

بررسی بروز HPV در ضایعات پیش سرطانی و SCC دهان

دکتر امیر علا آغبالی^۱، دکتر فرهاد محمودی فر^۲

تاریخ دریافت ۸۵/۱۰/۱۳، تاریخ پذیرش ۸۵/۱۲/۱۳

چکیده

میزان بروز سرطان های دهان در آمریکا حدود ۷/۷ نفر به ازای هر ۱۰۰۰۰ نفر و مورتالیته آن ۶ درصد گزارش شده است. ویژگی های این کارسینوم منجر شده تا پژوهش های زیادی برای شناخت اتیولوژی و ضایعات پیش سرطانی مرتبط آن صورت گیرد. در این راستا لکوپلاکیا و پرولیفراتیو وروکوس لکوپلاکیا دو ضایعه ای که بیشترین درصد ترانسفرماسیون بدخیمی را بین ضایعات پیش سرطانی دیگر نشان می دهند بیشتر مورد توجه قرار گرفته اند. از بین عوامل اتیولوژیک متعدد این ضایعات و ویروس های گروه پاپیلوما با توجه حضور در مخاط نرمال و شناسائی ۲۴ گونه از آن در ضایعات سر و گردن توجه زیادی را به خود معطوف کرده اند. تحقیقات متعددی حضور ویروس پاپیلوما ی انسانی را در ضایعات پیش سرطانی و سرطانی مورد بررسی قرار داده اند. و نتایج بدست آمده تقریباً مشابه اند. در اکثریت این ضایعات گونه های ۱۶ و ۱۸ شناسائی شده اند. هدف این مقاله جمع آوری مقالاتی است که در ارتباط با ویروس پاپیلوما ی انسانی با کارسینوم سلول سنگفرشی لکوپلاکیا و پرولیفراتیو وروکوس لکوپلاکیا بررسی کرده اند.

واژه های کلیدی: کارسینوم سلول سنگفرشی و لکوپلاکیا و پرولیفراتیو وروکوس لکوپلاکیا و ویروس پاپیلوما ی انسانی

فصلنامه دانشکده پرستاری و مامایی ارومیه، دوره پنجم، شماره یکم، ص ۳۲-۲۷، بهار ۱۳۸۶

آدرس مکاتبه: دانشکده دندان پزشکی دانشگاه تبریز

E-mail: Mehrab 85_fm@yahoo.com

مقدمه

طبق نظر سازمان بهداشت جهانی لکوپلاکیا پلاک سفیدی است که از نظر کلینیکی و نمای میکروسکوپی نمی توان آن را به ضایعه دیگری نسبت داد، (۲-۴) بنابراین از نظر نمای میکروسکوپی از یک هایپرکراتوز (افزایش لایه کراتین سطحی) ساده تا کارسینوم سلول سنگفرشی و از نظر بالینی از یک لکوپلاکیای نازک تا اریترولکوپلاکیا متغیر می باشد (۱). لکوپلاکیای دهانی بیش از ۸۰ درصد لکوپلاکیاهای مسیر دستگاه تنفسی-گوارشی را تشکیل می دهد در بیش از ۷۵٪ موارد در سطح بیرونی لب، مخاط باکال و لثه ظاهر می شود (۱-۲) اتیولوژی لکوپلاکیا ناشناخته است و عواملی نظیر ویروس پاپیلوما ی انسانی، استرس، تروما، اشعه ماورای بنفش را در اتیولوژی آن مطرح شده اند (۱،۲،۴).

میزان بروز سالیانه ی سرطان های دهان در آمریکا حدود ۷/۷ نفر به ازای هر ۱۰۰۰۰۰ نفر و میزان مرگ و میر ناشی از آن ۶ نفر از هر ۱۰۰ نفر گزارش شده است (۱).

شایع ترین سرطان حفره ی دهان، کارسینوم سلول سنگفرشی است این ضایعه حدود ۹۴٪ سرطان های حفره دهان را تشکیل می دهد این مساله و پیش آگهی ضعیف بیماران مبتلا به آن موجب شده تا مطالعات متعددی بر روی آن و ضایعات پیش سرطانی مرتبط انجام شود که در این میان لکوپلاکیا و فرم مهاجم آن پرولیفراتیو وروکوس لکوپلاکیا با توجه به درصد انتقال بالا بیشتر مورد توجه قرار گرفته اند (۲).

لکوپلاکیا برای اولین بار در سال ۱۸۱۸ توسط آلبرت تحت عنوان اکتیویزاسیون معرفی شد.

^۱ استادیار بخش آسیب شناسی دانشکده دندانپزشکی تبریز (نویسنده مسئول)

^۲ مربی و عضو هیات علمی بخش فارماکولوژی دانشکده پزشکی ارومیه

بعد از آن در سال ۱۹۹۴ روش هیبریداسیون در جا به هدف استخراج ویروس پاپیلومای انسانی-DNA در تعدادی از ضایعات خوش خیم، پیش سرطانی و بد خیم حفره های دهان توسط گونزالس و همکاران وی به کار گرفته شد و نتایج زیر بدست آمد: (۱۱)

ضایعه	تعداد نمونه	میزان حضور ویروس پاپیلومای انسانی - DNA
هایپر کراتوز آکانتوتیک	۱۸	بدون دیس پلازی ۳۸/۴٪ دارای دیس پلازی ۶۰٪
کارسینوم سلول سنگفرشی	۲۷	۳۷٪
اسکواموس پاپیلوما	۶	۶۶٪

قابل ذکر است که در بیشتر نمونه ها زیر گروه های ۱۱ و ۱۶ ردیابی شده است.

در سال ۱۹۹۵ پالفسکیو و همکاران وی (دانشگاه کالیفرنیا) مطالعه ای را به منظور بررسی میزان حضور ویروس پاپیلومای انسانی-DNA در ۷ بیمار مبتلا به پرولیفراتیو وروکوس لوكوپلاکيا و ۲۴ بیمار مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی به روش PCR انجام دادند و نتایج زیر گزارش شد: (۱۲)

ضایعه	نمونه مثبت	میزان حضور زیر گروه ۱۶
پرولیفراتیو وروکوس لوكوپلاکيا	۸	۷
کارسینوم سلول سنگفرشی	۸	۴

آنها نتیجه گرفتند که ویروس پاپیلومای انسانی ۱۶ نقش مهمی در پاتوژنز پرولیفراتیو وروکوس لوكوپلاکيا و سیر بدخیمی آن به طرف دیس پلازی یا سرطان دارد.

در مطالعه دیگری در سال ۱۹۹۷ کاپلار ریش و همکاران وی (دانشگاه اوهایو) روش های ایمونوهیستوشیمیایی (استفاده از آنتی بادی ضد پروتئین P53) و PCR عکس العمل زنجیره پلیمری را جهت بررسی میزان جهش در ژن P ۵۳ در ضایعات کارسینوم سلول سنگفرشی، پرولیفراتیو وروکوس لوكوپلاکيا دهان به کار گرفتند و نتایج را به صورت زیر گزارش کردند: (۱۳)

ضایعه	تعداد نمونه	نمونه مثبت برای P53	نمونه مثبت برای جهش P53	میزان حضور ویروس پاپیلومای انسانی
کارسینوم سلول سنگفرشی	۱۰	۷	۴	زیر گروه ۱۶ ۲ نفر از ۷ نفر
پرولیفراتیو وروکوس لوكوپلاکيا	۱۰	۸	-----	زیر گروه های ۱۶ و ۱۸ ۲ نفر از ۸ نفر

که در این بین ویروس پاپیلومای انسانی با توجه به این که تاکنون حدود ۱۰۰ نوع در بدن انسان شناسایی شده که ۲۴ نوع از آن در ضایعات سر و گردن، دخیل می باشد حایز اهمیت ویژه ای است (۱،۵). این ویروس از زیر گروه آ پاپووا ویروس ها بوده، دارای DNA دو رشته ای است. برای ردیابی این ویروس از تکنیک های ISH^۱، PCR^۲، IHC^۳ استفاده می شود (۱) زیر گروه های مختلفی از آن در ضایعات خوش خیم، پیش سرطانی و بد خیم حفره دهان ردیابی شده که در این میان، ویروس پاپیلومای انسانی ۱۶ و ۱۸ به عنوان زیر گروه های پر خطر مطرح شده و حضور آنها در ضایعاتی مثل کارسینوم سلول سنگفرشی و پرولیفراتیو وروکوس لوكوپلاکيا ثابت شده است (۱،۶،۲۷).

پرولیفراتیو وروکوس لوكوپلاکيا^۴ در سال ۱۹۸۵ به صورت ضایعه ای پیش رونده، غیر قابل برگشت مطرح شد (۲۸،۲۷،۸،۷) میزان تبدیل بدخیمی آن بالای ۱۵٪ گزارش شده است (۴) از نظر نمای میکروسکوپی ممکن است از یک وروکوس هایپر پلازیا تا کارسینوم سلول سنگفرشی متغیر باشد (۹). این بیماری بیشتر در زنان شایع بوده و با مصرف تنباکوارتباطی ندارد. مکان های شایع آن مخاط باکال و پالات می باشند (۱،۷).

بررسی مقالات منتشر شده طی سال های مذکور به شرح ذیل می باشد:

در سال ۱۹۸۸ جان اسمیت و همکاران وی (دانشگاه کیوپیو) به منظور مطالعه ای میزان حضور ویروس پاپیلومای انسانی در ضایعات پیش سرطانی و اسکواموس سل کارسینومای دهانی، ۲۲ نفر مبتلا به ضایعه ای پیش سرطانی و ۵۱ نفر مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی دهانی را انتخاب و به روش هیبریداسیون درجا، حضور زیر گروه های مختلف ویروس در این ضایعات را بررسی کردند. نتایج به صورت زیر بوده است: (۱۰)

کارسینوم	دیس پلازی	تعداد نمونه های که ویروس حضور دارد	زیر گروه
۱۱/۸٪	۲۸/۶٪	۱۶/۴٪	۶
-	-	-	۱۳ و ۳۰
-	خفیف-۲	۲	۱۱
۳	۲	۵	۱۶
۳	متوسط-۱	۴	۱۸

^۱ ISH: In situ Hybridization

^۲ PCR: POLY merase chain Reaction

^۳ IHC: Immunohisto chemical Analysis

^۴ Proliforative VerruCous Leukoplakia

پاتمنو و همکاران وی در دانشگاه شانگ های در سال ۲۰۰۱ با این فرضیه که زیر گروه ۱۶ ویروس پاپیلومای انسانی نقش مهمی در تبدیل بدخیمی ضایعات دهانی از طریق فعال کردن آنزیم تلومراز دارد، تعدادی از ضایعات دهانی را مورد بررسی قرار دادند. در طی این بررسی روش های PCR و هیبریداسیون درجا استفاده شده و نتایج به شرح زیر گزارش شد: (۲۰)

نمونه های مورد بررسی	تعداد نمونه	ویروس پاپیلومای انسانی +	حضور m RNA آنزیم ترانس کریپتاز معکوس تلومراز
مخاط	۷	٪۱۴/۳	-
هایپر پلازی	۷	٪۴۲/۹	-
دیس پلازی	۳۰	٪۶۶/۶	٪۳۰
کارسینوم سلول سنگفرشی	۳۸	٪۹۲/۱	٪۸۱/۶

در مجموع در ۶۷٪ موارد DNA ویروس و mRNA آنزیم ترانس کریپتاز معکوس تلومراز هم ردیابی شده است.

در سال ۲۰۰۲ یک نمونه ی ۳۰ نفری از مجموعه افرادی که از نظر کلینیکی مبتلا به لکوپلاکیا شناخته شده بودند توسط سورز و همکاران وی انتخاب و به سه گروه انتخاب شدند ۱۰ نفر بدون دیس پلازی، ۱۰ نفر با دیس پلازی و ۱۰ نفر مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی و به روش هیبریداسیون درجا میزان حضور ویروس پاپیلومای انسانی ۱۶، ۱۸ در آنان بررسی شد. DNA این ویروس در ۲۰٪ افرادی که دیس پلازی شدید داشتند ردیابی و بیان شد که حضور این زیر گروه ها در ضایعات بدخیم آنها را به عنوان عوامل خطر ساز کارسینوزن در حفره ی دهان مطرح می کند (۲۱).

در مطالعه ی دیگر در سال ۲۰۰۳، پاولا و همکاران وی در دانشگاه سائوپائولو با این فرض که انکوپروتئین های ویروس پاپیلومای انسانی با اختلال در عملکرد تومور ساپرسور ژن های مثل p16 باعث ایجاد ضایعات بدخیم می شود در یک نمونه ی ۴۶ نفری مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی میزان حضور زیر گروه های ۶، ۱۱، ۱۶، ۱۸ را با روش ISH و میزان P16 را با روش IHC مورد بررسی قرار دادند و به نتایج زیر دست یافتند: (۲۲)

پورتگولو و همکاران وی (دانشگاه شیکاگو) ۵۸ نفر مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی دهان و ۴۲ نفر مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی لوزه را انتخاب و به مدت ۵ سال پیگیری کردند. آنها دریافتند که در ۶۶٪ ضایعات جهش P53 و در ۱۱٪ همین افراد ویروس پاپیلومای انسانی حضور دارد (۱۴).

در سال ۱۹۸۸ (دانشگاه هاما ماتسو) ۹۸ نمونه فریز شده که ۱۴ مورد آن ضایعه دهانی بود توسط مینتاو همکاران وی روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند که ۳ مورد ویروس پاپیلومای انسانی ۱۶ در این ضایعات دهانی ردیابی شد. اما ویروس پاپیلومای انسانی ۱۸ در هیچ کدام مشاهده نشد (۱۵).

در مطالعه ی دیگری که توسط وانگ و همکاران وی در دانشگاه پزشکی (HMU)^۱ انجام شد ۳۰ نفر بیمار مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی و ۳۰ فرد سالم به عنوان گروه کنترل انتخاب و روش PCR انکوپروتئین E7 زیر گروه ۱۶ ویروس پاپیلوما مورد بررسی قرار گرفت در ۳۷/۶٪ موارد کارسینوم سلول سنگفرشی و ۱۱/۱٪ افراد سالم این انکوپروتئین ردیابی شد (۱۶).

در مطالعه ای که توسط کوه (دانشگاه چون بوک) روش PCR و هیبریداسیون ساوترن بلات انجام شد یک نمونه ۴۲ نفری افراد مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی دهانی در رابطه با حضور ویروس پاپیلومای انسانی ۱۶-DNA و جهش P ۵۳ مورد بررسی قرار گرفتند در ۶۸٪ موارد DNA ویروس ردیابی شده و از این میزان ۳۸٪ جهش ژن P۵۳ داشتند (۱۷).

در طی یک مطالعه به منظور بررسی میزان حضور ویروس پاپیلومای انسانی در کارسینوم سلول سنگفرشی دهانی، شورگر با به کارگیری روش هیبریداسیون درجا در ۱۲ نفر مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی در ۵ مورد ویروس پاپیلومای انسانی ۱۶ را ردیابی کردند (۱۸).

در سال ۲۰۰۰ شیما و همکاران وی در دانشگاه کیوشو برای بررسی ارتباط بین ویروس پاپیلومای انسانی و جهش ژن P ۵۳ روش ساترن بلات و PCR را با هم بکار گرفتند و طی آن انکو پروتئین های E6، E7 زیر گروه های ۱۶ و ۱۸ را در ۴۶ نمونه کارسینوم سلول سنگفرشی بررسی کردند. نتایج مطالعه نسبت به مطالعات قبلی ارتباط بالاتری را بین این ویروس و کارسینوم سلول سنگفرشی نشان می داد جهش ژن P ۵۳ در ۴۳٪ موارد مشاهده شد در ۲۰٪ موارد ویروس پاپیلومای انسانی (۱۶) و در ۵۴٪ موارد ویروس پاپیلومای انسانی (۱۸) ردیابی شد و گفته شد که این زیر گروه ها نقش جهشی قوی در کارسینوم سلول سنگفرشی دهانی دارند (۱۹).

^۱ HMU (Habei Medical University)

ویروس پاپیلومای انسانی ⁺	ویروس پاپیلومای انسانی ⁻	6,11	16,18	۱۱ و ۶ مثبت P16	۱۶ و ۱۸ P16
39%	61%	11%	28%	80%	50%

– میزان حساسیت روش ها در رابطه با ردیابی ویروس پاپیلومای انسانی – DNA در کارسینوم سلول سنگفرشی:

روش بررسی	میزان حساسیت
ساترن بلات	٪۲۵
PCR	٪۳۷
IHC-ISH	٪۱۷

– زیر گروه های ۲-۱۶-۱۸ به عنوان های ریسک بوده و بیشتر از ۱۱ و ۶ ردیابی شده اند.

– در ٪۷۸ ضایعات ویروس پاپیلومای انسانی، ۱۶، پرولیفراتیو و رورکوس لوکوپلاکیا ردیابی شده است.

بحث

با توجه به درصد بالای حضور ویروس پاپیلومای انسانی در ضایعات پیش سرطانی و سرطانی حفره‌ی دهان گفته می‌شود زیر گروه‌های مختلف این ویروس نقش محوری در تبدیل بدخیمی ضایعات پیش سرطانی دارند (۲۴، ۲۰، ۱۸، ۱۶، ۱۱، ۱۰) و ویروس پاپیلومای انسانی تمایل زیادی به سلول‌های موکوسی و اپیتلیالی دارد (۵) این ویروس به گیرنده‌های خاصی روی سلول‌های کراتینوسیت متصل و طی پدیده‌ی اندوسیتوز وارد این سلول‌ها می‌شود.

مطالعات انجام شده یک‌سری زیر گروه‌ها را به عنوان گونه‌های پرخطر مطرح کرده اند (۳۰، ۲۸، ۲۷، ۶) در این میان توجه بیشتر مقالات به زیر گروه‌های ۱۸ و ۱۶ معطوف می‌باشد (۲۶، ۲۲، ۲۱، ۱۳، ۱۰) برخی مقالات هم زیر گروه ۱۶ را بیشتر مورد توجه قرار داده اند (۱۶، ۱۵، ۱۲، ۱۰) زیر گروه‌های ۶ و ۱۱ در رتبه‌های بعدی قرار دارند (۲۶، ۱۱، ۱۰)

طی بررسی‌های انجام شده ثابت شده است که ژن ویروس پاپیلومای انسانی دارای دو دسته‌ی کلی ژن است: ژن‌های با منشاء اولیه^۱ و ثانویه^۲ این دو دسته ژن به ویژه ژن‌های اولیه پروتئین‌هایی را می‌سازند که نقش اصلی آنها تأثیر روی سلول‌های میزبان می‌باشد. مثل: E۷، E۵، این پروتئین‌ها با عملکرد پروتئین‌هایی از سلول میزبان که فرایند میتوز را کنترل می‌کنند تداخل دارند مثل: E۶ با p۵۳ و E۷ با Rb در بیشتر

بنابراین گفته شد زیر گروه‌های های ریسک این ویروس با بروز بیش از حد P۱۶ ارتباط دارند.

در سال ۲۰۰۴ میزان حضور DNA ویروس پاپیلوما در پرولیفراتیو و رورکوس لوکوپلاکیا و لوکوپلاکیای دهانی به روش PCR مورد بررسی قرار گرفت. کامپسیو و همکاران در دانشگاه تورینو ۵۸ نفر مبتلا به پرولیفراتیو و رورکوس لوکوپلاکیا و ۹۰ نفر مبتلا به لوکوپلاک‌های دهانی را انتخاب و نتایج مطالعه خود را به صورت زیر بیان کردند:

در ٪۲۴/۱ موارد پرولیفراتیو و رورکوس لوکوپلاکیا و ٪۲۵/۵ لوکوپلاکیا DNA ویروس ردیابی شد زیر گروه ۱۸ بیشترین درصد را به خود اختصاص داد به صورتی که در ٪۷۸ موارد ضایعات پرولیفراتیو و رورکوس لوکوپلاکیا و ٪۶۰ لوکوپلاکیا مشاهده شد (۲۳).

در سال ۲۰۰۶ از زیر گروه‌های پرخطر ویروس پاپیلومای انسانی در اسکاموس سل کارسینوماهای سر و گردن ۴۷ مریض که مبتلا به کارسینوم سلول سنگفرشی دهانی و لوزه بودند توسط پترینی و همکاران وی (دانشگاه تورینو) مورد بررسی قرار گرفت بروش IHC، DNA ویروس در ٪۵۰ کارسینوم سلول سنگفرشی‌های ناحیه دهان و ٪۳۶ کارسینوم سلول سنگفرشی‌های اوروفارنکس ردیابی شد (۲۴).

در مقاله منتشر شده توسط نویل و همکارانش عنوان شده است که ویروس پاپیلومای انسانی با سرطان‌های دهانی و اوروفارنکس در ارتباط است زیر گروه ۱۶ در بیش از ٪۲۲ ضایعات و نوع ۱۸ در بیش از ٪۱۴ ضایعات ردیابی شده است (۲۵).

در طی یک مطالعه مقالات منتشر شده از سال ۱۹۹۶ تا ۲۰۰۶ در رابطه با میزان حضور ویروس پاپیلومای انسانی در ضایعات دهانی و روش‌هایی که برای ردیابی آن بکار گرفته شده است بررسی و نتایج به صورت زیر اعلام شد (۲۶).

میزان متوسط حضور ویروس پاپیلومای انسانی در ضایعات مختلف:

٪۱۴	مخاط نرمال دهان
٪۲۶	کارسینوم سلول سنگفرشی
٪۱۵	لوکوپلاکیای خوش خیم
٪۲۷	ورکوس کارسینوما
٪۱۹	اینتراپیتلیال نئوپلازی

¹ Early region gene

² Late region gene

به ذکر است مطالعات، اکثراً جهت ردیابی گونه خاص بوده و شرایط منطقه ای کمتر مورد توجه قرار گرفته است.

نتیجه گیری

مقالات متعدد بررسی شده به نقش محوری ویروس پاپیلومای انسانی در اسکواموس سل کارسینوما و ضایعات پیش سرطانی نظیر P.V.L و لکوپلاکیا اشاره کرده اند و در تمامی این مطالعات H.P.V به عنوان یکی از عوامل کارسینون مطرح شده است. شایسته است که در مطالعات بعدی به اثرات ژنتیکی ویروس و تاثیر احتمالی آن بر ساختار رسته ای توجه گردد.

منابع:

01. Neville A, Damm G, Allen B, Bouguot S. Oral and maxillofacial pathology 2002; chapter 10, PP: 280-295.
02. NoP, MokK. Genetic instability and oral cancer; Molecular Biology and Genetics; Vol .3 No .1, Issue of April 15 ,2000.PP:25-28
03. lewisR. Papillary Lesions Oral Cavity Relationship to human papilloma virus. Copy right 2000 Journal of california dental association. PP:33-34
04. Zur H.(1996). Papilloma virus infectiona major cause of human cancers.biochimica et biophysica 1288: 55-78.
05. Regezi G, James J, SciuibbaS. Oral pathology and correlation, 2005; PP:87-93.
06. John A. Avraham H, Maurice R, William R. Head and neck cancer program.Cancer2003;25:134-145
07. GreerR, MacwellID: Proliferative verrucous leukoplakia: Report of two cases and a Discussion of clinicopathology. JMed california2000;12:231-236
08. Haluy J, Hood A , Miro G. Proliferative Verrucus leukoplakia with Cutaneous involvement. J Am Acad Dermatol 1999 sep; 41(3 pt 1): 481-3.
09. Batsakis JG, suarez P, el-Nagger AK: Proliferative verrucous leukoplakia and its related lesions. Oral oncol 1999 Jul; 35(4): 354-9.

مقالات ارتباط ویروس پاپیلومای انسانی و جهش ژن P ۵۳ مورد توجه قرار گرفته و نتایج ارتباط معناداری را بین حضور زیر گروه های ویروس (به خصوص ۱۶ و ۱۸) و جهش ژن مذکور نشان می دهند (۱۸،۱۶،۱۴،۱۳) که زیر گروه ۱۶ بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (۱۴،۱۳) اما در تعداد بسیار کمی از مقالات به سایر ژن های مرتبط با سرطان زایی توجه شده و بیشتر مطالعات روی P ۵۳ متمرکز شده اند. از طرفی در تعداد اندکی از این مطالعات خصوصیات کلینیکی بیمار و یا عوامل سرطانزای دیگر هم به عنوان فاکتورهای مداخله گر مورد توجه قرار گرفته اند. لازم

10. Syrjanen SM, Syrjanen KJ, Happonen RP. Human papilloma virus DNA Sequences in oral precancerous lesions and Squamous cell carcinoma demonstrated by in Situ hybridization. J oral pathol. 1988 Jul ; 17 (6) : 273-8
11. Gonzalez M, Mar tinez I, Ceballos A, Nogales F. Detection of HPV DNA by in Situ hybridization in benign, premalignant and malignant lesions of the Oral mucosa. Bull Group Int Reek sci stomatol odontol . 1994 sep- Dec; 37 (3-4) : 79-85
12. Pale fsky M, Silverman S, Jr Abdel –Salam M , Daniels T , Greenspan J. Association between proliferative Verrucous leukoplakia and infection with human papilloma virus type 16. J oral pathol Med . 1995 May ; 24 (5) : 193-7.
13. Gopala R , Weghorst C , Lehman T , Calvert R, Mallery S , Schuller D , Stoner G. Mutated and wild-type P53 expression and HPV intervention in proliferative verrucous leukoplakia and oral squamous cell carcinoma Oral surg oral Mel oral pathol oral Radiol ENDOD. 1997. Apr; 83(4): 471-70 Genome –wide DNA copy number alterations.
14. Por tugal L , Golden bery J , Ferrer K, Sabnani J , Javier C , Vokes E : Human papilloma virus expression and p53 gene mutations in Squamous cell Carcinoma Arch otolaryngol head Neck surg. 1997 NOV ; 123 (11): 1230-40

15. Mineta H, Ogino T, Amano H, Ohkawa Y, Araki K, Miura K. human papilloma Virus type 16 and 18 detected in head and neck squamous cell Carcinoma. *Anti Cancer Res.* 1998 NOV; 18 (6B): 4765-8.
16. Wany J, Li J, Huany H, Fuy: Detection of the E7 transform gene of human papilloma virus type 16 in human oral squamous cell carcinoma. *chin J Dent Res.* 1998 Dec ; 1(3) : 35-70
17. Koh J, Cho N, Kony G, Lee J, yoon k: p53 mutation and humun papilloma virus DNA in Oral Squamous cell Carcinoma: Correlation with apoptosis. *Br J Cancer* 1998 Aug; 78 (3): 354-90.
18. Robert O, John D. DowolM. Prolifrativ Verrucous Leukoplakia : Report of two Cases and a Discussion of Clinico pathology. *Aprill 1999 CPA Journal* , copy right 1999 ;89:132-6
19. Shima K, Kobayashi I, Saito I, Matsuo K, Ohishi M, Sakai H. In cidence of human papilloma virus 16 and 18 infection and p53 mutation in patients with oral sguamous cell carcinoma in Japan. *Br J Oral Maxillofac surg.* 2000 oct ; 38 (5) : 445-500
20. Patiman, Zhang Z, Cao J: Research on expression of human papilloma virus type 16 and telomerase in oral lesions. *Zhonghua kou Qiang yi xue Zazhi.* 2004 Mar ; 36 (2) :119-21
21. So A , PiernaC , Lavazi M, Rosana Ihcio dosetal.Presence do papilloma virus humano em lesions malignans de mucosa oral. *Rev. SOC. Bras. Med. Trop. set./oat.* 2002 , Vol.35, NO.5 , P.439-444
22. AndreaP, Gabrielli F , BarretoD . P16 immunohistochemical Overexpression Oral lesions infected with Human papilloma virus *J of Histochemistry and Cyt chemis try* October 2003 ; Vol .51: 1291-1297
23. G. Campisi , L. Gio VAnelli , S.GA NdoI FO , R. Serpico , G. Colella , P. Amma Tuna : 1448 proliferative Verrucous vs classic leukoplakia: no different risk of HPV infection.PP:42-46
24. De petrini M, Ritta M, Schena M, CAmpisi D, Giordano C , Landolfo V . Head and neck squamous cell Carcinoma: role of Human papilloma virus in tumor progression. *New Microbiol.* 2006 Jan; 29 (1) : 25-33
25. Neville B,Terry A: Oral cancer and precancerous lesions. *J CA cancer* 2002; 52: 195- 215.
26. Miller C, white K. Human papilloma virus expression in Oral mucosa, premalignant conditions, and squamous cell carcinoma: a retrospective review of the liter atare. *Oral surg Oral Med Oral pathol Oral Radiol Endod* 1996; 82: 57-68.
27. CampisiG, Iova N, GanpolfoR,SerpicoF, ColellaM.. 1448 proliferative verrucous vs classic leukoplakia No different risk of HPVin fection.
28. Femianof,Gombosf, Scullyc. oral proliferative verrucous leukpplakia. *Int J oral maxillofac surg*2001