

MODALITÀ DI PARTECIPAZIONE AL CORSO

L'iscrizione dovrà avvenire tramite compilazione della scheda di adesione disponibile sul nostro portale www.Odontoiatria33.it, che permetterà al provider di fornire via e-mail all'utente uno username e una password. Per maggiori informazioni www.Odontoiatria33.it

Infezione orale da *Human papillomavirus*: dalla verruca al carcinoma orale. Epidemiologia, clinica, prevenzione e terapia

Oral infection by Human papillomavirus: from warts to oral cancer. Focus on epidemiology, clinics, prevention and therapy

N. Termine, G. Campisi*

Università degli Studi di Palermo, Dipartimento di Discipline Chirurgiche Oncologiche e Stomatologiche, Settore Scientifico di Medicina Orale "V. Margiotta"

Ricevuto il 14 novembre 2014

Accettato il 30 marzo 2015

*Autore di riferimento

Giuseppina Campisi
campisi@odonto.unipa.it

RIASSUNTO

Obiettivi. Prendere in esame l'epidemiologia e le manifestazioni cliniche dell'infezione orale da *Human papillomavirus* (HPV), con particolare attenzione alle lesioni con potenziale oncologico maligno. **Materiali e metodi.** È stata condotta una revisione sistematica della letteratura finalizzata a descrivere lo stato dell'arte in merito all'infezione da HPV nella mucosa orofaringea e alle relative modalità di trasmissione del virus con particolare riferimento alla possibile contemporanea infezione in sedi anatomiche multiple. Vengono approfonditi gli aspetti riguardanti la prevenzione e il controllo dell'infezione mediante la somministrazione di vaccini e lo svolgimento di campagne conoscitive di educazione sessuale. Si descrivono inoltre i protocolli terapeutici, ove necessari. **Risultati e conclusioni.** Negli ultimi anni si è assistito a un crescente interesse da parte della medicina per l'infezione orale da HPV, alla luce delle evidenze scientifiche che suggeriscono un ruolo di tale famiglia di virus nello sviluppo di neoplasie del distretto orofaringeo oltre che della cervice uterina. Anche i mass media hanno sempre più spesso affrontato la problematica, suscitando frequente allarmismo tra i pazienti odontoiatrici. L'odontoiatra pertanto necessita di una completa e aggiornata conoscenza relativa a tale condizione infettiva che costituisce una delle più frequenti cause di infezioni sessualmente trasmesse delle mucose (per esempio genitali, anali e orali). Qualunque sia la disciplina prevalente alla quale si dedica l'odontoiatra, la conoscenza di tali nozioni costituisce un requisito basilare al fine di promuovere la salute dei pazienti e fornire loro le più esaustive indicazioni in merito.

Parole chiave: *Human papillomavirus* | Carcinoma dell'orofaringe | Infezione orale a trasmissione sessuale | Vaccini anti-HPV | HPV test

ABSTRACT

Objectives. *The aim of this study is to examine the epidemiology and clinical manifestations of oral infections by Human papillomavirus (HPV), especially related to potentially malignant lesions. **Materials and methods.** A systematic review has been carried out with an aim to describe the state of the art about oropharyngeal HPV infection, its mode of transmission and the possible simultaneous infection in multiple anatomical sites. Moreover, the review focuses on prevention by vaccines and campaigns of sex education, as well as treatment protocols, whenever necessary. **Results and conclusions.** In recent years, medical literature has demonstrated a growing interest in HPV infections of the oral cavity and oropharynx, in view of scientific evidence suggesting a role of this viral family in the oropharyngeal district and in the uterine cervix carcinogenesis. Moreover, the media have increasingly addressed the issue and frequently spread alarm among dental patients. The dentist is therefore expected to have a thorough and updated knowledge relating to this infectious condition, which is one of the most common causes of sexually transmitted infections of the mucous membranes (genital, anal and oral). Whatever specialty area a dentist is pursuing, the knowledge of these concepts is a basic requirement for promoting the health of patients and for providing them with comprehensive information about this topic.*

Key words: Human papillomavirus | Carcinoma of the oropharynx | Sexually transmitted oral infection | HPV vaccines | HPV test

1. Introduzione

È stato ampiamente validato il ruolo eziologico dell'infezione da *Human papillomavirus* (HPV) nello sviluppo dei carcinomi squamocellulari (CSC) della cervice uterina, per i quali lo status infettivo persistente sostenuto da genotipi ad alto rischio oncogeno costituisce la causa necessaria nella quasi totalità dei casi. Esistono altresì forti evidenze a sostegno di un ruolo causale di tali virus nell'eziopatogenesi di una quota parte di CSC di altre sedi anatomiche, sia dell'area anogenitale sia dell'area testa-collo (per esempio faringe, laringe e cavità orale) [1].

L'infezione genitale da HPV è una delle più diffuse infezioni sessualmente trasmesse (STI) nella popolazione mondiale: negli Stati Uniti è stato stimato che la prevalenza dell'infezione nelle donne di età compresa nel range 19-54 anni sia pari al 40% circa e risulta fortemente associata ai fattori di rischio relativi al comportamento sessuale [2]; in Europa la prevalenza dell'infezione cervicale da HPV ad alto rischio oncologico è del 3-15% nelle donne di età compresa tra 20 e 60 anni, ma è significativamente più elevata (29-45%) nelle giovani donne (20-24 anni) [3].

Alla luce dei cambiamenti nelle abitudini sessuali nella popolazione generale avvenuti negli ultimi decenni (per esempio riduzione dell'età di esordio dell'attività sessuale, incremento del numero dei partner, abitudini sessuali orogenitali), sono mutate di riflesso le caratteristiche epidemiologiche dell'infezione sia nel distretto genitale sia in quello orofaringeo, con una sempre maggiore esposizione all'infezione di pazienti in

età precoce [4], al punto che gli epidemiologi hanno ormai definito endemica l'infezione da HPV.

Questo fenomeno spiegherebbe l'incremento della frequenza di CSC HPV-relati nei distretti target. In particolare è stato rilevato che il riscontro del virus HPV 16 nelle cellule epiteliali delle cripte tonsillari e della base linguale è significativamente associato alla presenza di un CSC (rischio di infezione aumentato di 13 volte nei soggetti con carcinoma rispetto ai controlli sani) [5]. Nella cavità orale propriamente detta (per esempio sedi anatomiche poste al davanti dei pilastri palatini anteriori) il rischio di infezione da HPV nei CSC sarebbe invece inferiore, pur essendo quasi quadruplicato rispetto ai pazienti con mucosa sana [6].

Si deduce pertanto come la conoscenza della storia naturale dell'infezione da HPV, dei fattori di rischio, delle possibili manifestazioni cliniche e delle attuali strategie preventive e terapeutiche, oltre a rappresentare un'enorme sfida per i responsabili della salute pubblica, costituisca un presupposto indispensabile nella formazione dell'odontoiatra, sempre più spesso coinvolto nella gestione del paziente a rischio di infezione o con le manifestazioni cliniche della stessa.

Questa revisione della letteratura è finalizzata a descrivere lo stato dell'arte relativamente all'infezione virale nella mucosa orale e orofaringea e alle modalità di trasmissione, con particolare riferimento alla possibile contemporanea infezione in sedi anatomiche multiple (per esempio mucosa anogenitale e orofaringea), alle manifestazioni cliniche e all'attualità in tema di prevenzione e terapia.

■ 2. Virologia e storia naturale dell'infezione da HPV

■ 2.1 Organizzazione del genoma virale e ciclo vitale

Gli HPV sono piccoli virus a DNA bielicoidale appartenenti alla famiglia dei *Papillomaviridae*, caratterizzati da ubiquitarietà, specie-specificità e tropismo per le cellule epiteliali.

A partire dagli anni Ottanta, grazie all'introduzione delle tecniche di biologia molecolare, sono stati analizzati l'intero patrimonio genetico virale e i meccanismi di interazioni virus-cellula. Sulla base del sequenziamento del DNA sono stati finora identificati oltre 130 tipi di HPV, definiti per l'appunto "genotipi" (consultabili nel database pave.niaid.nih.gov/#home), mentre sono in attesa di tipizzazione circa 300 nuovi genotipi candidati.

Gli HPV vengono distinti in *tipi cutanei*, che infettano principalmente mani e piedi, e *tipi mucosali*, che hanno come target la mucosa del cavo orale, delle alte vie aeree e digerenti, del distretto anogenitale, dell'uretra e della congiuntiva.

Sulla base del comportamento biologico delle lesioni indotte dal virus, essi sono stati inoltre suddivisi in tre gruppi:

- *HPV ad alto rischio oncologico* (High Risk o HR-HPV) come gli HPV 16, 18, 45, 56, 59, 66, 67, 68, 70, 73, 82, associati a lesioni potenzialmente e francamente maligne (per esempio CSC anogenitali e del distretto testa-collo);
- *HPV a rischio oncologico intermedio* come gli HPV 31, 33, 35, 39, 51, 52, 53, 58;
- *HPV a basso rischio oncologico* (Low Risk o LR-HPV) come gli HPV cutanei 2, 4, 27 e i tipi mucosi 6, 11, 13, 32, 42 più comunemente associati a malattie benigne (per esempio verruche volgari, condilomi e papillomi).

Dal punto di vista strutturale, gli HPV presentano un diametro di circa 55 nm e hanno un capsido icosaedrico di 72 subunità organizzate simmetricamente in 20 facce tali da conferire al virione, al microscopio elettronico, l'aspetto caratteristico di una "pallina da golf" [7]. Il capsido è costituito da due proteine: L1 (proteina maggiore) e L2 (proteina minore). La mancanza dell'envelope giustifica la bassa antigenicità dell'infezione e rende il virus molto stabile, infettivo per anni, resistente all'inattivazione alcolica, al congelamento, all'essiccazione e a svariati agenti antivirali.

Il genoma virale è costituito da una molecola a doppia elica di DNA circolare, composto da circa 7.200-8.000 paia di basi. Nonostante il piccolo genoma, la biologia molecolare degli HPV è

assai complessa. La trascrizione avviene unidirezionalmente e, in genere, soltanto uno dei due filamenti contiene le sequenze codificanti o "cornici di lettura aperta" (Open Reading Frames, ORF). L'analisi genica ha rivelato la presenza di tre regioni funzionalmente distinte [7]:

- la *prima regione*, chiamata "Long Control Region" (LCR; 10% della sequenza nucleotidica), non codifica per alcuna proteina ma contiene i siti di legame per molti repressori e attivatori trascrizionali virali e cellulari. In altre parole, svolge funzione regolatoria della trascrizione e della replicazione del genoma virale sotto il controllo della cellula ospite;
- la *seconda regione*, chiamata "precoce" o "Early" (E; 45% della sequenza nucleotidica), contiene gli ORF da E1 a E8, espressi nelle fasi iniziali del ciclo replicativo virale. Essi codificano per proteine funzionali implicate nella regolazione della duplicazione del DNA, nella persistenza del genoma e nell'oncogenesi cellulare HPV-indotta. Tali geni sono gli unici a essere espressi nelle cellule con infezione non produttiva dello strato basale dell'epitelio. Alcuni di essi possiedono azione oncogena, in quanto in grado di interferire con la regolazione del ciclo cellulare e dell'apoptosi e di immortalizzare i cheratinociti infetti;
- la *terza regione*, chiamata tardiva o "Late" (L; 45% del DNA), contiene due sequenze geniche, L1 e L2, codificanti per le proteine strutturali del capsido, espresse durante fasi conclusive del ciclo replicativo nelle cellule epiteliali squamose differenziate degli strati superficiali.

In tabella I sono riportate le funzioni delle singole proteine strutturali e funzionali dell'HPV.

È stata dimostrata la capacità dei genotipi HR di integrare parte del loro genoma, in particolare la regione oncogena E6/E7, nel DNA della cellula ospite e le proteine trasformanti da essi codificate (pE6/pE7) possiedono un'affinità maggiore per le rispettive proteine bersaglio rispetto alle medesime proteine prodotte dai genotipi LR [7].

Il ciclo vitale del virus è strettamente dipendente dal processo differenziativo della cellula epiteliale o cheratinocita ospite, mentre la storia naturale dell'infezione dipende dal genotipo coinvolto. I progressivi cambiamenti che il cheratinocita infetto subisce nel corso della sua differenziazione, a partire dallo strato basale fino agli strati superficiali, creano le condizioni microambientali idonee alla replicazione virale e all'assemblaggio di nuovi virioni [8].

Il ciclo vitale ha inizio con l'ingresso del virus nelle cellule dello strato basale dell'epitelio, le uniche permissive all'infezione,

Tab. I Funzioni delle singole proteine strutturali e funzionali dell'HPV

Proteine	Funzioni
pE1	Avvio della replicazione e trascrizione del DNA e controllo del mantenimento dello stato episomico
pE2	Principale fattore di regolazione intragenomica, dirige la replicazione e la trascrizione del DNA virale, in particolare degli ORF E6-E7
pE3, pE8	Non ancora chiarite
pE4	Proteina espressa nelle fasi tardive del ciclo replicativo: promuove, attraverso l'arresto dell'organizzazione del citoscheletro, le tipiche alterazioni citopatiche virus-indotte (coilocitosi) e il rilascio dei virioni dalla cellula
pE5	Proteina oncogena. La sua interazione con proteine della membrana cellulare è capace di stabilire alterazioni della morfologia cellulare e di indurre iperplasia epiteliale mediante l'attivazione dell'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor)
pE6	Proteina oncogena. Realizza il legame e la degradazione della proteina antioncogena p53, con perdita delle funzioni da essa svolte (per esempio controllo del ciclo cellulare, promozione della riparazione del DNA danneggiato e induzione dell'apoptosi delle cellule mutate/danneggiate)
pE7	Proteina oncogena. Realizza il legame con la proteina Rb, fattore antioncogeno implicato nella regolazione della crescita cellulare. L'interazione tra pE7 e pRb favorisce la replicazione incontrollata del DNA cellulare
pL1	Proteina maggiore del capsido
pL2	Proteina minore del capsido

perché esposte all'ambiente fisiologicamente (per esempio giunzione squamocolumnare nella cervice uterina, mucosa laringea a livello della glottide, mucosa orofaringea in corrispondenza delle cripte tonsillari) oppure in presenza di microabrasioni o lacerazioni del rivestimento epiteliale stesso. Questo aspetto spiega la particolare suscettibilità all'infezione da HPV dei distretti anatomici ricoperti da epitelio sovramenzionati.

La prima fase dell'infezione consiste nel legame del virione alla cellula ospite mediato da specifici recettori (per esempio $\alpha 6$ -integrina, laminina-5 ed eparansolfato). Dopo l'ingresso, il capsido si scompone e il genoma virale entra nel nucleo della cellula per replicarsi. Questo meccanismo si sviluppa con modalità differenti nei vari strati dell'epitelio.

- Durante le prime fasi, nelle cellule basali si realizza l'*infezione non produttiva*: queste cellule, metabolicamente attive, possiedono sistemi di controllo altamente regolati che non consentono l'espressione virale, pertanto al virus è consentito di replicarsi contestualmente al DNA cellulare durante le mitosi fino a un massimo di 200-400 volte sotto forma di copie plasmidiche extracromosomiche. Tale modalità di infezione tipica dell'HPV è detta *subclinica* in quanto carat-

terizzata dalla presenza silente del genoma virale nelle cellule basali del sito di inoculazione in assenza di alterazioni cliniche, istologiche e cellulari. Non costituisce uno stato di malattia bensì una semplice condizione infettiva diagnosticabile solo attraverso la ricerca, con tecniche di biologia molecolare, del DNA virale nelle cellule e può essere indotta sia dai LR-HPV sia dagli HR-HPV.

- Segue una fase di *latenza* o *persistenza* caratterizzata dal mantenimento del genoma virale nelle cellule basali e parabasali in divisione, ripartito equamente alle cellule figlie. In questa fase l'espressione virale è limitata ad alcuni geni precoci (per esempio E1, E2, E6 ed E7).
- La fase finale si svolge negli strati spinosi e superficiali ed è detta *infezione produttiva*: essa è caratterizzata dalla replicazione del DNA virale nelle cellule completamente differenziate e ormai quiescenti in cui il virus, venendo meno il controllo cellulare, può esprimere tutti i suoi geni. Nello strato spinoso si ha inizialmente l'espressione dei geni E6 ed E7 che riattivano gli enzimi di sintesi del DNA cellulare, rendendo di nuovo possibile la duplicazione virale, seguita da uno switch nella modalità di duplicazione del DNA virale che comporta un incremento esponenziale nel numero delle repliche, l'espressione di tutti i geni, la sintesi delle proteine strutturali e la produzione di virioni, i quali vengono rilasciati durante l'esfoliazione dei cheratinociti superficiali [8]. In questo caso si parla di *infezione clinica*, in quanto accompagnata generalmente dalla comparsa di lesioni (per esempio verruche, papillomi, condilomi) dovute alla proliferazione benigna delle cellule epiteliali infette associate ad alterazioni istocitopatologiche (per esempio coilocitosi e iperplasia epiteliale).

Rispetto ai genotipi LR, gli HR-HPV possiedono una terza modalità di infezione, detta *trasformante*, che si realizza quando la condizione infettiva persiste per oltre 18-24 mesi e il DNA virale – per motivi non del tutto chiariti, per esempio insulti traumatici o ormonali, errori nei meccanismi di regolazione – diviene capace di interferire con i fattori di controllo cellulare negli strati basali, si integra nel DNA di tali cellule metabolicamente attive e, privo di meccanismi di controllo, inizia a replicarsi ininterrottamente, iperesprimendo gli oncogeni E6 ed E7 con conseguente sovvertimento dell'equilibrio tra proliferazione e morte cellulare, blocco differenziativo, immortalizzazione cellulare e progressivo accumulo di aberrazioni genetiche [8].

Le conoscenze descritte, studiate e riconosciute nell'epitelio cervicale femminile sono state trasferite agli altri distretti tar-

get, incluso il distretto orofaringeo, sebbene con differenze sostanziali riguardanti la bassa carica virale dell'infezione – riconducibile probabilmente all'azione detergente e blandamente disinfettante della saliva – e la minore quantità di cellule basali esposte all'ingresso del virus.

■ 2.2 Modalità di trasmissione e risposta del sistema immunitario dell'ospite

I virioni maturi, espulsi dalle cellule degli strati superficiali con la desquamazione, vengono trasmessi prevalentemente per *contatto orizzontale diretto* (per esempio rapporto sessuale con contatto sessuale genitale e/o orale con le mucose di un soggetto infetto) o *indiretto* (per esempio tramite strumentario medico, utensili o biancheria contaminati); in entrambi i casi la trasmissione avviene in presenza di microlesioni dell'epitelio che favoriscono l'ingresso del virus nelle cellule basali ricettive. Il virus può anche essere trasmesso *verticalmente* per via materno-fetale (per esempio transplacentare prenatale, durante il parto o postnatale).

Le infezioni anogenitali da HPV riconoscono prevalentemente una trasmissione sessuale da partner infetto. Il rischio di contrarre l'infezione è strettamente correlato all'attività sessuale e incrementato dai fattori predisponenti le STI (per esempio elevato numero di partner sessuali, precoce inizio dell'attività sessuale). L'uso del profilattico non sembra preservare adeguatamente dall'esposizione al virus, poiché esso può essere trasmesso attraverso il contatto con siti infetti non protetti dal condom [9].

La trasmissione a livello dell'orofaringe è, tuttora, poco chiara; è plausibile che le pratiche sessuali orogenitali possano comportare la diffusione del virus da un distretto mucosale all'altro [10,11], mentre poco investigata è la possibilità della trasmissione per autoinoculazione, piuttosto frequente nei bambini [11].

La risposta immunitaria svolge un ruolo molto importante nell'infezione da HPV; è ben documentato, per esempio, che nei soggetti immunocompetenti le verruche cutanee spesso regrediscono spontaneamente, mentre gli stati di immunodeficit, sia congeniti sia acquisiti (per esempio soggetti trapiantati o con AIDS), favoriscono lo sviluppo e la persistenza delle lesioni HPV-indotte. Tuttavia, rispetto ad altre infezioni virali, la risposta immunitaria anticorpale e cellulomediata nei confronti dell'HPV è generalmente poco intensa, in quanto il ciclo di replicazione virale avviene a livello intracellulare, senza citolisi, pertanto la presentazione degli antigeni virali al sistema immu-

nitario è minima e l'infezione può persistere generalmente per mesi o addirittura anni.

■ 2.3 Procedure diagnostiche

L'HPV può associarsi a lesioni clinicamente obiettivabili solo in caso di infezione produttiva, pertanto l'esame obiettivo non è particolarmente utile per la diagnosi.

Altre metodiche diagnostiche impiegate in passato (per esempio istopatologia in microscopia ottica o elettronica, immunostochimica e sierologia) sono state abbandonate poiché poco sensibili e specifiche.

L'analisi istopatologica può solo suggerire l'infezione da HPV, in presenza di alterazioni tissutali quali la discheratosi, l'acantosi, l'iperplasia basale e in particolare la coilocitosi, ovvero la presenza di elementi cellulari, chiamati coilociti, contraddistinti da forma globosa, ampio citoplasma chiaro, nucleo picnotico circondato da un alone chiaro di vacuolizzazione. Tale reperto è patognomonico di infezione da HPV, tuttavia la sensibilità di rilevazione di queste alterazioni è bassa e molto operatore-dipendente. Le particelle virali possono essere evidenziate nei nuclei di cellule epiteliali infette con la microscopia elettronica, ma la metodica è limitata alle sole infezioni produttive.

Le indagini immunostochimiche sono ugualmente di scarsa utilità clinica poiché finalizzate all'individuazione delle proteine capsidiche espresse nella fase tardiva del ciclo vitale dell'HPV. L'unico marker immunostochimico con riconosciuto significato diagnostico è la proteina p16(INK4), la cui iperespressione nei campioni istologici displastici o francamente neoplastici orali e cervicali è fortemente associata all'infezione da HR-HPV, costituendone un marker surrogato, sebbene non sia possibile escludere la contemporanea presenza di altri genotipi [12].

I test sierologici sono di dubbia attendibilità nella diagnosi di infezione attiva o pregressa. La sierconversione, quando si realizza, segue di parecchi mesi (mediamente 8-12 mesi) il rilevamento del DNA virale mediante gli HPV test e la risposta anticorpale non ha un andamento costante in tutti gli individui, talvolta esaurendosi in un breve intervallo di tempo, altre volte persistendo nonostante la negatività dei test molecolari [9].

Attualmente la diagnosi di certezza dell'infezione si avvale delle tecniche di biologia nucleare, finalizzate al rilevamento del DNA del virus all'interno delle cellule a mezzo di sonde geniche marcate, e la metodica biomolecolare più sensibile e più appropriata per identificare ed effettuare la tipizzazione del genoma HPV è la PCR (Polimerase Chain Reaction: reazione a catena della polimerasi). La PCR è una tecnica che consente l'amplifi-

cazione in vitro del DNA a partire da uno specifico frammento ottenendo, per mezzo di una DNA-polimerasi, un numero illimitato di molecole di DNA identiche al frammento di partenza; il vantaggio della metodica è che può essere impiegata anche per testare campioni biologici contenenti quantità estremamente ridotte di acidi nucleici.

Recentemente è stato introdotto il sistema SPF10-LiPA, che consente di effettuare in successione l'amplificazione mediante metodica PCR e l'identificazione del genotipo. Gli studi finora condotti rilevano numerosi vantaggi rispetto alle altre tecniche, quali elevate sensibilità e specificità, semplicità d'utilizzo e infine la possibilità di individuare le infezioni multiple e persistenti. Tuttavia, contrariamente a quanto avviene in ginecologia, in medicina orale non è ancora stato stabilito un protocollo diagnostico standard sia in termini di tipo di campione da sottoporre a indagine biomolecolare (per esempio pezzo istologico vs cellule esfoliate), di metodica di prelievo citologico (per esempio scraping mediante spatola o spazzolino vs sciacquo orale) e di procedura di conservazione del prelievo istologico (per esempio fresco congelato vs fissato in formalina e paraffinato) sia in termini di specifica tecnica biomolecolare da utilizzare. La ricaduta di tale mancata standardizzazione consiste purtroppo nell'ottenimento di risultati non univoci nei vari studi pubblicati in letteratura e nella difficoltà a compararli [13], pertanto si auspica che tale lacuna metodologica venga al più presto colmata dalle società scientifiche internazionali.

Un approccio diagnostico consigliato come metodica di screening nei soggetti con mucosa clinicamente normale è, allo stato attuale delle conoscenze, il prelievo citologico mediante sciacquo orale/gargarizzato di 1 minuto, da eseguire con 10 mL di collutorio a base di cetilpiridinio cloruro o, in alternativa, soluzione salina sterile. Il campione così raccolto va esaminato a fresco presso un laboratorio che esegue le tecniche di biologia molecolare sovrariportate (per esempio SPF10-LiPA) al fine di identificare il tipo o i tipi virali presenti [14]. Questa procedura, oltre alla dimostrata elevata sensibilità, è facilmente eseguibile da parte dell'operatore e del paziente, è minimamente invasiva e pertanto ripetibile per monitorare il paziente in caso di infezione persistente. La tecnica inoltre garantisce il prelievo delle cellule di sfaldamento provenienti dall'intero rivestimento epiteliale della bocca e delle cripte tonsillari, sede quest'ultima ove sussiste un maggiore rischio di persistenza, e una migliore qualità di conservazione del campione biologico prima del processamento da parte del laboratorio. Sono stati recentemente introdotti sul mercato i kit per la ricerca dell'HPV-DNA

nella saliva, sebbene tuttora non unanimemente validati dalla letteratura scientifica.

In presenza di lesioni orali suggestive di infezione virale (si veda, nel paragrafo 3.2, lesioni benigne, DPMO e lesioni maligne), è invece indicato l'utilizzo di un frammento di tessuto lesionale, fresco e immediatamente congelato, prelevato durante la biopsia incisionale diagnostica [15]. Il vantaggio, in quest'ultimo caso, oltre alla possibilità di utilizzare lo stesso prelievo per le indagini istopatologica e virologica, è di ottenere una diagnosi di infezione da HPV sito-specifica; tuttavia, in caso di negatività, non è possibile escludere la presenza del virus nelle altre sedi epiteliali orofaringee.

3. Clinica dell'infezione orale da HPV

La storia naturale dell'infezione da HPV nella cavità orale e nell'orofaringe non è del tutto chiarita, sebbene vi siano alcune caratteristiche simili rispetto a quella descritta per la cervice uterina. Le osservazioni relative alle similitudini istologiche tra distretto cervicovaginale e orofaringeo, entrambi rivestiti da epitelio squamoso non o lievemente cheratinizzato e con un processo di maturazione sovrapponibile [16], e alla capacità

Tab. II Modalità di infezione da HPV nella mucosa orale

Definizione	Manifestazioni cliniche	Descrizione	% infezioni da HPV
Subclinica	Mucosa normale	<ul style="list-style-type: none"> ■ Assenza di lesioni cliniche e istocitopatologiche ■ Rilevamento di HPV-DNA nelle cellule o nei tessuti con tecniche di biologia molecolare 	0-81%
Clinica	Lesioni benigne	<ul style="list-style-type: none"> ■ Papilloma a cellule squamose ■ Condiloma acuminato ■ Verruca volgare ■ Iperplasia epiteliale focale 	5-62% 75-100% 55-100% 80-100%
In associazione	Disordini potenzialmente maligni (DPMO)	<ul style="list-style-type: none"> ■ Leucoplachia orale (LO) ■ Eritroplachia orale (EO) ■ Lichen planus orale (LPO) ■ Leucoplachia verrucosa proliferativa (LVP) 	22-100% 0-54% 11-60% 0-89%
	Lesioni maligne	<ul style="list-style-type: none"> ■ Carcinoma squamocellulare (CSC)* ■ Carcinoma verrucoso (CV) 	0-38% 0-7,7%

* Per il CSC orofaringeo le percentuali sono comprese nel range 37-72%.

del virus di immortalizzare i cheratinociti orali umani in vitro hanno permesso di mutuare al distretto orale il concetto di oncogenicità HPV-indotta accertato in ambito ginecologico. Il virus è stato riscontrato sia nella mucosa orale sana sia in presenza di lesioni di vario grado, come riportato in tabella II. In tabella III, invece, sono sintetizzate le linee guida per l'odontoiatra nei casi di una sospetta lesione HPV-relata.

■ 3.1 Infezione subclinica

Nella mucosa orale normale, la prevalenza dell'HPV in letteratura è compresa in un ampio range (0-81,1%), con un valore medio dell'11% [4].

In un'ampia metanalisi su una popolazione complessiva di oltre 4.500 soggetti Kreimer et al. [17] hanno calcolato una prevalenza di infezione orale subclinica da HPV nel 4,5% dei sog-

getti, nella maggioranza dei casi sostenuta da genotipi HR. Un risultato sovrapponibile è stato ottenuto da Syrjanen et al. [6] che, in una revisione sistematica sulla frequenza dell'HPV nei CSC orali e nei disordini potenzialmente maligni orali rispetto ai controlli sani, hanno calcolato in questi ultimi una frequenza di infezione pari al 12%. Entrambi i gruppi di ricercatori hanno motivato la notevole discrepanza dei risultati tra i vari studi analizzati come conseguenza della mancata omogeneità e standardizzazione dei parametri utilizzati, tra cui: le variabili etnografiche e sociodemografiche della popolazione esaminata, i diversi comportamenti sessuali di quest'ultima, la numerosità campionaria dei gruppi inclusi negli studi e, infine, la variabilità delle tecniche diagnostiche impiegate dalla fase di campionamento fino alla diversa sensibilità delle procedure biomolecolari (si veda il paragrafo 2.3).

Tab. III Vademecum per l'odontoiatra in caso di sospetta infezione da HPV nella mucosa orale

Tipo di infezione	Manifestazioni cliniche	Diagnosi dell'infezione	Gestione
Subclinica	Assenza di lesioni, mucosa clinicamente sana ■ Anamnesi positiva per infezione genitale o contatto sessuale con soggetto HPV positivo	■ Prelievo citologico mediante spazzolino (cytobrush) su tutte le mucose o sciacquo/gargarizzato orale con collutorio a base di cetilpiridinio cloruro o soluzione salina sterile, rilevamento del DNA virale e tipizzazione con metodiche di biologia molecolare (PCR)	■ In caso di positività all'HPV test suggerire norme comportamentali e igieniche per evitare il contagio di partner/familiari ■ Ripetizione del test a 8-12 mesi ed, eventualmente, a ulteriori 12 mesi fino alla negativizzazione del test
Clinica	Lesioni benigne ■ Presenza di neof ormazione esofitica singola/multipla a superficie verrucosa a lenta crescita in assenza di fattori traumatici locali (meccanici, fisici, chimici)	■ L'HPV test può essere effettuato su prelievo citologico eseguito prima dell'escissione della lesione o direttamente su sezione del pezzo incluso in paraffina (concordare con il laboratorio microbiologico di riferimento la modalità di prelievo e conservazione del pezzo) ■ Diversamente inviare il paziente presso la più vicina struttura di secondo livello di Medicina e Patologia orale	■ Biopsia escissionale della lesione e conferma diagnostica istopatologica ■ Follow-up a 6 e 12 mesi per verificare un'eventuale recidiva ■ In caso di positività all'HPV test, ripetizione a 8-12 mesi ed, eventualmente, a ulteriori 12 mesi fino alla negativizzazione del test
In associazione a	Sospetto DPMO ■ Presenza di lesioni singole/multiple a chiazza/placca bianche/rosse/miste di aspetto omogeneo/disomogeneo clinicamente non riferibili a eziologia traumatica locale Sospetto CSC/CV ■ Presenza di lesioni singole o multiple ulcerative e/o nodulari e/o esofitiche e/o a placca disomogenea, croniche, con tendenza alla fissità rispetto ai piani sottostanti associate a dolore e/o mobilità dei denti adiacenti clinicamente non riferibili a eziologia traumatica locale	■ L'HPV test può essere effettuato su prelievo citologico eseguito prima dell'escissione della lesione o direttamente su sezione del pezzo incluso in paraffina (concordare con il laboratorio microbiologico di riferimento la modalità di prelievo e conservazione del pezzo) ■ Diversamente inviare il paziente presso la più vicina struttura di secondo livello di Medicina e Patologia orale ■ Inviare in urgenza il paziente presso la più vicina struttura di secondo livello di Medicina e Patologia orale per la conferma diagnostica	■ Biopsia incisionale della lesione e conferma diagnostica istopatologica ■ Follow-up periodico in funzione delle caratteristiche cliniche e istologiche della lesione, dei fattori di rischio del paziente, dell'esecuzione di eventuale terapia per verificarne il decorso clinico* ■ In caso di positività all'HPV test, ripetizione a 8-12 mesi ed, eventualmente, a ulteriori 12 mesi fino alla negativizzazione del test ■ Eventuali terapie conservative e/o di bonifica del cavo orale propedeutiche al trattamento chirurgico e/o radio e/o chemioterapico

* La gestione clinica, diagnostica e terapeutica di un DPMO dovrebbe essere demandata a odontoiatri con specifica formazione in Medicina e Patologia orale.

Le informazioni riportate in tabella dovrebbero invece essere note a tutti gli odontoiatri per una corretta informazione al paziente e per una migliore gestione multidisciplinare laddove il management di un DPMO preveda anche procedure di odontoiatria generale.

Tuttavia, sulla base di questi risultati, si ritiene che la mucosa orale rappresenti un reservoir di infezione escludendo un interessamento primario del virus nel processo di cancerogenesi orale e si suggerisce che il virus possa semplicemente transitare nella mucosa della cavità orale e talvolta insediarsi in sedi più a rischio, quali le cripte tonsillari, aventi caratteristiche simili alla giunzione squamocellulare cervicale e dove i cheratinociti basali indifferenziati, target dell'infezione da HPV, sono maggiormente esposti all'ambiente.

In tale ottica, pertanto, è auspicabile che le future indagini adottino come tecnica gold standard di campionamento il prelievo citologico mediante sciacquo orale/gargarizzato, al fine di includere anche la regione orofaringea e tonsillare.

> Infezione orogenitale

Vari gruppi di ricercatori hanno studiato la concomitanza dell'infezione orogenitale da HPV al fine di verificare se la presenza dell'infezione a livello genitale e i fattori di rischio legati al comportamento sessuale comportino una probabilità maggiore di trasmissione a livello orale. Gli studi presenti in letteratura riguardano per lo più il genere femminile e hanno chiarito che la trasmissione a livello orale può avvenire in seguito ad auto-inoculazione o per contatto diretto con un partner infetto (per esempio *fellatio*, *cunnilingus*, baci profondi). Relativamente alle percentuali di pazienti con simultanea infezione orocervicale, esse sono influenzate dalla sensibilità delle metodiche diagnostiche.

I primi studi condotti negli anni Novanta con tecniche di scarsa sensibilità e su popolazioni numericamente molto ridotte hanno riportato percentuali di co-frequenza piuttosto elevate (16-24%). Più recentemente, altri gruppi di ricercatori con casistiche più ampie, talvolta includenti anche i partner sessuali, e con tecniche diagnostiche più sensibili, hanno riportato percentuali di infezione bifocale più ridotte, in assenza di concordanza di genotipi tra i due distretti [18] e anche tra i partner, suggerendo l'ipotesi di una differente suscettibilità delle due mucose al virus, maggiore nell'area genitale sia per le diverse caratteristiche tissutali sia per il differente microambiente. È stato infatti proposto un ruolo protettivo svolto dalla saliva in virtù della sua azione detergente e anche per la presenza delle IgA salivari.

Un recente studio condotto in Finlandia sulle dinamiche di trasmissione intrafamiliare del virus ha rilevato che l'11% delle donne e il 26% dei loro partner riferiscono regolari pratiche sessuali orogenitali [19]. In una popolazione di controllo

(giovani studenti universitari) l'infezione veniva rilevata nel 3% dei casi ed era associata al numero totale di partner. Lo studio caso-controllo di D'Souza et al. [10] ha suggerito che il comportamento sessuale a rischio incrementi sia la probabilità di infezione sia di CSC nell'orofaringe rispetto ai controlli.

L'unica metanalisi condotta in letteratura sull'argomento, su un totale di oltre 1.000 donne, ha evidenziato una prevalenza di infezione bifocale pari al 18,1% con una concordanza genotipica nel 27% dei casi di infezione orogenitale [20]. Lo studio ha inoltre rilevato un significativo aumento del rischio in associazione all'infezione da HIV (HIV positive 27,2% vs HIV negative 15,5%). Nel gruppo delle pazienti HIV positive, nel 47% dei casi veniva altresì individuato lo stesso genotipo nei due distretti. Tali dati suggeriscono che sebbene sia possibile la trasmissione dalla mucosa cervicale a quella orale, essa è fortemente condizionata dal sistema immunitario.

L'aspetto più significativo emerso da questi studi è legato all'associazione con il comportamento sessuale, in termini di precocità di esordio e di numero di partner. Sanders et al. [21] hanno calcolato un rischio 10 volte maggiore di infezione orale da HPV nei pazienti con oltre 20 partner sessuali rispetto agli individui con meno di 3 partner. Alla luce sia del notevole mutamento delle abitudini sessuali osservato nelle popolazioni, che ha fortemente influenzato la maggiore diffusione dell'infezione tra i giovani, sia dell'incremento delle pratiche sessuali orali tra i teenager, probabilmente a causa dell'erronea convinzione che si tratti di una forma di attività sessuale risk-free, non è da escludere, purtroppo, un incremento dei casi di infezione orale nei prossimi anni e con esso un maggior rischio di incidenza di CSC HPV-relati.

■ 3.2 Infezione clinica

> Lesioni benigne

L'HPV è coinvolto nella patogenesi di diverse lesioni benigne che si sviluppano nel cavo orale (tab. III), in particolare la verruca volgare (figg. 1 e 2), il papilloma squamoso (figg. 3-6), il condiloma acuminato (figg. 7 e 8a-c) e la più rara iperplasia epiteliale focale. Sono tutte lesioni verruco-papillari a crescita esofitica che possono presentarsi singole o multiple e con una superficie liscia o verrucosa dal colorito bianco, roseo o rosso in dipendenza del livello di cheratinizzazione della lesione stessa. Queste lesioni, asintomatiche, possono svilupparsi in ogni parte della mucosa orale ma più frequentemente a livello della lingua, del palato molle e delle labbra.



Fig. 1 Verruca volgare della commissura labiale



Fig. 2 Verruca volgare del dorso linguale



Fig. 3 Papilloma a cellule squamose della mucosa labiale inferiore



Fig. 4 Papilloma a cellule squamose del ventre linguale



Fig. 5 Papilloma a cellule squamose della gengiva



Fig. 6 Papilloma a cellule squamose del palato duro



Fig. 7 Condiloma acuminato del palato duro

8a



8b



8c



Fig. 8a-c Condilomi acuminati multipli del palato duro, del dorso linguale e del ventre linguale

Nella maggior parte dei casi, eccetto per l'iperplasia epiteliale focale, hanno un aspetto clinico molto simile ragion per cui la diagnosi è basata sull'istologia. A livello istologico gli aspetti comuni sono caratterizzati da proliferazione epiteliale policlonale, coilocitosi – che corrisponde all'estrinsecazione dell'effetto citopatico del virus nei confronti della cellula ospite – e discheratosi.

Nelle condizioni benigne HPV-relate si riscontrano con maggiore frequenza i genotipi LR come HPV 2, 4, 11, 13, 32 sebbene in queste lesioni siano stati isolati anche genotipi HR.

> Disordini potenzialmente maligni

Nell'ambito della trasformazione maligna dei disordini potenzialmente maligni orali (DPMO) risulta tuttora dibattuta la possibile funzione di fattore promuovente dell'HPV [6]. Diversi gruppi di ricercatori hanno vagliato l'ipotesi di un ruolo degli HPV-HR nella promozione della carcinogenesi in presenza di

DPMO, considerato che dal punto di vista biologico le proteine oncogene E6 ed E7 agiscono in una fase assai precoce della carcinogenesi, incrementando considerevolmente le capacità duplicative della cellula epiteliale tramite il blocco delle principali vie apoptotiche. Mentre l'ipotesi che L'HPV contribuisca alla genesi di tali lesioni è stata del tutto scartata, non lo è la questione relativa alla prognosi dei DPMO HPV positivi rispetto agli HPV negativi. La prevalenza dell'infezione nei DPMO è inclusa in un ampio range (0-85%) con una più alta frequenza degli HPV 16 e 18 [17]. Oltre alle sovramentionate criticità relative alle non uniformi procedure diagnostiche, gli studi condotti differiscono tra loro anche in termini di criteri di inclusione, definizione e classificazione delle lesioni, talvolta non istologicamente accertate.

I più comuni DPMO sono la leucoplachia orale (LO), la leucoplachia verrucosa proliferativa (LVP), l'eritroplachia orale (EO) e il lichen planus orale (LPO).

- Relativamente alla LO, la più frequente tra i DPMO e pertanto ampiamente investigata in letteratura, le attuali evidenze suggeriscono un rischio aumentato di infezione da HPV rispetto alla mucosa clinicamente sana, con una prevalenza intorno al 20% [22,23], senza significative differenze in relazione alla presentazione clinica [24]. Più recentemente Szarka et al. [25] hanno pubblicato un dato in aumento, con una prevalenza di LO HPV positive pari al 40,9%.
- La LVP era considerata una rara variante di LO, oggi come un'entità distinta, caratterizzata da multifocalità, spiccata tendenza alla recidiva e alla trasformazione neoplastica [26]. In passato, per via della presentazione clinica (lesioni bianche a placca a superficie irregolare e verrucoide) e dei primi studi virologici che indicavano una frequenza elevata dell'HPV 16, essa è stata fortemente associata all'infezione, tanto da essere definita "viropachia". Tuttavia, studi successivi [24,27] hanno fornito risultati in controtendenza: all'aumentare della sensibilità e specificità dei test diagnostici impiegati, la percentuale di frequenza dell'infezione si riduce o, comunque, non aumenta significativamente rispetto alla LO.
- L'EO costituisce un raro DPMO caratterizzato da spiccatissimo rischio neoplastico. Per via della sua bassissima frequenza, in letteratura sono assai rari i riferimenti rispetto all'infezione virale. Il dato più recente è stato pubblicato da Syrjanen et al. [6]: delle sole 11 EO testate per HPV, il 54,5% è risultato essere HPV 16 positivo.
- Il LPO, patologia mucocutanea infiammatoria cronica a eziologia non nota e genesi immunitaria, è stato altresì indagato in relazione all'infezione virale, con quote di frequenza dell'infezione variabili dal 27% al 65% [6]. Alcuni autori hanno ipotizzato l'influenza della variante clinica erosiva di LPO nell'aumentare il rischio di acquisire l'infezione da HPV, sebbene questa ipotesi non sia stata confermata da studi successivi [23]. Nella revisione di Syrjanen et al. [6] la prevalenza di infezione da HPV nei LPO è stata del 5,12%, con il genotipo 16 come più frequentemente coinvolto.

Gli stessi autori hanno calcolato il rischio di infezione da HPV in presenza di un DPMO, il quale si presenta significativamente aumentato di quasi 4 volte nelle LO e nei LPO rispetto alla mucosa orale sana, mentre il dato non è significativo per le LVP. Tuttavia, volendo rispondere al quesito se l'infezione da HPV svolge un ruolo nella comparsa dei DPMO o abbia un ruolo prognostico negativo, tuttora le evidenze scientifiche a supporto sono piuttosto limitate e controverse, non potendo

escludere l'ipotesi che la presenza della lesione di per sé faciliti l'ingresso e la permanenza del virus. Yang et al. [28] hanno altresì valutato la percentuale di LO che subivano un'evoluzione in senso neoplastico e i vari fattori di rischio, inclusa l'infezione da HPV, evidenziando una mancata corrispondenza genotipica tra l'infezione eventualmente rilevata nelle LO e quella riscontrata nei CSC sviluppatasi nello stesso paziente, o addirittura la scomparsa dell'infezione. Pertanto gli autori hanno concluso che il ruolo eziologico nell'HPV nei primi step della carcinogenesi orale sembra piuttosto modesto.

> Lesioni maligne

La più comune neoplasia maligna del cavo orale è il CSC. Secondo recenti stime sia le percentuali di incidenza annua della patologia sia le percentuali di mortalità non sono diminuite negli ultimi anni, rappresentando tuttora una seria problematica di salute pubblica. La patologia è infatti caratterizzata da notevole aggressività locale e da una prognosi spesso infausta, con una sopravvivenza a cinque anni che varia dal 59,4% al 67%.

Le ipotesi iniziali circa un possibile ruolo eziologico del virus nella carcinogenesi orale e orofaringea, risalenti ai primi anni Ottanta, sono state successivamente supportate dalle seguenti evidenze:

- il trofismo epiteliale del virus;
- il confermato ruolo eziologico degli HPV-HR nella quasi totalità dei CSC della cervice uterina e nel 40% circa dei casi degli altri CSC anogenitali;
- le similitudini istologiche tra gli epitelii di rivestimento dei due distretti mucosi.

Nonostante le similitudini istologiche dei due epitelii, va tuttavia ribadito che l'ambiente della cervice uterina è molto più ricettivo alla permanenza e all'ingresso del virus rispetto a tutte le altre sedi anatomiche.

Il ruolo del virus nella carcinogenesi della cavità orale è assai controverso. Syrjanen et al. [6] hanno riportato che l'infezione da HPV è quasi 13 volte più frequente nei CSC orofaringei e 4 volte più frequente nel CSC orale rispetto alla mucosa sana, specialmente in riferimento all'HPV 16. Anche in questo caso il range di prevalenza dell'infezione è molto ampio (0-100%) e giocano un ruolo chiave le differenze demografiche ed etniche delle popolazioni investigate, le differenti procedure diagnostiche ma soprattutto la classificazione topografica dei CSC del distretto testa-collo per singole sottosesti: infatti è stato rilevato come la prevalenza dell'infezione virale sia particolarmente elevata nei CSC dell'orofaringe (circa il 50% dei casi di CSC della

base linguale e delle tonsille), che costituisce pertanto la seconda sede target dell'infezione e del suo potenziale oncogeno a livello extragenitale [29].

Negli ultimi cinque anni la letteratura scientifica ha sempre più chiaramente distinto due sottotipi tumorali differenti per distribuzione nella popolazione, fattori di rischio, sede anatomica e comportamento biologico, suggerendo l'esistenza di due diversi modelli carcinogenetici [30].

- Il *primo modello* è associato ai fattori di rischio noti (per esempio fumo e alcol), si manifesta prevalentemente negli uomini in età avanzata (per esempio > 60 anni), interessa tutta la cavità orale e presenta un trend epidemiologico in diminuzione, sebbene senza sostanziali riduzioni della mortalità.
- Il *secondo modello* si manifesta invece in soggetti giovani (per esempio < 40 anni), prevalentemente uomini, è indipendente dai tradizionali fattori di rischio e si correla invece al comportamento sessuale (per esempio numero di partner, età di esordio sessuale, pratiche sessuali orogenitali), interessa principalmente l'orofaringe (per esempio pilastri palatini, tonsille, base linguale, faccia inferiore del palato molle, velo pendulo e parete posteriore), costituisce la quota parte di CSC in crescente aumento dal punto di vista epidemiologico e presenta una prevalenza globale dell'infezione da HPV-HR compresa tra il 37% e il 72% [31].

Le evidenze scientifiche disponibili per l'orofaringe vanno pertanto differenziate da quelle disponibili per la cavità orale, sede di competenza dell'odontoiatra. Solo il subset dei CSC orofaringei è quello maggiormente correlato all'infezione da HPV-HR, mentre per il CSC orale le evidenze disponibili depongono per un ruolo eziopatogenetico più marginale o di reservoir per l'attigua sede anatomica.

Un dato interessante è stato riportato da Kim et al. [32], che hanno riscontrato l'HPV-DNA integrato nel 94,1% dei CSC tonsillari esaminati, ove è ben nota la correlazione significativa tra integrazione di HPV-DNA e alterazione del ciclo cellulare.

Il dato più allarmante è costituito dal fatto che secondo le stime epidemiologiche più recenti, a fronte del successo delle campagne di sensibilizzazione contro l'alcolismo e il tabagismo testimoniato dalla riduzione dei nuovi casi di CSC orale fumo e alcol-relati, l'incidenza annua dei CSC dell'orofaringe HPV positivi è aumentata esponenzialmente negli ultimi vent'anni, al punto che è stato stimato che entro il 2020 la loro frequenza sarà superiore a quella dei CSC della cervice uterina e del tratto anogenitale [33].

Dal punto di vista prognostico è stato osservato che i soggetti con CSC orofaringei HPV positivi hanno una prognosi più favorevole rispetto agli HPV negativi. Ang et al. [34], in una revisione di studi clinici randomizzati condotti su pazienti con CSC orofaringei in stadio III e IV chemotrattati, hanno distinto tre categorie con differente prognosi (per esempio rischio basso, intermedio o alto) in relazione ad alcuni parametri (per esempio estensione tumorale, coinvolgimento linfonodale, fumo e infezione da HPV). L'analisi statistica ha confermato che i tumori HPV negativi appartenevano alla categoria a prognosi peggiore, con una sopravvivenza a 3 anni pari al 46,2%, mentre per le forme HPV positive essa era significativamente maggiore (71% nella categoria a rischio intermedio e 93% nel gruppo a rischio basso) [34]. La migliore prognosi sembrerebbe correlata a una maggiore radio e chemosensibilità, attualmente dimostrata per i CSC orofaringei HPV 16 positivi.

Alla luce di queste evidenze, nel 2012 il National Comprehensive Cancer Network® (NCCN) ha aggiornato le linee guida e i work-up diagnostico-terapeutici dei CSC del distretto testa-collo inserendo per la prima volta la ricerca dell'infezione da HPV (per esempio a mezzo di detection immunocitochimica della proteina p16INK4 o di rilevamento biomolecolare dell'HPV-DNA) nel percorso diagnostico dei CSC dell'orofaringe. Sebbene tuttora non siano stati differenziati i protocolli terapeutici per tumori HPV positivi vs quelli negativi, è verosimile che in un prossimo futuro possano essere definiti, con l'obiettivo di realizzare protocolli terapeutici individualizzati.

Il carcinoma verrucoso (CV) orale è una rara variante clinicopatologica di CSC (< 5% dei casi di cancro orale) caratterizzata da alto grado di differenziazione, ridotta aggressività, lento accrescimento e scarsa tendenza alla diffusione metastatica spesso associata a una pregressa LVP. A causa della non semplice diagnosi differenziale con il più comune CSC, il ruolo dell'HPV nella patogenesi del CV non è del tutto chiarito: i pochi dati presenti in letteratura indicano un'associazione sia con i genotipi LR (6 e 11) sia con i genotipi HR (16 e 18), per lo più come infezioni multiple. Tuttavia, la frequenza di rilevamento del virus nei CV del distretto testa-collo è estremamente bassa (7,7%), pertanto non esistono dati a sufficienza per dimostrare un rapporto di causalità [35]. Una recente indagine ha riportato percentuali di prevalenza dell'infezione da HPV-HR similari nei CSC e nei CV orali, non suggerendo una particolare associazione eziopatogenetica di questi ultimi all'infezione [36].

■ 4. Protocolli terapeutici

Contrariamente ad altre condizioni infettive virali che rispondono alla terapia farmacologica, per l'infezione da HPV non sono disponibili principi attivi in grado di eradicare l'infezione o di indurre la regressione delle lesioni cliniche ove presenti. Alcuni farmaci sono stati testati per uso topico e/o sistemico per il trattamento delle lesioni genitali, ma a oggi non per quelle orali. Per l'infezione subclinica orale, similmente a quella genitale, non è previsto alcun trattamento; nessuno dei farmaci antivirali testati (per esempio aciclovir, ribavirina) si è rivelato efficace nell'eliminare l'infezione. Il management prevede il follow-up del paziente e la ripetizione dell'HPV test a distanza di 8-12 mesi dal primo rilevamento e periodicamente per verificare l'eradicazione dell'infezione da parte del sistema immunitario. Naturalmente si definirà "persistente" un'infezione sostenuta sempre dallo stesso genotipo che si mantiene per oltre 18-24 mesi (si veda il paragrafo 2.1) [37].

In presenza di lesioni HPV-relate, il loro trattamento è prevalentemente chirurgico non essendo responsive all'applicazione topica o alla somministrazione sistemica di farmaci ad azione citotossica o immunomodulante. Il trattamento chirurgico consigliato è quello escissionale mediante bisturi a lama fredda, bisturi a risonanza quantica o laser, tale da permettere di eseguire l'esame istologico del pezzo.

Il management di lesioni suggestive di DPMO o di carcinoma in situ/CSC, siano esse singole o multifocali, è molto più complesso. Dovrebbe essere di pertinenza di un clinico con specifica formazione in medicina e patologia orale, prevedendo in primis l'accertamento diagnostico della/e lesione/i mediante biopsia incisionale semplice o a mappa ed eventualmente l'HPV test sul pezzo bioptico. L'escissione completa della lesione dovrebbe essere effettuata a diagnosi istologica confermata, in funzione dell'eventuale presenza di displasia di vario grado (basso vs alto). In presenza di una diagnosi di carcinoma, l'approccio terapeutico è ancora più complesso e dipende dallo stadio del tumore secondo classificazione TNM. Tuttavia è bene tenere presente che, in virtù della multifocalità dell'infezione orofaringea da HPV, la rimozione chirurgica della lesione non garantisce l'eradicazione dell'infezione, poiché l'HPV-DNA potrebbe persistere nell'adiacente mucosa sana.

Le nuove prospettive terapeutiche riguardano la possibilità di utilizzare i "vaccini terapeutici", ovvero vere e proprie molecole in grado di arrestare la crescita tumorale legate a vettori rivolti contro alcuni antigeni virali e pertanto diretti contro i CSC HPV positivi. In questo caso la sfida consiste nella possibilità di

sottoporre in modo altamente selettivo uno specifico istotipo tumorale a una terapia altamente mirata e con effetti collaterali estremamente ridotti rispetto ai protocolli chemioterapici attualmente somministrati, con un beneficio in termini di qualità di vita. Tuttavia le formulazioni vaccinali a scopo terapeutico sono tuttora oggetto di studi di base e non sono ancora applicabili.

■ 5. Prevenzione dell'infezione

Attualmente sono disponibili tre vaccini profilattici già valutati da trial clinici randomizzati, ma solo gli ultimi due sono stati immessi in commercio:

- vaccino monovalente anti-HPV 16;
- vaccino quadrivalente diretto anti-HPV 6, 11, 16 e 18;
- vaccino bivalente anti-HPV 16 e 18.

Il *vaccino quadrivalente* è stato approvato dalla Food and Drug Administration (FDA) nel 2006 per la prevenzione delle lesioni precancerose e dei CSC anogenitali (cervicali, vaginali e vulvari) nelle ragazze di età compresa tra 9 e 26 anni [38]; successivamente è stato esteso anche ai maschi della stessa fascia d'età per la prevenzione del CSC penieno e anale [38]. L'indicazione di questo vaccino, che protegge anche nei confronti dei genotipi LR 6 e 11, include anche la prevenzione dei condilomi e delle verruche anogenitali. Nei trial clinici finora condotti, il vaccino quadrivalente si è rivelato molto efficace nella prevenzione dei CSC anogenitali e delle lesioni premaligne, sia nei pazienti naïve (efficacia > 98%) sia negli individui precedentemente infetti (efficacia compresa tra il 50 e il 78%).

Il *vaccino bivalente* è stato testato solo per il CSC cervicale e non per le altre neoplasie HPV-relate ed è stato raccomandato per le ragazze di età compresa tra 10 e 26 anni. Le percentuali di efficacia nella prevenzione delle lesioni premaligne e maligne di tale distretto mucoso anche in questo caso sono estremamente elevate (> 97% per i soggetti naïve) [39]. È verosimile tuttavia che il vaccino bivalente, strutturalmente e funzionalmente simile al quadrivalente, sia efficace nel prevenire anche le lesioni HPV 16 e 18-relate in altri distretti mucosi. In entrambi i casi la vaccinazione è tridose [40] e attualmente la maggior parte degli Stati europei (per esempio Svezia, Italia, Francia, Paesi Bassi, Germania, Svizzera, Danimarca, Spagna, Belgio) e oltre 70 Stati nel mondo hanno attivato programmi ministeriali di vaccinazione gratuita diretti alle ragazze di 9-17 anni, con una percentuale di adesione di circa il 50%. Queste campagne vaccinali, destinate alle giovani adolescenti prima dell'esordio sessuale, sono finalizzate all'ottenimento non solo

dell'immunizzazione individuale dei soggetti vaccinati ma anche alla cosiddetta "immunità di gregge", che si realizza quando almeno l'80% della popolazione è vaccinata contro una determinata infezione e comporta una ridotta circolazione del virus e conseguentemente una minore probabilità che i non vaccinati possano ammalarsi. Al fine di raggiungere questo ambizioso obiettivo appare fondamentale estendere la vaccinazione anche ai maschi adolescenti, sebbene il costo elevato dei vaccini costituisca un limite, almeno nei Paesi in via di sviluppo o sottosviluppati.

Altre questioni cruciali e ancora dibattute riguardano l'età ideale di somministrazione del vaccino alla luce sia del sempre più precoce esordio sessuale tra gli adolescenti e della necessità di vaccinare soggetti naïve per ottenere percentuali di efficacia maggiori, sia dell'opportunità di estendere la vaccinazione ai maschi omosessuali che allo stato attuale non sono protetti né individualmente né indirettamente come immunità di gruppo, e che costituiscono una categoria a rischio per i CSC anogenitali. Sebbene non esistano tuttora dati in letteratura relativamente all'efficacia dei vaccini anti-HPV nel ridurre l'incidenza del CSC dell'orofaringe e della cavità orale, è lecito ipotizzare che a lungo termine i benefici saranno riscontrabili anche per questa categoria di tumori [21]. Soltanto nei decenni a venire sarà tuttavia possibile valutare esattamente l'impatto dei programmi vaccinali nell'epidemiologia dei tumori HPV positivi.

■ 6. Conclusioni

Negli ultimi decenni la mole di informazioni riguardo all'infezione da HPV e del suo potenziale oncogeno è notevolmente cresciuta, di pari passo con i progressi delle tecniche di biologia molecolare applicate al management diagnostico, preventivo e terapeutico delle lesioni HPV-indotte. La comprensione delle interazioni tra l'agente virale e l'ospite ha fornito nuovi target per il controllo dell'infezione e ha gettato le basi per la formulazione di nuovi protocolli terapeutici mirati. È fondamentale sottolineare che la popolazione generale conosce ben poco le modalità di trasmissione e presentazione clinica dell'infezione da HPV, aspetto per lo più dovuto alla scarsità di campagne informative, la cui attuazione è auspicabile al fine di ottenere un migliore controllo dell'infezione.

Nell'attesa che tali programmi di informazione e prevenzione vengano attuati, il ruolo dell'odontoiatra è di grande rilievo. Qualunque sia la disciplina prevalente alla quale egli/ella si dedichi, la conoscenza delle nozioni relative a questa frequente condizione infettiva, alla sua storia naturale, alle possibili ma-

nifestazioni cliniche nel distretto orofaringeo e nelle altre sedi target, alle misure preventive e terapeutiche costituisce un requisito importante al fine di promuovere la salute dei pazienti e fornire loro le più esaustive indicazioni in merito.

CONFLITTO DI INTERESSI

Gli autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interessi.

FINANZIAMENTI ALLO STUDIO

Gli autori dichiarano di non aver ricevuto finanziamenti per il presente studio.

BIBLIOGRAFIA

1. **Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM, Hernandez BY, Xiao W, Kim E, et al.** Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *J Clin Oncol* 2011;29(32):4294-301.
2. **Hariri S, Unger ER, Sternberg M, Dunne EF, Swan D, Patel S, et al.** Prevalence of genital human papillomavirus among females in the United States. The national health and nutrition examination survey, 2003-2006. *J Infect Dis* 2011;204:566-73.
3. **De Vuyst H, Clifford G, Li N, Franceschi S.** HPV infection in Europe. *Eur J Cancer* 2009;45(15):2632-9.
4. **Gillison ML, Broutian T, Pickard RK, Tong ZY, Xiao W, Kahle L, et al.** Prevalence of oral HPV Infection in the United States, 2009-2010. *Jama* 2012;307(7):693-703.
5. **D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, et al.** Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2007;356(19):1944-56.
6. **Syrjanen S, Lodi G, von Bultzingslowen I, Aliko A, Arduino P, Campisi G, et al.** Human papillomaviruses in oral carcinoma and oral potentially malignant disorders: a systematic review. *Oral Dis* 2011;17(Suppl 1):58-72.
7. **Burd EM.** Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev* 2003;16(1):1-17.
8. **Longworth MS, Laimins LA.** Pathogenesis of human papillomavirus in differentiating epithelia. *Microbiol Mol Biol Rev* 2004;68:362-72.
9. **Baseman JG, Koutsky LA.** The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 2005;32(Suppl 1):S16-24.
10. **D'Souza G, Agrawal Y, Halpern J, Bodison S, Gillison ML.** Oral sexual behaviours associated with prevalent oral human papillomavirus infection. *J Infect Dis* 2009;199(9):1263-9.
11. **Rintala MA, Grenman SE, Puranen MH, Isolauri E, Ekblad U, Kero PO, et al.** Transmission of high-risk human papillomavirus (HPV) between parents and infant: a prospective study of HPV in families in Finland. *J Clin Microbiol* 2005;43(1):376-81.
12. **Grobe A, Hanken H, Kluwe L, Scholichen M, Tribius S, Pohlenz P, et al.** Immunohistochemical analysis of p16 expression, HPV infection and its prognostic utility in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2013;42(9):676-81.
13. **Termine N, Panzarella V, Falaschini S, Russo A, Matranga D, Lo Muzio L, et al.** HPV in oral squamous cell carcinoma vs head and neck squamous cell carcinoma biopsies: a meta-analysis (1988-2007). *Ann Oncol* 2008;19(10):1681-90.
14. **D'Souza G, Sugar E, Ruby W, Gravitt P, Gillison M.** Analysis of the effect of DNA purification on detection of human papillomavirus in oral rinse samples by PCR. *J Clin Microbiol* 2005;43(11):5526-35.
15. **Termine N, Giovannelli L, Rodolico V, Matranga D, Pannone G, Campisi G.** Biopsy vs. brushing: comparison of two sampling methods for the detection of HPV-DNA in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Oral Oncol* 2012;48(9):870-5.

16. **Thompson IO, van der Bijl P, van Wyk CW, van Eyk AD.** A comparative light-microscopic, electron-microscopic and chemical study of human vaginal and buccal epithelium. *Arch Oral Biol* 2001;46(12):1091-8.
17. **Kreimer AR, Bhatia RK, Messegue AL, Gonzalez P, Herrero R, Giuliano AR.** Oral human papillomavirus in healthy individuals: a systematic review of the literature. *Sex Transm Dis* 2010;37(6):386-91.
18. **Smith EM, Ritchie JM, Yankowitz J, Wang D, Turek LP, Haugen TH.** HPV prevalence and concordance in the cervix and oral cavity of pregnant women. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2004;12(2):45-56.
19. **Rintala M, Grenman S, Puranen M, Syrjanen S.** Natural history of oral papillomavirus infections in spouses: a prospective Finnish HPV Family Study. *J Clin Virol* 2006;35(1):89-94.
20. **Termine N, Giovannelli L, Matranga D, Caleca MP, Bellavia C, Perino A, et al.** Oral human papillomavirus infection in women with cervical HPV infection: new data from an Italian cohort and a meta-analysis of the literature. *Oral Oncol* 2011;47(4):244-50.
21. **Sanders AE, Slade GD, Patton LL.** National prevalence of oral HPV infection and related risk factors in the US adult population. *Oral Dis* 2012;18(5):430-41.
22. **Feller L, Lemmer J.** Oral leukoplakia as it relates to HPV infection: a review. *Int J Dent* 2012;540-61.
23. **Campisi G, Giovannelli L, Arico P, Lama A, Di Liberto C, Ammatuna P, et al.** HPV DNA in clinically different variants of oral leukoplakia and lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;98(6):705-11.
24. **Campisi G, Giovannelli L, Ammatuna P, Capra G, Colella G, Di Liberto C, et al.** Proliferative verrucous vs conventional leukoplakia: no significantly increased risk of HPV infection. *Oral Oncol* 2004;40(8):835-40.
25. **Szarka K, Tar I, Feher E, Gall T, Kis A, Toth ED, et al.** Progressive increase of human papillomavirus carriage rates in potentially malignant and malignant oral disorders with increasing malignant potential. *Oral Microbiol Immunol* 2009;24(4):314-8.
26. **Pentenero M, Meleti M, Vescovi P, Gandolfo S.** Oral proliferative verrucous leukoplakia: are there particular features for such an ambiguous entity? A systematic review. *Br J Dermatol* 2014;170:1039-47.
27. **Bagan JV, Jimenez Y, Murillo J, Gavaldà C, Poveda R, Scully C, et al.** Lack of association between proliferative verrucous leukoplakia and human papillomavirus infection. *J Oral Maxillofac Surg* 2007;65(1):46-9.
28. **Yang SW, Lee YS, Chen TA, Wu CJ, Tsai CN.** Human papillomavirus in oral leukoplakia is no prognostic indicator of malignant transformation. *Cancer Epidemiol* 2009;33(2):118-22.
29. **Nasman A, Attner P, Hammarstedt L, Du J, Eriksson M, Giraud G, et al.** Incidence of human papillomavirus (HPV) positive tonsillar carcinoma in Stockholm, Sweden: an epidemic of viral-induced carcinoma? *Int J Cancer* 2009;125(2):362-6.
30. **D'Souza G, Gross ND, Pai SI, Haddad R, Anderson KS, Rajan S, et al.** Oral human papillomavirus (HPV) infection in HPV-positive patients with oropharyngeal cancer and their partners. *J Clin Oncol* 2014;32(23):2408-15.
31. **Andrews E, Seaman WT, Webster-Cyriaque J.** Oropharyngeal carcinoma in non-smokers and non-drinkers: a role for HPV. *Oral Oncol* 2008;45(6):486-91.
32. **Kim SH, Koo BS, Kang S, Park K, Kim H, Lee KR, et al.** HPV integration begins in the tonsillar crypt and leads to the alteration of p16, EGFR and c-myc during tumor formation. *Int J Cancer* 2007;120(7):1418-25.
33. **Marur S, D'Souza G, Westra WH, Forastiere AA.** HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic. *Lancet Oncol* 2010;11(8):781-9.
34. **Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tan PF, et al.** Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *New Engl J Med* 2010;363(1):24-35.
35. **del Pino M, Bleeker MC, Quint WG, Snijders PJ, Meijer CJ, Steenbergen RD.** Comprehensive analysis of human papillomavirus prevalence and the potential role of low-risk types in verrucous carcinoma. *Mod Pathol* 2012;25(10):1354-63.
36. **Akrish S, Ben-Izhak O, Sabo E, Rachmiel A.** Oral squamous cell carcinoma associated with proliferative verrucous leukoplakia compared with conventional squamous cell carcinoma: a clinical, histologic and immunohistochemical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2015;119:318-25.
37. **Syrjanen S, Termine N, Capra G, Paderni C, Panzarella V, Campisi G.** Oral HPV infection: current strategies for prevention and therapy. *Curr Pharm Des* 2012;18(34):5452-69.
38. **D'Souza G, Dempsey A.** The role of HPV in head and neck cancer and review of the HPV vaccine. *Prev Med* 2011;53(Suppl 1):S5-11.
39. **Lu B, Kumar A, Castellsague X, Giuliano AR.** Efficacy and safety of prophylactic vaccines against cervical HPV infection and diseases among women: a systematic review & meta-analysis. *BMC infectious diseases* 2011;11:13.
40. **WHO.** Initiative for Vaccine Research of the Department of Immunization Vaccines and Biologicals. Human Papillomavirus (HPV) Vaccine Background Paper World Health Organization 2009; pp. 1-249.

Infezione orale da *Human papillomavirus*: dalla verruca al carcinoma orale. Epidemiologia, clinica, prevenzione e terapia

Ogni quesito può avere una sola risposta esatta

Giovanni Lodi
Odontoiatra.

Ricercatore presso l'Unità di Patologia e Medicina Orale del Dipartimento di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria dell'Università degli Studi di Milano

Lucia Zannini
Pedagogista.

Professore associato in Metodologie di formazione del personale medico e infermieristico, Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Milano

1.

GLI HPV SONO VIRUS

- a DNA, appartenenti alla famiglia degli *Herpesviridae*, caratterizzati da tropismo per le cellule epiteliali
- a DNA, appartenenti alla famiglia dei *Papillomaviridae*, caratterizzati da tropismo per le cellule epiteliali
- a DNA, appartenenti alla famiglia dei *Papillomaviridae*, caratterizzati da tropismo per le cellule del sistema nervoso
- a RNA, appartenenti alla famiglia degli *Herpesviridae*, caratterizzati da tropismo per le cellule epiteliali
- a RNA, appartenenti alla famiglia degli *Herpesviridae*, caratterizzati da tropismo per le cellule del sistema nervoso

2.

QUANTI GENOTIPI DI HPV SONO STATI FINORA IDENTIFICATI?

- 16
- 18
- circa 50
- oltre 130
- più di 300

3.

LA STRUTTURA DEGLI HPV RICORDA

- un cavolfiore
- un cilindro
- un ramo di albero
- un uovo
- una pallina da golf

4.

LA FASE DELL'INFEZIONE DA HPV DETTA "NON PRODUTTIVA"

- è caratteristica esclusiva dei genotipi ad alto rischio
- è detta anche fase "di latenza"
- interessa prevalentemente le cellule degli strati più superficiali
- non determina alterazioni cliniche, istologiche o cellulari
- si verifica solamente negli epitelii genitali

5.

QUALI ONCOGENI DIVENGONO IPERESPRESSI NELLA FASE DELL'INFEZIONE DA HPV DENOMINATA "TRASFORMANTE"?

- E1 ed E2
- E4 ed E5
- E6 ed E7
- E10 ed E12
- E16 ed E18

6.

L'INFEZIONE DA HPV SI TRASMETTE

- per contatto indiretto (per esempio, strumenti medici)
- per via materno-fetale
- per via orogenitale
- per via sessuale
- tutte le risposte sono corrette

7.

CON "COILOCITOSI" SI INDICA

- l'attivazione di alcuni oncogeni tipici dell'HPV
- l'insieme delle alterazioni epiteliali indotte dall'HPV che portano alla formazione di lesioni clinicamente evidenti
- la presenza nei tessuti di elementi cellulari contraddistinti da forma globosa, ampio citoplasma chiaro, nucleo picnotico
- la replicazione del virus nel sistema linfatico
- la trasmissione del virus per autoinoculazione

8.

QUAL È IL TEST PIÙ UTILE PER IDENTIFICARE E TIPIZZARE L'HPV?

- esame citologico
- esame colturale
- PCR
- ricerca di antigeni specifici nei tessuti mediante immunisto chimica
- ricerca di IgG specifiche nel siero

9. CON QUALE SOLUZIONE È INDICATO ESEGUIRE IL PRELIEVO CITOLOGICO MEDIANTE SCIACQUO ORALE, PER LA RICERCA DELL'HPV?

- cetilpiridinio cloruro
- clorexidina 0,12%
- formalina
- ipoclorito di sodio
- perossido di idrogeno

10. QUALI IMMUNOGLOBULINE POTREBBERO CONTRIBUIRE A RIDURRE LA PRESENZA DEL VIRUS NEL CAVO ORALE?

- IgA
- IgD
- IgE
- IgG
- IgM

11. QUALE TRA QUESTE NON È UNA MANIFESTAZIONE DI INFEZIONE ORALE DA HPV?

- condiloma acuminato
- iperplasia epiteliale focale
- leucoplachia villosa
- papilloma squamoso
- verruca volgare

12. NEI DISORDINI POTENZIALMENTE MALIGNI DEL CAVO ORALE

- la presenza di HPV è associata all'infezione degli epiteli genitali
- la presenza di HPV è molto rara (meno dell'1%)
- la presenza di HPV è superiore rispetto al tessuto sano
- la presenza di HPV è un importante fattore prognostico negativo
- la presenza di HPV indica un rischio di trasformazione maligna significativamente aumentato

13. I SOGGETTI CON CSC OROFARINGEI HPV POSITIVI HANNO, RISPETTO AGLI HPV NEGATIVI

- una prognosi più favorevole
- una prognosi più sfavorevole
- una prognosi più sfavorevole, ma solo nei giovani adulti
- una prognosi simile ma maggiore tendenza al coinvolgimento dei linfonodi
- una prognosi simile ma maggiore tendenza alle metastasi a distanza

14. CONTRO QUALI VARIANTI DELL'HPV SONO DISPONIBILI VACCINI?

- nessuna
- tutte le varianti ad alto rischio
- 6, 11, 16 e 18
- 1, 11, 18 e 21
- 6, 12, 18 e 24