

# HPV pozitivni karcinomi usne šupljine

---

Zeljko, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:083431>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-25**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Lucija Zeljko**

**HPV pozitivni karcinomi usne šupljine**

**Diplomski rad**



**Zagreb, 2023.**

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za onkologiju i nuklearnu medicinu  
Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice pod vodstvom dr. sc. Marina Prpića i  
predan je na ocjenu u akademskoj godini 2022./2023.

## POPIS I OBJAŠNENJE KORIŠTENIH KRATICA

HPV – humani papilomavirus

OSCC – planocelularni karcinom usne šupljine (od engl. *oral squamous cell carcinoma*)

DNA – deoksiribonukleinska kiselina (od engl. *deoxyribonucleic acid*)

mRNA – glasnička RNA (od engl. *messenger RNA*)

pRb – retinoblastomski protein

PCR – lančana reakcija polimeraze (od engl. *polymerase chain reaction*)

RT-PCR – lančana reakcija polimeraze s reverznom transkripcijom (od engl. *reverse transcription polymerase chain reaction*)

OPSCC – planocelularni karcinom orofarinksa (od engl. *oropharyngeal squamous cell carcinoma*)

HIV – virus humane imunodeficijencije (od engl. *human immunodeficiency virus*)

IARC – Međunarodna agencija za istraživanje raka (od engl. *International Agency for Research on Cancer*)

CDK2 – kinaza ovisna o ciklinu 2 (od engl. *cyclin-dependent kinase 2*)

RNA – ribonukleinska kiselina (od engl. *ribonucleic acid*)

miRNA – mikroRNA

hTERT – reverzna transkriptaza ljudske telomeraze (od engl. *human telomerase reverse transcriptase*)

IRF3 – interferonski regulatorni faktor 3

IRF1 – interferonski regulatorni faktor 1

FADD – protein sa smrtonosnom domenom pridružen receptoru Fas (od engl. *Fas-associated death domain protein*)

OPMD – oralni potencijalno maligni poremećaji (od engl. *oral potentially malignant disorders*)

OLP – oralni lichen planus

MSCT – višeslojna kompjutorizirana tomografija (od engl. *multislice computed tomography*)

PET-CT – pozitronska emisijska tomografija-kompjutorizirana tomografija (od engl. *positron emission tomography-computed tomography*)

TNM – lat. *tumor, nodus, metastasis*

AJCC – Američko društvo za rak (od engl. *American Joint Committee on Cancer*)

ISH – *in situ* hibridizacija

qPCR – kvantitativna lančana reakcija polimeraze (od engl. *quantitative polymerase chain reaction*)

IOE – intraoralna ekscizija

MRM – marginalna resekcija mandibule

SRM – segmentalna resekcija mandibule

EGFR – receptor za epidermalni čimbenik rasta (od engl. *epidermal growth factor receptor*)

## SADRŽAJ

SAŽETAK.....	
SUMMARY.....	
1. UVOD.....	1
1.1. ANATOMIJA USNE ŠUPLJINE.....	1
1.2. HUMANI PAPILOMAVIRUS.....	2
2. HPV POZITIVNI KARCINOMI USNE ŠUPLJINE.....	6
2.1. EPIDEMIOLOGIJA.....	6
2.2. ETIOLOGIJA.....	7
2.3. PATOGENEZA.....	9
2.4. PREKANCEROZNE LEZIJE.....	11
2.5. KLINIČKA SLIKA.....	13
2.6. DIJAGNOSTIKA I TNM KLASIFIKACIJA.....	16
2.7. LIJEČENJE.....	19
2.7.1. KIRURŠKO LIJEČENJE.....	19
2.7.2. RADIOTERAPIJA.....	21
2.7.3. KEMOTERAPIJA.....	21
2.7.4. CILJANA TERAPIJA I IMUNOTERAPIJA.....	22
2.8. PROGNOZA.....	23
3. ZAKLJUČAK.....	25
4. ZAHVALE.....	27
5. LITERATURA.....	28
6. ŽIVOTOPIS.....	32

## SAŽETAK

### HPV pozitivni karcinomi usne šupljine

Lucija Zeljko

Prekomjerna konzumacija duhana i alkohola najvažniji su etiološki čimbenici u nastanku karcinoma usne šupljine, međutim 15 - 20% bolesnika razvija karcinom bez da su izloženi tim čimbenicima. Iz toga je jasno da postoje i drugi faktori koji utječu na nastanak OSCC-a, a jedan od njih je i infekcija humanim papilomavirusom. Smatra se da je HPV odgovoran za vrlo mali udio karcinoma usne šupljine, iako podaci o prevalenciji znatno variraju u različitim studijama. Uz razvoj karcinoma usne šupljine vežu se visokorizični genotipovi, pri čemu je najčešće izoliran HPV 16, a zatim HPV 18. Onkogeni potencijal visokorizičnih tipova HPV-a pripisuje se njihovoj sposobnosti ugrađivanja specifičnih fragmenata svoje DNA, gena E6 i E7, u genom zaraženih stanica, nakon čega slijedi ekspresija istoimenih virusnih proteina. Ovi proteini su ključni pokretači karcinogeneze jer inaktiviraju dva najvažnija tumorsupresorska proteina, p53 i pRb. Utvrđeno je da je rizično seksualno ponašanje, uključujući orogenitalni seks, najvjerojatniji način prijenosa HPV-a između genitalija i usne šupljine. Trenutačni zlatni standard za otkrivanje onkogene HPV infekcije u karcinomu usne šupljine je E6/E7 mRNA *in situ* hibridizacija. Utjecaj HPV infekcije na prognozu bolesnika s karcinomom usne šupljine i dalje nije sasvim jasan, ali prema mnogim studijama HPV status ne utječe na ukupno preživljenje bolesnika s OSCC-om. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se dodatno pojasnio utjecaj HPV infekcije na nastanak i prognozu karcinoma usne šupljine.

**Ključne riječi:** karcinom usne šupljine, HPV, visokorizični genotipovi

## **SUMMARY**

### **HPV- positive carcinoma of the oral cavity**

**Lucija Zeljko**

Excessive consumption of tobacco and alcohol are the most important etiological factors in the development of oral cavity carcinoma, however 15 - 20% of patients develop carcinoma without being exposed to these factors. It is clear from this that there are other factors that influence the development of OSCC, and one of them is human papillomavirus infection. HPV is thought to be responsible for a very small proportion of oral cavity carcinoma, although prevalence data vary considerably from study to study. High-risk genotypes are associated with the development of oral cavity carcinoma, with HPV 16 being the most frequently isolated, followed by HPV 18. The oncogenic potential of high-risk HPV types is attributed to their ability to insert specific fragments of their DNA, the E6 and E7 genes, into the genome of infected cells, followed by the expression of viral proteins of the same name. These proteins are key drivers of carcinogenesis because they inactivate the two most important tumor suppressor proteins, p53 and pRb. Risky sexual behavior, including orogenital sex, has been found to be the most likely mode of transmission of HPV between the genitals and the oral cavity. The current gold standard for detection of oncogenic HPV infection in oral cavity carcinoma is E6/E7 mRNA in situ hybridization. The impact of HPV infection on the prognosis of patients with oral cavity carcinoma is still not entirely clear, but according to many studies, HPV status does not affect the overall survival of patients with OSCC. Additional research is needed to further clarify the impact of HPV infection on the development and prognosis of oral cavity carcinoma.

**Key words:** oral cavity carcinoma, HPV, high-risk genotypes



## 1. UVOD

### 1.1. ANATOMIJA USNE ŠUPLJINE

Usna šupljina (*cavum oris*) početni je dio probavnog sustava koji, osim probavne, ima i fonacijsku te u određenim okolnostima respiracijsku funkciju, a sadrži i osjetilo okusa. Usnim otvorom (*rima oris*) koji omeđuju usne komunicira s vanjskim svijetom, a ždrijelnim suženjem (*isthmus faucium*) povezana je straga s orofarinksom (1). Razlikovanje anatomskih granica usne šupljine i orofarinksa važno je za pravilno postavljanje dijagnoze i liječenje karcinoma koji se javljaju u tom području (2). Gornju granicu čini spoj tvrdog i mekog nepca, lateralnu granicu čine prednji nepčani lukovi, a donja su granica *papillae circumvallatae* na dorzalnoj strani jezika (1).

Usna šupljina dijeli se na predvorje usne šupljine (*vestibulum oris*) i pravu usnu šupljinu (*cavum oris proprium*) koje su međusobno odvojene zubnim lukovima i desnama. Predvorje usne šupljine je prednji, uski dio usne šupljine koji ima oblik potkove te je srijeda omeđen usnama, bočno obrazima, a straga alveolarnim nastavcima čeljusti, zubnim lukovima i desnama. Pravu usnu šupljinu omeđuju srijeda i bočno oba zuba luka i desni, krov čini tvrdo nepce, a dno čini *diaphragma oris*, koju izgrađuju parni milohioidni mišići, prednji trbusi digastričnih mišića, geniohioidni i genioglosalni mišići s dijelovima jezika. Predvorje usne šupljine s pravom usnom šupljinom komunicira kroz međuzubne prostore i retromolarne prostore koji se nalaze iza posljednjih kutnjaka, a ispred uzlaznih krakova donje čeljusti. Sluznica koja oblaže dno usne šupljine prelazi prema gore u sluznicu ventralne strane jezika, a u središnjoj liniji oblikuje podvostručenje (*frenulum linguae*). S obje strane podvostručenja nalazi se po jedna podjezična kvržica u koju se otvaraju izvodni kanali podčeljusne i podjezične žlijezde (Whartonov kanal i Bartholinov kanal). Lateralno podjezična

sluznica oblikuje s obje strane po jedan podjezični nabor, duž kojega se otvaraju mali izvodni kanali podjezične žlijezde (Rivinijevi kanali) (1). Najveći dio usne šupljine zauzima jezik čije prednje dvije trećine (tijelo jezika) pripadaju usnoj šupljini, a stražnja trećina (korijen jezika) pripada orofarinksu (3).

Naposljetku je bitno podijeliti sluznicu usne šupljine na anatomske podjedinice budući da se upravo iz nje razvija planocelularni karcinom. Oralna sluznica uključuje neoroženu sluznicu usana, sluznicu obraza, ventralnu površinu jezika i dno usne šupljine uz orožene dvije trećine dorzuma jezika, tvrdo nepce, gingivu maksile i mandibule te retromolarno područje (1, 4). Dno usne šupljine, retromolarna područja i ventralna strana jezika najčešća su sjela karcinoma usne šupljine (1).

## **1.2. HUMANI PAPILOMAVIRUS**

Humani papilomavirus (HPV) pripada porodici *Papillomaviridae*. To je mali DNA virus, promjera 55 nm, s kapsidom oblika ikozaedra i bez lipidne ovojnice. Genom virusa čini dvolančana kružna DNA, veličine oko  $8 \times 10^3$  baznih parova i molekularne mase  $5,2 \times 10^6$ . Virusni genom može se podijeliti na tri područja. Područje L (engl. *late*) sa zapisima za strukturne proteine kapside, područje E (engl. *early*) u kojem su zapisi za proteine odgovorne za umnažanje virusa i transformaciju stanice (onkogeni učinak), te područje R (engl. *regulatory*) koje sadrži zapise za regulacijske proteine koji upravljaju procesima umnažanja virusa. Na pozitivnom lancu genoma nalazi se 7 - 8 ranih gena (E1-E8) i 2 kasna gena (L1-L2). Humani papilomavirusi se na temelju sukladnosti DNA svrstavaju u genotipove kojih je do danas otkriveno više od 200. Svaki novoizdvojeni virus koji se razlikuje u više od 10% nukleotidnih nizova u

području L1 od već poznatih genotipova virusa, dobiva novi broj. Ako je razlika 2 - 10%, tada je to subgenotip virusa (5, 6).

HPV virusi mogu se podijeliti i ovisno o tropizmu za epitel sluznice (alfa tipovi) ili epitel kože (beta, gama, mu i nu tipovi) (7). Genotipovi HPV-a klasificiraju se u skupine niskog i visokog rizika na temelju relativnog malignog potencijala lezija koje uzrokuju (8). Dok niskorizični tipovi, kao što su HPV 6 i HPV 11, uzrokuju benigne bradavice i respiratornu papilomatozu, visokorizični tipovi, poput HPV 16 i HPV 18, uzrokuju skvamozne intraepitelne lezije koje mogu napredovati do karcinoma pločastih stanica u području glave i vrata i anogenitalnoj regiji (9).

Umnažanje HPV-a kontrolirani je slijed zbivanja koji ovisi o zrelosti epitelnih stanica domaćina te prisutnosti određenih virusnih proteina. Početak infekcije uvijek se zbiva u stanicama bazalnog sloja pločastog epitela, u kojima su otkriveni kružni izvankromosomski dijelovi virusne DNA (episomi). U bazalnim stanicama koje sadrže episome prisutna je latentna infekcija. Diobom i sazrijevanjem bazalnih stanica u spinozne stanice, unutarstanični okoliš postaje povoljniji za umnažanje virusa, nakon čega slijedi prepisivanje mRNA i tvorba proteina L1 i L2. Posljedica je toga tvorba velikog i malog proteina kapside te zrelih virusnih čestica u gornjim slojevima pločastog epitela. Stanice epitela inficirane virusom postupno propadaju zbog umnažanja virusa, što se očituje kao koilocitoza. Koilociti su povećane epitelne stanice s uvećanom staničnom jezgrom i perinuklearnom vakuolizacijom citoplazme te su vidljive svjetlosnim mikroskopom (5).

Infekcija HPV-om može imati i drugačiji tijek, s postupnom tvorbom različitih tumora pločastog epitela. Tvorba tumora odvija se u tri stupnja. U prvom stupnju stanicu inficira HPV, u drugom, uz prisutni HPV u stanici, važnu ulogu imaju karcinogene tvari

(npr. dim cigarete, ultraljubičasto zračenje, radioaktivno zračenje, kemijski čimbenici i dr.), a u trećem stupnju dolazi do ugradnje virusne DNA u genom domaćina. Sklonost ugradnje u genom domaćina pokazuju visokorizični genotipovi HPV-a (najviše HPV 16), dok niskorizični genotipovi nemaju tu sklonost. Virusni se genom prije ugradnje u genom stanice domaćina uvijek najprije otvori, a potom izravna. Prekid virusnog genoma nastaje u području E2 koje sadrži zapise za proteine koji inhibiraju aktivnost prepisivanja područja E6 i E7. Posljedica prekidanja E2 gena je gomilanje virusnih proteina E6 i E7 u inficiranoj stanici. Nagomilani proteini E6 i E7 vežu se s proteinima staničnih tumorsupresorskih gena p53 i pRB. Posljedica takvog vezanja je inaktivacija tumorsupresorskih proteina, nakon čega slijedi nekontrolirani rast stanice, odnosno tvorba tumora (5).

Među mnogobrojnim osobama inficiranim HPV-om, samo u malog broja dolazi do razvoja tumora te je vremenski razmak od početka infekcije pa do nastanka tumora obično dug. Infekcije HPV-om šire se izravnim kontaktom kože u slučaju kožnih infekcija, spolnim kontaktom u slučaju spolno prenosivih infekcija, te prolaskom novorođenčeta kroz inficirani porođajni kanal majke. Budući da se početak infekcije uvijek zbiva u stanicama bazalnog sloja epitela, pretpostavlja se da je za ulaz virusa potrebna barem mikrotrauma površine epitela. Većina infekcija uzrokovanih HPV-om je supklinička, odnosno asimptomatska i prolazi bez posljedica. Infekcije su češće klinički izražene u imunokompromitiranih osoba, npr. u bolesnika istovremeno inficiranih virusom humane imunodeficijencije. Kliničke manifestacije infekcije mogu biti različite ovisno o tome koji je genotip HPV-a uzrokovao infekciju. Infekcije niskorizičnim tipovima HPV-a očituju se kao kožne bradavice, najčešće na rukama i stopalima, zatim anogenitalne bradavice koje se uglavnom pojavljuju u obliku šiljastih kondiloma (*condylomata acuminata*) na vanjskim dijelovima spolnih organa i u

perianalnom području te kao papilomi usne šupljine i grkljana. Bradavice uzrokovane HPV-om mogu spontano nestati, a ako su bolne i opsežne odstranjuju se različitim postupcima, primjerice kirurškim zahvatom, krioterapijom, kemijskim sredstvima i elektrokauterizacijom. S druge strane, visokorizični se tipovi povezuju s karcinomom orofarinksa, grkljana i usne šupljine te s displazijom i karcinomom vrata maternice, vagine, vulve, penisa i anusa. Liječenje karcinoma povezanih s HPV-om provodi se prema onkološkim načelima. Dijagnostika HPV-a temelji se na molekularnim metodama kao što su hibridizacija, PCR i RT-PCR. Vrlo je korisna i metoda koja otkriva mRNA za regiju E6/E7, jer se time dokazuje ekspresija ovih gena i moguća onkogeni aktivnost HPV-a. Serologija se ne primjenjuje u rutinskoj dijagnostici, a izolacija virusa u staničnoj kulturi zasad nije moguća. Prevencija HPV infekcija postiže se izbjegavanjem dodira s kožnim infekcijama, prakticiranjem sigurnog spolnog odnosa, cijepljenjem, a za žene i redovitim ginekološkim pregledima (5).

## 2. HPV POZITIVNI KARCINOMI USNE ŠUPLJINE

### 2.1. EPIDEMIOLOGIJA

Usna šupljina najčešće je sijelo raka u području glave i vrata (10). Među zloćudnim tumorima usne šupljine na prvom mjestu po incidenciji nalazi se planocelularni karcinom ili OSCC (engl. *oral squamous cell carcinoma*) koji čini približno 90% svih zloćudnih tumora usne šupljine (11). Prema podacima koje navodi Svjetska zdravstvena organizacija, na razini svjetske populacije u 2020. godini zabilježeno je 377 713 novooboljelih i 177 757 umrlih od karcinoma usne i usne šupljine (12). Karcinom usne šupljine češći je u muškaraca nego u žena. Pretežno pogađa muškarce između petog i šestog desetljeća života, a rijedak je u bolesnika mlađih od 40 godina. Međutim, njegova učestalost kod mlađih pacijenata porasla je posljednjih desetljeća (11).

Karcinom usne šupljine uzrokovan je dugotrajnim djelovanjem već utvrđenih čimbenika rizika kao što su pušenje cigareta i konzumiranje alkohola (13). Iako je uporaba duhana među najznačajnijim čimbenicima rizika za nastanak karcinoma usne šupljine, ovaj čimbenik ne objašnjava u potpunosti učestalost svih oralnih karcinoma budući da je drastičan pad prevalencije pušenja cigareta u zadnjih pedeset godina uzrokovao samo umjerenu promjenu u incidenciji karcinoma usne šupljine. U populaciji se bilježi stalni pad uporabe cigareta i alkohola. Unatoč tome, učestalost raka usne šupljine nije se smanjila. Novija istraživanja pokazuju da je sve veći broj bolesnika koji ne puše i ne piju prekomjerno alkohol, ali ipak obolijevaju od raka usne šupljine (14). Stoga se predlaže da drugi čimbenici mogu utjecati na nastanak OSCC-a, poput genetske predispozicije, prehrane i virusnih uzročnika (11).

Ova promjena u epidemiologiji dogodila se u istom vremenskom razdoblju kao i promjena u epidemiologiji karcinoma orofarinksa. Kod OPSCC-a (engl. *oropharyngeal squamous cell carcinoma*) sada je poznato da su čimbenici rizika za nastanak karcinoma visokorizični genotipovi humanog papilomavirusa, posebice HPV 16, 18 i 33. To je dovelo do provođenja nekoliko istraživanja na pacijentima s karcinomom usne šupljine kako bi se identificirali visokorizični HPV genotipovi, bilo u slini ili u uzorcima tumorskog tkiva. Rezultati ovih istraživanja bili su vrlo različiti, pri čemu su neka istraživanja pokazala nisku prevalenciju virusa, dok su druga izvijestila o visokoj prevalenciji. Međutim, sada je općenito prihvaćeno da visokorizični genotipovi HPV 16, 18 i 33 vjerojatno nisu odgovorni za promjenu epidemiologije karcinoma usne šupljine (14).

S obzirom na čimbenike rizika, konzumacija duhana i alkohola odgovorna je za više od 75% slučajeva OSCC-a. Smatra se da su visokorizični tipovi HPV-a odgovorni za vrlo mali udio od 1 do 3% OSCC-a, iako taj broj znatno varira u različitim studijama (4). Utvrđeno je da je visokorizično seksualno ponašanje, uključujući orogenitalni seks, jedan od najvjerojatnijih načina prijenosa HPV-a između genitalija i usne šupljine (13). Pokazatelji rizika za visokorizičnu HPV infekciju usne šupljine su muški spol, bijela rasa, dob starija od 40, ali mlađa od 59 godina, više seksualnih partnera tijekom života, orogenitalni i oroanalni spolni odnos (4).

## **2.2. ETIOLOGIJA**

Konzumacija duhana i alkohola dobro je utvrđen čimbenik rizika za nastanak karcinoma usne šupljine, ali 15 - 20% bolesnika i dalje razvija OSCC u nedostatku izloženosti takvim čimbenicima. Iz toga je jasno da postoje i drugi faktori koji utječu na

nastanak OSCC-a, poput genetske predispozicije i HPV-a (11). Infekcija humanim papilomavirusom najčešća je spolno prenosiva bolest i kod muškaraca i kod žena. Većina spolno aktivnih osoba zarazi se HPV-om barem jednom u životu, a često toga nisu ni svjesni jer nemaju nikakvih simptoma (15). Iako kod većine ljudi infekcije prođu same od sebe, onkogeni HPV tipovi mogu ostati latentni i godinama kasnije uzrokovati rak. Razdoblje latencije između infekcije i kasnijeg razvoja raka glave i vrata procjenjuje se na između 10 i 30 godina (16). Čini se da imunodeficijencija (npr. HIV infekcija) i pušenje povećavaju vjerojatnost perzistiranja infekcije unutar usne šupljine (8).

HPV povezan s karcinomom usne šupljine, za razliku od onog povezanog s anogenitalnim karcinomima i genitalnim bradavicama, prenosi se prvenstveno orogenitalnim i oroanalnim spolnim odnosom. Takav se spolni odnos definira kao kontakt oralne regije s anogenitalnim područjem kao što su vagina, penis i anus. Istraživanja su pokazala da visokorizično seksualno ponašanje, uključujući orogenitalni seks i veći broj seksualnih partnera s kojima se on prakticira, povećava prijenos HPV-a između genitalija i usne šupljine (17). U skladu s tim je i saznanje da muškarci koji imaju spolne odnose s muškarcima imaju visok rizik od razvoja oralne HPV infekcije (18). Nadalje, primijećeno je da je ljubljenje s otvorenim ustima također povezano s oralnim prijenosom HPV-a. HPV je otkriven u oralnoj sluznici muškaraca i žena, bez povijesti oralnog seksa, koji su imali 10 ili više poljubaca s jezikom tijekom života ili su imali 5 ili više poljubaca s jezikom unutar godinu dana (17).

Nedavno su otkriveni i drugi putovi prijenosa HPV-a u područje usne šupljine nepovezani sa spolnim ponašanjem. Uočeno je da je oko 4% pacijentica s cervikalnom HPV infekcijom (HPV 16, 35 ili 45) istovremeno zaraženo istim tipovima HPV-a u usnoj šupljini, uz izostanak oralnog seksa. S obzirom na činjenicu da je infekcija HPV-om



lokalizirana, a ne sistemska, vjerojatno je da su ovi tipovi HPV-a autoinokulirani iz genitalnog područja u oralno područje. Nadalje, HPV je otkriven ispod noktiju te u usnoj šupljini žena s vaginalnom HPV infekcijom. Ova zapažanja sugeriraju da se HPV može prenijeti autoinokulacijom iz genitalnog područja u usnu šupljinu preko kontaminiranih noktiju (17).

### **2.3. PATOGENEZA**

*Syrjänen i sur.* prvi su koji su predložili mogući doprinos HPV-a oralnoj karcinogenezi. Ova se hipoteza temeljila na njihovom epitelnom tropizmu, onkogenom potencijalu visokorizičnih tipova HPV-a u patogenezi anogenitalnih neoplazija, osobito karcinoma vrata maternice, i morfološkim sličnostima između orofaringealnog i genitalnog epitela (11). U većini je slučajeva HPV infekcija usne šupljine samoograničavajuća bolest koja prolazi unutar godinu dana (8, 16). Međutim, onkogeni HPV tipovi mogu godinama perzistirati u usnoj šupljini prije nego dovedu do razvoja karcinoma (16). Uz nastanak OSCC-a vežu se visokorizični genotipovi, pri čemu je najčešće izoliran HPV 16 (13). Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) je genotip HPV 16 kategorizirala kao čimbenik rizika s dovoljno dokaza koji podupiru njegovu ulogu u patogenezi OSCC-a (4). Genotipovi 18, 31, 33 i ostali visokorizični genotipovi rjeđe se uočavaju (8).

Humani papilomavirus inficira bazalne stanice višeslojnog pločastog epitela koje postaju izložene nakon mikrotraume ili ranjavanja sluznice usne šupljine (9). Onkogeni potencijal visokorizičnih tipova HPV-a pripisuje se njihovoj sposobnosti ugrađivanja specifičnih fragmenata svoje DNA, gena E6 i E7, u genom zaraženih stanica, nakon čega slijedi ekspresija istoimenih virusnih proteina (11). Ovi proteini su ključni

pokretači karcinogeneze jer inaktiviraju dva najvažnija tumorsupresorska proteina, p53 i pRb (8). Virusni onkoprotein E6 inaktivira tumorsupresorski protein p53, dok onkoprotein E7 inhibira aktivnost tumorsupresorskog proteina pRb (10). Inhibicija tumorsupresorskih proteina p53 i pRb mijenja putove staničnog ciklusa koji reguliraju staničnu proliferaciju, apoptozu, kao i genetsku stabilnost, što može dovesti do stvaranja karcinoma. Nadalje, vezanje E7 proteina s pRb rezultira oslobađanjem transkripcijskog faktora E2F iz proteinskog kompleksa pRb-E2F. E2F promovira napredovanje staničnog ciklusa te također dovodi do oslobađanja gena p16<sup>INK4a</sup> od njegove transkripcijske inhibicije. Kao posljedica toga, protein p16<sup>INK4a</sup> pokazuje povećanu ekspresiju u HPV-pozitivnim tumorima i stoga se smatra pouzdanim surogat markerom za visokorizičnu HPV infekciju (8, 19).

Uz inaktivaciju p53 i pRb, E6 i E7 inaktiviraju i druge proteine uključene u regulaciju staničnog ciklusa. Na primjer, E7 veže i inaktivira inhibitore staničnog ciklusa kao što su inhibitori kinaze ovisne o ciklinu p21<sup>CIP1</sup> i p27<sup>Kip1</sup>, dok se u isto vrijeme veže na kinazu ovisnu o ciklinu 2 (CDK2) i pojačava njezinu aktivnost, a oba događaja potiču diobu stanica. Nadalje, onkoproteini E6 i E7 neizravno ciljaju nekodirajuće RNA poznate kao mikroRNA (miRNA) koje su povezane s progresijom ili supresijom tumora. E6 i E7 povećavaju razine miRNA-21 (onkogene miRNA), koja smanjuje ekspresiju tumorsupresorskog gena PTEN-a. Za E6, i u manjoj mjeri E7, također je uočeno da pojačavaju aktivnost telomeraze, posebno njezine katalitičke jedinice, reverzne transkriptaze ljudske telomeraze (hTERT). U normalnim okolnostima, hTERT je konstitutivno potisnuta u somatskim stanicama. Međutim, E6 uklanja supresore transkripcije s promotora hTERT-a i hipometilira i acetilira promotor. Ove promjene uzrokuju ekspresiju hTERT-a, koja zatim izdužuje telomere čime se

sprječava spajanje krajeva kromosoma i apoptoza. To omogućuje stanici da se nastavi dijeliti i postane besmrtna (17).

Također je vrijedno spomenuti da E6 i E7, osim što služe kao onkogeni, imaju i druge funkcije koje pomažu reprogramirati stanicu kako bi se poboljšala replikacija HPV-a. Na primjer, E6 se veže za interferonski regulatorni faktor 3 (IRF3), a E7 za interferonski regulatorni faktor 1 (IRF1) te ih inaktiviraju. To stoga inhibira signalne putove interferona i omogućuje virusu da izbjegne imunološki sustav. Nadalje, E6 se veže za receptor smrti (FADD) na stanicama, blokirajući tako apoptozu posredovanu Fas-om. To omogućuje virusu HPV-a da se nastavi razmnožavati (17).

#### **2.4. PREKANCEROZNE LEZIJE**

Prekancerone lezije morfološke su promjene sluznice koje su udružene s povećanim rizikom nastanka karcinoma usne šupljine. Najčešće prekancerone usne šupljine su leukoplakija i eritroplakija, a one rjeđe su lichen planus, oralna submukozna fibroza, kongenitalna diskeratoza i kronična kandidijaza. Od svih prekanceronih lezija, najveći rizik za razvoj karcinoma usne šupljine ima eritroplakija. Za ove se lezije, prema preporuci Svjetske zdravstvene organizacije, može koristiti i naziv „oralni potencijalno maligni poremećaji“ (OPMD), budući da naziv „prekancerone lezije“ sugerira da će se iz njih razviti karcinom, a to nije uvijek slučaj (1, 20).

Leukoplakija je bijela lezija na sluznici usne šupljine koja se ne može ni klinički ni histološki okarakterizirati kao neka druga bolest, na primjer pseudomembranozna kandidijaza, lichen planus, nikotinski stomatitis, leukoedem, oralna dlakava leukoplakija itd. Nažalost, ova definicija koja se temelji na isključivanju drugih bijelih lezija, a ne na specifičnim kliničko-patološkim značajkama, rezultirala je varijacijama

u podacima zabilježenim u studijama tijekom godina. Njezina prevalencija u svijetu iznosi 2 – 3% i češća je u pušača (1, 21). Postoji nekoliko čimbenika rizika za razvoj leukoplakije od kojih je glavni uporaba duhana. Ostali čimbenici rizika su uporaba betel oraha, kronična kandidijaza, nedostatak svježeg voća i povrća u prehrani te konzumacija alkohola. Posljednjih godina i HPV-u se pridaje znatna pozornost kao čimbeniku rizika za leukoplakiju. Nekoliko je istraživača identificiralo HPV 16 i 18 u lezijama leukoplakije (18). Najčešće je lokalizirana na sluznici obraza, gingivi i ventralnoj strani jezika te na dnu usne šupljine, gdje ima najveći maligni potencijal. Čimbenici povezani s povećanim rizikom od progresije u malignu bolest uključuju nehomogeni klinički izgled, veličinu iznad 200 mm<sup>2</sup>, stariju dob, ženski spol i nepostojanje čimbenika rizika za razvoj leukoplakije, poput pušenja i prekomjerne konzumacije alkohola (1, 21). Obično je riječ o asimptomatskom, tankom zadebljanju sluznice, hrapave površine, bez sjaja okolne sluznice koje se ne može odljuštiti. Ponekad bjelkasta promjena sadrži crvena područja pa se naziva pjegasta leukoplakija ili eritroleukoplakija. Maligni potencijal eritroleukoplakije znatno je veći nego kod leukoplakije. Pojava boli, pečenja i zadebljanja lezije može biti znak maligne alteracije. Histološki se najčešće radi o hiperkeratozi, a iznimno rijetko o displaziji ili karcinomu. Iako je leukoplakija puno češća od eritroplakije, ima znatno manji maligni potencijal koji iznosi 4 – 6%, dok je maligni potencijal eritroplakije veći od 90% (1).

Eritroplakija je baršunasta, žarko crvena lezija na sluznici usne šupljine koja se ne može ni klinički ni histološki okarakterizirati kao neka druga bolest. Nema glatkoću ni sjaj okolne sluznice i ne može se odljuštiti. Procjenjuje se da je njezina prevalencija u svijetu 0,02 – 0,08%. Tipično se pojavljuje na predilekcijskim mjestima za karcinom kao što su dno usne šupljine i ventralna strana jezika. Mnoge eritroplakije su asimptomatske, iako nekada mogu biti povezane s peckanjem ili osjetljivošću.

Histološki se radi o displaziji epitela, karcinomu *in situ*, mikroinvazivnom ili invazivnom karcinomu. Displazija epitela sluznice može biti blaga, umjerena i izražena, a ovisno o tome različit je potencijal maligne alteracije. Većina invazivnih karcinoma usne šupljine vjerojatno započne svoj rast kao eritroplakija (1, 21).

Oralni lichen planus (OLP) kronična je upalna bolest posredovana T-limfocitima koja zahvaća oko 1% populacije. Etiopatogeneza OLP-a nije sasvim razjašnjena. Između ostalog, neke studije predlažu i virusnu etiologiju bolesti. Visokorizični HPV 16 i HPV 18 najčešći su tipovi pronađeni u OLP-u (22). Lezije oralne sluznice obično su višestruke i imaju simetričnu distribuciju. Mogu varirati u izgledu od bjelkastog do crvenkastog zadebljanja sluznice ili promjene s plitkom erozijom i edemom okolne sluznice. OLP ima nekoliko kliničkih podtipova: linearni, retikularni, anularni, papularni, plakozni, ulcerativni, atrofični i bulozni. Bolesnici često pokazuju obilježja više podtipova istovremeno (20, 23). Manje od 2% lezija OLP-a pokazuje malignu transformaciju (18).

Oštećeni epitel sluznice usne šupljine koji je prisutan kod erozivnih prekanceroznih lezija može pospješiti HPV infekciju, budući da je za njezin početak potrebna barem mikrotrauma površine epitela kako bi HPV mogao doprijeti do stanica bazalnog sloja epitela (23).

## **2.5. KLINIČKA SLIKA**

Karcinomi usne šupljine razlikuju se u kliničkoj slici ovisno o njihovoj lokalizaciji unutar usne šupljine. Najčešće je zahvaćen jezik koji čini otprilike 35 – 45% svih slučajeva, zatim dno usne šupljine (15 – 35%) te retromolarno područje (15 – 20%). Navedene lokalizacije zajedno čine takozvani „bazen sline“ koji ima oblik potkove, a značajan je

po tome što se u njemu razvija više od 80% karcinoma usne šupljine. U ranim stadijima karcinomi usne šupljine dijele neka zajednička obilježja bez obzira na lokalizaciju. Uglavnom se očituju kao plitka lezija sluznice koja ne zacjeljuje. U toj fazi bolesnici najčešće nemaju simptoma ili su oni vrlo blagi u smislu nelagode, povremene bolnosti ili peckanja prilikom žvakanja hrane. Kasnije lezija sluznice prerasta u ulkus uzdignutih rubova koji se širi i pritom infiltrira okolne strukture, a može i diseminirati limfogeno u limfne čvorove vrata te hematogeno, najčešće u pluća. Osim prethodno opisanog endofitičnog oblika, karcinom usne šupljine može biti i egzofitičan, pri čemu tumor nodularno raste prema van (1, 11, 21, 24).

Karcinom jezika najčešće se javlja na lateralnim rubovima jezika te na ventralnoj strani, dok je dorzum jezika vrlo rijetko zahvaćen. Osim već spomenute bolnosti i pečenja pri konzumaciji hrane, karakteristični simptomi vezani uz ovu lokalizaciju su otežan govor i gutanje zbog zahvaćanja jezične muskulature i posljedične smanjene pokretljivosti jezika. Ako se karcinom nalazi na ventralnoj strani jezika uz granicu s dnom usne šupljine, može doći do fiksiranja jezika za dno usne šupljine. U tom slučaju inspekcijom se može vidjeti skretanje isplaženog jezika u bolesnu stranu, odnosno stranu zahvaćenu karcinomom. Karcinom jezika metastazira brže i češće od karcinoma ostalih lokalizacija usne šupljine, i to uglavnom u submandibularne, gornje i srednje jugularne limfne čvorove (1, 24).

Karcinom dna usne šupljine ima vrlo sličnu kliničku sliku kao i karcinom jezika, no postoje i neke osobitosti vezane uz ovo sjelo karcinoma. U slučaju lokalne infiltracije prednjeg dijela dna usne šupljine, tumor može zahvatiti izvodni kanal submandibularne žlijezde što dovodi do zastojnog sijaloadenitisa. Tada je bitno pri palpaciji razlikovati uvećanu submandibularnu žlijezdu od eventualno uvećanih limfnih čvorova u submandibularnoj regiji. U uznapredovaloj fazi karcinom dna usne šupljine

zahvaća duboke mišiće jezika, gingivu mandibule, a naposljetku i samu kost mandibule te metastazira najčešće u submentalne, submandibularne i gornje jugularne limfne čvorove (1).

Karcinom retromolarnog područja je u trenutku dijagnoze najčešće već infiltrirao okolne strukture kao što su prednji nepčani lukovi, tonzile, baza jezika te sluznica obraza. Može zahvatiti i pterigoidne mišiće pri čemu se kod pacijenata javlja otežano otvaranje usta, odnosno trizmus. Još neki od tipičnih simptoma za karcinom ove lokalizacije su bolno gutanje te bol koja se širi prema uhu. Metastazira prvenstveno u gornje jugularne limfne čvorove (1).

Karcinom gingive znatno se češće javlja na gingivi mandibule nego maksile. Jedan od prvih znakova može biti klimavost zuba, a kod uznapredovalih stadija moguća je i patološka fraktura kosti, posebice kod starijih osoba. Karcinom gingive mandibule metastazira uglavnom u submandibularne limfne čvorove, dok karcinom gingive maksile najčešće metastazira u gornje jugularne limfne čvorove (1).

Karcinom sluznice obraza je rijedak, osim u dijelovima svijeta u kojima postoji navika žvakanja i zadržavanja lišća duhana i lišća betela u usnoj šupljini. Neki od simptoma koji se javljaju su bol i pečenje pri konzumaciji začinjene hrane, a česta su i krvarenja iz karcinoma jer ih bolesnici mogu slučajno zagristi. Karcinom sluznice obraza metastazira uglavnom u submentalne i submandibularne limfne čvorove (1, 21).

Tvrdo nepce najrjeđa je lokalizacija planocelularnog karcinoma usne šupljine. Prvi znakovi su ulkus na sluznici nepca, bolnost, a kod starijih osoba klimavost proteze (1).

## 2.6. DIJAGNOSTIKA I TNM KLASIFIKACIJA

Za postavljanje kliničke dijagnoze karcinoma usne šupljine važno je uzeti detaljnu anamnezu iz koje se često dobiva podatak o „ranici koja ne zacjeljuje“. Nakon toga se provodi fizikalni pregled koji podrazumijeva inspekciju i palpaciju usne šupljine, ali i palpaciju limfnih čvorova glave i vrata. Budući da karcinomi usne šupljine metastaziraju limfogeno u ipsilateralne limfne čvorove vrata, posebnu pozornost potrebno je posvetiti onoj strani vrata na kojoj se nalazi karcinom usne šupljine. Dijagnoza karcinoma potvrđuje se biopsijom uzetom s ruba lezije i patohistološkom analizom uzorka. Nakon patohistološke verifikacije karcinoma, potrebno je radiološki odrediti anatomsku proširenost bolesti. U tu svrhu najčešće se koristi MSCT glave i vrata, a kod sumnje na udaljenu diseminaciju bolesti i PET-CT. Na temelju fizikalnog pregleda i radiološke dijagnostičke obrade, određuje se klinički stadij bolesti prema TNM klasifikaciji (1).



**Tablica 1:** TNM klasifikacija karcinoma usne šupljine prema 8. izdanju AJCC-ovog (*American Joint Committee on Cancer*) Priručnika za određivanje stadija raka iz 2017. i promjenama iz 2018. godine (25)

Primarni tumor (T)	
TX	primarni tumor ne može se procijeniti
Tis	carcinoma in situ
T1	tumor ≤ 2 cm i dubina invazije ≤ 5 mm
T2	tumor ≤ 2 cm i dubina invazije od 5 – 10 mm ili tumor od 2 – 4 cm i dubina invazije ≤ 10 mm
T3	tumor > 4 cm ili dubina invazije > 10 mm
T4	T4a – umjereno uznapredovala lokalna bolest: tumor zahvaća susjedne strukture (kortikalis mandibule ili maksile, maksilarni sinus ili kožu lica)
	T4b – vrlo uznapredovala lokalna bolest: tumor zahvaća žvačnu muskulaturu, pterigoidne nastavke, bazu lubanje i obuhvaća unutarnju karotidnu arteriju
Regionalni limfni čvorovi (N)	
NX	regionalni limfni čvorovi ne mogu se procijeniti
N0	nema metastaza u regionalnim limfnim čvorovima
N1	metastaze u jedan ipsilateralni limfni čvor promjera ≤ 3 cm bez ektranodalne ekstenzije
N2	N2a – metastaze u jedan ipsilateralni limfni čvor promjera 3 – 6 cm bez ektranodalne ekstenzije
	N2b – metastaze u više ipsilateralnih limfnih čvorova promjera ≤ 6 cm bez ektranodalne ekstenzije
	N2c – metastaze u bilateralne ili kontralateralne limfne čvorove promjera ≤ 6 cm bez ektranodalne ekstenzije
N3	N3a – metastaze u limfni čvor promjera > 6 cm bez ektranodalne ekstenzije
	N3b – metastaze u jedan ili više limfnih čvorova s ektranodalnom ekstenzijom
Udaljene metastaze (M)	
MX	udaljene metastaze ne mogu se procijeniti
M0	nema udaljenih metastaza
M1	udaljene metastaze

**Tablica 2:** Stadiji karcinoma usne šupljine prema TNM klasifikaciji iz 8. izdanja AJCC-ovog (*American Joint Committee on Cancer*) Priručnika za određivanje stadija raka iz 2017. godine (25)

Stadij 0	Tis	N0	M0
Stadij I	T1	N0	M0
Stadij II	T2	N0	M0
Stadij III	T3	N0	M0
	T1, T2, T3	N1	M0
Stadij IVA	T4a	N0, N1	M0
	T1, T2, T3, T4a	N2	M0
Stadij IVB	bilo koji T	N3	M0
	T4b	bilo koji N	M0
Stadij IVC	bilo koji T	bilo koji N	M1

Onkogeni HPV infekcija može se otkriti pomoću nekoliko metoda na razini DNA, mRNA ili proteina. Metode za detekciju virusne DNA uključuju lančanu reakciju polimeraze (PCR) i *in situ* hibridizaciju (ISH) na presjecima tkiva. Ove su metode korištene za otkrivanje virusne DNA u mnogim studijama koje su pokušavale istražiti ulogu onkogene HPV infekcije u OSCC-u. Konvencionalni PCR iznimno je osjetljiva metoda, ali daje samo "pozitivan" ili "negativan" rezultat, odnosno može otkriti virusni genom, ali ne i njegov doprinos karcinogenezi (4, 10). Također, ta je metoda osjetljiva na kontaminaciju što dovodi do lažno pozitivnih rezultata (19). S druge strane, kvantitativni PCR (qPCR) može se koristiti za otkrivanje količine DNA visokorizičnih HPV tipova koja odražava njihovu ulogu u onkogenezi (4).

p16 je tumorsupresorski protein koji inhibira napredovanje staničnog ciklusa putem inhibicije kinaze ovisne o ciklinu. U onkogenoj HPV infekciji, p16 je prekomjerno izražen kao odgovor na inaktivaciju p53 i pRb te se stoga smatra surogat markerom za onkogeni HPV infekciju. Međutim, u velikoj većini karcinoma usne šupljine,

ekspresija p16 je izgubljena zbog mutacije ili delecije. Nadalje, p16 može biti prekomjerno eksprimiran i u HPV negativnom karcinomu usne šupljine. Stoga u OSCC-u, p16 imunohistokemija ima ograničenu vrijednost u prepoznavanju onkogene HPV infekcije, za razliku od OPSCC-a gdje se smatra osjetljivom i specifičnom metodom. Trenutačni zlatni standard za otkrivanje onkogene HPV infekcije je E6/E7 mRNA *in situ* hibridizacija. Ovi geni kodiraju onkoproteine koji se proizvode kao rezultat integracije virusnog genoma u genom domaćina. Iz tog je razloga ova metoda ključna za točnu identifikaciju transkripcijski aktivne onkogene HPV infekcije u OSCC-u (4).

## **2.7. LIJEČENJE**

Terapijski postupci uključeni u liječenje karcinoma usne šupljine obuhvaćaju kirurški zahvat, radioterapiju, kemoterapiju, ciljanu terapiju i imunoterapiju te kombinacije navedenog (26). Izbor liječenja bolesnika s karcinomom usne šupljine ovisi o lokalizaciji primarnog tumora, njegovoj proširenosti, postojanju regionalnih i udaljenih metastaza (TNM stadij) te o općem stanju bolesnika. Bolesnici s kliničkim stadijem bolesti I i II najčešće se uspješno liječe kirurški, dok se bolesnici u uznapredovalim stadijima III i IV u pravilu liječe združenim oblicima liječenja, odnosno kirurškim liječenjem s adjuvantnom radioterapijom ili kemoradioterapijom (1).

### **2.7.1. KIRURŠKO LIJEČENJE**

Kirurško liječenje podrazumijeva odstranjenje primarnog tumora u usnoj šupljini transoralnim pristupom što se naziva intraoralna ekscizija (IOE) ili složenom

operacijom koja uz eksciziju primarnog tumora uključuje i disekciju vrata u istom bloku – Commando operacija (kompozitna ili blok resekcija). Kod bolesnika s klinički negativnim vratom (N0), postoji nekoliko mogućnosti kirurškog liječenja. Prva je intraoralna ekscizija s praćenjem bolesnika do pojave klinički manifestnih regionalnih metastaza (tzv. konverzija negativnog vrata), zatim intraoralna ekscizija s elektivnom disekcijom vrata (Commando operacija) te intraoralna ekscizija s elektivnim zračenjem vrata (1). Prije odluke o provođenju elektivne disekcije vrata, bitno je procijeniti rizik za postojanje okultnih regionalnih metastaza. Čimbenici povezani s povećanim rizikom od okultne bolesti limfnih čvorova uključuju viši T stadij, povećanu debljinu i dubinu invazije tumora te prisutnost perineuralne ili limfovaskularne infiltracije (21). Elektivna disekcija vrata radi se i kada nije moguće postići adekvatnu eksciziju primarnog tumora transoralnim pristupom zbog njegove veličine ili njegove lokalizacije unutar usne šupljine, te je stoga potreban pristup kroz vrat kako bi se postigli zdravi rubovi resekcije (1).

Kod bolesnika s klinički dokazanim metastazama na vratu (N1-3) indicirana je Commando operacija. Ako karcinom usne šupljine infiltrira periost ili kost čeljusti, češće mandibulu u odnosu na maksilu, potrebno je učiniti i resekciju dijela čeljusti. Resekcija mandibule može biti marginalna (MRM) kad se uklanja samo dio kosti zahvaćen tumorom s dijelom okolne zdrave kosti, a kontinuitet mandibule ostaje sačuvan. MRM u pravilu obuhvaća resekciju alveolarnog grebena i dijela kosti mandibule. U slučaju veće infiltracije kosti tumorom potrebno je učiniti segmentalnu resekciju mandibule (SRM), odnosno resekciju pune debljine kosti (1, 24).

### **2.7.2. RADIOTERAPIJA**

Karcinomi usne šupljine u stadiju T1 i T2 liječe se podjednako učinkovito kirurškim zahvatom ili zračenjem. Glavna prednost radioterapije je očuvanje funkcije i dobar kozmetički učinak, ali u obzir treba uzeti i njezine nuspojave poput kserostomije i osteoradionekroze mandibule. U slučaju uznapredovale bolesti (T3 i T4 ili N+) potreban je kombinirani pristup, odnosno kirurški zahvat i postoperativno zračenje. U tom slučaju govorimo o adjuvantnoj radioterapiji koja se najčešće provodi klasičnim frakcioniranjem 2 Gy dnevno tijekom 6 do 7 tjedana. Osim prethodno navedene, moguće su i druge sheme frakcioniranja kao što je hiperfrakcioniranje kad se aplicira manja pojedinačna doza dvaput na dan uz veću ukupnu dozu zračenja, ili akcelerirano frakcioniranje kad se aplicira jednaka ukupna doza zračenja, ali u kraćem ukupnom vremenu i to primjenom dviju ili više dnevnih frakcija (24, 26).

U liječenju malih karcinoma usne šupljine koji imaju nizak rizik metastaziranja u regionalne limfne čvorove moguće je primijeniti brahiterapiju. Brahiterapija se može kombinirati s vanjskim zračenjem, posebice radi postizanja veće doze na području primarnog tumora (26). Primarna radioterapija rjeđe se provodi, i to u slučaju inoperabilnog karcinoma usne šupljine ili ako bolesnik odbija kirurško liječenje (24). U usporedbi sa samostalnim zračenjem, primarna kemoradioterapija povećava preživljenje i smanjuje rizik od recidiva (27).

### **2.7.3. KEMOTERAPIJA**

Nakon kirurškog liječenja, kod lokalno i regionalno uznapredovalog karcinoma usne šupljine, provodi se adjuvantna kemoradioterapija s ciljem smanjenja stope lokalnog,

ali i udaljenog povratka bolesti. Primjena adjuvantne kemoterapije konkomitantno sa zračenjem preporuča se kod proboja kapsule limfnog čvora infiltriranog tumorom, pozitivnog resekcijskog ruba, limfovaskularne ili perineuralne invazije te u N2 ili N3 stadiju bolesti (26).

Kod inoperabilnih, lokalno uznapredovalih karcinoma može se primijeniti neoadjuvantna kemoterapija u svrhu smanjenja primarnog tumora, što dovodi do poboljšanja lokoregionalne kontrole bolesti i smanjenja učestalosti udaljenih presadnica. Kao protokol izbora u liječenju karcinoma usne šupljine preporuča se kombinacija cisplatina, 5-fluorouracila i docetaksela, ali mogu se primjenjivati i drugi lijekovi kao što su karboplatin i paklitaksel (26, 28).

#### **2.7.4. CILJANA TERAPIJA I IMUNOTERAPIJA**

Stanice karcinoma usne šupljine pokazuju prekomjernu izražajnost receptora za epidermalni čimbenik rasta (EGFR) te se iz tog razloga u liječenju može primijeniti cetuksimab. Cetuksimab je monoklonsko protutijelo usmjereno prema receptoru za epidermalni čimbenik rasta (26). Blokiranjem EGFR-a, cetuksimab može usporiti ili zaustaviti rast tumorskih stanica. U ranijim stadijima karcinoma, može se primjenjivati uz terapiju zračenjem, a u uznapredovaloj bolesti, može se kombinirati sa standardnim kemoterapeutcima kao što je cisplatin (28). Kombinacija cisplatina, 5-fluorouracila i cetuksimaba primjenjuje se u metastatskoj bolesti ili kod recidivirajućeg karcinoma sa stopom odgovora od oko 30% (26).

Panitumumab je također monoklonsko protutijelo usmjereno protiv receptora za epidermalni čimbenik rasta. Proučavan je u liječenju metastatskih karcinoma glave i

vrata, ali za razliku od cetuksimaba, nije dokazano da poboljšava preživljenje kada se daje s cisplatinom i 5-fluorouracilom (27).

Pembrolizumab i nivolumab su lijekovi koji ciljaju PD-1, protein koji se nalazi na T-limfocitima i još nekim stanicama imunološkog sustava. PD-1 suprimira aktivnost T-limfocita i na taj način smanjuje imunološki odgovor na druge stanice. Blokirajući PD-1, ovi lijekovi potiču imunološki odgovor protiv stanica raka, što može smanjiti neke tumore ili usporiti njihov rast. Navedeni se lijekovi mogu koristiti kod recidivirajućeg ili metastatskog karcinoma usne šupljine nakon neuspješnog liječenja platinom (27, 28).

## **2.8. PROGNOZA**

Čimbenici koji utječu na prognozu karcinoma usne šupljine mogu se podijeliti na one ovisne o bolesniku i na one ovisne o tumoru. Čimbenici ovisni o bolesniku su njegova dob, spol, rasa i opće stanje, a čimbenici ovisni o tumoru su lokalizacija primarnog tumora, veličina tumora (stadij T), debljina i dubina invazije tumora, infiltracija kosti, histološke značajke tumora, status regionalnih limfnih čvorova (stadij N) te postojanje udaljenih metastaza (stadij M). Petogodišnje preživljenje pacijenata s karcinomom usne šupljine uvelike ovisi o stadiju bolesti u trenutku početka liječenja. Što je stadij veći, prognoza je lošija. Za stadij I karcinoma usne šupljine petogodišnje preživljenje iznosi 80 - 90%, za stadij II 60 – 70%, za stadij III 40 – 60% te za stadij IV 20 – 40% ili manje (1).

Infekcija humanim papilomavirusom potvrđena je kao povoljan prognostički čimbenik kod karcinoma orofarinksa. Međutim, prognostička vrijednost HPV-a u karcinomu usne šupljine još uvijek nije sasvim jasna (29). Prema mnogim studijama, HPV status ne utječe na ukupno preživljenje pacijenata s OSCC-om (13, 14, 19, 30, 31). Međutim,

*Christianto i sur.* su u svojoj studiji pokazali da je HPV-pozitivan OSCC povezan sa smanjenim ukupnim preživljenjem, što sugerira da je HPV nepovoljan prognostički čimbenik za karcinom usne šupljine (29). S druge strane, *Ko i sur.* su u svojoj studiji pokazali da je HPV-pozitivan karcinom usne šupljine povezan s povećanim ukupnim preživljenjem te istaknuli da je HPV povoljan prognostički čimbenik za OSCC (32). Iz svega navedenog, očito je da su potrebna daljnja istraživanja kako bi se utvrdila točna uloga HPV-a u prognozi karcinoma usne šupljine.



### 3. ZAKLJUČAK

Spolno ponašanje i infekcija humanim papilomavirusom potvrđeni su čimbenici rizika za anogenitalne karcinome i karcinom orofarinksa, ali o ulozi HPV-a u patogenezi karcinoma usne šupljine se i dalje raspravlja. Studije provedene diljem svijeta dokazale su prisutnost DNA HPV-a u OSCC-u, ali su također pokazale i veliku razliku u prevalenciji HPV pozitivnog karcinoma usne šupljine, u rasponu od 0% do 37% (11, 31). Tako velika razlika u rezultatima može se objasniti etničko-zemljopisnim razlikama, veličinom uzorka na kojem je provedeno istraživanje, metodama prikupljanja uzorka za analizu (biopsija, bris četkicom, ispirak usne šupljine), načinom pohrane uzorka tkiva (svježe smrznuti, fiksiran u formalinu, parafinski blok) te metodama detekcije HPV-a (PCR, ISH, imunohistokemija) (24). Navedenoj heterogenosti rezultata pridonosi i povremeno pogrešno svrstavanje karcinoma baze jezika, koji anatomski pripadaju orofarinksu, pod karcinome usne šupljine, što onda rezultira većom prevalencijom HPV-a u usnoj šupljini nego što je to stvarno slučaj (19).

Nadalje, u brojnim je studijama korišten PCR za detekciju virusne DNA, a pritom nije uzeto u obzir da sama prisutnost virusnog genoma nije ujedno i dokaz njegove onkogene aktivnosti. Ni p16 imunohistokemija nije pouzdana metoda za prepoznavanje onkogene HPV infekcije u OSCC-u. Stoga se otkrivanje transkripata virusnih onkogenih E6 i E7 *in situ* hibridizacijom smatra zlatnim standardom za detekciju onkogene HPV infekcije u karcinomu usne šupljine (4, 19).

Za razliku od karcinoma orofarinksa, za kojeg je utvrđena prognostička važnost HPV infekcije, još nije utvrđen značaj HPV-a u prognozi karcinoma usne šupljine. Postoje

kontradiktorne studije koje govore ili u korist većeg preživljenja za bolesnike s HPV pozitivnim OSCC-om ili u prilog lošijeg ishoda, kao i u prilog tome da HPV status nema učinka na preživljenje bolesnika s karcinomom usne šupljine (8).

Nove spoznaje o odnosu između HPV infekcije i OSCC-a mogle bi imati vrlo pozitivan utjecaj na dijagnostiku i liječenje ove specifične skupine pacijenata, kao i unaprijediti zdravstvene programe usmjerene na prevenciju karcinoma usne šupljine (11).

#### **4. ZAHVALE**

Na početku želim zahvaliti svom mentoru dr.sc. Marinu Prpiću na susretljivosti i vrijednim savjetima koje mi je dao prilikom pisanja ovog rada.

Zahvaljujem prijateljima zbog kojih ću se uvijek s radošću sjećati ovog životnog razdoblja.

Hvala Anti na ohrabrivanju u trenucima kad je bilo potrebno te na svim lijepim uspomenama koje dijelimo.

Na kraju posebno zahvaljujem svojoj obitelji na neizmjerne ljubavi i podršci koju su mi pružili tijekom studiranja. Moj uspjeh je ujedno i njihov.

## 5. LITERATURA

1. Lukšić I i sur. Maksilofacijalna kirurgija. Zagreb: Naklada Ljevak; 2019.
2. Kato MG, Baek CH, Chaturvedi P, Gallagher R, Kowalski LP, Leemans CR, i sur. Update on oral and oropharyngeal cancer staging – International perspectives. *World J Otorhinolaryngol Head Neck Surg.* 2020 Mar 6;6(1):66–75.
3. Bumber Ž, Katić V, Nikšić-Ivančić M, Pegan B, Petric V, Šprem N i sur., ur. Otorinolaringologija. Zagreb: Naklada Ljevak; 2004.
4. Yakin M, Seo B, Hussaini H, Rich A, Hunter K. Human papillomavirus and oral and oropharyngeal carcinoma: the essentials. *Aust Dent J.* 2019 Mar;64(1):11–8.
5. Kalenić S i sur. Medicinska mikrobiologija. 2. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2019.
6. Sano D, Oridate N. The molecular mechanism of human papillomavirus-induced carcinogenesis in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Clin Oncol.* 2016 Oct;21(5):819–26.
7. Gheit T. Mucosal and Cutaneous Human Papillomavirus Infections and Cancer Biology. *Front Oncol.* 2019;9:355.
8. Hübbers CU, Akgül B. HPV and cancer of the oral cavity. *Virulence.* 2015;6(3):244–8.
9. Syrjänen S. Oral manifestations of human papillomavirus infections. *Eur J Oral Sci.* 2018 Oct;126 Suppl 1(Suppl Suppl 1):49–66.
10. de Abreu PM, Có ACG, Azevedo PL, do Valle IB, de Oliveira KG, Gouvea SA, i sur. Frequency of HPV in oral cavity squamous cell carcinoma. *BMC Cancer.* 2018 Mar 27;18(1):324.
11. Melo BA de C, Vilar LG, Oliveira NR de, Lima PO de, Pinheiro M de B, Domingueti CP, i sur. Human papillomavirus infection and oral squamous cell carcinoma - a systematic review. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2021;87(3):346–52.

12. Globocan. Cancer today: Cancer fact sheets [Internet]. 2020 [pristupljeno 9. svibnja 2023.]. Dostupno na: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/1-Lip-oral-cavity-fact-sheet.pdf>
13. Blahak J, Zelinka J, Gumulec J, Machacek C, Danek Z, Bulik O. HPV, protein p16 and squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2020 Sep;164(3):292–9.
14. Ganly I, Pei Z, Hao Y, Ma Y, Rosenthal M, Wu Z, i sur. Case control study comparing the HPV genome in patients with oral cavity squamous cell carcinoma to normal patients using metagenomic shotgun sequencing. *Sci Rep.* 2021 Feb 16;11(1):3867.
15. Wierzbicka M, Klusmann JP, San Giorgi MR, Wuerdemann N, Dikkers FG. Oral and laryngeal HPV infection: Incidence, prevalence and risk factors, with special regard to concurrent infection in head, neck and genitals. *Vaccine.* 2021 Apr 22;39(17):2344–50.
16. Roman BR, Aragonés A. Epidemiology and incidence of HPV-related cancers of the head and neck. *J Surg Oncol.* 2021 Nov;124(6):920–2.
17. Tumban E. A Current Update on Human Papillomavirus-Associated Head and Neck Cancers. *Viruses.* 2019 Oct 9;11(10):922.
18. Prabhu SR, Wilson DF. Human papillomavirus and oral disease - emerging evidence: a review. *Aust Dent J.* 2013 Mar;58(1):2–125.
19. Nauta IH, Heideman DAM, Brink A, van der Steen B, Bloemena E, Koljenović S, i sur. The unveiled reality of human papillomavirus as risk factor for oral cavity squamous cell carcinoma. *Int J Cancer.* 2021 Jul 15;149(2):420–30.
20. Warnakulasuriya S. Clinical features and presentation of oral potentially malignant disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2018 Jun;125(6):582–90.
21. Chi AC, Day TA, Neville BW. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma—an update. *CA Cancer J Clin.* 2015;65(5):401–21.

22. Gomez-Armayones S, Chimenos-Küstner E, Marí A, Tous S, Penin R, Clavero O, i sur. Human papillomavirus in premalignant oral lesions: No evidence of association in a Spanish cohort. *PLoS One*. 2019;14(1):e0210070.
23. Shang Q, Peng J, Zhou Y, Chen Q, Xu H. Association of Human Papillomavirus With Oral Lichen Planus and Oral Leukoplakia: A Meta-analysis. *J Evid Based Dent Pract*. 2020 Dec;20(4):101485.
24. Dediol E. Učestalost visokorizičnih tipova humanoga papiloma virusa u karcinomima usne šupljine u bolesnika bez rizičnih čimbenika [disertacija]. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet; 2013.
25. Amin MB, Edge S, Greene F, Byrd DR, Brookland RK, Washington MK, i sur., ur. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8. izd. New York: Springer International Publishing; 2018. Str. 6–12.
26. Vrdoljak E, Belac Lovasić I, Kusić Z, Gugić D, Juretić A. *Klinička onkologija*. 3. izd. Zagreb: Medicinska naklada; 2018.
27. Hartner L. Chemotherapy for Oral Cancer. *Dent Clin North Am*. 2018 Jan;62(1):87–97.
28. American cancer society. Treating Oral Cavity and Oropharyngeal Cancer [Internet]. 2021 [pristupljeno 9. svibnja 2023.]. Dostupno na: <https://www.cancer.org/cancer/types/oral-cavity-and-oropharyngeal-cancer/treating.html>
29. Christianto S, Li KY, Huang TH, Su YX. The Prognostic Value of Human Papilloma Virus Infection in Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma: A Meta-Analysis. *Laryngoscope*. 2022 Sep;132(9):1760–70.
30. Alsharif U, Hofmann M, Gebhard M, Tharun L, Rades D, Sieg P, i sur. Double Positivity for HPV DNA/P16(INK4a) Does Not Influence Survival of Patients With Oral Squamous Cell Carcinoma. *Anticancer Res*. 2021 Nov;41(11):5557–68.
31. Katirachi SK, Gronlund MP, Jakobsen KK, Gronhoj C, von Buchwald C. The Prevalence of HPV in Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma. *Viruses-Basel*. 2023 Feb;15(2):451.

32. Ko HC, Harari PM, Sacotte RM, Chen S, Wieland AM, Yu M, et al. Prognostic implications of human papillomavirus status for patients with non-oropharyngeal head and neck squamous cell carcinomas. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2017 Nov;143(11):2341–50.

## 6. ŽIVOTOPIS

Lucija Zeljko rođena je 14. travnja 1999. godine u Zagrebu. Pohađala je Osnovnu školu Rapska, nakon čega je 2013. godine upisala II. Gimnaziju u Zagrebu. Studij medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisala je 2017. godine. Tijekom studija bila je član Studentske sekcije za onkologiju i imunologiju, Studentske sekcije za ginekologiju i opstetriciju te Studentske sekcije za hipertenziju. Bila je i aktivni član Hrvatske lige za hipertenziju, u sklopu koje je sudjelovala u javnozdravstvenom projektu Lov na tihog ubojicu. Za sudjelovanje u tom projektu nagrađena je Rektorovom nagradom 2022. godine. Za vrijeme studija bila je aktivni sudionik na međunarodnom kongresu „Stevo Julius Zagreb Conference on Prehypertension, Hypertension and Cardiovascular Protection“ koji se održao u Zagrebu te na međunarodnom kongresu „32nd Scientific Meeting of the European Society of Hypertension (ESH) on Hypertension and Cardiovascular Protection“ u Milanu. Također je bila volonter u projektu Bolnica za medvjediće. Od stranih jezika aktivno se služi engleskim, a poznaje i osnove francuskog i njemačkog jezika.