

Pregledni članak

ULOGA HUMANIH PAPILOMA VIRUSA U OROFARINGEALNIM KARCINOMIMA

Vanja Vučićević Boras

Zavod za oralnu medicinu, Stomatološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu

Autor za korespondenciju:
Vanja Vučićević Boras
Zavod za oralnu medicinu, Stomatološki fakultet
Sveučilište u Zagrebu
Gundulićeva 5, 10000 Zagreb
Hrvatska
boras@sfzg.hr

Lektor za B/H/S: Zdenka Pejić
Lektor za engleski jezik: Naida Kaltak

Sažetak

Uvod: Humani papiloma virusi (HPV) su potvrđeni kao kofaktor u nastanku orofaringealnog karcinoma dok je njihova uloga još uvijek kontroverzna vezano uz oralne karcinome. Sve se više povećava broj bolesnika koji su pozitivni na HPV, a boluju od orofaringealnog karcinoma. Unutar ovih karcinoma je obično prisutan HPV 16, ali se i drugi tipovi HPV-a mogu naći sporadično (18, 31, 33, 45, 6, 11). Oralno-genitalni i oralno-analni spolni odnosi su povezani s nastankom ovih karcinoma. *Metode:* Pretražena je postojeća literatura i uključena su 22 istraživanja objavljena u posljednje tri godine na temu HPV-a i orofaringealnih karcinoma na Pubmedu/MEDLINE-u. *Rezultati:* Dijagnoza orofaringealnih karcinoma povezanih s HPV-om temelji se na patohistološkom nalazu i molekularnim tehnikama (odnosno detekciji p16^{INK4A}). Zasada su konvencionalni kirurški zahvat i zračenje terapijske mogućnosti, iako se evaluiraju de-intenzifikacijska radioterapija (smanjena doza zračenja), kemoterapija i transoralna robotska kirurgija. Uloga vakcine protiv HPV-a je još uvijek upitna u prevenciji orofaringealnih karcinoma, iako se čini obećavajućom u žena i u muškaraca. *Zaključak:* Uloga HPV u orofaringealnim karcinomima je dobro poznata, ali se čini kako HPV ima malu ulogu u isključivo oralnom karcinomu. Dijagnostički algoritmi se još uvijek baziraju na histopatološkom nalazu i molekularnim tehnikama. Čini se kako bi vakcina protiv HPV-a trebala biti davana ženama i muškarcima tim više jer nema napretka u terapiji ovih bolesnika.

Ključne riječi: orofaringealni karcinom, HPV.

UVOD

Poznato je kako pušenje i žvakanje duhana zajedno s konzumiranjem alkohola predstavlja glavni uzrok u nastanku orofaringealnih karcinoma. Većina ovih karcinoma su planocelularni karcinomi (1). Oko 15-20% orofaringealnih karcinoma je povezano s HPV-ma, budući da ovi bolesnici nemaju standardne čimbenike rizika poput pušenja i konzumiranja alkohola. Do sada je poznato oko 200 humanih papiloma virusa. Diljem svijeta infekcije s HPV-om su odgovorne za nastanak 600.000 karcinoma vulve, vagine, anusa te glave i vrata. Prevalencija HPV-a varira ovisno o dijelu vrata i glave gdje se pojavljuje karcinom, o istraživanoj populaciji, načinu detekcije HPV-a i uzorku koji se analizira. Najveća prevalencija HPV-DNA se ustanovila u orofarinksu (meko nepce, baza jezika, područje tonzila i stražnji farinks). Ipak, uloga HPV-a u nastanku isključivo oralnog karcinoma je kontroverzna. Bolesnici s orofaringealnim karcinomom i HPV infekcijom imaju bolju prognozu, odgovor na liječenje i preživljavanje u odnosu na bolesnike s orofaringealnim karcinomom bez HPV infekcije. Također i bolesnici s orofaringealnim karcinomom koji puše i piju alkohol a imaju HPV imaju bolju prognozu u odnosu na one koji nemaju HPV (2). Čini se da HPV započinje karcinogenezu, ali se smatra kako neutralizira druge faktore koji dovode do nastanka karcinoma. Poznato je kako su određene seksualne aktivnosti poput oralno-genitalnog i oralno-analnog seksa jako povezane s HPV pozitivnim karcinomima (3, 4). Prvi podatci o tome su dobiveni iz švedskog registra karcinoma te je ustanovljeno kako muševima žene koje imaju cervikalni karcinom imaju povećan rizik od nastanka karcinoma jezika ili tonzila. Nadalje, žene koje su imale dijagnosticiran karcinom *in situ* i starije od 50 godina imale su 2,8 puta češće karcinom tonzila (2). Dijagnoza orofaringealnih karcinoma koji su HPV pozitivni temelji se na patohistološkom nalazu i molekularnim tehnikama detekcije HPV infekcije. Smjernice Udruženja američkih patologa navode kako se uz patohistološki nalaz mora napraviti i p16^{INK4A} (2). HPV se integrira u genom domaćina. Najčešće je u orofaringealnim karcinomima mutiran gen p53 koji je fosfoprotein jezgre i koji je zaslužan za prekidanje staničnog ciklusa kada se dogodi oštećenje DNA. Virusni onkoprotein E6 veže se i inaktivira p53. Nadalje je inaktiviran retinoblastomski protein jer se na njega veže E7 (5).

Konvencionalno kirurško liječenje i radioterapija su terapijske mogućnosti iako se u zadnje vrijeme razmatra o de-intenzifikacijskoj radioterapiji (smanjena doza zračenja) i kemoterapiji. Cetuksimab je imunoglobulinsko G1 monoklonalno protutijelo koje djeluje na epidermalni faktor rasta koji je prejak izražen u skoro 90% oralnih karcinoma. Nažalost, cetuksimab djeluje samo u 6 - 13% oboljelih (6). Mydlar i sur. (7) su izvijestili kako transoralna laserska mikrokirurgija kao i transoralna robotska kirurgija mogu biti od pomoći, jer imaju za posljedicu minimalne defekte koji omogućavaju govor i gutanje za razliku od konvencionalnih kirurških zahvata.

Čini se kako HPV vakcina može biti korisna u preveniranju orofaringealnih karcinoma koji su povezani s HPV infekcijom. HPV vakcina (protiv četiri HPV podtipa) učinkovito sprečava ekstra-cervikalne HPV infekcije u žena kao infekcije penisa i anusa u muškaraca, a koji bi se također trebali cijepiti (8).

Cilj je ovog istraživanja bio pretražiti publikacije na Pubmedu u zadnje tri godine o povezanosti HPV-a i orofaringealnih karcinoma, a posebno vezano uz dijagnostičke algoritme s obzirom na tip uzorka iz kojeg se detektira HPV, druge moguće uzročne faktore i koinfekciju s drugim virusima.

ISPITANICI I POSTUPCI

Napravljeno je pretraživanje Pubmeda u posljednje tri godine o povezanosti HPV-a i orofaringealnog karcinoma. Pri pretraživanju su korišteni sljedeći termini: oralni karcinom, orofaringealni karcinom, karcinomi glave i vrata, (humani papiloma virusi HPV).

REZULTATI I RASPRAVA

Pronađena su 22 članka o povezanosti HPV-a i karcinoma glave i vrata. Trenutačne kontroverze u ovom području odnose se na uzročnu povezanost HPV-a i oralnog karcinoma, dijagnostičke kriterije vezano uz HPV u orofaringealnim karcinomima i vrijednost različitih uzoraka, druge moguće uzročne faktore i viruse te korelaciju s genetskim sindromima.

HPV i oralni karcinom

Krüger i sur. (9) analizirali su 88 bolesnika s oralnim karcinomom uz upotrebu DNA-PCR i imunobojenja p16. Ustanovili su prisutnost HPV-a u pet bolesnika (6%), a u tri bolesnika HPV 16/18. Isti autori navode (9) kako nije bilo razlika između HPV pozitivnih i negativnih bolesnika s oralnim karcinomom, a s obzirom na dob, spol, pušenje, konzumiranje alkohola, lokalizaciju karcinoma i TNM klasifikaciju. Stoga zaključuju (9) kako je uloga HPV-a u oralnom karcinomu mala. Ovaj nalaz su potvrdili Pringle i sur. (10) te Nola-Fuchs i sur. (11).

Dijagnostički algoritmi

Tkivo karcinoma

Ne postoji konsenzus koje se dijagnostičke tehnike trebaju koristiti u detekciji HPV-a u oboljelih od orofaringealnih karcinoma. Većina eksperata iz tog područja smatra kako se trebaju uzeti u obzir najmanje dva parametra: karakteristike tumora (HPV DNA ili p16) i HPV E6/E7-test. Kombinirana metoda detekcije HPV DNA na temelju RLP i GP5+/6+ startera kao i imunohistokemijske analize ekspresije p16^{INK4A} ima osjetljivost od 96 - 97% i specifičnost od 94 - 98%. Kako je imunohistokemijska analiza ekspresije p16^{INK4A} jeftina i jednostavna trebalo bi ju koristiti u oboljelih od orofaringealnih karcinoma za koje se sumnja da su HPV pozitivni (2).

Ndiaye i sur. (12) su pretražili Pubmed/Medline 2012 godine kako bi identificirali istraživanja u kojima se koristila reakcija lančane polimeraze RLP za detekciju HPV-a u oboljelih od karcinoma glave i vrata. Uključili su (12) 148 istraživanja koja su napravljena na 12.163 bolesnika iz 44 zemlje. HPV DNA je nađena u 3837 bolesnika, od kojih je 82,2% imalo HPV 16. HPV je ustanovljen u orofarinksu u 45,8% ispitanih bolesnika, u 22,1% u larinksu i hipofarinksu i u 24,4% u usnoj šupljini ovih bolesnika. Najčešća lokalizacije gdje je HPV nađen bile su tonzile (53,9%).

Jedno od najvećih multicentričnih istraživanja (4) napravljeno je u 9 zemalja i uključivalo je 1670 bolesnika s orofaringealnim karcinomom (1415 sa samo oralnim karcinomom i 255 s orofaringealnim karcinomom) i 1732 kontrolna ispitanika. Najčešće je nađen HPV 16. HPV DNA je ustanovljena u 3,9% od 766 uzoraka oralnog karcinoma i u 18,3% od 142 uzorka orofaringealnog karcinoma. Isto istraživanje je pokazalo kako su bolesnici s orofaringealnim karcinomom koji su bili HPV pozitivni imali bolje preživljavanje od onih koji nisu imali HPV infekciju. Isti su autori (4) pokazali kako pozitivan nalaz HPV DNA u eksfoliranim stanicama karcinoma kao i unutar bioptiranog tkiva ne korelira s rizikom od nastanka karcinoma za razliku od pozitivnog serološkog nalaza HPV L1.

Jalouli i sur. (13) izvijestili su kako je upotreba GP5+/GP6+ RLP značajno povećala pozitivnost i osjetljivost detekcije HPV-a u oralnim uzorcima u usporedbi s RLP-om na parafinskim kockama tkiva oralnog karcinoma.

Serum

Dahlstrom i sur. (14) uspoređivali su pušače i nepušače s orofaringealnim karcinomom, a s obzirom na nalaz HPV 16 antitijela (serumska ELISA) i isti su autori ustanovili HPV 16 antitijela u 40,8% pušača i 9,2% nepušača. Osobe koje su bile HPV 16 pozitivne bile su češće nepušači. Ipak, serum nije pouzdani biljeg infekcije HPV-om.

Eksfolirane stanice

Pintos i sur. (15) su ispitivali oralne eksfolirane stanice bukalne sluznice uz pomoć enzimskog imunotesta (ELISA) iz seruma. Isti su autori našli HPV DNA u 19% slučajeva i u 5% kontrola. U bolesnika s karcinomima baze jezika i tonzila, virusna DNA je detektirana u 43% slučajeva.

Smith i sur. (16) našli su HPV u 22,9% bolesnika i u 10% kontrola na temelju oralnih eksfoliranih stanica.

Slina

Chen i sur. (17) napravili su RLP iz sline te su detektirali HPV 16 i zaključili kako je slina vrijedna u detekciji rizičnih populacija vezano uz profilaktičku vakcinu protiv HPV-a. Istraživanje je napravljeno na 349 osoba bez orofaringealnog karcinoma, u 156 osoba s orofaringealnim karcinomom i u 19 kontrolnih

ispitanika. U bolesnika s orofaringealnim karcinomom HPV je nađen u 6,9% i u 1,2% kontrolnih ispitanika. Chai i sur. (18) zaključili su kako se slina može koristiti kao dijagnostički test, jer detekcija specifičnih antitijela u serumu kao i detekcija HPV DNA, RNA i p16 unutar tkiva ne detektira ove karcinome u ranom stadiju.

Prevalencija HPV-a je ovisila o lokalizaciji karcinoma i znakovito češće je HPV ustanovljen u orofarinksu i larinksu. Muškarci s orofaringealnim karcinomom su češće imali HPV u odnosu na žene.

Iako većina objavljenih istraživanja ukazuje na ulogu HPV-a u orofaringealnim karcinomima neki autori to nisu potvrdili (11). Naprimjer, Brägelmann i sur. (19) nisu našli virusne dijelove u 7 uzoraka bioptata jezika, doduše radilo se o malom broju bolesnika odnosno uzoraka. Isti autori (19) su analizirali 748 bolesnika s orofaringealnim karcinomom s obzirom na prognozu te su ustanovili kako mlađe osobe imaju lošiju prognozu u usporedbi sa starijim bolesnicima.

Drugi mogući uzročni faktori

U nekim zemljama poput Pakistana poznato je kako osobe koje žvaču gutku imaju povećanu prevalenciju HPV-a (17%) kao i povećanu korelaciju između orofaringealnih karcinoma i HPV-a (68%). Isti autori (20) zaključuju kako žvakanje duhana i/ili gutke dovodi do nastanka abrazija koje su onda mjesto pričvršćenja HPV-a.

Koinfekcija s drugim virusima

U publiciranoj literaturi postoji nekoliko istraživanja o mogućem utjecaju drugih virusa u orofaringealnim karcinomima. Sand i Jalouli (21) izvijestili su kako osim HPV, Epstein-Barrov virus (EBV) i herpes simplex-virus 1 (HSV-1) mogu imati ulogu u karcinogenezi ovih karcinoma. Polz-Gruszka i sur. (22) su identificirali EBV u 57,5%, HSV-1 u 7,5% i citomegalovirus (CMV) u 10% od 80 bolesnika s oralnim planocelularnim karcinomom uz prisutnost HPV-a. Koinfekcija s dva virusa je ustanovljena u 30% ispitivanih bolesnika i to najčešće EBV i HPV (15%). S druge strane, Nola-Fuchs i sur. (11) nisu ustanovili razlike u prisutnosti EBV ili HPV 16 između bolesnika s oralnim planocelularnim karcinomom i kontrolnih ispitanika.

Beachler i sur. (23) zaključili su kako je incidencija orofaringealnog karcinoma (HPV pozitivnih i negativnih) bila znakovito povišena u HIV pozitivnih bolesnika u usporedbi s općom populacijom, vjerojatno, kao posljedica imunosupresije.

ZAKLJUČAK

Uloga HPV u orofaringealnim karcinomima dobro je poznata, ali se čini kako HPV ima malu ulogu u isključivo oralnom karcinomu. Dijagnostički algoritmi se još uvijek baziraju na histopatološkom nalazu i molekularnim tehnikama. Čini se kako bi vakcina protiv HPV-a trebala biti davana ženama i muškarcima tim više jer nema napretka u terapiji ovih bolesnika. Važno je za napomenuti kako pacijenti s orofaringealnim karcinomom koji je pozitivan na HPV imaju bolju prognozu u odnosu na pacijente s orofaringealnim karcinomom koji nije pozitivan na HPV.

Reference

1. Saulle R, Semyonov L, Mannocci A, Careri A, Saburri F, Ottolenghi L, et al. Human papillomavirus and cancerous diseases of the head and neck: a systematic review and meta-analysis. *Oral Dis.* 2015;21(4):417-31. doi: 10.1111/odi.12269.
2. Wierzbicka M, Jozefiak A, Szydłowski J, Marszałek A, Stanikiewicz C, Hassman-Poznanska E, et al. Recommendations for the diagnosis of human papilloma virus (HPV) high and low risk in the prevention and treatment of diseases of the oral cavity, pharynx and larynx. Guide of experts PTORL and KIDL. *Otolaryngologia Polska.* 2013;67(3):113-34.
3. Gillison ML, Castellsagué X, Chaturvedi A, Goodman MT, Snijders P, Tommasino M, et al. Eurogin Roadmap: comparative epidemiology of HPV infection and associated cancers of the head and neck and cervix. *Int J Cancer.* 2014; 134(3):497-507.
4. Herrero R, Castellsagué X, Pawlita M, Lissowska J, Kee F, Balaram P, et al. Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst.* 2003; 95(23):1772-83.
5. Geißler C, Tahtali A, Diensthuber M, Gassner D, Stöver T, Wagenblast J. The role of p16 expression as a predictive marker in HPV-positive oral SCCHN-a retrospective single-center study. *Anticancer Res.* 2013;33(3):913-6.
6. Machiels JP, Lambrecht M, Hanin FX, Duprez T, Gregoire V, Schmitz S, et al. Advances in the management of squamous cell carcinoma of the head and neck. *F1000Prime Rep.* 2014;6:44. doi: 10.12703/P6-44.
7. Mydlarz WK, Chan JY, Richmon JD. The role of surgery for HPV-associated head and neck cancer. *Oral Oncol.* 2015;51(4):305-13. doi: 10.1016/j.oraloncology.2014.10.005.
8. Stanko P, Kruzliak I, Labas I. Role of human papilloma virus infection and oral-genital contact in oral cancer etiopathogenesis. *Bratisl Lek Listy.* 2013;114(6):345-48.
9. Krüger M, Pabst AM, Walter C, Sagheb K, Günther C, Blatt S, et al. The prevalence of human papilloma virus (HPV) infections in oral squamous cell carcinomas: a retrospective analysis of 88 patients and literature overview. *J Craniomaxillofac Surg.* 2014;42(7):1506-14.
10. Pringle GA. The role of human papillomavirus in oral disease. *Dent Clin North Am.* 2014;58(2):385-99.
11. Nola-Fuchs P, Boras VV, Plecko V, Plestina S, Milenović A, Susić M, et al. The prevalence of human papillomavirus 16 and Epstein-Barr virus in patients with oral squamous cell carcinoma. *Acta Clin Croat.* 2012;51(4):609-14.

12. Ndiaye C, Mena M, Alemany L, Arbyn M, Castellsagué X, Laporte L, et al. HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2014;15(12):1319-31.
13. Jalouli M, Jalouli J, Ibrahim SO, Hirsch JM, Sand L. Comparison between single PCR and nested PCR in detection of human papilloma viruses in paraffin-embedded OSCC and fresh oral mucosa. *In Vivo.* 2015; 29 (1): 65-70.
14. Dahlstrom KR, Burchell AN, Ramanakumar AV, Rodrigues A, Tellier PP, Hanley J, et al. Sexual transmission of oral human papillomavirus infection among men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014;23(12):2959-64.
15. Pintos J, Black MJ, Sadeghi N, Ghadirian P, Zeitouni AG, Viscidi RP, et al. Human papillomavirus infection and oral cancer: a case-control study in Montreal, Canada. *Oral Oncol.* 2008;44(3):242-50.
16. Smith EM, Rubenstein LM, Haugen TH, Pawlita M, Turek LP. Complex aetiology underlies risk and survival in head and neck cancer human papillomavirus, tobacco, and alcohol: a case for multifactor disease. *J Oncol.* 2012;2012:571862.
17. Chen KM, Stephen JK, Ghanem T, Stachler R, Gardner G, Jones L, et al. HPV prevalence in a multi-ethnic screening population. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2013;148 (3):436-42.
18. Chai RC, Lambie D, Verma M, Punyadeera C. Current trends in the etiology and diagnosis of HPV-related head and neck cancers. *Cancer Med.* 2015;4(4):596-607. [Epub ahead of print]. doi: 10.1002/cam4.424.
19. Brägelmann J, Dagogo-Jack I, El Dinali M, Stricker T, Brown CD, Zuo Z, et al. Oral cavity tumours in younger patients show a poor prognosis and do not contain viral RNA. *Oral Oncol.* 2013;49(6):525-33.
20. Zil-A-Rubab, Baig S, Siddiqui A, Nayeem A, Salman M, Qidwai MA, et al. Human papilloma virus-role in precancerous and cancerous oral lesions of tobacco chewers. *J Pak Med Assoc.* 2013;63(10):1295-8.
21. Sand L, Jalouli J. Viruses and oral cancer. Is there a link? *Microbes Infect.* 2014;16(5):371-8.
22. Polz-Gruszka D, Stec A, Dworzański J, Polz-Dacewicz M. EBV, HSV, CMV and HPV in Laryngeal and Oropharyngeal Carcinoma in Polish Patients. *Anticancer Res.* 2015;35(3):1657-61.
23. Beachler DC, Abraham AG, Silverberg MJ, Jing Y, Fakhry C, Gill MJ, et al. Incidence and risk factors of HPV-related and HPV-unrelated Head and Neck Squamous Cell Carcinoma in HIV-infected individuals. *Oral Oncol.* 2014;50(12):1169-76.

THE ROLE OF HUMAN PAPILLOMA VIRUSES IN HEAD AND NECK CANCERS

Abstract

Introduction: The human papilloma viruses (HPV) have been confirmed as a co-factor in the development of oropharyngeal carcinoma, however their role remains controversial in the development of oral cancer. There is an increasing number of patients with HNSCC who are HPV positive. HPV 16 is usually present within these cancers, although sporadically other HPVs (18, 31, 33, 45, 6, 11) have been detected in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) tissues. Oral-genital and oro-anal sexual practice is found to be associated with these cancers. *Methods:* Literature search was undertaken in order to find out novelties regarding HPV and HNSCC in the last three years and 22 articles were included. *Results:* Diagnosis of the HPV-associated HNSCC is based on the histopathology and molecular techniques (i.e. detection of p16^{INK4A}). So far, conventional surgical treatment and radiotherapy are therapeutic possibilities, although lately de-intensification radiotherapy (reduced radiation doses), chemotherapy and trans-oral robotic surgery are under evaluation. Role of HPV vaccine is still matter of debate in the prevention of HNSCC cancers, although it seems promising in both women and men. *Conclusion:* Role of HPV infection in oropharyngeal cancer is well established, however, it seems that HPV have a minor role in solely oral cancer. Diagnostic algorithms still rely on histopathology and molecular techniques. It seems that HPV vaccine should be administered to both women and men. Moreover as not much progress in the past decades has been made regarding therapeutic possibilities in these patients. Last but not least HNSCC HPV positive have better prognosis when compared to the HNSCC which are HPV negative.

Key words: Oropharyngeal cancer, HPV.