

Wirus brodawczaka ludzkiego (*human papilloma virus* – HPV) może być przyczyną ok. 25% raków regionu głowy i szyi (RRGiSz), w tym nawet ponad połowy raków gardła środkowego. Spośród licznych typów HPV dwa – 16 i 18 – są odpowiedzialne za większość HPV-zależnych RRGiSz (RRGiSz HPV+). Wirusowe onkoproteiny E6 i E7 powodują wyłączenie czynności produktów genów supresorowych *Rb* i *P53*, co stanowi prawdopodobnie główny mechanizm onkogenezy. Chorzy na RRGiSz HPV+ zazwyczaj są młodszy, niepalący i nienaduzywający alkoholu. Czynnikiem ryzyka jest również praktykowanie seksu oralnego. W tej grupie chorych obserwuje się wyższe odsetki wyleczeń niezależnie od innych, uznanych czynników prognostycznych, takich jak cecha T lub N. Obecnie nie dysponuje się wynikami badań klinicznych nad zastosowaniem szczepionki w profilaktyce lub leczeniu RRGiSz HPV+. W pracy przedstawiono metody diagnostyki HPV u chorych na RRGiSz oraz aktualny stan wiedzy na temat wpływu tego wirusa na powstawanie, przebieg i skuteczność leczenia tych chorych.

Słowa kluczowe: p16, HPV, raki regionu głowy i szyi, rak migdałka podniebiennego.

Wpływ wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV) na powstawanie, przebieg i skuteczność leczenia raków regionu głowy i szyi

Impact of human papillomavirus (HPV) on pathogenesis, treatment and prognosis of head and neck cancer

Tomasz Rutkowski, Krzysztof Składowski

I Klinika Radioterapii, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Wstęp

W ostatnich latach zwrócono uwagę na istotny wzrost odsetka zachorowań na raka migdałka podniebiennego na tle innych raków regionu głowy i szyi (RRGiSz) [1]. Wzrost ten trudno wytłumaczyć na podstawie uznanych czynników etiologicznych, takich jak palenie tytoniu i nadmierna konsumpcja alkoholu, które odpowiadają za powstanie 75–85% przypadków RRGiSz [2–4]. W 1985 r. po raz pierwszy zwrócono uwagę na potencjalny związek między wirusem brodawczaka ludzkiego (*human papilloma virus* – HPV) i RRGiSz [5]. Wyniki badań z ostatnich kilkunastu lat potwierdzają tę zależność coraz mocniej, wskazując na rolę, jaką HPV odgrywa w powstawaniu raków tej okolicy, w szczególności raka gardła środkowego [6–9]. Związek HPV z powstawaniem nowotworów złośliwych został dobrze poznany na przykładzie raka szyjki macicy. Wirus brodawczaka ludzkiego jest obecny praktycznie we wszystkich przypadkach tego raka i stanowi jego pierwotny czynnik etiologiczny. Innymi słowy – infekcja wirusem HPV jest warunkiem koniecznym do powstania raka szyjki macicy [10]. Wyjątkowe znaczenie HPV w patogenezie raków podkreśla przyznanie w 2008 r. Nagrody Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny profesorowi Haraldowi zur Hausenowi za odkrycie sprawczej roli wirusa brodawczaka ludzkiego w rozwoju raka szyjki macicy, co doprowadziło do opracowania skutecznej szczepionki przeciw wirusowi HPV.

W pracy przedstawiono charakterystykę histopatologiczną i kliniczną RRGiSz HPV-zależnych (HPV+) oraz aktualne poglądy na temat wpływu HPV na powstawanie, przebieg i efekty leczenia.

Charakterystyka wirusa brodawczaka ludzkiego

Human papilloma virus stanowi rodzinę wirusów DNA o wielkości ok. 8000 par zasad. Obecnie wyróżnia się ponad 100 genotypów tego wirusa. Jedynym znanym rezerwuarem HPV jest człowiek, a zakażenie dokonuje się za pośrednictwem bezpośredniego kontaktu człowiek–człowiek.

Genom HPV można podzielić na 3 funkcjonalne części: wczesną – E – kodującą proteiny niezbędne do replikacji DNA i transkrypcji RNA (E1-E8), późną – L – kodującą kapsyd wirusa składający się z proteiny L1 (80% cząsteczki wirusa) i L2 oraz znaczną część niekodującą.

Drogi transformacji zainfekowanej komórki pozwalają podzielić podtypy wirusa na dwie grupy: małego i dużego ryzyka – onkogenne. Wirusy małego ryzyka są związane z powstawaniem zmian niezłośliwych. Wirusy HPV m.in. typu 6 i 11 są odpowiedzialne za powstawanie ponad 90% przypadków kłykcin kończystych narządów moczowo-płciowych. Nieonkogenne typy wirusa

Human papilloma virus (HPV) infection has been identified as an aetiological agent for about 25% of head and neck cancers (HNC) and over 50% of tonsillar carcinomas. High risk types of HPV such as 16 and 18 are found in over 95% of such tumours. Malignant transformation is mediated through the E6 and E7 proteins that alter tumour suppressor pathways by inactivating *P53* and *Rb*. Patients suffering from HPV-related HNC (HNC HPV+) have been shown to be younger, and usually not smokers or drinkers. Oral sexual practice is an additional risk factor. Better results of treatment are often observed independently of other prognostic factors such as T or N. Therapeutic vaccines targeting viral proteins may have potential to control HPV-associated malignancies in future. In this paper, diagnostic methods of HPV in HNC patients and the influence of this virus on aetiology, course and results of treatment are presented.

Key words: p16, HPV, head and neck cancer, tonsil cancer.

tylko wyjątkowo mogą doprowadzić do powstania raka. Tak jest w przypadku rzadkiego defektu genetycznego *epidermodysplasia veruciformis*. Uważa się, że aż 30–60% chorych z tym defektem genetycznym w ciągu 20 lat zachoruje na raka płaskonabłonkowego skóry (zlokalizowanego najczęściej w miejscach narażonych na promieniowanie słoneczne). W ponad 90% takich przypadków rak zawiera DNA nieonkogennego HPV5, a pozostałe przypadki są związane również z nieonkogennym HPV8. Typy dużego ryzyka to przede wszystkim 16 i 18, ale również 31, 33, 35, 35, 39, 40, 43, 51, 52, 53, 54, 55, 56 i 58. Przyjmuje się, że typy 16 i 18 są odpowiedzialne za 85% raków szyjki macicy. Są one odpowiedzialne również za większość RRGiSz HPV+.

Mechanizmy onkogenezy HPV-zależnej

Wirusy HPV wykazują wysoki tropizm w kierunku wielowarstwowego nabłonka płaskiego, szczególnie okolicy narządów płciowych, jamy ustnej, gardła i skóry. Wirus wnika do komórek warstwy podstawnej nabłonka we wrotach zakażenia. W odróżnieniu od prawidłowych komórek warstwy podstawnej, które przestają się dzielić, wędrując w kierunku warstw bardziej powierzchniowych, gdzie ulegają stopniowemu różnicowaniu, komórki zainfekowane HPV kontynuują produkcję DNA, a proces różnicowania tych komórek jest zaburzony. Podczas przemiany nowotworowej DNA wirusa integruje się z DNA komórki gospodarza, co zwykle wiąże się z utratą dużych części wirusowego genomu.

Pozostające sekwencje genomu HPV *E6* i *E7* kodują białka nazywane onkoproteinami ze względu na rolę, jaką odgrywają w onkogenezie przebiegającej w zainfekowanej komórce. Onkoproteiny *E6* i *E7* powodują wyłączenie czynności produktów genów supresorowych *Rb* i *P53*. Białko *E6* wirusa typu onkogennego łączy się z białkiem p53, powodując jego degradację. Co więcej, białko to prawdopodobnie również aktywuje telomerazę, przez co hamuje skracanie się telomerów obserwowane w procesie starzenia się komórki. Tym sposobem może wydłużać się przeżycie takiej komórki. Dla odmiany, w większości typów wirusa małego ryzyka, onkoproteina *E6* nie łączy się z p53, a w żadnym typie tej grupy nie powoduje degradacji tego białka.

Białko *E7* łączy się z białkiem pRb inaktywując je. Fizjologicznie, białko pRb wykazuje dużą aktywność przy niskim poziomie jego fosforylacji. Wówczas łączy się w kompleks z czynnikiem transkrypcyjnym E2F i dezaktywuje go, powodując zatrzymanie komórki w punkcie G1/S cyklu komórkowego. Aktywność białka pRb słabnie, gdy przechodzi w formę ufosforylowaną. Dzieje się tak za sprawą aktywności kinaz cyklinozależnych (cykliny D1). Prawdopodobnie *E7* współzawodniczy z cykliną D1 w procesie przyłączania do pRb [11], przyczyniając się do uwolnienia czynnika transkrypcyjnego E2F i przechodzenia komórki do dalszych etapów cyklu podziałowego.

W przeciwieństwie do uwarunkowanej klasycznymi mutagenami ontogenezy będącej wynikiem mutacji genów, wirusowa etiopatogeneza RRGiSz może zatem przebiegać (i zwykle tak jest) w środowisku niezmutowanego materiału genetycznego komórki gospodarza. Onkoproteiny wirusa blokują produkty prawidłowych genów supresorowych, uniemożliwiając im kontrolę prawidłowego przebiegu cyklu komórkowego. Prawdopodobnie to ten, nieco odmienny mechanizm nowotworzenia jest odpowiedzialny za korzystniejsze rokowanie i lepsze efekty leczenia w grupie chorych na RRGiSz HPV+ (patrz: wyniki leczenia RRGiSz HPV+).

Wirus brodawczaka ludzkiego jako czynnik etiologiczny raków regionu głowy i szyi

Częstość występowania HPV w tkance RRGiSz sięga 26% w (analiza DNA metodą PCR materiału biopsyjnego 5046 raków gardła środkowego, dolnego, krtani i jamy ustnej) [9]. Szczególnie częste występowanie wirusa obserwuje się w rakach gardła środkowego (18,3–57%) [7–9, 12] w tym migdałka podniebiennego (24,7–34,1%) [7, 12]. W mniejszym odsetku przypadków HPV stwierdza się w raku jamy ustnej (3,9–23,5%) [7, 8, 13], gardła dolnego – 10% [8]

i krtani (19–24%) [8, 9]. Najczęstszym typem wirusa w RRGiSz – podobnie jak dla okolicy narządów płciowych – jest HPV16 wykrywany nawet w 95% przypadków HPV+ [7, 12]; HPV16 jest obserwowany częściej w rakach ustnej części gardła w porównaniu z rakami jamy ustnej i krtani [9]. Drugi pod względem częstości występowania w tej lokalizacji typ wirusa HPV18 (4,7%) [12], jest częściej obecny w rakach krtani i jamy ustnej niż w rakach gardła [9]. W porównaniu z innymi okolicami gardła najwyższy odsetek raków HPV+ dotyczy migdałków podniebiennych. Dzieje się tak najprawdopodobniej dlatego, że migdałki podniebienne, podobnie jak szyjka macicy, zlokalizowane na granicy oddziaływania środowiska zewnętrznego i organów wewnętrznych są poddawane działaniu licznych bodźców immunologicznych i kancerogennych. Dodatkowo, oba narządy wywodzą się z endodermy i mogą ulegać metaplastji. Migdałek jest pokryty specyficznym nabłonkiem płaskim. Powierzchnię pokrywa nabłonek o charakterze podobnym do tego, który wyściela pozostałe okolice początkowego odcinka drogi oddechowej i pokarmowej, jego krypty natomiast zawierają nabłonek z dużą ilością elementów limfatycznych. Uważa się, że rak migdałka HPV+ pochodzi raczej z nabłonka krypt, podczas gdy HPV– z jego powierzchni [14].

W RRGiSz obok wspomnianych typów onkogennych HPV występują również typy nieonkogenne, spośród których najczęściej występuje HPV6, ale również 11, 32, 44, 53, 57 i inne. Zakażenie więcej niż jednym typem HPV spotyka się sporadycznie (do 3,6%), wtedy zwykle inny typ wirusa towarzyszy HPV16. Częstość występowania HPV wśród chorych na RRGiSz w pewnym zakresie może być warunkowane geograficznie. Kreimer i wsp. przeprowadzili systematyczny przegląd piśmiennictwa i przeanalizowali 60 badań klinicznych obejmujących łącznie ponad 5000 chorych na RRGiSz z różnych kontynentów, u których potwierdzono w biopsji obecność HPV metodą PCR. Podobny odsetek występowania HPV w raku jamy ustnej obserwowano w Europie i Ameryce Północnej (16%), jednak znacznie wyższy notowano w Azji (33%). W przypadku raka gardła środkowego dla Europy odsetek ten wynosił 28,2% i wyższy był dla Ameryki Północnej i Azji, wynosząc odpowiednio 47 i 46,3%. Dla raka krtani najwyższy odsetek HPV obserwowano u chorych z Azji (38,2%), w następnej kolejności z Europy 21,3% i z Ameryki Północnej 13,8%. W całej badanej grupie częstość występowania HPV była najwyższa u chorych z Azji [9]. Dane te należy jednak interpretować z ostrożnością, gdyż obserwacje opierały się na stosunkowo niewielkich i niejednorodnych grupach chorych, tym bardziej, że takich różnic nie wykazano w międzykontynentalnym badaniu prowadzonym przez IARC [7].

Czynniki ryzyka wystąpienia zachorowania na raki regionu głowy i szyi HPV+

Pierwsze doniesienia opisujące etiologię wirusową zmian w regionie głowy i szyi dotyczyły związku między brodawczakami krtani powstającymi w wyniku infekcji okołoporodowej dzieci matek z kłykcinami kończystymi narządów rodnych [15]. Występowanie brodawek w okolicy narządów rodnych w ciąży zwiększa ryzyko powstania brodawczaków umiejscowionych w górnych drogach od-

dechowych u dzieci 200-krotnie. W kolejnych badaniach stwierdzono, że typy HPV6 i 11 mogą być przyczyną takich brodawczaków pojawiających się u chorych w późniejszym wieku. W tym przypadku najbardziej prawdopodobną przyczyną ich powstawania jest praktykowanie seksu oralnego. Taką genezę brodawczaków dróg oddechowych mogą potwierdzać szczyty zachorowań osób poniżej 5. roku życia i w wieku 20–30 lat. Ryzyko wystąpienia transformacji nowotworowej brodawczaków dróg oddechowych jest niewielkie, oceniane na 3–7%, z większym ryzykiem dla typu HPV11. Do innych, łagodnych zmian w regionie głowy i szyi o udowodnionej etiologii wirusowej należą: odwrócony brodawczak nosa, zmiany o charakterze *oral verrucal-papillary lesions*, brodawczaki zatoki szczękowej [16] czy *hiperplasia płaskonabłonkowa (Heck's disease)* [17]. Co ciekawe, większość wspomnianych zmian przypomina te obserwowane w okolicy narządów płciowych morfologicznie (*flat or inverted papillomas*), histologicznie (powstają najczęściej w miejscach styku różnych typów nabłonka rogowaciejącego i nierogowaciejącego) i cytologicznie (obecność koilocytów i dyskeratynoicytów) [18]. Potwierdzeniem wspólnej etiologii zmian obserwowanych w obu omawianych okolicach (narządów płciowych oraz regionu głowy i szyi) może być to, że typy HPV6 i 11, które są najczęstszą przyczyną zmian na narządach płciowych są również najczęściej wykrywane w łagodnych zmianach regionu głowy i szyi. Te typy wirusa wykrywane są z częstością 50–84% w brodawczakach krtani [19] i kłykcinach kończystych jamy ustnej [20] i do 6% w leukoplakii [21]. Inne typy, takie jak HPV13 czy 57, są bardziej typowe dla – odpowiednio – ogniskowej hiperplazji oraz zmian w jamie nosowej i zatokach przynosowych [22]. Również biopsje prawidłowej błony śluzowej w bezpośrednim sąsiedztwie brodawczaków krtani w większości przypadków potwierdzały obecność HPV [23].

Raki regionu głowy i szyi HPV+ częściej są obserwowane u chorych, którzy mieli więcej niż jednego partnera seksualnego i praktykowali seks oralny [8, 9]. Udowodniono, że na częstość występowania RRGiSz HPV+ mają również wpływ młody wiek inicjacji seksualnej oraz wywiad w kierunku innych, przenoszonych drogą płciową chorób. Muñoz i wsp. stwierdzili znamiennej korelację między występowaniem raka jamy ustnej a rakiem szyjki macicy i penisa [24]. W dużym badaniu analizującym ryzyko wystąpienia wtórnych nowotworów złośliwych w populacji 25 tys. chorych na raka szyjki macicy znaleziono znamienne, ponaddwukrotnie większe ryzyko zachorowania na raka jamy ustnej i ponadtrzykrotnie większe na raka krtani [25]. W innym badaniu wśród 37 tys. chorych z wywiadem raka szyjki macicy *in situ* stwierdzono dwukrotne zwiększenie ryzyka wystąpienia raka jamy ustnej, gardła i przełyku [26]. U chorych na raka narządów moczowo-płciowych HPV+ występuje ponad 4 razy większe ryzyko zachorowania na raka migdałka [27]. Znane są również inne, niezwiązane z infekcją w okolicy narządów płciowych sytuacje kliniczne zwiększonego ryzyka wystąpienia zakażenia HPV [28]. Do czynników zwiększających ryzyko wystąpienia zakażenia HPV należą obniżenie odporności immunologicznej i immunosupresja. Zwiększone ryzyko jest obserwowane u zakażonych wiru-

sem HIV [29]. Zwiększenie ryzyka wystąpienia raka HPV+ obserwowano u chorych w czasie leczenia immunosupresyjnego związanego z przeszczepem organów wewnętrznych lub szpiku [30]. W grupie chorych po leczeniu RRGiSz HPV+ istnieje zwiększone ryzyko powtórznego zachorowania na raka HPV+. Opisano również zespoły chorobowe, które mogą predysponować do powstawania guzów HPV+. Należą do nich anemia Fanconiego czy wspomniana wcześniej *epidermodysplasia veruciformis* [31].

Charakterystyka kliniczna chorego

Rak regionu głowy i szyi HPV+ jest charakterystyczny dla młodszych chorych, choć trudno tu jednoznacznie przyjąć granicę wieku. W badaniu Schwartz i wsp. DNA wirusa znajdowano częściej u chorych 50-letnich lub młodszych [12]. Z kolei Ringström i wsp. ustalili punkt odcięcia wieku na 59 lat, a chorzy HPV+ byli średnio o 8,4 roku młodszy [32]. W badaniu Cruz i wsp. chorzy HPV+ byli średnio o 5 lat młodsi w porównaniu z chorymi HPV- [33]. Częstość zachorowania na RRGiSz HPV+ wśród kobiet i mężczyzn jest zbliżona [12], choć niektórzy autorzy wskazują na większy odsetek kobiet [34]. Nie zaobserwowano związku między rasą a ryzykiem powstania RRGiSz HPV+ [12]. Zdecydowana większość guzów HPV+ wywodzi się z migdałków podniebnych, językowego oraz innych struktur gardła środkowego. Histopatologicznie to zwykle źle zróżnicowane guzy, często typu bazaloidalnego, a chorzy mogą prezentować znaczne zaawansowanie miejscowe i węzłowe choroby. Nie potwierdzono znamiennej różnicy dla cechy pN (liczba zajętych węzłów chłonnych, częstość naciekania torebki węzła) w zależności od obecności wirusa [35]. Wirus brodawczaka ludzkiego jest obecny w komórkach raka we wszystkich stopniach zaawansowania (przedinwazyjny, inwazyjny, przerzuty w węzłach chłonnych) [8, 36]. W odróżnieniu od innych postaci RRGiSz, raki HPV+ prezentują zwykle niezmutowaną formę genu *P53* [37] i nadekspresję *P16* [38]. W badaniu Licitry i wsp. tylko 2 chorych spośród 17 HPV+ było nosicielami mutacji genu *P53*, wszyscy wykazywali nadekspresję *P16* [39]. Dla chorych z RRGiSz HPV+ wywiad w kierunku palenia tytoniu i nadużywania alkoholu – dwóch uznanych czynników etiologicznych RRGiSz zwykle jest ujemny, ponieważ HPV jest wykrywany znamiennej częściej u niepalących [8, 9, 34] i niepijących [32, 34]. O ile znamienne większe ryzyko powstania guza HPV+ u niepalących i niepijących nie budzi kontrowersji, nie jest jednoznacznie stwierdzone, na ile infekcja HPV może wzmocnić ryzyko powstania raka u chorych pijących i palących. Niektórzy autorzy wskazują na efekt synergistyczny z tytoniem – (seropozytywność w kierunku HPV16 i aktywne palenie tytoniu zwiększa ryzyko raka RRGiSz 15-krotnie) [12] i alkoholem [40], podczas gdy inni nie znajdują jednoznacznej zależności [9]. Dowiedziono również, że palenie marihuany jest istotnym czynnikiem ryzyka powstania RRGiSz HPV+. Mechanizm takiej zależności może tłumaczyć osłabienie odpowiedzi humoralnej i komórkowej przez kanabinoidy. Związki te zwiększają ryzyko wystąpienia infekcji podczas ekspozycji na wirusa, ułatwiają przejście infekcji w stan przewlekły, osłabiając odpowiedź immunologiczną gospodarza w kierunku guza nowotworowego [41].

Wyniki leczenia raków regionu głowy i szyi HPV+

Badania wskazują, że RRGiSz HPV+ stanowią prawdopodobnie odmienną pod względem przebiegu naturalnego i rokowania grupę raków. W tej grupie chorych obserwuje się większy odsetek wyleczeń miejscowych i węzłowych, wydłużenie przeżycia całkowitego, zmniejszenie odsetka wtórnych nowotworów [34, 42, 43], niezależnie od innych czynników prognostycznych, takich jak zaawansowanie węzłowe, stopień zróżnicowania guza, wiek, zastosowane leczenie, nadmierne spożywanie alkoholu [8, 44]. Ringström i wsp. w grupie chorych na RRGiSz HPV+ nie obserwowali wznów po leczeniu, podczas gdy w grupie HPV- wznowy pojawiły się u 31% chorych, a 46% zmarło z powodu raka [32]. Schwartz i wsp. w analogicznej grupie chorych obserwowali znamienne zmniejszone ryzyko wystąpienia zgonu z powodu raka (HR = 0,17) [12]. W badaniu Licitry i wsp. wśród chorych na RRGiSz HPV+ oprócz znamiennej dłuższego przeżycia całkowitego i wyższych odsetków wyleczeń miejscowych obserwowano również znamienne zmniejszenie odsetka wtórnych nowotworów [39]. Przyczyni lepszego rokowania w tej grupie chorych można upatrywać w odmiennym mechanizmie onkogenezy. Przypuszcza się np., że brak mutacji genu supresorowego *P53* umożliwia wyższą skuteczność radioterapii i chemioterapii [45]. Funkcja *P53* jest zachowana, dlatego też w uszkodzonych w wyniku radioterapii bądź chemioterapii komórkach nowotworowych gen ten uruchamia proces apoptozy.

Ponadto, w odróżnieniu od raków tytoniozależnych i alkoholozależnych, proces kancerogenezy HPV+ ma charakter bardziej miejscowy. Prawdopodobnie istnieje zatem mniejsze ryzyko wystąpienia wieloogniskowej kancerogenezy i powstania synchronicznych lub metachronicznych innych pierwotnych raków zlokalizowanych w regionie głowy i szyi, ale również w drogach oddechowych czy przetyku. Mogłoby to tłumaczyć mniejszą umieralność w tej grupie chorych. Na korzyść tej hipotezy przemawiają wyniki uzyskane przez Gillison i wsp. W tym badaniu od 18. mies. od zakończenia leczenia obserwowano znamienne mniej zgonów z powodu raka w grupie HPV+ (18 mies. można przyjąć za umowną granicę niepowodzenia leczenia miejscowego – niewyleczenia bądź wznowy miejscowej) [8].

Być może w tej grupie chorych pewną rolę odgrywa również wzmocniona odpowiedź immunologiczna gospodarza w trakcie leczenia. Radioterapia prawdopodobnie wzmacnia transkrypcję *E6* i *E7* oraz ekspresję białek układu zgodności tkankowej klasy I [46].

Mimo istnienia przesłanek przemawiających za wyjątkowo korzystnym rokowaniem chorych na RRGiSz HPV+ obecne zalecenia nie przewidują szczególnych, odmiennych od istniejących standardów sposobów terapii. W przyszłości kierunek ewentualnych zmian w obowiązujących standardach leczenia dla tej grupy chorych powinien być wyznaczony przez prospektywne badania kliniczne. Nie wyklucza się jednak, że w niedługo cecha HPV+ może zostać oficjalnie uznana za dodatkowy czynnik wpływający na rokowanie [47]. Niezależnie od wytycznych, wydaje się jednak, że chorzy na RRGiSz HPV+ to kandydaci do leczenia zachowawczego, ze szczególnym zwróceniem uwagi na ograniczenie ryzyka wystąpienia odległych skutków leczenia (np.

elektywne resekcje szyjnych węzłów chłonnych) w aspekcie przewidywanego, długiego przeżycia [48]. Potencjał leków przeciwwirusowych (np. cidofowir) może być wykorzystany skutecznie w leczeniu nawracających brodawczaków górnych dróg oddechowych [49] lub w działaniu profilaktycznym. Mniej prawdopodobne na obecnym etapie wiedzy wydaje się zastosowanie takich leków w terapii przeciwnowotworowej.

Metody diagnostyki wirusa brodawczaka ludzkiego u chorych na raki regionu głowy i szyi

Wykrycie w biopsji tkanki raka DNA HPV nie jest jednoznacznym dowodem na wirusową etiologię takiego raka. Dopiero badania na poziomie molekularnym, wskazujące na integrację DNA wirusa i komórki raka oraz na ekspresję jego genów, potwierdzają taką zależność. Dodatkowo, pośrednimi dowodami wpływu HPV na powstanie raka jest obecność prawidłowej, niezmutowanej postaci *P53*, niska ekspresja bądź brak ekspresji genu *Rb*, cykliny *D1* [14] oraz nadekspresja *P16*.

Istnieją różne metody wykrywania obecności HPV w tkankach chorych na RRGiSz. Opierają się one na badaniu materiału tkankowego (biopsja), komórkowego (cytologia – popłuczyny, wymaz szczoteczkowy) lub surowicy tych chorych.

Ekspresja genów *E6* i *E7* w biopacie RRGiSz HPV16+ została potwierdzona hybrydyzacją RNA *in situ* [45], testem Northern-blot [50, 51] i za pomocą PCR [51]. Integracja DNA wirusa z genomem RRGiSz została potwierdzona testem Southern-blot [8], dwuwymiarową elektroforezą żelową [50] oraz fluorescencyjną hybrydyzacją *in situ*.

Badania serologiczne

Zakażenie HPV ma charakter miejscowy, raki HPV+ powstają w okolicy wrót zakażenia. Infekcja ogranicza się do komórek warstwy podstawnej nabłonka, nie rozprzestrzenia się na cały organizm i nie dochodzi do wirerii. Mimo to, infekcja HPV powoduje pojawienie się we krwi przeciwciał. Białko L1 kapsydu jest najważniejszym antygenem pobudzającym ich produkcję, a przeciwciała te są obecne we krwi wszystkich, którzy przeżyli infekcję HPV. Jednak większość osób, które zetknęły się z onkogennymi typami wirusów, nie wytwarza wystarczającej ilości przeciwciał do skutecznej obrony przed kolejnym zakażeniem. Dlatego też przebycie wcześniejszego zakażenia nie wywołuje automatycznie odporności na kolejne zakażenia i nie powoduje zmniejszenia się utrzymywania zakażenia przetrwałego.

Inaczej jest w przypadku przeciwciał przeciwko białkom *E6* i *E7*. Obecność tych przeciwciał pozostaje w ścisłej korelacji z obecnością inwazyjnej postaci raka i rzadko jest wykrywane u osób zdrowych. Powstają jako reakcja na obecność antygeny we krwi, gdy w guzie obecna jest martwica i/lub po rozbudowaniu przez guz własnej siatki naczyń krwionośnych [52]. Przeciwciała przeciwko *E6* i *E7* jako markery charakteryzują się wysoką specyficznością (95–99%) i 50-procentową czułością w kierunku raka szyjki macicy [53]. Mimo to nie są miarą ryzyka wystąpienia zachorowania na raka szyjki macicy i nie odgrywają roli w patogenezie choroby. Tylko u 7% kobiet, u których w ciągu następ-

nych lat rozwinął się rak szyjki macicy, wykryto przeciwciała *E6* i *E7* [54]. Stanowią jednak potwierdzenie transkrypcji genomu wirusa w organizmie pacjenta. Z jednej strony, ze względu na ograniczoną czułość badania tych przeciwciał, zastosowanie takiego testu do badań przesiewowych może mieć ograniczoną wartość. Z drugiej jednak strony, może być cennym narzędziem do stwierdzenia wirusowej etiologii rozpoznanej już choroby nowotworowej.

W dużym badaniu prowadzonym przez IARC Herrero i wsp. stwierdzili przeciwciała przeciwko *E6* w 1,1% przypadków w grupie kontrolnej oraz odpowiednio w 2,6% i 9,9% przypadków chorych na raka jamy ustnej i gardła środkowego. Obecność przeciwciał zwiększała ryzyko wystąpienia raka jamy ustnej i gardła środkowego odpowiednio 2,6-krotnie i 9,9-krotnie. Podobne relacje stwierdzono dla przeciwciał przeciwko *E7*. U 7,7% chorych stwierdzono obecność obu przeciwciał. W tej grupie tylko 0,5% chorych na raka jamy ustnej i 6,6% chorych na raka gardła środkowego prezentowało obecność obu przeciwciał. Tacy chorzy mieli aż 67,1-krotnie zwiększone ryzyko wystąpienia raka gardła środkowego – 13,5 razy wyższe w porównaniu z ryzykiem wystąpienia raka jamy ustnej. Zależność ta była podobna dla obu płci, wszystkich regionów geograficznych oraz przedziałów wiekowych powyżej i poniżej 60. roku życia. Istotnie mniejszy związek tych przeciwciał z rakiem jamy ustnej pozostaje niewyjaśniony. Może wynikać z niższej ekspresji onkogenów, mniejszej inwazyjności tych guzów, czy wreszcie braku związku przyczynowego raka tej okolicy z HPV. We wspomnianym badaniu częstość występowania przeciwciał przeciwko *E6* i *E7* dodatkowo korelowała ze stopniem zaawansowania raka gardła środkowego (14,7% dla stopnia III i IV oraz 2,4% dla stopnia I i II; $p = 0,03$), ale pozostawała bez związku ze stopniem zaawansowania raka jamy ustnej. W grupie kontrolnej nie stwierdzono znamiennej relacji między obecnością przeciwciał a wiekiem, płcią, paleniem tytoniu, spożywaniem alkoholu czy zachowaniami seksualnymi. Geograficznie, wśród zdrowych zarówno przeciwciała przeciwko L1, jak i przeciwko *E6* i *E7* obserwowane były z częstością od 0% w takich krajach, jak Polska, Irlandia, Kanada, do 10,5% na Kubie. Wśród zdrowych najwyższy odsetek przeciwciał przeciw *E6* lub *E7* obserwowano w Australii (10,5%). Występowanie obu przeciwciał jednocześnie w grupie kontrolnej obserwowano rzadko (1,1%). Przeciwciała przeciwko L1 HPV16 obserwowano w 6% przypadków w grupie kontrolnej, 8,9% chorych na raka jamy ustnej i 13,4% chorych na raka gardła środkowego. Odpowiadało to odpowiednio 1,5-krotnemu i 3,5-krotnemu zwiększeniu ryzyka powstania raka [7].

W badaniu obejmującym prawie 900 tys. zdrowych mieszkańców Skandynawii badano potencjalny wpływ obecności HPV na późniejsze powstanie RRGiSz. W tej populacji częstość przeciwciał przeciwko L1 dla HPV16 w grupie, która zachorowała była dwukrotnie wyższa w porównaniu ze zdrową populacją (12 vs 7%). Seropozytywność zwiększała ryzyko powstania raka języka i raka gardła środkowego odpowiednio 2,8-krotnie i 14,4-krotnie, w tym raka nasady języka i migdałka odpowiednio 20,7-krotnie i 10,2-krotnie. Nie stwierdzono różnic między oboma płciami. Odsetek seropozytywności w kierunku innych typów wirusa był porównywalny w grupie chorych i zdrowych.

Obecność przeciwciał dość dobrze koreluje z obecnością DNA wirusa w materiale biopsyjnym. W badaniu Herrero i wsp. ta zależność była szczególnie widoczna dla raka gardła środkowego, gdzie stwierdzono obecność przeciwciał przeciwko L1 w 52% i przeciwko E6 i E7 w 65,4% przypadków potwierdzenia w biopsji DNA wirusa [7]. Mork i wsp. stwierdzili obecność DNA HPV16 w 9% raków. Co ważne, obecność DNA HPV16 korelowała z seropozytywnością stwierdzoną we krwi uzyskanej średnio 9,4 roku przed postawieniem rozpoznania RRGiSz. Ryzyko zachorowania na RRGiSz seropozytywnych chorych z DNA HPV16, wzrastało 37,5-krotnie, podczas gdy dla chorych bez genomu wirusa wzrastało tylko dwukrotnie [50].

DNA wirusa wykrywane w złuszczonej komórkach wydaje się mniej skuteczną metodą diagnostyczną. W grupie chorych z potwierdzoną w biopsji guza obecnością HPV, w złuszczonej komórkach nie stwierdzono obecności DNA wirusa w większym odsetku niż w grupie kontrolnej [7, 12]. Wirus brodawczaka ludzkiego nie został potwierdzony aż w 90% komórek złuszczeniowych uzyskanych od chorych z potwierdzonym z biopsji guza HPV [7]. Nieco inne wyniki otrzymali Smith i wsp., obserwując trzykrotne zwiększenie ryzyka wystąpienia raka jamy ustnej i gardła środkowego u tych chorych, u których wykryto DNA wirusa w złuszczonej komórkach przed leczeniem [13].

W badaniu Capone i wsp. przedstawiono wyniki próby znalezienia DNA HPV w surowicy chorych na RRGiSz HPV+. Stosując technikę *real-time* PCR, DNA HPV znaleziono w surowicy 6 chorych. Co ciekawe, u 4 z nich w przebiegu choroby doszło do powstania odległych przerzutów. Być może zatem materiał genetyczny wirusa pojawiający się w surowicy chorych na RRGiSz mógłby być markerem subklinicznego rozsiewu raka [55].

Pewne znaczenie prognostyczne może mieć oznaczenie obecności HPV16 w ślinie chorych po zakończonym leczeniu z powodu RRGiSz. W badaniu Chuang i wsp. analizowano 59 chorych na RRGiSz. W tej grupie, wśród 20 chorych HIV16+ przed leczeniem u 2 chorych stwierdzono obecność HPV16 w ślinie po zakończonym leczeniu. U obu chorych doszło do wznowy choroby. Aby potwierdzić znaczenie prognostyczne tego testu konieczne są jednak badania na większej grupie chorych [56].

DNA HPV stwierdzono również w komórkach raka obecnych w biopsjach uzyskanych z przerzutowo zmienionych węzłów chłonnych szyi chorych na RRGiSz [36]. W badaniu Begum i wsp. stwierdzono obecność DNA HPV16 w 71% przerzutów do węzłów chłonnych na szyi u chorych na raka gardła środkowego, podczas gdy nie stwierdzono obecności wirusa w przerzutach u żadnego chorego na raka o innej lokalizacji. Takie badanie w określonych sytuacjach klinicznych może więc ułatwić uściślenie rozpoznania (poszukiwanie ogniska pierwotnego przerzutów do węzłów chłonnych na szyi) [57].

W przeciwnieństwie do większości nowotworów, w których obserwuje się utratę funkcji genu *P16*, dla raków HPV+ charakterystyczna jest jego nadekspresja, która koreluje z obecnością DNA HPV i stanowi swoisty biomarker infekcji HPV. Ekspresję *P16* wiąże się z istnieniem ujemnego sprzężenia zwrotnego między p16 i pRb. Blokowanie funk-

cji *Rb* przez onkoproteinę E7 prowadzi do aktywacji *P16* [38]. Postuluje się, że nadekspresja *P16* może stanowić czynnik predykcyjny większej skuteczności radioterapii [43]. W badaniu Reimersa i wsp. obserwowano odwrotną korelację pomiędzy ekspresją *P16* i EGFR. W grupie chorych p16+/EGFR- 5-letnich przeżyć całkowitych były znamienne więcej. Chorzy, u których nie stwierdzono ekspresji p16, prezentowali 7,5-krotnie większe ryzyko wystąpienia wznowy raka oraz 4-krotnie większe ryzyko wystąpienia zgonu [58].

Teoretyczne możliwości zastosowania szczepionki w leczeniu raków regionu głowy i szyi HPV+

Potencjalne zastosowanie szczepionki można rozpatrywać z punktu widzenia profilaktyki zakażenia oraz leczenia już istniejącego zakażenia. W pierwszym przypadku rolą szczepionki jest zabezpieczenie przed infekcją poprzez indukowanie produkcji przeciwciał. Obecnie dostępne, zatwierdzone do zastosowania klinicznego szczepionki przeciw HPV są przeznaczone dla kobiet i mają zapobiegać powstaniu raka szyjki macicy. Najkorzystniejsze jest szczepienie przed potencjalną ekspozycją na zakażenie HPV, a więc przed inicjacją seksualną. Nieznana jest skuteczność szczepionek przeciw HPV u mężczyzn. Mężczyźni nie stanowili dotąd grupy docelowej szczepień, choć ze względu na częstość występowania RRGiSz HPV+ zastosowanie szczepionki w tej grupie może być istotne. Dane wskazują, że infekcja śluzówki gardła wirusem HPV16 odbywa się przede wszystkim drogą kontaktów seksualnych. W konsekwencji, zapobieganie powstawaniu RRGiSz HPV+ mogłoby być skuteczne z użyciem szczepionki przeciw HPV16 zastosowanej jednak przed inicjacją zachowań seksualnych wysokiego ryzyka (seks oralny) [41].

Szczepionki przeznaczone do stosowania u chorych zakażonych mają na celu niszczenie zainfekowanych komórek. Wydaje się, że w takich przypadkach indukcja odpowiedzi humoralnej może być niewystarczająca do eliminacji zakażonych komórek i niezbędna byłaby również indukcja długotrwałej odpowiedzi komórkowej CD4 i CD8.

Ze względu na typ wirusa i lokalizację choroby, pacjenci z rakiem RRGiSz HPV16+ stanowią potencjalnie interesującą populację, w której można by zastosować szczepionkę. Większość opracowanych szczepionek przeciw HPV wykorzystywała wirusa HPV16 jako model do ich konstruowania i zostały zaprojektowane w taki sposób, aby wywoływać odpowiedź immunologiczną w kierunku tego typu wirusa. Wirus brodawczaka ludzkiego typu 16 jest obecny w ponad 90% przypadków RRGiSz HPV+. Uważa się, że szczepionki obecnie stosowane klinicznie w profilaktyce raka szyjki macicy mogą zmniejszać ryzyko powstania RRGiSz HPV+ [59].

Lokalizacja guza pierwotnego oraz ewentualnych przerzutów jest łatwo dostępna do oszacowania stopnia nacieku limfocytarnego jako wyznacznika skuteczności szczepionki. Większość szczepionek opracowano w celu wywołania odpowiedzi systemowej, a doświadczenia przedkliniczne wskazują na ich najwyższą skuteczność działania przeciw niewielkim objętościom guza. Z tego względu największe korzyści ze szczepionek oczekiwane są przy zasto-

sowaniu ich jako leczenia uzupełniającego w celu zniszczenia mikroskopowych pozostałości choroby. Interesującą opcją wydaje się skojarzenie immunoterapii z uznanymi metodami leczenia RRGiSz, jak chirurgia, radioterapia czy chemioterapia [60]. Mimo licznych teoretycznych przesłanek obecnie brak jednak wyników badań klinicznych nad zastosowaniem szczepionki w profilaktyce lub leczeniu RRGiSz HPV+ u ludzi, choć wyniki badań przedklinicznych są obiecujące [61].

Podsumowanie

Wirus brodawczaka ludzkiego może stanowić przyczynę 1/4 wszystkich RRGiSz i nawet połowy raków migdałka podniebiennego. Spośród wielu typów tego wirusa w onkogenezie największe znaczenie mają HPV16 i HPV18. Wiele wskazuje, że natura RRGiSz zależnego od HPV jest odmienna od innych raków tej okolicy, nie tylko pod względem etiologii, ale również przebiegu i rokowania. Tacy chorzy zazwyczaj są młodszy, często niepalący i nienadużywający alkoholu, a wyniki leczenia – mimo niejednokrotnie znacznego klinicznego zaawansowania nowotworu w momencie diagnozy – są dobre. Dotychczas nie sprecyzowano jednolitych zaleceń diagnostycznych umożliwiających identyfikację tej grupy chorych. W profilaktyce i leczeniu w przyszłości być może istotne znaczenie będzie miało zastosowanie szczepionek. Obecnie jednak chorzy na RRGiSz HPV+ podlegają takim samym standardom terapeutycznym, jak ci, u których nie stwierdza się wirusowej etiologii raka.

Piśmiennictwo

- Frisch M, Hjalgrim H, Jaeger AB, Biggar RJ. Changing patterns of tonsillar squamous cell carcinoma in the United States. *Cancer Causes Control* 2000;11: 489-95.
- Mashberg A, Boffetta P, Winkelmann R, Garfinkel L. Tobacco smoking, alcohol drinking, and cancer of the oral cavity and oropharynx among U.S. Veterans. *Cancer* 1993; 72: 1369-75.
- Franceschi S, Talamini R, Barra S, Barón AE, Negri E, Bidoli E, Serraino D, La Vecchia C. Smoking and drinking in relation to cancers of the oral cavity, pharynx, larynx, and esophagus in northern Italy. *Cancer Res* 1990; 50: 6502-7.
- Castellsagué X, Quintana MJ, Martínez MC, et al. The role of type of tobacco and type of alcoholic beverage in oral carcinogenesis. *Int J Cancer* 2004; 108: 741-9.
- Löning T, Ikenberg H, Becker J, Gissmann L, Hoepfer I, zur Hausen H. Analysis of oral papillomas, leukoplakias, and invasive carcinomas for human papillomavirus type related DNA. *J Invest Dermatol* 1985; 84: 417-20.
- Franceschi S, Muñoz N, Bosch XF, Snijders PJ, Walboomers JM. Human papillomavirus and cancers of the upper aerodigestive tract: a review of epidemiological and experimental evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5: 567-75.
- Herrero R, Castellsagué X, Pawlita M, et al. IARC Multicenter Oral Cancer Study Group Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1772-83.
- Gillison ML, Koch WM, Capone RB, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 709-20.
- Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 467-75.
- Bosch FX, de Sanjosé S. The epidemiology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Dis Markers* 2007; 23: 213-27.
- Dowdy SF, Hinds PW, Louie K, Reed SI, Arnold A, Weinberg RA. Physical interaction of the retinoblastoma protein with human D cyclins. *Cell* 1993; 73: 499-511.
- Schwartz SM, Daling JR, Doody DR, et al. Oral cancer risk in relation to sexual history and evidence of human papillomavirus infection. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1626-36.
- Smith EM, Hoffman HT, Summersgill KS, Kirchner HL, Turek LP, Haugen TH. Human papillomavirus and risk of oral cancer. *Laryngoscope* 1998; 108: 1098-103.
- Wilczynski SP, Lin BT, Xie Y, Paz IB. Detection of human papillomavirus DNA and oncoprotein overexpression are associated with distinct morphological patterns of tonsillar squamous cell carcinoma. *Am J Pathol* 1998; 152: 145-56.
- Quick CA, Faras A, Krzysek R. The etiology of laryngeal papillomatosis. *Laryngoscope* 1978; 88: 1789-95.
- Syrjänen KJ, Pyrhönen S, Syrjänen SM. Evidence suggesting human papillomavirus (HPV) etiology for the squamous cell papilloma of the paranasal sinus. *Arch Geschwulstforsch* 1983; 53: 77-82.
- Scully C, Prime S, Maitland N. Papillomaviruses: their possible role in oral disease. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985; 60: 166-74.
- Syrjänen K, Väyrynen M, Castrén O, Mäntyjärvi R, Pyrhönen S, Yliskoski M. Morphological and immunohistochemical evidence of human papilloma virus (HPV) involvement in the dysplastic lesions of the uterine cervix. *Int J Gynaecol Obstet* 1983; 21: 261-9.
- Gissmann L, Wolnik L, Ikenberg H, Koldovsky U, Schnürch HG, zur Hausen H. Human papillomavirus types 6 and 11 DNA sequences in genital and laryngeal papillomas and in some cervical cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983; 80: 560-3.
- Eversole LR, Laipis PJ, Merrell P, Choi E. Demonstration of human papillomavirus DNA in oral condyloma acuminatum. *J Oral Pathol* 1987; 16: 266-72.
- Gassenmaier A, Hornstein OP. Presence of human papillomavirus DNA in benign and precancerous oral leukoplakias and squamous cell carcinomas. *Dermatologica* 1988; 176: 224-33.
- Wu TC, Trujillo JM, Kashima HK, Mounts P. Association of human papillomavirus with nasal neoplasia. *Lancet* 1993; 341: 522-4.
- Rihkanen H, Aaltonen LM, Syrjänen SM. Human papillomavirus in laryngeal papillomas and in adjacent normal epithelium. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 1993; 18: 470-4.
- Muñoz N, Cardis E, Teuchman S. Comparative epidemiological aspects of oro-genital cancers. In: Mosonogo J (ed). *Papillomaviruses in Human Pathology. Recent Progress in Epidermoid Precancers*. Serono Symposia Publications from Raven Press, New York 1990; 78: 1-12.
- Rabkin CS, Biggar RJ, Melbye M, Curtis RE. Second primary cancers following anal and cervical carcinoma: evidence of shared etiologic factors. *Am J Epidemiol* 1992; 136: 54-8.
- Björge T, Hennig EM, Skare GB, S?reide O, Thoresen SO. Second primary cancers in patients with carcinoma in situ of the uterine cervix. The Norwegian experience 1970-1992. *Int J Cancer* 1995; 62: 29-33.
- Frisch M, Biggar RJ. Aetiological parallel between tonsillar and anogenital squamous-cell carcinomas. *Lancet* 1999; 354: 1442-3.
- Pauk J, Huang ML, Brodie SJ, et al. Mucosal shedding of human herpesvirus 8 in men. *N Engl J Med* 2000; 343: 1369-77.
- Frisch M, Biggar RJ, Goedert JJ. Human papillomavirus-associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1500-10.
- Halpert R, Fruchter RG, Sedlis A, Butt K, Boyce JG, Sillman FH. Human papillomavirus and lower genital neoplasia in renal transplant patients. *Obstet Gynecol* 1986; 68: 251-8.
- Wilkinson EJ, Morgan LS, Friedrich EG Jr. Association of Fanconi's anemia and squamous-cell carcinoma of the lower female genital tract with condyloma acuminatum. A report of two cases. *J Reprod Med* 1984; 29: 447-53.
- Ringström E, Peters E, Hasegawa M, Posner M, Liu M, Kelsey KT. Human papillomavirus type 16 and squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 3187-92.
- Cruz IB, Snijders PJ, Steenbergen RD, Meijer CJ, Snow GB, Walboomers JM, van der Waal I. Age-dependence of human papillomavirus DNA presence in oral squamous cell carcinomas. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1996; 32B: 55-62.

34. Lindel K, Beer KT, Laissue J, Greiner RH, Aebersold DM. Human papillomavirus positive squamous cell carcinoma of the oropharynx: a radiosensitive subgroup of head and neck carcinoma. *Cancer* 2001; 92: 805-13.
35. Klozar J, Kratochvil V, Salakova M, Smahelova J, Vesela E, Hamsikova E, Betka J, Tachezy R. HPV status and regional metastasis in the prognosis of oral and oropharyngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2008; 265 (Suppl 1): S75-82.
36. Umudum H, Rezanko T, Dag F, Dogruluk T. Human papillomavirus genome detection by in situ hybridization in fine-needle aspirates of metastatic lesions from head and neck squamous cell carcinomas. *Cancer* 2005; 105: 171-7.
37. Brachman DG, Graves D, Vokes E, et al. Occurrence of p53 gene deletions and human papilloma virus infection in human head and neck cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 4832-6.
38. Klussmann JP, Gültekin E, Weissenborn SJ, et al. Expression of p16 protein identifies a distinct entity of tonsillar carcinomas associated with human papillomavirus. *Am J Pathol* 2003; 162: 747-53.
39. Licitra L, Perrone F, Bossi P, et al. High-risk human papillomavirus affects prognosis in patients with surgically treated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5630-6.
40. Smith EM, Ritchie JM, Summersgill KF, Hoffman HT, Wang DH, Haugen TH, Turek LP. Human papillomavirus in oral exfoliated cells and risk of head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 449-55.
41. Gillison ML, D'Souza G, Westra W, Sugar E, Xiao W, Begum S, Viscidi R. Distinct risk factor profiles for human papillomavirus type 16-positive and human papillomavirus type 16-negative head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 407-20.
42. Fakhry C, Westra WH, Li S, Cmelak A, Ridge JA, Pinto H, Forastiere A, Gillison ML. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 261-9.
43. Mellin Dahlstrand H, Lindquist D, Björnestrål L, Ohlsson A, Dalanis T, Munck-Wikland E, Elmberger G. P16 (INK4a) correlates to human papillomavirus presence, response to radiotherapy and clinical outcome in tonsillar carcinoma. *Anticancer Res* 2005; 25: 4375-83.
44. Li W, Thompson CH, O'Brien CJ, et al. Human papillomavirus positivity predicts favourable outcome for squamous carcinoma of the tonsil. *Int J Cancer* 2003; 106: 553-8.
45. Bristow RG, Benchimol S, Hill RP. The p53 gene as a modifier of intrinsic radiosensitivity: implications for radiotherapy. *Radiother Oncol* 1996; 40: 197-223.
46. Santin AD, Hermonat PL, Ravaggi A, Chiriva-Internati M, Pecorelli S, Parham GP. Radiation-enhanced expression of E6/E7 transforming oncogenes of human papillomavirus-16 in human cervical carcinoma. *Cancer* 1998; 83: 2346-52.
47. McNeil C. Human papilloma virus and oral cancer: looking toward the clinic. *JNCI* 2008; 100: 840-42.
48. Lassen P, Eriksen JG, Hamilton-Dutoit S, Tramm T, Alsner J, Overgaard J. Effect of HPV-Associated p16INK4A Expression on Response to Radiotherapy and Survival in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1992-8.
49. Bielecki I, Mniszek J, Cofała M. Intralesional injection of cidofovir for recurrent respiratory papillomatosis in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2009; 73: 681-4.
50. Snijders PJ, Meijer CJ, van den Brule AJ, Schrijnemakers HF, Snow GB, Walboomers JM. Human papillomavirus (HPV) type 16 and 33 E6/E7 region transcripts in tonsillar carcinomas can originate from integrated and episomal HPV DNA. *J Gen Virol* 1992; 73: 2059-66.
51. 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: 1125-31.
52. Rosales R, López-Contreras M, Cortes RR. Antibodies against human papillomavirus (HPV) type 16 and 18 E2, E6 and E7 proteins in sera: correlation with presence of papillomavirus DNA. *J Med Virol* 2001; 65: 736-44.
53. Meschede W, Zumbach K, Braspenning J, Scheffner M, Benitez-Bribiesca L, Luande J, Gissmann L, Pawlita M. Antibodies against early proteins of human papillomaviruses as diagnostic markers for invasive cervical cancer. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 475-80.
54. Lehtinen M, Pawlita M, Zumbach K, et al. Evaluation of antibody response to human papillomavirus early proteins in women in whom cervical cancer developed 1 to 20 years later. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188: 49-55.
55. Capone RB, Pai SI, Koch WM, et al. Detection and quantitation of human papillomavirus (HPV) DNA in the sera of patients with HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4171-5.
56. Chuang AY, Chuang TC, Chang S, et al. Presence of HPV DNA in convalescent salivary rinses is an adverse prognostic marker in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2008; 44: 915-9.
57. Begum S, Gillison ML, Nicol TL, Westra WH. Detection of human papillomavirus-16 in fine-needle aspirates to determine tumor origin in patients with metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 1186-91.
58. Reimers N, Kasper HU, Weissenborn SJ, et al. Combined analysis of HPV-DNA, p16 and EGFR expression to predict prognosis in oropharyngeal cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 1731-8.
59. Badaracco G, Venuti A. Human papillomavirus therapeutic vaccines in head and neck tumors. *Expert Rev Anticancer Ther* 2007; 7: 753-66.
60. Devaraj K, Gillison ML, Wu TC. Development of HPV vaccines for HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14: 345-62.
61. Maeda H, Kubo K, Sugita Y, et al. DNA vaccine against hamster oral papillomavirus-associated oral cancer. *J Int Med Res* 2005; 33: 647-53.

Adres do korespondencji

dr med. **Tomasz Rutkowski**
I Klinika Radioterapii
Centrum Onkologii – Instytut im. M. Curie-Skłodowskiej
Oddział w Gliwicach
ul. Wybrzeże AK 15
44-100 Gliwice