

LÉKAŘSKÁ FAKULTA UNIVERZITY PALACKÉHO V OLOMOUCI

Infekce dutiny ústní lidským papilomavirem

Doktorandská disertační práce

Olomouc 2015

MUDr. Petr Michl

Obsah:

Prohlášení	4
Seznam zkratk	5
Úvod	6
Obecná část	7
1. Buněčný cyklus a jeho regulace.....	7
1.1. Základní fáze buněčného cyklu.....	7
1.2. Maligní transformace buněčného cyklu.....	8
1.2.1. Protoonkogeny.....	8
1.2.2. Antionkogeny.....	10
2. Spinocelulární karcinomy dutin ústní.....	12
2.1. Teorie kancerogeneze.....	12
2.1.1. Mechanismus kancerogenního účinku u kuřáků.....	14
2.1.2. Kancerogenní efekt konzumace alkoholu.....	14
2.1.3. Mechanické dráždění a malhygiena jako etiologické faktory kancerogeneze.....	15
2.1.4 Vliv lidského papilomaviru na vznik OFK.....	15
2.2. Diagnostika karcinomu dutiny ústní.....	16
2.2.1. Anamnéza.....	17
2.2.2. Klinické vyšetření.....	17
2.2.3. Histopatologické vyšetření.....	17
2.2.4. Metastázy.....	18
2.2.5. Zobrazovací metody.....	21

2.3. Biologické vlastnosti a prognóza karcinomů.....	21
2.3.1. Staging nádorového onemocnění.....	21
2.3.1.1. TNM klasifikace.....	21
2.3.1.2. Stádium onkologického onemocnění.....	22
2.3.2. Grading nádorového onemocnění.....	23
3. Léčba tumorů dutiny ústní.....	24
3.1. Chirurgická léčba.....	24
3.1.1. Odstranění primárního ložiska tumoru.....	24
3.1.2. Krční bloková disekce.....	25
3.2. Radioterapie.....	26
3.3. Chemoterapie.....	28
3.4. Biologická léčba.....	29
4. Lidské transformující viry.....	29
5. Lidský papilomavirus.....	31
5.1. Přenos infekce.....	33
5.2. Mechanismus infekce buňky virem HPV.....	34
5.3. Charakteristika pacientů s HPV+ karcinomem.....	35
5.4. Detekce lidského papilomaviru.....	37
5.4.1. Histologická detekce infekce lidským papilomavirem.....	38
5.4.2. Laboratorní diagnostika HPV infekce.....	38

Speciální část.....	42
6. Cíl práce.....	42
7. Materiál a metodika.....	42
8. Výsledky.....	46
8.1. Výsledky statistického zpracování souboru pacientek.....	46
9. Diskuze.....	63
10. Závěr.....	68
Poděkování.....	70
Literatura.....	71

Prohlášení

Prohlašuji, že práci na přípravě této disertační práce jsem vykonal samostatně a že uvádím všechnu použitou literaturu a prameny, které jsem použil.

.....

MUDr. Petr Michl

V Olomouci dne 13.4.2015

Seznam zkratek:

EBV virus Epstein-Baarové

EV Epidermodysplasia verruciformis

GTV gross tumor volume

HIV virus lidské imunodeficience

HR HPV vysoce rizikový typ HPV

HPV lidský papilomavirus

ISH in situ hybridizace

LCR locus control region

OFK orofaryngeální karcinomy

RLU relative light unit

STD sexuálně přenosná choroba

UICC Union for International Cancer Control

VAG+ pozitivní stěr na HR HPV na děložním čípku

VAG- negativní stěr na HR HPV na děložním čípku

Úvod:

Spinocelulární karcinomy dutiny ústní patří mezi nejčastější nádory horního aerodigestivního traktu. Jedná se o 6. nejčastější nádor na světě². Incidence je v globálním měřítku asi 500.000 hlášených případů. Tradičně nejčastěji se tyto karcinomy vyskytují v jihovýchodní Asii, kde jejich podíl na celkovém množství maligních onemocnění činí asi 35-45% s incidencí 15 případů na 100.000 obyvatel. V České republice se OFK podílí na celkové onkologické problematice podílí asi 2 %. Jakkoliv se toto číslo může zdát marginální, mortalita vyjádřená v pětiletém přežití od stanovení diagnózy se pohybuje (v závislosti na stádiu onemocnění) mezi 40 %-50 %^{10, 11}. I přes intenzivní výzkum a pokrok v léčbě zůstává mortalita takřka nezměněna po řadu desetiletí.

Vedle tradičních vyvolávajících nox, které jsou známy již po desetiletí, se od 80. let minulého století prosazuje názor, že určitá část OFK, respektive spinocelulárního karcinomu dutiny ústní může být podmíněna infekcí lidským papilomavirem (HPV). Otevřenou otázkou zůstává, jaká je cesta této infekce do dutiny ústní. Obecně lze říci, že tento HPV patří do skupiny chorob sexuálně přenosných (Sexually Transmitted Diseases - STD). Jednou z možností vstupu infekce mohou proto být alternativní sexuální praktiky (nekoitální, orální sex) což ovšem někteří autoři považují za málo pravděpodobné.⁸⁷

Cílem předkládané práce je posoudit možnou souvislost mezi typy sexuálních praktik (koitálních vs. nekoitálních) a infekcí lidským papilomavirem v ústech a na děložním čípku.

Obecná část

Vývoj každého organismu je závislý na buněčném dělení. Charakteristika buněčného cyklu byla v roce 1953 představena Pelcem a Howardem. Tento cyklus končí rozdělením původní buňky na buňky dceřinné, což umožní jejich další růst a následně dochází k dalšímu dělení.

ky

k.

stu.

ed vstupem ky do S

- (cdk) a cykliny.

1.2 Maligní transformace buněčného cyklu

V rozvoji maligního onemocnění hr

:

- protoonkogeny

-)

1.2.1 Protoonkogeny

bun k.

protoonkogeny.

amplifikace, inzerce retrovirové DNA)
mohou chovat jako onkogeny.

Mechanismus aktivace pro jejich
struktury

estavby.

, geny p

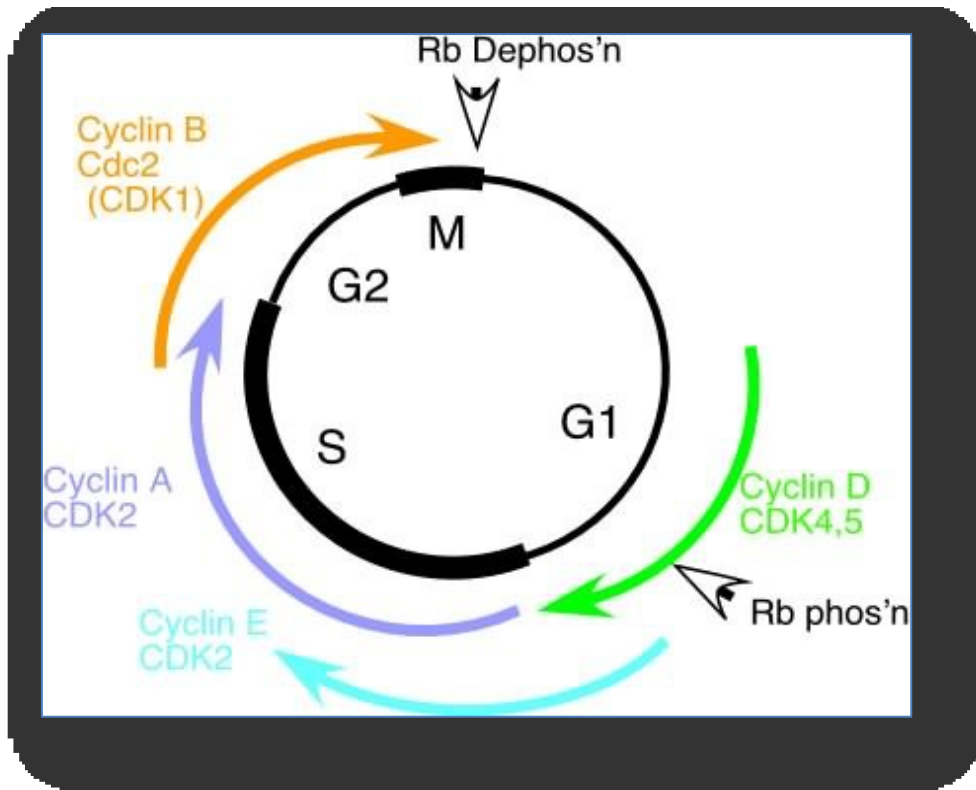
(cdk).

a cyklin- dep

(Obr. 1)

, se
, jater,

lymfomy, melanomy, sarkomy, glioblastomy).



Obr. 1

Obr.1

(převzato z www-bcf.usc.edu/~forsburg/cclecture.html)

1.2.2. Antionkogeny

enciace.

Nejdůležitější antionkogeny:

_____ (Rb)

tohoto genu

Produktem tohoto genu

exprese produktu

. v osteosarkomech).

tr

33,51,52

Gen p16 –

4 –

) inhi

ad

53

nebo b

p53 gen

replikace.

Následky vzniku nefunkčního genu p53:

- pokračování buněčného cyklu mutovaných buněk

-

-

. Expres

50 % t

53 se

-

, je pomoc

k.

2. Spinocelulární karcinomy dutiny ústní

se vymyká genetické regulaci fyziologických procesů v organizmu²⁷
Jedná se o nekontrolované dělení, vycházející z mutací na úrovni kmenových buněk.

Specifické zvláštnosti nádorových buněk charakterizovali Hannahan a Weinberg¹ na základě poruch v šesti fyziologických procesech:

- autonomie v růstových signálech
- porušená apoptóza
- nekonečná replikace
- porušená citlivost na inhibiční růstové signály
- angiogeneze
- tendence k Invazivnímu růstu a metastazování

2.1. Teorie kancerogeneze

Za obecně uznávanou teorii kancerogeneze je považována teorie *genetická*: nádory vznikají na podkladě vrozeného nebo získaného genetického poškození. Názory na mechanismus tohoto poškození nejsou zcela jednotné.

Somatická teorie vychází z předpokladu, že v buňce dochází ke kumulaci chyb genomu, vedoucí k nekontrolované proliferaci. Všechny buňky nádoru jsou proto ireverzibilně poškozeny (*dysregulace*), a proto při léčbě musí být každá alterovaná buňka odstraněna.

Regulační teorie předpokládá, že nádor je výsledkem *genetické nestability*

28

Předpokládá se, že kancerogeneze může být ovlivněna třemi faktory: *endogenními, exogenními a faktory synonkogeneze.*

Mezi
genetická dispozice a porucha imunity.

K *exogenním*

Za faktory *synonkogeneze*

).

-
protoonko-

-
inek, recesiv -

Je známa silná vazba mezi kancerogenezí, životním prostředím a životním stylem. Chronicky známé jsou vlivy exogenní: kouření a konzumace alkoholu nebo expozice UV záření. V souvislosti s exogenními faktory je třeba zmínit vliv *virů - zejména HPV*. Z endogenních faktorů hrají důležitou roli genové aberace, podmiňující klinickou manifestaci různých syndromů (například Gorlin Goltzův syndrom) a náhodné genetické mutace.

U kouření a konzumace alkoholu působí benzopyren a benzantracen, které jsou obsažené v cigaretách , dále alkohol, kde se často vyskytují nitrosaminy, poškozují DNA buněk vytvořením elektrofilních meziproductů, a

tím buď vytlačí elektrony v nukleotidech uvnitř DNA, čímž poškodí párové vazby a sekvenci bází nebo se naváže přímo na DNA³.

2.1.1. Mechanismus kancerogenního účinku u kuřáků :

- lokální dráždění (termické, chemické -polonium, benzpyreny)
- zvýšené procento mutací genu p53 s poruchou regulace apoptózy
- zvýšení potřeby vit. C ve tkáních, částečná blokáda jeho rezorbce ze zažívacího traktu
- snížení hladiny beta-karotenu v plasmě
- zvýšení hladiny nitritů a volných kyslíkových radikálů

2.1.2. Kancerogenní efekt konzumace alkoholu :

- lokální dráždění
- zvýšená exprese mutací genu p53 s poruchou regulace apoptózy
- snížení příjmu běžné stravy (až 45% denní energetické potřeby hrazeno alkoholem)
- deficit vit. C (zvýšená exkrece), malabsorbce vit. E
- snížení migrace granulocytů, snížení aktivity makrofágů
- snížení produkce cytokinů
- zvýšení hladiny acetaldehydu (produkt metabolismu etanolu považovaný za kancerogen)
- potenciace kancerogenních účinků tabákových zplodin (alkohol jako rozpouštědlo usnadňuje jejich rezorbci)

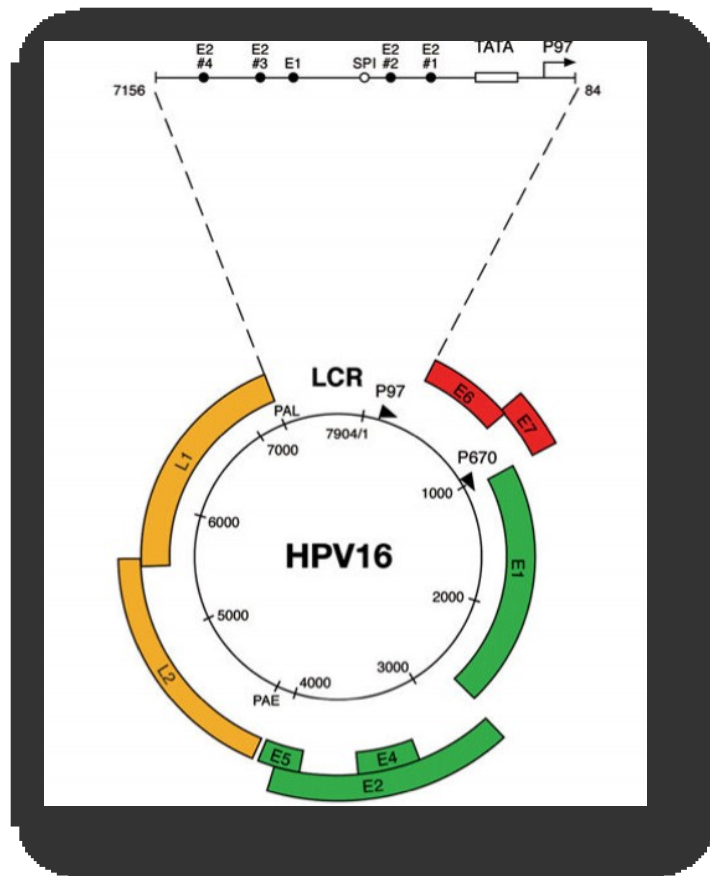
2.1.3. Mechanické dráždění a malhygiena jako etiologické faktory kancerogeneze:

Vliv chronického dráždění na potenciální vznik nádoru je známý. V ústech musíme zmínit chronické dráždění ostrými okraji zubů a zubních náhrad (fixních nebo snímatelných). Takové dráždění působí chronický zánět, který, zejména potencovaný kouřem a/nebo alkoholem, může vést k malignizaci epitelové buňky.

Vliv malhygieny na rozvoj onkologického onemocnění není zcela jasný. Důvodem k tomuto tvrzení je fakt, že většina pacientů s OFK holduje potátorství a tabakismu, kdy péče o hygienu nejen dutiny ústní nebývá primárním zájmem těchto pacientů.

2.1.4. Vliv lidského papilomaviru na vznik OFK:

U HPV tumorů se na deregulaci buněčného cyklu podílejí produkty virových onkogenů E6 a E7^{11,12,13} (Obr. 2). E6 se naváže na p53 (buňky bez funkčního p53 nepodléhají apoptóze) a inaktivuje telomerázu. Vazba onkogenu E7 na pRb uvolní transkripční faktor, který aktivuje geny regulující buněčnou proliferaci. HPV+ tumory jsou charakterizovány sníženou hladinou retinoblastomového proteinu (pRb) a cyklinu D1, jejich další vlastností je obsah nemutovaného (divokého typu) genu p53¹⁴. Prevalence infekce orální HPV u asymptomatické populace se pohybuje v poměrně širokém rozmezí 0-10%. Předpokládá se, že ke klinické manifestaci dlaždicobuněčného karcinomu dochází teprve za 10-35 let od infekce virem¹⁵.



Obr.2 Genom lidského papilomaviru s lokalizací hlavních onkogenů E6 a E7

2.2. Diagnostika karcinomu dutiny ústní

Onkologická prohlídka úst stomatologem je v rámci preventivního pojišťovnou hrazeného vyšetření 1x za půl roku. Paradoxem zůstává, že i přes snadnou samovyšetřitelnost a výše zmíněné bezplatné prohlídky přicházejí pacienti velmi často v pokročilém stádiu nádorového onemocnění.

Diagnostika nádoru vychází z anamnézy, klinického vyšetření včetně využití zobrazovacích metod a histopatologického vyšetření bioptického materiálu.

2.2.1. Anamnéza

Velmi důležitým anamnestickým údajem je délka trvání obtíží. Dále nás zajímá celkový zdravotní stav v rámci osobní anamnézy anamnéza farmakologická, abusus nikotinu a alkoholu a pracovní prostředí pacienta.

2.2.2. Klinické vyšetření

Při klinickém vyšetření se zaměřujeme na tvar, velikost, povrch, případnou infiltraci a poruchu funkce nádorem postižené tkáně

K určení přesné diagnózy a naplánování dalšího terapeutického postupu má toto vyšetření nezastupitelnou roli. Rozlišujeme biopsii části nebo odběr celé léze (v případě malých nálezů) - zde je nutno pečlivě zaznamenat přesnou polohu odběru pro případnou další chirurgickou terapii.

jejích

ech

bec. ³³

, mnohojad

a

. Součástí histopatologického vyšetření je také stanovení histopatologického gradingu,

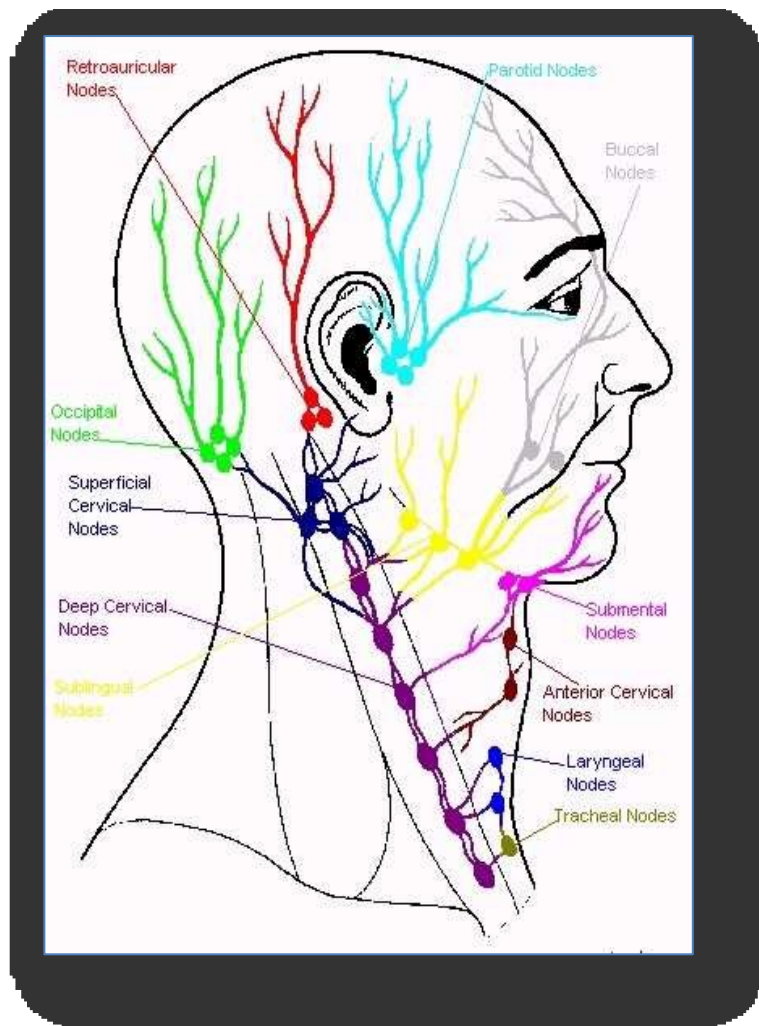
Specifika histopatologického nálezu u HPV+ tumorů viz kapitola 5.4. Detekce lidského papilomaviru.

2.2.4. Metastázy

Jednou z vlastností zhoubných nádorů je nekontrolovaně se šířit. Vedle lokálního, infiltrativního růstu mohou zakládat vzdálená ložiska, a to buď hematogenně, lymfogenně nebo kombinací obou způsobů.

Schopnost nádoru zakládat metastázy je složitý biologický děj, který probíhá v několika etapách. Začíná invazí přes bazální membránu epitelu a šířením mezi endoteliální buňky lymfatických nebo krevních cév za spolupůsobení některých enzymů (kolagenázy, heparinázy a stromelyzinu). Dalším krokem je vznik nádorových embolů uvnitř lymfatických nebo krevních cév, kde se nachází velmi silné ochranné prostředí zajišťované imunitním systémem. Při „nádorové kolonizaci“ regionálních lymfatických uzlin nebo jiných vzdálených tkání se znovu uplatňuje vliv výše zmíněných enzymů. Proces implantace nádorových buněk v nové tkáni s vytvořením samostatně fungujících buněčných klonů vyžaduje angiogenní a růstové faktory tak, aby bylo zajištěno krevní zásobení, stimulace k replikaci metastatických buněk a potlačení vlivu hostitelských buněk nebo jejich aktivace na straně druhé (např. osteoklastů k resorpci kosti). Odhaduje se, že pouze asi 1% pokusů o metastazování je pro nádorové buňky plně úspěšné³.

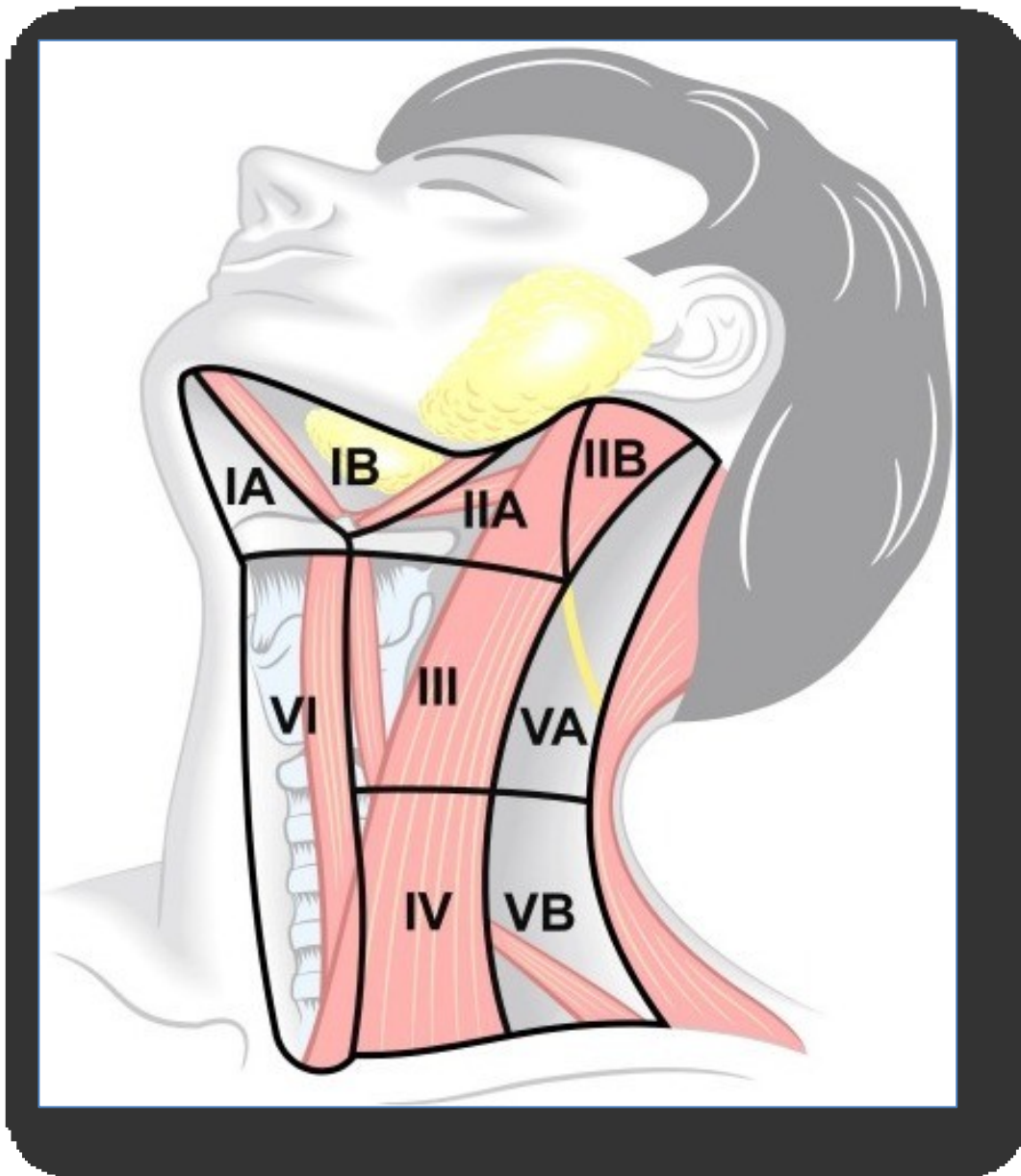
Spinocelulární karcinomy nejčastěji metastazují do regionálních lymfatických uzlin. V závislosti na lokalizaci nádoru existují určité predilekční lokality, ve kterých lze existenci metastáz předem předpokládat (Obr. 3).



Obr. 3 Metastazování karcinomu dutiny ústní do jednotlivých skupin lymfatických uzlin

Z chirurgického hlediska jsou jednotlivé oblasti na krku rozděleny tzv. etážemi (I-VI) (Obr. 4).

hypofaryngu a laryngu.



Obr. 4 Etáže lymfatických uzlin na krku: **Ia** – submentální oblast, **Ib** – submandibulární oblast, **II** - horní jugulární oblast, **III** – , **IV** – dolní jugulární oblast, **V** - , **VI** –

2.2.5. Zobrazovací metody

V rámci stagingu onemocnění nádorem musíme k výše uvedeným vyšetřením doplnit zobrazovací metody. K základním by mělo sloužit CT vyšetření hlavy a krku s intravenózně aplikovanou kontrastní látkou. Některé odborné společnosti raději než CT doporučují MR pro jeho větší výpovědní hodnotu. Obligatorní součástí vyšetřovacího algoritmu je i zadopřední rentgenogram srdce a plic.

Jinou možností, kterou nám současné zobrazovací metody nabízejí je celotělový sken s využitím PET CT. Senzitivita PET CT vyšetření je odhadována na 93-100%, specificita na 90-100%. Dále je PET CT vyšetření možno zakomponovat do následného radioterapeutického plánu (Viz kapitola 3.2. Radioterapie).

2.3. Biologické vlastnosti a prognóza karcinomů

Základními deskriptivními metodami nádorového onemocnění jsou jeho staging (rozsah) a grading (stupeň diferenciacie nádoru).

Při stanovení stadia (stagingu) nádorového onemocnění vychází klinik z výsledků TNM klasifikace. *Grading* určuje histopatolog na základě mikroskopického, resp. imunohistochemického vyšetření vzorku nádorové tkáně.

2.3.1. Staging nádorového onemocnění

2.3.1.1. TNM klasifikace

1952. V roce 1950 ustavila UICC (Union for International Cancer Control -)

ech

tem

retrospek vždy po uplynutí ti let.

Cíle TNM klasifikace by se daly shrnout do následujících bodů:

- by

-

- by

-

-

2.3.1.2. Stádium onkologického onemocnění

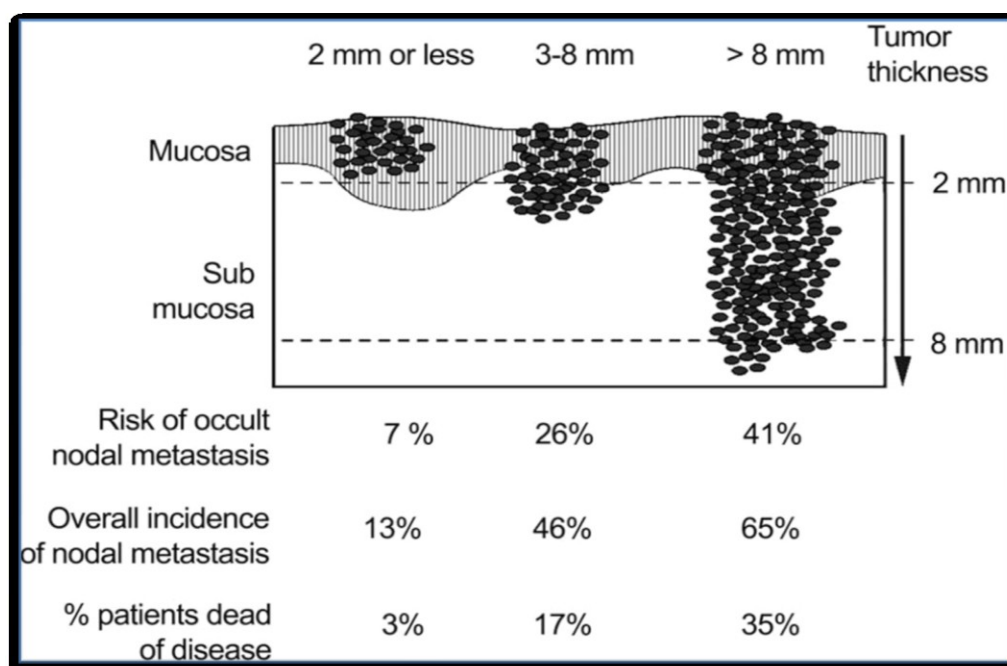
Stádium onemocnění	T	N	M
Stádium 0	TIS	N0	M0
Stádium I	T1	N0	M0
Stádium II	T2	N0	M0
Stádium III	T1-2	N1	M0

	T3	N0,1	M0
Stádium IVA	T1-3	N2	M0
	T4a	N0 – N2	M0
Stádium IVB	T(jakékoliv)	N3	M0
	T4b	N (jakékoliv)	M0
Stádium IVC	T(jakékoliv)	N(jakékoliv)	M1

2.3.2. Grading nádorového onemocnění

Prognóza maligního onemocnění spinocelulárních karcinomů orofaryngu () a na klinickém stádiu. edp

Velmi důležitým prognostickým faktorem u karcinomů hlavy a krku je hloubka invaze (Obr 5.), perineurální nebo intravaskulární šíření.



Obr.5 Souvislost mezi hloubkou invaze a pravděpodobností metastázování⁸⁰

3. Léčba tumorů dutiny ústní

Léčba slizničních karcinomů dutiny ústní stojí na třech základních pilířích:

- radikální chirurgické odstranění nádoru
- radioterapie
- chemoterapie

3.1. Chirurgická léčba

Chirurgická léčba nádorů hlavy a krku spočívá v odstranění primárního ložiska tumoru pokud možno vcelku a s dostatečnou radikalitou a exenterací spádových lymfatických uzlin.

3.1.1. Odstranění primárního ložiska tumoru

Chirurgický výkon stále zůstává nejefektivnějším typem léčby zhoubného onemocnění. Skládá se ze samotné excize nádoru spolu s okolní zdravou tkání tak, aby byl vlastní okraj extirpovaného zhoubného tumoru vzdálen minimálně 0,5 cm od resekční linie. Tento požadavek nelze vždy splnit, ale úkolem chirurga je pohybovat se co nejvíce ve zdravé, nádorem neinfiltrované krajině.

Vzniklý defekt je poté možno uzavřít místními posuny tkání anebo, pokud to není možné, využívat k rekonstrukci defektu vzdálených anebo rotačních laloků. Je nutno pamatovat na to, že onkochirurgické výkony jsou nejen velmi zatěžující pro pacienta, ale také časově a finančně náročné.

V rámci nutričního zajištění pacienta velmi často zavádíme perkutánní endoskopickou gastrostomii, jelikož prostá nazogastrická sonda nejenže

pacienti obtěžuje svou přítomností, ale po více jak 10 dnech může způsobit dekubity v místě kontaktu s trávící trubicí, což vede k jizvení a strinkturám. Vzhledem k náročnosti výkonu a riziku pooperačních edémů v krajině ústní dutiny a horních dýchacích cest často volíme tracheostomii k zajištění průchodnosti dýchacích cest.

3.1.2. Krční blokovaná disekce

Vedle eliminace vlastního nádorového ložiska musíme přistoupit i k eradikaci metastáz v oblasti krčních lymfatických uzlin na krku.

Crile v roce 1906 navrhl tzv. *radikální krční blokovanou disekci* s odstraněním lymfatických uzlin i přes klinicky negativní nález krčních metastáz. Tato operace ve své době znamenala průlom v léčbě nemocných nádory hlavy a krku, jimž umožnila výrazně delší přežití. Je nutné podotknout, že i v dnešní době má tato operace stále své místo v chirurgické léčbě krčních metastáz.

Podle současné klasifikace Výboru pro chirurgii hlavy a krku Americké akademie otolaryngologie - chirurgie hlavy a krku (*Committee for Head and Neck Surgery and Oncology of the American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*) rozlišujeme několik typů krčních blokovaných disekcí, které jsou založeny na následujících principech:

Radikální krční blokovaná disekce - standardní zákrok k provedení krční lymfadenektomie, všechny ostatní operace reprezentují jednu nebo několik modifikací této operace.

Zákrok spočívá v en bloc odstranění tukově-lymfatické tkáně, která obsahuje lymfatické uzliny z etáží I-V a z okolí cauda parotis. Dále jsou resekovány n. accessorius, v. jugularis interna a m. sternocleidomastoideus.

Dnes je tato operace doporučena pouze u pacientů s vysokým N+ stádiem, při uzlinových recidivách po chemoradioterpii nebo u pacientů s rozsáhlým extrakapsulárním šířením směrem k n. accessorius, m. sternocleidomastoideus a/nebo v. jugularis interna.

Modifikovaná radikální krční bloková disekce zachovává jednu nebo několik nelymfatických struktur. Rozsahem je tedy stejná jako radikální bloková disekce, ale šetrnější vůči jedné nebo několika důležitým strukturám, např. n. accesorius, v. jugularis interna, nebo m. sternocleidomastoideus.

Selektivní krční bloková disekce se zaměřuje na skupinu uzlin, které jsou vzhledem k lokalitě primárního tumoru statisticky nejčastěji postiženy.

U této blokové disekce u karcinomů dutiny ústní exenterujeme úroveň I-III. Doporučována je u stádií N0 a N1, nicméně díky složité lymfatické drenáži jazyka někteří autoři doporučují rozsah etází I-IV.

Extendovaná krční bloková disekce zahrnuje odstranění dalších tkání, postižených metastatickým šířením nádoru.

3.2. Radioterapie

Radioterapie u onkologicky nemocných může být využita v rámci primární terapie nádorů hlavy a krku, jako adjuvantní nebo neoadjuvatní součást chirurgické léčby anebo jako tzv. paliativní léčba.

hlavy a

Radioterapie se skládá ze 2 hlavních kroků, kterými jsou *plánování ozařovacího pole a vlastní radioterapie*.

i.^{40,41}

Výsledky moderních zobrazovacích metod (CT s kontrastní látkou, PET CT, MR) je za účelem stanovení ozařovacího plánu možno fúzovat se samotným plánovacím CT. Studie Daisneho a spol⁴² uvádí, že v tomto smyslu je PET CT nejpřesnější.

Při ozařování v oblasti hlavy a krku se nevyhneme zacílení na oblast primárního nádoru a jedno- nebo oboustranných lymfatických uzlin na krku, což dělá tento zákrok složitým díky přítomnosti četných životně důležitých orgánů. Donedávna byla nejčastěji používanou metodou *technika postupného zmenšování polí (shrinking field technique)*, kdy oblasti primárního tumoru a oboustranných krčních uzlin byly ozařovány ze dvou protilehlých bočních polí dávkami 40-44Gy. Avšak homogenita dávky není u tohoto typu radioterapie zcela optimální, navíc plánování je velmi složité.

Naproti tomu *radioterapie modulovanou intenzitou (IMRT)* optimálně distribuuje dávky záření díky optimálnímu rozložení intenzity záření v jednotlivých polích. Celkově je tato metoda velmi výhodná, protože umožňuje homogenní ozáření cílového objemu za šetření rizikových struktur. Další, a velm

-

-

(p = 0,003)⁴³

44,45

Výhodou IMRT techniky je

v okolí nádoru

47-48

Protonová terapie

Jedná se aplikaci ozáření urychlenými protony. Výhoda této léčby spočívá v přesném ozáření cílového objemu

49

3.3. Chemoterapie

Ve spektru metod využívaných při léčbě nádorů hlavy a krku má chemoterapie spíše pomocný, doplňující význam. V protokolech standardní léčby OFK rozlišujeme 3 druhy chemoterapie: neoadjuvantní, adjuvantní a konkomitantní radiochemoterapii.

Neoadjuvantní (indukční) chemoterapie může být podávána s cílem zlepšit výsledky léčby, nebo je součástí takzvaných záchovných protokolů. Záchovný protokol představuje alternativu k radikální chirurgické léčbě. V úvodu podaná chemoterapie má za úkol selektovat nádory vhodné pro primární radioterapii. Vychází se z předpokladu, že chemosenzitivní nádor bude i radiosenzitivní.⁵⁴

Příkladem této léčby může být lokoregionální neoadjuvantní chemoterapie kanylací arteria temporalis superficialis, jejíž dlouhodobý efekt a význam pro dobu přežití nemocného nebyl potvrzen.^{55,56}

Účelem adjuvantní chemoterapie je terapeuticky ovlivnit eventuální vzdálené mikrometastázy nádoru. V současné době se považuje za prokázané, že konkomitantní podání chemoterapie s radioterapií je účinnější než neoadjuvantní chemoterapie s následným zářením. Ukazují na to výsledky metaanalýz hodnotící velké množství pacientů, kterým byla chemoterapie podána^{55,56}. Chemoterapie do jisté míry senzibilizuje nádorovou

tkáň k účinku radiačního záření a tím zlepšuje výsledný efekt léčby. Nevýhodou konkomitantní chemoterapie je její toxicita, kterou pacienti zejména s pokročilým onemocněním nádory hlavy a krku nemusejí vždy tolerovat.

3.4. Biologická léčba

V posledních několika letech je věnována pozornost látkám, které zasahují pouze některé molekulární cíle. Tyto preparáty působí cíleně na receptor epidermálního růstového faktoru (EGFR - epidermal growth factor receptor). Jde o jeden z transmembránových signálních proteinů, který se podílí na kontrole normálního buněčného růstu a diferenciaci, ale i na vzniku nádoru a jeho propagaci. EGFR je exprimován řadou nádorů, včetně karcinomů hlavy a krku, a jeho vysoká exprese koreluje s agresivitou nádoru, nižším přežitím a rezistencí vůči radioterapii^{57,58}. Biologická léčba bývá zařazována zpravidla v kombinaci s radioterapií jako pooperační zajištění, nebo v případech pooperačních nádorových recidiv. Její nevýhodou zůstávají zatím zejména vysoké finanční náklady a časově omezené prodloužení doby přežití pacientů (v řádu měsíců). Lepších výsledků bylo dosaženo při léčbě u karcinomů orofaryngu a lépe diferencovaných nádorů.⁵⁹

4. Lidské transformující viry

Nejen HPV viry jsou zodpovědné za maligní transformaci buněk. Zvířecí viry bývají zodpovědné za akutní transformaci buněk, naproti tomu humanotropní viry k maligní transformaci potřebují delší dobu latence se spoluúčastí vnitřních a vnějších vlivů²⁹.

(podle International Agency for Research on Cancer

- pov

-

(HPV), virus hepatitidy B (HBV), virus hepatitidy C (HCV), lidský T-lymfotropní virus 1 (HTLV-1), lidský herpesvirus 8 (HHV-8, KSHV) a virus lidské imunodeficiency (HIV) (Tabulka 1)

rovněž zařazen³⁰

eci) a

adenoviry. Velká

mladého endogenního retroviru HERV v

etiologii rakoviny prsu.^{31,19}

Název viru	Malignita
EBV	v lymfom v lymfom Karcinom nosohltanu ní lymfoproliferativní nemoc
HPV	ípek, vulva, vagina, anus, penis) Karcinomy hlavy a krku
Lidský herpesvirus 8	Kaposiho sarkom Lymfom serózních blan Primární efusní lymfom Multicentrická Castlemanova choroba
Virus hepatitidy B	Hepatocelulární karcinom
Virus hepatitidy C	Hepatocelulární karcinom
Lidský T- lymfotropní virus -1	- lých
HIV	Lymfomy

biologické techniky:

- Pouze nemocná tkáň izolovatelná z jednoho patogenu.
- Vysoká citlivost metody (detekce několika kopií genomu patogenu).
-
-
-
- Povaha mikroorganismu detekovaného pomocí se známou biologickou charakteristikou onemocnění.
-
- Kaz je reprodukcibilní.

5. Lidský papilomavirus

Virus lidského papilomaviru náleží do skupiny *Papovaviridae*, která zahrnuje přibližně 100 různých sérotypových druhů, a dále dělí do dvou dílčích skupin - *alfa* a *beta*. Jedná se o malé neobalené dvouvláknové DNA viry, které jsou mutačně stabilní a druhově specifické. Virus lze nalézt na mnoha místech těla - na sliznicích (děložním čípku, v ústech, orofaryngu), kůži - v oblasti genitálu nebo konečníku. HPV nacházíme v mnoha lézích, které mají charakter benigních (veruky, condylomata accuminata), ale i maligních solidních nádorů (karcinomy děložního čípku, pyje, kůže, dutiny ústní, orofaryngu).

Genom HPV se skládá ze 3 oblastí:

- regulační region (LCR) - obsahuje vazebná místa pro virové proteiny E1 a E2, zde začíná virová replikace, dále promotory (P1-P4) a vazebná místa pro transkripční faktory

- časný region (early region)

- pozdní region (late region).

Na základě rizika malignizace hostitelské buňky byly vytvořeny 3 skupiny, do nichž jsou jednotlivé typy HPV řazeny: low risk, intermediate risk a high risk (HR).

Skupina *alfa* HPV je jedinou, která je obsažena v skupině HR HPV tumorů, nejlépe probádanou a nejvíce diskutovanou s ohledem na riziko maligních transformací infikovaných buněčných struktur.

Prevalenci přítomnosti lidského papilomaviru v neopláziích¹⁶⁻¹⁹ vyjadřuje Tabulka 2:

Lokalizace	Prevalence
Karcinom děložního čípku	99.7 %
Karcinom anu	až 93 %
Karcinom pochvy	až 91 %
Adenokarcinom děložního čípku	82 %
Karcinom penisu	až 82 %
Karcinom vulvy	40 %
Dlaždicobuněčné karcinomy hlavy a krku	až 35 %

Tab. 2 Prevalence přítomnosti lidského papilomaviru v různých neopláziích.

Z pohledu OFK řadíme k HR-HPV typy 16, 18, 31, 33, 35. Jedná se o viry s dvouvláknovou DNA s přibližně 8000 nukleotidy, které kódují sedm časných (early) genů (E1-7), dva pozdní (late) L1, L2 a locus control region (LCR) (Obr. 1). Z výše uvedených je nejčastějším zástupcem typ 16, který se

vyskytuje asi v 90-95% HPV+ nádorů, následovaný značně menší skupinou typů 18 a 33⁽⁴⁻⁸⁾.

Naproti tomu patogenetický význam HPV ze skupiny *beta* je menší^{21,22} a potřebují hlubšího objasnění jejich molekulárních charakteristik a znalost epidemiologie, aby bylo možné lépe pochopit jejich roli v karcinogenezi.¹⁹

regredují v horizontu 5 let²³ a jsou příčinou trpících vzácnou genetickou chorobou známou pod názvem epidermodysplasia verruciformis (EV)²⁴. Ve vztahu s EV jsou beta HPV typy 5 a 8 klasifikovány jako vysoce rizikové²⁵. Běžná část nemelanomových kožních malignit nejen u imunokompromitovaných, ale i u zdravých lidí.²⁶ Klíčová úloha beta HPV v karcinogenezi je předmětem výzkumu¹⁹.

5.1. Přenos infekce

Infekce lidským papilomavirem je považována za sexuálně přenosné onemocnění (STD). K přenosu infekce může dojít jakýmkoliv sexuálním stykem – koitálním, nekoitálním, hetero- nebo homosexuálním, a to obousměrně. Přenos infekce může nastat i líbáním nebo autoinokulací. Mechanismus osídlení dutiny ústní je objasněn nejméně. Obecně se za nejpravděpodobnější považují alternativní koitální praktiky (orogenitální přenos). Nicméně často typ HPV v ústech a na genitálu není totožný a to jak u sexuálního partnera tak u osoby samotné⁶²⁻⁶⁵. Podle některých autorů není možné vyloučit přenos nepohlavní cestou: bylo prokázáno, že viry v keratinocytech mohou za vhodných podmínek přežívat až jeden týden⁶¹. Vzhledem k tomu, že virémie vzniká až po infekci virem HPV, je kontaminace krevní cestou spíše nemožná.⁶⁶

Poslední možností přenosu infekce zůstává vertikální přenos z matky na dítě. Toto je teoreticky možné dvěma způsoby: v průběhu těhotenství nebo během porodu⁷². Tento přenos je sice možný, avšak dochází k němu relativně vzácně. Pokud dojde k infekci, většinou do několika měsíců vymizí⁷³. K trvalé infekci dutiny ústní dochází u asi 10% infikovaných jedinců a ke genitální u méně než 2% takto infikovaných novorozenců.⁷⁴

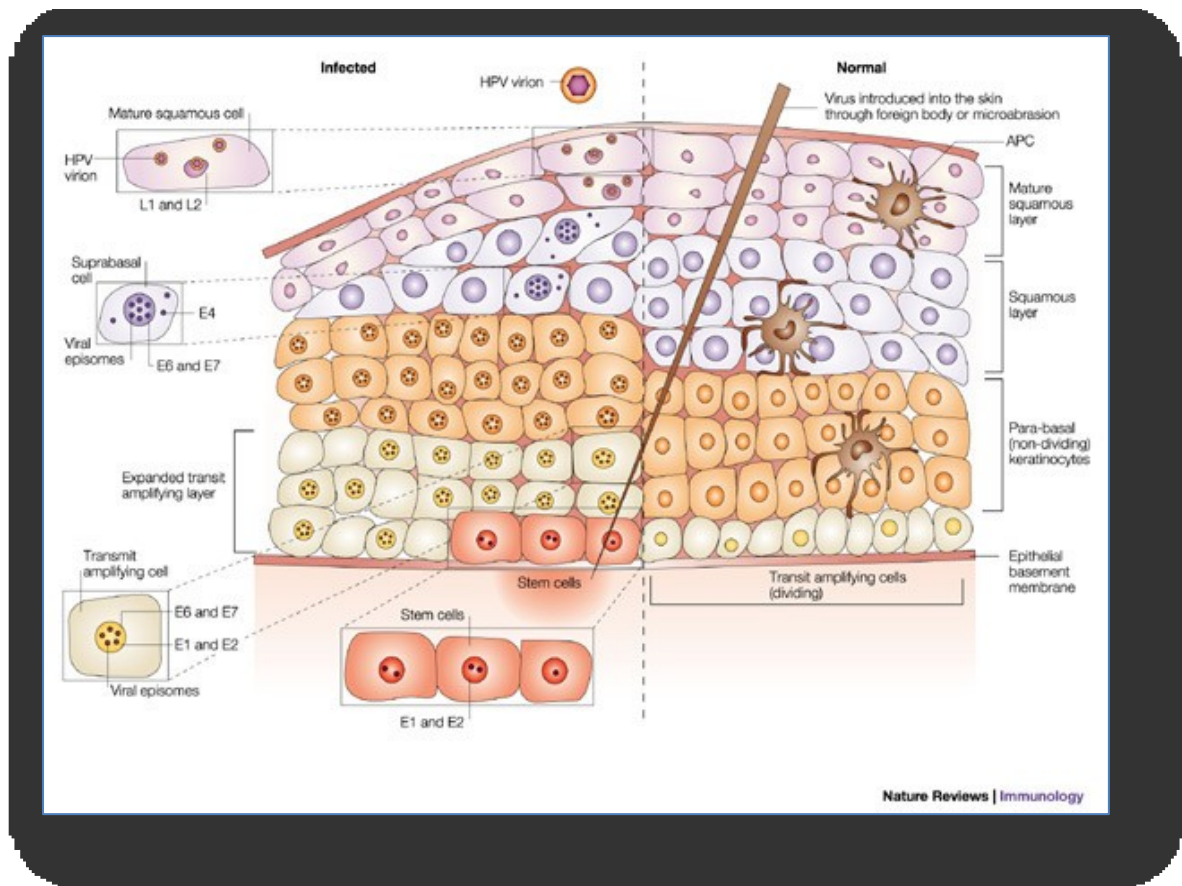
HPV jsou celosvětově nejčastěji přenášeným infekčním agens. Celoživotní riziko infekce u žen je až 80%⁶⁰. Přenos pravděpodobně nastane kontaktem sliznic obou partnerů během sexuálního styku. Drobné ranky, které se na sliznici nebo kůži vyskytují pak slouží jako vstupní brána pro infekci virem, který se tak dostane ke slizniční bazální membráně.

5.2. Mechanismus infekce buňky virem HPV

Dlaždicobuněčný epitel sliznic lidského těla v místech *skvamo-kolumnární junkce* přechází v epitel cylindrický. V této lokalitě dochází k výrazné proliferační aktivitě; jedná se o oblast velmi náchylnou k infekci HPV.

Bazální nebo parabazální buňka skvamo-kolumnární junkce se může transformovat jak v keratinocyt, tak v buňku cylindrického epitelu. Proto případné dysplastické změny mohou být v oblasti obou zmíněných typů epitelu.⁶⁷ HPV však k dokončení svého životního cyklu potřebuje diferenciační gradient, který je přítomen pouze v mnohvrstevném dlaždicovém epitelu, nikoliv však v jednovrstevném cylindrickém epitelu. To je důvod, proč v posledně uvedeném není primární sídlo HPV infekce.⁶³

Virus se po proniknutí defektem v epitelu váže na jeho bazální membránu a následně na bazální keratinocyty⁶⁸ (Obr. 6). Obě vazby jsou zprostředkovány virovým kapsidovým proteinem L1^{70,71}. Inkorporace viru je však mnohem složitější proces. Jedná buňka může být infikována několika typy HPV, do genomu hostitele se ale zpravidla zapíše pouze jeden.



Obr. 6 Cesta infekce epitelu virem HPV⁶⁹

5.3. Charakteristika pacientů s HPV+ karcinomem

HPV+ tumory byly v posledních 10 letech intenzivně studovány. Dnes víme, že dutina ústní a orofarynx jsou k infekci lidským papilomavirem náchylné, přičemž typ HPV 16 je nejčastějším zástupcem high risk skupiny^{78,79}.

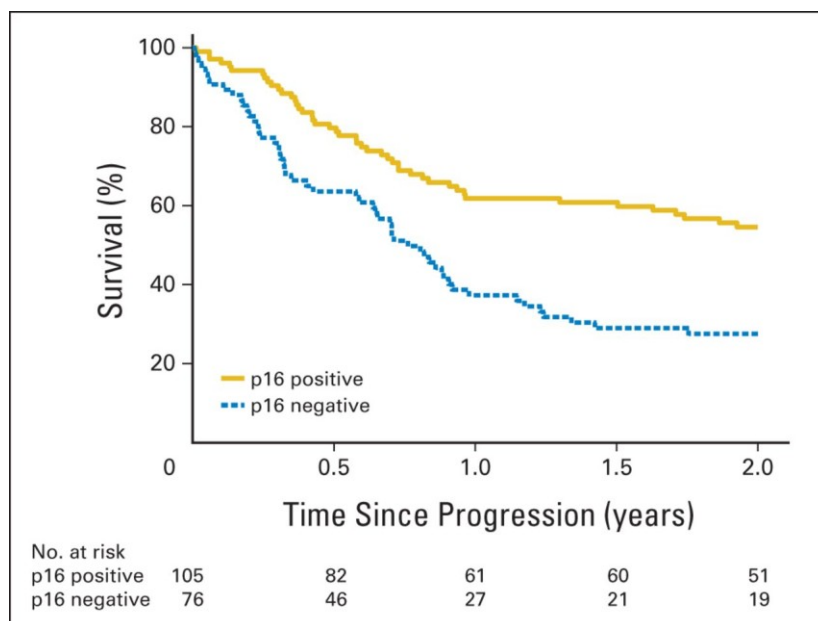
Nemocní s HPV tumorem jsou většinou v mnoha aspektech odlišní od "klasických" HPV negativních. Jedná se většinou o mladší pacienty, často s dobrým socioekonomickým zázemím a vyšším vzděláním (Tab. 3)

Srovnání skupin pacientů s HPV pozitivním a negativním spinaliomem dutiny ústní a orofaryngu:

	HPV +	HPV –
Lokalizace	tonzily, baze, kořen jazyka	kdekoliv
Incidence	vzestupná	stejná
Věk	mladší jedinci	starší jedinci
Pohlaví	M:Ž 3:1	M:Ž 3:1
Socioekonomický status	střední až vysoký	nízký
Rizikové faktory	sexuální promiskuita	alkohol, tabák
Prognóza	lepší	horší

Tab. 3 Srovnání skupin pacientů s HPV pozitivním a negativním spinaliometem dutiny ústní a orofaryngu

Pacienti, jejichž nádor je p16 pozitivní mají ve srovnání s pacienty p16 negativními signifikantně vyšší pravděpodobnost, že se u nich nerozvine recidiva tumoru po prodělané chemoradioterapii. Dále i přes progresi recidivy nádoru mají pacienti s p16 pozitivními karcinomy dutiny ústní signifikantně vyšší délku přežití než u skupiny p16 negativních, jak ukázal závěr studie Fakhryové z roku 2014.⁸¹ (Graf 1)



Graf 1 Graf ukazující srovnání 2 letého přežití od vypuknutí recidivy u pacientů p16 pozitivním a negativním karcinomem orofaryngu⁸¹.

Chirurgická terapie u HPV+ tumorů má, stejně jako u HPV negativních, ve srovnání s ostatními léčebnými modalitami, nejlepší efekt. Fakhryová⁸¹ ve své studii hodnotí výsledky operací u lokoregionálních recidiv, ze kterých vyplývá, že operace i v případě recidivy HPV+ tumoru má prognosticky lepší výsledek než pouhá paliativní adjuvantní terapie.

Také paliativní chemoterapie HPV+ karcinomů vykazuje vyšší pravděpodobnost pětiletého přežití než u HPV-⁸⁶. Důvodem proč HPV pozitivní karcinomy lépe reagují na léčbu, může být skutečnost, že ve srovnání s HPV negativními vykazují rozdíly v expresi p53⁸², p16⁸³, p21⁸³ a EGFR^{84,85}.

5.4. Detekce lidského papilomaviru

V současné době existuje celá řada metod umožňujících stanovení přítomnosti HPV v biologickém materiálu. Mezi metody nepřímé patří zejména cytologie, histologie bioptického materiálu a imunohistochemické vyšetření.

5.4.1 Histologická detekce infekce lidským papilomavirem

Histopatologický obraz HPV-pozitivního spinaliomu dutiny ústní nemá specifické rysy. Ve většině případů jde o nekeratinizující, špatně diferencovanou lézi. Mohou být přítomny některé histopatologické znaky jako koilocytóza, dyskeratóza, hyperkeratóza, akantóza a parakeratóza. Koilocytóza je nejčastější cytopatický efekt viru a je považována za hlavní histopatologický aspekt HPV infekce. Koilocytóza označuje přítomnost abnormálních koilocytů s pyknotickým jádrem a velkým perinukleárním projasněním. Nicméně studie³⁴⁻³⁸ zabývající se průkazem HPV suspektních karcinomů orofaryngu na základě histologického vyšetření ve srovnání s detekcí pomocí PCR prokázaly, že přítomnost koilocytů v biopsiích spinocelulárních karcinomů dutiny ústní nesvědčí vždy pro skutečnou virovou infekci.

5.4.2. Laboratorní diagnostika HPV infekce

Existuje několik testů, umožňujících určit HPV etiologii orofaryngeálních spinocelulárních karcinomů: HPV PCR, HPV in situ hybridizace (ISH) a imunohistochemický průkaz exprese nádorově asociovaného supresorického proteinu p16. V klinické praxi se posledně uvedená metoda používá nejvíce.

P16 protein je regulátor buněčného cyklu, jehož normální funkcí je potlačovat aktivitu cyklin dependentních kináz. Byl dokumentován jako marker transkripčně aktivních HPV u orofaryngeálních karcinomů. Overexprese p16 se dává do souvislosti s lepší odpovědí na terapii a lepší klinické výsledky u orofaryngeálních spinocelulárních karcinomů. Overexprese p16 proteinu se objevuje jako výsledek degradace Rb proteinu HPV E7 onkoproteinem. Protože p16 je tumor supresorový protein, jehož normální funkcí je inhibice cyklin dependentních kináz, chybí jeho exprese u většiny HPV negativních spinocelulárních karcinomů hlavy a krku, protože gen je mutovaný, deletovaný nebo metylovaný. Limitací proteinu p16 jako optimálního

biomarkeru je, že není specifický jenom pro HPV infekci, protože může být overexprimovaný i jinými mechanizmy. Je prokázáno, že p16 pozitivní, HPV negativní spinocelulární karcinomy mají přežití srovnatelné s p16 pozitivními, HPV pozitivními tumory a statisticky signifikantně lepší než p16 negativní, HPV negativní spinocelulární karcinomy. P16 protein tak určuje největší kohortu orofaryngeálních spinocelulárních karcinomů s „dobrou prognózou“.

Využití serologických metod pro průkaz HPV infekce je sporné. papilomaviry neprocházejí totiž virémickou fází, a jsou jen velmi obtížně kultivovatelné na tkáňových kulturách. Kazuistiky z posledních let naznačují, že vzorky získané v čase diagnózy u nádorů orofaryngu, penisu a děložního čípku jsou velmi silně asociovány s HPV 16 E6 a E7 séropozitivitou⁹.

V laboratorní praxi se nejčastěji používají molekulárně genetické HPV testy, dnes již komerčně dostupné, které umožňují detekci virové nukleové kyseliny ve vzorku. Odlišují se mezi sebou především senzitivitou a specifitou. Rozlišujeme zejména screeningové HPV testy, genotypizační HPV testy a HPV in situ hybridizační testy⁷⁵. Volba metod detekce HPV závisí na požadovaném výsledku dané laboratoře. Pro rutinní preventivní a diagnostický screening cervikálních lézí obvykle plně postačuje určení HPV negativity nebo HPV positivity bez určení konkrétního HPV typu. V případě pozitivního výsledku lze některou z typizačních metod určit konkrétní genotyp ze skupiny HR (High risk – vysokého rizika) či LR (low risk – nízkého rizika) HPV. K tomuto účelu se využívá například PCR s typově specifickými primery, metoda RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) založená na rozlišení specifické délky restrikčních fragmentů či metodu hybridizace dot-blotu s typově specifickými oligopróbami. Komerčně dostupná je také metoda reverzní hybridizace.

Nejpoužívanější metodou stále je Hybrid Capture II systém (Digene), který používá pro hybridizaci RNA sondy jak pro skupinu HR HPV (typ 16,18,31,33,35,39,45,51,52,56,58,59,68), tak pro skupinu LR HPV typů (6,11,42,43,44). Metoda je založená na přímé hybridizaci HPV DNA. Hybridy DNA-RNA, které vzniknou navázáním specifické skupiny sond, jsou detekovány pomocí specifických sekundárních protilátek konjugovaných

s příslušným enzymem, který štěpí přidaný substrát za vyzáření chemiluminiscence. Chemiluminiscenční světlo je měřeno v luminometru a softwarem vyjádřeno jako relativní světelné jednotky (RLU - relative light unit) ve srovnání s kontrolami reakce. Pro zvýšení citlivosti detekce využívá metoda amplifikace signálu a stává se srovnatelně citlivou s detekcí založenou na bázi PCR. Některé publikace uvádějí, že je takto možné detekovat přítomnost papilomavirů s citlivostí již od 1pg HPV DNA/ml. Metoda Hybrid Capture II je dobře reprodukovatelná. Vykazuje však určitou míru analytické nepřesnosti. Při analýze vzorků může docházet k tzv. křížové reaktivitě, která vzniká nežádoucí reakcí sondy s dalšími typy HPV a vede k falešně pozitivním výsledkům. Tento nedostatek je možné redukovat definováním šedé zóny testu a použitím vyšší cut-off hodnoty RLU pro stanovení jasně pozitivního nálezu. Výsledky ze šedé zóny jsou označeny za hraniční a je třeba je znovu testovat, aby bylo možno získat validní výsledek⁷⁶.

Dalším možným způsobem detekce HPV s možností přesného určení genotypu je využití metod založených na polymerázové řetězové reakci – PCR (polymerase chain reaction). Metody PCR vykazují nejvyšší senzitivitu a jsou časově nenáročné. Při použití PCR je třeba vyloučit přítomnost inhibitorů DNA polymerázy a současně při každé reakci ověřit dostatečné množství DNA vstupující do reakce. Za tímto účelem se používá amplifikace kontrolního genu např. pro lidský beta-globin.

Podle výchozího materiálu lze volit různé systémy primerů v PCR. Nabízí se provedení jednostupňové nebo nested. Nested PCR je modifikace polymerázové řetězové reakce, kdy jsou použity dva páry primerů. První pár primerů amplifikuje požadovaný úsek stejně jako jednostupňová PCR. Druhý pár primerů nasedá na místo v PCR produktu amplifikovaném v první PCR reakci. Produkt druhé PCR reakce je ve srovnání s prvním produktem kratší. Hlavní výhodou nested PCR je, že zvyšuje specifitu amplifikace požadovaného úseku DNA a také zvyšuje výtěžek amplifikace.

Pro určení několika základních typů v jedné reakci je možné zvolit multiplexní PCR.

Výsledek PCR je vizualizován například pomocí elektroforézy nebo přímo metodou hybridizace a imunochemické detekce na mikrotitračních destičkách. V případě real time PCR je produkt detekován stanovením změny intenzity fluorescenčního záření během amplifikace.

Z dalších metod určení HPV typu je možné uvést kapilární sekvenaci, která může být i v provedení zahrnující předchozí klonováním amplikonů, nebo metodu SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism). Zvláštní skupinu tvoří testy detekující HPV na principu in-situ hybridizace (ISH). Testy jsou však poměrně náročné na provedení a vykazují nižší citlivosti detekce. Jedná se o navázání specifické sondy na genom HPV v buňce. Vzniklý hybrid je vizualizován pomocí systému protilátek s enzymatickým značením. Barevně změněný substrát v místě přítomné HPV infekce je pak detekován v histologickém kontextu pod mikroskopem. Rozdíly v barvení pozitivního signálu přibližně odlišují episomální infekci HPV od pokročilé infekce, kdy je virus již integrován do lidského genomu.

Nabídka molekulárně genetických testů pro detekci HPV je velmi široká. Při výběru správného testu může být nápomocná i Národní referenční laboratoř pro papilomaviry, která na svých stránkách uvádí přehledné hodnocení vybraných HPV testů.

Každá z metod má své výhody a svá rizika z hlediska citlivosti, specifity, rizika kontaminace, falešně pozitivních nebo negativních výsledků apod. Konečný výběr závisí vždy na účelu stanovení, přístrojových a prostorových možnostech laboratoře a zvážení rizik a výhod každé metody.

Speciální část

6. Cíl práce

Cílem předkládané práce je posoudit možnou souvislost mezi typy sexuálních praktik (koitálních vs. nekoitálních) a infekcí lidským papilomavirem v ústech a na děložním čípku.

7. Materiál a metodika

Ve spolupráci s Gynekologicko-porodnickou klinikou FN Olomouc a Katedrou mikrobiologie LF a FN Olomouc jsme vyšetřili 87 pacientek. Z nich 6 neudělilo souhlas se zařazením výsledků vaginálních, ale jen orálních stěrů do studie. U 81 pacientek z 87 jsme provedli stěry z dutiny ústní, orofaryngu a děložního čípku. Vyšetřované ženy byly seznámeny s cílem studie, podepsaly informovaný souhlas a vyplnily dotazník (Obr. 6), schválené Etickou komisí LF UP a FN Olomouc. Poté byly provedeny gynekologem stěry z děložního čípku a maxilofaciálním chirurgem z dutiny ústní z míst s nejpravděpodobnějším výskytem HPV infekce - tonzila, kořen jazyka a spodina dutiny ústní. Vzorky jsme poté odeslali do laboratoře ke zpracování metodou PCR.

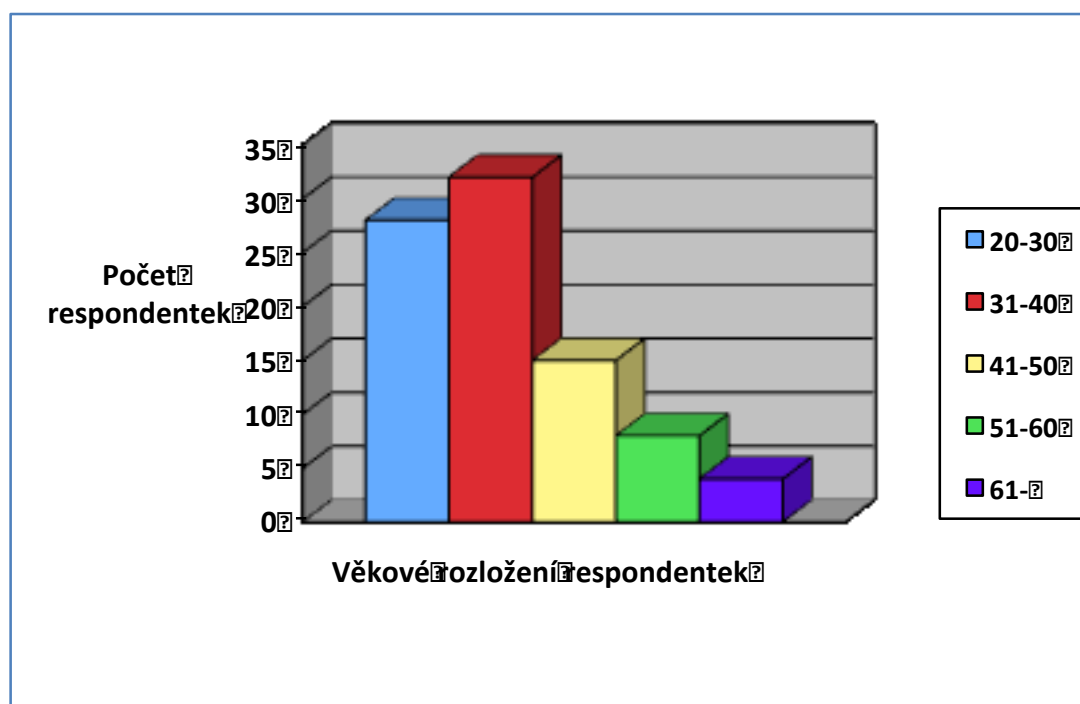
Vzhledem k možnosti přenosu infekce HPV do dutiny ústní a orofaryngu jinými než nekoitálními sexuálními praktikami, byly otázky v dotazníku (Obr. 6) směřovány také k hygienickým návykům (používání cizích zubních kartáčků), a také ke zlovykům, kdy mohlo dojít k přenosu sliny do úst: při kouření marihuany, vodní dýmky či fajfky - což jsou aktivity, u kterých může docházet ve skupině ke sdílení náustku, případně cigarety samotné.

V naší práci jsme sledovali možný vztah infekce děložního čípku HPV HR a věkem, počtem orálních, koitálních, análních partnerů, dále kouřením a

konzumací alkoholu. Za tímto účelem byla skupina probandek rozdělena na skupiny a to s HPV+ a HPV- nálezem na děložním čípku (VAG+ a VAG-).

Materiál, získaný stěry z oblasti děložního čípku z tonsily, kořene a spodiny jazyka byly zpracovány v laboratořích Katedry mikrobiologie LF UP a FN Olomouc metodou Real time PCR (HPV High Risk Screen Real-TM RG) firmy Sacace. Metoda byla detekována přítomnost HPV viru typů (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) a jako pozitivní kontrola byl použit β -globinový gen používaný jako vnitřní kontrolu.

Pacientky byly rozděleny do skupin v závislosti na věkových dekádách (od 20 do 71 let) - viz graf 2. Nejpočetnější skupinou byly věkové kategorie 31-40 a 41-50 (po 14 respondentkách). Věkový průměr dotazovaných žen byl 43,2 let (min 22, max 83), medián 41 let.



Graf 2 Počet pacientek v decéniích

Jméno a příjmení NEBO iniciály:.....

Datum narození NEBO rok narození:.....

Povolání (v případě penze nebo více povolání, vyjmenujte prosím co nejvíce povolání, které jste vykonával / vykonávala) :

Onkologie

Vyskytla se rakovina ženských orgánů u Vašich nejbližších přímých příbuzných?

Ano / Ne

Vyskytla se rakovina dutiny ústní u Vašich nejbližších přímých příbuzných?

Ano / Ne

Kouření: Ano

Ne

Příležitostně

Pokud „ANO“ nebo „PŘÍLEŽITOSTNĚ“: Jak dlouho?.....

Zaškrtněte(možno i více): cigarety, doutník, fajka, joint, vodní dýmka

Kolik nejvíce za den:.....

Drogy

Máte zkušenost s drogami: Ano / Ne

Pokud „ANO“, s jakými?

Užívala jste je pravidelně? Ano / Ne

Jak jste je aplikovala: Kouření: Ano/Ne

Do žíly: Ano / Ne

Tablety: Ano/ Ne

Dělila jste se někdy o pomůcky ke kouření nebo aplikaci drog (fajfka, viržínko, injekční jehla)?: Ano / Ne

Péče o chrup

Dělila jste se někdy s někým o svůj zubní kartáček: Ano/Ne

Máte svého ošetřujícího stomatologa? Ano / Ne

Pokud ne: Jak dlouho?

Čistíte si zuby pravidelně? Ano/Ne

Pokud ano: kolikrát denně

Pijete alkohol? Ano / Ne

Pokud ano: Co (včetně piva)?

Pravidelně?

Kolikrát denně?.....

Jak dlouho?.....

Sexuální partneři:

Jaká je Vaše sexuální orientace: Heterosexuální (osoby opačného pohlaví)

Homosexuální (osoby stejného pohlaví)

Bisexuální

V jakém věku jste začala pohlavně žít?.....

Kolik sexuálních (i krátkodobých) partnerů jste doposud za celý život měla?.....

Prodělala jste nějakou sexuálně přenosnou chorobu? Ano / Ne

Pokud „ANO“, jakou?

Sexuální praktiky:

Provozovala jste někdy:

A) Orální sex: Ano (s kolika partnery)

Ne

B) Anální sex: Ano (s kolika partnery)

Ne

Obr. 6 Dotazník

8. Výsledky

Průměrné počty sexuálních partnerů uvádí Tab. 3, kde nám vychází, že nejvíce koitálních sexuálních partnerů se průměrně vyskytlo, podle předpokladů, ve vyšších věkových skupinách. Ovšem u probandek ve 3. deceniu bylo nevíce nekoitálních sexuálních partnerů ze všech věkových skupin.

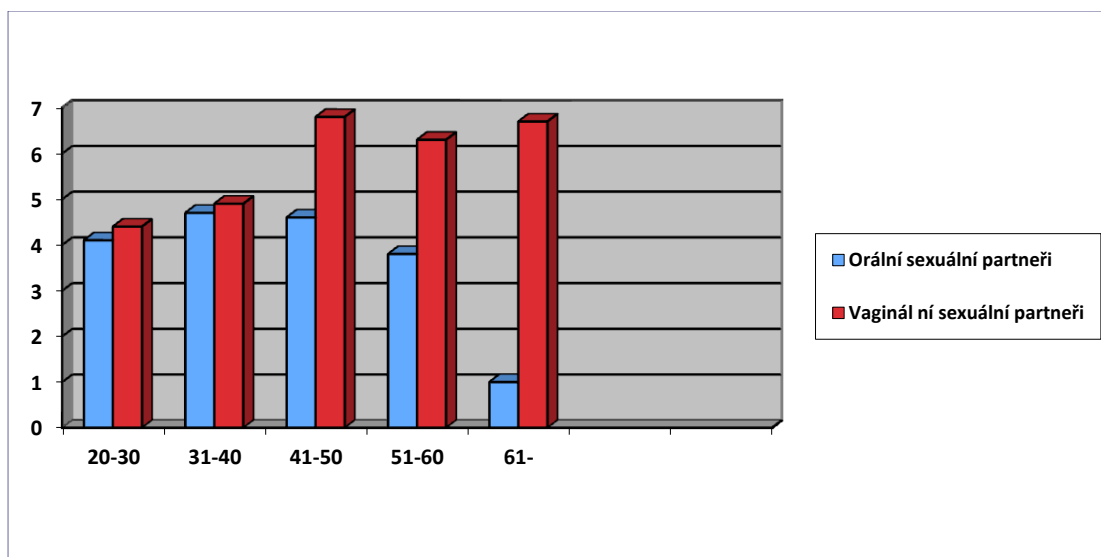
Pozitivní high risk HPV výsledek byl získán z úst pouze u jedné z 87 pacientek, tj. v 1,1 %. Tato pacientka udávala 3 orální a 9 koitálních sexuálních partnerů, v tomto případě byl stěr z vaginy negativní na přítomnost HPV infekce. U 86 z 87 hodnocených tj. 98,9 % nebyla HPV infekce HR skupinou HPV prokázána.

Z našeho dotazníku vyplynulo, že 19 respondentek sdílelo cizí zubní kartáčky. 10 dotazovaných připustilo sdílení cigaretové špičky nebo fajfky s ostatními osobami. Mezi těmito ženami se nevyskytla ani jedna osoba drogově závislá, 11 z nich mělo zkušenost s kouřením kanabis. U žádné z těchto probandek nebyla HPV infekce v ústech nalezena.

U 10 z 81 (tj. 12,3 %) vyšetřovaných, byla zjištěna HPV HR infekce na děložním čípku, avšak v ústech se tato infekce neprokázala.

8.1. Výsledky statistického zhodnocení souboru pacientek

Z výsledků vyplývá, že pacientky ve skupině PCR VAG pozitivní byly signifikantně mladší a nacházelo se zde signifikantně více kuřaček, v jiných parametrech se vyšetřované skupiny významně statisticky nelišily. (Tab 5)



Graf 3 Průměrné počty sexuálních partnerů

	Celý soubor(n=87)	Pacientky s pozitivním nálezem VAG (n=10)	Pacientky s negativním nálezem VAG (n=71)	P
Věk	35,0 (20-83)	29,5 (21-37)	36,0 (20-83)	0,017
Pozitivita PCR DÚ	1 (1,1%)	0	1 (1,4%)	1,000
Počet orálních partnerů	5 (0-10)	5 (0-7)	4 (0-10)	0,965
Počet koitálních partnerů	5 (0-13)	5 (1-7)	5 (0-13)	0,393
Kouření	22 (25,3%)	6 (60,0%)	14 (19,7%)	0,012
Alkohol	54 (62,1%)	8 (80,0%)	42 (60,0%)	0,306
Anální sex	15 (17,2%)	2 (20,0%)	12 (16,9%)	0,681

Tab 5. Statistické zpracování jednotlivých skupin respondentek

Dále jsme posuzovali míru shody mezi pozitivitou PCR a z vaginálních stěrů a pozitivitou stěrů z dutiny ústní (Tab 6), kdy shoda mezi oběma testy je 86,4% (95%CI: 77,0%-93,0%).

95%CI je 95% interval spolehlivosti pro shodu metod.

Crosstabulation

			PCR_VAG		Total
			negativní	pozitivní	
PCR_DU	negativní	Count	70	10	80
		% of Total	86,4%	12,3%	98,8%
	pozitivní	Count	1	0	1
		% of Total	1,2%	0,0%	1,2%
Total		Count	71	10	81
		% of Total	87,7%	12,3%	100,0%

Tab 6 Míra shody mezi pozitivitou PCR z vaginálních stěrů (PCR_VAG) a dutiny ústní (PCR_DU)

Vnitřní kontrola betaglobinovým testem neodhalila chybnou metodiku odběru vzorku u žádného ze zpracovaných odběrů

Vyhodnocení dotazníku u všech respondentek ukazuje Tab. 4 :

	7.)	6.)	5.)	3.)	3.)	3.)	2.)	1.)	Pořadí pacientek
	37	26	47	38	42	34	39		Věk
VAG	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	Místo stěru
Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	PCR ze stěru
	5	4	8	6	3	5	7	7	Poč. orálních sex. partnerů
	5	4	8	8	6	5	7	7	Poč. koitál. sex. partnerů
17	18	18	20	18	18	17	18	18	1. sex. styk (léta)
	N	N	A	A	A	N	N	N	Gyn onkol v OA
	N	N	N	N	N	N	N	N	Onkol DÚ v OA
	N	N	A	N	N	N	Příl.		Kouření
			10					2	kouření množství cigaret/den
			30					6	Kouření jak dlouho (léta)
	N	N	N	N	N	N	N	N	Drogy
									Druh drogy
									Sdííl. pomůček k aplik drog
ne	Ano	Ano	ne	Ano	ne	ne	ne	ne	Dělení se o kartáček
Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ošetřující stomatolog
	2	2	6	2	2	2	2	2	Čištění chrupu(četnost/den)
A.	A.	A.	N	A.	A.	N	A.	A.	Alkohol
Příl	Příl			Příl	3		Příl		Frekv. konz. alkoh. (x/týden)
Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Sexuální orientace
ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	STD v OA
	2	ne	ne	ne	1	ne	ne	ne	Anální sex(počet partnerů)

19.)		18.)		17.)		16.)		15.)		14.)	
	49	25	56	65	60	41					
VAG	DU	DU	DU	DU	DU	DU	VAG	VAG	DU	DU	DU
Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní
	3	6	4	0	2	4			2		4
	10	5	6	3	5	9			5		9
	15	16	17	21	17	17			17		17
N	N	N	N	A	N	N			N		N
N	N	N	N	N	N	N			N		N
N	N	N	N	A	N	N			N		N
				10							
				30							
N	N	N	N	N	N	N			N		N
ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne			ne		ne
Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano			Ano		Ano
	2	1	2	0 (zubní	2	2			2		2
N	A	A	N	N	N	N			N		N
		1									
Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero			Hetero		Hetero
ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne			ne		ne
ne	ne	2	ne	ne	ne	ne			ne		ne

25.)		24.)		23.)		22.)		21.)		20.)	
VAG	44	37	30	36	36	36	36	36	36	22	
DU		DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	
Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	
	6	7	3	7	7	7	7	7	7	6	
	9	3	5							6	
	18	17	15			19		17		16	
N	N	N	N	N	N	N	N	A	A	A	
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
N	A	A	A	N	N	N	N	N	N	N	
		5	2								
		15	přil								
N	N	N	A	N	N	N	N	N	N	N	
			Marihua								
			A								
ne	ne	ne	Ano	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	
Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
N	N	N	N	N	N	N	N	A	A	A	
Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	
ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	
ne	ne	ne	ne	ne	ne	3	3	ne	ne	ne	

43.)		42.)		41.)		40.)		39.)		38.)	
VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU
Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní
	32	45	40	30	41	46					
	9	3	5	6	8	4					
	4	8	9	9	8	6					
	15	16	15	16	16	17					
N		N	N	N	N	N	A		N		N
N		N	N	N	N	N	N		N		N
N		N	A	N	N	N	N		N		N
			10								
			25								
A		N	N	N	N	N	N		N		N
Marihua											
A											
ne		ne	ne	ne	ne	ne	ne		ne		ne
Ano		Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano		Ano		Ano
2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	3
A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
1	Přil	Přil	Přil	Přil	Přil	Přil	Přil	2	2	1	1
Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero
ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne
ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne

49.)		48.)		47.)		46.)		45.)		44.)	
VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU
Negativní	HR pozitiv.	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní
	83	46	41	51	75						49
VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU
Negativní	HR pozitiv.	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní
	3	6	6		5		0		0		0
	9	10	5		5		6		7		7
	18	17	19		21		17		19		19
N		N	N		N		N		A		A
N		N	N		N		N		N		N
N		N	N		N		N		N		N
N		N	N		N		N		N		N
ne		ne	ne		ne		ne		ne		ne
Ano		Ano	Ano		Ano		Ano		Ano		Ano
	2	2	2		2		2		0 (zubní		2
A		A	A		A		A		A		A
	1	Přil	1		1		1		1		1
Hetero		Hetero	Hetero		Hetero		Hetero		Hetero		Hetero
ne		ne	ne		ne		ne		ne		ne
ne		ne	ne		ne		ne		ne		ne

61.)		60.)		59.)		58.)		57.)		56.)	
	39		34		34		37		34		31
VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU	VAG	DU
Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	HR	Negativní	HR	Negativní	HR	Negativní
	4		1		3		4		4		3
	5		1		2		1		1		3
	17		29		16		20		15		17
A	A		N		N		N		N		A
N	N		N		N		N		N		N
N	N		N		N		N		N		A
											Příležitost
											stně
N	N		N		N		N		N		N
ne	ne		ne		Ano		Ano		ne		Ano
Ano	Ano		Ano		Ano		Ano		Ano		Ano
	2		3		2		2		2		2
N	A		A		A		A		A		A
	Příl		Příl		Příl		Příl		Příl		Příl
Hetero	Hetero		Hetero		Hetero		Hetero		Hetero		Hetero
ne	ne		ne		ne		ne		ne		ne
ne	ne		ne		ne		ne		ne		ne

	67.)		66.)		65.)		64.)		63.)		62.)	
VAG	20	34	21	32	35	23						
DU		DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU
Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní
	4	6	0	5	2	6	5	2	2	2	6	6
	4	6	4	2	1	4	2	1	1	4	4	4
	17	17	18	17	18	17	17	18	18	16	16	16
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	A	A
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
N	N	N	A	N	A	A	N	N	N	N	N	N
			Příležitost		Příležitost							
			stně		stně							
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
ne	ne	Ano	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	Ano	Ano
Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano
3	2	2	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2
A.	A.	A.	A.	N	N	A.	N	N	N	N	A.	A.
Příl	Příl	Příležitost	Příležitost									1
Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero
ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne
ne	6	6	ne	ne	ne	ne	ne	ne	1	1	1	1

73.)		72.)		71.)		70.)		69.)		68.)	
	28	34	37	38	26	34					
VAG	DU	VAG	DU	DU	VAG	VAG	DU	DU	VAG	DU	DU
HR	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní
pozitivní	5	5	5	5	5	5	5	4	4	5	5
	5	5	5	5	5	5	5	4	4	6	6
	17	17	17	18	18	18	18	18	18	17	17
	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
	15	Příležitost									
	neví	12									
	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne
	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano
	4	2	2	3	2	3	2	2	2	2	2
	A	N	N	N	N	N	N	N	N	A	A
	Příl									Příležitost	Příležitost
	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero
	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne
	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne

	85.)		84.)		83.)		82.)		81.)		80.)
	24	23	24	24	24	24	24	31	33		
VAG	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	DU	VAG	DU
Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní	Negativní
3	2	2	3	3	6	6	6	4	6		6
2	4		6	6				2	6		6
18	16		16	16			19	20	21		21
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		N
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		N
A	A	A	A	A	A	A	A	A	A		N
Příležitost	Příležitost		1	1			1				
3	6		6	6			8				
A	A	A	A	A	A	A	A	N	N		N
Marihua	Marihua	Marihua	Marihua	Marihua	Marihua	Marihua	Marihua				
Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano				
Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano		ne
Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano		Ano
2	2		2	2			2	2	2		3
A	A	A	A	A	A	A	A	N	N		N
1	1		1	1			1				
Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero		Hetero
ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne		ne
ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne		2

87.)	VAG	Negativní	DU	23	VAG	Negativní	DU	24
				Negativní				Negativní
			7					
			7					
			16					19
			N				N	
			N				N	
			A				A	
			Příležitost				Příležitost	
			6				5	
			A				A	
		Marihua				Marihua		
		Ano				A		
		Ano				Ano		
		Ano				Ano		
		2				2		
		A				A		
		1				1		
		Hetero				Hetero		
		ne				ne		
		3				ne		

Tab 4. Výsledek zpracování jednotlivých dotazníků

9. Diskuze

Role tradičních kancerogenů u nádorů hlavy a krku spočívá především v indukci mutace genetických regulátorů buněčného cyklu. U HPV pozitivních tumorů se na deregulaci podílejí produkty virových onkogenů E6 a E7¹¹⁻¹³. E6 se naváže na p53 (buňky bez funkčního p53 nepodléhají apoptóze) a inaktivuje telomerázu. Vazba onkogenu E7 na pRb uvolní transkripční faktor, který aktivuje geny regulující buněčnou proliferaci. HPV+ tumory jsou charakterizovány sníženou hladinou retinoblastomového proteinu (pRb) a cyklinu D1. Jejich další vlastností je obsah nemutovaného (divokého typu) genu p53¹⁴. Problematickou zůstává otázka skutečné prevalence orální HPV infekce v asymptomatické populaci, jejíž podíl kolísá mezi 0-10%. Předpokládá se, že ke klinické manifestaci dlaždicobuněčného karcinomu dochází teprve s odstupem 10-35 let od infekce virem¹⁴.

V současné době existuje celá řada metod umožňujících stanovení přítomnosti HPV ve tkáních. Mezi metody nepřímé patří zejména cytologie a histologie bioptického materiálu. Využití serologických metod pro průkaz HPV infekce je omezené. Papilomaviry neprocházejí viremickou fází a jsou jen velmi obtížně kultivovatelné ve tkáňových kulturách. Samotný průkaz HPV protilátek se pro běžné klinické účely nepoužívá.

Incidence HPV asociovaných nádorů v dutině ústní, orofaryngu a hrtanu se značně liší. To je možné vysvětlit mimo jiné rozdílnými metodami detekce virů. Tak široké rozpětí je možné vysvětlit rozdílnými metodami detekce viru, kdy in situ hybridizace má nižší senzitivitu než polymerázová řetězová reakce (PCR), kde také záleží na zvolených primerech pro identifikaci viru.

Převažující výskyt HPV+ tumorů v orofaryngu je možné vysvětlit histologickým uspořádáním epitelu (viz dříve) v této lokalizaci, které je podobné architektonice povrchových vrstev epitelu děložního hrdla. Také krypty tonzil s velkým povrchem mohou mít vliv na zvýšený výskyt HPV infekce v této lokalizaci^{13,88}.

Nezodpovězenou otázkou zůstává mechanismus přenosu HPV do ústní dutiny. Papilomaviry jsou obecně pokládány za sexuálně přenosné; proto (i když s určitými výhradami^{13,87}) převládá domněnka, že k přenosu infekce do úst dochází při nekoitálních sexuálních praktikách⁸⁹. Riziko orálního přenosu infekce je pak úměrné počtu sexuálních partnerů. D'Souza⁸⁹ považuje za vysoce rizikový počet 6 takových partnerů. Smith⁹⁰ uvádí, že více než sexuální 4 partneři v období před klinickou manifestací nádoru indikují vyšší riziko vzniku nádoru v dutině ústní nežli v orofaryngu (85% vs. 50%, $p = 0,07$). Přítomnost high risk HPV bývá nižší u kuřáků než u nekuřáků, a to pravděpodobně pro vyšší promiskuitu u posledně jmenované skupiny. Smith dále uvádí, že dalším rizikovým faktorem je high risk HPV pozitivita u mužů jejichž partnerky měly abnormální Pap stěr nebo dysplazii čípku. Neshledal však jiné demografické riziko, rizikové sexuální praktiky ani léze na genitálu či ústní sliznici, které by byly charakteristické pro HPV+ pacienty. Smith uvádí, že pro vznik HPV asociovaného tumoru, je rizikovější

mladší skupina pacientů, která v dotaznících uvedla větší množství sexuálních partnerů a rizikovější alternativní sexuální praktiky. HPV + tumory našel převážně u mladších pacientů (≤55 let).

Stran možné infekce novorozence při porodu porodními cestami panuje spíše skepse. Pokud taková situace nastane, jedná se o latentní infekci^{90,91}, která se klinicky manifestuje zpravidla až po zahájení sexuálního života jedince^{92,61}. Navíc typy orálních HPV infekcí jsou odlišné od typu infekce v oblasti anogenitální u sexuálního partnera⁹³. Naopak u jedné osoby se mohou nacházet stejné typy v obou oblastech, což je možné vysvětlit autoinokulací^{61,15}.

Mezi HPV + karcinomy převládají nízké diferencované nádory s lokoregionálními metastázami do lymfatických uzlin⁹⁴⁻⁹⁷. HPV v ústní dutině a orofaryngu vyvolává téměř výhradně spinocelulární karcinomy, zatímco v anogenitální oblasti může iniciovat i adenokarcinomy nebo malobuněčné karcinomy čípku.

Zdá se, že podíl HPV pozitivních tumorů hlavy a krku postupně narůstá. Podle retrospektivní studie Chaturvediho et al. byl v letech 1984-1989 podíl HPV – pozitivních OKC 16,3% v porovnání s lety 2000-2004, kdy to již bylo 72,7%⁹⁷.

Celosvětově je incidence OFK disproporcionální. Vzhledem k nejednotnému přístupu detekce viru HPV v tumorech není možno přesně určit incidenci HPV pozitivních OFK a nádorů dutiny ústní ve světě. O srovnávací studii na podkladě nepřímých důkazů se pokusil Chatuverdiho tým¹⁰⁷. Náplní studie bylo porovnání četnosti výskytu OFK a maligních nádorů plic, které jsou spojeny s kouřením. V zemích, kde došlo k poklesu incidence novotvarů plic, usoudili, že za etiologií OFK je s nejvyšší pravděpodobností infekce HPV. Ze závěrů tohoto výzkumu, který zahrnoval 183.000 pacientů ze 23 zemí 4 kontinentů, sledovaných v období 1983-2002 vyplynulo, že nejčastěji se orofaryngeální HPV karcinomy vyskytují paradoxně v rozvinutých zemích, tedy tam, kde protikuřácké kampaně snižují počty kuřáků, ale sexuální promiskuita a rizikové sexuální chování u mladších kohort jsou na vzestupu. Ve stejné studii autoři odhadují, že v USA je 60-

70 % orofaryngeálních karcinomů způsobeno virem HPV^{89,107}, naproti tomu v ekonomicky méně vyvinutých zemích jsou tyto typy nádorů zastoupeny pouze v 10 %¹⁰⁷⁻¹⁰⁹.

Na prognózu HPV pozitivních tumorů není v současné době jednoznačný názor. Většina autorů až na malé výjimky (např. Dahlgren⁸⁸ a Dahlstrand⁹⁸) vyjadřuje přesvědčení, že HPV pozitivní OFK jsou prognosticky příznivější. Analýzou klinických dat bylo zjištěno, že HPV pozitivní nádory hlavy a krku mají lepší odpověď na léčbu a také delší dobu přežití nemocných⁹⁹⁻¹⁰¹. Fischer¹⁰² považuje přítomnost p16-pozitivního proteinu za nezávislý pozitivní prognostický faktor u pacientů s karcinomy hlavy a krku a to nejen s ohledem na radioterapii nebo radiochemoterapii, ale i extirpaci tumoru s nebo bez adjuvantní terapie.

Nedávno byly zveřejněné dvě mezinárodní studie, které porovnávaly v retrospektivní studii chemoradioterapii u místně pokročilých tumorů hlavy a krku ve stádiu III ve vztahu přežití a k pozitivitě tumorů na HPV^{99,103}. Ang et al.⁹⁹ zjistili, že 63.8% z 323 pacientů s nádory hlavy a krku mělo HPV 16 pozitivní karcinomy (potvrzené in situ hybridizací). Tito nemocní měli lepší 3-leté přežití (82.4% vs 57.1% ve srovnání s pacienty s HPV-negativními tumory; P <0.001) a po započítání faktorů, jako byly věk, rasa, TNM staging, tabakismus, měli pacienti s HPV pozitivními nádory o 58% lepší výsledky přežití. P16 pozitivita se jevila jako silný prognostický indikátor, kdy p16 pozitivní pacienti měli 3 leté přežití v 83.6 % ve srovnání s 51.3% u p16-negativních pacientů. Po započítání všech ostatních faktorů měli p16 pozitivní pacienti o 67% nižší riziko úmrtí.¹⁰⁴

Příznivější prognózu HPV pozitivních spinalomů lze z části vysvětlit dosud ne zcela objasněnou silnou imunitní reakcí, indukovanou radio- nebo chemoterapií. Dalším vysvětlením je dle Vermeera⁵⁰ postiradiační snížení povrchových CD47 receptorů u HPV pozitivních tumor, což vede i k redukci objemu tumoru⁵⁰.

Jednoznačný průkaz lepší prognózy HPV pozitivních nádorů doposud chybí. Nejsou k dispozici prospektivní studie, zabývající se prognózou HPV+

vs. HPV- nádorů. Z těchto důvodů doposud nebyl standardizován léčebný protokol pro HPV+ tumory v National Comprehensive Cancer Network Guidelines (NCCN)¹⁰⁵.

Samotná přítomnost HPV viru není nezbytným předpokladem budoucí klinické manifestace onkologického onemocnění. Proces kancerogeneze je velmi komplikovaný a není ještě plně objasněn. Nicméně průkaz HPV positivity by s ohledem na zvýšené riziko manifestace nádorové choroby patrně měl být důvodem k onkologické dispenzarizaci pacienta. Kolonizaci epitelu onkogenními HPV lze předejít vakcinací nejen ženské, ale i mužské části populace a to ještě ve věku, kdy lze předpokládat, že jedinci jsou virga - tedy že nedošlo k infekci HPV.

V zásadě existují dva typy vakcín proti HPV infekci:

- profylaktické
- terapeutické

Od roku 2006 byly na trh uvedeny 2 profylaktické vakcíny, sloužící k vakcinaci jedinců, kteří doposud s infekcí do styku nepřišli (tzv. *naivní jedinci*).

Vývoj vakcíny, která by potlačila eventuálně plně eradikovala HPV infekci je v současné době předmětem výzkumu.

Výsledky námi předložené studie ukazují na nízkou prevalenci viru v dutině ústní a to i navzdory vysokému počtu sexuálních partnerů, které mnohé naše pacientky měly. Názor, že kolonizace dutiny ústní a orofaryngu HPV je přímo úměrná počtu sexuálních koitálních anebo nekoitálních partnerů se v našem souboru nepodařilo potvrdit. Můžeme však vyloučit, že nízký počet patientek s HPV+ nálezem v dutině ústní byl způsoben metodickou chybou.

V naší studii jsme prokázali HPV HR pozitivní nález na děložním čípku u 10 probandek z 81, tj. u 12,83 %. Cañadase et al.⁸⁷ udává na vzorku 188 prostitutek HPV high risk děložního čípku až v 80 %. Takto vysoké číslo je vysvětlitelné promiskuitou jeho probandek.

HPV pozitivita v dutině ústní byla v naší studii prokázána jen u jediné pacientky z 87, tj. u 1,1 %. Tato čísla jsou porovnatelná s výsledky Kurose et al.¹⁰⁶, který provedl kontrolní stěry na 662 zdravých dobrovolnících, kdy HPV infekci prokázal u 0,6 %.

Prokázali jsme, že pacientky VAG + byly signifikantně mladší než VAG-. Tento rozdíl je vysvětlitelný tím, že jak ženy, tak i jejich partneři v mladších věkových kategoriích měli větší počet sexuálních (koitálních / nekoitálních) partnerů, tedy že pravděpodobnost nákazy HPV HR infekcí byla vyšší nežli u starších pacientek.

Vyšší promiskuitou u mladších *partnerů* si vysvětlujeme skutečnost, že jsme nezjistili signifikantně vyšší počet všech sexuálních partnerů u VAG+ žen. Rovněž jsme prokázali statisticky vyšší počet kuřáček ve skupině VAG+ žen. To si vysvětlujeme tím, že tyto probandky se pravděpodobně rekrutovaly ze sociálně slabších skupin. Nemůžeme prokázat přímou etiologickou souvislost mezi kouřením a kolonizací děložního čípku tímto virem, ale tato etiologická souvislost nebyla v žádné dostupné práci zkoumána.

10. Závěr

V naší studii jsme nenalezi korelaci mezi sexuálním chováním a HPV pozitivitou v dutině ústní a orofaryngu. Řadíme se tak k těm několika autorům^{87,106}, kteří popírají přímou korelaci mezi sexualitou a HPV nákazou dutiny ústní. Většina prací však tuto souvislost potvrzuje, tyto diskrepance mohou být vysvětlitelné rozdílnou prevalencí HPV infekce v jednotlivých zemích, způsobené rozdílným sexuálním chováním a promiskuitou v těchto zemích. Můžeme se však domnívat, že při vyšším počtu HPV+ probandek v dutině ústní by tato souvislost mohla být prokázána.

Z výsledků dizertace dále vyplývá, že pacientky s nálezem pozitivních stěrů z oblasti děložního čípku byly signifikantně mladší a nacházelo se zde významně vyšší počet kuřáček. Domníváme se, že oba tyto faktory nejsou

nezávislými prediktory, ale mají vztah k sexuálním praktikám, životnímu stylu a HPV statusu v orální a genitální oblasti u partnerů, které jsme netestovali.

Vzhledem k neustále narůstající HPV asociovaných nádorů hlavy a krku bude této infekci nutno věnovat i do budoucna pozornost a v případě epidemiologicky závažné situace zvážit i preventivní vakcinaci dětí.

Poděkování

Chtěl bych touto cestou poděkovat svému školiteli panu prof. MUDr. Jindřichu Pazderovi, CSc., emeritnímu přednostovi KÚČOCH, za vlídné vedení a cenné rady po celou dobu mého studia.

V neposlední řadě chci vyjádřit své poděkování panu doc. MUDr. Martinovi Procházkovi, PhD., přednostovi Ústavu lékařské genetiky LF UP a FN Olomouc za umožnění spolupráce při odběrech vzorků v rámci našeho výzkumu a také RNDr. Taťáně Štosové, PhD. z Katedry mikrobiologie LF UP a FN Olomouc za pomoc při zpracování vzorků stěrů.

Velké díky patří mé rodině, která mi umožnila svou tolerancí strávit čas psáním této práce.

11. Použitá literatura:

- 1.) Hannahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell 2000; 100(1):57–70.
- 2.) Kamangar F, Dores GM, Anderson WF: Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic regions of the world. J Clin Oncol 24: 2137-2150, 2006
- 3.) Marx ER, Stern D: Oral and Maxillofacial Pathology a Rationale for Diagnostic and Treatment, Quintessence Publishing Co, Inc, 2003.
- 4.) Gillison ML, Koch WM, Capone RB. Evidence for a casual association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. J Natl Cancer Inst 2000; 92:709–720.
- 5.) Mork L, Lie AK, Glatre E, et al. Human papillomavirus infection as a risk factor for squamous-cell carcinoma of the head and neck. N Engl J Med 2001; 344:1125–1131.
- 6.) Niedobitek G, Pitteroff S, Herbst S, et al. Detection of type 16 DNA in carcinomas of the palatine tonsil. J Clin Pathol 1990; 43:918–921.
- 7.) Adams V, Schmid S, Zariwala M, et al. Prevalence of human papillomavirus DNA in head and neck cancer carrying wild type or mutant p53 tumor suppressor genes. Anticancer Res 1999; 19:1–6.
- 8.) Zang ZY, Sdek P, Cao J, et al. Human papillomavirus type 16 and 18 DNA in oral squamous cell carcinoma and normal mucosa. Int J Oral Maxillofac Surg 2004; 33:71–74.

⁹⁾ Pfister DP, Fury MG. New Chapter in Understanding of Human Papillomavirus-Related Head and Neck Cancer JCO October 20, 2014;32: 3349-3352.

¹⁰⁾ Berger M, Pabst AM et al. The prevalence of human papilloma virus (HPV) infections in oral squamous cell carcinomas: A retrospective analysis of 88 patients and literature overview. Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery, 2014; 42:1506-1514.

¹¹ Chen, R., Aaltonen, L.M., Vaheri, A. Human papillomavirus type 16 in head and neck carcinogenesis. Rev. Med. Virol., 2005; 15: 351-363.

¹² Schlecht, N.F. Prognostic value of human papillomavirus in the survival of head and neck cancer patients: an overview of the evidence. Oncol. Rep. 2005; 14: 1239-1247.

¹³ Klozar, J., Zabrodsky, M., Kodet, R., et al. Human papillomaviruses in etiology of carcinoma in oral cavity and oropharynx, Otorinolaryng. a Foniat (Prague), 2007; 56 No.2:73-81.

¹⁴ Andl, T., Kahn, T., Pfuhl, A., et al. Etiological involvement of oncogenic human papillomavirus in tonsillar squamous cell carcinomas lacking retinoblastoma cell cycle control. Cancer Res 1998; 58: 5-13.

¹⁵ Novakova, V., Laco, J. Úloha lidského papilomaviru v karcinogenezi nádorů hlavy a krku. Klin Onkol 2008; 21:141 – 148.

¹⁶ Muñoz N, Castellsagué X, de González AB, et al.: Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. Vaccine, 2006;31,24: Suppl 3:S3/1-10.

¹⁷ Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al.: Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol., 1999; 189:12-9.

¹⁸ Katzenellenbogen RA, Galloway DA: Human papillomavirus-associated

cancers. In:Viral Oncology-Basic Science and Clinical Applications, 2009;1:1-23.

19

a jejich vztah k nádorovým a pseudonádorovým jednotkám, Doktorská dizertační práce, Plzeň 2012.

²⁰ Fredericks DN, Relman DA. Sequence-based identification of microbial pathogens: a reconsideration of Koch's postulates. Clin Microbiol., 1996;9(1):18-33.

²¹ Forslund O, Antonsson A, Nordin P et al.: A broad range of human papillomavirus types detected with a general PCR method suitable for analysis of cutaneous tumours and normal skin. J Gen Virol., 1999;80:2437-43.

²² zur Hausen H: The search for infectious causes of human cancers: where and why. Virology. 2009;15(392):1-10.

²³ Lazarczyk M, Cassonnet P, Pons C et al.: The EVER proteins as a natural barrier against papillomaviruses: a new insight into the pathogenesis of human papillomavirus infections. Microbiol Mol Biol., 2009;73:348-70.

²⁴ Majewski S, Jablonska S: Human papillomavirus-associated tumors of the skin and mucosa. J Am Acad Dermatol, 1997;36:659-85.

²⁵ Orth G: Genetics of epidermodysplasia verruciformis: Insights into host defense against papillomaviruses. Semin Immunol, 2006;18:362-74.

²⁶ Harwood CA, Suretheran T, Sasieni P et al.: Increased risk of skin cancer associated with the presence of epidermodysplasia verruciformis human papillomavirus types in normal skin. Br J Dermatol, 2004;150:949-57.

27

. Epava
2003; 15 – 96.

²⁸ Sathyan KM, Nalinakumari KR, Abraham T, Kajman S. Influence of single nucleotide polymorphism in H – Ras and cyclin D1 genes on oral cancer

susceptibility. *Oral Oncology* 2006; 42:607– 613.

²⁹ Martin D, Gutkind JS: Human tumor-associated viruses and new insights into the molecular mechanisms of cancer. *Oncogene*. 2008;27(2): 31-42.

³⁰ Sihto H, Kukko H, Koljonen V et al.: Merkel cell polyomavirus infection, large T antigen, retinoblastoma protein and outcome in Merkel cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2011; 15(17):4806-13.

³¹ Wang-Johanning F, Frost AR, Johanning GL et al.: Expression of human endogenous retrovirus k envelope transcripts in human breast cancer. *Clin Cancer Res*, 2001;7:1553-60.

32

Grada Publishing, spol. s.r.o., Praha, 2002

33

Disertační práce, Brno.

³⁴ Al-Qahtani K, Brousseau V, Paczesny D, et al.. Koilocytosis in oral squamous cell carcinoma: what does it mean? *J Otolaryngol* 2007;36: 26-31.

³⁵ Löning T, Meichsner M, Milde-Langosch K, et al.. HPV DNA detection in tumours of the head and neck: a comparative light microscopy and DNA hybridization study. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 1987; 49: 259-269.

³⁶ Salvia PN, Bergo SM, Bonesso-Sabadini PI, Tagliarini EB, et al. Correlation between histological criteria and human papillomavirus presence based on PCR assay in cervical biopsies. *Int J Gynecol Cancer*,2004; 14: 126-132.

³⁷ Zuna RE, Wang SS, Schiffman M, Solomon D. Comparison of human papillomavirus distribution in cytologic subgroups of low-grade squamous intraepithelial lesion. *Cancer*, 2006;108:288-297.

³⁸ Miyahara GI et al. Correlation between koilocytes and human papillomavirus detection by PCR in oral and oropharynx squamous cell

carcinoma biopsies, Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, March 2011;106(2):166-169.

³⁹ , M. TNM klasifikace zhoubných nádorů, obecná část, 5. revize, 1997.

⁴⁰ Vošmik M. et al. Moderní technologie hlavy a krku, Onkologie 2012; 6(5): 247–251.

⁴¹ Hermans R, Feron M, Bellon E, et al. Laryngeal tumor volume measurements determined with CT: a study on intra- and interobserver variability. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1998; 40: 553–557.

⁴² Daisne JF, Duprez T, Weynand B, et al. Tumor volume in pharyngolaryngeal squamous cell carcinoma: comparison at CT, MR imaging, and FDG PET and validation with surgical specimen. Radiology 2004; 233: 93–100.

⁴³ Nutting CM, Morden JP, Harrington KJ, et al. Parotid sparing intensity modulated versus conventional radiotherapy in head and neck cancer (PARSPORT): a phase 3 multicentre randomised controlled trial, Lancet Oncol 2011; 12: 127–136.

⁴⁴ Kam MK, Leung SF, Zee B, et al. Prospective randomized study of intensity-modulated radiotherapy on salivary gland function in early-stage nasopharyngeal carcinoma patients. J Clin Oncol 2007; 25: 4873–4879.

⁴⁵ Pow EH, Kwong DL, McMillan AS, et al. Xerostomia and quality of life after intensity-modulated radiotherapy vs. conventional radiotherapy for early-stage nasopharyngeal carcinoma: Initial report on a randomized controlled clinical trial. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2006; 66: 981–991.

⁴⁶ Eisbruch A, Schwartz M, Rasch C, et al. Dysphagia and aspiration after chemoradiotherapy for head-and-neck cancer: which anatomic structures are

affected and can they be spared by IMRT? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 60: 1425–1439.

⁴⁷ Feng FY, Kim HM, Lyden TH, et al. Intensity-modulated radiotherapy of head and neck cancer aiming to reduce dysphagia: Early dose-effect relationships for the swallowing structures. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 68: 1289–1298

⁴⁸ Roe JW, Carding PN, Dwivedi RC, et al. Swallowing outcomes following intensity modulated radiation therapy (IMRT) for head&neck cancer – a systematic review. *Oral Oncol* 2010; 46: 727–733.

⁴⁹ Weber DC, Chan AW, Lessell S, et al. Visual outcome of accelerated fractionated radiation for advanced sinonasal malignancies employing photons/protons. *Radiother Oncol* 2006; 81: 243–249.

⁵⁰ Vermeer DW, Spanos WC, Vermeer PD et al: Radiation-induced loss of cell surface CD47 enhances immune-mediated clearance of human papillomavirus-positive cancer, *Int. J. Cancer*, 2013; 133: 120–130.

⁵¹ Bova RJ, Quinn DI, Nankervis JS, et al: Cyclin D1 and p16 (INK4A) expression predict reduced survival in carcinoma of the anterior tongue. *Clin.Cancer Res.* 1999; 5: 2810- 2819.

⁵² Rotterova P, Nenutil R, Rotter L et al. The detection of p16 protein in uterine cervix lesions. *Ceska Gynekol* 2005; 70: 295-298.

⁵³ Lin SC, Chang KW, Chang CS, et al. Alterations of p16/MTS1 gene in oral squamous cell carcinomas from Taiwanese. *J Oral Pathol Med.* 2000; 29: 159- 166.

⁵⁴ Klozar J.: Role chemoterapie v léčbě karcinomů hlavy a krku. *Otorinolaryng. a Foniat. /Prague/,* 2008, 57(3):159-164.

⁵⁵ Lignin, J. P., Bourhis, J., Dometge, C., Designe, L.: Chemotherapy added to locoregional treatment for head and neck squamous-cell carcinoma: three

meta-analyses of updated individual data. MACH-NC Collaborative Group. Meta-Analysis of Chemotherapy on Head and Neck Cancer. *Lancet*, 2000;355:949-955.

⁵⁶ Lignin, J. P., le Maitre, A., Bourhis, J.: Meta-analyses of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): an update. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys* , 2007;69: 112-114.

⁵⁷ Liang, K., Ang, K. K., Milas, L., Hunter, N., Fan, Z.: The epidermal growth factor receptor mediates radioresistance. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*, 2003; 57: 246-254.

⁵⁸ Magne N,Pivot X,Bensadoun RJ,et al.: The relationship of epidermal growth factor receptor levels to the prognosis of unresectable pharyngeal cancer patients treated by chemo-radiotherapy. *Eur. J. Cancor*,2001;37: 2169-2177.

⁵⁹ Vermorken, J., Mesia, R., Vega, V., et al. Cetuximab extends survival of patients with recurrent or metastatic SCCHN when added to first line platinum based therapy: Results of a randomized phase III (Extreme) study. In ASCO 2007 (Abstract No 6091; updated information presented).

⁶⁰ Bekkers RL, Massuger LF, Bulten J, et al Epidemiological and clinical aspekts of human papillomavirus detection in the prevention of cervical cancer. *Rev Med Virol* 2004;14:95-105.

⁶¹ Laco J. Lidské papilomaviry a jejich úloha v etiopatogenezi dlaždicobuněčného karcinomu dutiny ústní a orofaryngu, Galen, 2012, ISBN 978-80-7262-874-2

⁶² Haddad R, Crum C, Chen Z, et al HPV 16 transmission between a couple with HPV related head and neck cancer. *Oral Oncol* 2008;44:812-815.

⁶³ Manden BS, van den Brule AJ, Jensen HL, et al. Risk faktors for squamous cell carcinoma of the penis: population-based case-control study in Denmark. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17:2683-2691.

- ⁶³ Rintala MA, Grenman SE, Puranen MH, et al. Natural history of oral papillomavirus infection in spouses: a prospective Finnish HPV family study. *J Clin Virol* 2006;35:89-94.
- ⁶⁵ Scully C. Oral Cancer: the evidence for sexual transmission. *Br Dent J* 2005;199:203-207.
- ⁶⁶ Bodaghi S, Wood LV, Roby G, et al. Could human papillomaviruses be spread through blood? *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5428-5434.
- ⁶⁷ Chow LT, Broker TR, Steinberg BM. The natural history of human papillomavirus infections of the mucosa epithelia. *APMIS* 2010; 118: 422-449.
- ⁶⁸ Culp TD, Budgeon LR, Marinkowich P, et al. Human papillomavirus bind a basal extracellular matrix component secreted by keratinocytes which is distinct from a membrane-associated receptor. *Virology* 2006;347: 147-159.
- ⁶⁹ Frazer IH. Prevention of cervical cancer through papillomavirus vaccination, *Nat Rev Immunol* 2004; 4: 46-55.
- ⁷⁰ Mueller M, Gissmann L, Cristiano RJ, et al. Papillomavirus capsid binding and uptake by cells from different tissues and species. *J Virol* 1995;69: 948-954.
- ⁷¹ Roden RB, Kirnbauer R, Jenson AB, et al. Interaction of papillomaviruses with the cell surface. *J Virol* 1995;69: 948-954.
- ⁷² Bruck LR, ZEE S, Poulos B, et al. Detection of cervical human papillomavirus infection by in situ hybridization in fetuses from women with squamous intraepithelial lesions. *J Low Genit Tract Dis* 2005; 9: 114-117.
- ⁷³ Arena S, Marconi M, Ubertosi M, et al.: HPV and pregnancy: diagnostic methods, transmission and evolution. *Minerva Ginecol* 2002;54: 225-237.
- ⁷⁴ Syrjänen S. Current concepts on human papillomavirus infection in children.

APMIS 2010; 118: 494-509.

⁷⁵ Poljak, M., Cuzik, J., Kocjan., BJ., et al. Nucleic acid tests for the detection of alpha human papillomaviruses. *Vaccine*, 2012; 30(Suppl. 5):100–106.

⁷⁶ Szarewski A., Ambroisine L., Cadman L., et al. Comparison of predictors for high-grade cervical intraepithelial neoplasia in women with abnormal smears. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2008; 17: 3033–3042.

⁷⁷ Flanagan, JJ., Ma, XJ., et al. Highrisk human papillomavirus E6/E7 mRNA detection by a novel in situ hybridization assay strongly correlates with p16 expression and patient outcomes in oropharyngealsquamous cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 2011;35:1343–1350.

⁷⁸ Fakhry C, Gillison ML: Clinical implications of human papillomavirus in head and neck cancers. *J Clin Oncol* 2006;24:2606-2611.

⁷⁹ Mork J, Lie AK, Glattre E, et al: Human papillomavirus infection as a risk factor for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med*, 2001;344:1125-1131.

⁸⁰ Shah JP, Gil Z. Current concepts in management of oral cancer – surgery, *Oral Oncol*. 2009 Apr-May; 45(0): 394–401.

⁸¹ Fakhry C, Zhang Q, Nguyen-Tan PF, et al. Human papillomavirus and overall survival after progression of oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol*,2014; 32:3365-3373.

⁸² Kimple RJ, Smith MA, Blitzer GC, et al: Enhanced radiation sensitivity in HPV-positive head and neck cancer. *Cancer Res*, 2013;73:4791-4800,

⁸³ Hafkamp HC, Mooren JJ, Claessen SM, et al: P21 Cip1/WAF1 expression is strongly associated with HPV-positive tonsillar carcinoma and a favorable prognosis. *Mod Pathol*,2009; 22:686-698.

⁸⁴ Kong CS, Narasimhan B, Cao H, et al: The relationship between human papillomavirus status and other molecular prognostic markers in head and

neck squamous cell carcinomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*,2009; 74:553-561.

⁸⁵ Young RJ, Rischin D, Fisher R, et al: Relationship between epidermal growth factor receptor status, p16(INK4A), and outcome in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Epidemiol Bio-markers Prev*,2011; 20:1230-1237.

⁸⁶Argiris A, Li S, Ghebremichael M, et al. Prognostic significance of human papillomavirus in recurrent or metastatic head and neck squamous cell cancer: An analysis of Eastern Cooperative Group trials. *Ann Oncol* [epub ahead of print on May 5, 2014]

⁸⁷ Cañadas, M.P., Bosch, F.X., Junquera, M.L, et al. Concordance of Prevalence of Human Papillomavirus DNA in Anogenital and Oral Infections in a High-Risk Population. *J Clin Microbiol*, Mar 2004; 42(3): 1330-1332.

⁸⁸ Dahlgren, L., Dahlstrand, H.M., Lindquist, D., et al. Human papillomavirus is more common in base of tongue than in mobile tongue cancer and is a favorable prognostic factor in base of tongue cancer patients, *Int J Cancer*, 2004;112(6):1015-1019.

⁸⁹ D'Souza, G., Kreimer, A.R., Viscidi, R., et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2007; 356:1944–1956.

⁹⁰ Smith, E.M., Ritchie, J.M., Summersgill, K.F., et al.: Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers. *Int J Cancer*, 2004; 108:766-772.

⁹¹ Koch, A., Hansen, S.V., Nielsen, N.M., et al. HPV detection in children prior to sexual debut. *Int J Cancer* 1997; 73: 621-624.

⁹² Sinal, S.H., Woods, C.R. Human papillomavirus infections of the genital and respiratory tracts in young children. *Sem Pediatr Infect Dis* 2005; 16:306-316.

- ⁹³ Shah, J. Head and neck surgery and oncology. Mosby 2004
- ⁹⁴ Schwartz, S.M., Daling, J.R., Doody, D.R., et al. Oral cancer risk in relation to sexual history and evidence of human papillomavirus infection. *J Natl Cancer Inst*, 1998; 90:1626-36.
- ⁹⁵ Klussmann, J.P., Weissenborn, S.J., Wieland, U. Prevalence, distribution, and viral load of human papillomavirus 16 DNA in tonsillar carcinomas. *Cancer*, 2001;92:2875-84.
- ⁹⁶ Wilczynski, S., Lin, B., Xie, Y., Paz B. Detection of human papillomavirus DNA and oncoprotein overexpression are associated with distinct morphological patterns of tonsillar squamous cell carcinoma. *Am J Pathol* 1998;152:145-156.
- ⁹⁷ Wilczynski, S., Lin, B., Xie, Y., Paz B. Detection of human papillomavirus DNA and oncoprotein overexpression are associated with distinct morphological patterns of tonsillar squamous cell carcinoma. *Am J Pathol* 1998;152:145-156.
- ⁹⁸ Dahlstrand, H.M., Dalianis, T. Presence and influence of human papillomaviruses (HPV) in tonsillar cancer. *Adv Cancer Res*, 2005;93:59-89.
- ⁹⁹ Ang, K.K., Harris, J., Wheeler, R., et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med*, 2010 Jul 1; 363(1):24-35.
- ¹⁰⁰ Fakhry, C., Westra, W.H., Li, S., et al. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J Natl Cancer Inst.*, 2008 Feb 20;100(4):261-269.
- ¹⁰¹ Gillison, M. L., Harris, J., Westra, W. et al. Survival outcomes by tumor human papillomavirus (HPV) status in stage III-IV oropharyngeal cancer (OPC) in RTOG 0129 (Abstract). *J Clin Oncol* 2009;27(Suppl 15), Abstrakt 6003.
- ¹⁰² Fischer, C.A., Zlobec I., Green E., et al. Is the improved prognosis of p16 positive oropharyngeal squamous cell carcinoma dependent of the treatment modality? *Int. J. Cancer* 2010;126:1256–1262.

¹⁰³ Rischin D, Young RJ, Fisher R et al. Prognostic significance of p16INK4A and human papillomavirus in patients with oropharyngeal cancer treated on TROG 02.02 phase III trial. *J Clin Oncol* 2010; 28(27): 4142–4148.

¹⁰⁴ Psyrri A, Cohen E. Oropharyngeal cancer: clinical implications of the HPV connection. *Annals of Oncology* 2011; 22: 997–999.

¹⁰⁵ NCCN Guidelines Version 2.2013. National Comprehensive Cancer Network, Inc. 2013.

¹⁰⁶ Kurose K, Terai M, Soedarsono N, et al.: Low prevalence of HPV infection and its natural history in normal oral mucosa among volunteers on Miyako Island, Japan. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 98:91-6.

¹⁰⁷ Chaturvedi AK, Anderson WF, Lortet-Tieulent J, et al. Worldwide Trends in Incidence Rates for Oral Cavity and Oropharyngeal Cancers, *J Clin Oncol* 2013; 31:4550-4559.

¹⁰⁸ Herrero R, Castellsague´ X, Pawlita M, et al: Human papillomavirus and oral cancer: The International Agency for Research on Cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95:1772-1783.

¹⁰⁹ Ribeiro KB, Levi JE, Pawlita M, et al: Low human papillomavirus prevalence in head and neck cancer: Results from two large case-control studies in highincidence regions. *Int J Epidemiol* 2011;40:489-502.

¹¹⁰ Klozar J, Tachezy R, Rotnáglová E, et al. Human papillomavirus in head and neck tumors: epidemiological, molecular and clinical aspects. *Wien Med Wochenschr* 2010;160/11:305-309.