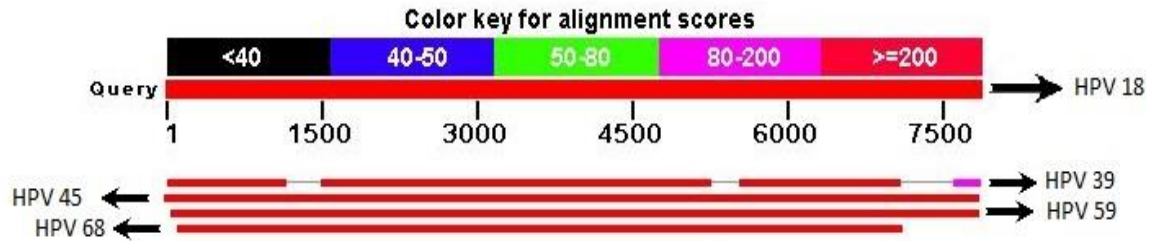
Η γενεαλογική σχέση της ομάδας 2, όπως παρουσιάζεται με τη μορφή δέντρου, δίνεται στην εικόνα 14.



**Εικόνα 14: Γενεαλογική σχέση ομάδας 2**

Από το δέντρο αυτό παίρνουμε την πληροφορία πως οι τύποι HPV 18 με τον HPV 45 είναι πιο συγγενικοί μεταξύ τους, και οι HPV 39 με τον HPV 68 είναι πιο συγγενικοί μεταξύ τους. Οι υποκλάδοι αυτοί έχουν κοινό πρόγονο με τον HPV 59.

Τα συμπεράσματα αυτά μπορούν να επιβεβαιωθούν και από το χρωματικό διάγραμμα των αποτελεσμάτων του BLAST, όταν στοιχίσουμε τους τύπους της ομάδας 2 μεταξύ τους και παρουσιάζεται στην εικόνα 15.



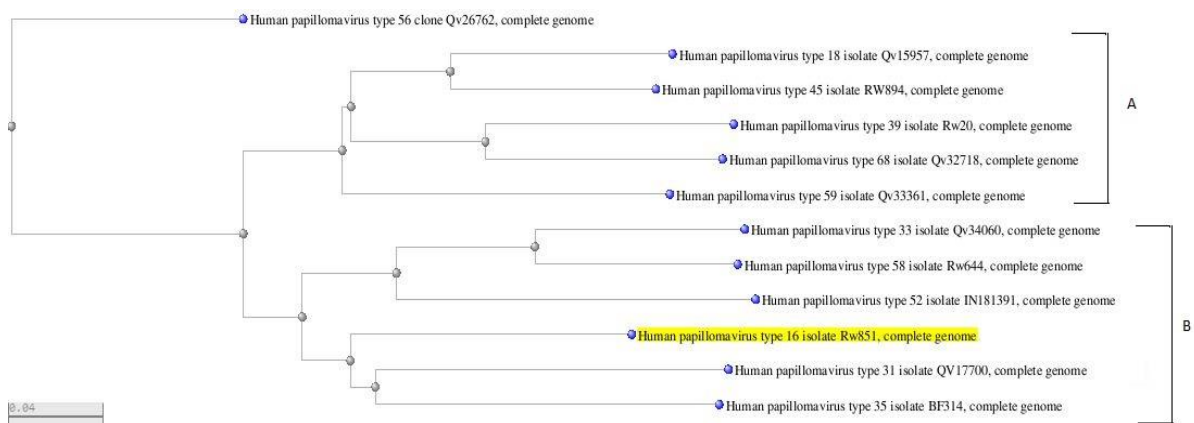
**Εικόνα 15: Χρωματικό διάγραμμα ομάδας 2**

Στο διάγραμμα αυτό, η πρώτη κόκκινη γραμμή αντιπροσωπεύει το γονιδίωμα του ιού HPV 18 και, ουσιαστικά, είναι τα 7081 νουκλεοτίδια από τα οποία αποτελείται. Οι οριζόντιες γραμμές που ακολουθούν αντιπροσωπεύουν τα γονιδιώματα των HPV 39, HPV 45, HPV 59, HPV 68 αντίστοιχα, όπως έχουν σημειωθεί στην εικόνα 15. Το τι αντιπροσωπεύουν οι οριζόντιες αυτές γραμμές εξηγήθηκε προηγουμένως.

Στην περίπτωση αυτή, μεγαλύτερη αντιστοιχισή μεταξύ τους έχουν οι τύποι 18, 45 και 59 και είναι σε ένα πολύ μεγάλο βαθμό αντιστοιχισμένοι (query coverage 99%) ενώ οι τύποι 39 και 68 είναι λίγο λιγότερο είναι αντιστοιχισμένοι με τον τύπο 18 σε ποσοστά 85% και 88% αντίστοιχα (query coverage 85-88%). Αξίζει να σημειωθεί πως αυτά τα ποσοστά στοίχισης δηλώνουν αρκετά μεγάλη ομοιότητα των γονιδιωμάτων τα οποία αντιπροσωπεύουν.

Και σε αυτήν την περίπτωση, τα συμπεράσματά μας επαληθεύτηκαν. Η «ομάδα 2» γνωστή με το όνομα Alphapapillomavirus 7 (alpha-7) και περιέχει γονότυπους του ιού που αντιπροσωπεύουν το 15% των καρκίνων του τραχήλου. Στην παράγραφο 3.3.2 θα παρουσιαστούν κάποια εξελικτικά και ταξινομικά στοιχεία της ομάδας αυτής.

Τέλος, ο διαχωρισμός σε αυτές τις δύο ομάδες φαίνεται και από το φυλογενετικό δέντρο των τύπων υψηλού κινδύνου, που παράγεται από τη στοίχιση των ακολουθιών τους στο BLAST:



**Εικόνα 16 : Φυλογενετικό δέντρο τύπων υψηλού κινδύνου**

Όπως προκύπτει από αυτό, ο κλάδος A περιέχει τους τύπους της ομάδας 2 και ο κλάδος B περιέχει τους τύπους της ομάδας 1. Οι συγγένειες αυτές μαρτυρούν τη στενή σχέση των τύπων που ανήκουν στους ίδιους κλάδους. Ο τύπος 56 είναι ο τύπος με την πιο μακρινή συγγένεια από τους υπόλοιπους. Σημειώνουμε πως οι κλάδοι ονομάστηκαν A και B εκ των υστέρων, για να διευκολύνουν την αναφορά σε αυτούς.

### 3.1.3 ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΟΥ BLAST

Κάνοντας BLAST alignment, για παράδειγμα των τύπων 33 και 58, προκύπτει:

Max score	Total score	Query cover	E value	Ident
8004	8004	99%	0.0	83%

και

Score	Expect	Identities	Gaps
8004 bits(8876)	0.0	6552/7934(83%)	219/7934(2%)

Όπως αναφέραμε και παραπάνω, στην παράγραφο 3.1, ο αλγόριθμος BLAST υπολογίζει βαθμολογίες ομοιότητας για τοπικές ευθυγραμμίσεις (πχ. τις πλέον παρόμοιες περιοχές μεταξύ δύο αλληλουχιών) μεταξύ της αλληλουχίας ερωτήματος (query sequence) και της προκειμένης αλληλουχίας (subject sequence) χρησιμοποιώντας ειδικές μήτρες βαθμολόγησης και επιστρέφει έναν πίνακα των καλύτερων αποτελεσμάτων (hits) από τη βάση δεδομένων.

Στην περίπτωση μας, η αλληλουχία ερωτήματος είναι η ακολουθία γονιδιώματος του τύπου 33 και η προκειμένη αλληλουχία, η ακολουθία γονιδιώματος του τύπου 58. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του αλγορίθμου του BLAST, έχουμε ένα hit, που στατιστικά μεταφράζεται σε πολύ μεγάλη ομοιότητα (query coverage 99%) αλλά το υψηλότερο ποσοστό ομοιότητας σε αυτό το hit είναι 83% (max identity). Το ότι το υψηλότερο ποσοστό ομοιότητας σε αυτό το hit είναι 83% σημαίνει πως από τα 7934 νουκλεοτίδια του ιού, τα 6552 ευθυγραμμίζονται ακριβώς και σχηματικά παρουσιάζονται με μια κάθετη γραμμή μεταξύ των νουκλεοτιδίων. Το ότι υπάρχουν 219 κενά (gaps) σημαίνει πως είτε η ακολουθία ερωτήματος είτε η προκειμένη ακολουθία έχουν συνολικά 219 έξτρα βάσεις και, προκειμένου να έχουμε στοίχιση, προστέθηκαν κενά ώστε να μπορέσουν να γίνουν οι κατάλληλοι υπολογισμοί και σχηματικά παρουσιάζονται με μια οριζόντια γραμμή μεταξύ των νουκλεοτιδίων.

Όλα τα παραπάνω έχουν ως συμπέρασμα, πως οι τύποι 33 και 58 είναι σχεδόν παρόμοιοι και, επομένως, θα επιτελούν και παρόμοιες λειτουργίες.

```

Query  3298  TGGGAAGTACATGTGGGTGGTCAGGTAATTGTTTGTCTACGTCTATATCTAGCAACCAA 3357
      |||
Sbjct  3302  TGGGAGGTACATGTGGGTAGTCGGGTAATTGTATGTCTACATCTATACCTAGTGATCAA 3361

Query  3358  ATATCCACTACTGAAACTGCTGACATACAGACAGACAACGATACC-CGACCACCACAAG- 3415
      |||
Sbjct  3362  ATATCCACTACTGAAACTGCTGACCCAAAGAC---CACCAGGGCCACCAACAGCGAAAGT 3418

Query  3416  ---CAGCGGCCAAA-CGACGACGACCTG-----CAGACACCACAGACACCGCCAGCCC 3465
      |||
Sbjct  3419  ACACAGGGGACAAAGCGACGACGACTCGATTTACCAGACTCCAGAGACAACACCCAGTAC 3478

Query  3466  CTTCCAAAGTTGTTCTGTGCAGACCCCGCCTTGGACAATAGAACAGCACG-----TA 3517
      |||
Sbjct  3479  TCCACAAAG-----TATACAGACTGCGCCGTGGACAGTAGACCACGAGGAGGAGGACTA 3532

```

## 3.2 ΟΙ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΙ ΤΥΠΟΙ ΤΟΥ HPV

Στο σημείο αυτό, είναι σημαντικό να επισημάνουμε πως, ενώ η ονοματολογία του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων έχει οριστεί από τη Διεθνή Επιτροπή Ταξινόμησης των ιών (International Committee on Taxonomy of Viruses) (ICTV), με βάση τις συστάσεις από την Ομάδα Μελέτης των Θηλωμάτων, και ενώ η ICTV χρησιμοποιεί αυστηρούς ορισμούς για γένη και είδη, δεν ορίζει πρότυπα κάτω από το επίπεδο του είδους. Ωστόσο, οι ερευνητές των θηλωμάτων έχουν εξελίξει μια «κοινότητα» ονοματολογίας που έχει γίνει ευρέως αποδεκτή και εξαιρετικά χρήσιμη σε επιδημιολογικές μελέτες. Έτσι, ένας ξεχωριστός «τύπος» θηλωμάτων δημιουργείται όταν η νουκλεοτιδική ακολουθία του γονιδίου L1 ενός κλωνοποιημένου ιού διαφέρει από εκείνη οποιουδήποτε άλλου τύπου τουλάχιστον 10%. Μέχρι το 2011, η ICTV δεν είχε αναγνωρίσει την ορολογία «τύπος», ούτε την ονομασία του ομίλου ειδών με αριθμό (πχ alpha-9) . [38]

Στην παράγραφο αυτή, θα μελετηθούν οι διαφορετικοί τύποι του ιού ξεχωριστά. Με τη βοήθεια των εργαλείων που παρέχονται από το National Center for Biotechnology Information (NCBI) των National Institutes Of Health (NIH) μέσα από τη διαδικτυακή σελίδα του, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> , μπορέσαμε να εξαγάγουμε έναν αριθμό συμπερασμάτων για καθένα τύπο ξεχωριστά και παρατίθενται στις γραμμές που ακολουθούν.

Χρησιμοποιώντας το BLAST, συγκρίναμε το γονιδίωμα των ιών αυτών με τη βάση δεδομένων του NCBI. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν είναι, ουσιαστικά, γονιδιώματα με τα οποία παρουσιάζουν ομοιότητες οι εκάστοτε αλληλουχίες ερωτήματος. Σημειώνουμε πως δόθηκε έμφαση στα αποτελέσματα με μηδενικό ή ελάχιστο e-value, τόσο μικρό ώστε τα αποτελέσματα να μην αποτελούν hits τυχαιότητας.

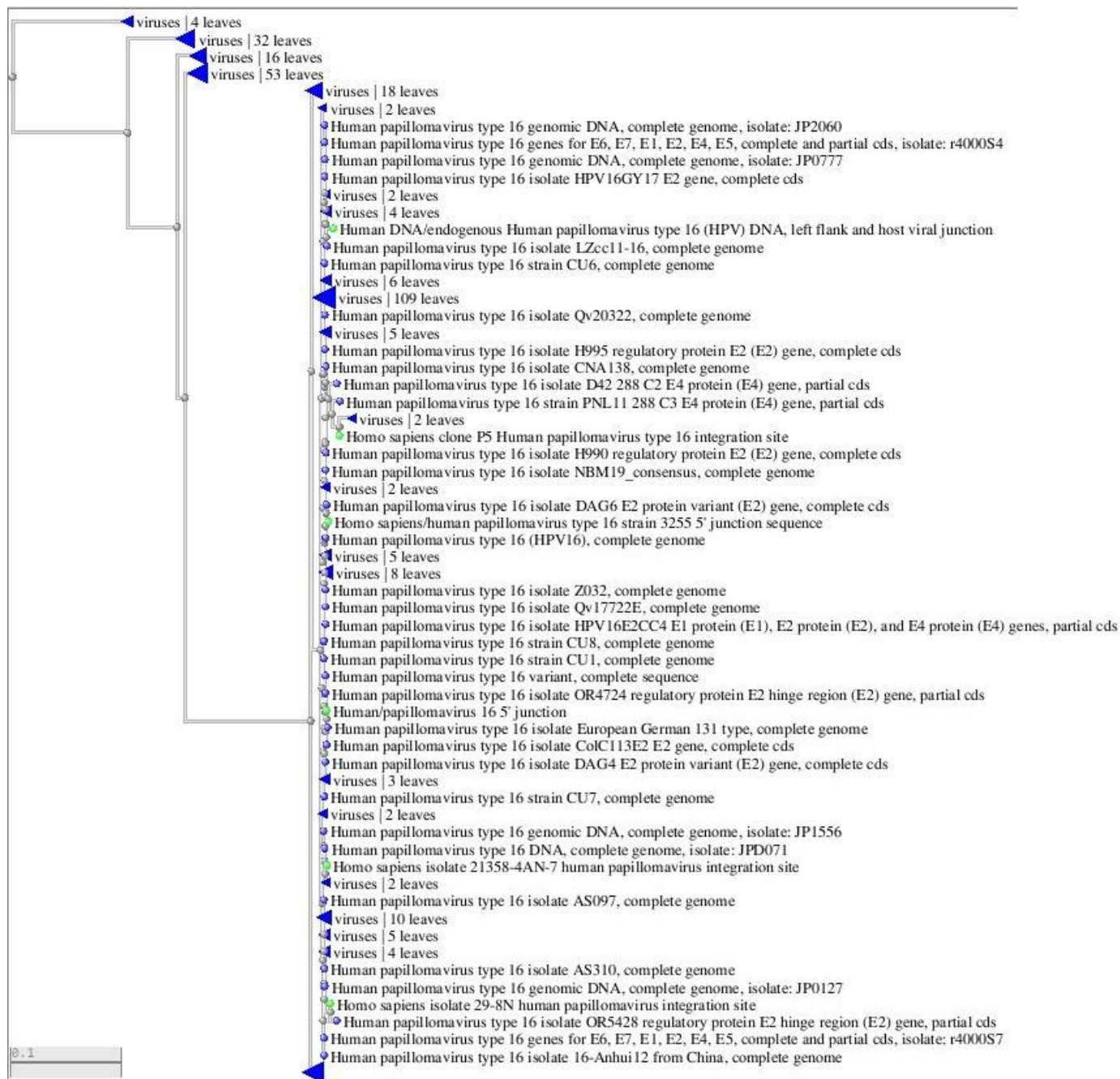
Επιπλέον, εκμεταλλευτήκαμε τη δυνατότητα υπολογισμού του γενεαλογικού δέντρου κάθε ακολουθίας, με σκοπό μια διαισθητική εικόνα καταγωγής του κάθε τύπου.

### 3.2.1 Ο HPV 16

Για τον ιό HPV 16, τα αποτελέσματα που καταγράφηκαν είναι:

- ⇒ Alphapapillomavirus 9
- ⇒ Human papillomavirus types:  
16, 35, 31, 52, 67, 58, 33, 54, 97, 59,73, 45, 26, 56, 66, 51, 34, 69, 42, 68, 13, 42, 11, 53, 6, 39, 18, 70, 74, 40, 7, 40, 55, 91, 44,82,71
- ⇒ Macaca fascicularis papillomavirus types:  
5, 9, 10, 7, 3, 6, 4, 8, 11
- ⇒ Pygmy Chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Rhesus papillomavirus type 1
- ⇒ Common chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Saimiri sciureus papillomavirus types:  
1, 2, 3
- ⇒ Papio hamadryas papillomavirus type 1
- ⇒ Homo sapiens

Το γενεαλογικό του δέντρο είναι:



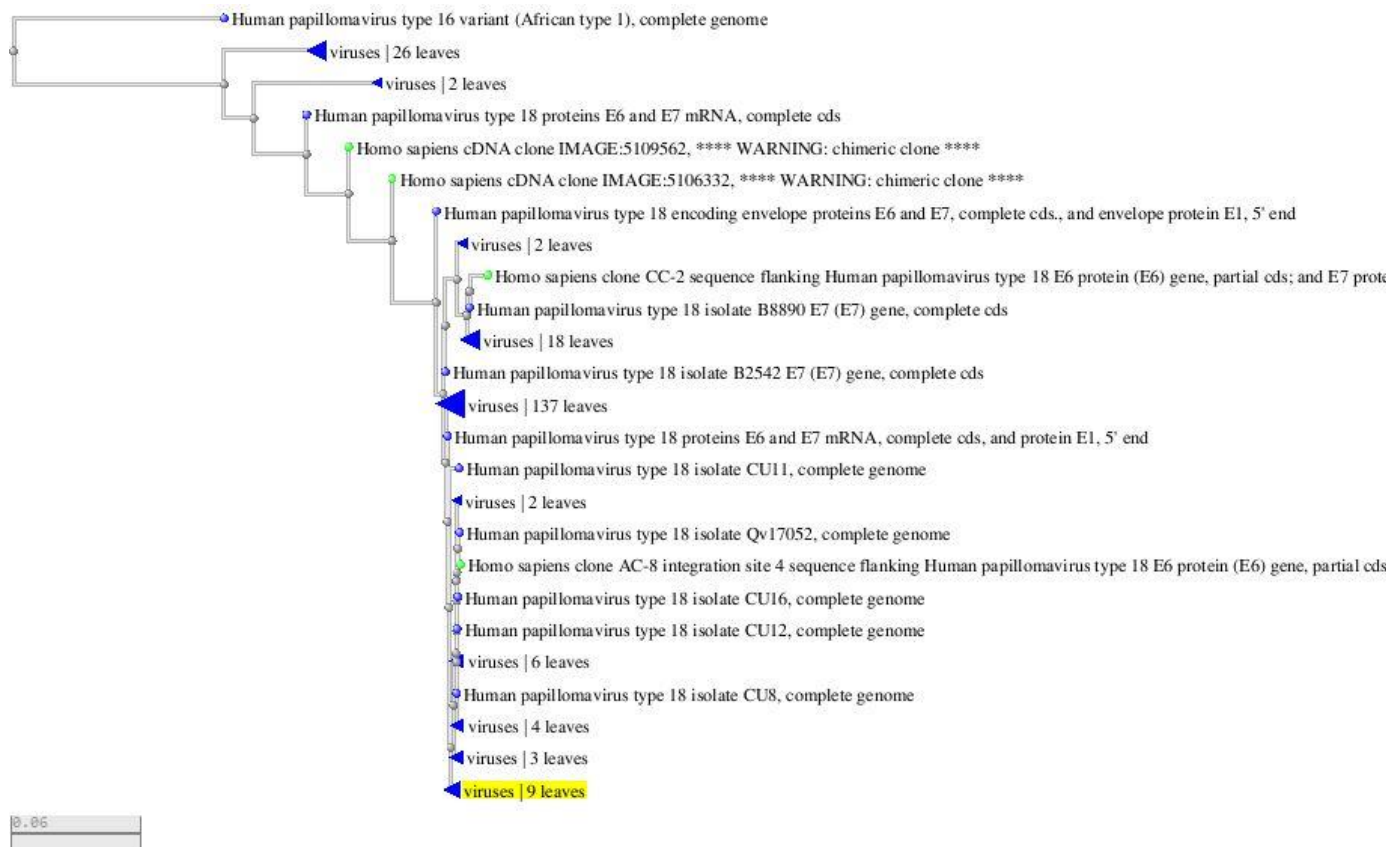
**Εικόνα 17: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 16**

### 3.2.2 Ο HPV 18

Αποτελέσματα BLAST:

- ⇒ Alphapapillomavirus 7
- ⇒ Human papillomavirus types:  
10, 16, **18**, 26, 30, 31, 32, 33, 35, 39, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 61, 62, 66,  
67, 68, 69, 70, 73, 77, 78, 81, 82, 84, 86, 87, 89, 97, 102, 114
- ⇒ Macaca fascicularis papillomavirus types:  
3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11
- ⇒ Pygmy Chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Rhesus papillomavirus type 1
- ⇒ Common chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Saimiri sciureus papillomavirus types:  
1, 2, 3
- ⇒ Papio hamadryas papillomavirus type 1
- ⇒ Homo sapiens

Το γενεαλογικό του δέντρο είναι:



Εικόνα 18: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 18

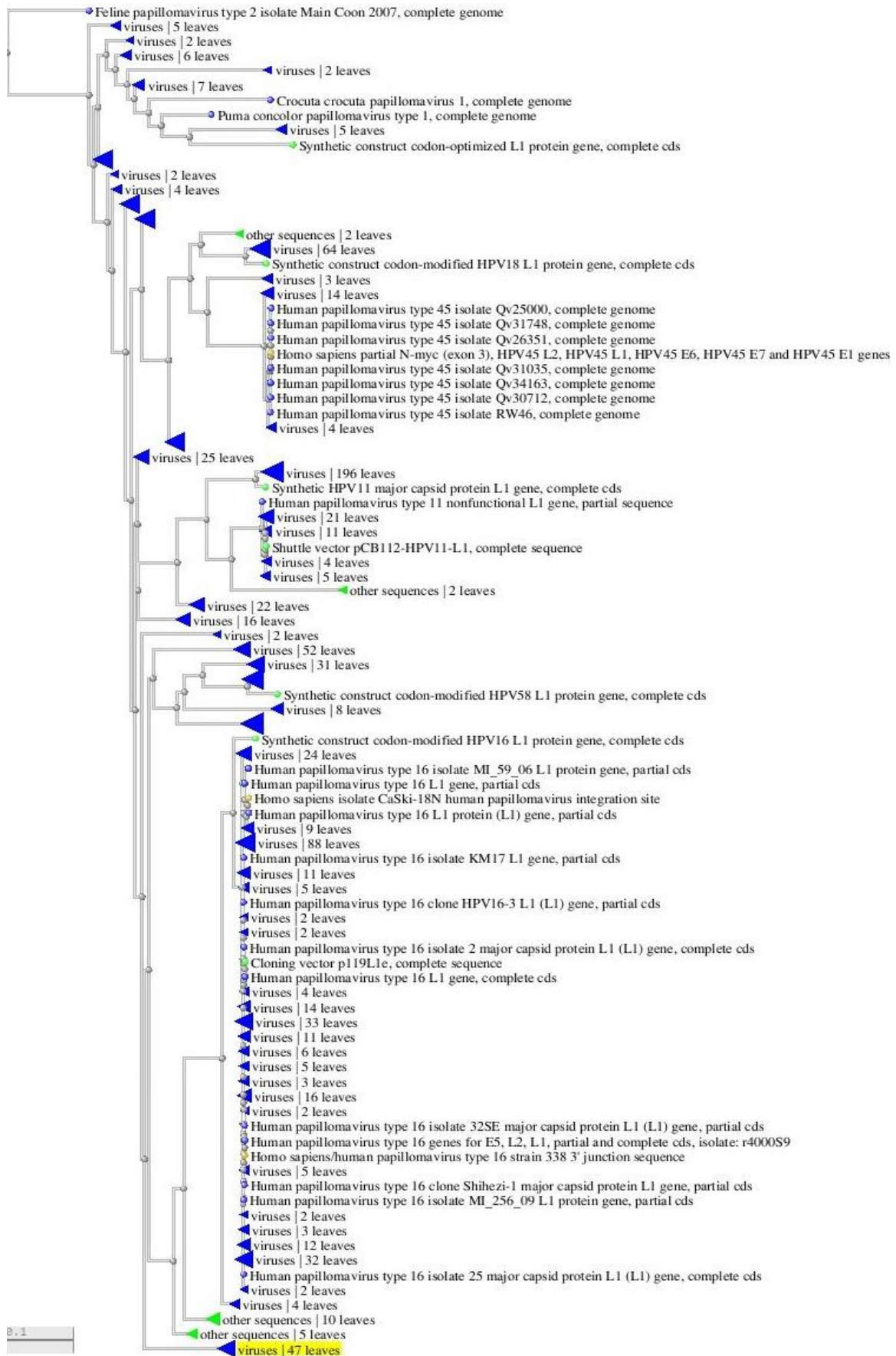


### 3.2.3 Ο HPV 31

Αποτελέσματα BLAST:

- ⇒ Alphapapillomavirus 9
- ⇒ Human papillomavirus types:  
3, 6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 26, 29, **31**, 32, 33, 34, 35, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 73, 74, 82, 84, 91, 97, 106, 117
- ⇒ Macaca fascicularis papillomavirus types:  
3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10,
- ⇒ Pygmy Chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Rhesus papillomavirus type 1
- ⇒ Common chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Papio hamadryas papillomavirus type 1
- ⇒ Saimiri sciureus papillomavirus types:  
1, 2, 3
- ⇒ Homo sapiens

Το γενεαλογικό του δέντρο είναι:



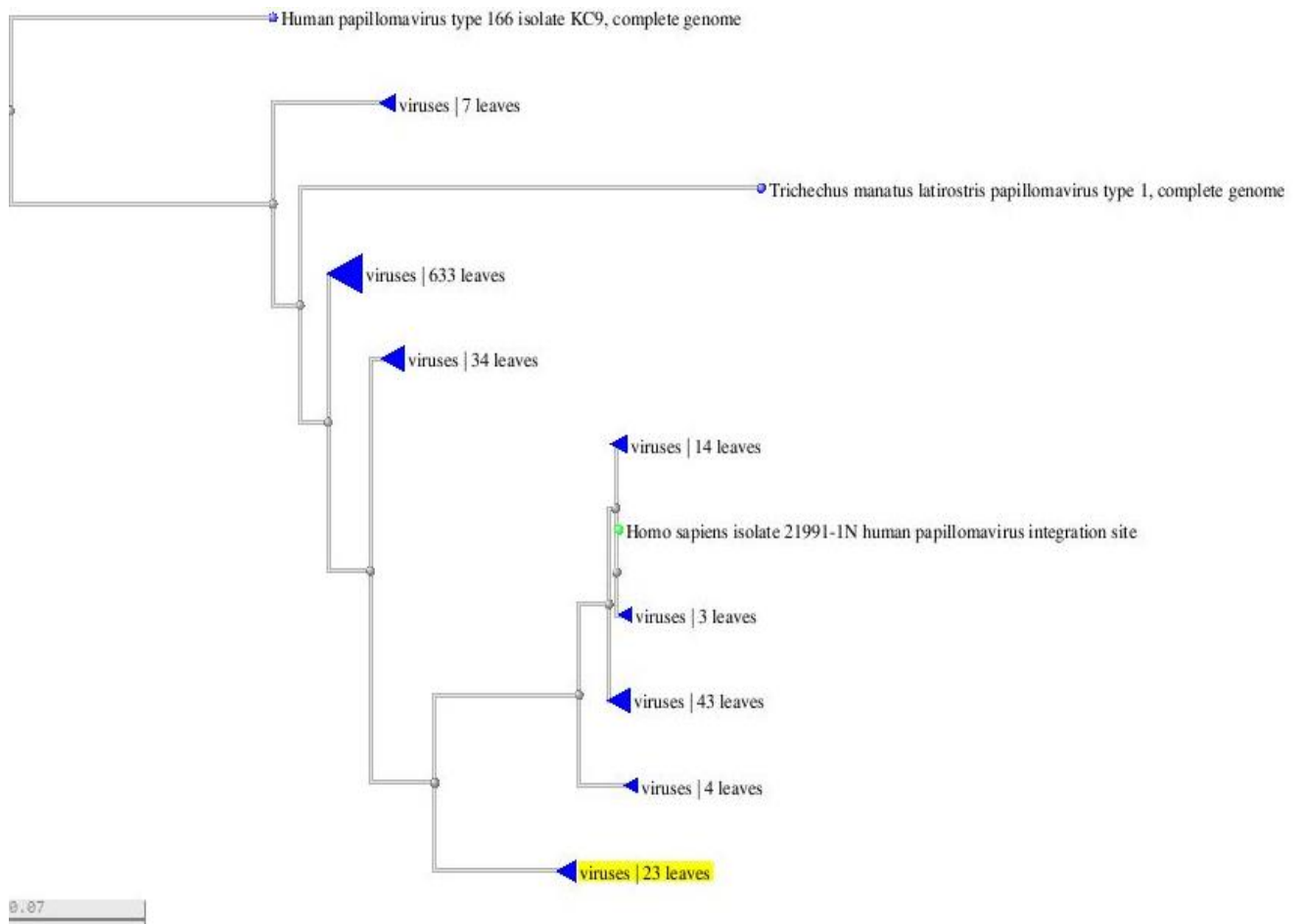
Εικόνα 19: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 31

### 3.2.4 Ο HPV 33

Αποτελέσματα BLAST:

- ⇒ Alphapapillomavirus 9
- ⇒ Human papillomavirus types:  
6, 7, 11, 13, 16, 18, 26, 30, 31, 32, **33**, 34, 35, 39, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 54, 55, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 73, 74, 84, 85, 90, 91, 97, 106
- ⇒ Macaca fascicularis papillomavirus types:  
3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 11
- ⇒ Pygmy Chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Rhesus papillomavirus type 1
- ⇒ Common chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Papio hamadryas papillomavirus type 1
- ⇒ Saimiri sciureus papillomavirus types:  
1, 2, 3
- ⇒ Homo sapiens

Το γενεαλογικό του δέντρο είναι:



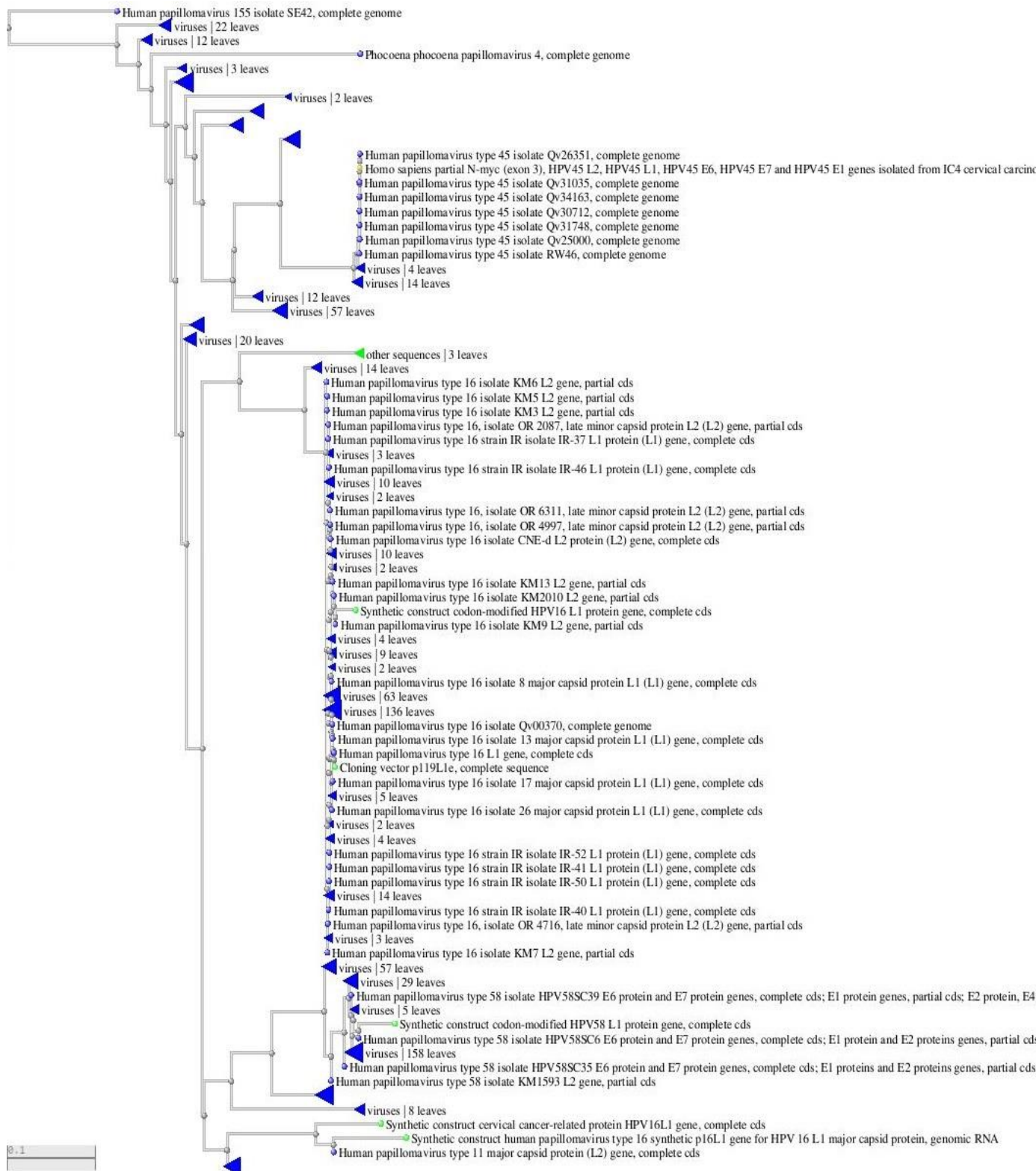
Εικόνα 20: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 33

### 3.2.5 O HPV 35

Αποτελέσματα BLAST:

- ⇒ Alphapapillomavirus 9
- ⇒ Human papillomavirus types:  
6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 26, 30, 31, 32, 33, 34, **35**, 39, 40, 42, 43, 44, 45, 51, 52, 53,  
54, 55, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 70, 71, 73, 74, 77, 78, 82, 85, 91, 94, 97,
- ⇒ Macaca fascicularis papillomavirus types:  
3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10
- ⇒ Pygmy Chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Rhesus papillomavirus type 1
- ⇒ Common chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Papio hamadryas papillomavirus type 1
- ⇒ Saimiri sciureus papillomavirus types:  
1, 2, 3
- ⇒ Homo sapiens

Το γενεαλογικό του δέντρο είναι:



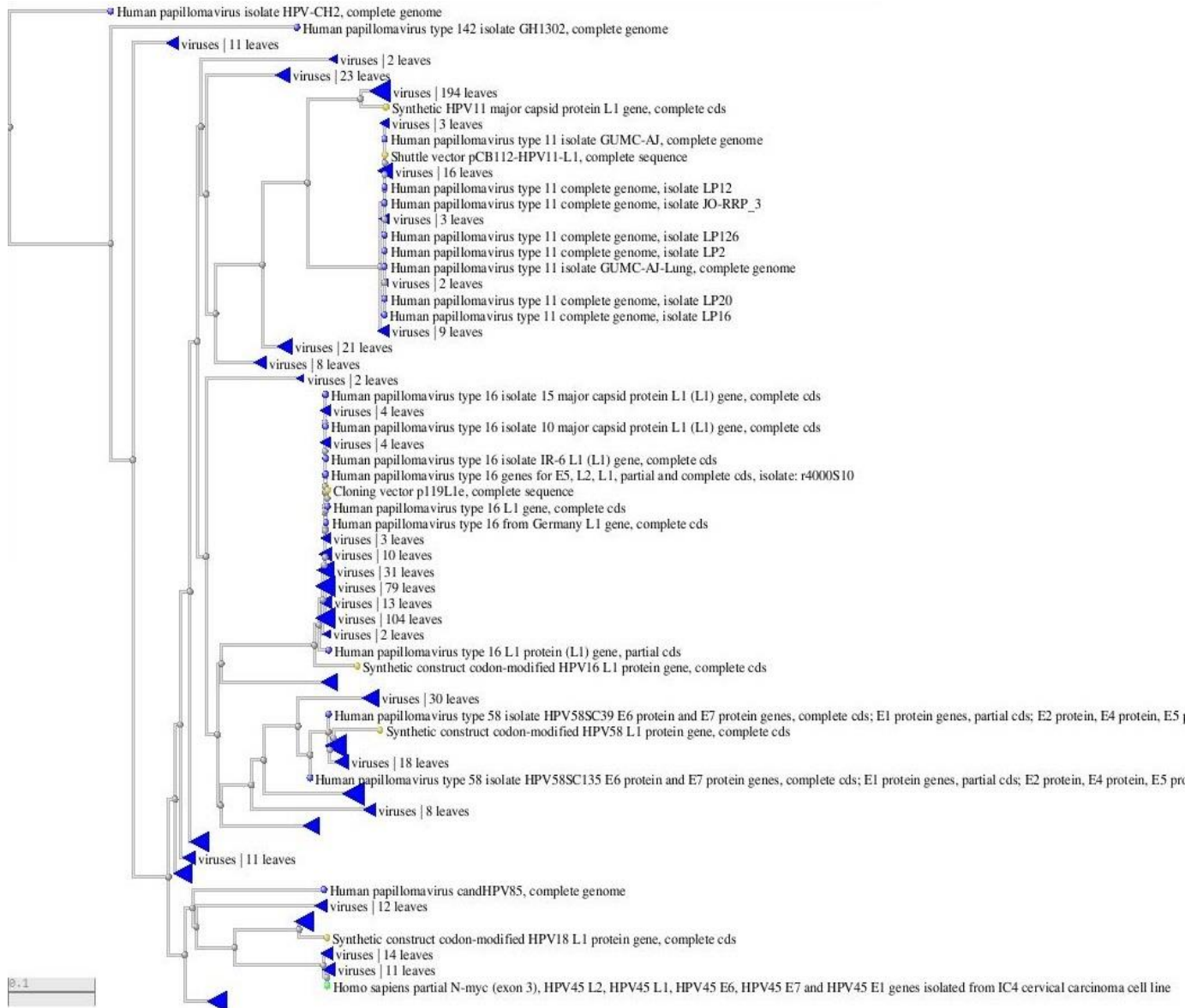
Εικόνα 21: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 35

### 3.2.6 Ο HPV 39

Αποτελέσματα BLAST:

- ⇒ Alphapapillomavirus 7
- ⇒ Human papillomavirus types:  
2, 3, 6, 16, 18, 26, 30, 31, 32, 33, 34, 35, **39**, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 61, 62, 66, 67, 68, 70, 72, 73, 74, 78, 81, 82, 84, 85, 86, 87, 94, 97, 102, 114, 117
- ⇒ Macaca fascicularis papillomavirus types  
3, 4, 5, 6, 7, 9, 10
- ⇒ Pygmy Chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Rhesus papillomavirus type 1
- ⇒ Common chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Papio hamadryas papillomavirus type 1
- ⇒ Saimiri sciureus papillomavirus types  
1, 2, 3
- ⇒ Homo sapiens

Το γενεαλογικό του δέντρο είναι:



**Εικόνα 22: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 39**

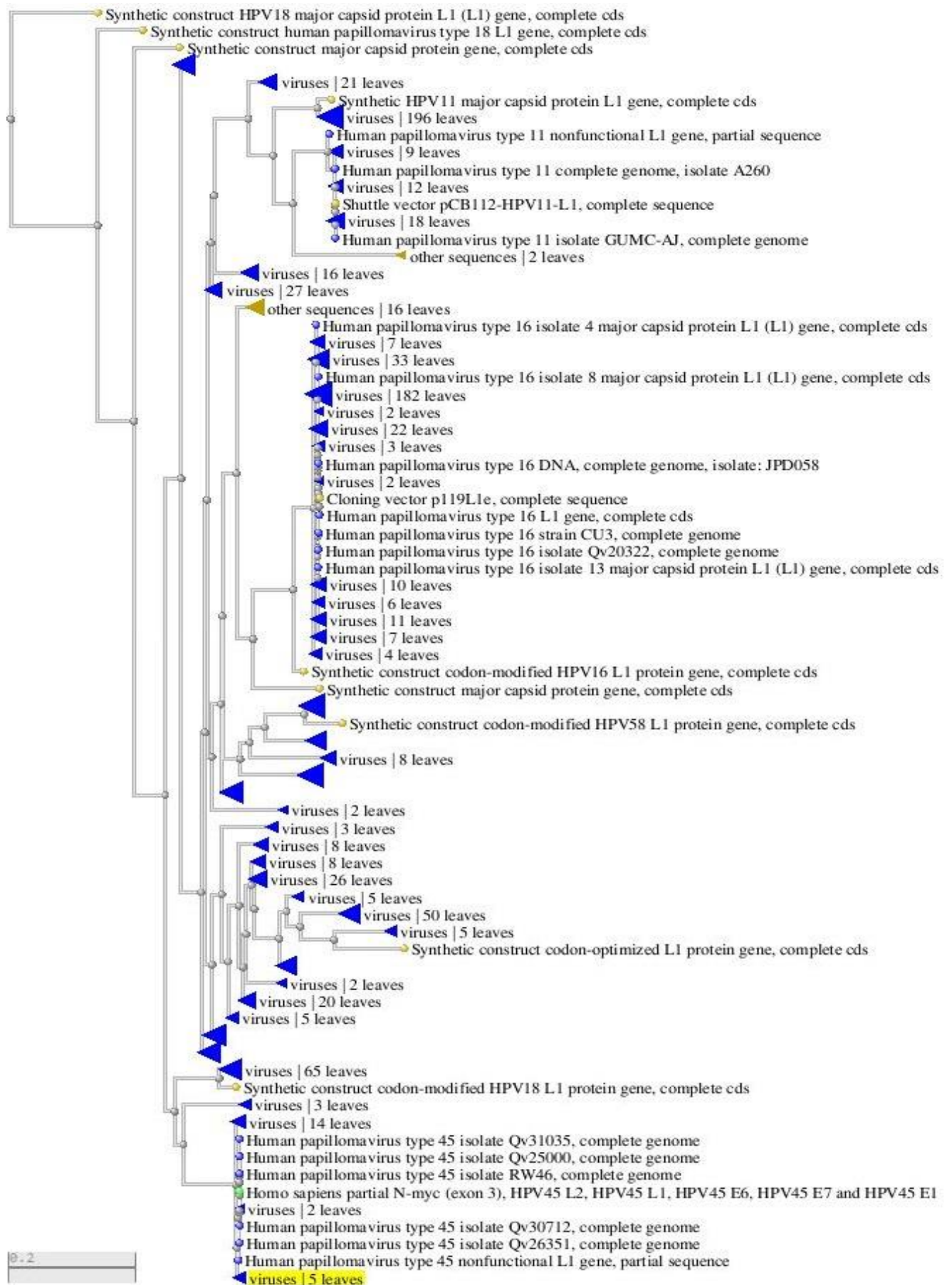
### 3.2.7 Ο HPV 45

Αποτελέσματα BLAST:

- ⇒ Alphapapillomavirus 7
- ⇒ Human papillomavirus types:  
6, 10, 13, 16, 18, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 42, **45**, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 61, 62, 66, 67, 68, 69, 70, 72, 73, 74, 77, 78, 81, 82, 84, 85, 86, 94, 97, 114, 117, 125
- ⇒ Macaca fascicularis papillomavirus types  
3, 4, 5, 7, 8, 10,
- ⇒ Pygmy Chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Rhesus papillomavirus type 1
- ⇒ Common chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Papio hamadryas papillomavirus type 1
- ⇒ Saimiri sciureus papillomavirus types  
1, 2, 3
- ⇒ Homo sapiens

Το γενεαλογικό του δέντρο είναι:





Εικόνα 23: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 45

### 3.2.8 O HPV 51(MAJOR CAPSID PROTEIN L1)

Αποτελέσματα BLAST:

- ⇒ Human papillomavirus types:  
18, 26, 31, 33, 44, 45, **51**, 53, 55, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 70, 77, 82, 97
- ⇒ Macaca fascicularis papillomavirus types  
3, 10

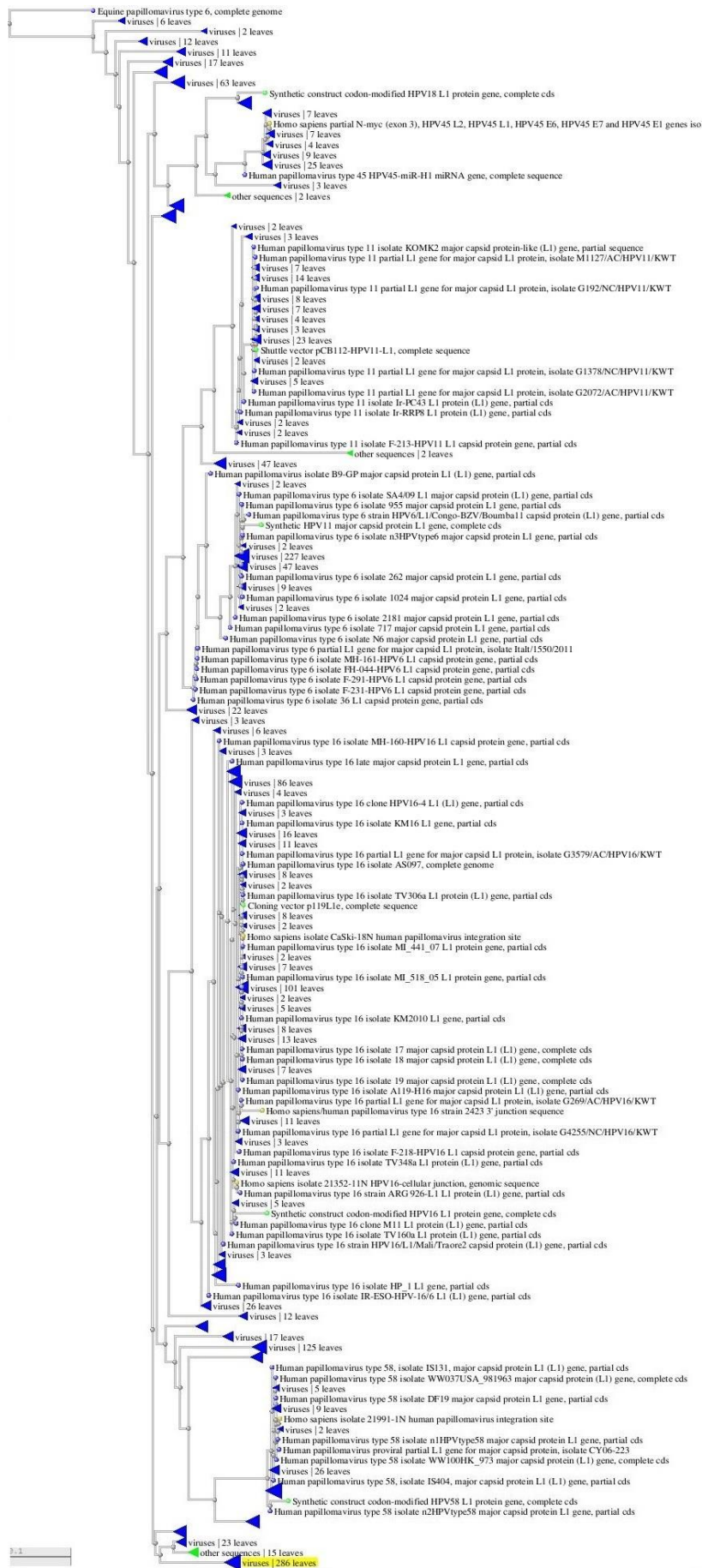
Το γενεαλογικό δέντρο της L1 περιοχής, επειδή πρόκειται για περιορισμένο αριθμό νουκλεοτιδίων, είναι πολύ γενικευμένο και, συνεπώς, δεν προκύπτουν αξιοσημείωτα συμπεράσματα που αφορούν τη συγκεκριμένη μελέτη. Γι' αυτό το λόγο, καθώς είναι αρκετά εκτεταμένο, θα παραληφθεί.

### 3.2.9 O HPV 52

Αποτελέσματα BLAST:

- ⇒ Alphapapillomavirus 9
- ⇒ Human papillomavirus types:  
2, 6, 7, 11, 13, 16, 18, 26, 29, 30, 31, 33, 34, 35, 39, 40, 42, 43, 45, 51, **52**, 53, 54, 55, 56, 58, 59, 61, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 73, 74, 81, 84, 85, 91, 97
- ⇒ Macaca fascicularis papillomavirus types:  
3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11
- ⇒ Pygmy Chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Rhesus papillomavirus type 1
- ⇒ Common chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Papio hamadryas papillomavirus type 1
- ⇒ Saimiri sciureus papillomavirus types:  
1, 2, 3
- ⇒ Homo sapiens

Το γενεαλογικό του δέντρο είναι:



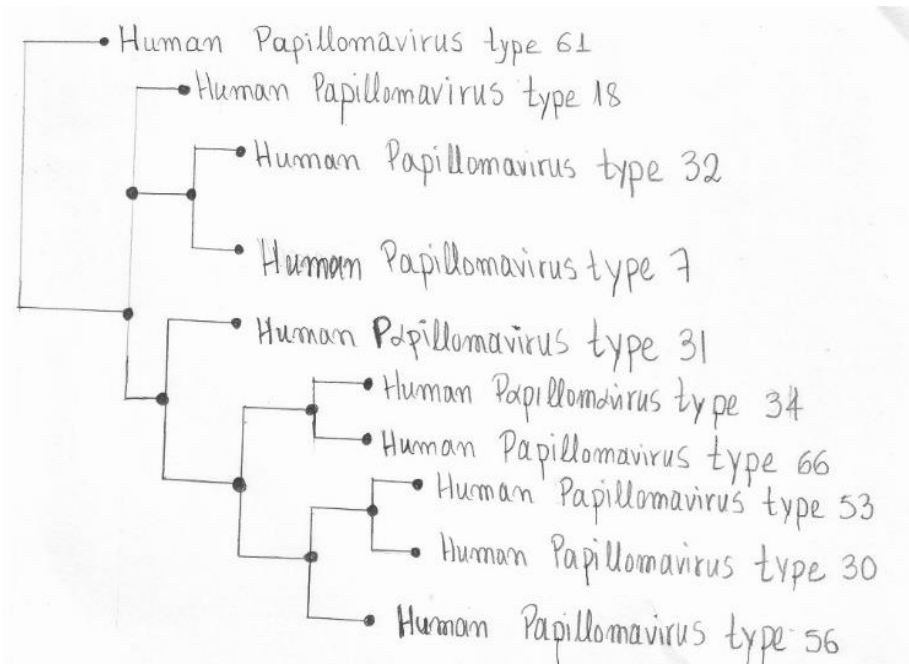
Εικόνα 24 : Γενεαλογικό δέντρο του HPV 52

### 3.2.10 Ο HPV 56

Αποτελέσματα BLAST:

- ⇒ Alphapapillomavirus 6
- ⇒ Human papillomavirus types:  
3, 10, 13, 16, 18, 26, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 42, 44, 45, 51, 52, 53, 54, **56**,  
59, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 73, 78, 82, 87, 94, 97, 117, 125
- ⇒ Macaca fascicularis papillomavirus types:  
4, 5, 8, 9,
- ⇒ Pygmy Chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Rhesus papillomavirus type 1
- ⇒ Common chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Papio hamadryas papillomavirus type 1
- ⇒ Saimiri sciureus papillomavirus types:  
1, 2, 3
- ⇒ Homo sapiens

Το γενεαλογικό του δέντρο σχεδιάστηκε με το χέρι, καθώς αυτό που υπολογίστηκε με τη βοήθεια του BLAST ήταν εκτεταμένο και περίπλοκα σχεδιασμένο, με συνέπεια να μην βοηθάει στην εξαγωγή συμπερασμάτων. Για το λόγο αυτό, οι αποστάσεις σε αυτό το δέντρο δεν έχουν κανένα συμβολισμό.



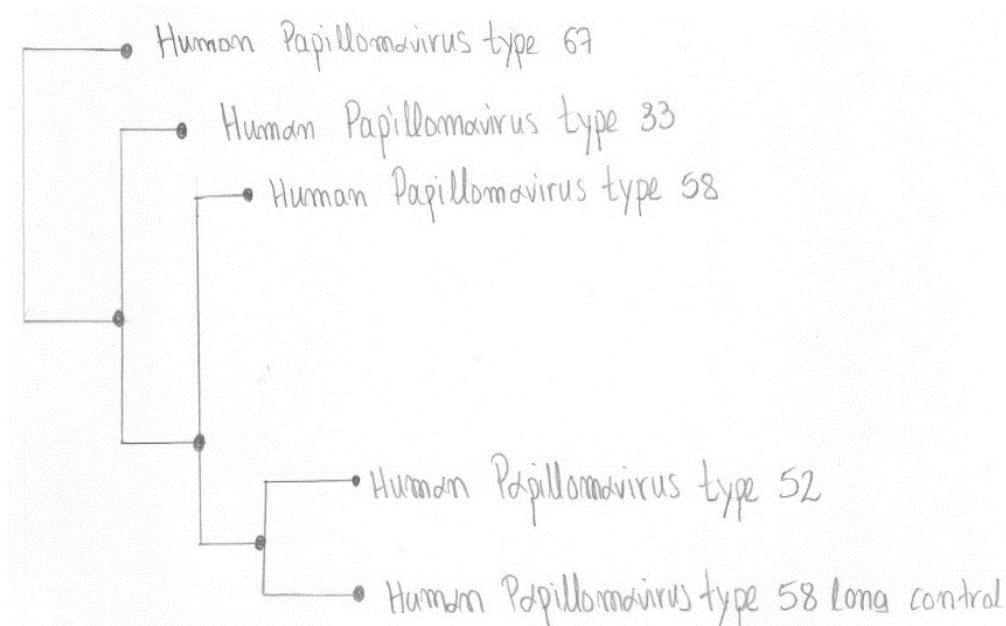
Εικόνα 25: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 56

### 3.2.11 Ο HPV 58

Αποτελέσματα BLAST:

- ⇒ Alphapapillomavirus 9
- ⇒ Human papillomavirus types:  
6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 26, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 42, 43, 44, 45, 52, 54, 55, 56, **58**, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 73, 74, 82, 85, 90, 91, 97, 106, 114
- ⇒ Macaca fascicularis papillomavirus types:  
3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11
- ⇒ Pygmy Chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Rhesus papillomavirus type 1
- ⇒ Common chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Papio hamadryas papillomavirus type 3
- ⇒ Saimiri sciureus papillomavirus types:  
1, 2, 3
- ⇒ Homo sapiens

Ομοίως, και το γενεαλογικό του δέντρο του ιού HPV 58 σχεδιάστηκε με το χέρι, καθώς αυτό που υπολογίστηκε με τη βοήθεια του BLAST ήταν εκτεταμένο και περίπλοκα σχεδιασμένο, με συνέπεια να μην βοηθάει στην εξαγωγή συμπερασμάτων. Για το λόγο αυτό, οι αποστάσεις και σε αυτό το δέντρο δεν έχουν κανένα συμβολισμό.



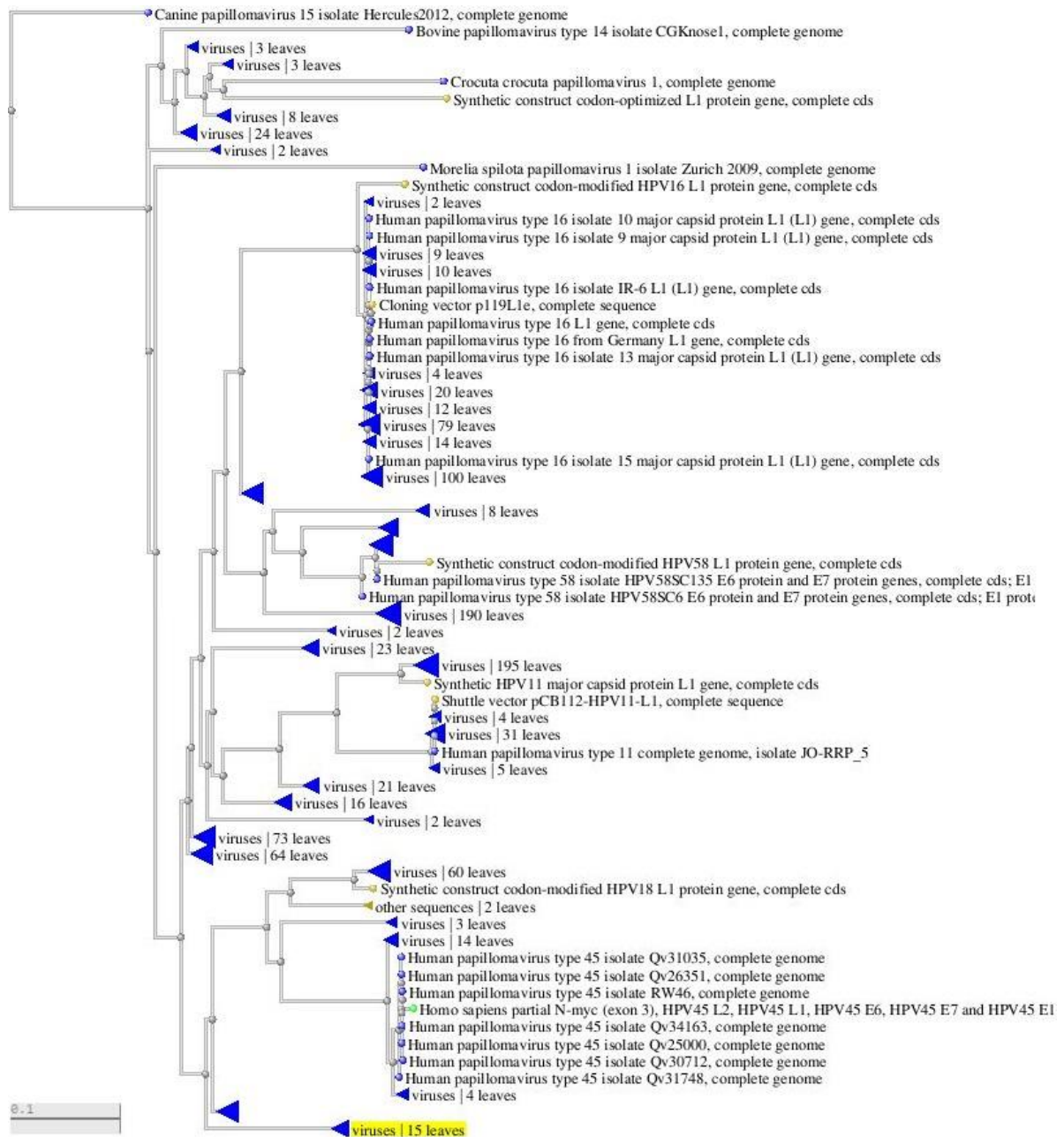
Εικόνα 26: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 58

### 3.2.12 O HPV 59

Αποτελέσματα BLAST:

- ⇒ Alphapapillomavirus 7
- ⇒ Human papillomavirus types:  
10, 16, 18, 26, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, **59**, 61, 62,  
66, 67, 68, 69, 70, 72, 73, 78, 82, 84, 86, 89, 97, 117
- ⇒ Macaca fascicularis papillomavirus types:  
4, 5, 7, 8, 9, 10
- ⇒ Pygmy Chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Rhesus papillomavirus type 1
- ⇒ Common chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Papio hamadryas papillomavirus type 1
- ⇒ Saimiri sciureus papillomavirus types:  
1, 2, 3
- ⇒ Homo sapiens

Το γενεαλογικό του δέντρο είναι:



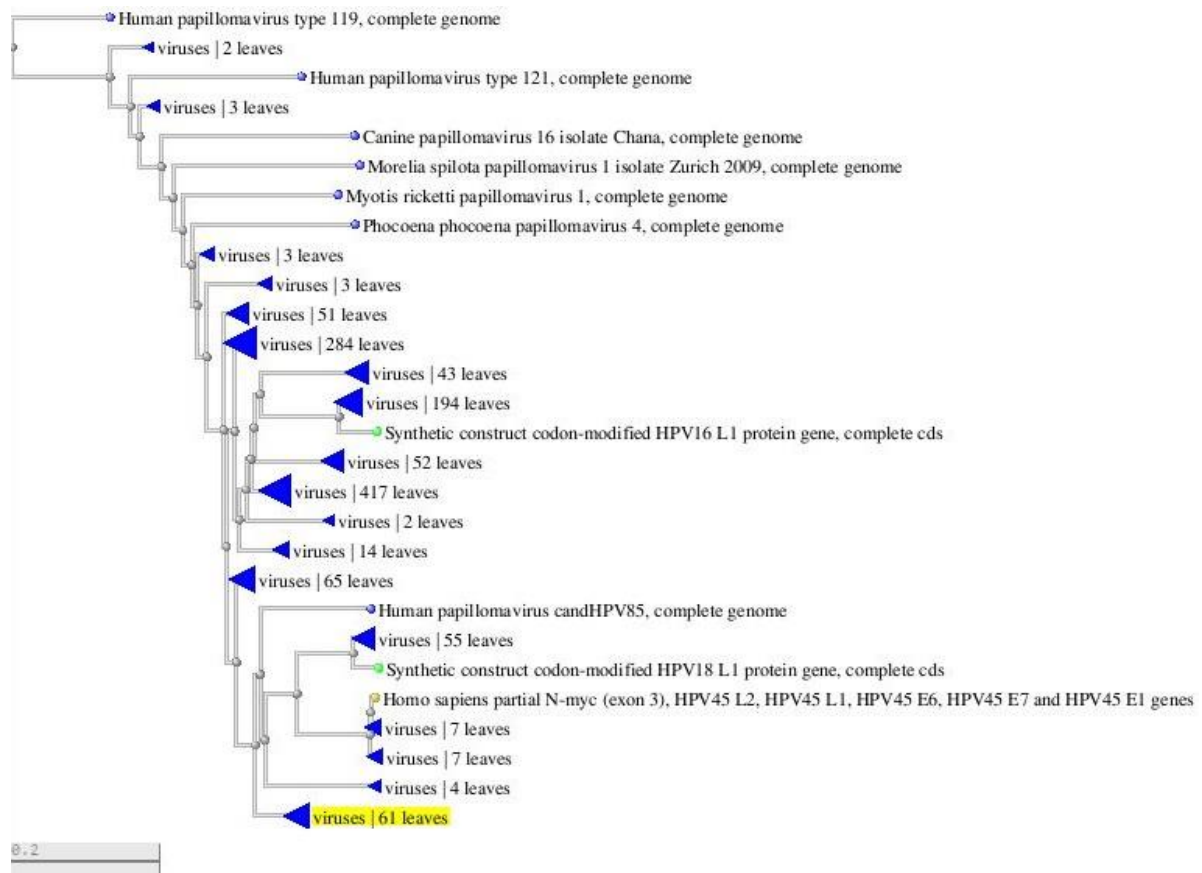
Εικόνα 27: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 59

### 3.2.13 Ο HPV 68

Αποτελέσματα BLAST:

- ⇒ Alphapapillomavirus 7
- ⇒ Human papillomavirus types:  
3, 7, 9, 10, 16, 18, 26, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 40, 42, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 61, 62, 66, 67, **68**, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 77, 78, 81, 82, 83, 84, 86, 87, 89, 90, 94, 97, 102, 106, 114, 117, 125
- ⇒ Macaca fascicularis papillomavirus types:  
3, 4, 5, 6, 7, 8, 10
- ⇒ Pygmy Chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Rhesus papillomavirus type 1
- ⇒ Common chimpanzee papillomavirus type 1
- ⇒ Papio hamadryas papillomavirus type 1
- ⇒ Saimiri sciureus papillomavirus types:  
1, 2, 3
- ⇒ Homo sapiens

Το γενεαλογικό του δέντρο είναι:



Εικόνα 28: Γενεαλογικό δέντρο του HPV 68



### 3.2.14 ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Από την παραπάνω μελέτη που κάναμε, με τη βοήθεια του BLAST, βγάλαμε μια σειρά συμπερασμάτων. Αναλυτικότερα, όλοι οι διαφορετικοί τύποι του ιού έχουν ως πρόγονο έναν Alpharapillomavirus. Σε συμφωνία με τις ομάδες που προέκυψαν από την παράγραφο 3.1.2, οι HPV τύποι 16, 31, 33, 35, 52, 58 (alpha-9 group) έχουν κοινό πρόγονο τον Alpharapillomavirus 9 και οι HPV τύποι 18, 39, 45, 59, 68 (alpha-7 group) έχουν κοινό πρόγονο τον Alpharapillomavirus 7. Ο τύπος HPV 56, που δεν ανήκει σε κάποιες από αυτές τις ομάδες, βρέθηκε να έχει πρόγονο τον Alpharapillomavirus 6.

Όσον αφορά στους Human Papillomaviruses, όλοι οι τύποι παρουσιάζουν ομοιότητες με αρκετούς άλλους τύπους, κάτι που ήταν αναμενόμενο αφού, εξ'ορισμού, πρόκειται για τον ίδιο ιό με διαφορά στην ακολουθία του γονιδίου L1 τουλάχιστον 10%.

Όσον αφορά στη συντήρηση με άλλα είδη, παρατηρήθηκε πως όλοι οι διαφορετικοί τύποι παρουσιάζουν ομοιότητες με τους ίδιους τύπους Papillomavirus στα ίδια άλλα είδη. Συγκεκριμένα, συντήρηση γονιδίων υπάρχει στους *Macaca fascicularis*, *Pygmy Chimpanzee*, *Rhesus*, *Common chimpanzee*, *Papio hamadryas* και *Saimiri sciureus*. Τα είδη αυτά πρόκεινται για διαφορετικά είδη μαϊμούδων και χιμπατζήδων.

Τέλος, συντήρηση γονιδίων υπήρξε και στον *Homo Sapiens*.

### 3.3 ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΑ ΚΑΙ ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Στην παράγραφο αυτή θα παρουσιαστούν κάποια εξελικτικά και ταξινομικά στοιχεία δύο πολύ σπουδαίων ομάδων ειδών του HPV, της HPV16 (alpha-9) και της HPV18 (alpha-7). Οι δύο αυτές ομάδες ειδών οφείλονται για το 75% και το 15% των κρουσμάτων του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, αντίστοιχα.

Δεδομένου ότι οι ομάδες αυτές παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στον καρκίνο και οι διαφορετικές καταγωγές έχουν διαφορετικές παθολογικές δυνατότητες, μια ολοκληρωμένη εξελικτική μελέτη και ένα σύστημα ταξινόμησης είναι απαραίτητα. Για παράδειγμα, η άνω ρυθμιστική περιοχή (URR) έχει συχνά χρησιμοποιηθεί για να περιγράψει ενδοτυπική ποικιλομορφία και παραλλαγές καταγωγής. Ωστόσο, θα ήταν χρήσιμο να συσχετίζει αλλαγές που αφορούν ολόκληρο το γονιδίωμα με ειδικές παραλλαγές ακολουθίας.

Μερικές και πλήρεις ικές αλληλουχίες των HPV16 και HPV18 αποτελούν εξελικτικά δέντρα με διακλαδώσεις που οδηγούνται από παραλλαγές σε ομάδες από διαφορετικές περιοχές του κόσμου. Αυτή η εξελικτική διάσταση αντικατοπτρίζεται στη φυλογένεση των στελεχών αυτών, θυμίζει τα πρότυπα της μετανάστευσης του *homo sapiens* και δείχνουν ότι οι HPV καταγωγές μπορεί να έχουν συν-διαφοροποιηθεί με ανθρώπινους πληθυσμούς, καθώς αυτοί επεκτείνονταν σε ολόκληρο τον πλανήτη. Οι ενδοτυπικές εξελικτικές μελέτες των ομάδων είχαν αρχικά συναχθεί από τις επιμέρους URR και E6 ακολουθίες και έχουν επεκταθεί τα τελευταία χρόνια για να συμπεριλάβουν τα πλήρη γονιδιώματα. Μεταγενέστερες μελέτες έχουν διερευνήσει τη γενετική παραλλαγή άλλων τύπων και έχουν επιβεβαιώσει ότι κάθε τύπος επιδεικνύει διαφόρων βαθμών ποικιλομορφία, παρόλο που η συσχέτιση των ακολουθιών και της γεωγραφικής προέλευσης παραμένει λίγο «σκοτεινή», πιθανών λόγω ακατάλληλης δειγματοληψίας. Ωστόσο, οι περισσότερες προηγούμενες μελέτες έχουν δειγματοληπτήσει μικρές περιοχές του γονιδιώματος του ιού και έχουν περιοριστεί στα E6 και L1 ORFs και στην URR περιοχή. Συστηματική μελέτη των παραλλαγών του HPV και της εξελικτικής δυναμικής δεν έχει καθοριστεί για τους HPV16 ή τους HPV18 τύπους. [38]

Σημειώνουμε πως για την ονοματολογία στις φυλογενετικές τοπολογίες χρησιμοποιήθηκε η εξής μεθοδολογία:

- Για διαφορές μεταξύ των πλήρων γονιδιωμάτων της τάξης του 1,0% έως 10,0% χρησιμοποιήθηκαν κεφαλαία γράμματα της αγγλικής αλφαβήτου ξεκινώντας από το 'Α' και αυτός περιέχει πάντα το γονιδίωμα αναφοράς κάθε τύπου. Οι κλάδοι αυτοί καθορίζουν μεγάλες γενεαλογικές καταγωγές.
- Για διαφορές μεταξύ γονιδιωμάτων της τάξης των 0,5%-1,0% ορίστηκαν οι υποκλάδοι (ή συγγένειες) και αποδίδονται με ένα κεφαλαίο γράμμα που δηλώνει την καταγωγή ακολουθούμενο από ένα νούμερο που δηλώνει τη συγγένεια (πχ. A1 κλάδος) [39]

### **3.3.1 ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΑ ΚΑΙ ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ HPV16 ΟΜΑΔΑ ΕΙΔΩΝ**

Παρά τη φυλογενετική συγγένεια, παραλλαγές του HPV μπορεί να διαφέρουν ως προς την παθογένεια. Για παράδειγμα, το Ασιατικό- Αμερικάνικο, καθώς και το Αφρικανικό HPV16 σύμπλεγμα είναι τρεις φορές ή και περισσότερο επιρρεπές σε καρκίνους του τραχήλου της μήτρας από το Ευρωπαϊκό. Μπορεί να είναι γνωστό πως ο HPV 16 είναι υψηλού κινδύνου τύπος για προκαρκινικές και καρκινικές αλλοιώσεις, όμως γενικά δεν υπάρχουν σχεδόν καθόλου στοιχεία για τη φυσική ιστορία άλλων υψηλού κινδύνου τύπων. Για παράδειγμα, δεν είναι γνωστό εάν ο HPV 31, ένας λιγότερο μελετημένος ογκογόνος τύπος, αντιπροσωπεύει ομογενή ή ετερογενή σειρά παραλλαγών με ομοιότητες ή διαφορές στην επίμονη λοίμωξη ή ογκογένεση. Και παρόλο που οι τύποι HPV 33 και HPV 58 έχουν αναφερθεί να σχετίζονται με υψηλό κίνδυνο πρόκλησης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, η έλλειψη μιας συνεκτικής ταξινόμησης και ενός συστήματος ονοματολογίας καταγωγών διαφορετικών τύπων δε διευκολύνει τη σύγκριση με άλλες μελέτες που μετρούν μεταβλητότητα σε μια διαφορετική περιοχή του γονιδιώματος του ιού για ταξινόμηση.

Τα δεδομένα που ακολουθούν ορίζουν μέγιστη γονιδιωματική ετερογένεια των τύπων που αποτελούν την ομάδα HPV16 (alpha-9). Σημειώνεται πως το σύστημα ονοματολογίας είναι ένα προτεινόμενο σύστημα που διευκολύνει τη σύγκριση των παραλλαγών σε επιδημιολογικές μελέτες. Τα αποτελέσματα αυτά αποσκοπούν σε περαιτέρω μελέτες πάνω στην εξέλιξη, στην επιδημιολογία, στην παθογένεια και στην προληπτική/θεραπευτική αγωγή.

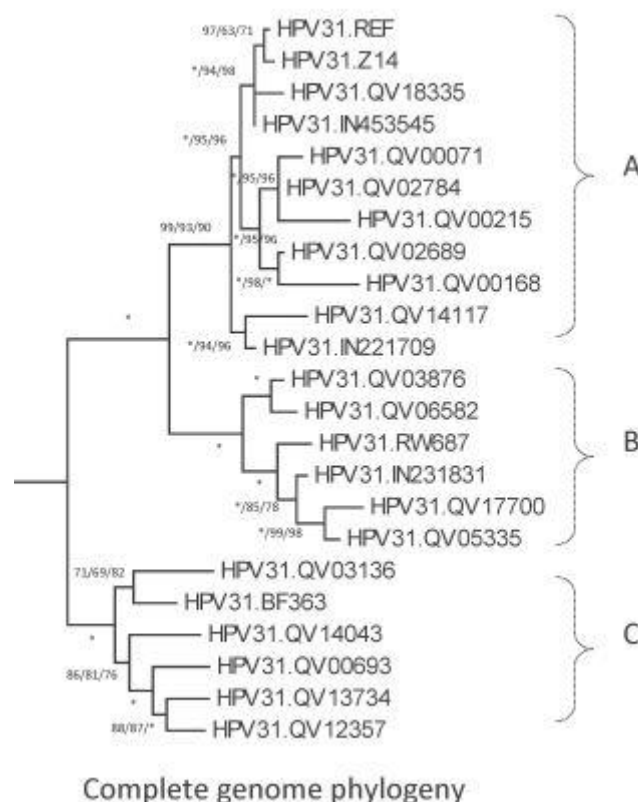
Το DNA που χρησιμοποιήθηκε στην παρακάτω μελέτη [38] είναι επιβεβαιωμένο με τον HPV16 και ελήφθη από γυναίκες (12.000) που συμμετέχουν σε επιδημιολογικές μελέτες απ' όλον τον κόσμο συμπεριλαμβανομένων των Κόστα – Ρίκα, Ταϊβάν, Ταϊλάνδη, Ρουάντα, Μπουρκίνα Φάσο και Ζάμπια. 120 γονιδιώματα από σχεδόν 2000 δείγματα συσχετισμένα με τη οικογένεια HPV 16 alpha-9 είχαν ολόκληρο το γονιδίωμα καταγεγραμμένο. Αυτά τα HPV στελέχη επιλέχθηκαν με βάση την ανάλυση των περιοχών URR/E6 για τον εντοπισμό δειγμάτων που αντιπροσωπεύουν ή που αποτελούν σημαντικές καταγωγές του ίδιου τύπου. Εν συντομία, χρησιμοποιήθηκαν πριμοδότες ειδικού τύπου για να ενισχύσουν ένα θραύσμα της URR ή της E6 περιοχής, χρησιμοποιώντας μια μέθοδο PCR ένθετου σωλήνα. Η E6 περιοχή αξιολογήθηκε μόνο για εκείνα τα δείγματα που δεν απέδωσε δεδομένα στην περιοχή URR. Με βάση τις αναλύσεις των γονιδιωμάτων αυτών, υπάρχουν δύο πτυχές αυτής της μελέτης που θα εξεταστούν. Πρώτον, η περιγραφική πτυχή των διαφορετικών τύπων του ιού που παρέχουν ένα πλαίσιο ονοματολογίας για διαφορετικές καταγωγές. Δεύτερον, μια διαισθητική εικόνα της εξέλιξης αυτού του εξαιρετικά παθογόνου ιού.

Για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων της μελέτης αυτής, χρησιμοποιήθηκαν μια σειρά από προγράμματα: το MAFFT, το MrBayers, το ModelTest, το PAUP\*, το MUSCLE μέσα από το Seaview, το MEGA5 και το MacClade και παρακάτω εκθέτονται τα σημαντικότερα σημεία της.

- Γονιδιωματική ποικιλία των παραλλαγών του HPV 31

316 τμήματα του HPV 31 περιείχαν την ακολουθία των περιοχών URR ή E6. Αυτές οι ακολουθίες ομαδοποιήθηκαν σε τρεις κύριους κλάδους, καθένας από τους οποίους αποτελείται από 22 δείγματα που επιλέχθηκαν για μέγιστη ποικιλομορφία και χρησιμοποιήθηκαν για γονιδιωματικές αναλύσεις. Ένα σύνολο 299/7967 (3,8%) νουκλεοτιδικών θέσεων έδειξε παραλλαγές σε σύγκριση με την ακολουθία του προτύπου. Υπήρχαν 109/2302 (4,7 %) μεταβλητά κωδικοποιημένα αμινοξέα. Η μέγιστη διαφορά νουκλεοτιδικών ζευγών μεταξύ των πιο ανόμοιων τμημάτων ήταν 1,4 %.

Το γονιδιωματικό δέντρο που παράγεται από τις νουκλεοτιδικές αλληλουχίες του πλήρους γονιδιώματος, χωρίζεται στις περιοχές A, B και C. (Εικόνα 29) Η μέση διαφορά στις καταγωγές A και C είναι  $1,2\% \pm 0,11\%$  και στις B και C είναι  $1,2\% \pm 0,12\%$ .

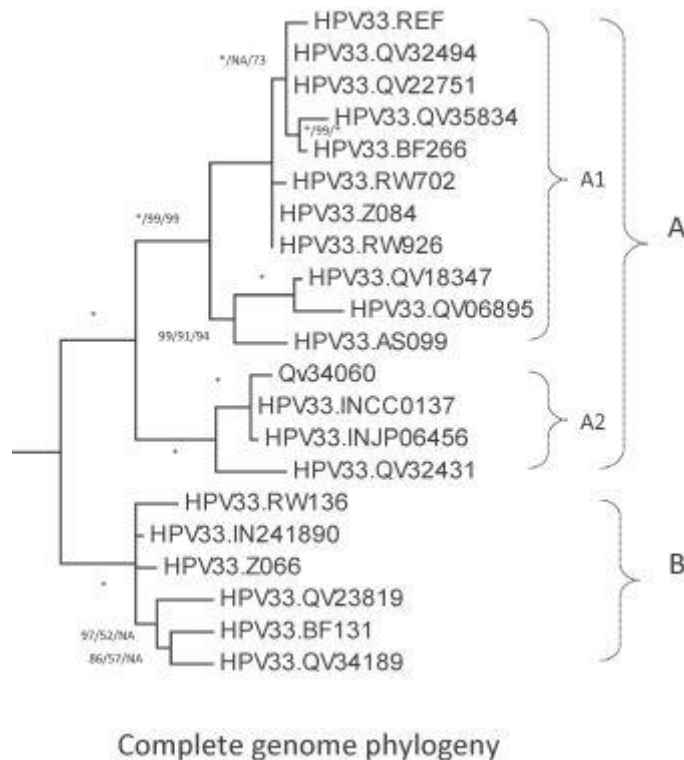


**Εικόνα 29 : Φυλογενετικό δέντρο HPV 31 [38]**

- Γονιδιωματική ποικιλία των παραλλαγών του HPV 33

Στελέχη από 179 δείγματα ταξινομήθηκαν με στοίχιση των URR/E6 περιοχών. 20 ανεξάρτητα ολοκληρωμένα γονιδιώματα αναλύθηκαν. Η συνολική ποικιλομορφία νουκλεοτιδίων και αμινοξέων του πλήρους γονιδιώματος ήταν 2,4%. Η πιο μακρινή σχέση γονιδιωμάτων ήταν το 1,1%. Η απόσταση αυτή αντιπροσωπεύει τη μέγιστη διαφορετικότητα μεταξύ της καταγωγής των παραλλαγών του HPV 33.

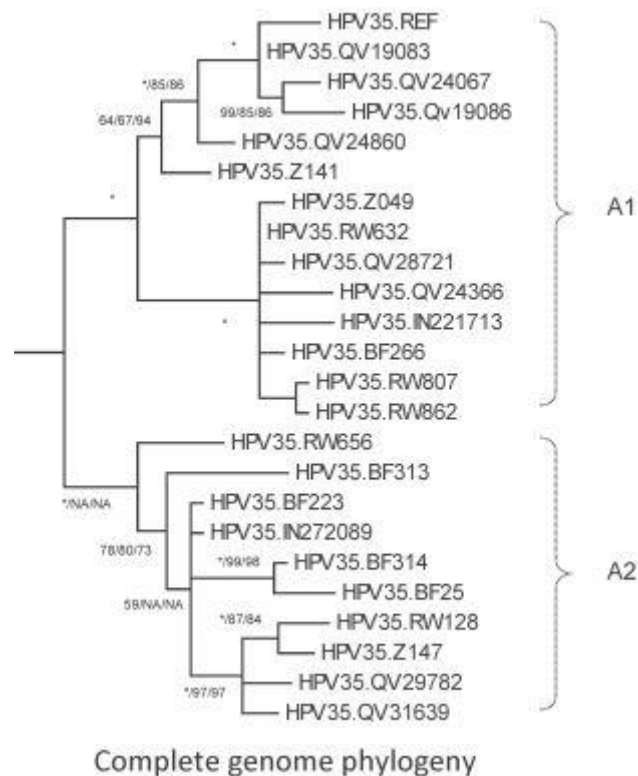
Όπως φαίνεται στην εικόνα 30, η τοπολογία του δέντρου αποκάλυψε δύο διακριτούς κλάδους A και B, που διαιρούνται περαιτέρω σε δύο υποκλάδους A1 και A2 που είναι  $0,6\% \pm 0,07\%$  ανόμοιοι.



**Εικόνα 30: Φυλογενετικό δέντρο HPV 33 [38]**

- Γονιδιωματική ποικιλία των παραλλαγών του HPV 35

Από τα 214 URR/E6 δείγματα του HPV 35 επιλέχθηκαν 23 πλήρως διατηρημένα στελέχη. Η μέγιστη κατά ζεύγη διαφορά ήταν 0,6% και η συνολική ποικιλομορφία νουκλεοτιδίων ήταν 1,8% (140/7908). Αν και τα δείγματα ήταν συγκεντρωμένα σε δύο κλάδους, η διαφορά  $0,5\% \pm 0,06\%$  μεταξύ των διαφορετικών κλάδων δε χρήζουν ταξινόμησης σε ξεχωριστές καταγωγές. Έτσι, οι παραλλαγές του HPV 35 χωρίστηκαν σε δύο συγγένειες A1 και A2 και δεκατέσσερις υποσυγγένειες ταυτοποιήθηκαν.

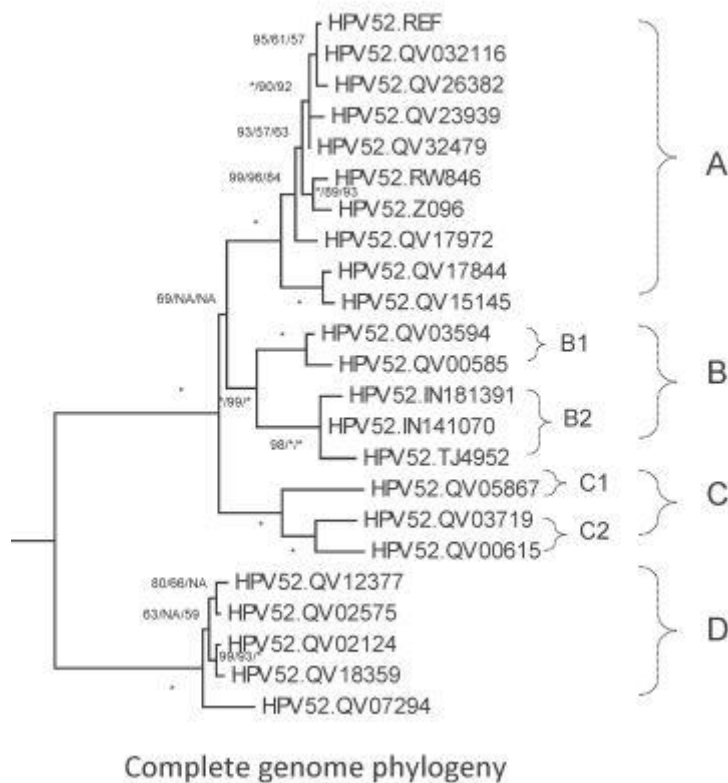


**Εικόνα 31 : Φυλογενετικό δέντρο HPV 35 [38]**

- Γονιδιωματική ποικιλία των παραλλαγών του HPV 52

Από τα 481 δείγματα επιλέχθηκαν 22 στελέχη για πλήρεις αναλύσεις γονιδιώματος. Συνολικά, 354 νουκλεοτίδια ήταν μεταβλητά από τα 7993 bp του HPV 52 γονιδιώματος (4,4%). Από τα 2326 κωδικοποιημένα αμινοξέα, τα 105 ήταν μεταβλητά (4,5%). Η μέγιστη ποικιλία νουκλεοτιδίων ήταν 2,2%.

Το Φυλογενετικό δέντρο που έχει συναχθεί από τις πλήρεις αλληλουχίες γονιδιωμάτων διαχωρίζεται σε 4 κλάδους , A, B, C, D. Είναι 0,8%-1,1% διαφορετικές μεταξύ τους. Οι καταγωγές A,B και C αποτελούν ένα κλάδο και η D αποτελεί ξεχωριστό κλάδο. Ο διαχωρισμός μεταξύ των καταγωγών C και D είναι 2,0%±0,14%. Τέλος, οι καταγωγές B και C διαιρούνται περαιτέρω σε συγγένειες B1 και B2 (0,6% ± 0,08%) και σε C1 και C2 (0,6% ± 0,07%)

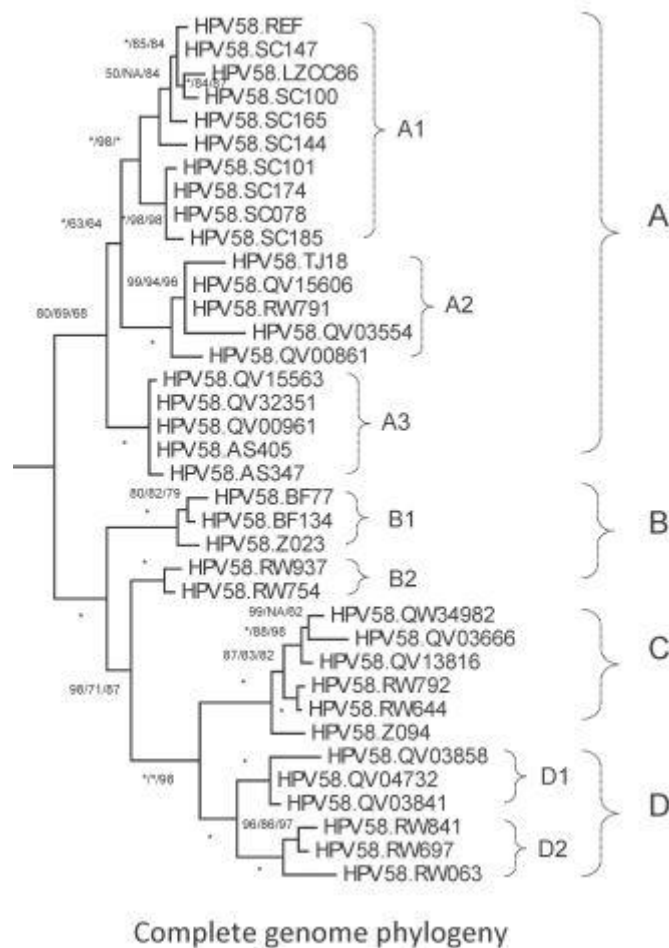


Εικόνα 32: Φυλογενετικό δέντρο HPV 52 [38]

- Γονιδιωματική ποικιλία των παραλλαγών του HPV 58

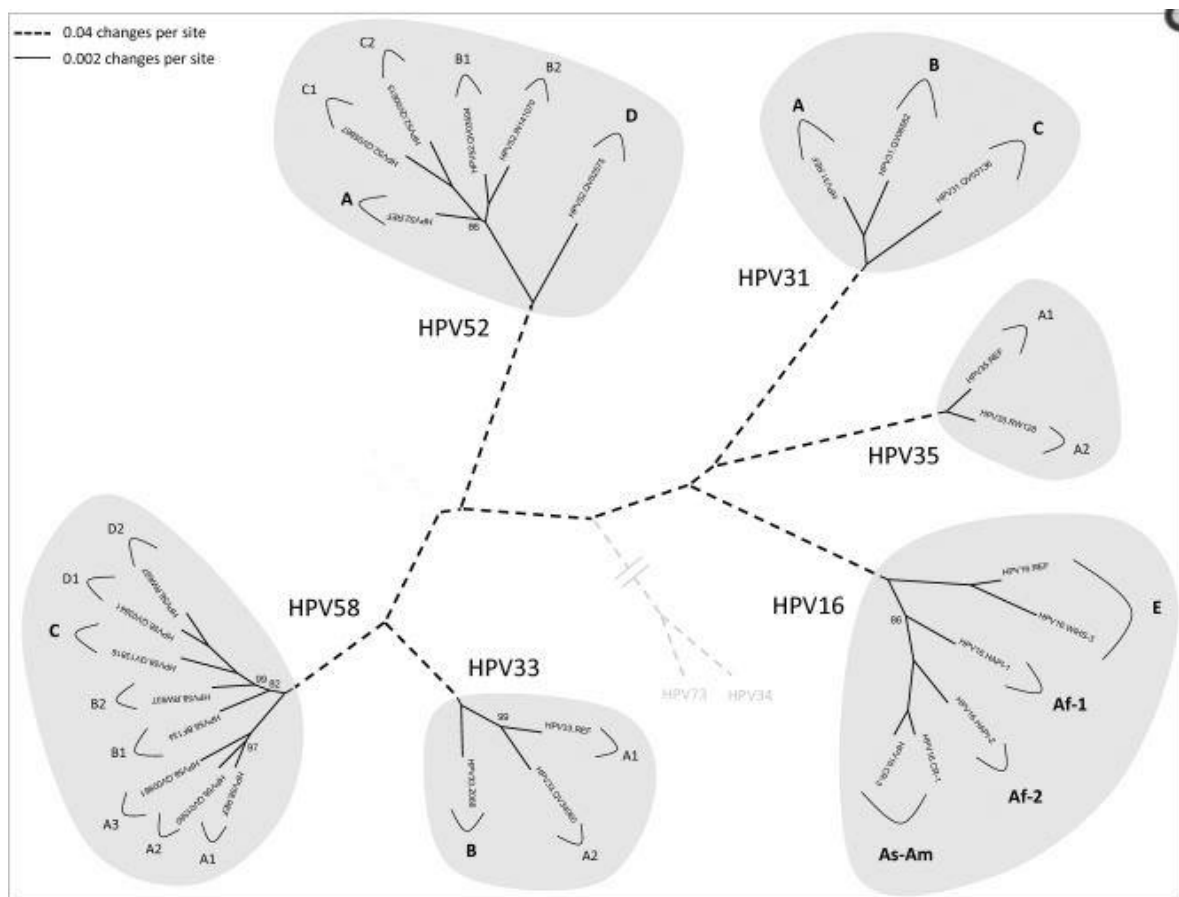
Συνολικά, 400 θέσεις νουκλεοτιδίων διαφοροποιήθηκαν εντός των 7837bp του HPV 58 (5,1%). Υπήρχαν 148/2328 μεταβλητά αμινοξέα (6,4%). Το κατώτατο όριο διαφοράς ζευγών νουκλεοτιδίων ήταν 1,7%.

Το φυλογενετικό δέντρο ταξινομήθηκε σε τέσσερις κλάδους (A, B, C, D) που αναλύονται περαιτέρω σε επτά επιμέρους κλάδους (A1/A2/A3, B1/B2 και D1/D2) (εικόνα 33). Η ενδογενεαλογική μέση διαφορά των παραλλαγών του HPV 58 κυμάνθηκε από 0,9% - 1,4% και οι διαφορές μεταξύ των υποκλάδων ήταν 0,5% - 0,7% (πχ. A1 και A2). Παρόλο που οι υποκλάδοι B1 και B2 δεν έχουν την ίδια ρίζα είναι στενά συνδεδεμένοι μεταξύ τους (0,7% ± 0,07% διαφορά) συγκριτικά με άλλους κλάδους / υποκλάδους (> 1,0% μέση διαφορά).



Εικόνα 33: Φυλογενετικό δέντρο HPV 58 [38]

Στην εικόνα 34 απεικονίζεται το φυλογενετικό δέντρο της αλφα-9, στο οποίο διακρίνονται οι διαφορετικές καταγωγές και συγγένειες της ομάδας αυτής.



**Εικόνα 34: Φυλογενετικό δέντρο της Αλφα-9 [38]**



Στον πίνακα 3 παρουσιάζονται ομαδοποιημένα τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής. Με γκρι χρώμα επισημαίνονται οι αποστάσεις μεταξύ ενδο-καταγωγών (πχ. A-A) και μεταξύ ενδο-συγγενειών (υποκλάδων) (πχ A1-A2).

<b>HPV31</b>	A	B	C
A	0.27±0.03		
B	0.86±0.09	0.27±0.04	
C	1.15±0.11	1.19±0.12	0.42±0.05

<b>HPV33</b>	A	B
A	0.39±0.04	
B	0.94±0.08	0.17±0.02

<b>HPV35</b>	A
A	0.35±0.04

<b>HPV52</b>	A	B	C	D
A	0.19±0.03			
B	0.80±0.08	0.43±0.05		
C	0.96±0.10	1.08±0.09	0.54±0.06	
D	1.75±0.15	1.80±0.15	2.00±0.14	0.13±0.03

<b>HPV58</b>	A	B	C	D
A	0.47±0.04			
B	1.12±0.08	0.48±0.05		
C	1.40±0.11	1.05±0.09	0.20±0.03	
D	1.35±0.12	0.93±0.08	0.95±0.10	0.42±0.05

<b>HPV33</b>	A1	A2
A1	0.24±0.03	
A2	0.62±0.07	0.13±0.03

<b>HPV35</b>	A1	A2
A1	0.21±0.03	
A2	0.48±0.06	0.24±0.03

<b>HPV52</b>	B1	B2	C1	C2
B1	0.13±0.04			
B2	0.59±0.08	0.20±0.04		
C1			n/c	
C2			0.62±0.07	0.39±0.07

<b>HPV58</b>	A1	A2	A3	B1	B2	D1	D2
A1	0.24±0.03						
A2	0.60±0.06	0.27±0.03					
A3	0.54±0.07	0.70±0.08	0.14±0.03				
B1				0.16±0.04			
B2				0.71±0.07	0.12±0.04		
D1						0.15±0.03	
D2						0.58±0.07	0.22±0.04

**Πίνακας 3: Μέση διαφορά (± τυπικό σφάλμα) των alpha-9 πλήρων γονιδιωμάτων [38]**

Τα γονιδιώματα του ιού των θηλωμάτων (papillomavirus) εξελίσσονται και μεταλλάσσονται μέσω μιας στοχαστικής διαδικασίας που βασίζεται σε ρυθμούς μετάλλαξης παρόμοιους με αυτούς του γονιδιώματος του ξενιστή που μολύνουν. Αυτό αντανακλά το γεγονός πως οι papillomaviruses χρησιμοποιούν μεθόδους αντιγραφής του DNA του ξενιστή για να αντιγράψουν και να ενισχύσουν το γονιδίωμά τους. Η φυσική επιλογή είναι πιθανόν να έχει διαδραματίσει σημαντικό ρόλο κατά τη διάρκεια της εξέλιξης για να φιλτράρει και να διορθώσει νουκλεοτιδικές αλλαγές εντός των διαφόρων καταγωγών. Ωστόσο, η σχετικά πρόσφατη εξέλιξη της ομάδας τύπων alpha-9 και οι παραλλαγές τους δεν μπορούν να εξηγηθούν εύκολα από τη φυσική επιλογή. Αναλύσεις που χρησιμοποιήθηκαν για να ανιχνεύσουν επιλογές σε ατομική θέση κωδικονίων εντόπισαν μόνο ελάχιστες διάσπαρτες νουκλεοτιδικές θέσεις με βάση τη Δαρβινική επιλογή. Αυτό θα μπορούσε να αναμένεται σε ιούς που υπάρχουν εδώ και εκατοντάδες εκατομμύρια χρόνια και έχουν τελειοποιήσει μια στρατηγική επιβίωσης και βελτιστοποίησης των δομικών τους στοιχείων μέσω της φυσικής επιλογής. Αυτό το συμπέρασμα υποστηρίζεται από την ύπαρξη ισχυρών επιλογών κάθαρσης και συντήρησης γονιδιωματικών περιοχών που είναι πιο εμφανείς στις L1, L2, E1 και E2 ORFs.

Συμπερασματικά, η ετερογένεια του φάσματος ακολουθίας γονιδίωμα προς γονιδίωμα κυμάνθηκε από 0,6% για τον HPV35 μέχρι 2,2% για τον HPV52 και ενδιάμεσα κυμάνθηκαν οι διαφορές για τους άλλους τύπους με 1,4% για τον HPV31, 1,1% για τον HPV33 και 1,7% για τον HPV58. Νουκλεοτιδικές διαφορές μεταξύ 1,0% και 10,0% και 0,5%-1,0% πλήρων γονιδιωμάτων χρησιμοποιήθηκαν για να καθορίσουν καταγωγές και συγγένειες, αντίστοιχα. [38]

### ***3.3.2 ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΑ ΚΑΙ ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ HPV18 ΟΜΑΔΑ ΕΙΔΩΝ***

Σε αυτήν την αναφορά [39], ολόκληρα γονιδιώματα από 128 δείγματα που εκπροσωπούν μεγάλες καταγωγές και συγγένειες των ειδών HPV alpha-7 (HPV18, HPV39, HPV45, HPV59 και HPV68) επιλέχθηκαν και αναλύθηκαν για να εντοπιστεί η μέγιστη ική ετερογένεια. Διαφορές μεταξύ των γονιδιωμάτων ταυτοποιήθηκαν και η φυλογένεια και η ονοματολογία των τύπων αυτών περιγράφονται. Παρακάτω θα παρουσιαστούν στοιχεία σχετικά με τη γονιδιωματική ποικιλομορφία, την εξελικτική δυναμική και τη γεωγραφική ομαδοποίηση.

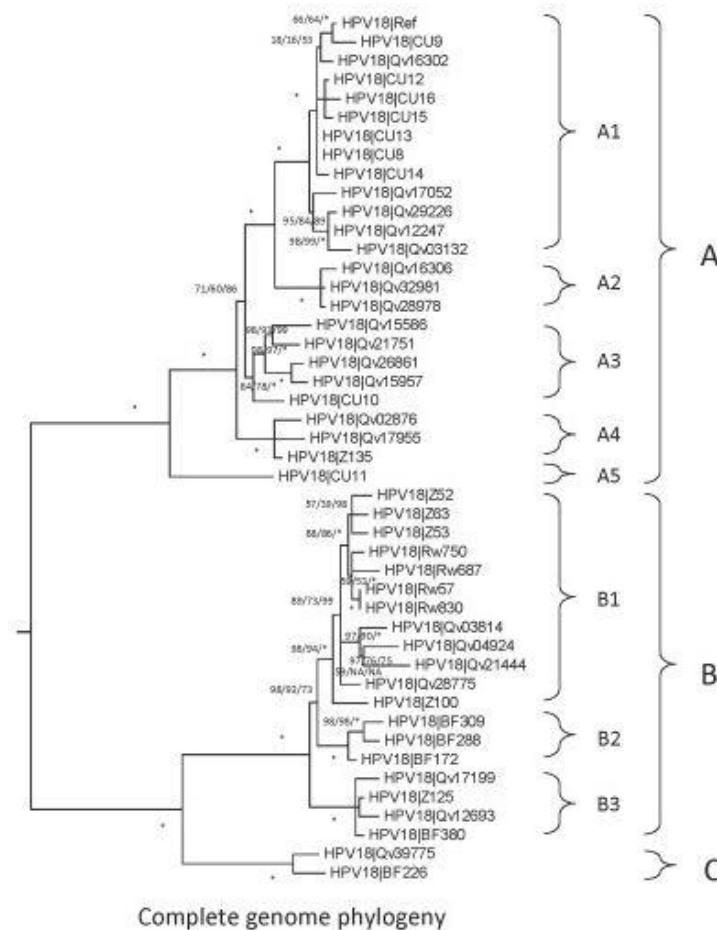
Και εδώ, το DNA που χρησιμοποιήθηκε προήλθε από γυναίκες που συμμετέχουν σε επιδημιολογικές μελέτες απ' όλον τον κόσμο, συμπεριλαμβανομένων των Κόστα – Ρίκα, Ταϊβάν, Ταϊλάνδη, Ρουάντα, Μπουρκίνα Φάσο και Ζάμπια. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την αλληλουχία των περιοχών URR/E6 είναι ίδια με την μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε και στην παραπάνω μελέτη, δηλαδή με προϊόντα PCR, καθώς ίδια είναι και τα προγράμματα που χρησιμοποιήθηκαν για τις αναλύσεις.

- Γονιδιωματική ποικιλία των παραλλαγών του HPV 18

Ένα σύνολο 422/7857 (5,4%) θέσεων νουκλεοτιδίων υπέδειξε παραλλαγές του τύπου, ενώ 165/2476 (6,7%) κωδικόνια καθόρισαν μεταβλητά αμινοξέα. Η μέγιστη διαφορά νουκλεοτιδίων κατά ζεύγη μεταξύ των πιο ανόμοιων απομονώσεων ήταν 2,1%. Η πιο μεταβλητή περιοχή ήταν η μη κωδικοποιημένη περιοχή μεταξύ των E5 και L2 ORFs με 11,6% για το σύνολο του γονιδιώματος.

Η φυλογενετική ανάλυση διαίρεσε τις HPV18 παραλλαγές σε τρεις καταγωγές, A, B και C. Οι καταγωγές A και B απείχαν με μέση διαφορά  $1,92\% \pm 0,15\%$ , οι καταγωγές B και C με μέση διαφορά  $1,71\% \pm 0,14\%$  και οι καταγωγές B και C με  $1,0\% - 1,2\%$ . Ο κλάδος A υποδιαιρέθηκε περαιτέρω σε 5 υποκλάδους A1-A5 με τις μέσες διαφορές τους να κυμαίνονται από  $0,37\% \pm 0,06\%$  έως  $0,83\% \pm 0,10\%$ . Ο κλάδος B υποδιαιρέθηκε σε B1, B2 και B3.

Οι κατανομές αυτές συνάδουν με γεωγραφικές τοποθετήσεις. Ουσιαστικά, όλα τα στελέχη (96%, 24/25) που προέρχονται από την Ταϊβάν και την Ταϊλάνδη αντιστοιχούν στον υποκλάδο A1. Τα περισσότερα στελέχη από τις βορειο-κεντρικές αφρικανικές χώρες, δηλαδή της Ρουάντα (62%, 16/26) και της Ζάμπια (50%, 6/12) ταξινομήθηκαν στον υποκλάδο B1, ενώ τα δείγματα από τη Μπουρκίνα Φάσο της Δυτικής Αφρικής ταξινομήθηκαν ως B2 (46%, 5/11) ή B3 (36%, 4/11). Αντίθετα, τα δείγματα από την Κόστα Ρίκα είχαν μια μικτή κατανομή κατά την οποία το 45% (134/298) ταξινομήθηκε στον A3, το 22% (65/298) στον B1 και το 17% (50/298) στον A1.



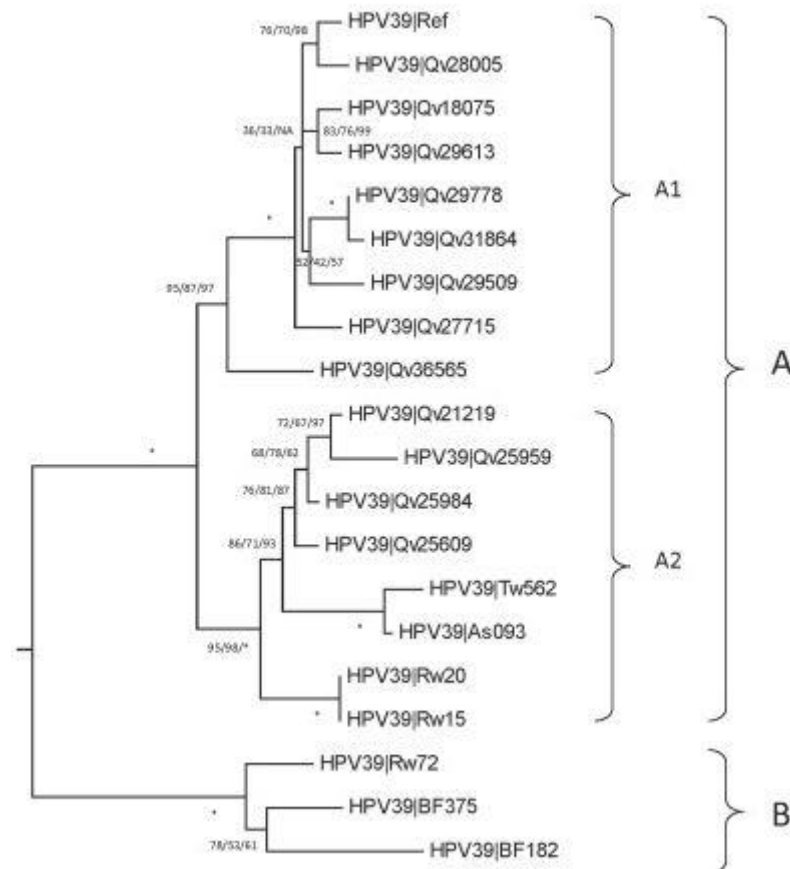
**Εικόνα 35: Φυλογενετικό δέντρο HPV 18 [39]**

- Γονιδιωματική ποικιλία των παραλλαγών του HPV 39

Προσδιορίστηκαν αλληλουχίες των περιοχών E6/ URR 122 δειγμάτων του HPV39 και επιλέχθηκαν 19 στελέχη για την διεξαγωγή της μελέτης. Οι συνολικές νουκλεοτιδικές μεταβλητές θέσεις στο πλήρες γονιδίωμα ήταν 2,4% (186/7912) και οι συνολικές μεταβλητές θέσεις αμινοξέων ήταν 2,5% (61/2428). Οι πιο μακρινοί συγγενείς είχαν διαφορά 1,1% στα ζεύγη νουκλεοτιδίων και η απόσταση αυτή αντιπροσωπεύει τη μέγιστη διαφορετικότητα μεταξύ των καταγωγών των διαφορετικών παραλλαγών του HPV39.

Οι φυλογενετικές αναλύσεις διαίρεσαν τις HPV39 παραλλαγές σε 2 γενεές A και B. Η γενεά A διαιρείται περαιτέρω σε δύο υποκλάδους, τους A1 και A2 (με διαφορά  $0,48 \pm 0,06\%$ ) και ο κάθε υποκλάδος απέχει από τη γενεά B  $0,98 \pm 0,09\%$  και  $0,97 \pm 0,08\%$  αντίστοιχα.

Όλες τα στελέχη από την Κόστα Ρίκα ταξινομήθηκαν είτε στον A1 (67%, 70/105) είτε στον A2 (33%, 35/105) υποκλάδο, ενώ τα λίγα δείγματα από την Ταϊβάν ταξινομήθηκαν στην A (7/8) και στη B (1/8) καταγωγή και όλα τα δείγματα από την Μπουρκίνα Φάσο (5/5) ταξινομήθηκαν στη B καταγωγή.

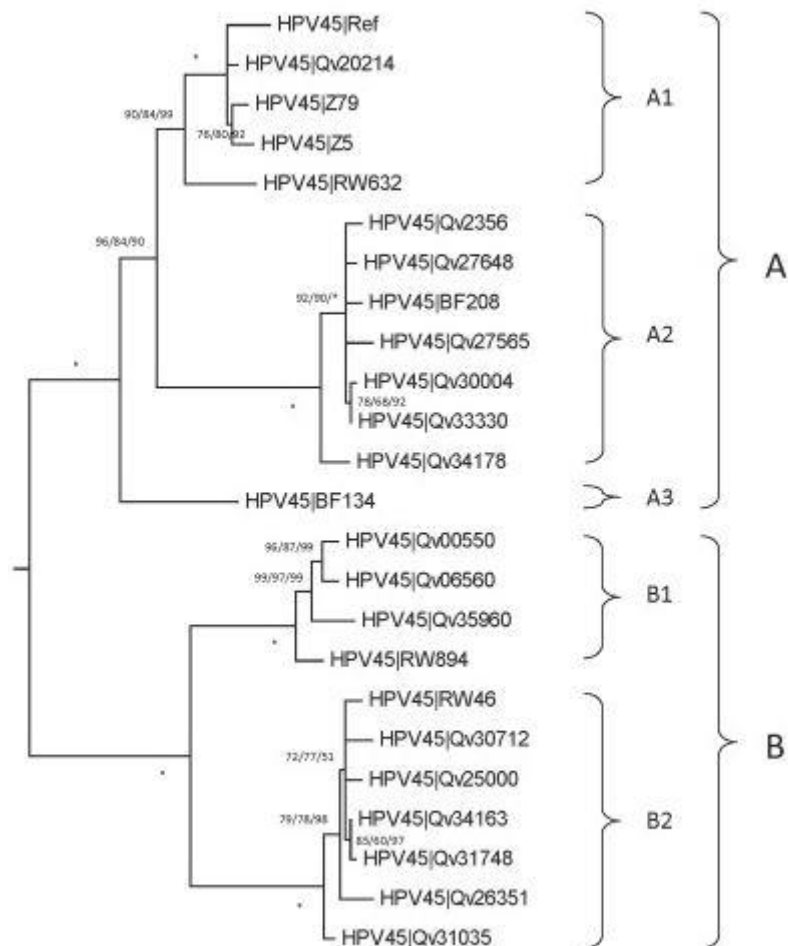


**Εικόνα 36: Φυλογενετικό δέντρο HPV 39 [39]**

- Γονιδιωματική ποικιλία των παραλλαγών του HPV 45

11 παραλλαγές από 217 δείγματα επιλέχθηκαν για την στοίχιση πλήρων γονιδιωμάτων. Αντιπροσώπευαν 4 γυναίκες από την Κόστα Ρίκα, 3 από τη Ρουάντα, 2 από τη Ζάμπια και 2 από την Μπουρκίνα Φάσο. Υπήρξαν συνολικά 239 θέσεις νουκλεοτιδίων ανάμεσα στα 7858bp που ήταν μεταβλητές (3,0%). Από τα 2440 κωδικοποιημένα αμινοξέα, 89 (3,6%) έδειξαν μεταβλητότητα. Η μέγιστη νουκλεοτιδική διαφορά ήταν 1,5% και η διαφορά αυτή αντιπροσωπεύει τη μέγιστη ποικιλομορφία μεταξύ των A και B καταγωγών.

Τα δείγματα από την Κόστα Ρίκα ταξινομήθηκαν είτε στον A2 υποκλάδο (37%, 64/171) είτε στον B1 (40%, 68/171), τα δείγματα από την Ταϊλάνδη είτε στον B1 (62%, 5/8) είτε στον B2 (38%, 3/8) υποκλάδο, τα δείγματα από τη Ρουάντα στον B2 (80%, 8/10), τα δείγματα από τη Ζάμπια κυρίως στους A1 (45%, 10/22) και B2 (36%, 8/22), ενώ τα δείγματα από την Μπουρκίνα Φάσο ταξινομήθηκαν στον A1 (67%, 4/6) υποκλάδο.



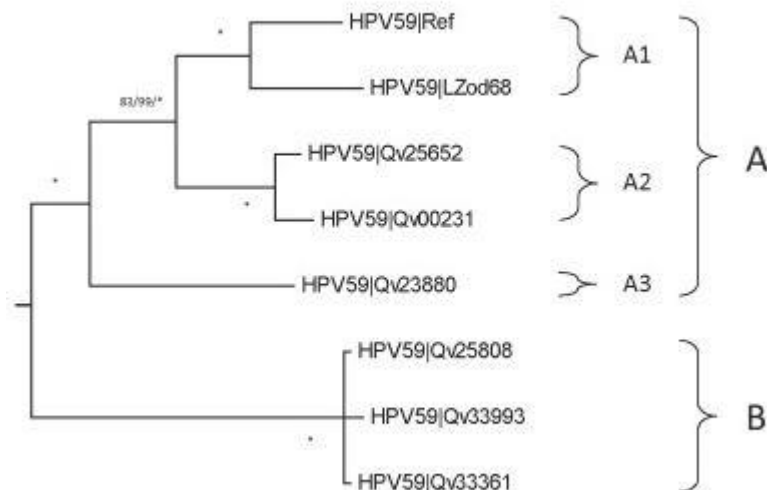
**Εικόνα 37: Φυλογενετικό δέντρο HPV 45 [39]**

- Γονιδιωματική ποικιλία των παραλλαγών του HPV 59

45 στελέχη του HPV59 περιείχαν τις URR/E6 περιοχές. 6 δείγματα επιλέχθηκαν για την πλήρη ανάλυση αλληλουχίας. Συνολικά, 8 ολόκληρα γονιδιώματα, συμπεριλαμβανομένου και του προτύπου και ένα στέλεχος από μια Κινέζα, αναλύθηκαν.

Υπήρχαν 169/7898 (2.1%) μεταβλητές θέσεις νουκλεοτιδίων και 66/2441 (2,7%) μεταβλητά αμινοξέα. Η μέγιστη διαφορά στα ζεύγη νουκλεοτιδίων ήταν 1,3% και ήταν μέρη του υποκλάδου A1 και του κλάδου B. Τα στελέχη από τα οποία αποτελείται ο κλάδος A ήταν πιο μεταβλητά από αυτά του κλάδου B και γι' αυτό ταξινομήθηκαν περαιτέρω σε υποκλάδους A1, A2 και A3 με μέση διαφορά 0,60%-0,89% (Πίνακας 4). Οι καταγωγές A και B είχαν μέσες διαφορές της τάξης των 1,11%-1,26%.

Η επιθεώρηση της κατανομής των 45 παραλλαγών από τις 4 γεωγραφικές περιοχές έδειξε ότι το 61% (20/33) των παραλλαγών από την Κόστα Ρίκα ήταν A2, ενώ το 67% (4/6) και το 60% (3/5) των δειγμάτων από τη Ρουάντα και τη Μπουρκίνα Φάσο ήταν από τον κλάδο B, αντίστοιχα. Έτσι, η καταγωγή B αποτελείται κυρίως από δείγματα από την Αφρική.



**Εικόνα 38: Φυλογενετικό δέντρο HPV 59 [39]**

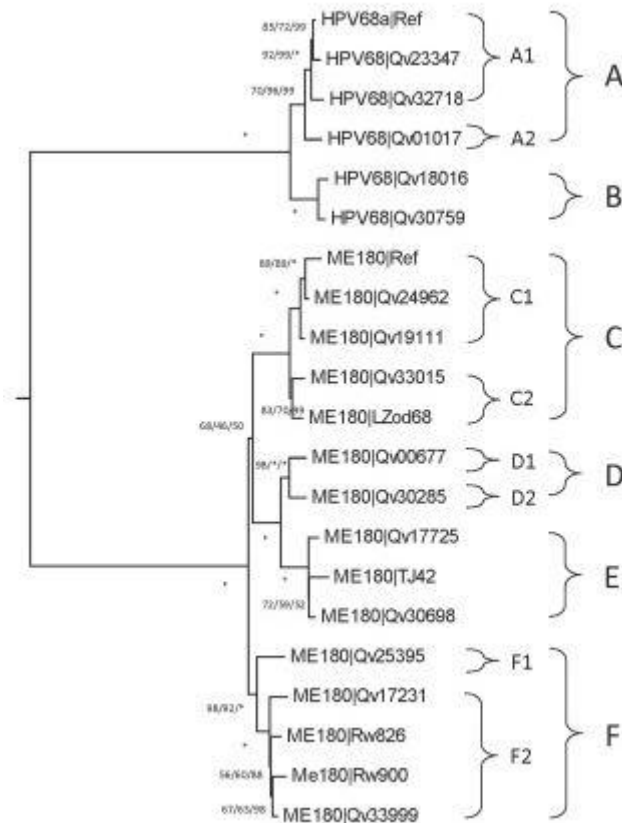
- Γονιδιωματική ποικιλία των παραλλαγών του HPV 68

Δύο στελέχη του HPV 68 (HPV68Ref (R) / HPV68a και ME180 / HPV68b) χαρακτηρίστηκαν, μοιράστηκαν 93% νουκλεοτιδική ομοιότητα εντός της L1 ORF και ταξινομήθηκαν ως υποκλάδοι. Σ' αυτήν τη μελέτη [39], στοιχίστηκαν 88 θετικά δείγματα ασθενών από την Κόστα Ρίκα, την Ταϊβαν, τη Ρουάντα και τη Μπουρκίνα Φάσο και ταυτοποιήθηκαν 20 στελέχη (22,7%) συγγενικά με τον HPV68R και 68 (77.3%) συγγενικά με τον ME180. Επιπλέον, 4 πλήρη γονιδιώματα από τη βάση δεδομένων του NCBI/GenBank, συμπεριλαμβανομένων και 2 προτύπων, χρησιμοποιήθηκαν.

Η μέγιστη διαφορά μεταξύ των ζευγών είναι 6,7% μεταξύ του πλήρους γονιδιώματος και 7,8% εντός της L1 ORF και ταυτοποιήθηκε μεταξύ στελεχών από το B κλάδο και τον E κλάδο. Συνολικά, 9,8% (771/7850) νουκλεοτιδικές θέσεις και 9,6% (232/2419) κωδικοποιημένων αμινοξέων ήταν μεταβλητά.

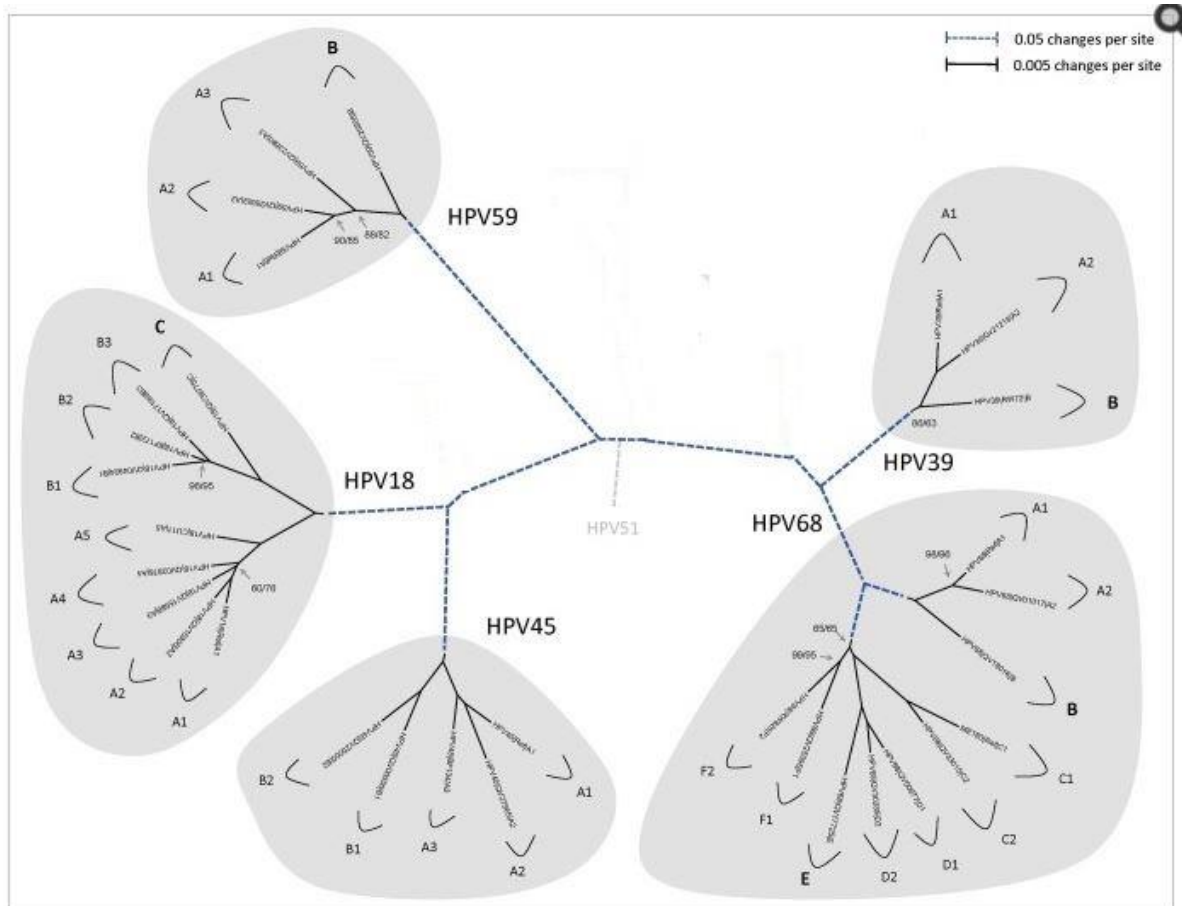
Οι καταγωγές A/ B χωρίζονται με μακρινές αποστάσεις από τις καταγωγές C/ D/ E/ F (εικόνα 39). Όλες οι παραλλαγές ταξινομούνται σε δύο διακριτές ομάδες και εμφανίζουν μέση διαφορά 6,38% - 6,61% στα πλήρη γονιδιώματα. Η ενδογονιδιωματική ποικιλία μέσα στους κλάδους A/B και C/D/E/F ταυτοποιήθηκε στο 0.93%-0.97% και 1.20%-1.72%, αντίστοιχα. Έτσι, οι συγγενικές παραλλαγές του ME180 ήταν πιο μεταβλητές από τις παραλλαγές του HPV68R. Οι περαιτέρω διακλαδώσεις φαίνονται στην εικόνα 39 και είναι A1 και A2, C1 και C2, D1 και D2 και F1 και F2.

Τα δείγματα από τη Μπουρκίνα Φάσο ταξινομήθηκαν στους D2 (1/6), E (2/6) και F (3/6), από τη Ρουάντα στους A1 (2/14), B (1/14), C1 (7/14), E (1/14) και F (3/14), ενώ και τα 4 δείγματα από την Ταϊβάν στον C2. Έτσι, το 85% των παραλλαγών από την Αφρική ήταν στον κλάδο C /D /E /F, ενώ το 70% (47/67) των παραλλαγών από την Κόστα Ρίκα ήταν στον κλάδο C / D / E / F.



**Εικόνα 39: Φυλογενετικό δέντρο HPV 68 [39]**

Στην εικόνα 40 απεικονίζεται το φυλογενετικό δέντρο της alpha-7, στο οποίο διακρίνονται οι διαφορετικές καταγωγές και συγγένειες της ομάδας αυτής.



**Εικόνα 40 : Φυλογενετικό δέντρο της Alpha-7 [39]**



Στον πίνακα 4 παρουσιάζονται ομαδοποιημένα τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής [39]. Με γκρι χρώμα επισημαίνονται οι αποστάσεις μεταξύ ενδο-καταγωγών (πχ. A-A) και μεταξύ ενδο-συγγενειών (υποκλάδων) (πχ A1-A2).

HPV18	A1	A2	A3	A4	A5	B1	B2	B3	C
A1	0.13±0.02								
A2	0.37±0.06	0.05±0.02							
A3	0.47±0.06	0.45±0.07	0.25±0.04						
A4	0.52±0.07	0.50±0.07	0.40±0.06	0.14±0.04					
A5	0.83±0.10	0.82±0.09	0.75±0.08	0.73±0.09	n/c				
B1	1.93±0.15	1.89±0.15	1.87±0.16	1.91±0.16	1.78±0.16	0.20±0.03			
B2	1.97±0.15	1.93±0.15	1.91±0.16	1.95±0.16	1.80±0.16	0.35±0.05	0.13±0.03		
B3	1.95±0.16	1.91±0.15	1.88±0.17	1.92±0.16	1.81±0.16	0.42±0.07	0.41±0.06	0.10±0.03	
C	1.76±0.14	1.76±0.13	1.73±0.14	1.73±0.14	1.69±0.14	1.07±0.10	1.05±0.11	1.04±0.10	0.19±0.05

HPV39	A1	A2	B
A1	0.19±0.03		
A2	0.48±0.06	0.24±0.04	
B	0.98±0.09	0.97±0.08	0.35±0.05

HPV45	A1	A2	A3	B1	B2
A1	0.20±0.03				
A2	0.66±0.07	0.09±0.02			
A3	0.57±0.08	0.80±0.08	n/c		
B1	1.21±0.12	1.37±0.11	1.19±0.12	0.16±0.04	
B2	1.23±0.11	1.33±0.11	1.21±0.12	0.72±0.08	0.10±0.02

HPV59	A1	A2	A3	B
A1	0.41±0.07			
A2	0.60±0.08	0.13±0.04		
A3	0.89±0.10	0.82±0.11	n/c	
B	1.26±0.12	1.11±0.11	1.14±0.11	0.04±0.02

HPV68	A1	A2	B	C1	C2	D1	D2	E	F1	F2
A1	0.22±0.04									
A2	0.46±0.06	n/c								
B	0.93±0.09	0.97±0.09	0.23±0.05							
C1	6.45±0.28	6.50±0.29	6.53±0.26	0.26±0.04						
C2	6.43±0.27	6.48±0.27	6.53±0.26	0.49±0.07	0.33±0.07					
D1	6.49±0.27	6.51±0.27	6.51±0.27	1.56±0.12	1.47±0.12	n/c				
D2	6.47±0.26	6.50±0.27	6.50±0.27	1.54±0.14	1.46±0.14	0.49±0.08	n/c			
E	6.54±0.27	6.60±0.27	6.61±0.27	1.72±0.11	1.60±0.12	0.91±0.08	0.94±0.10	0.35±0.05		
F1	6.38±0.27	6.43±0.27	6.45±0.27	1.40±0.13	1.28±0.11	1.34±0.13	1.29±0.13	1.50±0.11	n/c	
F2	6.39±0.28	6.44±0.28	6.46±0.28	1.31±0.12	1.20±0.11	1.25±0.12	1.25±0.14	1.45±0.12	0.77±0.08	0.35±0.04

**Πίνακας 4: Μέση διαφορά (± τυπικό σφάλμα) των alpha-7 πλήρων γονιδιωμάτων [39]**

Η alpha-7 (HPV18, 39, 45, 59, 68) ομάδα είναι η δεύτερη πιο σημαντική ομάδα ειδών όσον αφορά στην καρκινογένεση. Σε μια προσπάθεια να διερευνηθεί και να κατανοηθεί η γενετική βάση της HPV παθογένειας, επιδιώχτηκε να καθοριστεί η γενετική ετερογένεια των papillomaviruses που προέρχονται από κοινό πρόγονο και σχετίζονται με ογκογόνους τύπους του HPV.

Μια επισκόπηση της τοπολογίας του δέντρου της εικόνας 40 υποδεικνύει ότι κάθε τύπος έχει μια πολύ διαφορετική εξελικτική ιστορία. Αυτό υποστηρίζεται περαιτέρω από τις διαφορετικές ομοιομορφίες κάθε παραλλαγής κάθε τύπου και από την ποικίλη γεωγραφική κατανομή των δειγμάτων σε κλάδους και υποκλάδους. Παρόλα αυτά, υπάρχουν ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά που δείχνουν υπολειμματική διακοπτόμενη εξέλιξη. Αυτά

περιλαμβάνουν τρία επίπεδα ετερογένειας, προτείνοντας τουλάχιστον τρία εξελικτικά γεγονότα συμπεριλαμβανομένων των:

1. Την ταχεία επέκταση του πληθυσμού υποδοχής με αποτέλεσμα ιογενείς καταγωγές και συγγένειες κυρίως στην περιοχή <3% που αντιστοιχεί σε γεγονότα που συμβαίνουν περίπου 0,2-1,0 εκατομμύρια χρόνια πριν
2. Ένα γεγονός υποείδους που αντιπροσωπεύει τη διαφορά μεταξύ των κλάδων των τύπων HPV18/45/97 και HPV39/68 της τάξης του 18% που αντιστοιχεί σε γεγονότα που συμβαίνουν περίπου 5-10 εκατομμύρια χρόνια
3. Η ταυτότητα του πιο πρόσφατου κοινού προγόνου των τύπων της alpha-7 που είχε ως αποτέλεσμα τη διαφορά περίπου 30% μεταξύ των μελών των διαφορετικών κλάδων της alpha-7, που αντιστοιχεί σε γεγονότα που συμβαίνουν σε περίπου 10-20 εκατομμύρια χρόνια.

Κάθε ομάδα ειδών alpha-PV έχει τις δικές του μοναδικές ιδιαιτερότητες στην εξελικτική τοπολογία, την ποικιλομορφία και τη γεωγραφική κατανομή των καταγωγών παραλλαγής. Για λόγους σύγκρισης, οι alpha-9 κλάδοι διαφέρουν κατά περίπου 27% ενώ όταν εξετάζονται όλες οι ομάδες ειδών εντός της alpha-PV ταξινομικής ομάδας, διαφέρουν κατά περίπου  $40\% \pm 5\%$ .

Η εργασία αυτή [39] ανέφερε την ανάλυση ενός μεγάλου συνόλου πλήρων γονιδιωμάτων της alpha-7 που προήλθε από δείγμα μεγαλύτερο των 12.000 γυναικών από την Αμερική, την Αφρική και την Ασία που βρέθηκαν θετικές στην HPV λοίμωξη και στη συνέχεια επιλέχθηκαν με βάση την ανάλυση των περιοχών URR/E6 για να εντοπιστούν στελέχη που αντιπροσωπεύουν μεγάλες καταγωγές και τη μέγιστη γονιδιωματική ποικιλομορφία.

Φυσική εξέλιξη υπάρχει μέσα σε όλους τους πληθυσμούς των οργανισμών. Αυτό συμβαίνει, εν μέρη, επειδή τυχαίες μεταλλάξεις προκαλούν αλλαγές στο γονιδίωμα ενός οργανισμού. Δεδομένου του χαμηλού ρυθμού μετάλλαξης των ιών των ανθρωπίνων θηλωμάτων, η φυσική επιλογή παραμένει ένας σημαντικός μηχανισμός για την προσαρμογή αυτού του αργά εξελισσόμενου ιού. Ωστόσο, η τεχνητή επιλογή θα μπορούσε να ήταν μια δυναμική κινητήρια δύναμη που θα οδηγούσε στη δημιουργία νέων καταγωγών με την εισαγωγή VLP (virus-like particle) εμβολίων.

Με βάση αυτά που γνωρίζουμε για την εξέλιξη του HPV γονιδιώματος, είναι απίθανο πως ο HPV θα δείξει σημαντική αλλαγή σε απόκριση στο εμβόλιο, δεδομένου ότι δεν υπάρχει γνωστός μηχανισμός για να αναπτύξει ο ιός έναν αυξημένο ρυθμό μετάλλαξης, καθώς χρησιμοποιεί το μηχανισμό αντιγραφής του ξενιστή. Παρόλα αυτά, εμπειρικά δεδομένα θα απαιτούνται για την αξιολόγηση της εξέλιξης των HPV παραλλαγών, όσον αφορά στην ανταπόκριση του ανοσοποιητικού στα εμβόλια. Το αν θα διατηρηθεί η εμφάνιση νέων καταγωγών ή παραλλαγών ή η εξαφάνιση συγκεκριμένων καταγωγών ή τύπων, θα καθοριστεί από την πάροδο του χρόνου.[39]

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4Ο

## ΤΟ ΜΕΛΛΟΝ

### 4.1 ΠΡΟΛΗΨΗ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η έγκαιρη διάγνωση έχει αποδειχτεί σωτήρια για χιλιάδες ανθρώπους που εμφάνισαν καρκίνο και τελικά κέρδισαν τη ζωή τους, γιατί είχαν την τύχη να τον ανακαλύψουν νωρίς, πριν προλάβει να μετασταθεί σε άλλα όργανα και ιστούς. Γι'αυτό και η ανάπτυξη διαγνωστικών μεθόδων που επιτρέπουν την πρόωμη ανίχνευση των καρκινικών κυττάρων παραμένει πάγιο ζητούμενο. Χάρη στην έρευνα και στην εξέλιξη της επιστήμης, οι εξελίξεις σε αυτόν τον τομέα είναι πολύ ελπιδοφόρες.

Το μέλλον της έγκαιρης ανακάλυψης του καρκίνου βρίσκεται στη μοριακή διάγνωση. Ελέγχοντας, δηλαδή, σε γονιδιακό επίπεδο κάποιους ειδικούς δείκτες, πολύ πρόδρομα γονίδια που δεν έχουν πλέον τη φυσιολογική δομή τους και έχουν μεταλλαχθεί, θα μπορούν να ανιχνεύονται. Θα μπορούν έτσι να διαγιγνώσκονται κακοήθειες πριν ακόμα υπάρξουν συμπτώματα. Σε ό,τι αφορά στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας σήμερα, το κατεξοχήν διαγνωστικό «όπλο» είναι το τεστ Παπ. Ωστόσο, λόγω του γεγονότος πως η ευαισθησία του αγγίζει το 68,1 % , σε περιπτώσεις ασάφειας, θα πρέπει να συνδυάζεται και με άλλη εξέταση. Η HPV τυποποίηση ήρθε να καλύψει αυτό το κενό.

Η ανίχνευση και η τυποποίηση του ιού HPV, σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες κινδύνου, μπορεί να αποτελέσουν σημαντικό παράγοντα πρόβλεψης για την εκτίμηση της βλάβης και να καθορίσει τη θεραπεία. Η ανάγκη ανίχνευσης και τυποποίησης του ιού HPV, ιδιαίτερα σε πρώιμες αλλοιώσεις, προκύπτει από το γεγονός ότι οι ογκογόνοι τύποι, όπως οι HPV 16 και 18, μπορούν να έχουν απρόβλεπτη κλινική πορεία. Η πρόοδος των τελευταίων χρόνων προσφέρει τη δυνατότητα σύγχρονου κυτταρολογικού ελέγχου και ανίχνευσης του HPV-DNA, η οποία βελτιώνει τα αποτελέσματα ελέγχου με το τεστ Παπανικολάου. Η όσο το δυνατό πληρέστερη γνώση σε μοριακό και κλινικό επίπεδο των διαδικασιών ογκογένεσης στον τράχηλο της μήτρας, επιτρέπει την έγκαιρη αναγνώριση και πλήρη θεραπευτική αντιμετώπιση των αρχόμενων ενδοεπιθηλιακών νεοπλασιών. Επίσης, ανοίγει τους δρόμους για ανεύρεση δυνατοτήτων πρωτογενούς πρόληψης της νόσου μέσω πρόληψης της λοίμωξης της κάθε γυναίκας από τον ιό [πχ με την εφαρμογή προληπτικών εμβολίων], προοπτική η οποία αφήνει περιθώρια να πιθανολογήσει κάποιος για τη μείωση στο ελάχιστο ή μέχρι και εξάλειψη της νόσου.

Η αναγνώριση του κεντρικού ρόλου του υψηλού κινδύνου HPV στην αιτιολογία του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας παγκοσμίως, οδήγησε στην ανάπτυξη και τη χρήση του προληπτικού εμβολιασμού ως ένα νέο τρόπο πρόληψης του καρκίνου. Δύο εμβόλια βασισμένα στην πρωτεΐνη L1 του καψιδίου των ιών HPV 16 και 18 έχουν επιφέρει σχεδόν 70% αποτελεσματικότητα, αφενός, στην πρόληψη της επίμονης λοίμωξης και , αφετέρου, στις προκαρκινικές βλάβες που σχετίζονται με τον ιό. Το πρώτο εμβόλιο είναι γνωστό με την ονομασία Gardasil και το δεύτερο με την ονομασία Cervarix. [33]

Με την ανάλυση των γονιδιωμάτων των διαφορετικών τύπων του ιού, τα μέτρα αυτά θα μπορούσαν, κάποια στιγμή στο μέλλον, να επιφέρουν 100% αποτελεσματικότητα. Με τη βοήθεια της επιστήμης, τα προληπτικά εμβόλια, από τη μία, θα μπορούσαν να καλύπτουν ένα πιο ευρύ φάσμα τύπων, έναντι των δύο μόνο που καλύπτουν αυτή τη στιγμή, και τα διαγνωστικά μέσα, από την άλλη, με την ανακάλυψη πιο εφευρετικών μεθόδων ταυτοποίησης, θα μπορούσαν να γίνουν πιο οικονομικώς προσιτά στο ευρύ κοινό. Από αυτά, γίνεται σαφής ο κυρίαρχος ρόλος της γονιδιακής ανάλυσης στην πρόληψη και στη διάγνωση της HPV λοίμωξης.

## 4.2 ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Εφόσον διαγνωστεί η HPV λοίμωξη ή/και ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας, το σημαντικό είναι ότι αν μελετώντας μια σειρά από πολλά γονίδια μπορούμε να ανιχνεύσουμε τις ιδιαιτερότητες που έχει ένας όγκος από έναν άλλον ίδιο όγκο σε ένα διπλανό ασθενή, τότε θα είμαστε σε θέση να χορηγήσουμε πιο εξατομικευμένη θεραπεία. Αυτό στην πράξη σημαίνει ότι θα ξέρουμε ποια θεραπεία από αυτές που έχουμε στο «οπλοστάσιό» μας θα αποδώσει καλύτερα σε ποιον συγκεκριμένο ασθενή.

Τα τελευταία χρόνια ήταν ιδιαίτερα παραγωγικά όσον αφορά στη δημιουργία φαρμάκων νέας γενιάς πιο αποτελεσματικών και λιγότερων τοξικών από παλιά. Η μεγάλη ελπίδα των επιστημόνων για τη δημιουργία νέων φαρμάκων θα πρέπει να βασίζεται στην εξατομίκευση, δηλαδή στον προσδιορισμό του ιδιαίτερου προφίλ του καρκίνου κάθε ασθενούς, με βάση τα γονίδια, τον τύπο του ιού, την καταγωγή του, τη συγγένειά του, το είδος του όγκου κτλ. Η επιστήμη θα πρέπει να απομακρυνθεί πια από την κλασική χημειοθεραπεία, που έχει μεγάλη τοξικότητα και καταστρέφει αδιακρίτως υγιή και καρκινικά κύτταρα και να προσανατολιστεί στη δημιουργία φαρμάκων, τα οποία ανιχνεύουν τα καρκινικά κύτταρα και σκοτώνουν μόνο αυτά, ενώ σέβονται τα διπλανά τους. Τα εν λόγω φάρμακα θα είναι πιο αποτελεσματικά και λιγότερο τοξικά και αναμένεται να παρατείνουν το προσδόκιμο ζωής.

Επιπλέον, υπάρχει και η άποψη πως θα πρέπει να κάνουμε τον ιό σύμμαχό μας. Δεν είναι λίγες οι φορές που έχουμε ακούσει πως «ιός εξοντώνει καρκινικά κύτταρα». Η σχέση ιών και καρκίνου φαίνεται να είναι αμφίδρομη. Ορισμένοι, δηλαδή, ιοί ενοχοποιούνται για την ανάπτυξη καρκίνων, όπως και ο ιός των ανθρωπίνων κονδυλωμάτων, ενώ από την άλλη πολλοί ιοί, μπορεί να επιστρατευτούν για τη θεραπεία καρκίνων. Ο ίδιος μηχανισμός που απορρυθμίζει το κύτταρο και το καθιστά καρκινικό, ίσως να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ώστε το καρκινικό κύτταρο να ξαναγίνει υγιές. «Ο ιός», όπως χαρακτηριστικά εξηγεί ο ογκολόγος κ. Κωνσταντίνος Συρίγος, «δεν είναι τίποτα άλλο από ένα όχημα που κουβαλά γενετικό υλικό. Μέχρι τώρα αυτό έκανε κακό. Αλλά εμείς μπορούμε να επιλέξουμε το γενετικό υλικό που θα τοποθετήσουμε στον ιό και να το καθοδηγήσουμε στα κύτταρα για να κάνει καλό». [42] Για να συμβεί, όμως, αυτό θα πρέπει να γνωρίζουμε ποιο γενετικό υλικό θα τοποθετήσουμε, τί ιδιότητες θα έχει και με ποιά άλλα γενετικά υλικά θα μοιάζει, έπειτα από μια σειρά αναλύσεων και συγκρίσεων.

Τέλος, θα κλείσουμε την εργασία αυτή με μια επαναστατική θεραπεία για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, όπως δημοσιεύτηκε πριν ενάμισι χρόνο στην *Telegraph*, όπου Βρετανοί ερευνητές διαπίστωσαν ότι ένα φάρμακο που χορηγείται για την καταπολέμηση του ιού HIV φαίνεται ότι μπορεί να θεραπεύσει τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.

Η ανακάλυψη έγινε από επιστήμονες του Πανεπιστημίου Μάντσεστερ, οι οποίοι με έκπληξη διαπίστωσαν ότι η ουσία λοπιναβίρη επιτίθεται στο στέλεχος του ιού των ανθρωπίνων θηλωμάτων (HPV). Όπως ανέφεραν οι επιστήμονες στην εφημερίδα *Telegraph*, η σημαντική αυτή ανακάλυψη έγινε μάλλον τυχαία, ενώ μελετούσαν τον HPV16, που είναι το βασικό καρκινογόνο στέλεχος του ιού. Στην ίδια μελέτη, η οποία ξεκίνησε το 2002, οι επιστήμονες ανέλυσαν τον τρόπο με τον οποίο οι πρωτεΐνες του ιού αλληλεπιδρούν με εκείνες του ανθρώπινου οργανισμού.

Μετά από περίπου δέκα χρόνια, οι ερευνητές ανακάλυψαν ότι η ουσία λοπιναβίρη λειτουργεί «πολυλειτουργικά», καθώς η επίδρασή της δεν περιοριζόταν στις πρωτεΐνες του ιού, αλλά και σε εκείνες των καρκινικών κυττάρων.

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε από τον δρ Ian Hampson, μοριακό βιολόγο που ερευνά τη σχέση που υπάρχει ανάμεσα στους ιούς και τον καρκίνο, μαζί με τη σύζυγό του, Lynne,

λέκτορα ιικής ογκολογίας στο Πανεπιστήμιο Μάντσεστερ. Όπως ανέφεραν στην Telegraph, για να φτάσουν σ' αυτήν την ανακάλυψη έπρεπε να ξεπεράσουν πολλά εμπόδια, όπως η έλλειψη χρηματοδότησης, αλλά και η αδιαφορία για το θέμα. «Η ουσία αποδείχθηκε πολύ τοξική. Βλέπαμε στο εργαστήριο τα κύτταρα να πεθαίνουν», είπε στην εφημερίδα ο δρ Hampson.

Η ουσία χορηγείται στον οργανισμό σε μορφή κάψουλας, η οποία εισέρχεται στον κόλπο και σκοτώνει τα καρκινικά κύτταρα που έχουν προσβάλει τον τράχηλο της μήτρας. Μέχρι στιγμής φαίνεται ότι δεν υπάρχουν παρενέργειες, ωστόσο ο δρ Hampson θέλει να διεξάγει μια ακόμα μεγαλύτερη μελέτη. «Εξαιτίας αυτής της ασθένειας πεθαίνει μια γυναίκα κάθε δύο λεπτά», είπε ο δρ Hampson. Τα αποτελέσματα της πρώτης δοκιμής είναι εκπληκτικά, όμως μάλλον θα πρέπει να περιμένουμε έξι μήνες για να δημοσιευθεί η έκθεση και άλλον έναν χρόνο για να ξεκινήσει μια ακόμα μεγαλύτερη μελέτη. Η θεραπεία αυτή πρέπει να γίνει πραγματικότητα». [43]

## ***ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ***

- [1] Γεώργιος Χ. Σάμπαλης, «Λαπαροσκοπική αντιμετώπιση γυναικολογικών προβλημάτων», Διαδικτυακή σελίδα Δρ. Χ. Σάμπαλη, 17/06/2015
- [2] Γεώργιος Μ. Ιατράκης, «Βιβλίο Γυναικολογίας», Εκδόσεις Δεσμός, 2012
- [3] Eurocytology – Anatomy, Physiology and histology of the cervix, <http://www.eurocytology.eu/static/eurocytology/gre/cervical/LP1ContentAcont.html#1>, 17/06/2015
- [4] Γεώργιος Μ. Ιατράκης, «Κολποσκόπηση τραχήλου, κόλπου και αιδοίου», Εκδόσεις Πασχαλίδης, 2010
- [5] Barbara Young, James S. Lowe, Alan Stevens, John W. Heath. «Wheater's functional histology : a text and colour atlas». Churchill Livingstone (5th edition), 2006
- [6] John M McLean. «Morphogenesis and Differentiation of the cervicovaginal epithelium.» In Jordan, Joseph; Singer, Albert; Jones, Howard et al. «The Cervix.» Wiley-Blackwell; (2nd edition), 2006
- [7] B. Bates. «Οδηγός για κλινική εξέταση», Εκδόσεις Λίτσας, 2010
- [8] Croce CM. «Oncogenes and cancer». N Engl J Med. 2008 Jan 31;358(5):502-11
- [9] Knudson AG. «Two genetic hits (more or less) to cancer». Nat Rev Cancer. 2001 Nov;1(2):157-62
- [10] Wikipedia, Mitosis, <https://en.wikipedia.org/wiki/Mitosis> , 03/07/2015
- [11] Διάλεξη της δρ. Αδαμαντίας Παπαχατζοπούλου του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Πατρών, <https://www.yumpu.com/fr/document/view/18894496/papachatzopoulou-lecture-1> , 03/07/2015
- [12] Διαδικτυακή σελίδα του Πανεπιστημίου Αθηνών – Αρετাইείου Νοσοκομείου <http://www.aretaiείο-obgyn.com/el/hpv.html?start=1>, 06/07/2015
- [13] Διαμαντής Αριστείδης, «Κονδυλώματα και καρκίνος του τραχήλου της μήτρας», Scribd, 2013
- [14] Θεόδωρος Ξεν. Βασιλειάδης, «Κονδυλώματα των γεννητικών οργάνων στον άνθρωπο ως λοίμωξη από τον ιό κονδυλωμάτων», <http://www.doctorvasiliadis.gr/iatrika/menugynekologika/numainhpv.html> , 06/07/2015
- [15] Σαλαμά Εμμανουέλα, Στεφανίδη Σοφία. «Μελέτη του επιπέδου ενημέρωσης αναφορικά με τον Ιό του Ανθρώπινου Θηλώματος (HPV) στον γενικό πληθυσμό».2014
- [16] «Eukaryotic Origins: Kinds and components of origins», [http://mol-biol4masters.masters.grkraj.org/html/Eukaryotic\\_DNA\\_Replication2-Eukaryotic\\_Origins.htm](http://mol-biol4masters.masters.grkraj.org/html/Eukaryotic_DNA_Replication2-Eukaryotic_Origins.htm) ,13/07/2015

- [17] K. Morshed, D. Polz- Gruszka, M. Szymanski, M. Polz- Dacewicz M. «Human Papillomavirus (HPV) - Structure, epidemiology and pathogenesis». Otolaryngol Pol. 2014 Sep-Oct;68(5):213-9.
- [18] Nubia Munoz, F. Xavier Bosch, «Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with cervical cancer». N Engl J MED, 2003
- [19] Αλέξανδρος Μορτάκης, «Ενημέρωση για κονδυλώματα – HPV – CIN/LSIL/HSIL», Διαδικτυακή σελίδα του δρ. Αλέξανδρου Μορτάκη, 17/07/2015
- [20] The society of obstetricians and gynaecologists of Canada, «What is HPV?», <http://hpvinfo.ca/what-is-hpv/>, 17/7/2015
- [21] Sarah C.P. Williams. «HPV Transmission: 20% Chance an Uninfected Partner will pick up virus», My Health News Daily Contributor, 2011
- [22] Ανθούλη – Αναγνωστοπούλου Φρ., Κανέλλος Ε., «Στοιχεία Παθολογικής Ανατομικής και Ογκολογίας», Εκδ. Λύχνος, 2001
- [23] L. Sarian, S. Derchain, P. Naud. «Evaluation of visual inspection with acetic acid (VIA) Lugol's iodine (VILI), cervical cytology and HPV testing as cervical screening tools in Latin America», J Med Screen, 2005
- [24] Θεόδωρος Ζαμπέτογλου, «Κολποσκόπηση», Διαδικτυακή σελίδα <http://zampetoglou.com/project/kolposkopsh/> , 23/07/2015
- [25] Ευφροσύνη Λαϊνη, «Ποια είναι η σημασία του τακτικού ελέγχου με τεστ Παπανικολάου», Διαδικτυακή σελίδα «TESTPAP» <http://www.testpap.com/αποτελέσματα-τεστ-παπανικολάου/> , 2014
- [26] Πέννυ Μπουλουτζα, «Το τεστ ΠΑΠ και πάλι στο επίκεντρο...», Η Καθημερινή, 2014
- [27] Ηρώ Κουνάδη, «Τι δείχνει το Τεστ Παπ», Διαδικτυακή σελίδα in2life <http://www.in2life.gr/wellbeing/health/article/189423/ti-deihnei-to-test-pap.html> , 2010
- [28] «Τεστ Παπανικολάου - Η αξιόπιστα και ισχυρότερη μέθοδος προληπτικού ελέγχου για τον καρκίνο τραχήλου της μήτρας», Διαδικτυακή σελίδα <http://www.pare-dose.net/309>, 2008
- [29] Ν. Αλεβιζόπουλος, Μ. Βασλαματζής. «Η χρήση των εμβολίων στο καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας». Νοσοκ. Χρονικά, 70, Συμπλήρωμα, 124-135, 2008
- [30] R. Rosales, C. Rosales. «Immune therapy for human papillomaviruses- related cancers». World J Clin Oncol. 2014 Dec 10; 5(5): 1002–1019.
- [31] von Krogh G, Lacey CJ, Gross G, Barrasso R, Schneider A. «European course on HPV associated pathology: guidelines for primary care physicians for the diagnosis and management of anogenital warts». Sex Transm Infect. 2000 Jun;76(3):162-8.
- [32] Wright TC, Massad LS, Dunton CJ, Spitzer M, Wilkinson EJ, Solomon D. «2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests». Am J Obstet Gynecol, 2007

- [33] Χριστοδούλου Ε. «Εξελίξεις στην έρευνα για τον HPV και τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας». Ιατρικά Χρονικά Βορειοδυτικής Ελλάδος 2009, Τόμος 5, Τεύχος 2
- [34] Alberts B., Bray D., Hopkin K., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. «Βασικές Αρχές Κυτταρικής Βιολογίας». Broken Hill Publishers, 2006
- [35] Ζωή Παπαδοπούλου Νταϊφώτη. «Φύλο και βιολογία». Φυλοπαιδεία e-λεξικό, 08/09/2015
- [36] New database and view options for Nucleotide BLAST services.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Web/Newsltr/V15N2/BLView.html>, 16/09/2015
- [37] NCBI, «Introducing the BLAST homepage and form elements/functions of selected search pages», 2015
- [38] Kelvin Yuen Kwong Chan, «Evolution and Taxonomic Classification of Human Papillomavirus 16 (HPV16)-Related Variant Genomes: HPV31, HPV33, HPV35, HPV52, HPV58 and HPV67», PLoS One, 2011
- [39] Zhi-Ming Zheng, «Evolution and Taxonomic Classification of Alphapapillomavirus 7 Complete Genomes: HPV18, HPV39, HPV45, HPV59, HPV68 and HPV70», PLoS One, 2013
- [40] Ν. Λαζαράκη, Ι. Σαράντος, «Βιολογία Γ' Λυκείου Γενικής Παιδείας», εκδ. Πουκαμισάς, 2011
- [41] National Center for Biotechnology Information (US), «The NCBI Handbook, 2nd edition», NIH, 2013
- [42] Φωτεινή Βασιλοπούλου, «Φάκελος- Καρκίνος: Είμαστε στην αρχή του τέλους;», Vita, <http://www.vita.gr/ygeia/article/10824/fakelos-karkinos-eimaste-sthn-arxh-toy-teloys-prolhps-h-diagnwsh-therapeia/> , 05/10/2015
- [43] Cherrill Hicks, «End in sight for cervical cancer?», The Telegraph, , 2014