

Wstępna ocena zależności pomiędzy zakażeniem Human papilloma virus (HPV) a wybranymi cechami nowotworu u chorych na raka krtani

Preliminary analysis of relationships between HPV infections and clinico-pathological characteristics of patients with laryngeal cancer

MAGDALENA JÓZEFOWICZ-KORCZYŃSKA^{1/}, MARCIN MAZERANT^{1/}, KAMAL MORSHED^{2/}, IZABELA OLEJNICZAK^{1/}, KATARZYNA BOJANOWSKA-POŹNIAK^{1/}

^{1/} I Katedra Otolaryngologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

^{2/} Katedra i Klinika Otolaryngologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Wstęp. Wirusy HPV mogą stanowić ważny czynnik kancerogeny nowotworów głowy i szyi. Zakażenie HPV jest szczególnie częste w nowotworach części ustnej gardła. Znaczenie HPV w etiologii raka krtani jest niejednoznaczne.

Cel pracy. Ocena częstości występowania HPV i jego typów u chorych z rakiem krtani oraz ocena zależności między występowaniem wirusa HPV a parametrami epidemiologicznymi, obrazem klinicznym choroby i histopatologicznym guza.

Materiał i metody. Retrospektywna analiza 100 chorych z rakiem krtani w stadium zaawansowania T3 i T4, leczonych operacyjnie, nie poddawanych wcześniej radio- i chemioterapii. U pacjentów określano genotyp wirusa w skrawkach parafinowych przy użyciu zestawu INNO-LiPA HPV Genotyping Extra (Innogenetics).

Wyniki. Zakażenie HPV stwierdzono u 23% badanych. Istotnie częstszą obecność HPV stwierdzono wśród osób palących mniej niż 10 papierosów dziennie ($p < 0,05$) i okazjonalnie spożywających wysokoprocentowy alkohol ($p = 0,019$). U chorych z wysoko zróżnicowanym rakiem krtani nie wykryto obecności wirusa HPV ($p = 0,05$). Nie potwierdzono związku pomiędzy obecnością HPV w tkankach raka krtani a wiekiem, płcią, zawodem, miejscem zamieszkania pacjentów oraz zaawansowaniem klinicznym nowotworu.

Wnioski. Zakażenie HPV potwierdzono u około jednej czwartej badanych pacjentów z rakiem krtani. Infekcja HPV wydaje się być częstsza u pacjentów pozbawionych typowych czynników ryzyka raka krtani.

Słowa kluczowe: HPV, rak krtani, epidemiologia

Introduction. Human papilloma virus (HPV) has been recognized as a major risk factor for carcinogenesis of head and neck tumors. It is strongly linked to oropharyngeal carcinomas. The role of HPV infection in the etiology of laryngeal carcinoma is still not clear.

Aim. The aim of the study was to evaluate the prevalence of HPV and its types in laryngeal cancer patients and assess the relationship between HPV infection and the epidemiological, clinical and histological characteristics of the tumour in the affected patients.

Material and methods. The retrospective data in 100 patients with laryngeal cancer after surgical treatment were reviewed and statistically analysed. Only T3 and T4 cases, without a history of previous radio- or chemotherapy were included. The viral genotype was detected in archived paraffin block specimens by INNO-LiPA HPV Genotyping Extra (Innogenetics).

Results. The presence of 23% HPV positive tumors was confirmed. The HPV virus was significantly more frequent in subjects smoking less than 10 cigarettes daily ($p < 0,05$) and drinking strong alcohol drinks only occasionally ($p = 0,019$). In patients with well-differentiated larynx tumors, HPV was not found ($p = 0,05$). There was no correlation between HPV presence in laryngeal cancer tissues and patient's data such as sex, age, occupation, dwelling place or tumor stage.

Conclusions. HPV was found to be present in almost one fourth of the studied patients with laryngeal carcinoma. HPV infection was more frequent in patients without typical risk factors.

Key words: HPV, laryngeal cancer, epidemiology

WSTĘP

Wirus brodawczaka ludzkiego (ang. *human papillomavirus*, HPV) ma udowodnione znaczenie w patogenezie nowotworów złośliwych różnych umiejscowień, szczególnie raka szyjki macicy. Wirus HPV jest zbudowany z pozbawionego otoczki kapsydu. Jego genom stanowi dwuniciowa kolista cząsteczka DNA o ciężarze cząsteczkowym 5×10^6 Da. Cząsteczka ta obejmuje regiony: wczesny (ang. *early E*) i późny (ang. *late L*), rozdzielone regionem regulatorowym. Proteiny E6 i E7 pełnią najważniejszą rolę w transformacji nowotworowej. Połączenie E6 z białkiem P53 powoduje upośledzenie regulacji cyklu komórkowego, a w konsekwencji brak kontroli nad dojrzewaniem komórki. Proteina E7 poprzez związanie i inaktywację białka pRb doprowadza do utraty kontroli nad cyklem komórkowym zainfekowanej komórki [1].

Fragmenty późne kodują białka strukturalne wirionu, które odgrywają znaczącą rolę w procesie wnikania do komórki gospodarza. Integracja wirusa z genomem komórki gospodarza jest kluczowa w procesie kancerogenezy [2]. Różne typy wirusów są zaliczane do grup o niskim-, średnim- i wysokim potencjale onkogennym. Typy 16 i 18 HPV są odpowiedzialne za 70% przypadków raka szyjki macicy [3,4]. Uważa się również, że pełnią one kluczową rolę w powstawaniu nowotworów głowy i szyi. W ciągu ostatnich dwóch dekad udowodniono, że zakażenie HPV jest szczególnie częste w nowotworach części ustnej gardła [5-8]. Ponadto u pacjentów z nowotworami gardła środkowego zakażonych HPV obserwowano bardziej korzystny przebieg kliniczny choroby. Niestety, znaczenie kliniczne infekcji HPV w innych nowotworach głowy i szyi nie jest jednoznaczne.

Rak krtani jest najczęstszym nowotworem złośliwym głowy i szyi. Palenie tytoniu, spożywanie wysokoprocentowego alkoholu są najistotniejszymi czynnikami ryzyka tego nowotworu. Mimo, że u pacjentów z rakiem krtani wykrywano obecność wirusa HPV, nie udowodniono jego roli etiopatologicznej [4]. Ponadto tylko nieliczne badania oceniały zależność między infekcją HPV a przebiegiem klinicznym raka krtani a ich wyniki nie są jednoznaczne [9-11]. Morshed i wsp. nie obserwowali zależności między infekcją HPV a całkowitym i wolnym od wznowy czasem przeżycia [9]. Szládek i wsp. ocenili, że HPV nie ma wpływu na długość wolnego od wznowy czasu przeżycia [10]. Z drugiej strony Clayman i wsp. w grupie 78 pacjentów z rakiem krtani i części krtaniowej gardła stwierdzili, że zakażenie HPV wiąże się z krótszym czasem przeżycia [11]. Wydaje się więc, że niezbędne są dalsze badania określające

wpływ zakażenia HPV na przebieg choroby w raku krtani.

Celem pracy była ocena częstości występowania wirusa HPV i jego typów u chorych z zaawansowanym miejscowo rakiem krtani (T3 i T4) leczonych chirurgicznie oraz analiza obrazu klinicznego, histologicznego i epidemiologicznego w zależności od występowania wirusa HPV u tych chorych.

MATERIAŁ I METODY

Badaną grupę chorych stanowiło 100 pacjentów, leczonych operacyjnie z powodu raka krtani, w latach 2000-2004 w I Katedrze Otolaryngologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Kryterium włączenia do badania było rozpoznanie raka krtani w miejscowym stopniu zaawansowania T3 i T4 u pacjentów, którzy nie byli poddani wcześniejszej radio- i chemioterapii oraz możliwość dokonania analizy retrospektywnej. Stopień zaawansowania nowotworu oceniono zgodnie z klasyfikacją TNM [12]. Wiek chorych w momencie rozpoczęcia leczenia mieścił się w przedziale 42-76 lat (średnia $57,5 \pm 9,2$, mediana 58,0). We wszystkich przypadkach badanie histopatologiczne potwierdziło rozpoznanie raka płaskonabłonkowego.

Badanie prowadzone było w ramach projektu KBN „Wieloośrodkowe badania występowania wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV) w raku płaskonabłonkowym krtani z zastosowaniem testu INNO-LiPA genotypowanie. Wartość prognostyczna i kliniczna.” przy współpracy z Kliniką Otolaryngologii i Onkologii Laryngologicznej w Lublinie oraz z Zakładem Wirusologii UM w Lublinie (koordynator projektu – prof. dr hab. n. med. Kamal Morshed). Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie (nr KE-0254/54/2009 z dnia 26.03.2009r.).

Materiał stanowiły skrawki parafinowe o grubości ok. 10 μm , w ilości 4-8 sztuk, które przechowywano w sterylnych probówkach 1,5 ml typu Eppendorf w temperaturze pokojowej. Izolację DNA wykonywano wg protokołu producenta zestawu – QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen). Stosowano ksylen (Sigma Aldrich) oraz zestaw do izolacji genomowego DNA ze skrawków parafinowych. Amplifikacja została przeprowadzona przy użyciu zestawu INNO-LiPA HPV Genotyping Extra (Innogenetics). Elektroforeza produktów amplifikacji była przeprowadzona w aparacie Agagel Standard (Biometra) w 2% żelu agarozowym, do którego dodano 10 μl bromku etydy. Buforem był TAE 40X. Elektroforezę przeprowadzono przez 30 minut przy stałym napięciu 96V. Na żel nanoszono po 10 μl produktów amplifikacji z dodatkiem barwnika. Wyniki

odczytywano w świetle lampy UV według wzorca masowego produktu 50-100 par zasad o wielkości 60 par zasad.

Dla parametrów wyrażonych w skali przedziałowej podano minimum i maksimum, obliczono średnią, medianę, odchylenie standardowe (SD). Normalność rozkładów przy przyjętym poziomie istotności $\alpha=0,05$ sprawdzono testem Shapiro-Wilka. Równość wariancji sprawdzono testem F Fishera. Dla parametrów wyrażonych w skali nominalnej zbadano strukturę i częstości występowania danych klas. Porównania między grupami oraz badanie zależności przeprowadzono testem χ^2 . Jeśli warunki stosowania testu χ^2 nie były spełnione (zbyt mała liczebność lub wartości oczekiwane były mniejsze od 5) to porównanie dwóch częstości jak i badanie zależności wykonano testem dokładnym Fishera w przypadku tablic czteropolowych.

WYNIKI

W badanej grupie 100 chorych na raka krtani było 16 kobiet i 84 mężczyzn. 77% pacjentów stanowili rolnicy i pracownicy fizyczni. Stopień zaawansowania miejscowego nowotworu pierwotnego oceniono jako T3 w 52% i T4 w 48%. Przerzuty do węzłów chłonnych stwierdzono w 41% przypadków (N1 – 13%, N2 – 18%, N3 – 10%) a przerzuty odległe w 2 przypadkach. Stopień zróżnicowania histologicznego nowotworu oceniono jako G1 w 11%, G2 – 75%, G3 – 14% przypadków. U wszystkich pacjentów wykonano laryngektomię całkowitą. Jednocześnie u 86 pacjentów przeprowadzono operację węzłową na szyi (16 – elektywną, 43 – selektywną, 11 – radykalną zmodyfikowaną,

16 – radykalną). W okresie obserwacji wznowa miejscowa wystąpiła w 8% przypadków a wznowa węzłowa – w 12%.

W badanej grupie stwierdzono obecność DNA wirusa HPV u 23 pacjentów. U 7 chorych zidentyfikowano typ wirusa HPV18, u 5 – typ HPV16, u 11 chorych nie udało się określić typu wirusa HPV(x). Ze względu na niewielką liczbę potwierdzonych zakażeń HPV analizowano związek między obecnością tej infekcji, niezależnie od typu wirusa a cechami epidemiologicznymi, histologicznymi i klinicznymi w grupach HPV(+) n=23 vs HPV(-) n=77.

Nie stwierdzono istotnych zależności pomiędzy częstością zakażenia wirusem HPV a płcią, wiekiem, miejscem zamieszkania i zawodem pacjentów (Tabela I).

Istotnie częstszą obecność zakażenia HPV stwierdzono wśród osób palących mniej niż 10 papierosów dziennie ($p<0,05$). Dla palaczy wypalających powyżej 10 papierosów nie stwierdzono istotnej zależności (tab. II). Analiza związku częstości występowania zakażenia HPV i spożywania alkoholu wykazała, że infekcja HPV występowała istotnie częściej u osób spożywających wysokoprocentowy alkohol okazjonalnie tj. raz w tygodniu lub rzadziej ($p=0,019$) (tab. III).

Analizując obecność wirusa HPV w zależności od cech klinicznych i histologicznych nowotworu nie obserwowano znamienych korelacji między wielkością guza pierwotnego, obecnością przerzutów do węzłów chłonnych szyi (N1-3) oraz zaawansowaniem klinicznym nowotworu a zakażeniem HPV (tab. IV).

Tabela I. Zakażenie wirusem HPV w zależności od płci, wieku, miejsca zamieszkania i wykonywanego zawodu u chorych na raka krtani (N=100). Podgrupa HPV(+) N1=23, podgrupa HPV(-) N2=77. Liczebność danej cechy w podgrupach N, N1 i N2 odpowiednio n, n1 i n2.

	HPV(+)			HPV (-)			Razem			P
	N1	n1	%	N2	n2	%	N	n	%	
Płeć										
kobieta	23	5	21,7	77	11	14,3	100	16	16,0	ns
mężczyzna	23	18	78,3	77	66	85,7	100	84	84,0	ns
Wiek										
< 65 lat	23	18	78,3	77	51	66,2	100	69	69,0	ns
≥ 65 lat	23	5	21,7	77	26	33,8	100	31	31,0	ns
Miejsce zamieszkania										
duże miasto	23	9	39,1	77	23	29,9	100	32	32,0	ns
małe miasto	23	7	30,4	77	22	28,6	100	29	29,0	ns
Zawód										
prac. umysłowy	23	5	21,7	77	18	23,4	100	23	23,0	ns
prac. fizyczny	23	12	52,2	77	30	38,9	100	42	42,0	ns
rolnik	23	6	26,1	77	29	37,7	100	35	35,0	ns

Tabela II. Zakażenie wirusem HPV w zależności od nałogu palenia papierosów u chorych na raka krtani (N=100). Podgrupa HPV(+) N1=23, podgrupa HPV(-) N2=77. Liczebność danej cechy w podgrupach N, N1 i N2 odpowiednio n, n1 i n2.

Papierosy	HPV(+)			HPV(-)			Razem			P
	N1	n1	%	N2	n2	%	N	n	%	
nie pali	23	1	4,3	77	1	1,3	100	2	2,0	ns
<10 dziennie	22	6	27,3	77	9	11,7	100	15	15,0	0,05
11-20 dziennie	22	16	72,7	77	59	76,6	100	75	75,0	ns
>21 dziennie	22	0	0,0	77	8	10,4	100	8	8,0	ns
<10 lat	22	0	0,0	77	2	2,6	100	2	2,0	ns
11-20 lat	22	5	22,7	77	15	19,5	100	20	20,0	ns
>21 lat	22	17	77,3	77	60	77,9	100	77	77,0	ns

Tabela III. Zakażenie wirusem HPV w zależności od spożycia alkoholu u chorych na raka krtani (N=100). Podgrupa HPV(+) N1=23, podgrupa HPV(-) N2=77. Liczebność danej cechy w podgrupach N, N1 i N2 odpowiednio n, n1 i n2.

Alkohol	HPV(+)			HPV(-)			Razem			P
	N1	n1	%	N2	n2	%	N	n	%	
nie pije	23	1	4,3	77	1	1,3	100	2	2,0	ns
< raz w tyg.	22	21	95,5	77	55	71,4	100	76	76,0	0,019
raz w tyg. lub więcej	22	1	4,5	77	21	27,3	100	22	22,0	0,019
<10 lat	22	1	4,5	77	2	2,6	100	3	3,0	ns
11-20 lat	22	6	27,3	77	16	20,8	100	22	22,0	ns
>21 lat	22	15	68,2	77	59	76,6	100	75	75,0	ns

Tabela IV. Zakażenie wirusem HPV w zależności od wielkości guza, obecności przerzutów do węzłów chłonnych szyi oraz zaawansowania klinicznego nowotworu u chorych na raka krtani (N=100). Podgrupa HPV(+) N1=23, podgrupa HPV(-) N2=77. Liczebność danej cechy w podgrupach N, N1 i N2 odpowiednio n, n1 i n2.

Cecha	HPV(+)			HPV(-)			Razem			P
	N1	n1	%	N2	n2	%	N	n	%	
T										
3	23	13	56,5	77	39	50,6	100	52	52,0	ns
4	23	10	43,5	77	38	49,4	100	48	48,0	ns
N										
0	23	14	60,9	77	45	58,4	100	59	59,0	ns
1	23	5	21,7	77	8	10,4	100	13	13,0	ns
2	23	0	0,0	77	18	23,4	100	18	18,0	ns
3	23	4	17,4	77	6	7,8	100	10	10,0	ns
TNM										
III	23	13	56,5	77	39	50,6	100	52	52,0	ns
IV	23	10	43,5	77	38	49,4	100	48	48,0	ns

Tabela V. Zakażenie wirusem HPV w zależności od stopnia histologicznego zróżnicowania nowotworu u chorych na raka krtani (N=100). Podgrupa HPV(+) N1=23, podgrupa HPV(-) N2=77. Liczebność danej cechy w podgrupach N, N1 i N2 odpowiednio n, n1 i n2.

Cecha	HPV(+)			HPV(-)			Razem			P
	N1	n1	%	N2	n2	%	N	n	%	
G1	23	0	0,0	77	11	14,3	100	11	11,0	0,05
G2	23	20	87,0	77	55	71,4	100	97	97,0	ns
G3	23	3	13,0	77	11	14,3	100	14	14,0	ns

Tabela VI. Występowanie zakażenia HPV w zależności od wystąpienia wznowy miejscowej lub/i węzłowej u chorych na raka krtani (n=100). Podgrupa HPV(+) N1=23, podgrupa HPV(-) N2=77. Liczebność danej cechy w podgrupach N, N1 i N2 odpowiednio n, n1 i n2.

Wznowy	HPV(+)			HPV(-)			Razem			P
	N1	n1	%	N2	n2	%	N	n	%	
Wznowy miejscowe	23	1	4,3	77	7	9,1	100	8	8,0	ns
wznowy węzłowe	23	1	4,3	77	11	14,3	100	12	12,0	ns

Wśród badanych pacjentów zakażonych HPV w ogóle nie obserwowano guzów o niskim stopniu różnicowania histologicznego G1 i była to zależność istotna statystycznie ($p=0,05$).

Ocena przebiegu choroby nowotworowej wykazała brak zależności między zakażeniem HPV a wystąpieniem wznowy miejscowej oraz wznowy węzłowej u chorych na raka krtani.

DYSKUSJA

Rak krtani jest najczęstszym nowotworem złośliwym w obrębie głowy i szyi i stanowi 5,1% wszystkich nowotworów w Polsce [13]. Mimo rozwoju metod diagnostycznych i terapeutycznych nie obserwuje się wzrostu 5-letniego przeżycia u chorych z tym nowotworem. W związku z tym poszukiwane są nowe czynniki prognostyczne, które umożliwiłyby ustalenie rokowania u indywidualnego chorego, a w konsekwencji zastosowanie najlepszej metody leczenia. Badania dotyczące nowotworów gardła środkowego sugerują, że zakażenie HPV wiąże się z lepszym prognostycznie przebiegiem klinicznym choroby, niezależnie od zastosowanej metody leczenia chirurgicznego lub onkologicznego. Zasadne wydaje się więc podjęcie próby oceny występowania infekcji HPV u chorych na raka krtani oraz zależności między tą infekcją a uznanymi czynnikami rokowniczymi tego nowotworu.

Isayeva i wsp. w metaanalizie badań dotyczących nowotworów głowy i szyi stwierdzili, że częstość zakażenia HPV u chorych z rakiem krtani waha się w szerokim zakresie od 0 do 100% ze średnią wynoszącą 23,6% [14]. W pracy własnej HPV był obecny w 23% przypadków, co potwierdza rolę tego wirusa w raku krtani. Wykrywanie HPV jest częstsze u pacjentów z nowotworami gardła środkowego. Dahlgren i wsp. sugerują, że HPV występuje przede wszystkim w rakach wywodzących się z okolic o dużej aktywności immunologicznej i zapalnej, takich jak migdałki podniebienne, nasada języka oraz, przede wszystkim, szyjka macicy. Autorzy sugerują, że komórki zakażone HPV w sąsiedztwie immunokompetentnych komórek wytwarzających czynniki wzrostu, mogą być stymulowane do podziałów i powstawania guza [15].

Dane epidemiologiczne wskazują, że przeważającą większość pacjentów z rakiem krtani stanowią mężczyźni powyżej 60 roku życia z podstawowym wykształceniem i niskim statusem socjoekonomicznym. Miało to również odzwierciedlenie w badanej grupie chorych, w której odsetek mężczyzn wynosił 84,7% a 77% pacjentów stanowili rolnicy i pracownicy fizyczni. Toner i O'Regan podają wzrost częstości nowotworów części ustnej gardła w Stanach

Zjednoczonych i w Europie. Dane ze Skandynawii pokazują 2-krotne zwiększenie ich częstotliwości w grupie pacjentów powyżej 40 roku życia i aż 5-6-krotne u pacjentów poniżej tego wieku. Autorzy sugerują, że jednym z czynników, które odpowiadają za rozwój raka u młodszych pacjentów, może być zakażenie HPV [16]. Wyniki badań oceniających zależność między wiekiem chorych na nowotwory głowy i szyi, w tym raka krtani, a zakażeniem HPV w większości wskazują, że guzy te pojawiają się zwykle u młodszych pacjentów [3,6,17-19]. Tylko nieliczne prace nie potwierdziły takich zależności [5,20,21]. Również w pracy własnej nie znaleziono korelacji między zakażeniem HPV a wiekiem pacjentów z rakiem krtani, choć odsetek młodszych mężczyzn z obecnością wirusa był większy niż bez wirusa (21,7% vs 14,3%). Podobnie nie obserwowano istotnych zależności między infekcją HPV a płcią, wykształceniem i zawodem oraz miejscem zamieszkania chorych w badanej grupie.

Liczne badania wskazują, że u pacjentów z nowotworami głowy szyi zakażonych HPV często nie jest on tradycyjnym czynnikiem ryzyka, takim jak palenie tytoniu i spożywanie wysokoprocentowego alkoholu [22-24]. Westra i wsp. obrazowo opisują współczesnego pacjenta z rakiem głowy i szyi jako młodszego niż w minionych dekadach i osobę, która nigdy nie paliła tytoniu i nie spożywała alkoholu [24]. Prawdopodobnie czynnikiem ryzyka rozwoju raka u tych chorych jest zakażenie HPV [16]. W pracy własnej stwierdzono, że infekcja HPV była częstsza w grupie pacjentów, którzy spożywali alkohol okazjonalnie ($p=0,019$) oraz wśród pacjentów palących mniej niż 10 papierosów dziennie ($p<0,05$). Podobne wyniki w raku krtani i innych nowotworach głowy i szyi uzyskali Lindquist i wsp. [25] oraz Hafkamp i wsp. [26,27]. Wiadomo, że zakażenie HPV zwykle jest konsekwencją określonych zachowań seksualnych, które w związku z tym należy potraktować jako czynniki ryzyka nowotworów głowy i szyi. Udowodniono na przykład, że rak migdałka rozwija się częściej u chorych z zależnymi od zakażenia HPV rakami narządów rodnych [17]. Hemminki i wsp., którzy stwierdzili, że u mężów kobiet z rakiem szyjki macicy częściej rozwijają się nowotwory złośliwe migdałka podniebiennego i języka [28]. Badanie własne miało charakter retrospektywny, więc dane dotyczące zachowań seksualnych nie były możliwe do zdobycia.

Podstawowym i użytecznym klinicznie czynnikiem rokowniczym w raku krtani jest klasyfikacja TNM oraz oparta na niej ocena zaawansowania klinicznego nowotworu. Nie udowodniono dotąd zależności między stopniem zaawansowania miejscowego nowotworów głowy i szyi a zakażeniem

HPV. Część autorów uważa, że wśród pacjentów z infekcją HPV przeważają guzy z małym ogniskiem pierwotnym, ale z większym ogniskiem przerzutowym do węzłów chłonnych [6,15,21,29]. Inne doniesienia tego nie potwierdzają [19,20,30]. W pracy własnej nie znaleziono różnic statystycznych w stopniu zaawansowania klinicznego raka krtani, wielkości guza pierwotnego i ogniska przerzutowego w grupach pacjentów z infekcją HPV i bez tej infekcji.

Niejasne jest podłoże biologiczne zależności między przerzutami do węzłów chłonnych a zakażeniem HPV. Jednak badania dotyczące raka szyjki macicy pokazują obecność w węzłach chłonnych tylko wirusów HPV-16, podczas gdy w ogniskach pierwotnych występują zakażenia różnymi typami wirusów o wysokim potencjale onkogennym [30]. Sugeruje to, że zakażenie tym typem wirusa wiąże się ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia przerzutów. Obecność podobnych zależności w nowotworach głowy i szyi wymaga dalszych badań.

Stopień zróżnicowania histologicznego nowotworu jest kolejnym uznanym czynnikiem rokowniczym w raku krtani. Uważa się, że nowotwory o niższym zróżnicowaniu charakteryzują się bardziej agresywnym przebiegiem. W pracy własnej stwierdzono, że wśród pacjentów z guzem w stopniu zróżnicowania G1 nie było ani jednego z infekcją HPV ($p < 0,05$). W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono prac oceniających zależność między infekcją HPV a stopniem zróżnicowania histologicznego raka krtani. Natomiast doniesienia poświęcone temu zagadnieniu u chorych z nowotworami głowy i szyi nie są jednoznaczne. Dahlgren i wsp. [15] oraz

Klussmann i wsp. [22] stwierdzili, że zakażenie HPV częściej występuje w rakach niżej zróżnicowanych, podczas gdy Mellin i wsp. [6] oraz Kaya i wsp. [31] nie potwierdzili takich zależności. Zagadnienie to wymaga więc dalszych badań.

Istotnym czynnikiem pogarszającym rokowanie u chorych na raka krtani jest wystąpienie wznowy miejscowej i węzłowej. W badanej grupie nie stwierdzono zależności między infekcją HPV a pojawieniem się wznowy. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono doniesień oceniających zależność między występowaniem wznowy a zakażeniem HPV u chorych na raka krtani. Natomiast w przypadku innych nowotworów głowy i szyi dane literaturowe podają, że zakażenie HPV jest czynnikiem, który zmniejsza ryzyko wznowy oraz wpływa na dłuższy wolny od wznowy czas przeżycia [6,22,23,31].

WNIOSKI

1. Infekcja HPV występuje u około 25% chorych na raka krtani i jest częstsza u pacjentów pozbawionych typowych czynników ryzyka takich jak palenie tytoniu i spożywanie alkoholu.
2. Nie stwierdzono zależności między zakażeniem HPV a płcią, wiekiem, miejscem zamieszkania i zawodem pacjentów oraz cechami klinicznymi nowotworu u chorych na raka krtani.
3. Wśród badanych pacjentów zakażonych HPV nie obserwowano guzów o niskim stopniu zróżnicowania histologicznego G1.

Praca wykonana w ramach grantu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, nr 502-03/2-036-02/502-24-014 oraz MNiSW nr NN 403287136.

Piśmiennictwo

1. Jefferies S, Foulkes WD. Genetic mechanisms in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oral Oncol* 2001; 37(2): 115-26.
2. Reszec A, Sułkowska M, Guzinska-Ustymowicz K. Wirus brodawczaka ludzkiego a proces apoptozy. *Post Biol Kom* 2003; 30(2): 311-23.
3. Ramqvist T, Dalanian T. Oropharyngeal cancer epidemic and human papillomavirus. *Emerg Infect Dis* 2010; 16(11): 1671-7.
4. Torrente MC, Rodrigo JP, Haigentz M Jr, Dikkers FG, Rinaldo A, Takes RP i wsp. Human papillomavirus infections in laryngeal cancer. *Head Neck* 2011; 33(4): 581-6.
5. Klozar J, Tachezy R, Rotnáglová E, Koslabová E, Saláková M, Hamsíková E. Human papillomavirus in head and neck tumors: epidemiological, molecular and clinical aspects. *Wien Med Wochenschr* 2010; 160(11-12): 305-9.
6. Mellin H, Friesland S, Lewensohn R, Dalanian T, Munck-Wikland E. Human papillomavirus (HPV) DNA in tonsillar cancer: clinical correlates, risk of relapse, and survival. *Int J Cancer* 2000; 89(3): 300-4.
7. Fakhry C, Westra WH, Li S, Cmelak A, Ridge JA, Pinto H, Forastiere A i wsp. 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(4): 261-9.
8. Weinberg RA. How cancer arises. *Sci Am* 1996; 275(3): 62-70.
9. Morshed K. Udział wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV) w etiopatogenezie nowotworów głowy i szyi. *Otolaryngol Pol.* 2004; 3(3): 91-6.
10. Szládek G, Juhász A, Kardos G, Szoke K, Major T, Sziklai I i wsp. High co-prevalence of genogroup 1 TT virus and human papillomavirus is associated with poor clinical outcome of laryngeal carcinoma. *J Clin Pathol* 2005; 58(4): 402-5.
11. Clayman GL, Stewart MG, Weber RS, el-Naggar AK, Grimm EA. Human papillomavirus in laryngeal and hypopharyngeal carcinomas. Relationship to survival. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 120(7): 743-8.

12. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A III (red.). American Joint Committee on Cancer. (w) AJCC cancer staging handbook: from the AJCC cancer staging manual. 7th ed. Chicago: Springer; 2010.
13. Osuch-Wójcikiewicz E. Rak krtani i gardła dolnego. (w) Otorinolaryngologia Praktyczna. Janczewski G (red.). Gdańsk, Via Medica 2007: 507-17.
14. Isayeva T, Li Y, Maswahu D, Brandwein-Gensler M. Human Papillomavirus in non-oropharyngeal head and neck cancers: a systematic literature review. *Head and Neck Pathol* 2012; 6(Suppl. 1): S104-S120.
15. Dahlgren L, Dahlstrand HM, Lindquist D, Högmö A, Björnestrål L, Lindholm J i wsp. 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): 1015-19.
16. Toner M, O'Regan EM. Head and neck squamous cell carcinoma in the young: a spectrum or a distinct group? Part 1, Part 2. *Head Neck Pathol* 2009; 3(3): 246-51.
17. Syrjänen S. Human Papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. *J Clin Virol* 2005; 32(Suppl. 1): S59-66.
18. Hammarstedt L, Lindquist D, Dahlstrand H, Romanitan M, Dahlgren LO, Joneberg J i wsp. Human papillomavirus as a risk factor for the increase in incidence of tonsillar cancer. *Int J Cancer* 2006; 119(11): 2620-3.
19. Baumann JL, Cohen S, Evjen AN, Law JH, Vadivelu S, Attia A i wsp. Human papillomavirus in early laryngeal carcinoma. *Laryngoscope* 2009; 119(8): 1531-7.
20. Güvenç MG, Midilli K, Ozdoğan A, Inci E, Tahamiler R, Enver O i wsp. Detection of HHV-8 and HPV in laryngeal carcinoma. *Auris Nasus Larynx* 2008; 35(3): 357-62.
21. Attner P, Du J, Näsman A, Hammarstedt L, Ramqvist T, Lindholm J, Marklund L i wsp. The role of human papillomavirus in the increased incidence of base of tongue cancer. *Int J Cancer* 2010; 126(12): 2879-84.
22. Klussmann JP, Mooren JJ, Lehnen M, Claessen SM, Stenner M, Huebbers CU i wsp. Genetic signatures of HPV-related and unrelated oropharyngeal carcinoma and their prognostic implications. *Clin Cancer Res* 2009; 15(5): 1779-86.
23. Klozar J, Kratochvil V, Salakova M, Smahelova J, Vesela E, Hamsikova E i wsp. HPV status and regional metastasis in the prognosis of oral and oropharyngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2008; 265(Suppl 1): 75-82.
24. Westra WH. The changing face of head and neck cancer in the 21st century: the impact of HPV on the epidemiology and pathology of oral cancer. *Head Neck Pathol* 2009; 3(1): 78-81.
25. Lindquist D, Romanitan M, Hammarstedt L, Näsman A, Dahlstrand H, Lindholm J i wsp. Human papillomavirus is a favourable prognostic factor in tonsillar cancer and its oncogenic role is supported by the expression of E6 and E7. *Mol Oncol* 2007; 1(3): 350-5.
26. Hafkamp HC, Manni JJ, Speel EJ. Role of human papillomavirus in development of head and neck squamous cell carcinomas. *Acta Otolaryngol* 2004; 124(4): 520-6.
27. Hafkamp HC, Manni JJ, Haesevoets A, Voogd AC, Schepers M, Bot FJ i wsp. Marked differences in survival rate between smokers and nonsmokers with HPV 16-associated tonsillar carcinomas. *Int J Cancer* 2008; 122(12): 2656-64.
28. Hemminki K, Dong C, Frisch M. Tonsillar and other upper aerodigestive tract cancers among cervical cancer patients and their husbands. *Eur J Cancer Prev* 2000; 9(6): 433-7.
29. Dayyani F, Etzel CJ, Liu M, Ho CH, Lippman SM, Tsao AS. Meta-analysis of the impact of human papillomavirus (HPV) on cancer risk and overall survival in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC). *Head Neck Oncol* 2010; 2: 15.
30. Szostek S, Klimek M, Zawilinska B, Rys J, Kope J, Daszkiewicz E. Detection of human papillomavirus in cervical cell specimens by hybrid capture and PCR with different primers. *Acta Biochim Pol* 2006; 53(3): 603-7.
31. Kaya H, Kotiloğlu E, Inanli S, Ekicioğlu G, Bozkurt SU, Tutkun A i wsp. Prevalence of human papillomavirus (HPV) DNA in larynx and lung carcinomas. *Pathologica* 2001; 93(5): 5341-4.

