

ULOGA HUMANOG PAPILOMA VIRUSA U RAZVOJU RAKA GLAVE I VRATA

Beć, Ivana

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:715479>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-30**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI

SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Ivana Beć

ULOGA HUMANOG PAPILOMA VIRUSA U RAZVOJU RAKA GLAVE I VRATA

Diplomski rad

Rijeka, 2017.

SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI

SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Ivana Beć

ULOGA HUMANOG PAPILOMA VIRUSA U RAZVOJU RAKA GLAVE I VRATA

Diplomski rad

Rijeka, 2017.

Mentor rada: Doc. prim. dr. sc. Milodar Kujundžić, dr. med.

Diplomski rad ocjenjen je dana _____ u/na _____
_____, pred povjerenstvom u sastavu:

1. _____

2. _____

3. _____

Rad sadrži _____ stranica, _____ slika, _____ tablica, _____ literaturnih navoda.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentoru doc. prim. dr. sc. Milodaru Kujundžiću, dr. med. na stručnim savjetima i vodstvu kroz oblikovanje ovog diplomskog rada.

Najveća hvala mojim roditeljima, Ivanu i Gabrijeli, sestri Simoni i braći Filipu i Luki kao i ostatku obitelji na nesebičnoj podršci, ljubavi, motivaciji i vjeri u moj uspjeh.

SADRŽAJ

1.UVOD.....	1
2.SVRHA RADA	3
3.PREGLED LITERATURE NA ZADANU TEMU	4
3.1.Humani papiloma virus	4
3.1.1.Taksonomija	4
3.1.2.Genom HPV-a	4
3.1.3.Klasifikacija HPV-a.....	5
3.1.4.Karcinogeneza	6
3.2.Čimbenici rizika za razvoj HPV uzrokovanih karcinoma glave i vrata	8
3.3.Epidemiologija HPV uzrokovanih karcinoma glave i vrata.....	9
3.3.1.HPV pozitivitet u ne-orofaringealnom dijelu glave i vrata	11
3.3.2.Karakteristike pacijenata sa HPV(+) karcinomom glave i vrata	11
3.4.Dijagnoza HPV-pozitivnog karcinoma glave i vrata.....	12
3.4.1.Kliničke manifestacije i patološki nalaz.....	12
3.4.2.Testovi i metode u detekciji HPV-a	13
3.4.2.1.Lančana reakcija polimeraze	14
3.4.2.2.Metoda hibridizacije	14
3.5.Prevenција – vakcinacija	14
4.RASPRAVA.....	16
5.ZAKLJUČAK.....	17

6.SAŽETAK.....	18
7.SUMMARY	19
8.LITERATURA.....	20
9.ŽIVOTOPIS	25

POPIS KRATICA

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

EBV – engl. *Epstein-Barr virus*

HC – engl. *Hybrid capture*, metoda hibridizacije

HPV – engl. *Human papillomavirus*, humani papiloma virus

ISH – *in situ* hibridizacija

LCR – engl. *Long control region*, dugačka kontrolna regija

RNA – ribonukleinska kiselina

mRNA – engl. *messenger RNA*, glasnička ribonukleinska kiselina

NCR – engl. *Noncoding region*, nekodirajuća regija

ORF – engl. *Open reading frames*, otvoreni okvir čitanja

PCR – engl. *Polymerase chain reaction*, lančana reakcija polimeraze

Rb – engl. *retinoblastoma gene*

URR – engl. *Upstream regulatory region*, uzvodna regulatorna regija

VLP – engl. *virus like particles*, virusu slične čestice

1. UVOD

Sa onkološkog aspekta, područje glave i vrata obuhvaća veliku skupinu tumora koji se protežu od baze lubanje do ključnih kostiju, uključujući tumore usne šupljine, orofarinksa, epifarinksa, hipofarinksa, grkljana, tumore nosa i paranazalnih šupljina te tumore slinovnica. Osim navedenih, strukture koje anatomski pripadaju glavi i vratu, ali funkcionalno čine specifične skupine su uho i oko, te štitnjača i paratireoidne žlijezde. Statistički podaci pokazuju kako incidencija karcinoma glave i vrata u svijetu iznosi više od pola milijuna ljudi godišnje, što iznosi 5% svih zloćudnih bolesti i time su oni peti na ljestvici najučestalijih karcinoma u svijetu. Zastupljenost karcinoma glave i vrata razlikuje se u različitim geografskim područjima. Sjeverna Amerika i Europa bilježe zastupljenost od 3-5%, dok u Indiji čine 30% svih karcinoma kod muškaraca. Vršak incidencije tumora glave i vrata je u dobi od 50. do 70. godine života. U Republici Hrvatskoj statistički podaci iz 2008. godine bilježe sljedeće incidencije: grkljan 7,3/100000 (323 oboljela), ždrijelo 4,4/100000 (189 oboljelih), usne 1,8/100000 (79 oboljelih), krajnici 1,3/100000 (59 oboljelih). Poznati čimbenici rizika u razvoju karcinoma glave i vrata uključuju pušenje cigareta, alkohol, nedovoljnu oralnu higijenu, oskudnu i nekvalitetnu prehranu, gastroezofagealni refluks, urođene i stečene sindrome imunodeficijencije, pretjeranu izloženost UV-zrakama, infekciju humanim papiloma virusom (HPV) te Epstein-Barr virusnu (EBV) infekciju (za nazofaringealni karcinom). Iz navedenih se ističu pušenje cigareta i prekomjerna konzumacija alkohola koji ipak čine najvažnije etiološke čimbenike u nastanku karcinoma glave i vrata. Humani papiloma virus (HPV) je mali DNK-virus koji pripada porodici *Papovaviridae*, rod *Papillomavirus*. Naziv im potječe od promjena koje stvaraju, papiloma odnosno benignim tumorima kože (latinski papilla = bradavica, grčki oma = tumor). Do danas je otkriveno oko 150 genotipova HPV-a, od kojih svaki ima svoj tropizam za određeno tkivo. Uzrokuju benigne i maligne promjene sluznice i kože (karcinom vrata

maternice, bazocelularni i planocelularni karcinom kože, genitalne bradavice, benigne bradavice, karcinom rodnice, anusa, stidnice, penisa te orofarinksa). Spoznaja da pojedini genotipovi HPV-a imaju različiti onkogeni potencijal potaknula je mnoga istraživanja kliničke značajnosti molekularne heterogenosti ove skupine virusa.^(1,2,3,4,5)

2. SVRHA RADA

Humani papiloma virus igra važnu ulogu u razvoju ne samo karcinoma vrata maternice, za koji se njegov pojam najčešće veže, već se istraživanjima pokazalo kako njegovo prisutstvo može biti ključno u razvoju karcinoma rodnice, anusa, stidnice, penisa te orofarinksa. U uvodu sam navela kako je pušenje cigareta jedan od najvažnijih uzročnih čimbenika u razvoju karcinoma glave i vrata, međutim danas je poznato da oko 25% dijagnosticiranih karcinoma glave i vrata nije povezano sa upotrebom duhana, već se sve više spominje utjecaj HPV infekcije u nastanku istih.

Iz upravo navedenih razloga, svrha ovoga rada je, temeljem dostupne i relevantne znanstvene literature, pojasniti učinak HPV-a u razvoju karcinoma glave i vrata.

3. PREGLED LITERATURE NA ZADANU TEMU

3.1. Humani papiloma virus

3.1.1. Taksonomija

Humani papiloma virus pripada porodici DNK-virusa, *Papovaviridae*, rod *Papillomavirus*. Naziv *papova* akronim je od riječi papilom – dobroćudni tumor kože, poliom – multifokalno širenje, vakuola – uzrokuje šupljine u stanicama, dok je riječ papiloma akronim od latinske riječi *papilla* (bradavica) i grčke riječi *oma* (tumor).⁽⁶⁾

3.1.2. Genom HPV-a

Humani papiloma virus (HPV) je mali jednostavni virus koji sadrži malu količinu genetskog materijala koji ga određuje. Treba stanicu domaćina kako bi preživio i bio u mogućnosti razmnožavati se. HPV pripadaju heterogenoj skupini DNK-virusa. Simetrije su ikozaedra s promjerom od 55 do 60 nm. Elektronskom mikroskopijom HPV-a pokazalo se da je proteinska kapsida sastavljena od 72 morfološke jedinice, a koje se sastoje od 12 pentavalentnih i 60 heksavalentnih kapsomera. Kapsida je sastavljena od dvije proteinske molekule (L1 i L2). Veća, L1 proteinska molekula s molekularnom masom od 54 kilodaltona čini 80 do 90% svih proteina kapside, dok preostali dio kapside tvori mali protein, L2, s molekularnom masom od 74 do 80 kilodaltona. HPV su rezistentni na utjecaj 70% etanola, deoksikolata, etera, kloroforma i drugih otapala, jer ne sadrže lipidnu ovojnicu. Genom HPV-a je zatvorena, cirkulatorna, dvolančana DNK molekula koju nazivamo episoma, veličine 7.800 – 7.900 parova baza sa molekularnom masom od 5.2×10^6 daltona. Virusni genom podijeljen je u tri regije i njihova organizacija je ista za različite tipove HPV-a. Prva regija, regija R (engl. *regulatory*)

odgovorna je za regulacijske proteine koji upravljaju procesima umnožavanja virusa. To je uzvodna regulatorna (URR) regija koja se još naziva i dugačka kontrolna regija (LCR) ili nekodirajuća regija (NCR) s veličinom od oko 1 kilobaze. Ova regija ne kodira bjelančevine, već je zadužena za replikaciju virusa i ekspresiju pojedinih gena. Druga regija, E regija (engl. *early*) je rana kodirajuća, veličine oko 4,5 kilobaza sa zapisima tvorbe proteina odgovornih za razmnožavanje virusa i transformaciju stanica, odnosno njihov onkogeni učinak na stanicu. Rana kodirajuća regija građena je od najmanje šest različitih otvorenih okvira očitavanja (ORF): E1, E2, E4, E5, E6, E7. Treća regija je kasna kodirajuća, L (engl. *late*) koja sadrži dva velika otvorena mjesta prepisivanja zapisa za proteine L1 i L2. Veličine je 2,5 kilobaza.^(6,7,8)

3.1.3. Klasifikacija HPV-a

Do danas je otkriveno oko 150 genotipova HPV-a, od kojih svaki ima svoj tropizam za određeno tkivo. Na temelju sukladnosti nukleotidnih nizova, danas poznate genotipove HPV-a svrstavamo u 3 skupine. U prvu skupinu pripada HPV izdvojen iz bolesnika s bradavičastom epidermodisplazijom, doživotnom zarazom s HPV-om koja se očituje resastim promjenama kože iz kojih se u oko 30% slučajeva razvije planocelularni karcinom. Najvažniji genotipovi HPV-a ove skupine su 5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19-25, 36, 46, 47 i 50. U drugu skupinu svrstani su tzv. kožni genotipovi HPV-a koji su izdvojeni iz dobroćudnih i zloćudnih novotvorina, a imaju sklonost ka mnogoslojnom pločastom epitelu s oroženim površinskim slojevima. Najvažniji genotipovi HPV-a druge skupine su: 1-4, 7, 10, 26-29, 37, 38, 41, 48 i 49. Treća skupina HPV-a uključuje HPV izdvojen iz hiperplastičnih promjena i epitelnih dobroćudnih i zloćudnih novotvorina. To su tzv. sluznični genotipovi HPV-a koji pokazuju sklonost prema neoroženom mnogoslojnom pločastom epitelu. Prema sposobnosti izazivanja zloćudne preobrazbe navedene tipove HPV-a treće skupine dijelimo u 3 podskupine: A) visokorizični

genotipovi – 16, 18, 31, 45, 46; B) graničnorizični genotipovi – 33, 35, 39, 41, 51, 52, 58, 59, 68; C) niskorizični genotipovi – 6, 11, 42-44 i 53-55.⁽⁶⁾

3.1.4. Karcinogeneza

Kao što je navedeno u prethodnom tekstu, genom HPV-a sadrži dvije strukturne bjelančevine kapside, L1 i L2, dvije regulatorne bjelančevine, E1 i E2, te tri onkoproteina, E5, E6, E7. Regija E građena od regulatornih proteina E1-E2, E4-E7 odgovorna je za regulaciju, replikaciju i patogenezu HPV gena, dok L regija sadrži dvije strukturne bjelančevine, L1 i L2, koji tvore virusnu kapsidu te nemaju poznatu ulogu u karcinogenezi, međutim, kada se radi o HPV infekciji, ove molekule predstavljaju glavnu metu imunosnom sustavu. Smatra se da E4 protein pogoduje otpuštanju dijelova virusne čestice u okolinu te koči G2 fazu staničnog ciklusa stanice inficirane HPV-om i na taj način je odgovoran za njezinu smrt.^(9,10)

Primjer vrata maternice najjače opisuje kako HPV visokog rizika mogu biti uzrokom karcinoma. Međutim, HPV je također povezan sa nastankom karcinoma rodnice, stidnice, anusa i penisa, a od 2007. godine spominje se njegov utjecaj u razvoju karcinoma orofarinksa. HPV-16 i HPV-18 kao HPV visokog rizika svrstavamo u glavne posrednike većine karcinoma povezanih sa HPV-om. Svega 70% karcinoma vrata maternice povezano je sa HPV-om, 50% karcinoma penisa uključuje HPV DNA, predominantno HPV-16, dok je isti zaslužan za više od 90% HPV posredovanih karcinoma orofarinksa.^(10,11)

Od svih potencijalnih mjesta u području glave i vrata, nepčane i jezične tonzile predstavljaju predominantno mjesto za HPV. Stanice bazalnog sloja stratificiranog skvamoznog epitela bivaju inficirane HPV-om. Retikularni limfoepitel tonzilarnih kripti zatim eksprimira ligand programirane stanične smrti (PD-L1), koji suprimira odgovor T-stanica na infekciju HPV-om.

To dovodi do stvaranja „imunološki-povlaštene“ regije za pokretanje virusne infekcije i adaptaciju na rezistenciju imunološkog odgovora. Infekcija HPV-om počinje ulaskom virusa kroz mikrotraumu epitela, iako receptori i mehanizam ulaska virusa još nije poznat. Smatra se da heparin sulfat posreduje u spajanju virusnih čestica za stanicu prije nego virus uđe u stanicu procesom endocitoze. HPV infekcija epitelih stanica rezultira ekspresijom različitih tipova virusnih proteina i proizvodnjom od 20 do 100, odnosno na tisuće virusnih DNA u svakoj stanici bazalnog, odnosno površinskog sloja. Dok većina drugih virusnih infekcija rezultira stvaranjem potomstva iz iste ciljane stanice, stanice inficirane HPV-om ulaze u mitozu te nastavljaju diferencijaciju. S obzirom na to, stanice bazalnog sloja nisu jedine proliferirajuće stanice inficiranog epitela, pošto je u inficiranim stanicama suprabazalnog sloja prisutan aktivan stanični ciklus i diferencijacija.^(12,13,14,15)

Razlikujemo tri glavna HPV onkoproteina, E5, E6 i E7. Uzrok su nekontroliranoj proliferaciji stanica koja zatim dovodi do progresije karcinoma putem istih mehanizama te induciraju genomsku nestabilnost. E6 i E7 su glavne odgovorne bjelančevine u malignoj transformaciji i progresiji kako karcinoma vrata maternice tako karcinoma glave i vrata. Zaustavljaju proces diferencijacije keratinocita i na taj način omogućavaju, modificiranjem staničnog okoliša, daljnju replikaciju virusa. Onkoproteini E6 i E7 vežu se na tumor supresorske bjelančevine p53 i pRb (engl. *retinoblastoma gene*) i time inhibiraju njihovo djelovanje. E6 virusna bjelančevina ima afinitet za tumor supresorski protein p53 koji je središnji protein u kontroli procesa staničnog rasta i diobe, a E7 virusna bjelančevina ima afinitet za pRb. Kočenje onkogene ekspresije E6 i E7 u HPV inficiranim slojevima orofaringealnih skvamoznih stanica rezultira aktivacijom p53 i Rb tumor supresor proteina i indukcijom apoptoze inficiranih stanica. Upravo zbog toga, smatra se kako su E6 i E7 onkoproteini nužni za održavanje malignih procesa. Visokorizični HPV E7 onkoproteini imaju bitnu ulogu u inicijaciji sinteze DNA vezanjem i

inaktivacijom Rb tumor supresor gena i njemu srodnih proteina p107 i p130 djelujući na njihovu razgradnju. Rb, kao najpoznatiji iz te skupine proteina, prevenira pretjerani rast stanice inhibirajući proces staničnog ciklusa. Inaktivacija pRb dovodi do pretjerane ekspresije E2F transkripcijskog faktora što uzrokuje prijelaz G1 faze u S fazu staničnog ciklusa. Nadalje, inaktivacijom Rb proteina povećava se razina p16/CDKN2A koji djeluje kao inhibitor cdk4/ciklina D i cdk6/ciklina D te potiče abnormalnu proliferaciju stanica. Stoga, povećana razina p16/CDKN2A služi kao biomarker u dijagnozi transkripcijski aktivne HPV infekcije i viruom posredovane deregulacije staničnog ciklusa. E7 onkoproteini također imaju utjecaj na transkripciju gena djelovanjem na aciliranje histona u regulatornim područjima putem histon acetil transferaze ili histon deacetilaze. E7-posredovana proliferacija rezultira aktivacijom p53 tumor supresor gena koji dovodi do inhibicije rasta i apoptoze stanice. Kako bi se to spriječilo, HPV E6 uzrokuje degradaciju p53, što rezultira inhibicijom apoptoze i posljedičnog nekontroliranog rasta stanice. Molekula p53 regulira stanični ciklus kontrolirajući prijelaz G1 faze u S fazu djelovanjem na kontrolnu točku indukcijom ekspresije inhibitora ciklin ovisnih kinaza (p16, p21, i p27). Stoga, E6 onkoprotein ima negativni utjecaj na kontrolne točke i G1/S i G2/M faze staničnog ciklusa ukoliko se javi stres stanice, npr. oštećenje DNA, što u konačnici vodi genomske nestabilnosti. E5 protein djeluje zajedno sa E6 i E7 izazivajući transformaciju stanice modifikacijom receptora određenih faktora rasta. Osim toga E5 blokira apoptozu u kasnoj fazi HPV-inducirane karcinogeneze.^(7,8,16,17,18,19)

3.2. Čimbenici rizika za razvoj HPV uzrokovanih karcinoma glave i vrata

HPV-16 je najzastupljeniji visokoriznični tip, dokazan u oko 90% HPV(+) karcinoma orofarinksa. Dokazano potiče rast i razvoj karcinoma orofarinksa te se, trenutno, jedini dovodi u vezu sa razvojem karcinoma glave i vrata. Za sada poznati epidemiološki podaci govore nam kako prevalencija oralne HPV infekcije u populaciji SAD-a iznosi 7% te u razvoju iste značajno

pridonose sljedeći čimbenici: muški spol, životna dob, pušenje cigareta, konzumiranje marihuane, rizično spolno ponašanje (veći broj spolnih partnera tijekom života te njihovo učestalo mijenjanje). HPV infekcija se prije svega prenosi spolnim putem, odnosno izravnim kontaktom kože i sluznice s osobom (vaginalnim i analnim spolnim odnosima) te je postala najučestalija spolna bolest u svijetu. Procjenjuje se da svake godine HPV-om biva zaraženo 20 milijuna ljudi, od čega se 6,2 milijuna odnosi na populaciju SAD-a. Iako udio oralne HPV infekcije u dobi od 14 do 69 godina (10% muškarci, 4% žene) iznosi 7%, podtipovi HPV-a koji uzrokuju karcinom glave i vrata čine svega 1% ovih infekcija. Osobe ne znaju da su zaražene pošto nema simptoma ni znakova koji bi ukazivali na infekciju. Do danas nije poznata učinkovita terapija u suzbijanju infekcije HPV-om. Srećom, virus se u većini slučajeva spontano povlači unutar 2 godine. Ostaje nepoznato na koji način ustanoviti hoće li infekcija u neke osobe postati kronična i u konačnici progredirati u HPV(+) karcinom glave i vrata. Nadalje, ne postoji učinkovit test screeninga za rano otkrivanje HPV(+) karcinoma orofarinksa, budući da se većina karcinogeneze odvija duboko u kriptama krajnika što onemogućava laki pristup uzorku. Kao što sam navela ranije u ovom odlomku, značajni čimbenici u razvoju HPV infekcije i HPV(+) karcinoma glave i vrata su: promjene spolnog ponašanja, rano stupanje u spolne odnose te broj oralno-genitalnih partnera. Osim toga, oralno-oralni kontakt te perinatalni prijenos opisuju se kao mogući izvori oralne HPV infekcije.^(20,21,22,23)

3.3. Epidemiologija HPV uzrokovanih karcinoma glave i vrata

U posljednjih 30 godina diljem svijeta, došlo je do značajne promjene u epidemiologiji karcinoma glave i vrata. Poznato je kako je pušenje cigareta najznačajniji čimbenik rizika u razvoju karcinoma usne šupljine, grkljana i hipofarinksa, međutim do 25% svih nedavno dijagnosticiranih karcinoma glave i vrata nije u vezi sa konzumacijom duhana. Uzrok nove, u svijetu brzorastuće skupine karcinoma glave i vrata upravo je HPV infekcija. Syrjänen je 1983.

godine ustanovio vezu između HPV-a i karcinoma glave i vrata zbog sličnih kliničkih karakteristika kod oštećenja usne šupljine i genitalnih organa, sličnosti epitela tih sustava te zbog afiniteta HPV-a za epitelne stanice. Donedavno, nije bilo dokaza koji bi potvrdili Syrjänenov prijedlog. Studije koje su se počele provoditi u posljednjih nekoliko godina, prije svega u Švedskoj, pokazale su da značajan udio tonzilarnih karcinoma uključuje HPV DNA. Područje orofarinksa je veoma osjetljivo na HPV te je svega 70% karcinoma orofarinksa podrijetla skvamoznih stanica. Nacionalni institut za karcinome pruža informacije o statistici karcinoma zastupljenih u SAD-u te je u proteklih 30 godina na temelju analize podataka iz toga sustava procijenjena incidencija HPV(+) i HPV(-) karcinoma glave i vrata. Statistički podaci pokazali su značajan pad (smanjenje od 1,85% godišnje) učestalosti karcinoma glave i vrata u područjima koja nisu vezana uz HPV infekciju (hipofarinks, usna šupljina, grkljan). S druge strane, područja vezana uz HPV infekciju, tj. područje orofarinska, pokazala su značajan porast (porast od 0,8% godišnje) tijekom istog razdoblja. Osim toga, u mnogim je zemljama smanjena učestalost karcinoma hipofarinksa, usne šupljine i grkljana zbog smanjenja konzumacije cigareta i alkohola. Nasuprot tome, u proteklih 20 godina učestalost karcinoma orofarinska je povećana u brojnim zemljama uključujući Ujedinjeno Kraljevstvo, Kanadu, Australiju, Norvešku, Dansku i Nizozemsku. Smatra se da trenutno karcinomi vezani uz HPV čine 30 – 65% svih karcinoma glave i vrata, odnosno 50 – 80% svih karcinoma orofarinksa. HPV(+) karcinomi glave i vrata sa specifičnim epidemiološkim i prognostičkim obilježjima postaju sve veći javnozdravstveni problem te se očekuje da će upravo HPV biti glavni čimbenik razvoja karcinoma glave i vrata u narednom razdoblju. Prema podacima, najviša stopa HPV(+) karcinoma glave i vrata zabilježena je u Švedskoj i SAD-u. Prevalencija genitalne HPV infekcije, seksualne navike, konzumiranje cigareta i alkohola mogu utjecati na incidenciju HPV(+) karcinoma glave i vrata. Predmet proučavanja, što se tiče malignih bolesti povezanih sa HPV-om, preusmjerava se sa anogenitalnih karcinoma, koji se pretežno razvijaju kod žena,

na orofaringealne karcinome, koji se pretežno razvijaju kod muškaraca, zbog činjenice da je kod muškaraca zabilježeno više od 70% slučajeva HPV(+) orofaringealnih karcinoma. Može se reći da HPV(+) karcinom orofarinksa postaje epidemijom naše ere.^(24,25,26,27)

3.3.1. HPV pozitivitet u ne-orofaringealnom dijelu glave i vrata

U dosadašnjem tekstu najviše se spominje utjecaj HPV infekcije na područje orofarinksa. Veza između orofarinksa (predominantno meko nepce, tonzile i korijen jezika) i HPV-a sve je jasnija, međutim njegov utjecaj na razvoj karcinoma drugih dijelova glave i vrata još uvijek nije razjašnjen. Smatra se kako HPV infekcija može imati ulogu u nastanku karcinoma supraglotičnog dijela grkljana s obzirom na njegovu blizinu s orofarinksom. Suvremena istraživanja iz SAD-a primjenom zlatnih standardnih metoda (specifična HPV E6/E7 mRNA) otkrila su prisutnost HPV-a u manje od 5% ne-orofaringealnih karcinoma glave i vrata. Ipak, procjena HPV-infekcijom posredovanih karcinoma glave i vrata varira široko u literaturi. Naime, procjenjena prevalencija HPV-a iznosi 24% u grkljanu, 31% u nazofarinksu, 6-20% u usnoj šupljini te 21% u sinonazalnom traktu. S druge strane, studije koje su prvenstveno rađene u SAD-u bazirane na testovima *in situ* hibridizacije (ISH) i detekciji E6/E7 mRNA pokazuju zastupljenost HPV-a u svega 3% karcinoma usne šupljine, 7% karcinoma grkljana i u 0% karcinoma hipofarinksa. Mnogi čimbenici, uključujući anatomsku klasifikaciju dijelova glave i vrata te metode detekcije HPV-a doprinose toj nepodudarnosti rezultata.^(28,29,30)

3.3.2. Karakteristike pacijenata sa HPV(+) karcinomom glave i vrata

Demografske i rizične značajke bolesnika s HPV-pozitivnim i HPV-negativnim karcinomom glave i vrata se bitno razlikuju. Pacijenti s HPV-pozitivitetom su mlađi od pacijenata koji su HPV-negativni. Naime, karcinomi povezani s HPV-om javljaju se u dobi od 40 do 55 godina,

dok su pacijenti s HPV-negativnim karcinomom glave i vrata stariji za 4 do 10 godina. Ova dobna razlika mogla bi objasniti porast incidencije orofaringealnog karcinoma kod mlađih osoba u razvijenim zemljama. S obzirom da se u bolesnika s HPV-pozitivitetom bolest otkrije u ranijoj fazi, njihov ishod je u konačnici bolji, s manje komorbiditeta. Nadalje, iako je incidencija karcinoma glave i vrata veća kod muškaraca nego kod žena, u muškaraca se dijagnosticira znatno veća stopa HPV-pozitivnog orofaringealnog karcinoma nego li HPV-negativnog. Takva saznanja su u skladu s podacima da je oralna HPV 16 infekcija pet puta češća kod muškaraca u usporedbi sa ženama u SAD-u. Osim navedenog, utvrđeno je da se HPV(+) karcinom glave i vrata češće razvija u bijeloj nego li u crnoj populaciji. Stopa HPV-pozitiviteta u bijeloj populaciji iznosi 29-34% u usporedbi sa svega 0-4% u crnoj populaciji. Nadalje, socioekonomski status je također karakteristika koja se razlikuje kod HPV-pozitivnih u odnosu na HPV-negativne bolesnike. Studije su pokazale da je zastupljenost HPV-pozitivnih karcinoma glave i vrata veća kod pacijenata u braku, onih koji imaju veće prihode i višu razinu obrazovanja. Pokazalo se da pacijenti HPV-pozitivnih karcinoma glave i vrata imaju bolju dentaciju, veći broj seksualnih oralnih partnera, konzumiraju manje količine duhana i alkohola te veće količine marihuane u odnosu na HPV-negativne pacijente. Doza navedenih čimbenika rizika ima veliki značaj u razvoju karcinoma glave i vrata.^(21,31)

3.4. Dijagnoza HPV-pozitivnog karcinoma glave i vrata

3.4.1. Kliničke manifestacije i patološki nalaz

Svega 90% HPV(+) orofaringealnih karcinoma prezentira se bez simptoma bolesti. Limfni čvorovi vrata su obično cistične strukture te kao takvi nisu pogodan materijal za analizu i dijagnostiku. Konačna dijagnoza, osim zbog navedenog, može biti odgođena i zbog nespecifičnih anamnestičkih podataka (osoba nije pušač) te necjelovitog pregleda. Ultrazvučno

vođena aspiracija finom iglom za pregled limfnih čvorova vrata može povećati vjerojatnost rane dijagnoze.⁽³²⁾

Mikroskopski, HPV(+) orofaringealni karcinom predstavlja nekeratinizirajuću pločastu ili bazaloidnu, dobro diferenciranu tvorbu s difuznim nuklearnim i citoplazmatskim p16 bojanjem. Patološka svojstva HPV(+) tumora razlikuju se od HPV(-) tumora, pokazujući lobularni rast i infiltraciju limfocitima, ali ne i površinsku displaziju ili keratinizaciju. Nadalje, HPV(+) tumori često se javljaju s manjim primarnim tumorima, ali uznapredovalim metastazama u limfnim čvorovima. Unatoč tome što nisu patognomonični, glavni histopatološki znakovi tumora glave i vrata posredovanih HPV-om su prisutnost koilocita, perinuklearnih citoplazmatskih haloa, displazija jezgara s prisutnom diskeratozom, atipična metaplazija, makrociti te binukleacija.⁽³³⁾

3.4.2. Testovi i metode u detekciji HPV-a

U laboratorijskoj dijagnostici HPV-a koriste se tradicionalne i molekularne metode. Tradicionalne metode koriste svjetlosnu i elektronsku mikroskopiju te imunohistokemijske metode u dokazivanju HPV infekcije. Na svjetlosnom mikroskopu se na temelju uzorka ili staničnog razmaza može uočiti prisutnost promijenjenih epitelnih stanica, tzv. koilocitnih stanica, dok se elektronskom mikroskopijom može otkriti prisutnost virusa u testiranom uzorku. Nadalje, imunohistokemijske metode se temelje na otkrivanju virusnih antigena čime se također može dokazati infekcija HPV-om. Osnovni nedostatak navedenih dijagnostičkih metoda jest niska osjetljivost i specifičnost te nemogućnost genotipizacije HPV-a. Metode izbora u dokazivanju infekcije HPV-om jesu metode molekularne dijagnostike koje se zbog svoje visoke osjetljivosti i specifičnosti danas najviše koriste. Osim što dokazuju postojanje HPV infekcije, molekularne metode omogućavaju genotipizaciju, odnosno pokazuju radi li se o infekciji s

niskorizičnim ili visokorizičnim tipom HPV-a. U današnjoj praksi metode izbora su lančana reakcija polimeraze (PCR) i metoda hibridizacije (HC).^(6,34,35,36)

3.4.2.1. Lančana reakcija polimeraze

Ova metoda koristi se za rutinsko dokazivanje infekcije HPV-om, istraživanje HPV-a te genotipizaciju. PCR je trenutno najosjetljivija metoda u tom području, a temelji se na umnožavanju dijela DNK molekule uz pomoć enzima DNK polimeraze. Izborom primera/začetnica određuje se ciljni dio molekule, koji zatim umnožavaju L1, E6 i E7 regiju virusne DNK, nakon čega slijedi analiza produkata. Kako bi se genotipovi umnožili, koriste se takozvani generički začetnici MY9/MY11 i GP5+/GP6+ koji umnožavaju dio gena u L1 regiji.^(35,36)

3.4.2.2. Metoda hibridizacije

Metodom hibridizacije dolazi do spajanja komplementarnih nukleinskih kiselina i ciljne DNK. Sam postupak svodi se na denaturaciju dvolančane DNK u jednolančanu DNK nakon čega se potomja detektira sa obilježenim, komplementarnim probama. Ovim testom, kao i lančanom reakcijom polimeraze, moguće je odrediti prisutnost virusa i genotip.^(35,36)

3.5. Prevenција – vakcinacija

U prevenciji razvoja karcinoma glave i vrata bitnu ulogu ima kontinuirana sustavna edukacija te poticanje populacije na odgovorno spolno ponašanje. Unatoč činjenici da profilaktičko cijepljenje u prevenciji razvoja karcinoma glave i vrata još uvijek nije dokazano u randomiziranim studijama, smatra se kako cijepljenje ipak prevenira razvoj orofaringealnog

karcinoma uzrokovanog HPV tipom 16 i 18, s obzirom da je HPV tip 16 najčešće detektiran u karcinomu orofarinksa. Cjepivo protiv HPV-a primjenjuje se u svrhu prevencije infekcije visokoonkogenim tipovima HPV-a koji mogu uzrokovati maligne promjene. Razlikujemo dva cjepiva dostupna u svijetu, bivalentno (*Cervarix*) i kvadrivalentno (*Gardasil*).

Cervarix cjepivo djeluje protiv HPV DNK 16 i 18. U cjepivu se nalaze pročišćeni proteini za dva tipa humanog papilomavirusa (tipove 16 i 18). Osim toga, cjepivo sadrži adjuvantni sustav AS04 koji ima ulogu očuvanja visoke imunogeničnosti cjepiva. Kvadrivalentno cjepivo, *Gardasil*, djelotvorno je protiv HPV DNK 16, 18, 6 i 11. Cjepivo ne sadržava živući virus, a svoj efekt postiže preko L1 proteina kao glavne bjelančevine virusnoga plašta. Nadalje, u cjepivu se nalaze virusu slične čestice (VLP) građene od L1 proteina omotača HPV 16, 18, 6 i 11, a koje strukturno nalikuju HPV-u, međutim, ne sadrže virusnu DNK, stoga ne mogu zaraziti humane stanice. Dodatna tvar u cjepivu koja ubrzava reakciju je aluminij.

Cjepivo se aplicira intramuskularno u tri doze po shemi 0, 2, 6 što znači da se druga doza daje dva mjeseca nakon prve, a treća doza šest mjeseci nakon druge doze.^(34,37,38,39,40)

4. RASPRAVA

Prototip pacijenta koji boluje od oralnog karcinoma smatra se stariji čovjek koji godinama puši cigarete i pije alkohol. Međutim, on više ne odgovara prototipu današnjeg pacijenta sa istom dijagnozom. Bolesnici su danas mlađe osobe (40 do 60 godina), pretežito bijele rase koji nikada nisu pušili cigarete ili pili alkohol. Prevalencija HPV infekcija, prvenstveno infekcija uzrokovanih visokorizičnim tipovima HPV-a, upućuje na potencijalnu etiološku ulogu virusa u razvoju karcinoma glave i vrata. Molekularna biologija je dala važne podatke o interakciji HPV onkoproteina s genima važnim za kontrolu staničnog ciklusa. Unatoč tome, potrebno je više temeljnih istraživanja kako bi se opisalo fizičko stanje virusa u različitim tipovima stanica i njihova interakcija s drugim genima. Nadalje, ne postoji učinkovit test screeninga za rano otkrivanje HPV(+) karcinoma orofarinksa te je nužno da se što više pažnje usmjeri na dijagnostiku ovog patološkog procesa. Osim toga, potrebno je provesti epidemiološka istraživanja kako bi se dodatno razumjela povezanost između HPV-a i demografskih i drugih čimbenika rizika, kao i mogućih puteva prijenosa HPV-a.

5. ZAKLJUČAK

Infekcija humanim papiloma virusom predstavlja ozbiljnu prijetnju u razvoju karcinoma glave i vrata. Nagli porast incidencije orofaringealnog karcinoma ukazuje na interakciju netradicionalnih bihevioralnih čimbenika koji uzrokuju ovaj uznemirujući epidemiološki trend. Tradicionalni čimbenici rizika zamijenjeni su drugim, snažnim čimbenicima rizika koji se odnose na seksualno ponašanje, od kojih je najvažniji veliki broj seksualnih partnera, oralno-genitalni te oralno-analni odnosi. Oralni anogenitalni kontakt važan je put prijenosa HPV-a u usnu šupljinu. Određeni uvjeti i ponašanja koja mijenjaju antitumorski imunitet mogu biti važni u transformaciji HPV oralne infekcije u HPV malignu promjenu. S obzirom na porast njihove incidencije, odnosno sve bržem širenju HPV infekcija, asimptomatskom razdoblju dok se ne razviju posljedice, problemu treba pristupiti interdisciplinarno. Riješenje se nudi u obliku primarne prevencije, odnosno cijepljenja.

6. SAŽETAK

Humani papiloma virus je DNK virus koji pripada porodici *Papovaviridae*, rod *Papilomavirus*. Do danas je otkriveno oko 150 genotipova HPV-a, od kojih svaki ima svoj tropizam za određeno tkivo. S obzirom na onkogeni potencijal, dijelimo ih u dvije skupine: viokorizični i niskorizični tipovi. Najvažniji niskorizični tipovi su HPV 6 i 11, a najvažniji visokorizični tipovi su HPV 16 i 18. HPV-16 je najzastupljeniji visokoriznični tip, dokazan u oko 90% HPV(+) karcinoma orofarinksa. Dokazano potiče rast i razvoj karcinoma orofarinksa te se, trenutno, jedini dovodi u vezu sa razvojem karcinoma glave i vrata. Epidemiološki podaci govore kako razvoju oralne HPV infekcije pridonose sljedeći faktori: muški spol, životna dob, pušenje cigareta, konzumiranje marihuane, rizično spolno ponašanje (veći broj spolnih partnera tijekom života te njihovo učestalo mijenjanje). HPV infekcija se prije svega prenosi spolnim putem, odnosno izravnim kontaktom kože i sluznice s osobom (vaginalnim i analnim spolnim odnosima). Svega 90% HPV(+) orofaringealnih karcinoma prezentira se bez simptoma bolesti. Metode izbora u dokazivanju infekcije HPV-om jesu metode molekularne dijagnostike. Osim što dokazuju postojanje HPV infekcije, molekularne metode omogućavaju genotipizaciju, odnosno pokazuju radi li se o infekciji s niskorizničnim ili visokorizičnim tipom HPV-a. U današnjoj praksi metode izbora su lančana reakcija polimeraze (PCR) i metoda hibridizacije (HC). U prevenciji razvoja karcinoma glave i vrata bitnu ulogu ima kontinuirana sustavna edukacija, poticanje populacije na odgovorno spolno ponašanje i cijepljenje.

Ključne riječi: HPV, karcinom glave i vrata, metode molekularne dijagnostike, cijepljenje

7. SUMMARY

Human papilloma virus is a DNK virus from the Papovaviridae family, species Papillomavirus. Around 150 different HPV genotypes are known to this day, each of which has its own tropism for specific tissue. Regarding their oncogenic potential, we share them into two groups: high-risk and low-risk types. The most important low-risk types are HPV 6 and 11, while the most important high-risk types are HPV 16 and 18. HPV-16 which is detected in about 90% of the HPV(+) oropharyngeal cancers is the most common high-risk HPV types. HPV-16 is the only HPV type which is accepted as cancer inducing in the head and neck cancer. Epidemiological data indicate that the development of oral HPV infection is contributed by the following factors: male sex, age, smoking of cigarettes, marijuana consumption, risky sexual behavior (multiple sexual partners during life and frequent alteration). HPV infection is primarily transmitted through sexual contact, or direct skin and mucous contact with the person (vaginal and anal sex). Only 90% of HPV(+) oropharyngeal cancer is presented without symptoms of the disease. Molecular diagnostic methods are methods of choice for detecting HPV infection. Not only they prove the existence of HPV infection, but also they enable genotyping, that is, they show whether it is an HPV low-risk or high-risk infection. In today's practice, the selection methods are chain reaction polymerase (PCR) and hybridization method (HC). An important role in preventing the development of head and neck cancer has continuous systematic education, stimulation of the population to responsible sexual behavior and vaccination.

Key words: HPV, head and neck cancer, molecular diagnostic methods, vaccination

8. LITERATURA

1. Vrdoljak E, Šamija M, Kusić Z, Petković M, Guguć D, Krajina Z. Klinička onkologija. Medicinska naklada; Zagreb 2013.
2. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. CA: A cancer Journal for Clinicians. 2015;65(2):87-108.
3. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA: A cancer Journal for Clinicians. 2011;61(2):69-90.
4. Ramshankar V, Krishnamurthy A. Human papilloma virus in head and neck cancers-role and relevance in clinical management. Indian Journal of Surgical Oncology. 2013;4(1):59-66.
5. Guha N, Boffetta P, Wunsch Filho V, ElufNeto J, Shangina O, Zaridze D, et al. Oral health and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck and esophagus: results of two multicentric case-control studies. American Journal of Epidemiology. 2007;166(10):1159-73.
6. Presečki V i suradnici. Virologija. Medicinska naklada; Zagreb 2002.
7. Grce M, Sabol I, Milutin Gašperov N. Burden and prevention of HPV related diseases: Situation in Croatia. Period biol, Vol 114, No 2, 2012.
8. Menzo S, Marinelli K, Bagnarelli P, Rolla S, Clementi M. Human papillomavirus infections: new perspectives for prevention and treatment. New Microbiol. 2007; 30: 189-212.
9. Tertipis N, Villabona L, Nordfors C, Nasman A, Ramqvist T, Vlastos A, et al. HLA-A*02 in relation to outcome in human papillomavirus positive tonsillar and base of tongue cancer. Anticancer Research. 2014;34(5):2369-75.

10. Nordfors C, Grun N, Tertipis N, Ahrlund-Richter A, Haeggbloom L, Sivars L, et al. CD8+ and CD4+ tumour infiltrating lymphocytes in relation to human papillomavirus status and clinical outcome in tonsillar and base of tongue squamous cell carcinoma. *European Journal of Cancer*. 2013;49(11):2522-30.
11. Ringstrom E, Peters E, Hasegawa M, Posner M, Liu M, Kelsey KT. Human papillomavirus type 16 and squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*. 2002;8(10):3187-92.
12. Lyford-Pike S, Peng S, Young GD, Taube JM, Westra WH, Akpeng B, et al. Evidence for a role of the PD-1:PD-L1 pathway in immune resistance of HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Research*. 2013;73(6):1733-41.
13. Doorbar J. The papillomavirus life cycle. *Journal of Clinical Virology: The Official Publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2005;32(Suppl.1):S7-15
14. Chow LT, Broker TR, Steinberg BM. The natural history of human papillomavirus infections of the mucosal epithelia. *Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*. 2010;118(6-7):422-49.
15. Cheng S, Schmidt-Grimminger DC, Murant T, Broker TR, Chow LT. Differentiation-dependent up-regulation of the human papillomavirus E7 gene reactivates cellular DNA replication in suprabasal differentiated keratinocytes. *Genes & Development*. 1995;9(19):2335-49.
16. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell*. 1990;63(6):1129-36.
17. Rampias T, Sasaki C, Weinberger P, Psyrri A. E6 and E7 gene silencing and transformed phenotype of human papillomavirus 16-positive oropharyngeal cancer cells. *Journal of the National Cancer Institute*. 2009;101(6):412-23.

18. Indovina P, Marcelli E, Casini N, Rizzo v, Giordano A. Emerging roles of RB family: new defense mechanisms against tumor progression. *Journal of Cellular Physiology*. 2013;228(3):525-35.
19. Kesis TD, Slebos RJ, Nelson WG, Kastan MB, Plunkett BS, Han SM, et al. Human papillomavirus 16 E6 expression disrupts the p53-mediated cellular response to DNA damage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993;90(9):3988-92.
20. Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, et al. A review of human carcinogens – part B: biological agents. *The Lancet Oncology*. 2009;10(4):321-2.
21. Gillison ML, Broutian T, Pickard RK, Tong ZY, Xiao W, Kahle L, et al. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. *JAMA*. 2012;307(7):693-703.
22. Cates W, Jr. Estimates of the incidence and prevalence of sexually transmitted diseases in the United States. *American Social Health Association Panel. Sexually Transmitted Diseases*. 1999;26(4 Suppl.):S2-7.
23. Lewis A, Kang R, Levine A, Maghami E. The new face of head and neck cancer: the HPV epidemic. *Oncology (Williston Park)*. 2015;29(9):616-26.
24. de Martel C, Ferlay J, Franceschi S, Vignat J, Bray F, Forman D, et al. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *The Lancet Oncology*. 2012;13(6):607-15.
25. Martin-Hernan F, Sanchez-Hernandez JG, Cano J, Campo J, del Romero J. Oral cancer, HPV infection and evidence of sexual transmission. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*. 2013;18(3):439-44.
26. Hammarstedt L, Lindquist D, Dahlstrand H, Romanitan M, Dahlgren LO, Joneberg J, et al. Human papillomavirus as a risk factor for the increase in incidence of tonsillar cancer. *International Journal of Cancer*. 2006;119(11):2620-3.

27. Carvalho AL, Nishimoto IN, Califano JA, Kowalski LP. Trends in incidence and prognosis for head and neck cancer in the United States: a site-specific analysis of the SEER database. *International Journal of Cancer*. 2005;114(5):806-16.
28. 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 Pathology*. 2012;6(Suppl.1):S104-20.
29. Lingen MW, Xiao W, Schmitt A, Jiang B, Pickard R, kreinbrink P, et al. Low etiologic fraction for high-risk human papillomavirus in oral cavity squamous cell carcinomas. *Oral Oncology*. 2013;49(1):1-8.
30. Combes JD, Franceschi S. Role of human papillomavirus in non-oropharyngeal head and neck cancers. *Oral Oncology*. 2014;50(5):370-9.
31. Schwartz SR, Yueh B, McDougall JK, Daling JR, Schwartz SM. Human papillomavirus infection and survival in oral squamous cell cancer: a population-based study. *Otolaryngology – Head and Neck Surgery: Official Journal of American Academy of Otolaryngology – Head and Neck Surgery*. 2001;125(1):1-9.
32. Atula TS, Varpula MJ, Kurki TJ, Klemi PJ, Grenman R. Assessment of cervical lymph node status in head and neck cancer patients: palpation, computed tomography and low field magnetic resonance imaging compared with ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology. *European Journal of Radiology*. 1997;25(2):152-61.
33. 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 and Neck Pathology*. 2009;3(1):78-81.
34. Karelović D i sur. Infekcije u ginekologiji i perinatologiji. Medicinska naklada; Zagreb 2012.

35. Hadžisejdić I, Grce M, Grahovac B. Humani papiloma virus i karcinom cerviksa: mehanizmi karcinogeneze, epidemiologija, dijagnostika i profilaksa. *Medicina fluminensis* 2010, Vol. 46, No.2, p.112-123. Preuzeto s: <http://hrcak.srce.hr/> (pristup: 26.4.2017.)
36. Grahovac B, Šimat M, Krašević M. Humani papiloma virus i karcinom cerviksa – imunopatogeneza i molekularna dijagnostika. *Medix* 2005;58:67-71. Preuzeto s: <http://www.researchgate.net> (pristup: 17.5.2017.)
37. Dempsey AF, Patel DA. HPV vaccine acceptance, utilization and expected impacts in the U.S.: Where are we now? *Human Vaccines*. 2010;6(9):715-720.
38. Grce M, Sabol I, Milutin Gašperov N. Burden and prevention of HPV related diseases: Situation in Croatia. *Period biol*, Vol 114, No 2, 2012.
39. Menzo S, Marinelli K, Bagnarelli P, Rolla S, Clementi M. Human papillomavirus infections: new perspectives for prevention and treatment. *New Microbiol*. 2007;30:189-212.
40. Skerlev M, Ljubojević S. Genitalne infekcije humanim papiloma virusom i muškarcima u kontekstu HPV-vakcine. *Medix* 2009: Vol.15, No.80/81. Preuzeto sa <http://hrcak.srce.hr/> (pristup: 23.5.2017.)

9. ŽIVOTOPIS

Ivana Beć rođena je 4.12.1992. godine u Čakovcu. Osnovnu školu upisala je 1999. godine u Novom Selu Rok. 2007. godine upisuje Opću gimnaziju u Čakovcu, koju završava s odličnim uspjehom. Tijekom svog osnovnoškolskog i srednjoškolskog obrazovanja bavi se rukometom. 2011. godine upisuje Integrirani preddiplomski i diplomski sveučilišni studij medicine na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci. Tijekom studija bila je član CroMSIC organizacije u sklopu koje sudjeluje u raznim projektima, volontiranju, mjerenju tlaka i šećera na Korzu. Osim toga bila je i član organizacije Teddy Bear Hospital u sklopu koje je također volontirala u vrtiću. Aktivno govori engleski jezik, a uz to služi se njemačkim i španjolskim jezikom.