

Sledování prognózy HPV pozitivních a negativních orofaryngeálních karcinomů v závislosti na léčebné modalitě

Prognosis of HPV-Positive and -Negative Oropharyngeal Cancers Depends on the Treatment Modality

Horáková Z.¹, Slávik M.², Veselý K.³, Budíková M.⁴, Kostřica R.¹, Binková H.¹

¹ Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku LF MU a FN u svaté Anny v Brně

² Klinika radiační onkologie LF MU a Masarykův onkologický ústav, Brno

³ I. patologicko-anatomický ústav, LF MU a FN u svaté Anny v Brně

⁴ Ústav matematiky a statistiky, PŘF MU, Brno

Souhrn

Východiska: Asociace lidského papilomaviru (human papillomavirus – HPV) s karcinomy orofaryngu jsou velmi aktuální otázkou. Důvodem je především jejich prudce stoupající incidence v posledních letech. Jedná se o skupinu nádorů etiopatogeneticky, epidemiologicky i klinicky odlišnou od ostatních karcinomů této lokality. Jejich pozitivním aspektem je lepší prognóza, vyšší chemo- a radiosenzitivita. Tato skutečnost byla ověřena mnoha rozsáhlými retrospektivními i prospektivními studiemi a akceptována natolik, že HPV status je považován za nedílnou součást standardního histopatologického vyšetření a byl zařazen jako další, biologický parametr do TNM klasifikace nádorů. **Materiál a metody:** V prezentovaném souboru bylo retrospektivně hodnoceno 77 pacientů léčených na jednom klinickém pracovišti nechirurgickým postupem pro lokálně pokročilý karcinom orofaryngu. **Výsledky:** Celkové i specifické přežití bylo statisticky signifikantně lepší u pacientů s HPV pozitivními (HPV+) nádory ve srovnání s pacienty s nádory HPV negativními (HPV–). HPV se ukazuje jako nejsilnější prediktor lokální kontroly, celkového i specifického přežívání, a to bez ohledu na typ léčby. Pro celkové přežívání je v našem souboru dalším významným negativním prediktivním faktorem pokročilost nádoru a kouření. Pacienti s HPV asociovanými karcinomy orofaryngu mají významně lepší prognózu bez ohledu na typ léčby. Rozdíl mezi jednotlivými léčebnými modalitami se potvrdil v celém souboru. Při dalším dělení dle HPV statusu již nikoliv, pravděpodobně na vrub malých počtů pacientů. **Závěr:** Získané výsledky jsou součástí výzkumu, jehož koncepčním záměrem je deeskalace léčby HPV asociovaných nádorů. K té bude možné přistoupit až na základě výsledků rozsáhlých, v současnosti probíhajících randomizovaných studií. Volba léčebné modalit, pro kterou je rozdílnost léčebných výsledků nejvýraznější, resp. specifikace konkrétního optimálního schématu deintenzifikace terapie, nebyla prozatím jednoznačně objektivizována.

Klíčová slova

orofarynx – karcinom – HPV – prognóza – léčba

Tato práce byla podpořena granty IGA MZ ČR NT12483-4/2011 a AZV MZ ČR 15-31627A.

This work was supported by grants of the Ministry of Health of the Czech Republic IGA NT12483-4/2011 and AZV 15-31627A.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Binková Hana, Ph.D.

Klinika otorinolaryngologie
a chirurgie hlavy a krku
LF MU a FN u svaté Anny v Brně
Pekařská 664/53
656 91 Brno
e-mail: binkova.ha@seznam.cz

Obdrženo/Submitted: 21. 9. 2018

Přijato/Accepted: 14. 5. 2019

doi: 10.14735/amko2019187

Summary

Background: The association between human papilloma virus (HPV) and oropharyngeal carcinoma is a topical issue due mainly to the rapid increase in incidence over recent years. These tumors are etiopathogenetically, epidemiologically, and clinically different from other carcinomas at this location. They have a better prognosis in that they are more chemo- and radiosensitive. Indeed, this has been shown by many extensive retrospective and prospective studies. HPV status is considered an integral part of a standard histopathological examination and is included as a new biological parameter in TNM classification. **Materials and methods:** The results of 77 patients who were treated non-surgically for locally advanced oropharyngeal carcinoma at a single university ear, nose, and throat clinic were analyzed retrospectively. **Results:** Overall and specific survival of those with HPV-positive (HPV+) tumors was better than those for HPV negative (HPV-) tumors. With the exception of TNM classification, HPV positivity appeared to be the strongest predictor of local control, and of overall and specific survival, regardless of the type of treatment. However, smoking and p53 positivity were significant negative predictors of overall survival. Patients with HPV-associated tumors had a significantly better prognosis, regardless of treatment type. The difference between treatment modalities was confirmed for the whole group of patients, but not for the HPV+ and HPV- patients specifically, most probably due to the small number of patients enrolled. **Conclusion:** The results obtained herein may constitute the first step toward the concept of treatment de-escalation in those with HPV-associated oropharyngeal carcinoma; however, this decision can be based only on the results of current extensive randomized trials. Specification of the optimal de-escalation scheme, or the choice of treatment modality, for which the difference in treatment results is most pronounced, has yet to be identified.

Key words

oropharynx – cancer – HPV – prognosis – treatment

Úvod

Spinocelulární karcinomy hlavy a krku představují ve světě šestou nejrozšířenější skupinu zhoubných nádorů; orální a orofaryngeální karcinomy (OFK) se podílejí na 3–5 % malignit v Evropě [1]. Výskyt nádorů hlavy a krku má všeobecně mírně klesající charakter, pravděpodobně díky klesající prevalenci kouření. Tento trend ale neplatí pro OFK, jejichž incidence naopak významně vzrůstá. V ČR počet nově diagnostikovaných nádorů orofaryngu během posledních 30 let narostl trojnásobně, v posledních letech dosáhla incidence tohoto onemocnění u nás 5–7 případů/100 000 obyvatel za rok [2].

Vedle skupiny OFK nádorů souvisejících etiopatogeneticky se známými tradičními faktory, jako je expozice tabáku a alkoholu, se vyčleňuje skupina nádorů asociovaných s lidskými papilomaviry (human papillomavirus – HPV) [3]. Tato se v současnosti považuje za zcela samostatnou jednotku s odlišnou etiopatogenezí, epidemiologií i biologickým chováním [4]. Odlišnost obou skupin je natolik klinicky významná, že HPV se v současné době akceptuje jako první prognostický nádorový marker u nádorů hlavy a krku, resp. OFK. Přestože současné léčebné standardy v ČR zatím HPV status nezohledňují ve smyslu deescalace léčby, je tento parametr zařazen do oficiální klasifikace nádorů v poslední revizi TNM [5].

Tab. 1. Charakteristiky pacientů zařazených do studie s dělením dle HPV statusu.

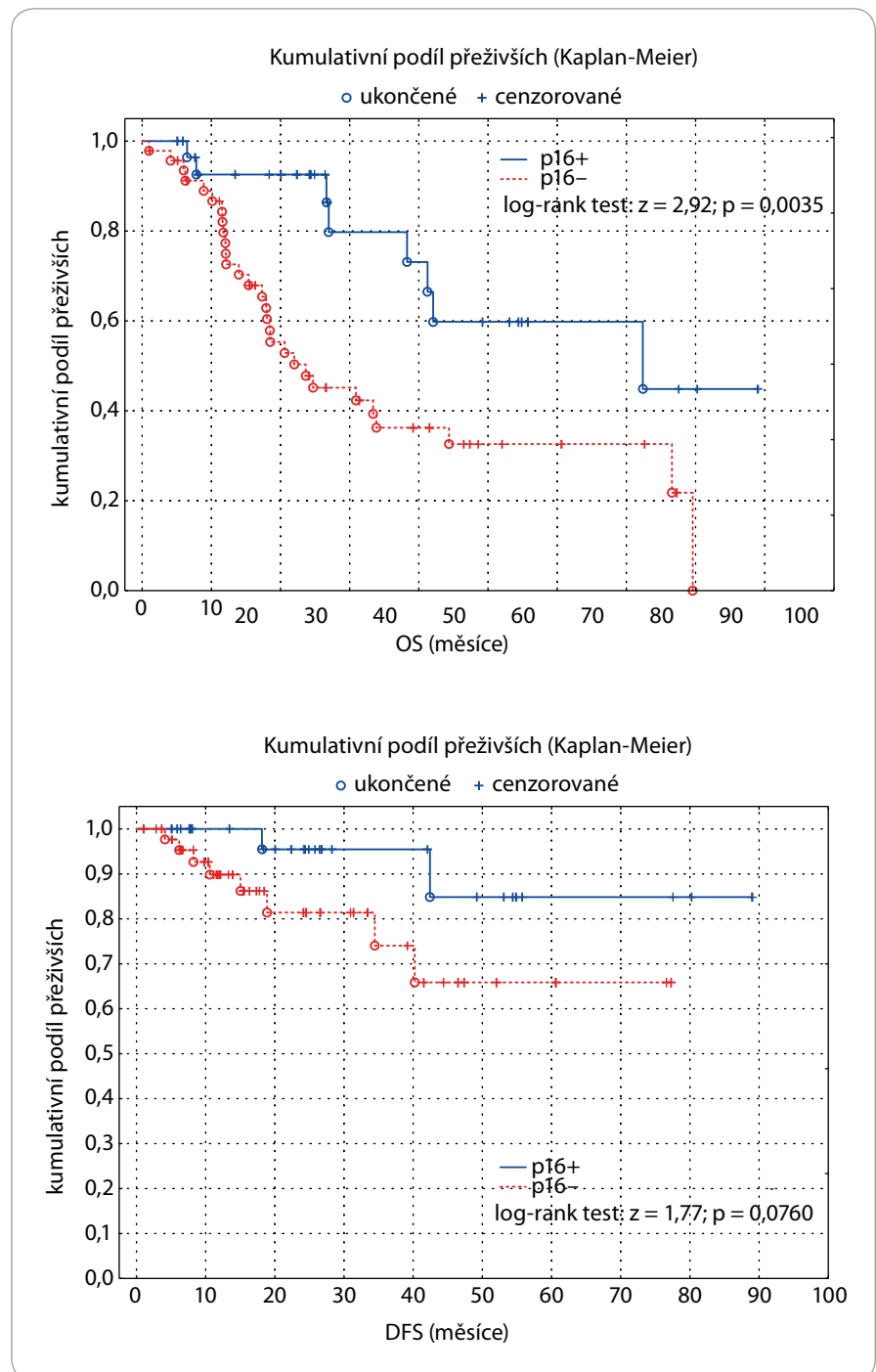
Charakteristiky			p16 (HPV) pozitivní	p16 (HPV) negativní
Počet pacientů	celkem	77	30 (39 %)	47 (61 %)
Věk	medián	57	59	57
	rozpětí	40–78	40–77	43–78
Pohlaví	muž	59 (77 %)	22 (73 %)	37 (79 %)
	žena	18 (23 %)	8 (27 %)	10 (21 %)
Kouření (20 chybějících dat)	nekuřák	9 (16 %)	6 (33 %)	3 (8 %)
	bývalý kuřák	15 (26 %)	5 (28 %)	10 (25 %)
	současný kuřák	33 (58 %)	7 (39 %)	26 (67 %)
T	T1	3	2	1
	T2	9	4	5
	T3	10	1	9
	T4	55	23	32
N	N0	9 (12 %)	2 (7 %)	7 (15 %)
	N+	68 (88 %)	28 (93 %)	40 (85 %)
Léčba	chemoradioterapie	32 (42 %)	19 (63 %)	13 (28 %)
	radioterapie	30 (39 %)	5 (17 %)	25 (53 %)
	radioterapie + biologická léčba	15 (19 %)	6 (20 %)	9 (19 %)
P53	+	30 (39 %)	6 (20 %)	24 (51 %)
	–	47 (61 %)	24 (80 %)	23 (49 %)
Remise	ano	58 (75 %)	27 (90 %)	31 (66 %)
Rekurence	ano	10 (13 %)	2 (7 %)	8 (17 %)

HPV – lidský papilomavirus

Soubor pacientů

Do retrospektivní analýzy bylo zařazeno celkem 77 nemocných s pokročilou formou OFK (stadium III + IV), kteří byli léčeni nechirurgicky v letech 2007–2013 (v Masarykově onkologickém ústavu) a následně sledováni na jednom pracovišti (Klinika otorinolaryngologie a chirurgie hlavy a krku FN u sv. Anny v Brně) dle protokolu pracoviště (tab. 1). Aplikovány byly tři léčebné modality ve vícero schématech – konkomitanti chemoradioterapie (CHRT), radioterapie s biologickou léčbou a samostatná radioterapie (RT). Aplikovaná dávka RT na oblast primárního tumoru a spádových lymfatických uzlin byla v kurativní dávce 70 Gy nebo biologicky ekvivalentní (dávka nižší než 68 Gy byla aplikována z důvodu toxicity u 15 pacientů). Při konkomitanti CHRT byla současně s RT aplikována chemoterapie (cisplatina 40 mg/m² týdně, s mediánem 3 série) nebo ve skupině s biologickou léčbou byla RT potencována monoklonální protilátkou cetuximabem (v nasycovací dávce 400 mg/m² a poté v týdenním podání 250 mg/m²). V prvních sledovaných letech byla u tří pacientů dle aktuálních protokolů aplikovaná i neoadjuvantní chemoterapie před vlastní RT nebo CHRT u tří pacientů. Indikace monomodální RT léčby se pro pokročilé tumory OFK jeví podle všeobecně akceptovaných léčebných protokolů (National Comprehensive Cancer Network, European Society for Medical Oncology) jako nedostačující, byla ale aplikována pouze v případech, kdy nebyla z důvodu špatného performance statusu pacientů přijatelná možnost vícemodální léčby. Pro účely naší retrospektivní analýzy srovnávající efekt jednotlivých léčebných modalit bylo ale zařazení tohoto typu léčby přínosné.

Analýza vzorků OFK od všech pacientů proběhla retrospektivně, ze vzorků získaných při verifikaci z biopsie nádoru před zahájením léčby. Pacienti byli sledováni dle protokolu našeho pracoviště – pravidelná otorinolaryngologická (ORL) vyšetření v 1. roce po ukončení léčby v měsíčních intervalech, ve 2. roce ve dvouměsíčních, ve 3. roce v tříměsíčních intervalech, následně v půlročních odstupech. Počítačová tomografie (computed tomography – CT) nebo

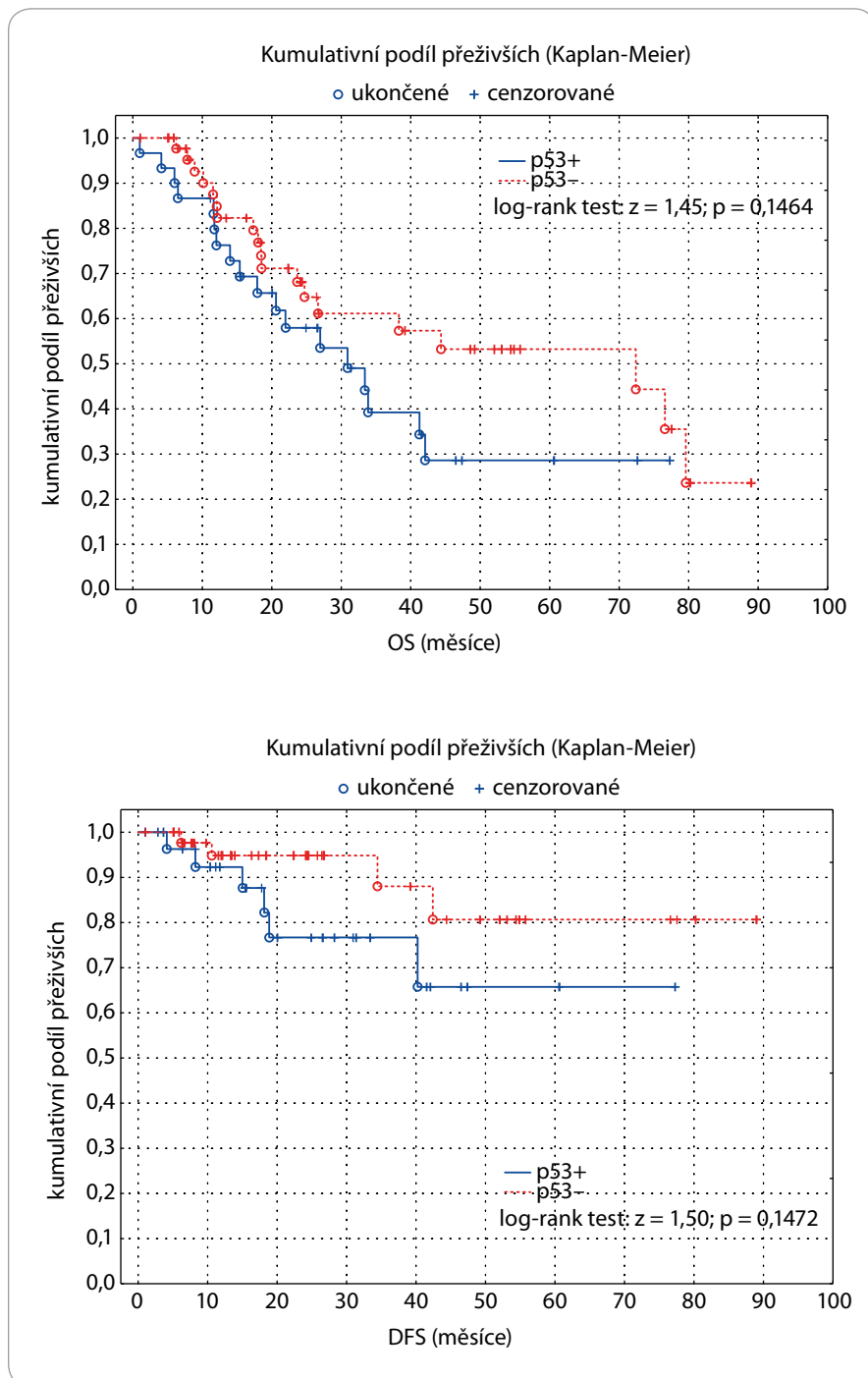


Graf 1, 2. Kaplan-Meierův odhad funkce přežití pro dvě skupiny pacientů rozlišených podle statusu p16.

OS – celkové přežití, DFS – přežití bez nemoci

pozitronová emisní tomografie/počítačová tomografie (PET/CT) byla provedena v intervalu 2–3 měsíců od ukončení léčby a dále dle klinické indikace. Komplettní remise byla hodnocena jako negativní nález při ORL vyšetření s negativním nálezem na CT nebo PET/CT.

Všechny ostatní případy byly hodnoceny jako perzistence nemoci po léčbě. V případech komplettní remise byla rekurence nemoci charakterizována přítomností známek onemocnění při ORL vyšetření s histologickou verifikací, příp. při zobrazovací metodě, byla-li indikována.



Graf 3, 4. Kaplan-Meierův odhad funkce přežití pro dvě skupiny pacientů rozlišených podle statusu p53.

OS – celkové přežití, DFS – přežití bez nemoci

Metody

Imunohistochemické vyšetření p16 a p53

Tkáňe byly fixovány v 10% pufovaném formalinu, konvenčním způsobem zpracovány a zality do parafínu. Tkáňové řezy tloušťky 3 μ m byly umístěny na podložní

sklo a nechány schnout v termostatu při teplotě 56 °C přes noc. Poté byly deparafinizovány xylenem a rehydratovány alkoholem.

Revitalizace antigenů byla provedena pomocí tlakové komory Pascal (Dako, Dánsko) v pufru pH9 po dobu 40 min

při teplotě 117 °C. Aktivita endogenní peroxidázy byla blokována pomocí 3% vodného roztoku peroxidu vodíku 15 min.

Pro hodnocení p16 byla jako primární použita myší monoklonální protilátka CINtec® p16 Histology, klon E6H4 (Ventana Medical Systems, Inc., USA), detekce byla prováděna detekčním kitem Envision™ Detection Systems Peroxidase/DAB Mouse (Dako, Dánsko). Imunoreakce byla vizualizována pomocí diaminobenzidinu (DAB) (Dako, Dánsko). Jako pozitivní kontrola byl užít metaplastický dlaždicový epitel děložního hrdla s těžkou dysplázií. Jako pozitivní bylo hodnoceno hnědé zbarvení jader, popř. jader a cytoplazmy nádorových buněk, byla posuzována intenzita zbarvení ve škále +, ++ a +++ pro nejintenzivnější zbarvení a semikvantitativně bylo odhadnuto procento pozitivních buněk. Jako p16 pozitivní dlaždicový karcinom byl klasifikován nádor s více než 70% zastoupením pozitivních jader, popř. jader a cytoplazmy.

Pro hodnocení p53 byla jako primární použita myší monoklonální protilátka p53 Protein, klon DO-7 (Leica Biosystems Newcastle Ltd, Newcastle Upon Tyne, UK), v ředění 1 : 2 000, a detekce byla provedena detekčním kitem Vectastain Elite ABC Kit (Mouse IgG), (Vector Laboratories Ltd., UK). Imunoreakce byla vizualizována pomocí DAB (Dako, Dánsko). Jako pozitivní kontrola byl užít dlaždicový karcinom se známou expresí p53. Jako pozitivní bylo hodnoceno hnědé zbarvení jader nádorových buněk, byla posuzována intenzita zbarvení ve škále +, ++ a +++ pro nejintenzivnější zbarvení a semikvantitativně odhadnuto procento pozitivních buněk. Jako p53 pozitivní dlaždicový karcinom byl klasifikován nádor s více než 10% zastoupením pozitivních jader.

Statistická analýza

Data byla analyzována pomocí Kaplanovy-Meierovy metody, která poskytla odhad funkce přežití. Pro ověření shody přežití v různých skupinách pacientů byly použity tyto testy: log-rank test, Gehanův-Wilcoxonův test a chí-kvadrát test. Dále byl pomocí zpětné krokové metody vybudován Coxův regresní

model proporcionálních rizik, který mj. poskytl odhad poměru rizik společně s 95% intervaly spolehlivosti.

Hladina významnosti pro všechny testy byla zvolena $\alpha = 0,05$. S touto hladinou byla vždy porovnávána vypočtená p-hodnota příslušného testu. Pokud bylo $p \leq \alpha$, nulová hypotéza byla zamítnuta na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Tabulkové a grafické zpracování dat bylo provedeno pomocí statistického softwaru StatSoft, Inc. (2013), STATISTICA (data analysis software system, version 12, www.statsoft.com).

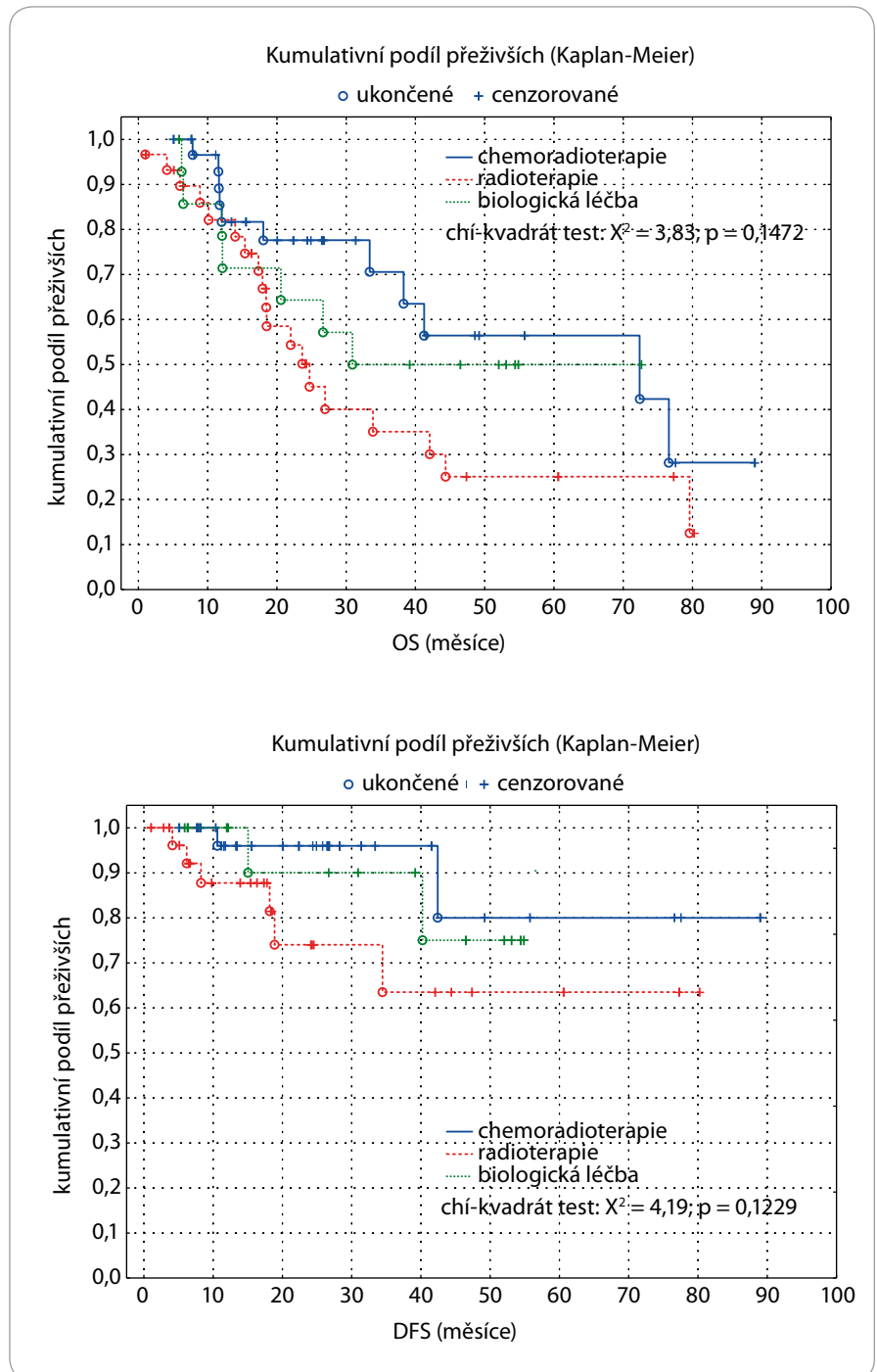
Výsledky

Hlavním cílem bylo sledování prognózy OFK v závislosti na HPV statusu s přihlédnutím k závislosti na léčebné modalitě. V nechirurgicky léčené skupině jsme hodnotili léčebnou odezvu. Kompletní remise dosáhlo nejvíce pacientů léčebných CHRT (91 %), dále RT v kombinaci s biologickou léčbou (RT + BIO) (60 %) a RT (66 %). Celkové 5leté přežití (overall survival – OS) souboru činilo 38 %. Srovnání pacientů dle pohlaví ukázalo lepší prognózu pro ženy ($p = 0,0169$). OS i interval bez recidivy byly statisticky signifikantně lepší u pacientů s HPV pozitivními (HPV+) nádory ve srovnání s pacienty s nádory HPV negativními (HPV–) ($z = 2,92$; $p = 0,0035$) (graf 1, 2). HPV se ukazuje jako nejsilnější prediktor OS při hodnocení Coxovou regresní analýzou (poměr rizik 2,99; $p = 0,0115$).

V našem souboru se potvrdil i význam prognostického parametru p53, jehož zvýšenou expresi jsme zaznamenali významně vyšší u HPV– OFK. Ve srovnání p53+ proti p53– je patrný trend rozdílné prognózy onemocnění, asociace p53 s horší lokální kontrolou onemocnění i OS, ovšem nikoliv statisticky významné ($p = 0,147$; $p = 0,146$) (graf 3, 4).

Při srovnání léčebných modalit je zjevný, ovšem statisticky nesignifikantní rozdíl OS a délky remise onemocnění, ve srovnání CHRT, RT a biologická léčba ($p = 0,147$; $p = 0,123$) hovořící ve prospěch CHRT v obou parametrech (graf 5, 6).

Při srovnání jednotlivých terapeutických skupin v rámci HPV+ a HPV– byla potvrzena větší průkaznost tohoto trendu, i když skupina léčená biologickou léčbou je málo početná ($p = 0,062$ pro sku-



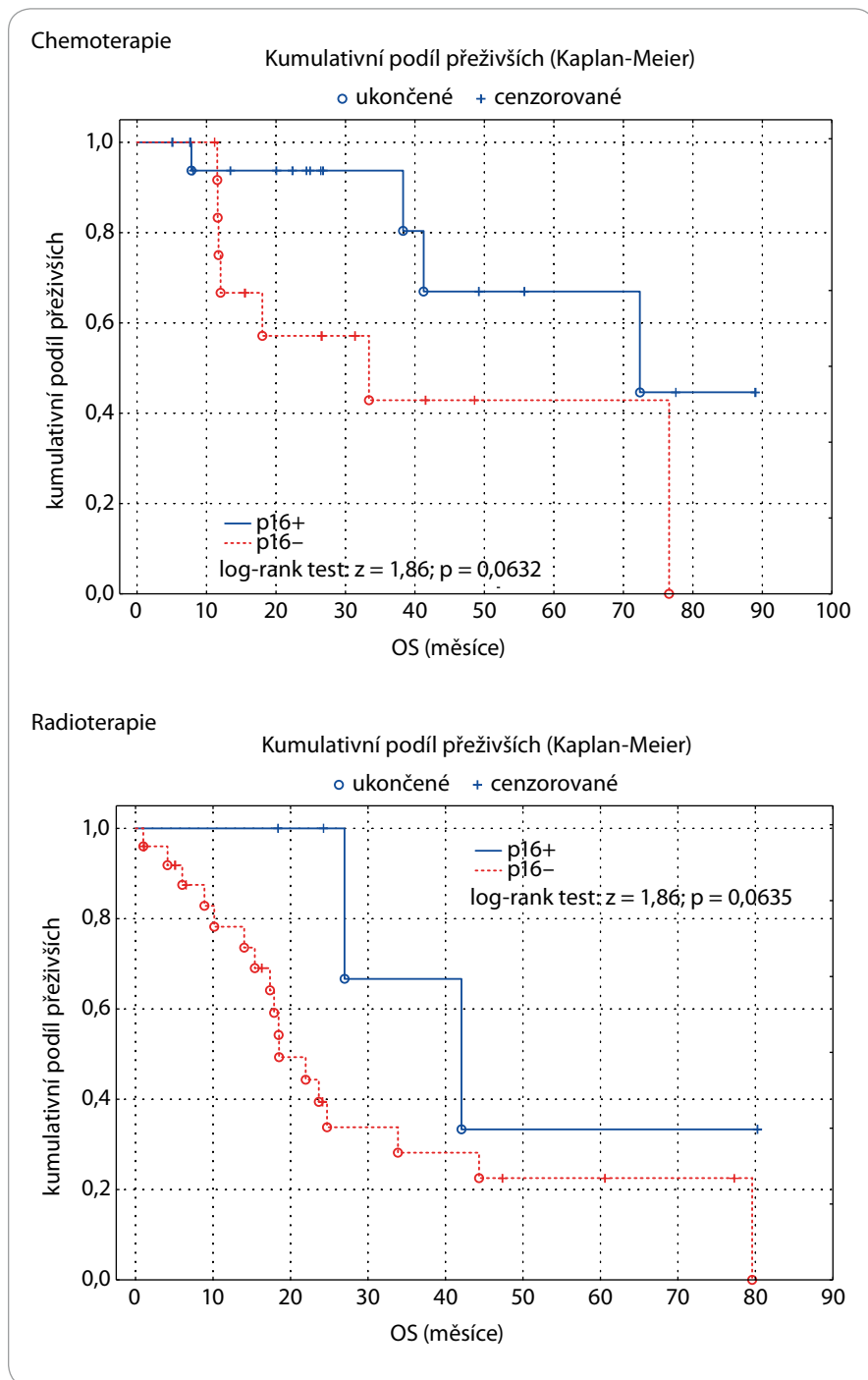
Graf 5, 6. Kaplan-Meierův odhad funkce přežití pro tři skupiny pacientů rozlišených podle způsobu léčby.

OS – celkové přežití, DFS – přežití bez nemoci

pinu CHRT a $p = 0,064$ pro léčbu RT, $p = 0,606$ pro biologickou léčbu) (graf 7, 8).

Při hodnocení negativního dopadu abúzu kouření a alkoholu, při vzájemném srovnání skupin kuřáků proti nekuřákům a abstinentů, resp. příležitostných konzumentů alkoholu proti pravidel-

ným konzumentům (denně) byl patrný významný rozdíl OS pro celý soubor pacientů bez ohledu na p16 status. Hodnoceno bylo 57 pacientů, u 20 údaj o kouření nebyl zjistitelný ($p = 0,0530$ pro kouření a $p = 0,0151$ pro alkohol) (graf 9, 10).



Graf 7, 8. Kaplan-Meierův odhad funkce přežití pro dvě skupiny pacientů rozlišených podle p16 a způsobu léčby.
OS – celkové přežití

Vliv kouření byl patrný u souboru p16– nádorů ($p = 0,0485$) (graf 11). Signifikantní rozdíl jsme zaznamenali při rozdělení skupin s ohledem na p16 status i kouření, kdy se bere v potaz samostatná prognosticky odlišná skupina p16+ kuřáků, tj. srovnání p16–, p16+ ku-

řáci, p16+ nekuřáci, kdy byla staticky významně potvrzena prognostická odlišnost skupin ($p = 0,0185$) (graf 12). Pomocí logistické Coxovy analýzy byl vyhodnocen status p16, pokročilost nádoru T a kouření jako faktory významně ovlivňující přežívání pacientů (poměr

rizik 2,99; 2,18; 1,74; $p = 0,0115; 0,0604; 0,135$) (tab. 2).

Diskuze

Lidský papilomavirus byl poprvé identifikován v roce 1949 [6], v etiopatogenezi OFK se uplatňují především typy 16 a 33, nejrozšířenější je jednoznačně HPV 16. Perzistence HPV infekce představuje významně vyšší riziko vzniku karcinomu. Změny regulačních proteinů buněčného cyklu p53 a Rb proteinu vedou ke zvýšené expresi p16 proteinu, jehož imunohistochemickou detekci tak lze využít jako nepřímý marker infekce vysoce rizikovými kmeny HPV.

Retrospektivní analýzy potvrzují tento trend vzestupné incidence HPV asociace s OFK i prevalence HPV perzistující infekce orofaryngu jako rizikového faktoru [7].

V posledních desetiletích současně s incidencí OFK narůstá podobným způsobem i prevalence HPV v OFK; jejich asociace s HPV je udávána u OFK v širokém rozmezí asi 45–95 % OFK [8,9]. V našem souboru 77 pacientů byla necelá polovina nádorů (39 %) asociovaná s infekcí HPV.

Jednou z nejrozšířenějších metod ke stanovení HPV u pacientů s OFK je imunohistochemická detekce proteinu p16, jenž je za normálních podmínek detekovatelný jen v nevýznamné míře [10]. Protein p16 je vysoce senzitivním, ale nikoliv zcela specifickým ukazatelem aktivní replikace HR HPV. I když je p16 exprese zařazena do poslední verze TNM klasifikace pro OFK nádory jako dostatečný marker, pro účely studií je stále vhodné používat detekci HPV RNA či pozitivitu na expresi p16 a zároveň přítomnost HPV DNA [5].

Pro zvýšení specifity se toto vyšetření v praxi často kombinuje s průkazem dalších markerů, např. p53 [11].

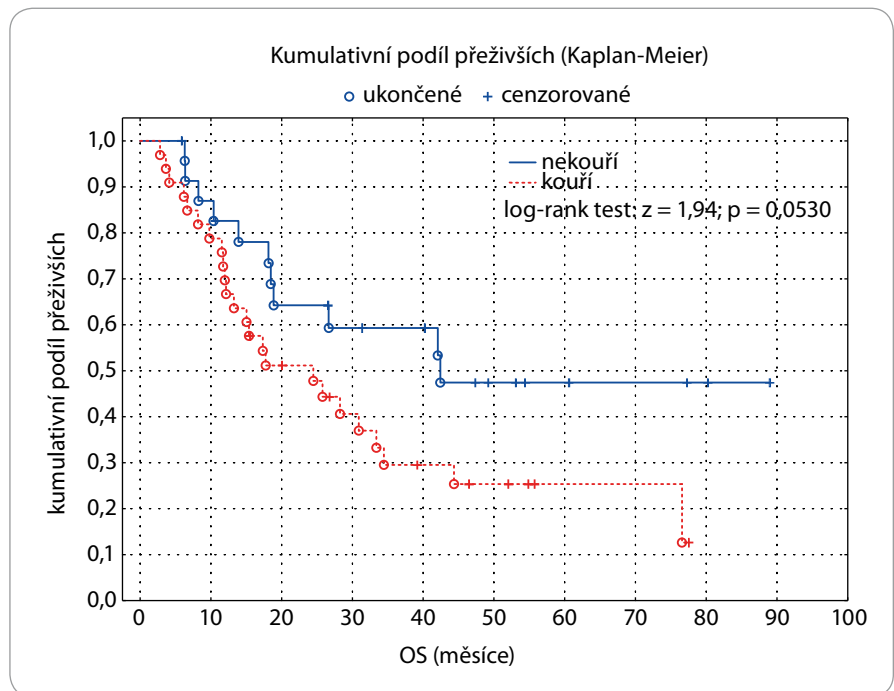
Dostatečnosti imunohistochemického stanovení p16 jako orientačního markeru diagnostiky se věnovalo vícero autorů a bylo potvrzeno i na prospektivní analýze souboru více než 400 pacientů [12]. Přestože nelze stavět imunohistochemické vyšetření p16 na úroveň samotné detekce HPV DNA a nesmí se opomíjet existence malé skupiny pacientů p16 pozitivních a HPV negativních, je přesto toto

vyšetření považováno v klinické praxi za vhodné, rutinně aplikovatelné, kompromisní a cenově dostupné [13]. Vyšetření p16 jsme využili i při hodnocení našeho souboru pacientů.

Podskupina HPV+ nemocných je odlišná nejen etiopatogeneticky, epidemiologicky, ale i klinicky od HPV-. Nemocní jsou většinou v lepším celkovém zdravotním stavu [14], histopatologicky bývají HPV+ OFK níže diferencované, nekeratinizující, typický je bazaloidní typ [15]. Nádory se typicky diagnostikují až ve stadiu pokročilého onemocnění, zejm. kvůli charakteristické přítomnosti krčních uzlinových metastáz, často cystických, v době diagnostiky i při poměrně malém primárním nádoru (T1–T2) [16]. I v našem souboru je patrná odlišnost pacientů, vyšší podíl nekuřáků, poměrně vyšší zastoupení žen i vyšší výskyt uzlinových metastáz. Prognosticky, jak bylo výše zmíněno, HPV+ OFK převyšují HPV- nádory nezávisle na věku, pohlaví, stadiu, diferenciaci [3]. U těchto nádorů je menší prognostický význam uzlinových metastáz, který je jinak považován za jeden z nejvýznamnějších negativních prognostických faktorů zhoršující OS [17]. Někteří tuto skutečnost přičítají statisticky významně nižší expozici tabáku, alkoholu a kouření a lepšímu celkovému stavu s relativně vyšším performance statusem ve skupině HPV asociovaných tumorů. Na našem souboru byl rozdíl 5letého OS pro HPV+ 60 vs. 32 % u HPV- OFK. Většinou se ale spojuje s vyšší radio- a chemosenzitivitou těchto tumorů, která je vysvětlována alespoň částečně funkčním p53 zajišťujícím apoptózu a minimalizující chromozomální aberace [18], resp. imunologickými faktory souvisejícími s HPV infekcí [19].

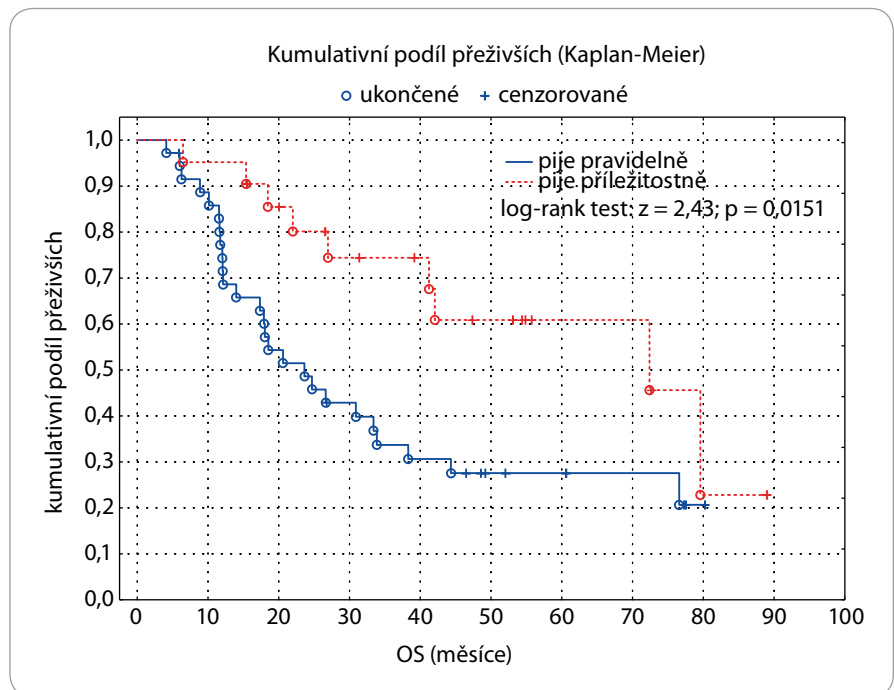
I v našem souboru se jednoznačně potvrdil prognostický rozdíl ve sledovaných parametrech celkového přežití i lokální kontroly, jak jsme předpokládali, s jednoznačně lepšími výsledky pro HPV+ nádory.

I když je stále nejasné, zda je kouření rizikovým faktorem pro indukci HPV+ OFK [20,21], má pro ně negativní prognostický význam [22], což bylo potvrzeno i v našem souboru, kde se i v rámci skupiny HPV asociovaných nádorů jednoznačně projevil vliv abúzu tabáku na



Graf 9. Kaplan-Meierův odhad funkce přežití pro dvě skupiny pacientů rozlišených podle kouření.

OS – celkové přežití

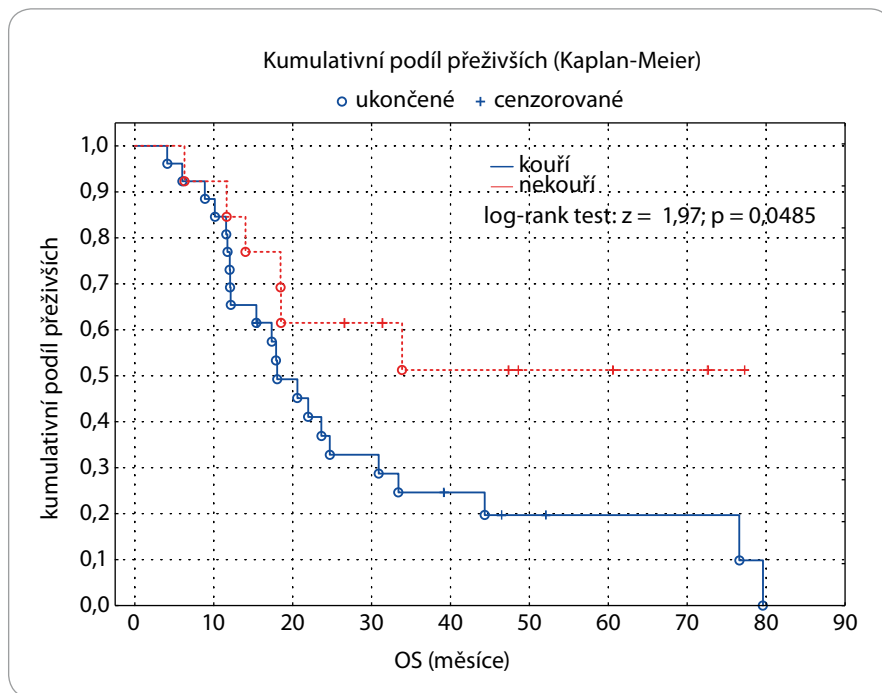


Graf 10. Kaplan-Meierův odhad funkce přežití pro dvě skupiny pacientů rozlišených podle konzumace alkoholu.

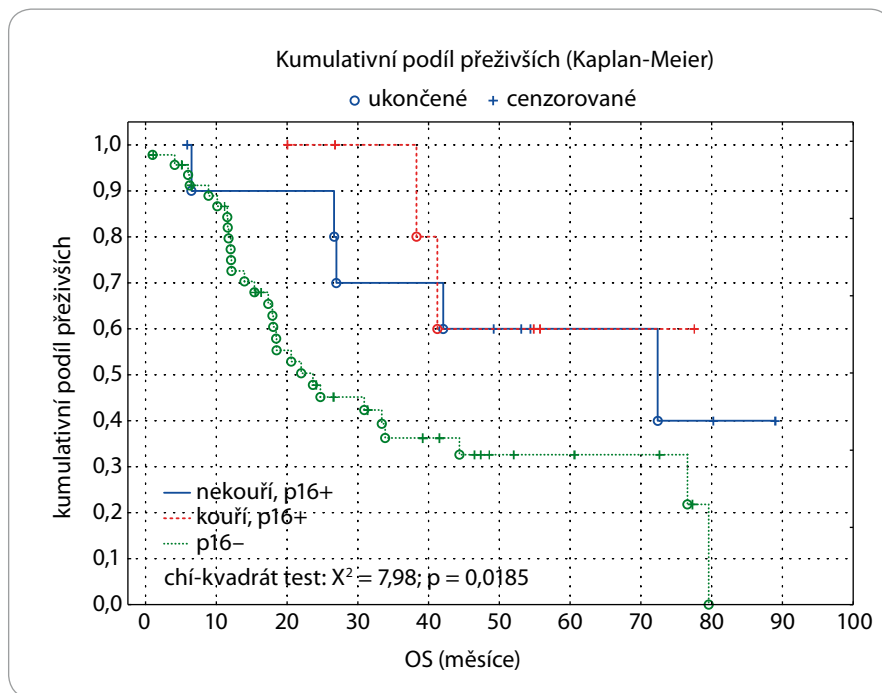
OS – celkové přežití

negativní prognózu. Význam HPV převyšuje vliv kouření, ale významně horší je prognóza kuřáků v rámci skupiny HPV+ pacientů proti nekuřákům.

Stratifikovat pacienty s OFK lze do 3 skupin podle rizika – nízké (HPV+ nekuřáci), střední (HPV+ kuřáci) a vysoké (HPV-) [22,23].



Graf 11. Kaplan-Meierův odhad funkce přežití pro dvě skupiny pacientů se statusem p16– rozlišených podle kouření.
OS – celkové přežití



Graf 12. Kaplan-Meierův odhad funkce přežití pro tři skupiny pacientů: p16+ nekouří, p16+ kouří, p16–.
OS – celkové přežití

Při popsané prognostické výhodě HPV+ OFK se nabízí možnost deeskalace terapie u HPV asociovaných prognosticky příznivějších nádorů s cílem sní-

žit toxicitu při zachování výsledků léčby a lokální kontroly. Prospektivně se testují ve studiích různé cesty deeskalace léčby (redukce dávky RT či ozařovaného ob-

jemu, redukce chemoterapeutika nebo adjuvantní RT) [24,25]. Jednoznačnou prognostickou výhodu HPV+ OFK napříč terapeutickými modalitami potvrdila rozsáhlá metaanalýza zahrnující přes 5 600 pacientů [26].

V recentní retrospektivní studii z jednoho pracoviště hodnotícího efektivitu léčby se pro HPV asociované OFK potvrdil, v souladu s podobnými studiemi, i rozdíl v odpovědi na podávanou systémovou léčbu, se signifikantně horšími výsledky cetuximabu proti tradiční chemoterapii na bázi platiny. Ani v našem souboru se benefit z navýšení RT o biologickou léčbu nepotvrdil.

V rámci našeho souboru se sice potvrdil signifikantní vliv HPV asociace na prognózu, stejně jako vyšší účinnosti multimodální terapie, optimálně CHRT, proti pouhé RT, ovšem zásadní rozdíl se v rámci souborů HPV+ a HPV– samostatně nepotvrdil; vysvětlením může být nízká četnost pacientů v jednotlivých skupinách při relativní heterogenitě aplikované léčby (RT, CHRT, RT + BIO).

Popsána je p53 overexprese, která koreluje s jeho mutací, hojná u spinocelulárních karcinomů hlavy a krku; i když výsledky jednotlivých studií nejsou zcela jednoznačné vzhledem k heterogenitě souborů. Proto je z tohoto parametru jen obtížné vyvozovat klinické dopady jakožto využitelný biologický parametr nádoru [27].

Většinou se potvrdila záporná korelace mutace p53 s HPV asociací, tj. mutace u HPV+ nádorů je považována za vzácnou, na rozdíl od HPV– nádorů [28].

I v našem souboru se potvrdila záporná korelace exprese p53 s HPV statusem a prognostický rozdíl mezi skupinami p53+ a p53–.

Snaha o implementaci získaných poznatků a projekci do běžné praxe v budoucnu by měla navazovat na změnu klasifikace systému. Aspekt HPV etiologie se zařadil vedle morfologických charakteristik nádoru jako další faktor rozhodující o jeho klasifikaci. Tento fakt reflektuje 8. edice American Joint Committee on Cancer TNM, jejíž česká verze vyšla v roce 2017 [5,29,30].

Masivní nárůst výskytu OFK indukovaných HPV infekcí v posledních dvou dekadách je alarmující. Vzhledem k tomu,

že HPV 16 je odpovědná až za 94 % HPV+ OFK, dá se předpokládat, že je vakcinace vysoce účinná i v prevenci OFK, při vakcinaci jak dívek, tak chlapců.

Závěr

V současnosti se již jednoznačně považují HPV asociované nádory za svébytnou, etiopatogeneticky, epidemiologicky i klinicky odlišnou jednotku v souboru všech OFK s prudce stoupající incidencí v posledních desetiletích. HPV asociace je jednoznačně považována za prognosticky pozitivní parametr.

Rutiní testování všech vzorků OFK na HPV při verifikaci nádorového onemocnění by mělo být v dnešní době již standardem. V aktuální verzi TNM 8 je HPV status již součástí kompletní rutinní histopatologické diagnostiky. Kromě morfologicko-anatomických parametrů je zásadním faktorem určujícím prognózu onemocnění a v budoucnu nejspíše i faktorem důležitým při léčebné stratifikaci. Ke zvažované deeskalaci léčby HPV+ pacientů bude možné přistoupit až na základě výsledků rozsáhlých randomizovaných studií, které v současnosti probíhají. Specifikaci konkrétního schématu deeskalace, resp. výběr modalit léčby, pro kterou je rozdílnost léčebných výsledků nejvýraznější a která by naznačila optimální cestu deeskalace, se dosud nepodařilo jednoznačně objektivizovat.

Literatura

1. Chaturvedi AK, Anderson WF, Lortet-Tieulent J et al. Worldwide trends in incidence rates for oral cavity and oropharyngeal cancers. *J Clin Oncol*; 31(36): 4550–4559. doi: 10.1200/JCO.2013.50.3870.
2. Dušek L, Mužík J, Kubásek M et al. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice. [online]. Dostupné z: <http://www.svod.cz/analize>.
3. Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *J Clin Oncol* 2011; 29(32): 4294–4301. doi:10.1200/JCO.2011.36.4596.
4. Fakhry C, Gillison ML. Clinical implications of human papillomavirus in head and neck cancers. *J Clin Oncol* 2006; 24(17): 2606–2611. doi: 10.1200/JCO.2006.06.1291.
5. TNM Klasifikace zhoubných novotvarů. 8. vyd. Česká republika 2018.
6. Parkin DM, Bray F, Ferlay J et al. Global cancer statistics 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55(2): 74–108.
7. Smith E, Justine M, Ritchie et al. Human papillomavirus in oral exfoliated cells and risk of head and neck cancer head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96(6): 449–455. doi: 10.1093/jnci/djh074.
8. Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *J Clin Oncol* 2011; 29(32): 4294–301. doi: 10.1200/JCO.2011.36.4596.

Tab 2. Coxův regresní model proporcionálních rizik.

Tab. 2A. Přehled proměnných vstupujících do modelu.

Proměnná	Typ proměnné	Kategorie proměnné
Pohlaví	binární	0 = žena 1 = muž
p16	binární	0 = HPV pozitivní 1 = HPV negativní
p53	binární	0 = p53+ 1 = p53–
T status	binární	0 = T1, T2, T3 1 = T4
N status	binární	0 = N0, N1 1 = N2, N3
Terapie	nominální	1 = chemoradioterapie 2 = radioterapie 3 = biologická léčba
Kouření	binární	0 = bývalý kuřák či nekuřák 1 = kuřák
Alkohol	binární	0 = pije příležitostně 1 = pije pravidelně
Věk	spojitá	–

HPV – lidský papilomavirus, T status – status tumoru, N status – status uzlin

Tab. 2B. Výsledky Coxova modelu získané zpětnou krokovou metodou.

Proměnná	Ref. kategorie	Úroveň efektu	Odhad parametru	χ^2	p-hodnota	Poměr rizik
p16 (X1)	p16+	p16–	1,0965	6,39	0,0115	2,99
T status (X2)	T1, T2, T3	T4	0,7778	3,52	0,0604	2,18
kouření (X3)	nekouří	kouří	0,5540	2,24	0,1347	1,74

T status – status tumoru

Tab. 2C. Meze 95% intervalů spolehlivosti pro poměr rizik.

Proměnná	Dolní mez	Horní mez
p16	1,28	7,01
T status	0,97	4,90
kouření	0,84	3,60

T status – status tumoru

9. Hammarstedt L, Lindquist D, Dahlstrand H et al. Human papillomavirus as a risk factor for the increase in incidence of tonsillar cancer. *Int J Cancer* 2006; 119(11): 2620–2623. doi: 10.1002/ijc.22177.
10. Ernster JA, Sciutto CG, O'Brien MM et al. Rising incidence of oropharyngeal cancer and the role of oncogenic human papilloma virus. *Laryngoscope* 2007; 117(12): 2115–2128. doi: 10.1097/MLG.0b013e31813e5fbb.

11. Rotnáglová E, Tachezy R, Saláková M et al. HPV involvement in tonsillar cancer: prognostic significance and clinically relevant markers. *Int J Cancer* 2011; 129(1): 101–110. doi: 10.1002/ijc.25889.
12. Golusiński P, Pazdrowski J, Szewczyk M et al. Is immunohistochemical evaluation of p16 in oropharyngeal cancer enough to predict the HPV positivity? *Rep Pract Oncol Radiother* 2017; 22(3): 237–242. doi: 10.1016/j.rpor.2017.01.003.

13. Rischin D, Young RJ, Fischer R et al. Prognostic significance of p16INK4A and human papillomavirus in patients with oropharyngeal cancer treated on TROG 02.02 phase III trial. *J Clin Oncol* 2010; 28(27): 4142–4148. doi: 10.1200/JCO.2010.29.2904.
14. Chaturvedi AK, Engels EA, Anderson WF et al. Incidence trends for human papillomavirus-related and -unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. *J Clin Oncol* 2008; 26(4): 612–619. doi: 10.1200/JCO.2007.14.1713.
15. Wilczynski SP, Lin BT, Xie Y et al. Detection of human papillomavirus DNA and oncoprotein overexpression are associated with distinct morphological patterns of tonsillar squamous cell carcinoma. *Am J Pathol* 1998; 152(1): 145–156.
16. Pytynia K, Dahlstrom KR, Sturgis EM. Epidemiology of HPV-associated oropharyngeal cancer. *Oral Oncol* 2014; 50(5): 380–386. doi: 10.1016/j.oraloncology.2013.12.019.
17. Ang KK, Harris J, Wheeler R et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med* 2010; 363(1): 24–35. doi: 10.1056/NEJMoa0912217.
18. Dai M, Clifford GM, Le Calvez F et al. Human papillomavirus type 16 and TP53 mutation in oral cancer: matched analysis of the IARC multicenter study. *Cancer Res* 2004; 64(2): 468–471.
19. Spanos WC, Nowicki P, Lee DW et al. Immune response during therapy with cisplatin or radiation for human papillomavirus-related head and neck cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2009; 135(11): 1137–1146. doi: 10.1001/archoto.2009.159.
20. Gillison ML, D'Souza G, Westra W et al. 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(6): 407–420. doi: 10.1093/jnci/djn025.
21. Smith EM, Rubenstein LM, Haugen TH et al. Tobacco and alcohol use increases the risk of both HPV-associated and HPV-independent head and neck cancers. *Cancer Causes Control* 2010; 21(9): 1369–1378. doi: 10.1007/s10552-010-9564-z.
22. Hafkamp HC, Manni JJ, Haesevoets A et al. Marked differences in survival rate between smokers and non-smokers with HPV 16-associated tonsillar carcinomas. *Int J Cancer* 2008; 122(12): 2656–2664. doi: 10.1002/ijc.23458.
23. Maxwell JH, Kumar B, Feng FY. Tobacco use in HPV-positive advanced oropharynx cancer patients related to increased risk of distant metastases and tumor recurrence. *Clin Cancer Res* 2010; 16(4): 1226–1235.
24. Mirghani H, Blanchard P. Treatment de-escalation for HPV-driven oropharyngeal cancer: Where do we stand? *Clin Transl Radiat Oncol* 2017; 8: 4–11. doi: 10.1016/j.ctro.2017.10.005.
25. Orlandi E, Licitra L. Personalized medicine and the contradictions and limits of first-generation deescalation trials in patients with human papillomavirus-positive oropharyngeal cancer. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2018; 144(2): 99–100. doi: 10.1001/jamaoto.2017.2308.
26. Masterson L, Moualed D, Masood A et al. De-escalation treatment protocols for human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; (2): CD010271. doi: 10.1002/14651858.CD010271.pub2.
27. Tandon S, Tudur-Smith C, Riley RD et al. A systematic review of p53 as a prognostic factor of survival in squamous cell carcinoma of the four main anatomical subsites of the head and neck. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19(2): 574–587. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0981.
28. Maruyama H, Yasui T, Ishikawa-Fujiwara T et al. Human papillomavirus and p53 mutations in head and neck squamous cell carcinoma among Japanese population. *Cancer Sci* 2014; 105(4): 409–417. doi: 10.1111/cas.12369.
29. Wittekindt C, Klusmann JP. Tumor staging and HPV-related oropharyngeal cancer. *Recent Results Cancer Res* 2017; 206: 123–133. doi: 10.1007/978-3-319-43580-0_9.
30. Horne ZD, Glaser SM, Vargo JA et al. Confirmation of proposed human papillomavirus risk-adapted staging according to AJCC/UICC/TNM criteria for positive oropharyngeal carcinomas. *Cancer* 2016; 122(13): 2021–2030. doi: 10.1002/cncr.30021.