



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ



Дејан Ђокановић

**Прогностички значај морфолошких карактеристика и
експресије p16INK4a, ФЛОТ2 и ЕГФР у сквамозном
карциному орофаринкса и ларинкса**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Бања Лука, 2023. године



UNIVERSITY OF BANJA LUKA
FACULTY OF MEDICINE



Dejan Đokanović

**Prognostic significance of morphological characteristics
and the expression of p16INK4a, FLOT2, and EGFR in
squamous carcinoma of the oropharynx and larynx**

DOCTORAL DISSERTATION

Banja Luka, 2023

Ментор: Проф. др Радослав Гајанин, редовни професор, Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци.

Коментор: Проф. др Зденка Гојковић, редовни професор, Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци.

Наслов докторске дисертације: Прогностички значај морфолошких карактеристика и експресије p16INK4a, ФЛОТ-2 и ЕГФР у сквамозном карциному орофаринкса и ларинкса.

Резиме: Различити фактори могу утицати на преживљавање пацијената са карциномом орофаринкса (ОПЦ) и карциномом ларинкса (ЛЦ). У овој докторској дисертацији процјењена је експресија p16INK4a, ФЛОТ2 и ЕГФР и других клиничкопатолошке карактеристика и њихова прогностичка вриједност за ове врсту карцинома. Прикупљени смо подаци о пацијентима, демографији, клиничко-патолошким карактеристикама, обрасцима лијечења и исходима. Хистолошки и имунохемијским бојењем утврдили смо експресију прогностичких фактора и молекуларних биомаркера. Примарне крајње тачке биле су укупно преживљавање (ОС), преживљавање специфично за болест (ДСС), преживљавање без болести (ДФС). Преживљавање смо процењивали примјеном Каплан–Меиерове методе и Коксовог регресионог модела потенцијалних прогностичких параметара. Послије средњег праћења од 78 месеци за ОПЦ, медијана ОС-а је била 41 мјесец, а догађај је забиљежен код 77,8% пацијената. Медијан ДФС-а је био 22 мјесеца, 37 пацијената (51,4%) је имало релапс болести. Стопа преживљавања ДСС била је 58,3% са средњим преживљавањем од 68 мјесеци. Што се тиче претходно поменутих молекуларних биомаркера, није примјећена статистичка сигнификантност ни у једној категорији. Након спровођења мултиваријантне анализе значајних варијабли, рецидив, васкуларна инвазија (ВИ) и хируршка интервенција остали као независни прогностички за ОС и ДФС. Релапс болести и Н стадијум идентификовани су као независни прогностички фактори за ДСС. Код ЛЦ након медијане праћења од 75 мјесеци израчунати медијан ОС-а код је био 78 мјесеци, а догађај је забиљежен код 51,9% пацијената. Медијан ДФС-а је био 68 мјесеци, 23 пацијента (29,9%) је имало релапс болести. Стопа преживљавања ДСС била је 71,4% са медијаном ДСС која није достигнута. Само је ЕГФР показао статистичку сигнификатност у ОС-у. Рецидив, лимфна инвазија (ЛИ), ЕГФР и пушење су једини фактори који је имао независан ефекат на ОС. Анатомска регија и релапс болести су показали статистички сигнификантна

утицај на ДСС, а анатомска регија, релапс болести, пушење и модалитет лијечења су фактори који су утицали на ДФС.

Кључне ријечи: карцином ларинкса, карцином орофаринкса, преживљавање, биомаркери, p16, ЕГФР, ФЛОТ2

Научна област: Медицинске и здравствене науке

Научно поље: Медицинске науке

Ужа научна област: Онкологија

Класификациона ознака за научну област према CERIF шифрарнику: B200

Тип одабране лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за начин

коришћења садржаја докторске дисертације: Ауторство - некомерцијално - дијелити под истим условима.

Mentor: Prof. Dr. Radoslav Gajanin, full professor, Faculty of Medicine, University of Banja Luka.

Co-Mentor: Prof. Dr. Zdenka Gojković, full professor, Faculty of Medicine, University of Banja Luka.

Title of Doctoral Dissertation: Prognostic significance of morphological characteristics and the expression of p16INK4a, FLOT-2, and EGFR in squamous carcinoma of the oropharynx and larynx

Abstract: Various factors can influence the survival of patients with oropharyngeal cancer (OPC) and laryngeal cancer (LC). In this doctoral dissertation, the expression of p16INK4a, FLOT2 and EGFR and other clinicopathological characteristics and their prognostic value for this type of cancer were evaluated. We collected data on patients, demographics, clinicopathological characteristics, treatment patterns and outcomes. We determined the expression of prognostic factors and molecular biomarkers by histological and immunochemical staining. Primary endpoints were overall survival (OS), disease-specific survival (DSS), disease-free survival (DFS). Survival was assessed using the Kaplan-Meier method and the Cox regression model of potential prognostic parameters. After a median follow-up of 78 months for OPC, the median OS was 41 months, and the event occurred in 77.8% of patients. Median DFS was 22 months, 37 patients (51.4%) had disease relapse. The DSS survival rate was 58.3% with a median survival of 68 months. As for the previously mentioned molecular biomarkers, no statistical significance was observed in any category. After multivariate analysis of significant variables, recurrence, vascular invasion (VI) and surgical intervention remained independent prognostic factors for OS and DFS. Disease relapse and N stage were identified as independent prognostic factors for DSS. In LC, after a median follow-up of 75 months, the calculated median OS was 78 months, and the event was recorded in 51.9% of patients. Median DFS was 68 months, 23 patients (29.9%) had disease relapse. The DSS survival rate was 71.4% with a median DSS not reached. Only EGFR as a biomarker showed statistical significance in OS. Recurrence, lymphatic invasion (LI), EGFR and smoking were the only factors that had an independent effect on OS. Anatomical region and disease relapse showed a statistically significant influence on DSS, and anatomical region, disease relapse, smoking and treatment modality were factors that influenced DFS.

Keywords: laryngeal cancer, oropharyngeal cancer, survival, biomarkers, p16, EGFR, FLOT2

Scientific Area: Medical and Health Sciences

Scientific Field: Medical Sciences

Narrow Scientific Area: Oncology

Classification Code for the Scientific Area According to the CERIF codebook: B200

Type of Chosen License Creative Commons: Autorship – NonCommercial - ShareAlike.

Докторска дисертација је урађена као саставни дио научно истраживачког пројекта који је суфинансиран од стране Министарства за научно технолошки развој, високо образовање и информационо друштво Републике Српске, број рјешења 19.032/961-26/19.

Захвалница,

Проф. др Радославу Гајанину искрена захвалност на менторству, које је било кључно за обликовање мог академског и личног раста током докторских студија.

Проф. др Зденки Гојковић на несебичној подршци и његовањем истраживачког духа.

Посебна захвалност колективу Клинике за онкологију на разумјевању и сарадњи.

Неизмјерна захвалност мојој супрузи и дјечи на њиховој непоколебљивој подршци, љубави и охрабрењу који су били темељ снаге и достигнућа.

Оцу, мајци и сестрама који су усадили у мене дух добра и љубави.

САДРЖАЈ

| | |
|--|----|
| 1 УВОД..... | 1 |
| 1.1 Епидемиологија | 1 |
| 1.2 Патогенеза карцинома орофаринкса и ларинкса..... | 4 |
| 1.3 Дијагноза..... | 6 |
| 1.4 Патохистологија | 7 |
| 1.5 Ширење тумора | 7 |
| 1.6 Стадирање болести..... | 8 |
| 1.7 Лијечење | 20 |
| 1.8 Превенција | 28 |
| 1.9 Праћење и квалитет живота | 29 |
| 1.10 Прогностички параметри за карцином орофаринкса и ларинкса | 30 |
| 1.10.1 Опште карактеристике пацијента | 30 |
| 1.10.2 Остали клинички параметри од значаја | 32 |
| 1.11 Патохистолошки прогностички фактори | 33 |
| 1.11.1 Хистолошки градус | 33 |
| 1.11.2 ПНИ, ЛИ, ВИ и мишићна инвазија..... | 33 |
| 1.12 Молекуларни прогностички маркери | 34 |
| 1.12.1 p16INK4a..... | 35 |
| 1.12.2 ФЛОТ2 | 37 |
| 1.12.3 ЕГФР | 38 |
| 2 ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА..... | 40 |
| 3 ХИПОТЕЗА..... | 41 |
| 4 МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ | 42 |
| 4.1 Пацијенти | 42 |
| 4.2 Методе рада..... | 43 |
| 4.3 Хистолошка анализа | 43 |
| 4.4 Анализа ИХХ бојења | 45 |
| 4.5 Интерпретација резултата ИХХ обраде узорака..... | 46 |
| 4.6 Анализа ИХХ бојења ФЛОТ2..... | 46 |

| | | |
|--------|--|----|
| 4.7 | Анализа ИХХ бојења ЕГФР..... | 47 |
| 4.8 | Анализа ИХХ бојења р16..... | 47 |
| 4.9 | Статистичка обрада података | 48 |
| 5 | РЕЗУЛТАТИ..... | 49 |
| 5.1 | Карцином орофаринкса | 50 |
| 5.1.1 | Карактеристике узорка | 50 |
| 5.1.2 | Анализа преживљавања..... | 54 |
| 5.1.3 | Терапијски модалитет и утицај на преживљавање пацијената | 56 |
| 5.1.4 | Први релапс и утицај на преживљавање пацијената | 59 |
| 5.1.5 | Подгрупе пацијената са брзим и касним релапсом код ОПЦ и утицај на преживљавање | 61 |
| 5.1.6 | Утицај пола на преживљавање пацијената и настанак релапса код ОПЦ | 62 |
| 5.1.7 | Утицај доби на преживљавање пацијената и настанак релапса код ОПЦ | 63 |
| 5.1.8 | Утицај операбилности на преживљавање пацијената и настанак релапса | 63 |
| 5.1.9 | Утицај анатомске регије карцинома орофаринкса на преживљавање пацијената и настанак релапса | 65 |
| 5.1.10 | Утицај ресекционих рубова на преживљавање пацијената | 66 |
| 5.1.11 | Хистолошки градус и утицај на преживљавање пацијената..... | 67 |
| 5.1.12 | Инвазија у крвне и лимфне судове и перинеурална инвазија и њихов утицај на преживљавање пацијената | 69 |
| 5.1.13 | Т стадијум болести ОПЦ и утицај на преживљавање пацијената..... | 73 |
| 5.1.14 | Н стадијум болести ОПЦ и утицај на преживљавање пацијената | 75 |
| 5.1.15 | Стадијум болести ОПЦ и утицај на преживљавање пацијената..... | 77 |
| 5.1.16 | Анализа утицаја пушења и алкохолизма на преживљавање и појаву релапса | 78 |
| 5.2 | Експресија фактора раста у карциному орофаринкса и њихов утицај на преживљавање..... | 81 |
| 5.2.1 | Анализа експресије ФЛОТ2 у узорцима карцинома орофаринкса и утицај на преживљавање | 81 |
| 5.2.2 | Анализа експресије ЕГФР у узорцима карцинома орофаринкса и утицај на преживљавање | 85 |
| 5.2.3 | Анализа експресије п16инк4а у узорцима ОПЦ и утицај на преживљавање..... | 89 |
| 5.3 | Регресиона анализа различитих параметара код пацијената са карциномом орофаринкса | 93 |
| 5.4 | Карцином ларинкса..... | 95 |
| 5.4.1 | Карактеристике узорка | 95 |

| | | |
|--------|--|-----|
| 5.4.2 | Анализа преживљавања..... | 99 |
| 5.4.3 | Терапијски модалитет и утицај на преживљавање пацијената | 101 |
| 5.4.4 | Први релапс и утицај на преживљавање пацијената | 104 |
| 5.4.5 | Подгрупе пацијената са брзим и касним релапсом и утицај на преживљавање | 105 |
| 5.4.6 | Утицај пола на преживљавање пацијената и настанак релапса | 107 |
| 5.4.7 | Утицај доби на преживљавање пацијената и настанак релапса | 107 |
| 5.4.8 | Утицај хируршке процедуре на преживљавање пацијената и настанак релапса | 108 |
| 5.4.9 | Утицај анатомске регије тумора ларинкса на преживљавање пацијената и настанак релапса | 110 |
| 5.4.10 | Утицај ресекционих рубова на преживљавање пацијената | 111 |
| 5.4.11 | Хистолошки градус и утицај на преживљавање пацијената..... | 112 |
| 5.4.12 | Инвазија у крвне и лимфне судове и перинеурална инвазија и њихов утицај на преживљавање пацијената | 114 |
| 5.4.13 | АЈЦЦ ТНМ стадијум болести карцинома ларинкса и утицај на преживљавање пацијената | 117 |
| 5.4.14 | Анализа утицаја пушења и алкохолизма на преживљавање и појаву релапса .. | 119 |
| | (ц) | 121 |
| 5.4.15 | Анализа експресије ФЛОТ2 у узорцима карцинома ларинкса и утицај на преживљавање | 122 |
| 5.4.16 | Анализа експресије ЕГФР у узорцима карцинома ларинкса и утицај на преживљавање | 125 |
| 5.4.17 | Анализа експресије p16инк4а у узорцима карцинома ларинкса и утицај на преживљавање | 129 |
| 5.5 | Регресиона анализа различитих параметара код пацијената са карциномом ларинкса..... | 133 |
| 6 | ДИСКУСИЈА..... | 136 |
| 7 | ЗАКЉУЧЦИ | 145 |
| 8 | ЛИТЕРАТУРА | 147 |
| 9 | ПРИЛОЗИ..... | 175 |
| 9.1 | Списак скраћеница..... | 175 |
| 10 | БИОГРАФИЈА..... | 177 |

1 УВОД

Карциноми орофаринкса и ларинкса припадају широј групи тумора, коју називамо тумори главе и врата. Постоји више дефиниција да се схвати шта се подразумева под туморима главе и врата. Једна од дефиниција каже: тумор главе и врата укључује тумор уста, носа, синуса, плувачних жлезда, грла и лимфних чворова на врату. Већина почиње у слузницама које облажу уста, нос и грло. Ту слузницу у 95% случајева чини сквамозни епител. Иако су тумори главе и врата повезани са болом, одређеним степенима естетског и функционалног оштећења, психосоцијалним стресом и смрћу, недавни напредак је донео значајна побољшања у исходима и преживљавању (1).

1.1 Епидемиологија

Тумори главе и врата представљају значајан глобални здравствени проблем који се рангира као шести најчешћи узрок смрти од тумора широм свијета (2, 3). Статистика Глобокана не садржи туморе главе и врата као независну категорију. Умјесто тога, подаци о карциномима анатомских подскупина (нпр. ларинкса, орофаринкса, итд.) су представљени одвојено. На основу ових података, карциноми усне, усне дупље, назофаринкса, орофаринкса и ларинкса узети заједно представљају значајан број случајева тумора и смртности широм света. Прорачуни су рађени у развијенијим и у мање развијеним подручјима. Сљедећи бројеви су старосно стандардизоване стопе на 100.000 и стандардизоване су за свјетску стандардну популацију (3). У поређењу са најчешћим узроцима смрти од тумора код мушкараца, тумори главе и врата заузимају седму и шесту позицију у развијенијим и мање развијеним земљама, респективно. Код жена, смртност од тумора главе и врата је на 15. мјесту у развијенијим подручјима и деветом у мање развијеним подручјима свијета. Међународне статистике показују веома високу стопу појаве тумора главе и врата у Мађарској у поређењу са другим земљама. 2004. године, када се 10 земаља придружило Европској унији (ЕУ), Мађарска је предводила укупну статистику смртности од тумора са 258,5 смртних случајева од тумора/100.000 мушкараца. Што се тиче локализације уста или ждријела, Мађарска је на врху листе чланица ЕУ са стопом од 21,9 смртних случајева на сваких 100.000 становника, што представља повећање од 27,5% у односу на другу земљу на том списку, Словачку. Слично, Мађарски мушкарци су такође водили по смртност од ЛЦ (4). Што

се тиче статистике код мађарских жена, оне су биле на другом месту (133,5/100.000) после Данске (136,7/100.000) по укупном броју умрлих од тумора. Мађарска предњачи код карцинома уста или ждријела и морталитета од ЛЦ такође међу женама (4). Контраст између тумора главе и врата који је повезан са хуманим папилома вирусом (ХПВ) и који нису повезани са ХПВ-ом не може се занемарити када се процјењују подаци о епидемиологији ове болести. Како ће много детаљније о овоме бити ријечи у наредним поглављима, ОПЦ повезан са ХПВ-ом представља посебан биолошки и клинички ентитет. Исто тако, о његовој појави треба разговарати одвојено од тумора главе и врата повезаног са дуваном. Током последњих година, акумулирани су убједљиви докази који одражавају драстично повећану инциденцију ОПЦ-а, посебно у Сјеверној Америци и Сјеверној Европи (5). Процент ОПЦ повезаних са ХПВ-ом варира у различитим земљама и регионима. У Шведској је 90%, у Сједињеним Америчким Државама (САД) 50%, док је велика међународна студија закључила да је у просјеку 24,3% ОПЦ повезаних са ХПВ (6). Подаци из светског регистра рака (Учесталост рака на пет континената) могу се користити за даље разјашњавање глобалних трендова инциденције упоређивањем трендова инциденције од 1983. до 2002. године за малигне туморе горњег аеродигестивног тракта који су етиолошки повезани са ХПВ инфекцијом (ОПЦ) наспрам оних који су повезани са конзумацијом дувана (карциноми усне дупље и плућа) (7). Ова студија је открила да се инциденција ОПЦ-а посебно повећала међу младим мушкарцима (<60 година) у развијеним земљама, упркос истовременом паду инциденције карцинома усне дупље и сквамозних ћелија плућа. Ови контрасти указују на улогу ХПВ инфекције у повећању стопе инциденције ОПЦ-а међу мушкарцима. Међутим, у женској популацији, стопе инциденције су порасле за сва три карцинома, подржавајући доминантан ефекат пушења. Ове бројке су у складу са хипотезом о већем утицају ХПВ инфекције на трендове инциденције ОПЦ-а код мушкараца у последњих неколико деценија, за разлику од ефекта пушења на жене (7). Свеобухватно гледано, чини се да све већи број ОПЦ повезаних са ХПВ надмашује корисне ефекте смањења конзумације дувана. Ипак, упркос побољшању дијагностике и интензивног истраживања, петогодишње преживљавање тумора главе и врата генерално остаје релативно слабо, око 60% (8).

Стопа инциденције ОПЦ значајно се повећала широм света, посебно међу ХПВ позитивним млађим мушкарцима (<60 година старости), у економски развијеним земљама (7). Ова промјена посматра се паралелно са смањењем пушења али и

изложености високоризичном онкогеном ХПВ-у као једном од ризичних фактора за развој ОПЦ-а (9, 10). Учесталост ХПВ позитивног (п16+) ОПЦ -а у САД-у повећала се за 225% између 1988. и 2004., док се учесталост ХПВ негативног (п16-) ОПЦ смањила за 50% (11). У Сјеверној Америци 56% ОПЦ су п16+ (11), у Јапану 52%, 45% у Аустралији, 39% у сјеверној и западној Европи, а 13% у остатку свијета (7, 12). Пацијенти са п16+ ОПЦ-ом су најчешће средовјечни бијелци који су при томе непушачи, вишег социоекономског статуса, који су имали више сексуалних партнера (13). Ови пацијенти могу имати ранију изложеност пушењу, али већина нису активни пушачи. Штавише, прогноза за пацијенте са дијагностикованим п16+ ОПЦ је знатно боља него код пацијената са п16- карциномом чији настанак се доводи у везу са дуваном (14). Ово одступање од класичног пацијента који је у седмој деценији са историјом конзумирања дувана и алкохола је драматично измијенила правце истраживања. Генерално, пацијенти из групе са п16+ ОПЦ-ом су чешће мушкарци и релативно млађи него пацијенти из групе п16- (15-18). Они имају боље свеукупно опште стање и најчешће нису пушачи нити имају историју злоупотребе алкохола (19-21). Иако се п16+ ОПЦ обично дијагностикују у већ унапредовалом стадијуму са више местастаза на цервикалним лимфним чворовима, они и даље имају бољу прогнозу него п16- ОПЦ (14, 15, 22, 23). Ово може бити због повећане сензитивности на дејство радиотерапије (РТ), повољних биолошких карактеристика тумора, као и бољег свеукупног стања пацијента (20, 23).

У 2017. години дијагностикован је укупан број 210.606 нових случајева ЛЦ-а, 2.76 нових случајева на 100.000 становника широм свијета, са преваленцијом у тој години од 1,09 милиона случајева (14,33 случајева на 100.000 становника), што чини чак 126.471 умрлих (1,66 на 100.000 становника). Инциденција и преваленција су се повећали за 12,0%, односно 23,8% током последње три деценије, док је смртност опала за приближно 5%. Међу свим врстама карцинома, малигнитети ларинкса наведени су као 22. по инциденцији (0,89% свих карцинома), 18. по преваленцији (1,44% свих карцинома) и 18. по смртности (1,39% свих умрлих од рака). Према Студији глобалног терета болести, повреда и фактора ризика 2017. (ГБД 2017) 86,5% пацијената са ЛЦ налази се у примарној терапији или у контролисаној фази болести, 7,3% је у метастатској фази, 1,0% је у терминалној фази, док 5,1% преживљава са ларингектомијом (24). Све епидемиолошке карактеристике овог малигнитета су знатно израженије код мушкараца. Прецизније, мушкарци имају преко пет пута већу инциденцију (4,64 наспрам 0,86 на 100 000), преваленцију (24,40 наспрам 4,18 на 100 000) и морталитет (2,75 наспрам 0,55 на

100 000), а такође је и пет пута већа вјероватноћа да ће имати тешку неспособност услијед ЛЦ (71,27 наспрам 14,36 на 100 000) (25). Тренутна инциденција је највиша у Европи (5.45 нових случајева на 100.000), затим на америчком континенту (3.37 нових случајева на 100.000), западном Пацифику (2.73 нова случаја на 100.000), југоисточној Азији (2.59 нових случајева на 100.000), Источни Медитеран (1,93 нових случајева на 100 000), док је најмањи у Африци (0,68 нових случајева на 100 000). Морталитет слиједи сличан образац, са највећим бројем смртних случајева од ЛЦ забиљежен је у Европи (2,57 на 100 000), затим слиједи Југоисточна Азија (2,20 на 100 000), Америка (1,62 на 100 000), Источни Медитеран (1,53 по 100.000), западни Пацифик (1.28 на 100.000) и Африка (0.61 на 100.000). Приметно је да је однос између смрти и учесталости ЛЦ-а знатно већи у Африци (0,90) и Југоисточној Азији (0,85), средњи у источном Медитерану (0,79), док је готово 50% нижи у Америци (0,48), западном Пацифику и Европи (0,47). Занимљиво је да иако је учесталост ЛЦ у Европи и Африци опала за приближно 25%, у свим осталим регионима Свјетске здравствене организације (СЗО) инциденција је остала практично стабилна, осим у западном Пацифику (36% пораст) (25).

1.2 Патогенеза карцинома орофаринкса и ларинкса

Карцином је углавном сложена и мултифакторијална болест. СЗО је класификовала ОПЦ на два различита подтипа: п16+ ОПЦ и п16- ОПЦ, са различитим факторима ризика (26). У п16+ ОПЦ-у, фактор ризика је инфекција високоризичним подтипovima ХПВ-а, посебно ХПВ-16 (26, 27), који је одговоран за >90 % свих п16+ ОПЦ (26). За п16- ОПЦ, фактори ризика су пушење дувана и прекомјерна конзумација алкохола (26, 28). Чак и конзумација лаких алкохолних пића повећава ризик од развоја ОПЦ (29). Што се тиче употребе дувана, не само да је начин пушења фактор ризика, већ и жвакање ораха Арека палме (са или без додавања дувана у мешавину) повећава ризик од ОПЦ (30). Комбинација пушења дувана и конзумације алкохола има синергијски ефекат, са забиљеженим 30 пута већим ризиком за особе које и прекомерно пуше и пију (31). Поред тога, други фактори ризика као што су дијететски, имуни и наследни фактори могу повећати ризик од развоја ОПЦ. Фактори ризика у исхрани укључују мањак витамина Д (32, 33) или недостатак жељеза (32, 34), што може повећати ризик од настанка тумора главе и врата. Стабилност и интегритет имунолошког система важан је фактор у

спречавању развоја карцинома. Имунокомпромитовани пацијенти, попут оних са вирусом хумане имунодефицијенције (ХИВ) или код пацијената са трансплантацијом органа, имају висок ризик од развоја оралног/орофарингеалног карцинома (32, 35, 36). Насљедни фактори су још један фактор ризика који клиничари и истраживачи не би смјели занемарити. На пример, пацијенти са одређеним ријетким насљедним болестима, као што је Блумов синдром, имају повећан ризик од развоја оралног/орофарингеалног карцинома (32, 37). Поред тога, неке студије су показале да рођаци пацијената са ОПЦ имају повећан ризик од развоја ове болести, што сугерише породично груписање као фактор ризика за ОПЦ (38, 39).

Неколико фактора ризика укључено је у патогенезу ЛЦ. Најзначајнији од њих су конзумација дувана и алкохола. Показало се да је употреба дувана линеарно повезана са развојем ЛЦ, уз ризик за пушаче који је 10 до 15 пута већи од ризика за непушаче, а најтежи пушачи имају чак 30 пута већи ризик (40, 41). Истраживање је такође показало линеарну везу између количине конзумираног алкохола и ризика од ЛЦ (42). У студији која је испитивала улогу алкохола и дувана у ЛЦ, однос мултиваријантних шанси био је 2,46 за непушаче који пију интензивно (дефинисано као > 8 пића дневно) и 9,38 за пушаче. Такође је показано да алкохол и дуван имају мултипликативни ефекат на ризик од ЛЦ (43). Сматра се да изложеност неким других факторима околине потенцијално повећава ризик од настанка ЛЦ, као што су азбест, полициклични ароматични угљоводоници и текстилна прашина (44, 45). Такође, забиљежени су одређени дијететски фактори ризика, са повећаним уносом црвеног меса расте ризик од ЛЦ, док унос разноврсног воћа и поврћа потенцијално има заштитни ефекат (46, 47). Поред тога, улога коју и гастроезофагеални рефлукс игра у процесу болести је и даље контроверзна (48, 49). Иако је ХПВ доказани покретач великог броја ОПЦ, у почетку се сматрало да ХПВ не игра значајну улогу у настанку ЛЦ. Међутим, појављују се нова истраживања која показују присуство ХПВ-а и/или сурогат маркера за ХПВ16 инфекцију - п16ИНК4а, у мањем броју ЛЦ, иако биолошка и прогностичка важност овог налаза није јасна. Процењује се да се преваленција ХПВ креће од 20% до 30% код ЛЦ-а. Међутим, овај проценат се у великој мери разликује између студија и зависи од методе детекције која се користи (50, 51). Потребно је више рада на утврђивању клиничке значајности ХПВ/п16-позитивног статуса код карцинома ларинкса (52-54).

1.3 Дијагноза

Пацијенти којима је дијагностикован ОПЦ у раној фази имају боље преживљавање и функционални исход након лијечења (55). Рано дијагностиковање ОПЦ-а један је од највећих изазова за клиничаре и онколошке установе, јер је то мултифакторски поступак који зависи од врсте симптома (56), образовања пацијента и економског статуса (57), и спремности здравственог центра и доступности онколога (58). Најчешћи рани симптоми ОПЦ-а су болови у грлу и маса на врату узрокована регионалним метастазама. Главна тегоба п16+ пацијената је маса на врату, док се пацијенти са п16- ОПЦ жале на бол, упалу грла и дисфагију (59, 60). Погрешно дијагностиковање ОПЦ-а у раној фази као тонзилитис је прилично често. Сходно томе, потребно је размотрити трајање симптома, старост пацијента и историју пушења прије утврђивања дијагнозе (61). Једна студија показала је да врста симптома утиче на кашњење пацијента. Жалбе на промуклост и отежано дисање повезане су са дужим одлагањем, док се новотворина на врату повезује са краћим одлагањем (56). Образовање пацијената и економски статус такође су важан фактор ране дијагнозе ОПЦ. Спремност клиничара и здравствених центара је још један важан фактор. Тачна дијагноза резултат је детаљног узимања анамнезе и историје болести, физикалног прегледа, и наравно, биопсија за потврду дијагнозе. ХПВ тестирање је такође важно да се потврди да ли је ОПЦ п16+ или п16-. Друге методе, као што је копјутеризована томографија (КТ), магнетна резонанца (МР) и ултразвук (УЗ), помажу клиничарима у мјерењу величине ОПЦ-а и одређивању статуса регионалних лимфних чворова (62). Спектрометријско снимање је изузетно ефикасно средство за откривање ОПЦ у врло раној фази, чак и у фази ин ситу (55). Утврђено је да је масена спектрометрија моћно средство које се користи за откривање и квантификовање биомаркера карцинома усне дупље и карцинома плућа у раним фазама болести (63-66), па чак и идентификовање метаболичког понашања ових тумора (66-68). Недавно истраживање истраживало је могућности за идентификацију раног ОПЦ-а применом технике масене спектрометрије, и открили су групу серумских протеина који разликују рани ОПЦ од здравих особа (69).

С обзиром на јединствену физиолошку функцију ларинкса, постоји неколико уобичајених симптома који би требало да подстакну даљу обраду за ЛЦ, попут промуклости, дисфоније, диспнеје и дисфункције гутања. Почетна процјена мора да садржи детаљну историју и физикални преглед ради процјене клиничких фактора ризика и тежине симптома. Ово је обично праћено флексибилном назофарингоскопијом за

посматрање ларинкса и мукозних површина. Међутим, овај поступак није увијек адекватан и често је неопходна директна ларингоскопија са биопсијом под анестезијом. Једном када се постави дијагноза, потребна су детаљна клиничко радиолошка снимања. Уобичајене технике снимања укључују КТ, МР и позитронску емисиону тоографију (ПЕТ). Супериорност КТ-а у односу на МР за карцином гркљана је дискутабилна, с тим што КТ обично показује већу специфичност за идентификацију инвазије крикоидне хрскавице, у поређењу са МР, али има мању сензитивност (70). Међутим, недавна побољшања и стандардизација интерпретације МР побољшала су поузданост овог радиолошког модалитета (71). ПЕТ скен се такође показао користан у дијагнози иницијалне болести, а нарочито у евалуацији метастаза. У ретроспективној студији, употреба ПЕТ-а промјенила је план лечења код 38 од 123 пацијента (30,9%) са ЛЦ (72).

1.4 Патохистологија

Као што је већ напоменуто преовлађујућа хистологија код ОПЦ и ЛЦ је епителна, те је најчешћи карцином сквамозних ћелија. Остали непителни тумори као што су тумори лимфоидног ткива, меког ткива, костију и хрскавице (тј. лимфоми и саркоми) су ријетки. Увијек је потребна патохистолошка потврда. Препоручује се хистопатолошко градирање сквамозног карцинома. Оцена је субјективна и користи и дескриптивни и нумерички облик (тј. добро диференциран, умерено диференциран и слабо диференциран), у зависности од степена сличности или одступања од сквамозног епитела на мјестима слузокоже. Такође се препоручује тамо где је изводљиво квантитативна процена дубине инвазије примарног тумора и присуства или одсуства васкуларне инвазије ВИ, ЛИ и перинеуралне инвазије (ПНИ). Иако градус тумора не улази у стадирање тумора, треба га забиљежити. Патолошки опис било ког узорка лимфаденектомије треба да описује величину, број и положај захваћених чворова и присуство или одсуство екстранодалне екстензије (ЕНЕ).

1.5 Ширење тумора

p16+ ОПЦ обично имају добро дефинисане границе и цистичне нодалне метастазе, док p16- ОПЦ обично имају лоше дефинисане туморске границе и врше локалну инвазију (74). Генерално, оба типа ОПЦ могу се ширити на три начина: (1) директним ширењем

на површину слузокоже или дубоко у мишић и кост, (2) лимфатичним путем (3) перинеуралном инвазијом. Дакле, ОПЦ може да инвадира назофаринкс, парафарингеални простор, базу језика, мастикаторни регион и базу лобање (74). МР је супериорнији од КТ за сликовно описивање ширења ОПЦ. Клиничар треба да користи МР за испитивање субмукозне инвазије, суседних мишића, базе лобање и цервикалних лимфних чворова да би дефинисао стварну величину и екстензију тумора, а тиме и стадијум тумора (74). За откривање нодалних метастаза, ПЕТ скен је супериорнији од КТ и МР прегледа (75, 76). Међутим, све горе описане технике нису довољно осетљиве за откривање метастазе ОПЦ величине милиметра које су клинички негативне (клинички Н0) (76, 77). Уз вештог клиничара, чини се да је УЗ супериорна у односу на КТ и МР снимање у откривању малих метастаза због своје моћне просторне резолуције. Ипак, микро-метастазе још увек нису детектабилне ниједном тренутно коришћеном техником снимања (78).

ЛЦ углавном има тенденцију задржавања у примарним структурама ларинкса. Међутим, постоји неколико путева ширења који омогућавају ширење тумора без инвазије крикоидне хрскавице. Чен и сарадници су погледали 103 узорка ларингектомије и приметили да је само 44% Т4 тумора имало продирање хрскавице (79). Тироаритеноидни размак, који је простор између аритеноида и крикоидне хрскавице, може омогућити ширење ЛЦ у задњем бочном правцу. Тумори у пре-епиглотичном простору могу хипотетички инвадирати кроз Бројлов лигамент, где су праве гласнице везане за хрскавицу, са мало или нимало хрскавичне ерозије. Сматра се да је ово повезано са слабошћу перихондријума на месту уметања ових лигамената (80). У супротном, тумор се може проширити кроз мембране крикотироидне или тирохиоидне мембране. Коначно, тумори се могу ширити директно кроз хрскавицу ларинкса. Без обзира на пут ширења, екстерна екстензија тумора подиже Т стадијум до статуса Т4.

1.6 Стадирање болести

Стадијум карцинома у моменту дијагнозе је кључан фактор који дефинише прогнозу и пресудан је елемент у одређивању одговарајућег лијечења на основу искуства и исхода претходних група пацијената са сличним стадијумом. Поред тога, тачно одређивање стадијума болести је неопходно како би процјенили резултате лијечења и клиничких испитивања, како би се олакшала размјена и упоређивање информација између центара

за лијечење и служило као основа за клиничка и базична истраживања карцинома. У овом истраживању кориштена је актуелна Осма едиција америчког заједничког одбора за рак (АЈЦЦ, енг-American Joint Committe on Cancer- АЈСС) у стадирању тумора.

Неколико стејдинг система се користе у свијету. Клинички најкориснији систем за стејдинг је тумор, нодус, метастаза систем (ТНМ), који заједнички подржавају АЈЦЦ и Међународна унија за контролу рака (УИЦЦ, енг- International Union for Cancer Control UICC). ТНМ систем класификује карциноме према величини и ширењу примарног тумора (Т), захваћености регионалних лимфних чворова (Н) и присуству или одсуству удаљених метастаза (М), и пажљиво допуњених одабраним неанатомским прогностичким факторима.

Основна разлика између претходне седме и актуелене осме АЈЦЦ ТНМ класификације ОПЦ су да је ОПЦ у осмој класификацији подјељен на п16+ и п16- ОПЦ и тумор хипофаринкса (табела 1-4). Рационал за подјелу ОПЦ на п16+ и п16- је у претходним поглављима образложен, а детаљно ћемо се бавити у наставку дисертације.

Табела 1. Осма АЈЦЦ ТНМ класификација за п16- ОПЦ, Т стадијум;

| Т стадијум | |
|----------------|---|
| ТНМ категорија | Дефиниција |
| Tx | Примарни тумор се не може процјенити |
| Tis | Carcinoma in situ |
| T1 | Тумор 2 цм или мањи у највећој димензији |
| T2 | Тумор већи од 2 цм, али не већи од 4 цм у највећој димензији |
| T3 | Тумор већи од 4 цм у највећој димензији или ширење на језичну површину епиглотиса |

| | |
|-----|--|
| T4 | Умерено узнатредовала или врло узнатредовала локална болест |
| T4a | Умјерено узнатредовала локална болест. Тумор врши инвазију гркљана, спољашњег мишића језика, медијални птеригоидни мишић, тврдо непце или мандибулу * |
| T4b | Веома узнатредовала локална болест. Тумор напада бочни птеригоидни мишић, птеригоидне плоче, бочни назофаринкс или базу лобање или обухвата каротидну артерију |

* Напомена: Проширење слузокоже на језичну површину епиглотиса из примарних тумора базе језика и валекуле не представља инвазију ларинкса.

Табела 2. Осма АЈЦЦ ТНМ класификација за п16- ОПЦ, Н стадијум;

| Н стадијум | |
|----------------|---|
| ТНМ категорија | Дефиниција |
| Нх | Лимфни чворови се не могу процјенити |
| Н 0 | Метастазе у лимфне чворове нису присутне |
| Н 1 | Метастазе у једном ипсилатералном лимфном чвору, величине 3 цм или мање у највећој димензији, ЕНЕ (-) |
| Н 2 | Метастазе у једном ипсилатералном чвору већем од 3 цм, али не већем од 6 цм у највећој димензији и ЕНЕ -; или метастазе у више ипсилатералних лимфних чворова, ниједна већа од 6 цм у највећој димензији и ЕНЕ (-); у билатералним или контралатералним |

Табела 4. Осма АЈЦЦ ТНМ класификација за п16- ОПЦ, стадијум болести;

| Прогностички стадијум болести | | | |
|-------------------------------|-------------|-------------|----|
| Стадијум болести | Т | Н | М |
| 0 | Tis | Н 0 | М0 |
| I | T1 | Н 0 | М0 |
| II | T2 | Н 0 | М0 |
| III | T3 | Н 0 | М0 |
| | T1 | Н 1 | М0 |
| | T2 | Н 1 | М0 |
| | T3 | Н 1 | М0 |
| IVa | T1 | Н 2 | М0 |
| | T2 | Н 2 | М0 |
| | T3 | Н 2 | М0 |
| | T4a | Н 0,1,2 | М0 |
| IVб | T4б | Било који Н | М0 |
| | Било који Т | Н 3 | М0 |
| IVц | Било који Т | Било који Т | 1 |

Табела 5. Осма АЈЦЦ ТНМ класификација за п16+ ОПЦ, Т стадијум;

| Т стадијум | |
|----------------|--|
| ТНМ категорија | Дефиниција |
| T0 | Примарни тумор није идентификован |
| T1 | Тумор 2 цм или мањи у највећој димензији |

| | |
|----|---|
| T2 | Тумор већи од 2 цм, али не већи од 4 цм у највећој димензији |
| T3 | Тумор већи од 4 цм у највећој димензији, или ширење на језичну површину епиглотиса |
| T4 | Умерено узнатрговала локална болест Тумор врши инвазију гркљана, спољашњег мишића језика, медијални птеригондни мишић, тврдо непце, мандибулу или даље * |

* Мукозна екстензија на језичну површину епиглотиса из примарних тумора базе језика и валекуле не представља инвазију гркљана

Табела 6. Осма АЈЦЦ ТНМ класификација за п16+ ОПЦ, Н стадијум;

| Клинички Н стадијум | |
|---------------------|--|
| ТНМ категорија | Дефиниција |
| Nx | Регионални лимфни чворови се не могу процјенити |
| N 0 | Метастазе у регионалне лимфне чворове нису присутне |
| N 1 | Метастазе у једном или више ипсилатералних лимфатика, не веће од 6 цм. |
| N 2 | Метастазе у билатералним или контралатералним лимфним чворовима, ниједна већа од 6 цм. |
| N 3 | Лимфни чвор(ови) већи од 6 цм. |

Табела 7. Осма АЈЦЦ ТНМ класификација за п16+ ОПЦ, М стадијум;

| М стадијум | |
|----------------|----------------------------|
| ТНМ категорија | Дефиниција |
| М 0 | Нема удаљених метастаза |
| М 1 | Присутне удаљене метастазе |

Напомена: не постоји градус стадирање за ХПВ узроковане ОПЦ.

Табела 8. Осма АЈЦЦ ТНМ класификација за п16+ ОПЦ, стадијум болести;

| Прогностички стадијуми болести | | | |
|--------------------------------|----------------|---------------|----|
| Стадијум болести | Т | Н | М |
| I | T0, T1, T2 | N 0, N 1 | M0 |
| II | T0, T1, T2 | N 2 | M0 |
| | T3 | N 0, N 1, N 2 | M0 |
| III | T0, T1, T2, T3 | N 3 | M0 |
| | T4 | N 1, N 2, N 3 | |
| IV | Било који Т | Било који Н | M1 |

Као и код стадирања ОПЦ и код ЛЦ кориштена је осма АЈЦЦ ТНМ класификација (табела 9-14). Ларинкс је подијељен на три региона: супраглотис, глотис и субглотис. Расподјела карцинома је следећа: 30% до 35% у супраглотичном региону, 60% до 65% у глотичком региону и 5% у субглотичном региону. Инциденција и образац ширења метастаза на регионалне чворове варирају у зависности од примарне регије. Лимфна дренажа глотиса је оскудна, а почетни слојеви у раној фази ријетко се шире на регионалне чворове. Будући да је промуклост рани симптом, већина глотичких карцинома је у раној фази дијагнозе. Дакле, глотички карцином има одличну стопу

излечења од 80% до 90%. Укљученост чворова негативно утиче на стопу преживљавања и ријетка је код болести T1–2. Супротно томе, више од 50% пацијената са супраглотичним примарним карциномима има ширење на регионалне чворове због обилне лимфне мреже која прелази средњу линију. Билатералне цервикалне метастазе нису неуобичајене код болесника са примарним супраглотичним туморима у раној фази. Дакле, супраглотични карцином је често локално унапредовао у моменту дијагнозе.

Табела 9. Осма АЈЦТ ТНМ класификација за супраглотични ЛЦ, Т стадијум;

| Т стадијум | |
|----------------|--|
| ТНМ категорија | Дефиниција |
| T1 | Тумор је локализован на један дио супраглотиса, са нормалном покретљивошћу гласница |
| T2 | Тумор врши инвазију слузнице више од једног суседног дијела супраглотиса или глотиса или регије изван супраглотиса (нпр. слузница дна језика, валекуле, медијални зид пириформног синуса) без фиксирања ларинкса. |
| T3 | Тумор ограничен на ларинкс са фиксацијом гласница и/или инвадира било шта од слиједећег: посткрикоидно подручје, преепиглотични простор, параглотични простор и/или унутрашњи кортекс тироидне хрскавице. |
| T4 | Умерено унапредовала или врло унапредовала локална болест |
| T4a | Умерено унапредовала локална болест. Тумор инвадира кроз спољни кортекс крикоидне хрскавице и/или напада ткива изван ларинкса (нпр. душник, мека ткива врата, укључујући дубоки спољни мишић језика, ремене мишиће, штитњачу или једњак) |

| | |
|-----|---|
| T4b | Веома унапредовала локална болест. Тумор инвадира превертебрални простор, обухвата каротидну артерију или напада медијастиналне структуре |
|-----|---|

Табела 10. Осма АЈЦТ ТНМ класификација за глотични ЛЦ, Т стадијум;

| Т стадијум | |
|----------------|---|
| ТНМ категорија | Дефиниција |
| T1 | Тумор ограничен на гласицу (и) (може да укључује предњу или задњу комисуру) са нормалном покретљивошћу |
| T1a | Тумор ограничен на једну гласницу |
| T1b | Тумор укључује обе гласне жице |
| T2 | Тумор се протеже на супраглоттис и/или субглоттис и/или са оштећеном покретљивошћу гласница |
| T3 | Тумор ограничен на ларинкс са фиксацијом гласница и/или инвазијом параглотичног простора и/или унутрашњег кортекса штитасте хрскавице |

| | |
|-----|---|
| T4 | Умерено узнатредовала или врло узнатредовала локална болест |
| T4a | Умерено узнатредовала локална болест. Тумор инвадира кроз спољни кортекс штитасте хрскавице и/или инвадира ткива изван ларинкса (нпр. душник, крикоидна хрскавица, мека ткива врата, укључујући дубоки спољни мишић језика, мишиће ремена, штитњачу или једњак) |
| T4b | Веома узнатредовала локална болест. Тумор инвадира превертебрални простор, обухвата каротидну артерију или напада медијастиналне структуре |

Табела 11. Осма АЈЦЦ ТНМ класификација за сублотични ЛЦ, Т стадијум;

| Т стадијум | |
|----------------|---|
| ТНМ категорија | Дефиниција |
| T1 | Тумор ограничен субглотис |
| T2 | Тумор се шири на гласне жице са нормалном или оштећеном покретљивошћу |
| T3 | Тумор ограничен на ларинкс са фиксацијом гласница и/или унутрашњим кортексом штитасте хрскавице |

| | |
|-----|---|
| T4 | Умерено узнатредовала или врло узнатредовала локална болест |
| T4a | Умерено узнатредовала локална болест. Тумор инвадира кроз спољни кортекс штитасте хрскавице и/или инвадира ткива изван ларинкса (нпр. душник, крикоидна хрскавица, мека ткива врата, укључујући дубоки спољни мишић језика, мишиће ремена, штитњачу или једњак) |
| T4b | Веома узнатредовала локална болест. Тумор инвадира превертебрални простор, обухвата каротидну артерију или напада медијастиналне структуре |

Табела 12. Осма АЈЦЦ ТНМ класификација за ЛЦ, Н стадијум;

| Клинички Н стадијум | |
|---------------------|---|
| ТНМ категорија | Дефиниција |
| Нх | Регионални лимфни чворови се не могу процјенити |
| Н 0 | Метастазе у регионалне лимфне чворове нису присутне |
| Н 1 | Метастазе у једном ипсилатералном лимфном чвору, не већи од 3 цм. |
| Н 2а | Метастаза у једном ипсилатералном лимфном чвору, већа од 3 цм, али не већа од 6 цм у највећој димензији и ЕНЕ (-) |
| Н 2б | Метастазе у више ипсилатералних лимфних чворова, ниједна већа од 6 цм у највећој димензији и ЕНЕ (-) |
| Н 2ц | |

| | |
|------|---|
| | Метастазе у билатералним или контралатералним лимфним чворовима, не веће од 6 цм у највећој димензији и ЕНЕ (-) |
| Н 3а | Метастаза у лимфном чвору, већа од 6 цм у највећој димензији и ЕНЕ (-) |
| Н 3б | Метастаза у било ком лимфном чвору (има) са клинички очигледним ЕНЕ (+) |

Табела 13. Осма АЈЦТ ТНМ класификација за ЛЦ, М стадијум;

| М стадијум | |
|----------------|----------------------------|
| ТНМ категорија | Дефиниција |
| М 0 | Нема удаљених метастаза |
| М 1 | Присутне удаљене метастазе |

Табела 14. Осма АЈЦТ ТНМ класификација за ЛЦ, стадијум болести;

| Прогностички стадијум болести | | | |
|-------------------------------|-----|-----|----|
| Стадијум болести | Т | Н | М |
| 0 | Tis | Н 0 | М0 |
| I | T1 | Н 0 | М0 |
| II | T2 | Н 0 | М0 |
| III | T3 | Н 0 | М0 |
| | T1 | Н 1 | М0 |
| | T2 | Н 1 | М0 |
| | T3 | Н 1 | М0 |
| IVa | T1 | Н 2 | М0 |

| | | | |
|-----|-------------|-------------|----|
| | T2 | N 2 | M0 |
| | T3 | N 2 | M0 |
| | T4a | N 0,1,2 | M0 |
| IVб | T4б | Било који Н | M0 |
| | Било који Т | N 3 | M0 |
| IVц | Било који Т | Било који Т | M1 |

1.7 Лијечење

Све више се иде у прилог томе да би ХПВ статус требало користити као фактор стратификације или би га требало рјешавати у одвојеним клиничким испитивањима (болест повезана са ХПВ-ом у односу на болест невезану са ХПВ-ом) за коју пацијенти са ОПЦ испуњавају критеријуме (81-83). Неки клиничари сугеришу да би мање интензиван третман могао бити адекватан за п16+ ОПЦ (тј. деинтенсификација) (84). Међутим, доступни подаци који поткрепљују ову тврдњу ограничени су ретроспективним анализама, испитивањима фазе 3 у једној институцији, различитошћу кориштене методе тестирања ХПВ и кратким периодима праћења (84, 85-87). Стратегије под активним испитивањем укључују смањење или употребу дозе РТ стратификоване по одговору, употребу саме РТ насупрот хемиотерапији (ХТ), употребу мање инвазивних хируршких поступака као што је трансорална роботска хирургија (ТОРС, енг - transoral robotic surgery, TORS), примјену конкомитантне хемио/радиотерапије (ХТ/РТ) и употребу имунотерапије и циљане терапије, попут цетуксимаба (87-89). Резултати вишеструких испитивања фазе II показују да је деинтенсификација РТ повезана са обећавајућим стопама периода без прогресије болести (ПФС) код пацијената са п16+ ОПЦ (90-95). Анализе исхода квалитета живота из једног од ових испитивања показале су да је деинтенсификација РТ повезана са бржим повратком на нормално функционисање, као прије терапије (96). Уз неке изузетке, алгоритми лечења п16- и п16+ ОПЦ су идентични. Тренутно нема доказа да би нови стејдинг критеријуми, објављени у осмом издању АЈЦЦ Приручника за стадирање карцинома (97), требали утицати на клиничко доношење одлука о лијечењу. Разлика између п16+ и п16- ОПЦ је углавном прогностичка.

Рани стадијум (T1–2, N – 1 за p16 негативну болест; T1–2, N0 или појединачни чвор ≤ 3 цм за p16 позитивну болест) ОПЦ-а може се лијечити: 1) ресекцијом примарног тумора са дисекцијом врата; или 2) дефинитивна РТ (98-101). Резултати рандомизованог испитивања ORATOR фазе II, које је обухватило 68 пацијената са раним стадијумом ОПЦ, показали су да су исходи квалитета живота генерално бољи за пацијенте лијечене РТ, у поређењу са пацијентима који су лијечени са ТОРС и дисекцијом врата (102).

На основу резултата фазе III рандомизованог испитивања GORTEC (103) и ретроспективних анализа (104, 105), ХТ/РТ је опција лијечења за пацијенте са p16- N1 болешћу. Међутим, ово је опција категорије 2Б доказа, с обзиром да је број пацијената са T1 – T2, N1 болешћу, укључен у испитивање GORTEC мали, па је потребно више података из проспективних испитивања. За пацијенте са p16+ болешћу, ХТ/РТ је такође опција категорије 2Б за T1 – T2 болест и захваћеност једног чвора ≤ 3 цм.

Истраживања о утицају лоших карактеристика тумора као што су ЕНЕ и број захваћених чворова на исходе код пацијената са p16+ болешћу, а који су подвргнути ресекцији, брзо се развија. Тренутно су доступни подаци само из ретроспективних испитивања, (106-111), а спроводе се клиничка испитивања како би евентуално потврдили значај ревидираног АЈЦЦ стејџинга (97) на клиничко одлучивање. Анализе из испитивања RTOG 9501 (112) и EORTC 22931 (113) показале су да је ЕНЕ повезана са лошом прогнозом код пацијената са локално унапредовалим туморима главе и врата који су подвргнути хируршкој ресекцији (114). Међутим, у прегледу објављених података примећено је да се у овим студијама није истраживао утицај ХПВ статуса (115). Као одговор на овај преглед, истражитељи из RTOG 9501 и EORTC 22931 истакли су да је преваленција p16+ тумора вероватно била мала у овим испитивањима (116). Адјувантна ХТ/РТ остаје препорука категорије један за пацијенте са другим туморима главе и врата који имају ЕНЕ. Због недостатка висококвалитетних, проспективних клиничких доказа, ова препорука је опција категорије 2А за пацијенте са p16-позитивном болешћу и p16-болешћу.

За пацијенте са позитивним или блиским маргинама, поновна ресекција (ако је изводљиво), РТ и ХТ/РТ су опције лијечења (117). За пацијенте са другим факторима ризика, опције укључују РТ или ХТ/РТ. За пацијенте са p16+ болешћу и другим факторима ризика као што су pT3 или pT4 примарни тумор, један позитивни чвор >3 цм

или више позитивних чворова, позитивни лимфатици у нивоима IV или V, ПНИ, ВИ или ЛИ, ХТ/РТ је опција категорије 2Б.

За локално узнапредовалу ресектабилну болест (Т3-4а, Н0-1 или Н2-3 за п16- болест; Т1-2, клинички Н1 (појединачни чвор >3 цм или 2 или више ипсилатералних чворова ≤6 цм) или Н2, или Т3, Н0-3 или Т4 за п16 позитивну болест), поред препоруке за учешће у клиничким испитивања, препоручују се три могућности лечења: 1) конкомитантна ХТ/РТ (117,118); 2) ресекција примарног тумора и дисекција врата (са одговарајућом адјувантном терапијом (ХТ/РТ или РТ); или 3) индукциона хемиотерапија (ИХТ), категорија 3 доказа, и потом РТ или ХТ/РТ (98, 99, 119).

Као и код болести у раном стадијуму, тумори на средњој линији или непосредно уз средњу линију, треба озбиљно размотрити за билатерални третман врата. Анализа која укључује 3.063 пацијента са клинички Т1, Н2 или Т2, Н1-2 п16+ ОПЦ није показала статистички значајну разлику у трогодишњем ОС-у између пацијената који су у старту имали операцију и пацијената који су добили дефинитивну ХТ/РТ (120). Конкомитантна ХТ/РТ је пожељна код пацијената са локорегионално узнапредовалом п16+ болешћу који имају клинички позитивне лимфне чворове, фиксирани или очигледну ЕНЕ, јер се овим пацијентима не препоручује операција. Препоруке у вези са адјувантном терапијом локално узнапредовале болести не разликују се између п16- и п16+ ОПЦ.

Конкомитантна ХТ/РТ - са високим дозама цисплатина као пожељним системским агенсом - препоручује се за лечење локорегионално узнапредовалог п16+ и п16- ОПЦ-а. Пацијенти са клинички Н2-3 болешћу имају већу вјероватноћу да ће им требати троструки модалитет лијечења због патохистолошких фактора лоше прогнозе који су присутни након ресекције, а што може бити повезано са повећаном токсичношћу. Стога се дефинитивна ХТ/РТ преферира у односу на операцију као прву опцију лијечења за п16+ Т4 или Н3 ОПЦ. ИХТ не треба препоручити за локално или регионално узнапредовали ОПЦ, категорија три доказа.

Избор системске терапије треба индивидуализовати на основу карактеристика пацијента, нпр. перформанс статус, циљеви лијечења. Конкомитантна ХТ (цисплатин)/РТ је префериран приступ за фит пацијенте са локално узнапредовалом болешћу. Може се користити ИХТ заснована на цисплатину, праћен локорегионалним третманом заснованим на ХТ/РТ. Међутим, побољшање ОС-а укључивањем ИХТ у поређењу са директним преласком на савремени конкомитантни ХТ/РТ третман

(цисплатин префериран, категорија 1) није утврђено у рандомизованим студијама. Цисплатин базирана ИХТ на сваке три недјеље повезана је са повећаном токсичности (121, 122). Након ИХТ може се користити више опција за РТ дио терапије, укључујући само РТ, посебно за пацијенте са потпуним одговором након ИХТ.

Лијечење пацијената са карциномом ларинкса подјељено је у двије категорије: 1) тумори глотичког ларинкса; или 2) тумори супраглотичног ларинкса. За пацијенте са карциномом ин ситу, препоручене могућности лијечења укључују: 1) ендоскопску ресекцију, која је пожељнија; или 2) РТ (123, 124). За глотички или супраглотични карцином у раној фази, систематски преглед објављен 2009. године показао је да операција или РТ имају сличну ефикасност (125). Систематски преглед који је обухватио 48 студија пацијената са Т2 глотичким карциномом није показао никакву разлику у петогодишњој локалној контроли између ТОРС (1.156 пацијената; 77,3%) и РТ (3.191 пацијента; 75,8%) (126). Међутим, метаанализа која је обухватила 11 студија показала је да су ОС ($p = .04$) и очување ларинкса ($p < .001$) бољи код пацијената који су лијечени трансоралном ласерском микрохирургијом, у поређењу са пацијентима леченим РТ (127). Избор начина лечења зависи од очекиваног функционалног исхода, пацијентових жеља, поузданости праћења и општег здравственог стања (128). Код пацијената са значајним плућним коморбидитетом, тотална ларингектомија (ТЛ) може бити боља ларинкс презервирајућих операција (ЛПС) као нпр. ендоскопске или отворене парцијалне ларингектомије. Треба размотрити сваку сумњиву лимфаденопатију и ризик од метастатске болести лимфатика. Дисекцију врата треба извршити како је назначено када се примарно мјесто лечи хируршки. Супраглотични карциноми Т1 – Т2 имају значајан ризик од окултних лимфатичних метастаза.

Постоперативна адјувантна терапија зависи од присуства или одсуства лоших прогностичких карактеристика, као што су статус маргине, нодални статус и ЕНЕ. У случају блиских или позитивних маргина у ЛПС, треба размотрити поновну ресекцију на негативне маргине. Ово може или не мора да захтева ТЛ.

Код ресектабилних узнапредовалих примарних карцинома глотиса или супраглотиса обично се примјењују комбиновани модалитети лијечења. Ако је индикована ТЛ, али је пожељно очување органа, препоручује се конкомитантна ХТ/РТ, на основу резултата испитивања Intergroup RTOG 91-11 (129, 130). RTOG 91-11 је поредио је три нехируршка режима: 1) ИХТ цисплатин/5-флуороурацил праћен РТ, 2) истовремена РТ и високе дозе

цисплатина 100 мг/м² дана 1, 22 и 43; и 3) само РТ. Доза РТ је била уједначена у све три групе (70 Gy/7 недеља, 2 Gy/фракцији), као и опција хируршке интервенције (укључујући ТЛ) за релапсну/рефракторну болест у свим групама. Прихватљиви су били пацијенти са стадијумима III и IV (M0) болести, изузев T1 примарних и узнатрених T4 (тумор који се протеже више од 1 цм у дну језика или тумор који продире кроз хрскавицу). Кључни налази испитивања RTOG 91-11 били су: 1) статистички значајно виша двогодишња стопа очувања ларинкса (локална контрола) од 88% за конкомитантну РТ са цисплатином, у поређењу са 74% за ИХТ и 69% само за РТ; 2) нема значајне разлике у очувању ларинкса између индукције и само РТ; и 3) слично преживљавање за све групе лечења. На основу ових резултата, конкомитантна ХТ/РТ (пожељан цисплатин, категорија 1) је опција лечења за постизање очувања ларинкса за T3, било који Н глотички и супраглотици карцином (130). Дугорочно праћење (10 година) RTOG 91-11 показује да је очување ларинкса и даље боље код ХТ/РТ у поређењу са било ИХТ или само са РТ (129). ОС није статистички сигнификантан за све групе лијечења; било је више морталитета који није повезан са карциномом међу пацијентима који су лијечени ХТ/РТ. Дефинитивна РТ (без системске терапије) опција је за пацијенте са болести T3, N0-1 који су нон фит или одбијају системску терапију. Хируршка интервенција је резервисана за лијечење врата како је назначено, за оне пацијенте чија болест траје и након ХТ/РТ или РТ.

ИХТ опција је за све осим за T1-2, N0 глотички и супраглотици тумор. На основу дугорочног ажурирања RTOG 91-11, ИХТ је опција за пацијенте који захтијевају (којима је потребна) ТЛ (129). Након потпуног или дјелимичног одговора ИХТ за пацијенте са ЛЦ, препоручује се само РТ (категорија 1) (129); ХТ/РТ је препорука категорије 2Б након дјелимичног одговора (131 - 133).

За пацијенте са глотичким и супраглотициним туморима T4a, препоручени приступ лијечењу је ТЛ са могућом хеми- или тоталном тиреоидектомијом и одговарајућа дисекција врата праћена адјувантним лечењем (РТ или ХТ/РТ) (134). За одабране пацијенте са туморима T4a који одбијају операцију, размотрити ХТ/РТ, клиничка испитивања, или ИХТ са додатним лијечењем сходно одговору (129, 130).

Системско лијечење за локално узнатрени, иноперабилни, те метастатски ОПЦ и ЛЦ је приказан у табелама у наставку дисертације (табела 15-19).

Табела 15. Примарни системски третман + РТ за сквамозне туморе главе и врата.

| Примарни системски третман + радиотерапија |
|---|
| <ul style="list-style-type: none">• Преферирани протоколи• Високодозни цисплатин (категија 1)• Карбоплатин/5-флуороурацил (5-ФУ) (категија 1)• Други препоручени протоколи• Карбоплатин/паклитаксел (категија 2Б)• Седмични цисплатин 40мг/м² (категија 2Б)• Корисно у одређеним ситуацијама• 5-ФУ/хидроксиуреа (категија 2Б)• Цетуксимаб (категија 2Б)• Цисплатин/5-ФУ (категија 2Б)• Цисплатин/паклитаксел (категија 2Б) |

Табела 16. ИХТ за сквамозне туморе главе и врата.

| Индукциона/секвенцијална системска терапија |
|--|
| <ul style="list-style-type: none">• Преферирани протоколи• Доцетаксел/цисплатин/5-ФУ (категија 1 заиндукциону терапију)• Карбоплатин/5-флуороурацил (5-ФУ) (категија 1)• Други препоручени протоколи• Паклитаксел/цисплатин/5-ФУ (категија 2Б) |

Табела 17. Системска терапија + РТ за сквамозне туморе главе и врата након ИХТ.

| Системска терапија + РТ након индукционе терапије |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Преферирани протоколи • Седмични карбоплатин + РТ • Седмични цисплатин (категорија 2Б) + РТ • Други препоручени протоколи • Седмични цетуксимаб |

Табела 18. Постооперативни системски третман + РТ за сквамозне туморе главе и врата.

| Постооперативна системска терапија/РТ |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Преферирани протоколи • Цисплатин (категорија 1 за високоризични нон-орофарингелани карцином) • Корисно у одређеним ситуацијама • Доцетаксел/цетуксимаб (категорија 2Б), за цисплатин непожељне и позитивне маргине и/или ЕНЕ |

Табела 19. Принципи системске ХТ за сквамозне не-назофарингеалне туморе главе и врата.

| Рекурентна, нересектабилна, или метастатска болест (без могућности РТ или операције) |
|--|
| <p>Прва линија</p> <ul style="list-style-type: none"> • Пембролизумаб/платински препарати (цисплатин или карбоплатин)/5-ФУ (категорија 1 доказа) • Пембролизумаб (за туморе са експресијом PD-L1 са CPS \geq1) (категорија 1 ако је CPS \geq 20) <p>Наредне линије (ако није кориштено у претходним линијама терапије)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ниволумаб (код прогресије болести након платинскетерапије) (категорија 1) |

- Пембролизумаб (код прогресије болести након платинске терапије) (категорија 1)
- Други препоручени протоколи (као прва или наредна линија терапије)
- Комбиновани протоколи:
- Цетуксимаб/платина (цисплатин или карбоплатин)/5-ФУ (категорија 1)
- Цисплатин/цетуксимаб
- Цисплатин или карбоплатин/доцетаксел или паклитаксел
- Цисплатин /5-ФУ
- Цисплатин ог карбоплатин /доцетаксел/цетуксимаб
- Цисплатин ог карбоплатин /паклитаксел/цетуксимаб
- Pembrolizumab/platinum (цисплатин или карбоплатин)/паклитаксел (категорија 2Б)
- пембролизумаб/ цисплатин или карбоплатин/доцетаксел (категорија 2Б)
- Моно агенци
- Цисплатин
- Карбоплатин
- Паклитаксел
- Доцетаксел
- 5-ФУ
- Метотрексат
- Цетуксимаб
- Капецитабин
- Афатиниб (наредне линије једино, након прогресије на платинску терапију) (категорија 2Б)
- Корисно у одређеним ситуацијама (као прва или наредна линија терапије)
- Циклофосфамид/доксорубицин/винкрестин (категорија 2Б)
- Пембролизумаб (за MSI-H туморе)

1.8 Превенција

Према Америчком друштву за борбу против рака, превенција ОПЦ у основи зависи од избегавања фактора ризика, као што су пушење, конзумација алкохола и инфекција ХПВ-ом (31). ХПВ скрининг (135) и откривање ОПЦ у раној фази имају велику вредност у контроли болести. Поред тога, постоје две врсте ХПВ вакцина, превентивне и терапијске вакцине (135). Превентивне (или профилактичке) вакцине су развијене против и ефикасне су код ХПВ повезаног карцинома грлића материце. Иако ове вакцине такође вероватно нуде заштиту од ХПВ инфекције уста и грла, овај ефекат још увек није потврђен (135). Терапијске вакцине су намјењене лечењу већ заражених ХПВ пацијената и заштити их од развоја карцинома повезаних са ХПВ-ом активирањем ћелијског имунитета да елиминишу ћелије заражене ХПВ-ом. Тренутни циљеви за терапијске вакцине су онкопротеини Е6 и Е7 који су од суштинске важности за појаву карцинома повезаних са ХПВ-ом и вирусне хеликазе Е1 и Е2 чија је експресија висока у врло раним фазама пре интеграције вирусног генома. Међутим, терапијске вакцине тренутно пролазе клиничка и лабораторијска испитивања и још увек нису одобрене за клиничку употребу (135, 136).

Сматра се да се већина ЛЦ може превенирати усвајањем здравог начина живота. Прво, избегавање дуванских производа. Коришћење дуванских производа повећава шансе за развој неколико различитих врста карцинома, укључујући и ЛЦ. Дуван долази у многим облицима, укључујући: цигарете, дуван за луле, различити облици цигара, томпуси, бурмут (дуван у праху који се ушмркава кроз нос), дуван за жвакање. Прекидање пушења и кориштења других дуванских производа, донијеће краткорочне и дугорочне здравствене бенефиције, укључујући значајно смањење ризика од развоја ЛЦ. Друго, смањити конзумацију алкохола. Студије су откриле да се ризик од развоја ЛЦ значајно смањује у року од пет до 10 година од престанка пијења, а након 20 до 30 година ризик је отприлике исти као код некога ко никада није пио алкохол. Истраживања показују да дијета која садржи пуно свежег воћа и поврћа, посебно парадајза, цитрусног воћа (попут поморанце, грејпа и лимуна), маслиновог уља и рибљег уља, може смањити ризик од оболевања од ЛЦ. Ова врста дијете је позната и као „медитеранска дијета“. Једење довољно воћа и поврћа сваког дана може помоћи да се смање шансе за развој многих врста карцинома, укључујући и ЛЦ.

1.9 Праћење и квалитет живота

Већина пацијената са туморима главе и врата мршави и нутритивно је угрожена као последица њихове болести, здравственог понашања и компликацијама везаним за лијечење. Исхрана је веома важна код пацијената са туморима главе и врата како би се побољшали исходи и смањили значајне привремене или трајне компликације повезане са лијечењем (нпр. озбиљан губитак тежине). Дијететичар и терапеут за говор и гутање треба да буду дио мултидисциплинарног тима за лијечење пацијената са тумором главе и врата током континуитета њега (137-139). Не препоручује се профилактичко постављање нутритивних стома код пацијената са добрим перформанс статусом и без значајног губитка тежине прије третмана, значајне опструкције дисајних путева или озбиљне дисфагије. Треба процјенити ниво болног синдрома услијед оралног мукозитиса као последице лијечења те пацијентима прописати габапентин, доксепин, и оралне емулзије за испирање уста (140 - 142).

За даље праћење препоруке су да се спроводи комплетан преглед главе и врата; и огледало и фиброоптички преглед) и то: прва година, сваких 1–3 мјесеца, друга година, сваких 2–6 мјесеца, трећа до пета година, сваких 4–8 мјесеца, дуже од пет година, сваких 12 месеци. Већина рецидива након лијечења тумора главе и врата јавља се у прве двије године. Надзор може бити изазов због промјењене анатомије и/или фиброзе усљед хируршке интервенције, РТ и/или ХТ. Не постоје консензусне смернице о учесталости и модалитету рутинског радиолошког праћења послје третмана код асимптоматског пацијента. УЗ врата је користан за евалуацију лимфних чворова. УЗ је широко доступна метода, сигурна, брза, јефтина и тачна метода за испитивање врата (143). Није доказана корист у даљем радиолошком снимању ако је иницијални тромјесечни ПЕТ скен био негативан. Хо и сарадници нису пријавили значајну разлику у трогодишњемДФС-у код пацијената који су подвргнути сликовном надзору у односу на оне који имају само клинички надзор (41% наспрам 46%, $p=0.91$) (144). Савјетује се радити тироид-стимулишући хормон (ТСХ) на сваких 6–12 мјесеци ако је спроведена РТ врата. Процјена говора/слућа и гутања и рехабилитација према клиничким индикацијама. Процјена нутритивног статуса и рехабилитација према клиничкој индикацији док се нутритивни статус не стабилизује. Прекид пушења и узимања алкохола.

Препоруке за праћење за ЛЦ остају исте. Што се тиче квалитета живота и њега ових болесника током и послје лијечења пресудан је значај мултидисциплинарног тимског

рада, укључујући медицинске, радио и хируршке онкологе, али такође и дијететичаре, стручњаке за говор и гутање, радиологе и социјалне службе. Висок психијатријски морбидитет повезан је са ЛЦ, чинећи пажљиво праћење и процјену важним за успјешан третман (145). Као што је горе описано, лијечење ЛЦ носи јединствени морбидитет губитка природног говора и пацијенти би тога требали бити свјесни. Ако је рађена ТЛ, онда гласовна протеза представља драгоцен алат за пацијенте. Међутим, чак и за пацијенте који су подвргнути ЛПС, познато је да РТ може изазвати поремећај говора; стога би требало размотрити евалуацију после лијечења и гласовну обуку за пацијенте који се подвргавају РТ (146). Слично томе, ако је пацијент трахеотомиран, онда пацијенти треба да буду упућени у правилно одржавање трахеостоме. Адекватна хидратација и исхрана је од пресудне важности, а тежину пацијента треба редовно надгледати (147). Постављање и употреба нутрицијске интервенције, попут перкутане ендоскопске гастростоме, треба да се врши заједно са искусним дијететичаром.

1.10 Прогностички параметри за карцином орофаринкса и ларинкса

1.10.1 Опште карактеристике пацијента

Доб, пол, претјерана конзумација дувана и алкохола су фактори који утичу на појаву ових карцинома. П16+ ОПЦ јавља се најчешће међу млађим пацијентима (50-56 година), док су п16- ОПЦ пацијенти обично старији (60-70 година). Међутим, две недавне ретроспективне студије спроведене у САД на п16+ ОПЦ пацијентима (148, 149) откриле су да је средња старост у моменту дијагнозе код пацијената са ОПЦ-ом повезаним са ХПВ повећана са 53 на 58 година, у првој студији (148), а до 59 година у другој студији (149). Такође, друга студија показала је да су старији п16+ пацијенти имали боље преживљавање у поређењу са п16- пацијентима, али у поређењу са млађим п16+ пацијентима преживљавање је значајно смањено (149). Старост је такође важан фактор приликом одређивања лијечења. Недавна студија показала је да старији ОПЦ пацијенти обично пате од оштећења дисајних путева и отежаног гутања након ХТ/РТ, што је повезано са токсичности ХТ и слабијег подношења код старијих пацијената. Токсичности могу проузроковати атрофију и фиброзу фарингеалних констрикторних мишића, што заузврат може бити праћено опструкцијом дисајних путева и упалом плућа. Поред тога, иста студија открила је да су старији пацијенти са дисфагијом прије

започињања лијечења, већим стадијем болести, иницијалним лијечењем са ХТ, те салваж операцијом имали високу стопу смртности (150).

Код ЛЦ подаци у литератури су контроверзни у вези са ефектима старости на преживљавање. Неки аутори наводе да је прогноза боља код млађих пацијената, док други кажу да је боља код старијих. У општој популацији тумора главе и врата, млађа доб се сматра позитивним прогностичким фактором. У серији од 1030 пацијената са туморима главе и врата, Лејси и сарадници открили су да су млађи пацијенти имали значајно бољу петогодишњу стопу преживљавања од пацијената средње и старије доби (151). Старост је остала значајан фактор поред пушења, коморбидитета, примарне болести, ТНМ стадијума и нодалне болести. Млади пацијенти су такође развили мање рецидива и других примарних тумора. У популационој студији Мисоно и сарадника која је обухватала 10429 пацијената, забиљежено је боље преживљавање код млађих пацијената (152). Супротно томе, у мањој норвешкој серији од 1616 сквамозних ЛЦ, примјећен је повећани ризик од рецидива код пацијената млађих од 70 година (153).

ОПЦ се чешће јавља код мушкараца него код жена (154, 155) са бољим преживљавањем међу женама (156, 157). Превладавање мушкараца у ОПЦ-у могло би се дјелимично протумачити тако што су мушкарци више подложни ризичнијим понашањима попут пушења, алкохолизма (158), оралног секса и већег броја сексуалних партнера него жене (158), уз слабију ХПВ вакцинацију код мушкараца (158, 159). Пушење дувана и злоупотреба алкохола добро су познати фактори ризика за п16- ОПЦ, СЗО и три недавне ретроспективне студије показале су да, чак и код п16+ ОПЦ, континуирано пушење током периода лијечења може погоршати исход болести (160-162) због повећане стопе инциденције локорегионалних (161, 162) и удаљених метастаза (163).

Мјесто ЛЦ се увелико разликује према полу. Жене имају већу вјероватноћу за супраглотични карцином. Однос глотичног и супраглотичног тумора био је 2,12: 1 код мушкараца и 0,56: 1 код жена, што је и даље веома значајно (164). У мултицентричној студији која је обухватила 4005 пацијената са туморима главе и врата, жене са ЛЦ имале су смањен ризик од рецидива у поређењу са мушкарцима (165). У серији од 1252 узастопна пацијента са ЛЦ гдје су сви били лијечени примарном РТ, мултиваријантне анализе откриле су да је мушки пол важан фактор у предвиђању локорегионалног релапса, смрти од рака и смрти од свих узрока (166). Пијење алкохола је прогностички

фактор ОС за пацијенте са ЛЦ. Пацијенти са ЛЦ и са ниским образовним нивоом такође су имали неповољну прогнозу (167).

1.10.2 Остали клинички параметри од значаја

Потхрањеност је чест проблем код пацијената са узнапредовалим карциномима главе и врата. У ретроспективној студији од 473 пацијента са ЛЦ, низак индекс тјелесне тежине (БМИ, body mass index-ВМИ) прије лијечења био је значајно повезан са лошим ОС-ом као независним лошим прогностичким фактором ($p < 0,001$) (168). Ово је уско повезано са имунокомпетентношћу домаћина. Пацијенти у негативном билансу азота имају лошије опште стање и слабије реагују на терапију (169). Конкретно пацијенти са губитком тежине већим од 10% током шест мјесеци прије операције представљају велики ризик за појаву великих постоперативних компликација (170). Јасно је да постоје изазови са оптимизацијом исхране код пацијената којима је дијагностикован ЛЦ и који су на лијечењу. Потхрањене пацијенте треба додатно нутритивно подржати (171).

Перформанс статус за сваког пацијента важан је фактор који треба укључити у доношење одлуке када се разматра врста појединачног третмана ЛЦ. Поред тога што пушење и пиће преовлађују међу пацијентима са ЛЦ и утичу на њихов перформанс статус, и коморбидитети такође имају утицаја. У анализи од 12623 данских пацијената са туморима главе и врата испитивани је утицај коморбидитета на исход лијечења и нађено је да је 36% њих било погођено коморбидитетом у време постављања дијагнозе (172). Лоше опште стање повезано је са ризиком рецидива (173, 174) и природно се погоршава са повећањем старости (169). Анемија је препозната као фактор који доприноси смањењу локорегионалне контроле након дефинитивне РТ за Т1 - Т2Н0 глотички ЛЦ (175). Ово је подржало истраживање Јохансена и сарадника у серији од 1252 данских пацијената са ЛЦ лијечених примарно са РТ (166). Утврђено је да је хемоглобин независни прогностички фактор. Присуство коморбидитета утиче на одабир лијечења и исходе (172). ХТ/РТ се рјеђе користи код пацијената старијих од 70 година и код оних са коморбидитетима (176). Такође, коморбидитети су повезани и са већим стопама постоперативних компликација (177). Међутим, постојање коморбидитета не утиче на ефикасност РТ. Извршена је метаанализа коришћењем коморбидитета као прогностичког фактора који је показао да је ОС било значајно лошије код пацијената са коморбидитетима (178).

Ћелијски имунолошки одговор пацијената са ЛЦ нижи је од оне код здравих особа, а функција код пацијената са узнапредовалом болести је нижа од функције пацијената са раним стадијумом (179). Многи пацијенти са ЛЦ имају имунолошки дефицит или абнормалне имунолошке реакције, али ово измењено имунолошко стање може зависити од више механизма (злоупотреба алкохола, вируси, потхрањеност, старење итд.). Постоје подаци који подржавају негативни прогностички утицај код имуносупримираних пацијената (180).

1.11 Патохистолошки прогностички фактори

1.11.1 Хистолошки градус

ОПЦ су или добро диферентовани, умјерено или слабо деферентовани карциноми. Добро диферентовани карциноми су обично кератинизирани и подсећају на не-неопластични сквамозни епител, у којем ћелије имају стакласту еозинофилну цитоплазму, благу нуклеарну атипичност и добро структуриране међућелијске мостове. Лоше диферентовани карциноми нису кератинизирани и састоје се од незрелих ћелија са евидентном нуклеарном атипичношћу, бројним митозама и атипичним митотичким фигурама. Поред тога, базалоидни изглед је често хистолошка карактеристика п16+ ОПЦ. Настаје од епитела крипте који расте према лимфоидној строми као гнезда и лобули. Ћелије показују висок нуклео/цитоплазматски однос и високу стопу митоза и често окружују централну некрозу. И не-кератинизовани и базалоид тип ОПЦ су често п16+ и имају добру прогнозу (181, 182). Лоше диферентовани карциноми обично имају већу стопу метастатских болести у поређењу са добро диферентованим карциномима, али ова корелација није увек важећа (183). Такође, степен диференцијације пати од субјективности интерпретације патолога.

1.11.2 ПНИ, ЛИ, ВИ и мишићна инвазија

ПНИ се може јавити и код п16+ и п16- ОПЦ (160). Иако ПНИ није уобичајена карактеристика (34%) ОПЦ (184), клиничар га треба узети у обзир јер је присуство ПНИ индикатор рецидивирања тумора (75%) и лошијег преживљавања (више од од 50% за ПНИ наспрот 25% без ПНИ) (185, 186). У ХПВ позитивном ОПЦ, ПНИ је прилично

чест у стадијумима T3 и T4 (187). Главни симптом ПНИ у ОПЦ је глософарингеални бол који се шири ипсилатерално иза угла вилице, дубоко у грлу и у ухо. Овај бол се погоршава гутањем (184). Присуство ПНИ повезано је са повећаним ризиком од локалног рецидива и регионалног нодалног ширења и негативно утиче на прогнозу пацијената са ЛЦ (185).

ЛИ и ВИ је чест налаз и код p16+ и код p16- ОПЦ-а (160). Чешћи је (> 40%) у касним Т фазама (187) и лош је прогностички хистопатолошки знак за локални рецидив и регионалне и удаљене метастазе (188). ЛИ и ВИ значајно утиче на метастазирање у вратним лимфним чворовима за супраглотичне туморе, али не и за глотичке и трансглотичне туморе (189). Мишићна инвазија ОПЦ обично инвадирају фарингеални стезни мишићи птеригоидне мишиће (190, 191). ХПВ-негативни ОПЦ-ови ће вероватније инвадирати сусједне мишиће (73). Инвазија мишића у ОПЦ је лош прогностички фактор за метастазе у лимфним чворовима (73%) и локорегионални рецидив (32%) (190).

1.12 Молекуларни прогностички маркери

Како се наше знање о биологији тумора и молекуларним маркерима повећава, моћи ћемо да проширимо број значајних маркера доступних за предвиђање понашања тумора, резистенције домаћина и вјероватноће успјешног исхода. Досадашњи доступни биолошки параметри су често недоказане прогностичке вредности. С обзиром на тренутну ситуацију, немогуће је дефинисати подгрупе пацијената са другачијим биолошким понашањем. Потребне су додатне студије како би се потврдили ови налази и упоредила прогностичка вриједност ових и других биомаркера са другим параметрима код великих група пацијената, уз подршку софистициране статистичке анализе. Ограничења тренутно коришћених биолошких маркера у предвиђању понашања тумора добро су препозната у онкологији орофаринкса и ларинкса. Супротно томе, постоји много дијагностичких маркера који су врло корисни као подршка хистолошкој дијагнози. Многи молекуларни прогностички маркери за карцином откривени су последњих деценија. Откривање ових молекуларних прогностичких маркера може побољшати наше разумевање понашања карцинома и помоћи у предвиђању његовог одговора на различите модалитете лијечења (192, 193). Две студије су класификовале ове маркере: Прва студија Лотхаире и сарадника (2006) класификовала је молекуларне

маркере, према њиховој функцији, у слиједеће: (1) маркере раста тумора, (2) маркере супресије тумора, (3) маркери имунолошког одговора и (4) ангиогенеза, инвазија тумора и маркери метастатског потенцијала. Друга студија Фереире и сар. (2011) је ове маркере поделио на прогностичке или предиктивне маркере. Прогностичке маркере су дефинисали као оне који корелирају са клиничкопатолошким карактеристикама у вријеме постављања дијагнозе и са клиничким исходом без обзира на модалитет лијечења; и предиктивни маркери као они маркери који корелирају са одговором тумора на лијечење.

У поглављу су описани молекуларни прогностички биомаркери које смо истраживали у овој докторској тези.

1.12.1 п16ИНК4а

ХПВ је епителиотрофни, дволанчани ДНК онковирус (194). У оквиру ове породице је описано приближно 200 генотипова или типова ХПВ-а на основу секвенце вирусног генома (195). Дванаест типова ХПВ-а СЗО је дефинисала као високо ризичне и показују висок онкогени потенцијал (196). Најмање 10 од ових онкогених типова ХПВ (16, 18, 31, 33, 45, 51, 52, 56, 58 и 59), као и шест типова ХПВ ниског ризика (11, 32, 44, 53 и 81), изоловани су код тумора главе и врата, (табела 20), (197-201). п16 представља примарни вирусни узрок тумора главе и врата и идентификован је у најмање 87% п16+ ОПЦ-а. ХПВ18 и ХПВ33, слиједећи су најзаступљенији типови, чине већину осталих п16+ тумора главе и врата (202). Након пријеноса вируса, ХПВ инфицира природно дисконтинуирани епител орофаринкса, подложен механичким траумама. Инфициране базалне ћелије се диференцирају да би попуниле поремећено подручје, што резултира активном инфекцијом ХПВ (203). Током репликације, ХПВ синтетише седам раних протеина (Е1 до Е7) и 2 касна протеина капсида (Л1 и Л2) (194). Онкогеност високоризичног ХПВ-а се приписује прије свега на трансформишуће особине као и инхибицију апоптозе ХПВ онкопротеина Е6 и Е7, које се селективно задржавају и експирмирају у свим фазама канцерогене прогресије. Е6 и Е7 имају вишеструке функције, посебно битна је инактивација тумор супресорског протеина п53 и ретинобластог протеина (пРб), што доводи до губитка контроле ћелијског циклуса, поремећај диференцијације кератиноцита, имортализација кератиноцита, геномска нестабилност и неопластична трансформација (204, 205). п16 Е6 протеин се везује и

индукује убиквитин зависну протеолизу протеина p53 (206). p53 је протеински производ гена TP53, регулатор одговора на оштећење ДНК, G2/M ћелијског циклуса и најчешће мутирани тумор супресорски ген код тумора (207, 208). Само алели E6 из p16 се везују за p53, а снага афинитета везивања E6 алела за p53 корелира са онкогеним потенцијалом тог типа ХПВ. На пример, p16, који је одговоран за више тумора главе и врата повезаних са ХПВ-ом од ХПВ18, кодира E6 алел који везује p53 са двоструко већим афинитетом од ХПВ18 E6 алела. Један од резултата инхибиције pRb помоћу E7 је повећање експресије протеина p16INK4A (ЦДКН 2А инхибитор), који се може користити као сурогат маркер за онкогену ХПВ инфекцију (209-211). Поред ових добро окарактерисаних ефеката, E6 и E7 модулирају активност бројних других ћелијских протеина. Новији подаци сугеришу да се вирусни онкопротеини E6 и E7 везују и мјењају активност бројних протеина и молекуларних путева. Зна се да E6 ступа у интеракцију са 83 ћелијска протеина, а E7 са 254 (212, 213).

Табела 20. Приказ различитих генотиопова ХПВ-а.

| Високоризични ХПВ | Нискоризични ХПВ |
|-------------------|------------------|
| Генотип | Генотип |
| 16 | 11 |
| 18 | 32 |
| 31 | 44 |
| 33 | 53 |
| 45 | 57 |
| 51 | 81 |
| 52 | |
| 56 | |
| 58 | |
| 59 | |

Успјешне кампање јавног здравља у земљама са високим дохотком углавном су заслужне за постизање смањења потрошње дувана и алкохола у популацији (214), уз истовремени пад тумора повезаних са дуваном, попут нон-орофарингеални тумори главе и врата и рак плућа (17). Трендови према сексуалним праксама које повећавају ризик од заразе полно преносивим патогенима, попут ХПВ-а, повезани су са порастом броја

случајева рака повезаних са ХПВ-ом, укључујући ОПЦ и анални рак (7, 215). Сматра се да ХПВ-позитивни ОПЦ случајеви превазилазе инциденцију ХПВ позитивног карцинома грлића материце (11, 216). ХПВ је најчешћа полно преносива инфекција у САД-у и примарни инфективни узрок тумора главе и врата (217, 218). Иако је ширење високоризичне ХПВ инфекције широко распрострањено, већина људи уклања вирус у року од 18 месеци (219). Вјерује се да је перзистентна инфекција неопходна за развој малигнух тумора повезаних са ХПВ-ом. Претходно смо већ напоменули да п16 позитивни ОПЦ, представља посебан неопластични ентитет са јединственим молекуларним, хистопатолошким, епидемиолошким и клиничким профилем.

Неколико студија се бавило истраживањем односа између ХПВ статуса и исхода код нон-орофарингеалних локализација (220), али још увијек нису убједљиво доказале везу између ХПВ статуса и исхода болести (221-225). До данас, најопширнија студија која се бавила везом између ХПВ статуса и исхода код ЛЦ укључивала је само 130 пацијената и није показала значајну повезаност (225).

1.12.2 ФЛОТ2

Флотилин протеине је прво открио Шулте и колеге код златних рибица након повреде оптичког нерва. Током процеса регенерације аксона, два протеина *reggie1* и *reggie2* су били нарочито експримирани у ретиналним ганглијским ћелијама (226). Шредер и колеге су изоловали и описали комплементарну ДНК, која кодира нову ванћелијску епидермалну молекулу - епидермални површински антиген (ЕСА, енг. epidermal surface antigen – ESA) за који се сматра да има важну улогу у међућелијској епидермалној адхезији. ЕСА информациона РНК је експримирана у ћелијским линијама кератиноцита, меланоцита, фибробласта, карциномима и у ћелијским линијама меланома. ЕСА ген је очуван код сисара и локализован је на људском хромозому 17 (M17C1) у истој регији као и ген за фон Реклингхаусенову неурофиброматозу (227). Приликом скрининга нових мембранских маркера Бикел и колеге су издвојили протеин из екстраката мембране плућног ткива код мишева, који је према својим особинама назван „флотилин“. Флотилин је близак хомолог ЕСА-е, а заједно дефинишу нову породицу интегралних мембранских протеина. Предложено је да се флотилин означава са *flotillin1*, а ЕСА као *flotillin2*. Анализа секвенце је накнадно показала да су секвенце *flotillin2* и *reggie1* идентичне, као и секвенце *flotillin1* и *reggie2*. Флотилин (ФЛОТ2) је данас прихваћен

као званично име за оба гена (228). Прекомјерна експресија ФЛОТ2 се открива код неколико типова хуманих канцера и везује са слабијим преживљавањем. На примјер, прекомјерна експресија ФЛОТ2 се повезује са прогресијом болести код меланома и склоношћу метастазирања у лимфне чворове (229, 230); прекомјерна експресија ФЛОТ2 може се такође открити у метастатским ћелијама назофарингеалног карцинома (231); код пацијената са назофарингеалним карциномом са метастазама у лимфне чворове експресија ФЛОТ2 значајно је виша него код оних без датих метастаза (232). Такође, прекомјерна експресија ФЛОТ2 протеина се везује за слабу стопу преживљавања код пацијената са солидним туморима, а ове студије дају базу за разматрање ФЛОТ2 као потенцијалног прогностичког маркера (233, 234). Иако је ФЛОТ2 познат већ деценијама, његов потенцијални клинички значај код ОПЦ-а је углавном непознат, али скорија истраживања показују да би он могао бити прогностички маркер за ОПЦ (235). Значајнијих литералних података за експресију ФЛОТ2 код ЛЦ нема.

1.12.3 ЕГФР

Рецептор за епидермални фактор раста (ЕГФР, енг. epidermal growth factor receptor - EGFR) је трансмембрански рецептор тирозин киназе који припада XER/ербБ породици и високо је експримиран у туморима главе и врата, и до 90% (236). Активација ЕГФР доводи до каскаде фосфорилације посредоване преко тирозин киназа која делује нисходно кроз ПИЗК-ПТЕН-АКТ, МАПК, ЕРК и Јак/СТАТ путеве и промовише пролиферацију, инвазију, ангиогенезу и ширење метастаза. Докази о ЕГФР активности пријављени су у ћелијским линијама тумора главе и врата, као и у великом проценту примарних тумора главе и врата. Аберантна активација ЕГФР сигнализације у туморима главе и врата може се постићи са неколико механизма, укључујући прекомерну експресију ЕГФР и његових лиганата, успостављање аутокриних/паракриних механизма, амплификацијом ЕГФР гена, ЕГФР мутација/полиморфизам и трансактивација са другим тирозин киназа рецепторима (237-239). Прекомјерна експресија ЕГФР као и висок број копија тих гена су повезане са слабом прогнозом и радиорезистенцијом (240-248). ЕГФР је релевантна мета код тумора главе и врата открићем цетуксимаба, имуноглобин Г1 (IgG1) моноклоналног антигјела које напада ЕГФР те побољшава ОС када се комбинује са РТ или ХТ (249, 250). У ранијим студијама мали број пацијената је имао корист од анти-ЕГФР моноклоналних антитијела, а

објективна стопа одговора монотерапије износи 6-13% (251,252). У EXTREME клиничкој студији показано је да додатак цетуксимаба ХТ-у у првој линији, на бази платине, значајно побољшава исход за пацијенте са иноперабилним/метастатским туморима главе и врата (253). Иако постоје значајне разлике у дугорочним одговорима који фаворизују цетуксимаб, цифре петогодишњег преживљавања су и даље изузетно ниске за обје кохорте. Пацијенти који су примали цетуксимаб показали су значајно смањење боли и проблема са гутањем (254).

2 ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

1. Утврдити стандардне прогностичке параметре (хируршка процедура која је коришћена у лијечењу, величина тумора, хистолошки тип тумора, хистолошки градус тумора, дубина инвазије строме, начин раста, маргине, инвазија лимфних судова, инвазија крвних судова, перинеурална и интранеурална инвазија, статус лимфних чворова) и примарни патолошки стадијум болести у карциному орофаринкса и ларинкса.

2. Утврдити степен експресије ЕГФР, ФЛОТ2 и p16INK4a у карциному орофаринкса и ларинкса.

3. Утврдити корелацију између стандардних патохистолошких прогностичких параметара за карцином орофаринкса и ларинкса и степена експресије рецептора фактора раста.

4. Утврдити који од стандардних патолошких прогностичких параметра и експресија фактора раста утичу на појаву рецидива болести и дужину преживљавања пацијената са карциномом орофаринкса и ларинкса.

3 ХИПОТЕЗА

1. Пацијенти са карциномом орофаринкса и ларинкса који имају високу експресију p16INK4a и ЕГФР имају бољи одговор на онколошки третман и дуже вријеме до појаве рецидива и прогресије болести, а пацијенти са повишеном експресијом ФЛОТ2 имају лошији одговор на третман и краће преживљавање.

2. Карцином ларинкса има мању експресију горе наведених фактора раста, а настанак тог карцинома је више повезан са факторима ризика као што су конзумација дувана и алкохола.

3. Пацијенти са факторима ризика као што је пушење и претјерана конзумација алкохола имају лошији одговор на онколошки третман и краће вријеме до појаве релапса болести, а прогноза болести код пацијента у великој мјери зависи од примарног патолошког стадијума болести.

4 МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

4.1 Пацијенти

Истраживање је спроведено у Универзитетском клиничком центру Републике Српске (УКЦ РС), у периоду од 2014. године до краја 2020. године. Протокол истраживања је одобрен од стране Етичког одбора УКЦ РС и Етичког одбора Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци. У истраживање је укључено 75 пацијената са карциномом орофаринкса и 75 пацијената са карциномом ларинкса.

Пацијенти су укључени у студију сходно укључујућим критеријумима, без обзира на полну и старосну дистрибуцију. Такође, укључени пацијенти су лијечени стандардним протоколима лијечења по важећим смјерницама сходно стадијуму болести, стању пацијента и другим параметрима. Ти протоколи подразумјевају хируршко лијечење, РТ и ХТ, те различите комбинације наведених модалитета лијечења.

Критеријуми укључивања у студију:

- пацијенти обољели од карцинома орофаринкса и ларинкса,
- да је дијагноза сквамозног карцинома орофаринкса и ларинкса патохистолошки верификована након хируршког оперативног третмана или биопсије примарног тумора,
- да постоје подаци о току и исходу болести код ових пацијената у периоду од најмање три године.

Критеријуми неукључивања:

- пацијенти који у лијечењу карцинома орофаринкса и ларинкса нису хируршки третирани (оперативно и/или биопсија),
- присуство удаљених метастаза,
- пацијенти за које немамо репрезентативне узорке за хистолошку и имунохистохемијску анализу,
- недостатак података везаних за ток и исход болести.

Дизајн истраживања је дијелом ретроспективна, а дијелом проспективна аналитичка студија.

4.2 Методе рада

Праћење болесника: ток и исход лијечења, дужина преживљавања или узрок смрти утврђени су на основу медицинске документације или података добијених интервјуом са пацијентом или његовом породицом. Такође, прикупљени су и подаци о изложености пушењу и алкохолу.

Пацијенти су на основу тока и исхода болести подијељени у двије групе:

Група I - пацијенти са повољним исходом болести: 1. у току периода праћења живи, 2. без рецидива болести унутар 24 мјесеца од почетка праћења;

Група II - пацијенти са неповољним исходом болести: 1. живи, са релапсом болести унутар 24 мјесеца од почетка праћења, 2. пацијенти умрли унутар 24 мјесеца од почетка праћења.

Подаци о старости као и подаци о макроскопским карактеристикама тумора (локализација тумора, макроскопски тип раста тумора и други подаци) су преузети из патохистолошких налаза уложених у регистре пацијената.

4.3 Хистолошка анализа

На Заводу за патологију УКЦ РС су за сваког пацијента укљученог у ову анализу из парафинске архиве извађена стакалца са туморским материјалом. Туморско ткиво је добијено хируршком ресекцијом или биопсијом и за потребе дијагностике фиксирано у формалину, укалупљено у парафину, сјечено на танке пресеке који су бојени методом хематоксилин - еозин (ХЕ).

Након прегледа, одабрана су најрепрезентативнија ХЕ сатакалца, са највише туморске масе. Сваком од њих је пронађен и њему припадајући парафински калуп (истог садржаја туморског материјала) који је кориштен за имунохистохемијско бојење (ИХХ).

Одабрани парафински калупи су додатно сјечени на три пресека. Један пресјек је кориштен за имунолошку детекцију ФЛОТ2, други за имунолошку детекцију ЕГФР, а трећи за детекцију протеина p16INK4A у туморском ткиву сваког пацијента. Танки пресеци (2-3 микрона) су добијени резањем калупа на микротомому Leica (Leica, USA) и само пресеци задовољавајућег квалитета су постављани на предметна стакалца

Menzel-Gläser Superfrost (Thermo Fisher Scientific, USA) и сушени на 60°C 60 минута у инкубатору.

Прије даљег ИХХ процеса осушене ткивне пресјекe било је потребно депарафинисати, рехидрирати и извршити демаскирање (опоравак) циљног антигена. Депарафинисање је обављено ксилолом (2 измјене по 10 минута), рехидрирање опадајућим концентрацијама етил алкохола (100%, 96% ,70%, свака измјена по пет минута) и испирањем у дестилованој води. Поступак демаскирања антигена за ФЛОТ2 и p16ИНК4а је обављена топлотом. Ткива су загријавана у Tris/EDTA пуферу рН 9.0 (Agilent Technologies, USA) 20 минута на 98°C. Поступак је обављен под контролисаним условима у ПТ модулу (Dako, Данска). Антигени опоравак за ЕГФР је обављен ензимском дигестијом Протеиназе К (Agilent Technologies, Inc, USA) 10 минута на собној температури.

У циљу смањења нежељеног бојења позадине (за инхибицију активности ендогених пероксидаза и неспецифичног везивања ендогених ИгГ) пресјечи су примарно инкубирани у 3% раствору H₂O₂, 10 минута, а затим пет минута у комерцијално припремљеном средству за инхибицију неспецифичног везивања протеина (Ultra V Block, Thermo Fisher Scientific, USA).

Након претретмана и припреме ткива, ИХХ бојење је спроведено реакцијом пероксидазе, примјеном одговарајућих примарних антитјела (Табела 21).

Табела 21. Карактеристике примјењених антитјела

| Број | Антитјело | Клон | Разријеђење | Произвођач |
|------|--|--------------|-------------|--|
| | анти-Флотиллин 2 поликлонално зечије антитјело | Поликлонално | 1:400 | Инвитроген, каталошки број РА5-30033 |
| | анти-ЕГФР мишће моноклонално антитијело | X11 | 1:50 | Инвитроген, каталошки број МА5-13070 |
| | анти-p16 ИНК4а мишће | 1E12E10 | 1:500 | Инвитроген, каталошки број МА5-17145 |

| | | | | |
|--|----------------------------|--|--|--|
| | МОНОКЛОНАЛНО антитијело | | | |
|--|----------------------------|--|--|--|

Комерцијално доступна, концентрована антитјела за ФЛОТ2, ЕГФР и п16ИНК4а су разријеђена (Ab diluent, Agilent Technologies, Inc, USA) по упутству произвођача и инкубирана са ткивним пресјецима преко ноћи на 4° у влажној комори. По истеку инкубације, вишак антитјела је испран Трис пуферованим раствором (TBS: 0,05 М, рН 7,4).

Након продужене инкубације с примарним антитјелом и његовог испирања, настали имунолошки комплекс антиген–антитјело се идентификује примјеном универзалног секундарног антитјела коњугованог с пероксидазом хрена (UltraVision Quanto Detection System HRP DAB, Thermo Fisher Scientific, USA). Инкубација 30 минута на собној температури.

Специфичност ИХХ реакције је постајала видљива на крају, након кратке (5-10 минута) инкубације са ДАБ (3,3' - diaminobenzidine tetrachloride) хромогеном, чија је оксидација на мјестима насталог комплекса антиген-антитјело формирала видљиву, смеђу боју као знак позитивне имунолошке реакције. Након испирања ДАБ хромогена пресјечи ткива су кратко контрастирани унхематокилину да би остала морфологија ткива била видљива у плавој боји.

ИХХ бојење је вршено уз контролу квалитета и специфичности бојења примјеном спољашње позитивне и негативне контроле. Као позитивна контрола су кориштени узорци ткива са доказаном високом експресијом анализираних протеина (за ФЛОТ2 је кориштено ткиво тонзиле, за ЕГФР ткиво плаценте, а за п16ИНК4А ткиво јетре). За негативну контролу је на ткиво тумора умјесто антитјела аплициран ТБС пуфер због чега се у тим пресјецима због изостављања примарног антитјела није могла очекивати никаква имунолошка активност.

4.4 Анализа ИХХ бојења

Имунохистохемијска анализа је вршена свјетлосном микроскопскијом на микроскопу марке Leica DM2500, квалитативном и семиквантитативном анализом.

4.5 Интерпретација резултата ИХХ обраде узорака

Патохистолошку анализу и ИХХ анализу свих узорака радио је један патолог. За одређивање степена ИХХ експресије коришћен је семиквантитативни систем оцјењивања који је укључивао интензитет имунобојења и проценат ћелија које су имале сигурну позитивну имуноколорацију (реакцију).

4.6 Анализа ИХХ бојења ФЛОТ2

За процјену експресије ФЛОТ2 кориштен је семиквантитативни систем бодовања базиран на оцјени интензитета мембранског и/или цитоплазматског бојења туморских ћелија (резултат интензитета бојења) и процента обојених ћелија на 10 одабраних видних поља SM Leica DM2500 на увећању 200x (резултат постотка обојених ћелија).

Резултат интензитета обојености:

- 0: Без имунолошке реакције (негативно/плаво бојење);
- 1: Слабо позитивно бојење (блиједо/жуто);
- 2: Позитивно бојење умјереног интензитета (свјетло смеђе бојење);
- 3: Интензивно, јако позитивно бојење (тамно смеђе);

Б: Резултат постотка обојених ћелија:

- 0: Без бојења (0%);
- 1: 1 – 25% туморских ћелија има позитивну ИХХ реакцију;
- 2: 26 – 50% туморских ћелија има позитивну ИХХ реакцију;
- 3: 51 – 75% туморских ћелија има позитивну ИХХ реакцију;
- 4: 76 – 100 % туморских ћелија има позитивну ИХХ реакцију.

Резултат ИХХ позитивности (ИХХ скор) је израчунат на основу формуле:

Укупни резултат $P = \text{резултат постотка обојених ћелија} \times \text{резултат интензитета обојености}$;

Укупни резултат $P \leq 1$ – негативан (0);

$P \geq 2 \leq 4$ слабо позитиван (1+);

$P \geq 6 \leq 8$ умјерено позитиван (2+);

$P \geq 9$ јако позитиван (3+)

Слабо позитивно, умјерено позитивно и јако позитивно бојење су сматрани позитивним бојењем ФЛОТ2, (235).

4.7 Анализа ИХХ бојења ЕГФР

За процјену експресије ЕГФР оцјењивано је бојење ћелијске мембране и цитоплазме туморских ћелија. Вриједност експресије ЕГФР је анализирана семиквантитативно, на основу одређивања процента обојених туморских ћелија (255, 256).

Оцјена 0: нема бојења или мембранско/цитоплазматско бојење у <10% туморских ћелија;

Оцјена 1+: слабо, некомплетно мембранско/цитоплазматско бојење у >10% туморских ћелија;

Оцјена 2+: слабо или умјерено, комплетно, мембранско/цитоплазматско бојење у >10% туморских ћелија и

Оцјена 3+: јако, комплетно, мембранско/цитоплазматско бојење у >10% туморских ћелија.

Оцјене 0 и 1+ су сматране негативне док су оцјене 2+ и 3+ сматране позитивне (оверекспресија).

4.8 Анализа ИХХ бојења p16

За процјену експресије p16 кориштен је семиквантитативни систем бодовања базиран на оцјени нуклеарног и/или цитоплазматског бојења (257).

Према обрасцу бојења, односно нуклеарно/цитоплазматској позитивности туморских ћелија резултати су дефинисани као:

- Негативан резултат, ако је било <1% позитивних ћелија;

- Спорадична позитивност, ако је било позитивних, изолованих ћелија <5%;
- Фокална позитивност (енгл. фоцал стаининг паттерн), ако су мање групе ћелија показивале позитивност али <70%
- Дифузно позитивно бојење (енгл. диффусе стаининг паттерн) ако је >70% ћелија показало и нуклеарну и цитоплазматску позитивност за p16

Позитивна експресија p16INK4A је дефинисана као јако дифузно имунолошко бојење и нуклеуса и цитоплазме у најмање 80 процената прегледаних туморских ћелија.

4.9 Статистичка обрада података

Добијени подаци су обрађени према основним дескриптивним статистичким методама: средња вриједност, стандардна девијација и медијана, за нумеричка обиљежја. За обиљежја дисконтинуиране природе је коришћена учесталост и градација позитивности по аналогној скали. Разлике између група по анализираним варијаблама су тестиране параметарском аналитичком статистичком методом- Студентовим т тестом за независне узорке. За непараметријска обиљежја и процјену утицаја варијабли на прогресију болести, примјењиване су аналитичке методе за процјену значајности разлике: Персонов χ^2 тест и Фишеров тест тачне вјероватноће. Испитивање вјероватноће преживљавања и утицаја појединих варијабли на преживљавање болесника је рачунато према Каплан-Маиеровом алгоритму. За униваријантно поређење кривих преживљавања између поједних група и категорија анализираних варијабли коришћен је χ^2 тест и Лог-ранк тест. Мултиваријантна анализа у неколико изабраних модела је урађена примјеном Сох-овог модела пропорционалних хазарда. Сви подаци су унијети у табеле и приказани графички.

У случају кад је вјероватноћа да је нулта хипотеза тачна једнака или мања од 5% ($p \leq 0,05$) разлика између анализираних група је прихваћена као статистички значајна. Током истраживања коришћен је статистички софтверски пакет СПСС верзија 23 (IBM SPSS Statistics for Windows, version 23.0, IBM Corp., Armonk, NY, USA).

5 РЕЗУЛТАТИ

Наше истраживање је обухватало оперативне или биоптичке материјале 149 пацијената, који су лијечени у УКЦ РС, Клиника за болести уха грла и носа, Клиника за максиларнофацијалну хирургију и Клиника за онкологију. Анализа је урађена у Заводу за патологију, и утврђена дефинитивна патохистолошка дијагноза болести. Истраживање је обављено у периоду од 01.01.2014. до 31.12.2020. године. Накнадно је један пацијент искључен, из техничких разлога, с обзиром да се није могла урадити адекватна имунохистохемијска анализа хистолошког препарата тог пацијента.

Критеријуми укључивања у студију:

- пацијенти обољели од карцинома орофаринкса и ларинкса,
- да је дијагноза сквамозног карцинома орофаринкса и ларинкса патохистолошки верификована након хируршког оперативног третмана или биопсије примарног тумора,
- да постоје подаци о току и исходу болести код ових пацијената у периоду од најмање три године.

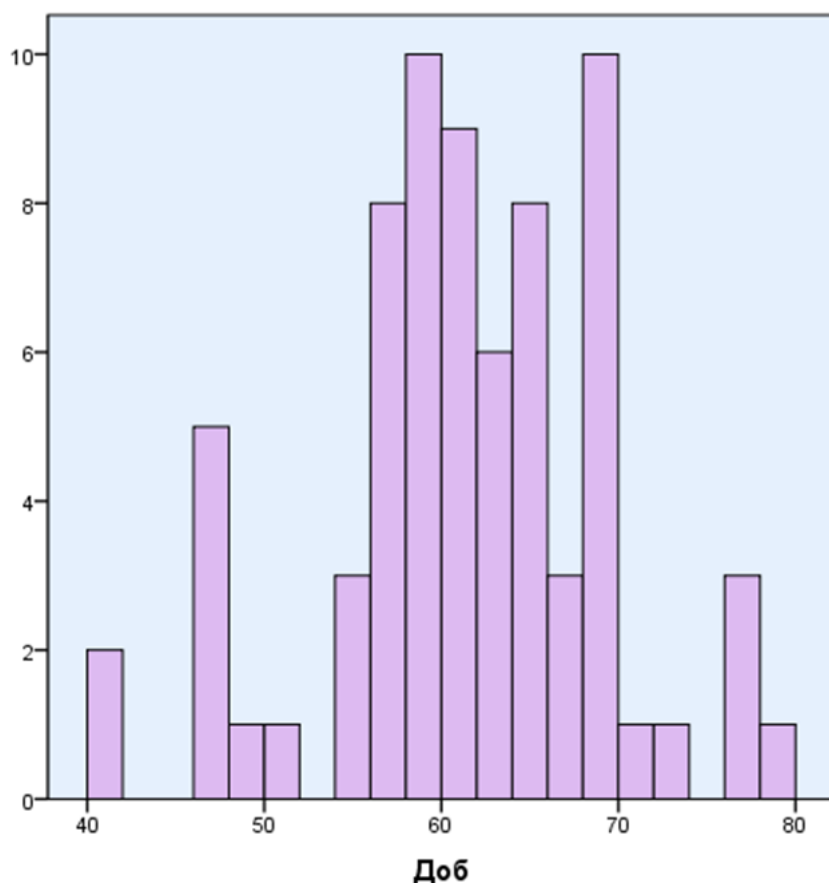
Критеријуми неукључивања:

- пацијенти који у лијечењу карцинома орофаринкса и ларинкса нису хируршки третирани (оперативно и/или биопсија),
- присуство удаљених метастаза,
- пацијенти за које немамо репрезентативне узорке за хистолошку и имунохистохемијску анализу,
- недостатак података везаних за ток и исход болести.

5.1 Карцином орофаринкса

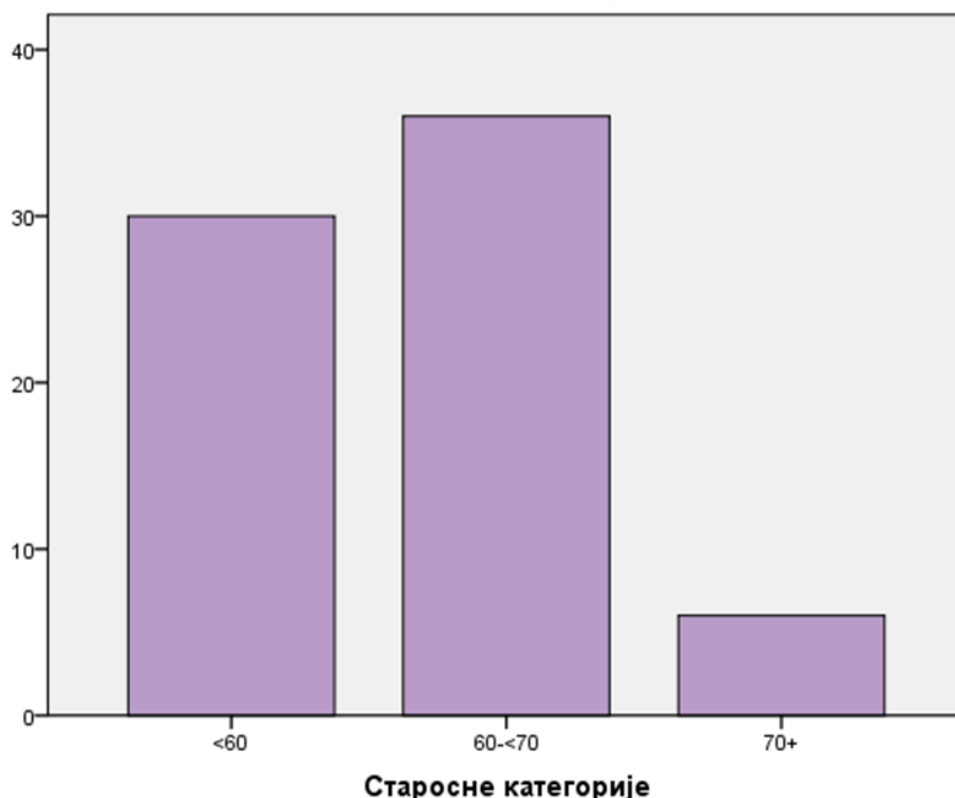
5.1.1 Карактеристике узорка

Ово истраживање је обухватило 72 пацијента, 63 мушкараца и девет жена, просјечне старости 61 године (слика 1). Сви су имали патохистолошки доказан карцином сквамозних ћелија ларинкса.



Слика 1. Распоред пацијената по доби за ОПЦ.

Пацијенти су најчеће били у седмој деценији живота (слика 2). У наведеној старосној групи (60–<70 година) је било 50,0% (36 пацијената).



Слика 2. Раподјела пацијената са ОПЦ по старосним категоријама.

Клиничкопатолошке карактеристике са процентуално израженим стопама преживљавања су детаљније представљене у табели 22. Сви пацијенти су лијечени са куративном намером. Код 32 пацијента (44,5%) операција није била изведена као иницијална метода лечења, уместо тога су били подвргнути РТ, ХТ/РТ или ИХТ. Након просјечног праћења од 78 мјесеци, 37 (51,4%) пацијената је имало релапс болести. Поред биоптичке потврде рецидива болести, сви случајеви су поново класификовани користећи УЗ, КТ или ПЕТ. Највећи број релапса болести, укупно 14 (37,8%), десио се у највећој групи, хирургија + ХТ/РТ. У групи ХТ/РТ 11 пацијената (29,7%) имали су релапс, пет (13,5%) у групи хирургија + РТ, сва три пацијента у групи ИХТ (8,1%) и по два пацијента у групама само хирургија (5,4%) и само РТ (5,4%). Шема рецидива је приказана у табели 23.

Табела 22. Клиничкопатохистолошке карактеристике пацијената са стопама преживљавања за ОПЦ.

| Карактеристике | Категорија | Н (%) | ОС (%) | ДСС (%) | ДФС (%) |
|---------------------|---------------------|-----------|--------|---------|---------|
| Пол | Мушкарци | 63 (87,5) | 22,2 | 58,7 | 22,2 |
| | Жене | 9 (12,5) | 22,2 | 55,6 | 22,2 |
| Доб | 50–<60 год. | 30 (41,7) | 23,3 | 53,3 | 23,3 |
| | 60–<70 год. | 36 (50,0) | 22,2 | 63,9 | 22,2 |
| | 70+ год. | 6 (8,3) | 16,7 | 50,0 | 16,7 |
| Локализација | Тонзиле | 26 (36,1) | 30,8 | 61,5 | 30,8 |
| | Меко непце | 7 (9,7) | 0,0 | 85,7 | 0,0 |
| | Орофаринкс | 11 (15,3) | 18,2 | 72,7 | 18,2 |
| | Коријен језика | 28 (38,9) | 21,4 | 42,9 | 21,4 |
| Хирургија | Биопсија | 32 (44,4) | 3,1 | 50,0 | 77,6 |
| | Операција | 40 (55,6) | 37,5 | 65,0 | 55,2 |
| Хируршка маргина | Негативна | 17 (23,6) | 23,5 | 58,8 | 23,5 |
| | Позитивна | 11 (15,3) | 36,4 | 72,7 | 36,4 |
| | Не може се одредити | 44 (61,1) | 18,2 | 54,5 | 18,2 |
| Градус тумора | Градус 1 | 8 (11,1) | 25,0 | 50,0 | 25,0 |
| | Градус 2 | 56 (77,8) | 21,4 | 58,9 | 21,4 |
| | Градус 3 | 8 (11,1) | 25,0 | 62,5 | 25,0 |
| Васкуларна инвазија | Није присутна | 21 (29,2) | 47,6 | 76,2 | 47,6 |
| | Присутна | 19 (26,4) | 21,1 | 57,9 | 21,1 |
| | Непознато | 32 (44,4) | 6,3 | 46,9 | |
| Лимфна инвазија | Није присутна | 42 (54,5) | 43,5 | 64,7 | 72,7 |

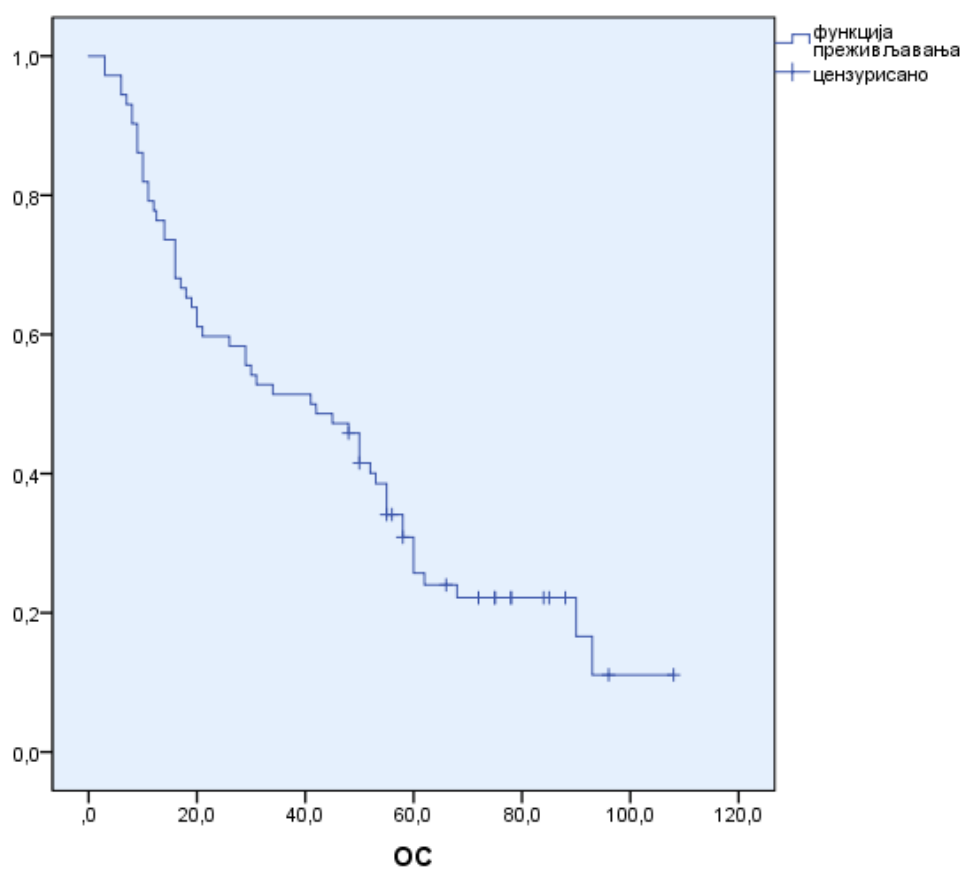
| | | | | | |
|--------------------------|-------------|-----------|------|------|------|
| | Присутна | 28 (36,4) | 23,5 | 69,6 | 54,5 |
| | Непознато | 7 (9,1) | 6,3 | 46,9 | |
| Перинеурална инвазија | Није | 35 (45,5) | 46,2 | 76,9 | 78,9 |
| | присутна | | | | |
| | Присутна | 35 (45,5) | 29,6 | 63,0 | 51,3 |
| | Непознато | 7 (9,1) | 6,3 | 46,9 | |
| Пушење | Да | 59 (82,0) | 15,3 | 54,2 | 74,3 |
| | Не | 13 (18,0) | 53,8 | 76,9 | 60,0 |
| Алкохол | Да | 34 (47,2) | 23,5 | 58,8 | 74,5 |
| | Не | 38 (52,8) | 21,1 | 57,9 | 54,5 |
| Т стадијум | T1 | 9 (12,5) | 33,3 | 77,8 | 78,6 |
| | T2 | 15 (20,8) | 53,3 | 80,0 | 75,0 |
| | T3 | 17 (23,6) | 23,5 | 47,1 | 62,5 |
| | T4 | 29 (40,3) | 3,4 | 48,3 | 44,4 |
| | Непознато | 2 (2,8) | | | |
| N стадијум | N0 | 28 (38,9) | 32,1 | 78,6 | 73,2 |
| | N1-3 | 44 (61,1) | 15,9 | 45,5 | 53,6 |
| Стадијум болести | I | 5 (6,9) | 20,0 | 80,0 | 78,6 |
| | II | 11 (15,3) | 36,4 | 81,8 | 82,6 |
| | III | 15 (20,8) | 40,0 | 66,7 | 77,3 |
| | IVa | 28 (38,9) | 17,9 | 53,6 | 36,0 |
| | IVб | 13 (18,1) | 0,0 | 30,8 | |
| Терапија | Хирургија+ | 22 (30,6) | 40,9 | 59,1 | 52,8 |
| | ХТ/РТ | | | | |
| | Хирургија | 7 (9,7) | 28,6 | 85,7 | 86,7 |
| | Хирургија + | 11(15,3) | 36,4 | 63,6 | 75,0 |
| | РТ | | | | |
| | РТ | 2 (2,8) | 0,0 | 50,0 | 50,0 |
| | ХТ/РТ | 27 (37,5) | 3,7 | 55,6 | 50,0 |
| | ИХТ | 3 (4,2) | 0,0 | 0,0 | |

Табела 23. Локализација релапса болести и инциденција нових примарних тумора.

| Мјесто релапса | Н | % |
|-------------------------------------|----------|-------------|
| Локални рецидив | 24 | 33,3 |
| Лимфни чворови | 18 | 25,0 |
| Плућа | 9 | 12,5 |
| Јетра | 1 | 1,4 |
| Инциденција других примарних тумора | 2 | 2,75 |
| Карцином плућа | 2 | 2,75 |

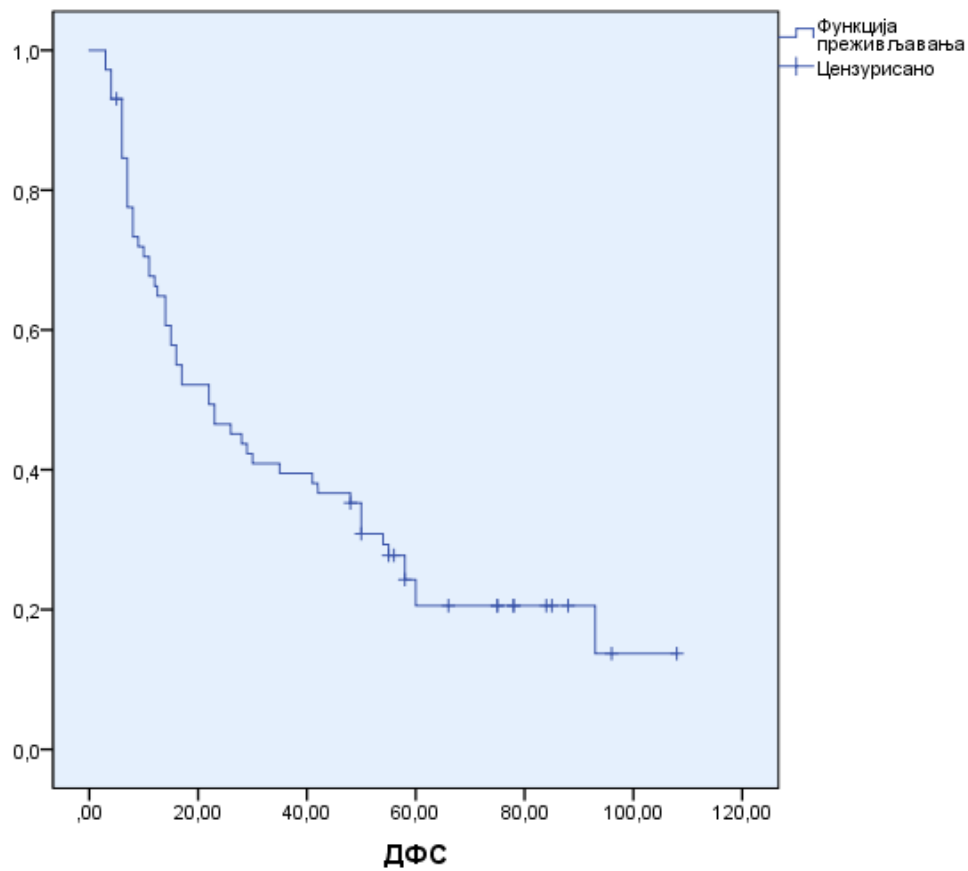
5.1.2 Анализа преживљавања

Након медијане праћења од 78 мјесеци израчунати медијан ОС-а код свих пацијената био је 41 мјесец, 95% интервал повјерења (95%ЦИ: 23,69–58,30%), са догађајем забиљеженим код 77,8% пацијената (слика 3).



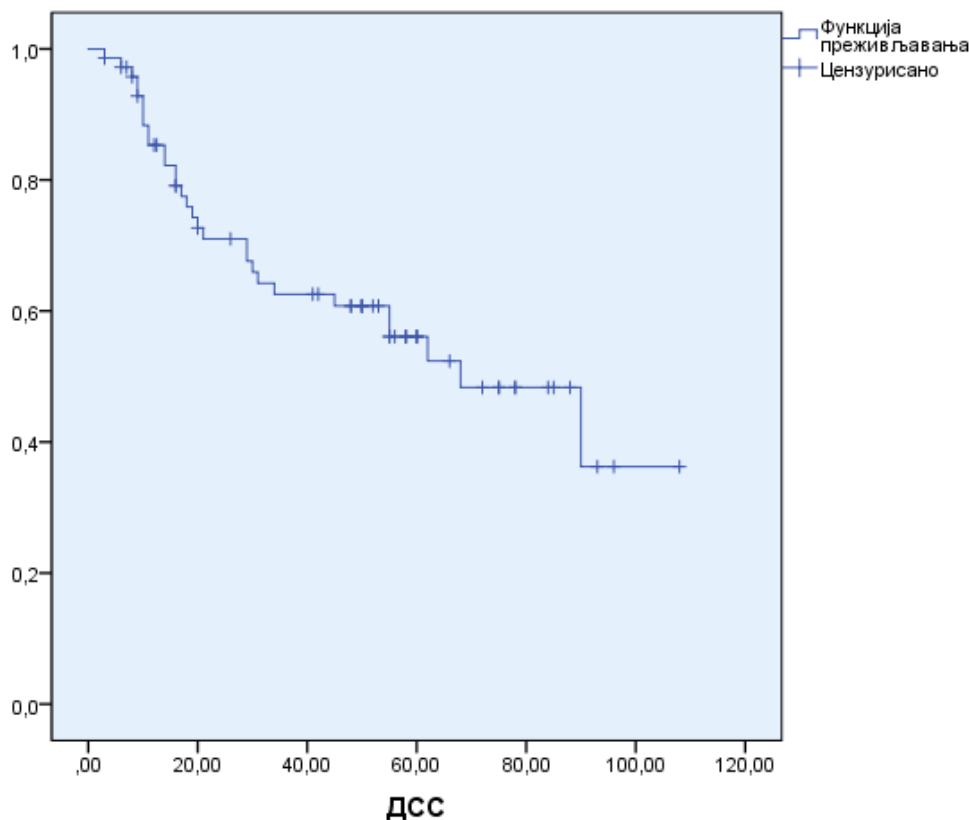
Слика 3: Каплан Меирева кривуља ОС-а за укупно популацију ОПЦ, Н=72

Медијана ДФС је била 22 мјесеца (95%ЦИ 11,27:32,72), а укупно 37 пацијената (51,4%) имало је релапс болести (слика 4).



Слика 4: Каплан Меирова кривуља ДФС-а за укупно популацију ОПЦ, Н=72.

Стопа преживљавања ДСС-а била је 58,3% са медијаном преживљавања 68 мјесеци (95%ЦИ 41,73:94,26), (Слика 5).



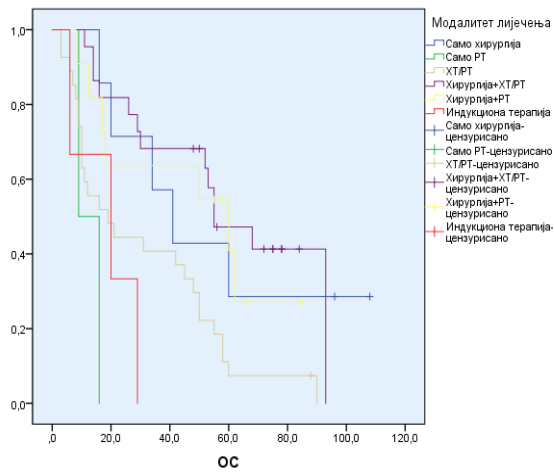
Слика 5: Каплан Меирева кривуља ДСС-а за укупно популацију, N=72.

5.1.3 Терапијски модалитет и утицај на преживљавање пацијената

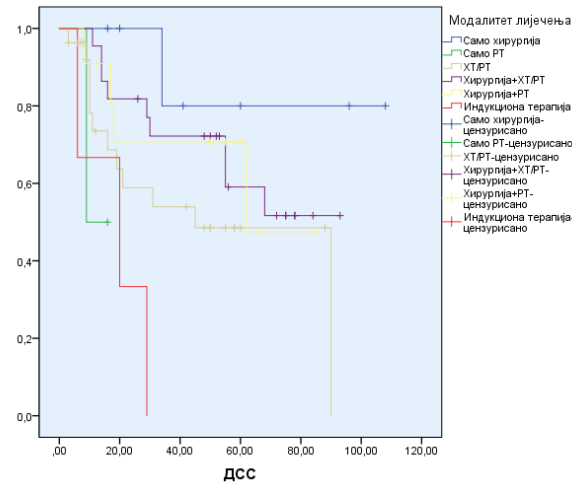
Табела 41 показује стопу преживљавања за одређене категорије. Дистрибуција ОС, ДФС и ДСС, за различите терапијске модалитете је статистички сигнификантна за све наведене категорије. Резултати су приказани у табели 24. Каплан-Меиерове криве ОС, ДФС и ДСС су приказане на слици 6. Анализирани су и узроци смрти, а резултати су показали да је 31 пацијент (43,1%) умро од прогресије болести, 25 (34,7%) од узрока који нису повезани са примарном болешћу, а 16 (22,2%) пацијената је било живо на крају периода праћења (слика 7).

Табела 24: Преживљавање пацијената по различитим категоријама и терапијском модалитету за ОПЦ.

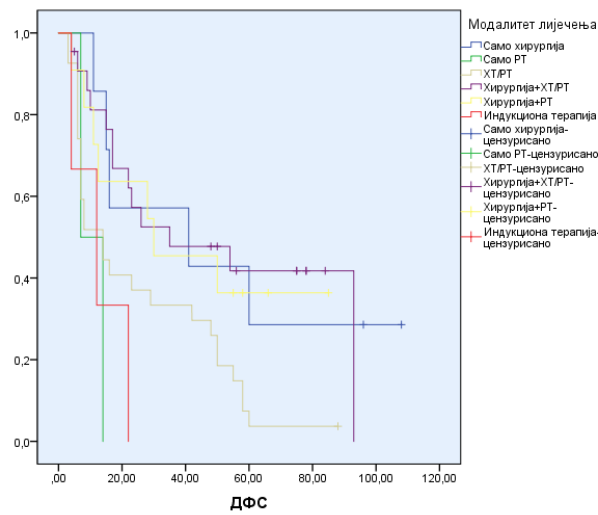
| Статистика | Хирургија | РТ | ХТ/РТ | Хирургија+ ХТ/РТ | Хирургија+ РТ | ИХТ | Укупно |
|--------------|-----------|----|-------------|---------------------|------------------|-----|-------------|
| ОС (мјесеци) | 41 | 9 | 19 | 55 | 60 | 20 | 41 |
| Н | 7 | 2 | 27 | 22 | 11 | 3 | 72 |
| Н догађаји | 5 | 2 | 26 | 13 | 7 | 3 | 56 |
| 95% ЦИ | 23,1:58,9 | | 3,73:34,26 | 35,1:74,2 | | | 23,7:58,3 |
| р вриједност | | | | | | | 0,001 |
| ДСС | НР | 9 | 45 | НР | 62 | 20 | 68 |
| Н | 7 | 2 | 27 | 22 | 11 | 3 | 72 |
| Н догађаји | 1 | 1 | 12 | 9 | 4 | 3 | 30 |
| 95% ЦИ | | | 19,69:70,30 | | | | 41,73:94,26 |
| р вриједност | | | | | | | 0,019 |
| ДФС | 41 | 7 | 14 | 35 | 30 | 12 | 22 |
| Н | 7 | 2 | 27 | 22 | 11 | 3 | 72 |
| Н догађаји | 5 | 2 | 26 | 13 | 7 | 3 | 56 |
| 95% ЦИ | | | 5,14:22,85 | | | | 11,27:32,72 |
| р вриједност | | | | | | | 0,009 |



(а)

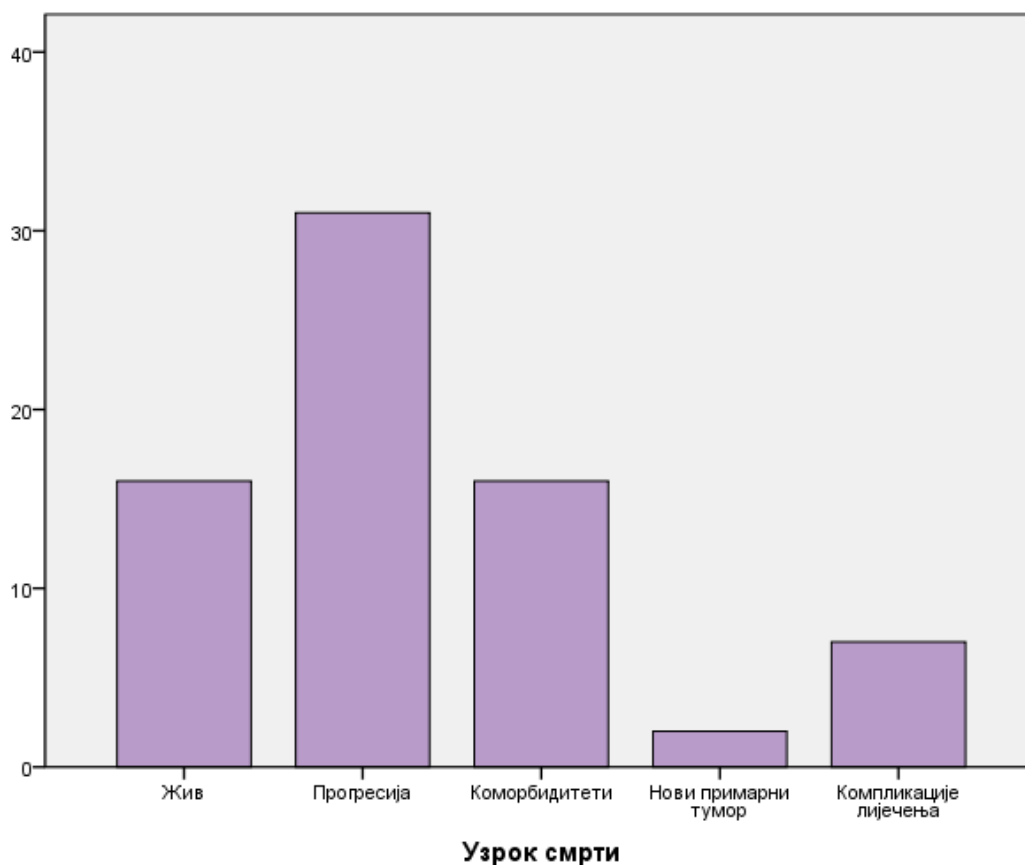


(б)



(ц)

Слика 6. (а) Каплан Меирове кривуље ОС-а у односу на модалитет лијечења, медијана 41, лог ранк $p=0,001$, (б) ДСС медијана 68, лог ранк $p=0,019$, (ц) ДФС медијана 22, лог ранк $p=0,009$



Слика 7: стратификација пацијената на основу коначног исхода и узрока смрти.

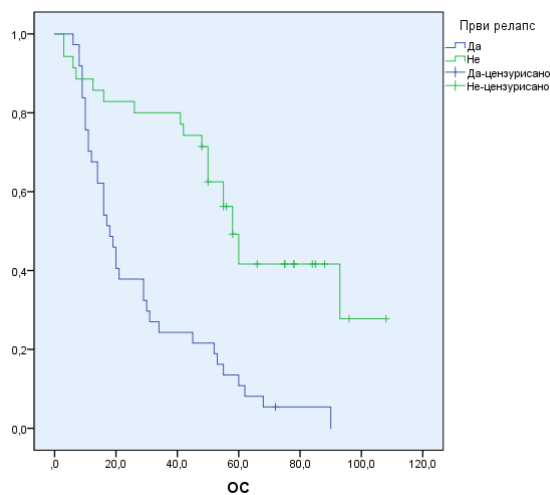
Примјеном Pearson Chi-square теста добијена је статистички значајна разлика ($\chi^2=12,667$, $p=0.027$) терапијског модалитета и преживљавања пацијената. Такође, добијена је статистички сигнификантна разлика примјеном Fisher exact теста ($p=0.012$). Нема утицаја на настанак релапса болести. На основу наведеног можемо закључити да најкраће преживљавање имају пацијенти третиран са само РТ, ИХТ и ХТ/РТ. На основу Каплан Меиерове кривуље показано је да терапијски модалитет утиче на ОС, ДСС и ДФС у нашој групи пацијената.

5.1.4 Први релапс и утицај на преживљавање пацијената

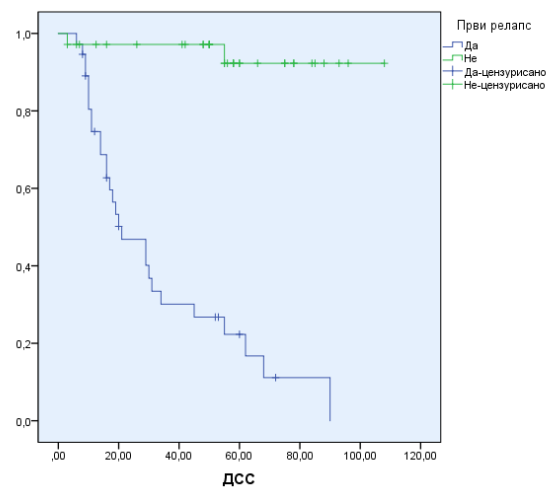
Укупно 37 пацијената (51,4%) је имало релапс болести у укупном периоду праћења. Стопа преживљавања је изузетно мала код пацијената који су имали релапс и износи 2,7%, док код пацијената који нису имали релапс износи 42,9%. ОС код групе са

релапсом износи 18 мјесеци (95%ЦИ 13,53:22,46), а у групи без првог релапса је 58 мјесеци (95%ЦИ 52,1:63,9). Када искључимо узроке смрти који нису имали везе са примарном болешћу односно израчунамо стопе преживљавања за ДСС долазимо до закључка да је стопа преживљавања 24,3% за оне са релапсом и 94,3% за оне које нису имали релапс болести. ДСС код групе са релапсом износи 21 мјесец (95%ЦИ 9,5:32,5), а у групи без релапса је НР.

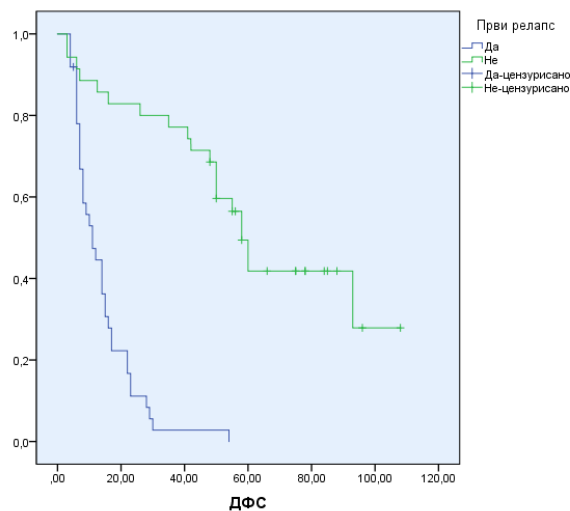
Постоји значајна статистичка сигнификантност на основу Fisher exact i Spearman Chi-square теста $p < 0,001$. Такође, видљиво је и јасно раздвајање Каплан Меиревих кривуља ОС-а, ДФС-а ДСС-а, лог ранк $p < 0,001$ (слика 8).



(а)



(б)



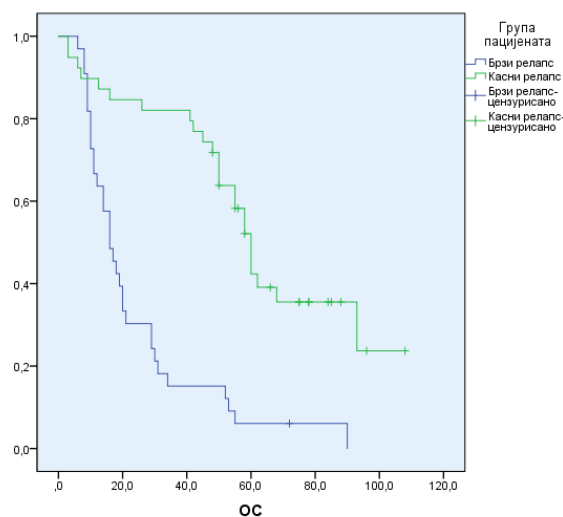
(ц)

Слика 8. (а) Каплан Меиреве кривуље ОС-а у односу на први релапс, медијана 41, лог ранк $p < 0,001$, (б) ДСС медијана 68, лог ранк $p < 0,001$, (ц) ДФС медијана 22, лог ранк $p < 0,001$

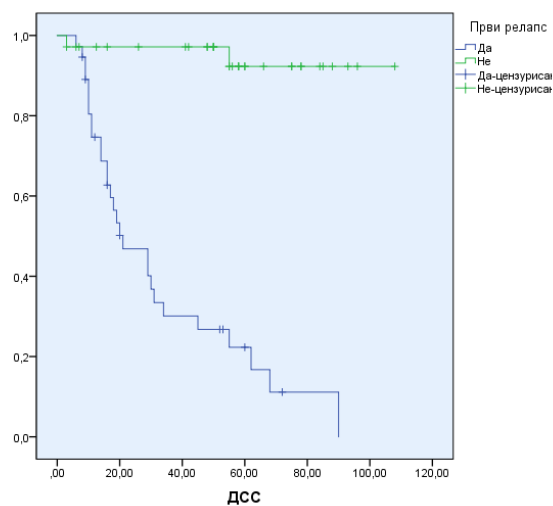
5.1.5 Подгрупе пацијената са брзим и касним релапсом код ОПЦ и утицај на преживљавање

Укупно 33 пацијената (45,8%) је имало релапс унутар 24 мјесеца од почетка праћења. На основу овога можемо закључити да већина пацијената са релапсом има релапс унутар 24 мјесеца од почетка болести. Стопа преживљавања остаје мала код I групе пацијената и износи 3,0%, док у II групи пацијената који су имали релапс после 24 мјесеца износи 38,5%. Стопа преживљавања за ДСС износи у I групи 24,2%, а у II групи 87,2%. ОС код групе са брзим релапсом износи 16 мјесеци (95%ЦИ 11,5:20,5), а у групи касног релапса је 60 мјесеци (95%ЦИ 54,8:65,3). ДФС у I групи износи 10 мјесеци (95%ЦИ 6,8:13,1), у II групи 58 мјесеци (95%ЦИ 47,1:68,8). ДСС у I групи износи 19 мјесеци (95%ЦИ 14,0:24,0), у II групи је НР.

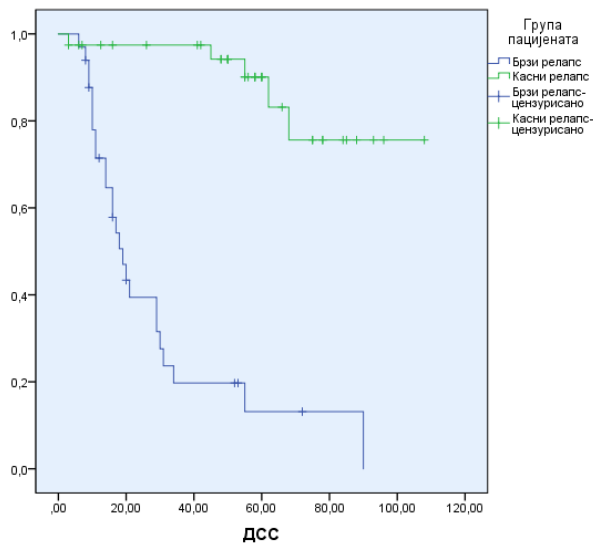
Што се тиче статистичке сигнификантности за ове двије групе пацијената са ОПЦ, показана је висока статистичка сигнификантност у свим групама ОС, ДФС И ДСС на основу лог ранк теста уз јасно раздвајање кривуља преживљавања између ове двије групе пацијената (слика 9). Примјеном Fisher exact и Spearman Chi-square теста нађена је висока статистичка сигнификантност за ове двије групе пацијената и преживљавања $p < 0,001$.



(а)



(б)

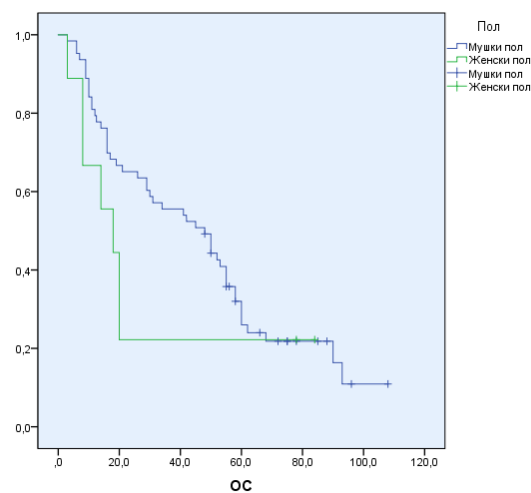


(ц)

Слика 9. (а) Каплан Меиреове кривуље ОС-а у односу на први релапс, медијана 41, лог ранк $p < 0,001$, (б) ДСС медијана 68, лог ранк $p < 0,001$, (ц) ДФС медијана 22, лог ранк $p < 0,001$

5.1.6 Утицај пола на преживљавање пацијената и настанак релапса код ОПЦ

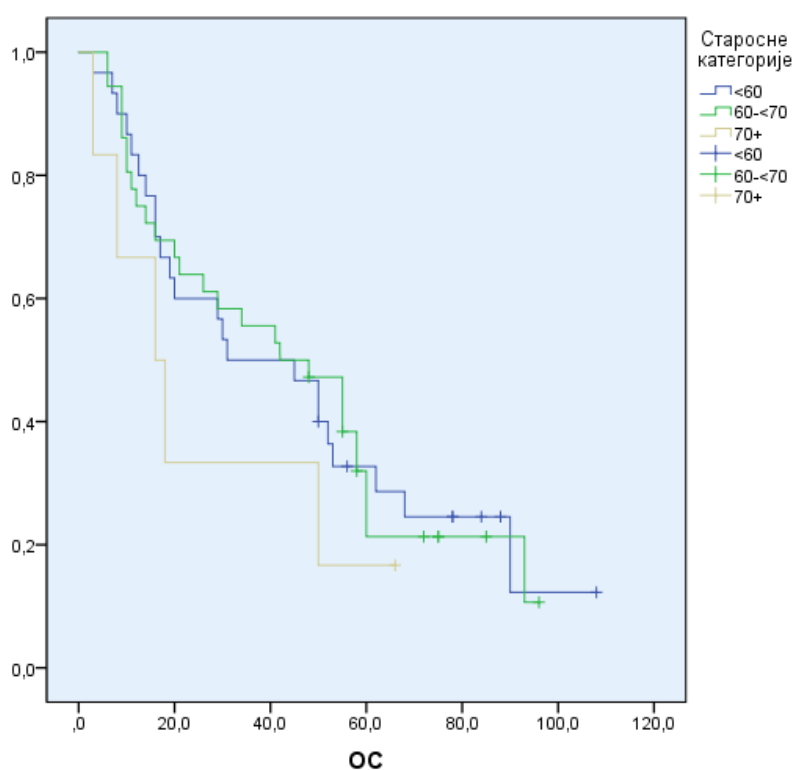
Као што је претходно већ наведено доминанатно је био присутан мушки пол у нашој групи пацијената 63 (87,5%). Статистичком анализом није нађено статистичке сигнификантности о утицају пола на ОС, ДФС и ДСС. На слици 10 је приказана Каплан Меиреова кривуља ОС за фактор пол. Примјеном Spearman Chi-square теста није добијена статистички значајна разлика пола и преживљавања пацијента, а ни релапса болести. Слично се може рећи и за Fisher exact тест за преживљавање и настанак релапса.



Слика 10: Каплан Меиреова кривуља ОС-а у односу на пол пацијента са ОПЦ, лог ранк $p = 0,289$

5.1.7 Утицај доби на преживљавање пацијената и настанак релапса код ОПЦ

Претходно су већ наведене стопе преживљавања за различите добне групе и можемо закључити да најлошију стопу преживљавања имају пацијенти старији од 70 година. Каплан меиеровом анализом није нађено статистичке сигнификантности о утицају доби на ОС ($p=0,554$), ДФС ($p=0,708$) и ДСС ($p=0,463$). На слици 11 је приказана Каплан Меиерова кривуља ОС-а за различите добне групе. Примјеном Spearman Chi-square теста није добијена статистички значајна разлика између добних група и преживљавања пацијента, а ни релапса болести. Слично се може рећи и за Fisher exact тест за преживљавање и настанак релапса.

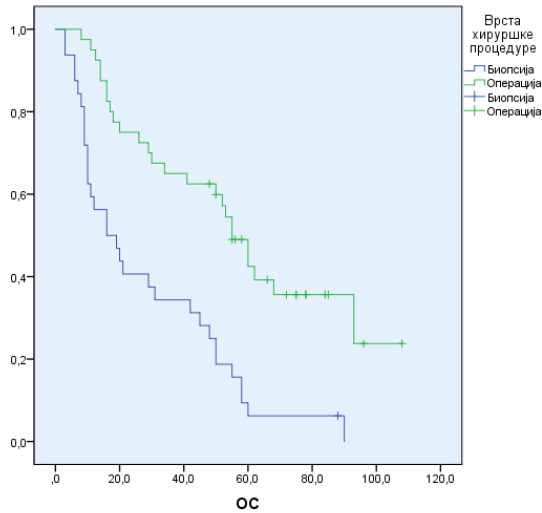


Слика 11: Каплан Меиерова кривуља ОС-а у односу на добне групе пацијената са ОПЦ, лог ранк $p=0,554$.

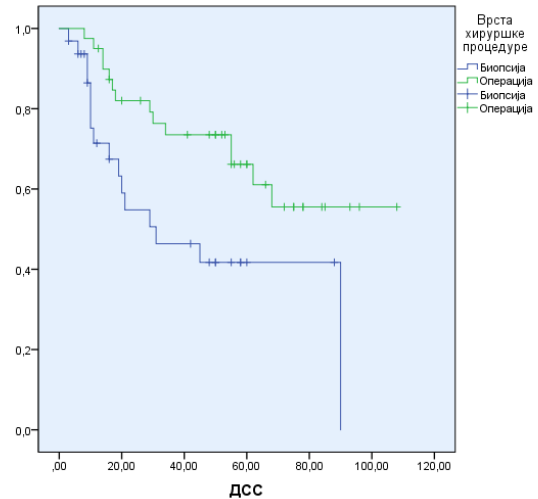
5.1.8 Утицај операбилности на преживљавање пацијената и настанак релапса

Већина пацијената је иницијално била операбилна 40 (55,5%), а код њих 32 (44,5%) је урађена биопсија. Постоји висока статистичка сигнификантност $p<0,001$ о утицају операбилности на ОС, ДФС и ДСС, слика 12. Примјеном Spearman Chi-square теста није

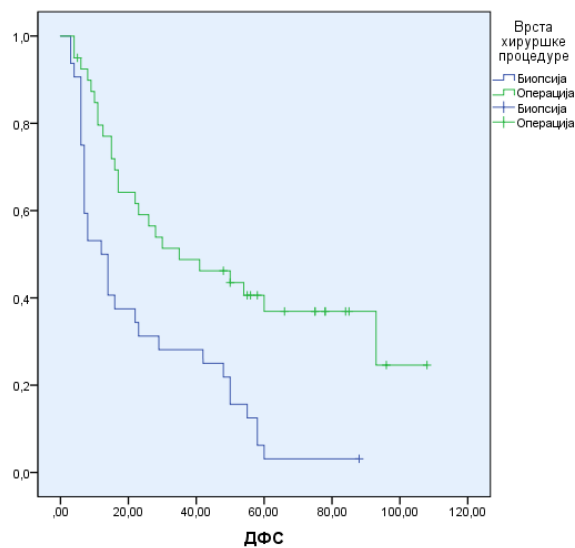
добијена статистички значајна разлика између добних скупина и преживљавања пацијента ($\chi^2 = 12.154$, $p < 0,001$), а за релапс болести није показана статистичка сигнификантност ($\chi^2 = 1.471$, $p = 0.225$). На основу Fisher exact тест за преживљавање ($p < 0,001$) и настанак релапса ($p = 0,246$).



(а)



(б)



(ц)

Слика 12. (а) Каплан Меирове кривуље ОС-а у односу на операбилност, $p < 0,001$ група са биопсијом ОС=16 мјесеци, а оперисани 55 мјесеци, (б) ДСС $p < 0,011$ група са биопсијом ДСС=31 мјесеци, а оперисани НР (ц) ДФС $p < 0,001$ група са биопсијом ДФС=12 мјесеци, а оперисани 35

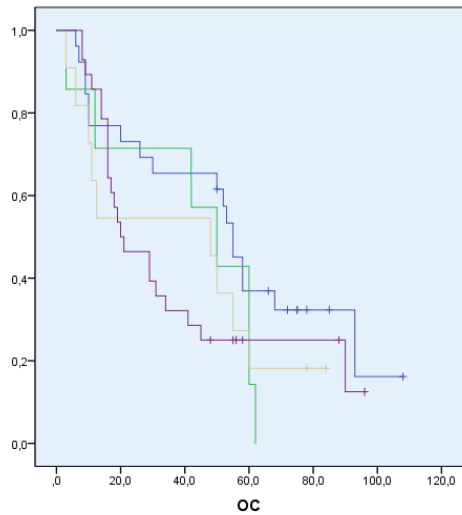
5.1.9 Утицај анатомске регије карцинома орофаринкса на преживљавање пацијената и настанак релапса

У овој анализи било је 28 (38,9%) пацијената са тумором коријена језика, тонзила 26 (36,1%), орофаринкса 11 (15,3%) и седам са локализацијом меко непце (9,7%). Карактеристике ових група пацијената су приказане у табели 25. Стопе преживљавања ОС-а и ДФС-а су биле најлошије за локализацију меко непце (0,0%), а потом за локализацију коријен језика (21,4%). Међутим, стопе ДСС су нешто различите и за меко непце износе (85,7%), док је најлошија за коријен језика (42,9%). Ово указује да су пацијенти са локализацијом меко непце имали други узрок смрти, а не прогресију основне болести. Резултати преживљавања за различите туморске локализације нису били статистички сигнификантни у све три групе (слика 13). На основу Spearman Chi-square теста није добијена статистички значајна разлика између анатомске регије органа и преживљавања пацијента ($\chi^2=3.213$, $p=0.360$), али јесте за релапс болести ($\chi^2=9.846$, $p=0.020$). Док на основу Fisher exact теста није показана статистичка сигнификантност за преживљавање ($p=0,403$) и настанак релапса ($p=0,132$).

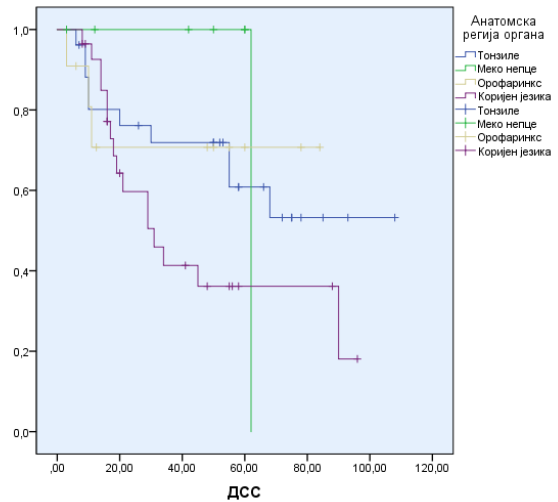
Табела 25. Преживљавање пацијената по различитим категоријама, на основу анатомске регије ОПЦ.

| Статистика | Тонзиле | Меко непце | Орофаринкс | Коријен језика |
|--------------|-----------|------------|------------|----------------|
| ОС (мјесеци) | 55 | 50 | 48 | 20 |
| Н | 26 | 7 | 11 | 28 |
| Н догађаји | 18 | 7 | 9 | 22 |
| 95% ЦИ | 49,3:60,6 | 29,4:70,5 | 21,4:90,1 | 8,6:31,4 |
| $p=0,351$ | | | | |
| ДСС | НР | 62 | НР | 31 |
| Н | 26 | 7 | 11 | 28 |
| Н догађаји | 10 | 1 | 3 | 16 |
| 95% ЦИ | | | | 19,6:45,4 |
| $p=0,351$ | | | | |
| ДФС | 35 | 30 | 48 | 14 |
| Н | 26 | 7 | 11 | 28 |
| Н догађаји | 18 | 7 | 9 | 22 |
| 95% ЦИ | 22,5:79,0 | 24,8:35,1 | 5,14:92,2 | 9,6:18,3 |

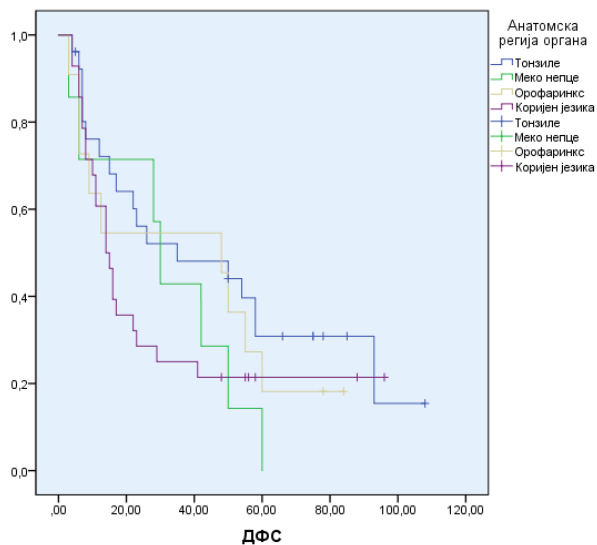
p=0,420



(a)



(б)



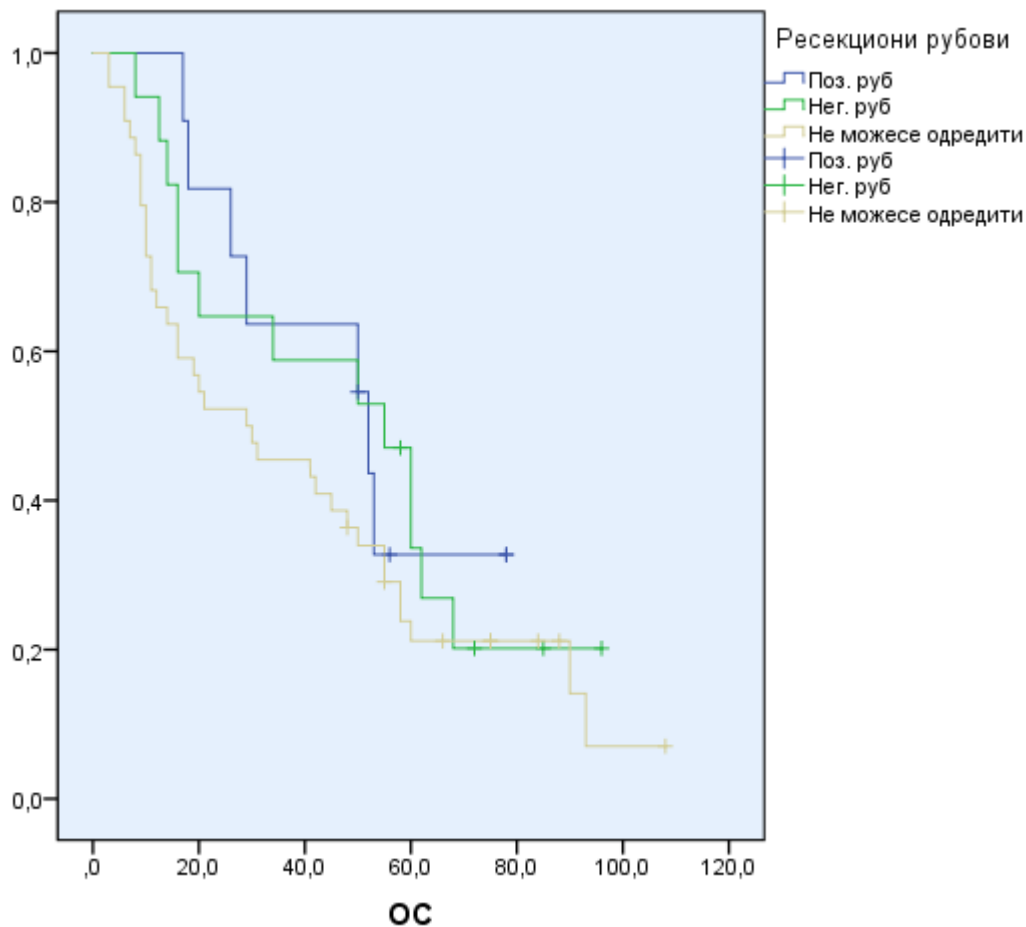
(ц)

Слика 13. Каплан Меирове кривуље ОС, ДФС и ДСС у односу на анатомску локализацију тумора орофаринкса.

5.1.10 Утицај ресекционих рубова на преживљавање пацијената

Код већине испитаника ресекциони руб се није могао одредити, с обзиром на велики број биопсија. Такође одређен број хируршких препарата су били искидани па се није могао одредити ресекционе руб. Стога укупан број препарата на којима се није могао

одредити ресекциони руб је 44 (61,1%). Код осталих препарата позитиван ресекциони руб је присутан код 11 испитаника (15,3%), а негативан ресекциони руб је имало 17 испитаника (23,6). Није нађена статистичка сигнификантност ни за ОС ($p=0,329$), ДСС ($p=0,411$), ДФС ($p=0,548$), слика 14. Најлошији ОС, ДФС и ДСС је примјећен у групи гдје се не може одредити ресекциони руб. Такође, није нађена статистичка сигнификантност на Spearman Chi-square тесту за утицај ресекционих рубова на преживљавање ($\chi^2=1.705$, $p=0.426$) и релапс болести ($\chi^2=0.565$, $p=0.754$), као ни на Fisher exact тесту за преживљавање ($p=0,257$) и настанак релапса ($p=0,794$).



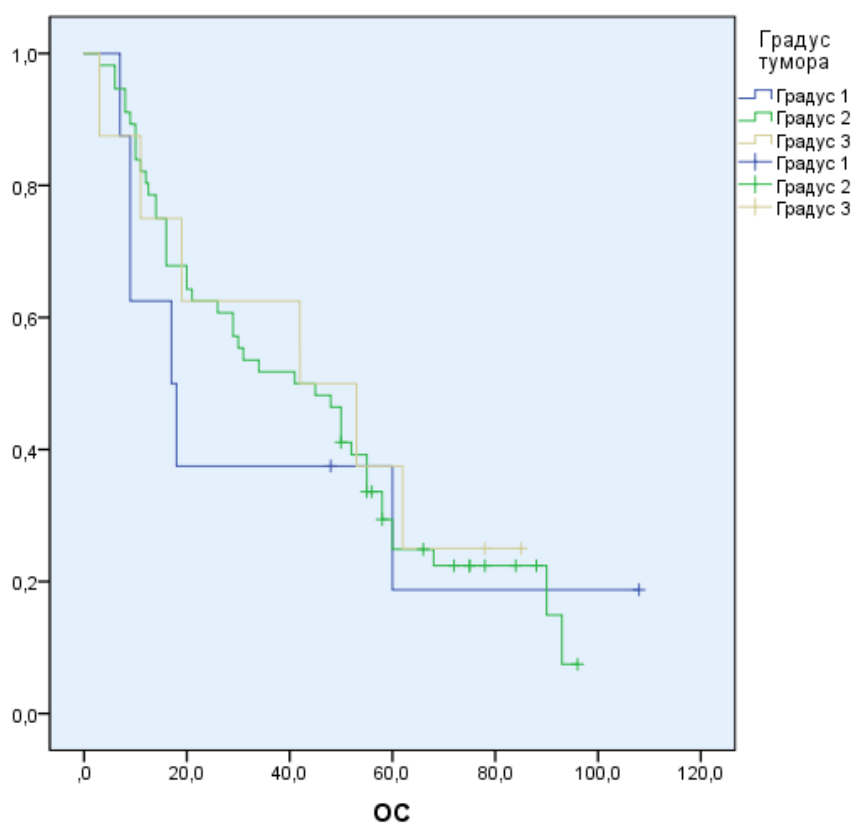
Слика 14. Каплан Меирева кривуља ОС-а за фактор ресекциони руб.

5.1.11 Хистолошки градус и утицај на преживљавање пацијената

Статистичком анализом није доказано да градус утиче на преживљавање пацијената, као ни на настанак релапса болести. Детаљније се може видјети на табели 26, слика 15.

Табела 26. Утицај градус тумора на преживљавање и настанак релапса

| Категорија | Градус 1 | Градус 2 | Градус 3 | р вриједност |
|-------------------------------------|----------|-----------|----------|--------------|
| Укупно (%) | 8 (11,1) | 56 (77,8) | 8 (11,1) | |
| ОС (мјесеци) | 17 | 41 | 42 | 0,923 |
| ДСС (мјесеци) | 18 | 90 | 62 | 0,699 |
| ДФС (мјесеци) | 8 | 23 | 16 | 0,907 |
| Spearman Chi-square преживљавање | | | | 0,801 |
| Spearman Chi-square релапс | | | | 0,955 |
| Fisher exact преживљавање | | | | 0,805 |
| Fisher exact релапс | | | | 0,985 |



Слика 15: Каплан Меирева кривуља ОС-а у односу на градус тумора, лог ранк $p=0,923$.

5.1.12 Инвазија у крвне и лимфне судове и перинеурална инвазија и њихов утицај на преживљавање пацијената

Код 70 пацијената код којих је могуће било урадити ову анализу нађене су статистичке сигнификантности. Ради лакше прегледности резултати ове анализе ће бити представљени табеларно и сликовно (табела 27, слике 16-18).

Табела 27. Утицај ВИ, ЛИ и ПНИ на преживљавање пацијената са ОПЦ.

| Статистика | ВИ | ЛИ | ПНИ |
|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| ОС (мјесеци) | | | |
| Присутна | 68 | 64 | 68 |
| Није присутна | | | |
| Укупно | | | |
| Н (%) | 31 | 28 (36,4) | 35 (50) |
| Н догађаји | 19 | 17 | 21 |
| 95% ЦИ | 37,8:98,1 | 34,9:93,1 | 39,4:96,5 |
| р вриједност | 0,050 | 0,048 | 0,057 |
| ДСС | | | |
| Н | 31 | 28 (36,4) | 35 (50) |
| Н догађаји | 13 | 8 | 13 |
| 95% ЦИ | 69,6:86,3 | | |
| р вриједност | 0,039 | 0,600 | 0,147 |
| ДФС | | | |
| Н | 31 | 28 (36,4) | 35 (50) |
| Н догађаји | 13 | 17 | 21 |
| 95% ЦИ | 28,8:63,2 | 22,7:67,2 | 35,1:48,9 |
| р вриједност | 0,025 | 0,077 | 0,034 |
| Spearman Chi-square | 3,603 $p=0,058$ | 2,755 $p=0,097$ | 3,660 $p=0,056$ |
| преживљавање | | | |

Spearman Chi- 4,869 $p=0,027$ 1,337 $p=0,248$ 6,629 $p=0,010$

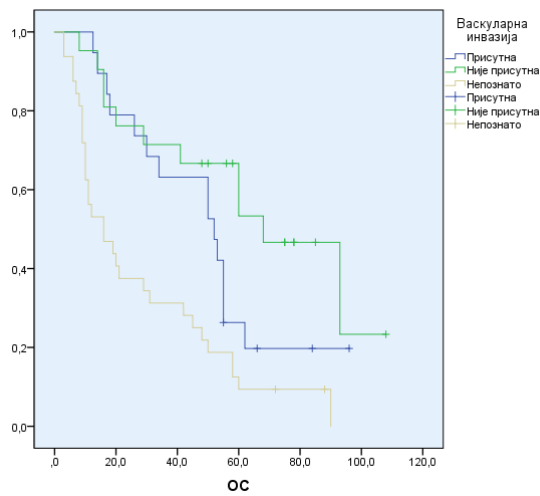
square релапс

Fisher exact $p=0,091$ $p=0,143$ $p=0,093$

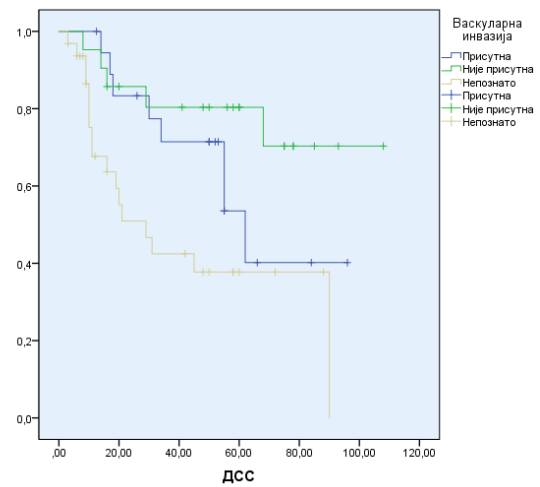
преживљавање

Fisher exact $p=0,039$ $p=0,298$ $p=0,019$

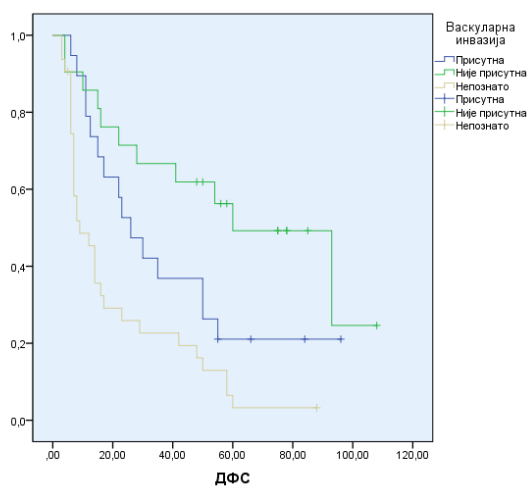
релапс



(а)

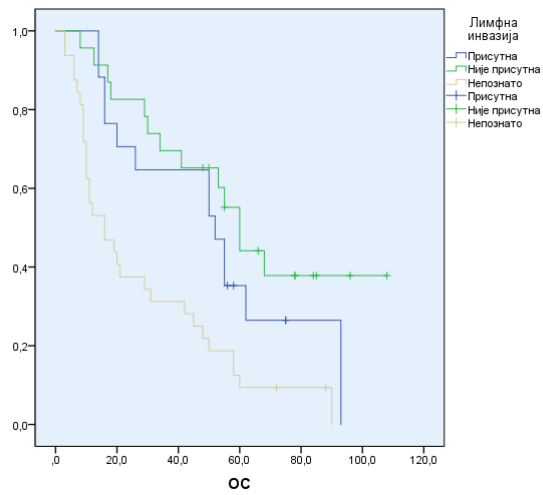


(б)

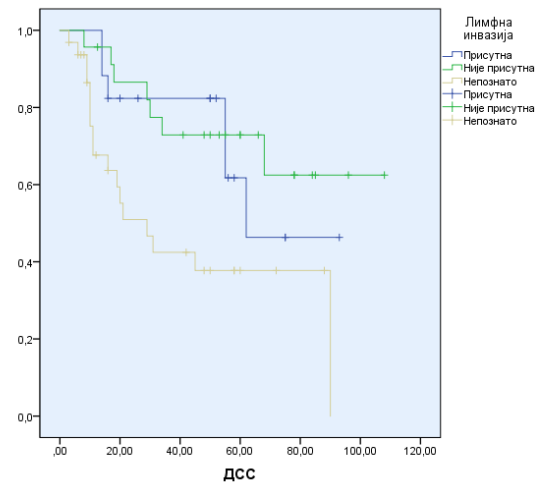


(ц)

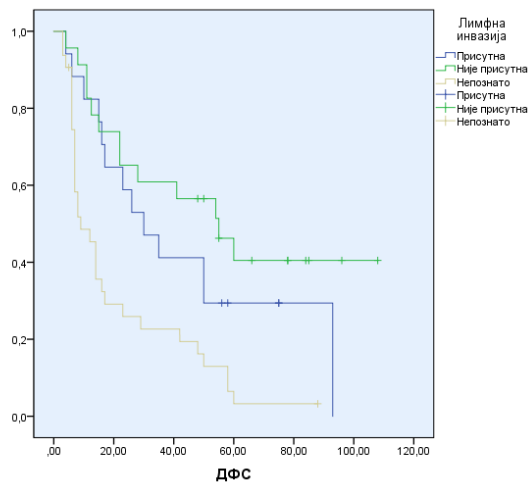
Слика 16. Каплан Меиреове кривуље преживљавања у односу на ВИ.



(a)

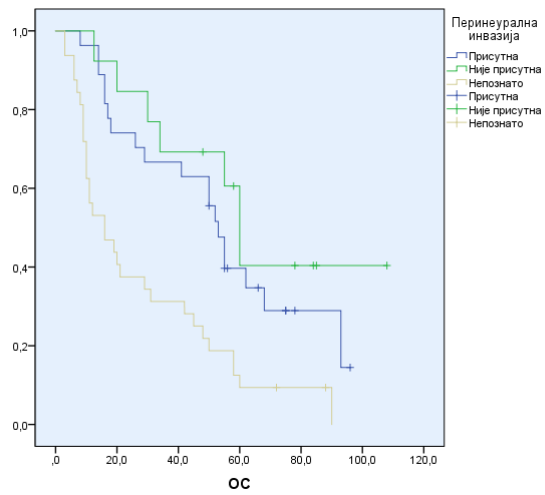


(б)

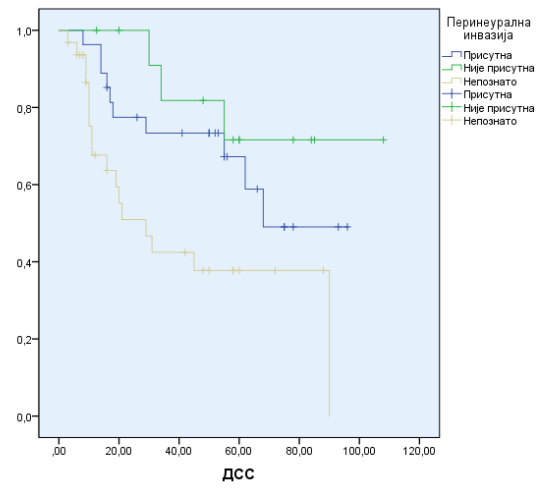


(ц)

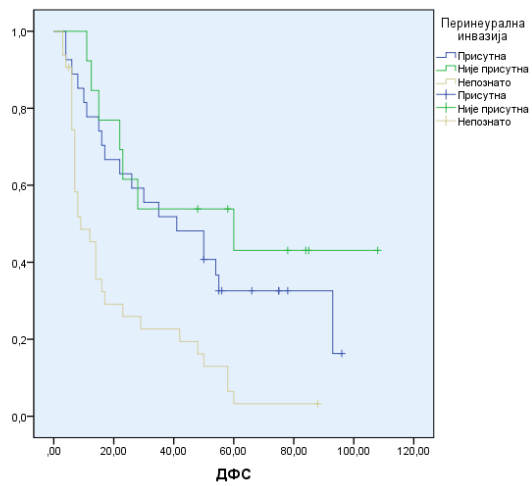
Слика 17. Каплан Меирове кривуље преживљавања у односу на ЛИ.



(a)



(б)



(ц)

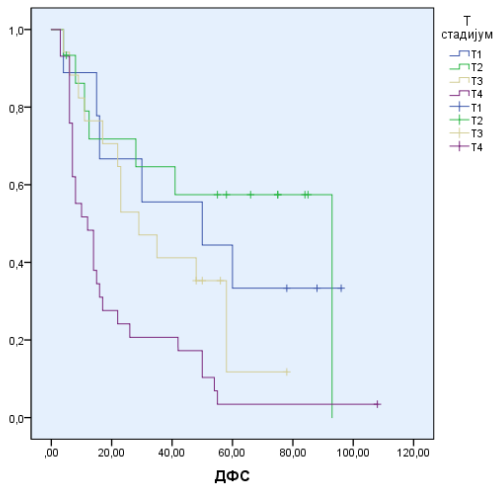
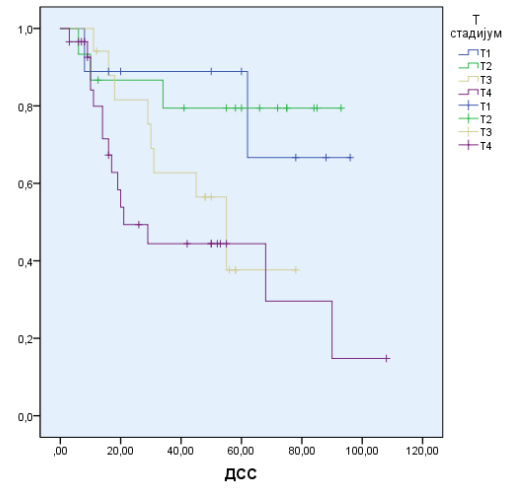
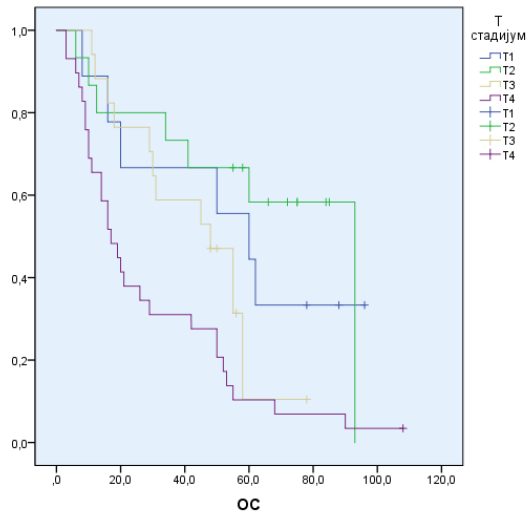
Слика 18. Каплан Меирове кривуље преживљавања у односу на ПНИ.

5.1.13 T стадијум болести ОПЦ и утицај на преживљавање пацијената

У табели 28 су приказани T стадијум болести са вриједностима преживљавања. На слици 19 су приказане криве преживљавања.

Табела 28. Преживљавање и стопе преживљавања у односу на T стадијум болести.

| Статистика | T 1 | T2 | T3 | T4 | Укупно |
|----------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| ОС (мјесеци) | 60 | 93 | 48 | 17 | 41 |
| Н (%) | 9 (12,5) | 15 (20,8) | 17 (23,6) | 29 (40,3) | 70 (22,9) |
| Н догађаји | 6 | 7 | 13 | 28 | 54 |
| 95% ЦИ | 30,8:89,2 | | 27,2:68,7 | | 10,4:23,6 |
| р вриједност | | | | | 0,001 |
| ДСС | НР | НР | 55 | 21 | 68 |
| Н | 9 (12,5) | 15 (20,8) | 17 (23,6) | 29 (40,3) | 70 (58,6) |
| Н догађаји | 2 | 3 | 9 | 15 | 29 |
| 95% ЦИ | | | 40,8:69,2 | | 6,3:94,5 |
| р вриједност | | | | | 0,021 |
| ДФС | 50 | 93 | 29 | 12 | 22 |
| Н | 9 (12,5) | 15 (20,8) | 17 (23,6) | 29 (40,3) | 70 (22,9) |
| Н догађаји | 6 | 7 | 13 | 28 | 54 |
| 95% ЦИ | 30,8:89,2 | | 27,2:68,7 | | 10,4:23,6 |
| р вриједност | | | | | 0,001 |
| Spearman Chi-square преживљавање | 14,661 | | р=0,002 | | |
| Spearman Chi-square релапс | 5,466 | | р=0,141 | | |
| Fisher exact преживљавање | р=0,001 | | | | |
| Fisher exact релапс | р=0,152 | | | | |



Слика 19. Каплан Меиреове кривуље ОС-а, ДФС-а и ДСС у односу на Т стадијум болести

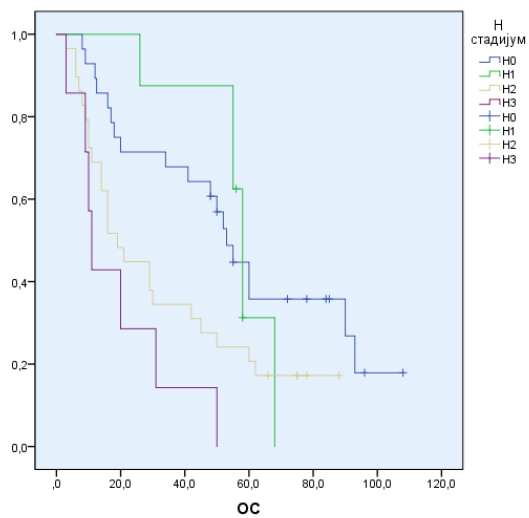
(Ц)

5.1.14 N стадијум болести ОПЦ и утицај на преживљавање пацијената

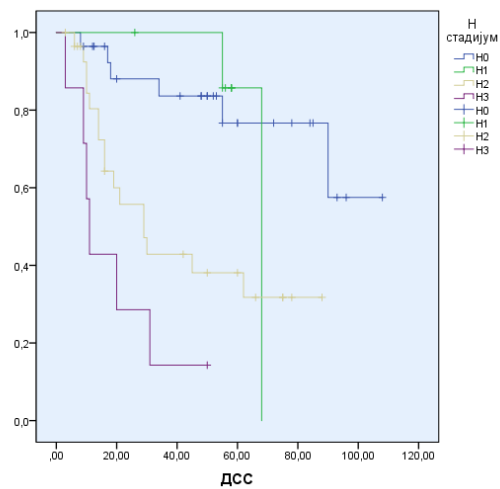
У табели 29 су приказани N стадијум болести са вриједностима преживљавања. На слици 19 су приказане криве преживљавања.

Табела 29. Преживљавање и стопе преживљавања у односу на T стадијум болести.

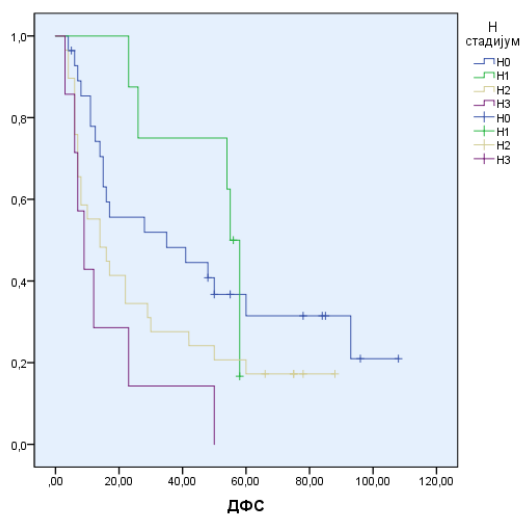
| Статистика | N0 | N1 | N2 | N3 | Укупно |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|
| ОС (мјесеци) | 53 | 58 | 19 | 11 | 41 |
| N (%) | 28 (38,9) | 8 (11,1) | 29 (40,3) | 7 (9,7) | 72 (100) |
| N догађаји | 19 | 6 | 24 | 7 | 56 |
| 95% ЦИ | 45,2:60,7 | 54,6:61,3 | 11,6:26,3 | 8,4:13,5 | 23,7:58,3 |
| p вриједност | | | | | 0,003 |
| ДСС | НР | 68 | 29 | 11 | 68 |
| N | 28 (38,9) | 8 (11,1) | 29 (40,3) | 7 (9,7) | 72 (100) |
| N догађаји | 6 | 2 | 16 | 6 | 40 |
| 95% ЦИ | | | 15,1:42,9 | 8,4:13,5 | 41,7:94,2 |
| p вриједност | | | | | <0,001 |
| ДФС | 35 | 55 | 14 | 9 | 22 |
| N | 28 (38,9) | 8 (11,1) | 29 (40,3) | 7 (9,7) | 72 (100) |
| N догађаји | 19 | 6 | 24 | 7 | 56 |
| 95% ЦИ | | 51,9:58,0 | 3,4:25,5 | 3,8:14,1 | 11,2:32,7 |
| p вриједност | | | | | 0,023 |
| Spearman Chi-square | 4,046 | | | | |
| преживљавање | p=0,257 | | | | |
| Spearman Chi-square | 5,495 | | | | |
| релапс | p=0,139 | | | | |
| Fisher exact | p=0,064 | | | | |
| преживљавање | | | | | |
| Fisher exact релапс | p=0,079 | | | | |



(a)



(б)



(ц)

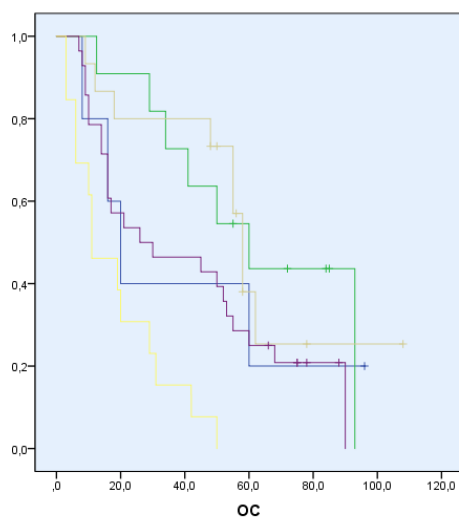
Слика 19. Каплан Меирове кривуље ОС-а, ДФС-а и ДСС-а у односу на N стадијум болести

5.1.15 Стадијум болести ОПЦ и утицај на преживљавање пацијената

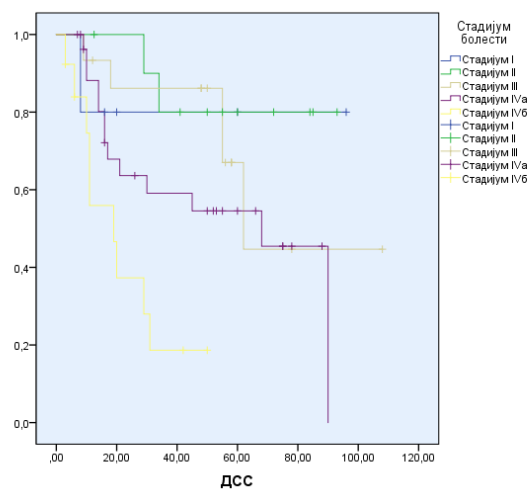
У табели 30 су приказани Н стадијум болести са вриједностима преживљавања. На слици 20 су приказане криве преживљавања.

Табела 30. Преживљавање и стопе преживљавања у односу на АЈЦЦ стадијум болести.

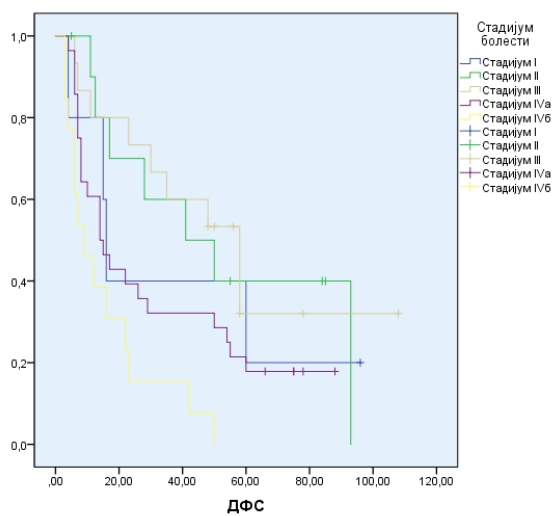
| Статистика | I | II | III | IVa | IVб |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| ОС (мјесеци) | 20 | 60 | 58 | 26 | 11 |
| Н (%) | 5 (6,9) | 11 (15,3) | 15 (20,8) | 28 (38,9) | 13 (18,1) |
| Н догађаји | 4 | 7 | 9 | 23 | 13 |
| 95% ЦИ | 11,4:28,6 | 31,2:88,8 | 53,6:62,4 | | |
| р вриједност | | | | | <0,001 |
| ДСС | НР | НР | 62 | 68 | 19 |
| Н | 5 (6,9) | 11 (15,3) | 15 (20,8) | 28 (38,9) | 13 (18,1) |
| Н догађаји | 1 | 2 | 5 | 13 | 9 |
| 95% ЦИ | | | 49,4:74,5 | 44,3:91,6 | 4,7:33,3 |
| р вриједност | | | | | 0,001 |
| ДФС | 16 | 41 | 58 | 14 | 9 |
| Н | 5 (6,9) | 11 (15,3) | 15 (20,8) | 28 (38,9) | 13 (18,1) |
| Н догађаји | 4 | 7 | 9 | 23 | 13 |
| 95% ЦИ | 13,8:18,1 | 6,9:75,1 | 35,4:80,5 | 6,7:21,2 | 1,9:16,0 |
| р вриједност | | | | | 0,004 |
| Spearman Chi-square | 8,053 | | | | |
| преживљавање | p=0,090 | | | | |
| Spearman Chi-square | 5,612 | | | | |
| релапс | p=0,230 | | | | |
| Fisher exact | p=0,058 | | | | |
| преживљавање | | | | | |
| Fisher exact релапс | p=0,068 | | | | |



(a)



(б)



(ц)

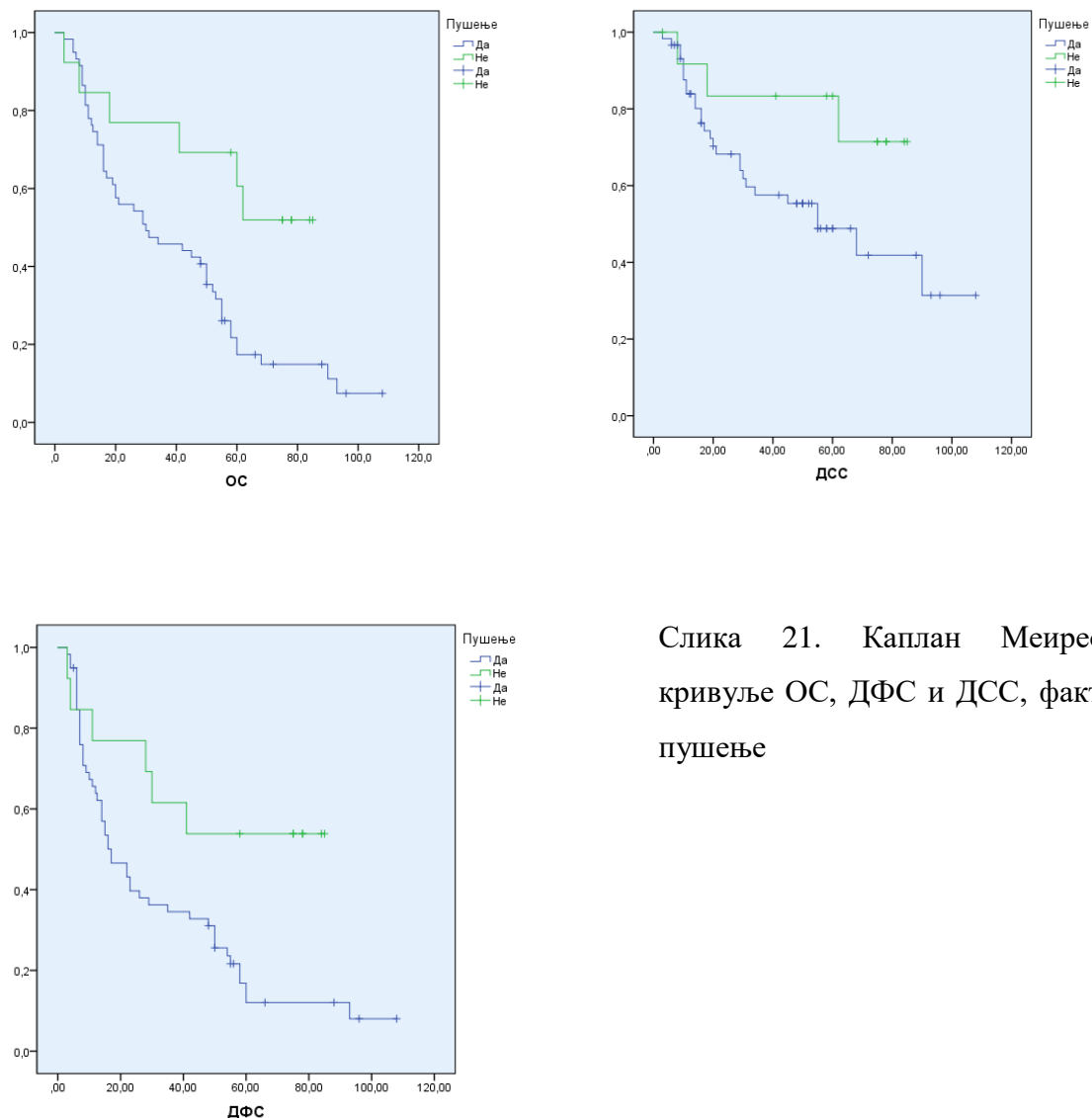
Слика 20. Каплан Меирове кривуље ОС-а, ДФС-а и ДСС-а у односу на стадијум болести

5.1.16 Анализа утицаја пушења и алкохолизма на преживљавање и појаву релапса

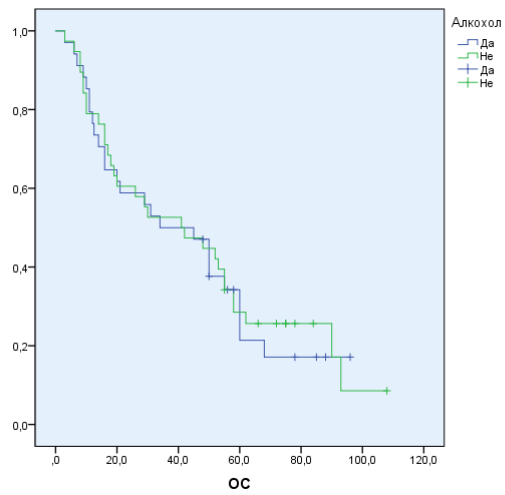
У анализираној групи пацијената доминирају пушачи 59 (81,9%) и 13 непушача (18,1%). Резултати преживљавања показали су да је смртност сигнфикантно већа код пушача (74,7%) са ОС од 30 мјесеци. Постоји јасно раздвајање кривуља у корист бољег

преживљавања код непушача, ОС НР, статистички сигнификантно $p=0,012$. Што се тиче ДСС-а преживљавање износи 55 мјесеци за пушаче, а медијана за непушаче је НР, $p=0,087$. Пушачи такође имају нижи иДФС, са медијаном од 17 мјесеци, а код непушача је НР, $p=0,014$, (слика 21). На основу Pearson Chi-Square теста показана је статистичка сигнификантност за преживљавање ($\chi^2=9.179$, $p=0.002$), али не и за настанак релапса ($\chi^2=2.700$, $p=0.100$). Fisher exact тест је показао статистичку сигнификантност за преживљавање $p=0.006$, а не за настанак релапса $p=0.131$.

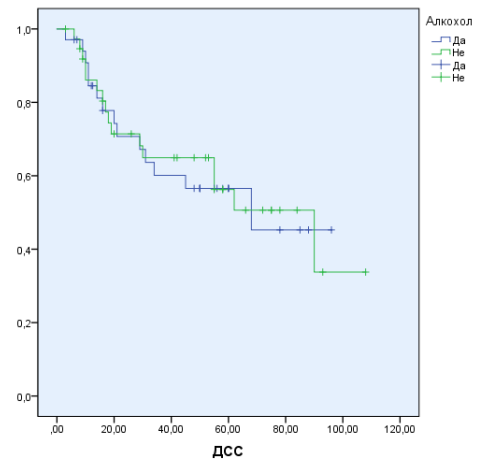
Пацијената који су редовно конзумирали алкохол је 34 (47,2%), а оних који нису је 38 (52,8%). Није нађена статистичка сигнификантност у преживљавању и настанку релапса код ове групе пацијената (слика 22).



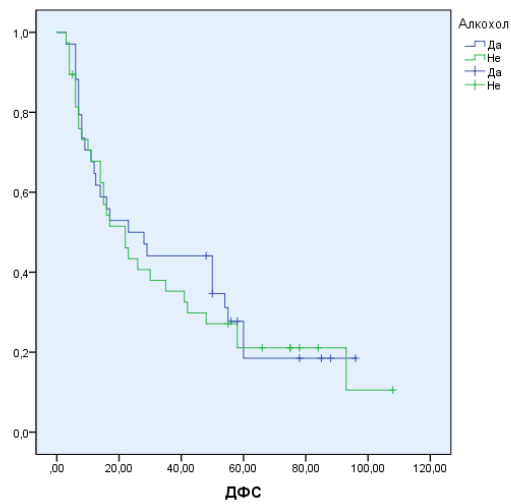
Слика 21. Каплан Меирове кривуље ОС, ДФС и ДСС, фактор пушење



(a)



(б)



(в)

Слика 22. Каплан Меирсове кривуље
ОС, ДФС и ДСС, фактор алкохол

5.2 Експресија фактора раста у карциному орофаринкса и њихов утицај на преживљавање

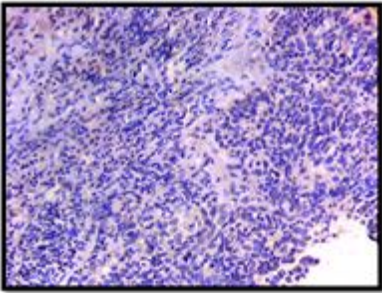
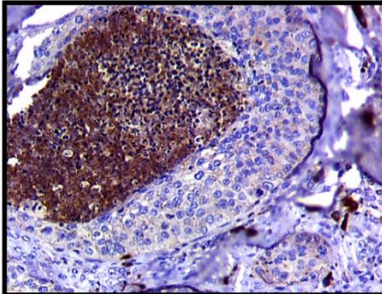
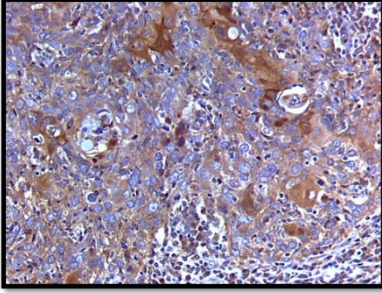
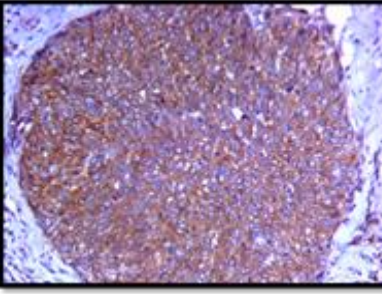
5.2.1 Анализа експресије ФЛОТ2 у узорцима карцинома орофаринкса и утицај на преживљавање

Анализом је утврђено да је експресија ФЛОТ2 у туморским ћелијама ОПЦ-а била присутна најчешће слабог (26,4%) или умјереног интензитета (48,7%), табела 31.

Табела 31. Степен експресије ФЛОТ2 код ОПЦ.

| Присуство и степен експресије ФЛОТ2 у туморским ћелијама | Н | % |
|--|----|------|
| Негативан (0) | 3 | 4,1 |
| Слабо позитиван (1+) | 19 | 26,4 |
| Умјерено позитиван (2+) | 35 | 48,7 |
| Јако позитиван (3+) | 15 | 20,8 |
| Укупно | 72 | 100 |

У коначној анализи одсуство експресије (скорје 0) сматрали смо негативним резултатом. Такође, ниску позитивну имунолошку реакцију (1+), умјерену (2+) и јако позитивну реакцију (3+) смо сматрали позитивном имунолошком реакцијом. Сходно наведеном, смо начинили подјелу на негативне (0) и позитивне (1+, 2+ и 3+) (слика 23). Даље статистичке обраде ће се изводити на основу ове подјеле. На основу наведеног, 95,8% случајева код наших испитаника показује позитивну имунолошку реакцију на ФЛОТ 2 (табела 32).

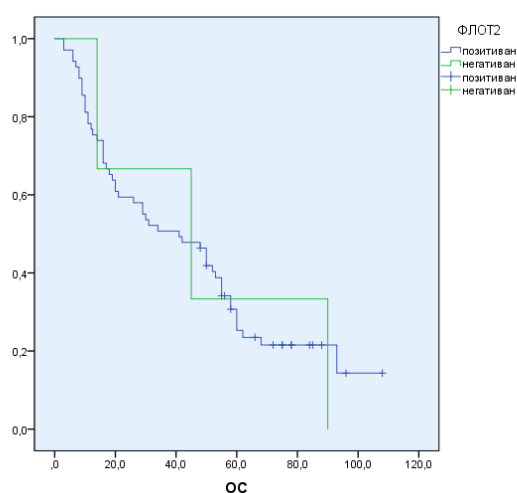
| ИХХ скор | Имунохистохемијско бојење FLOTILLIN 2 | Карцином орофаринкса | |
|-------------|--|----------------------|--|
| 0 | Глобални скор ≤ 1 је дефинисан као негативно бојење (0) | x200 |  |
| 1+ | Глобални скор $\geq 2 \leq 4$ је дефинисан као слабо позитивно бојење (1+) | x200 |  |
| 2+ | Глобални скор $\geq 6 \leq 8$ је дефинисан као умјерено позитивно бојење (2+) | x200 |  |
| 3+ | Глобални скор ≥ 9 је дефинисан као јако позитивно бојење (3+) | x200 |  |

Слика 23. Оцјена имунохистохемијског бојења ФЛОТ2 на узорцима ОПЦ. Сликано у Центру за биомедицинска истраживања Медицинског факултета у Бањој Луци).

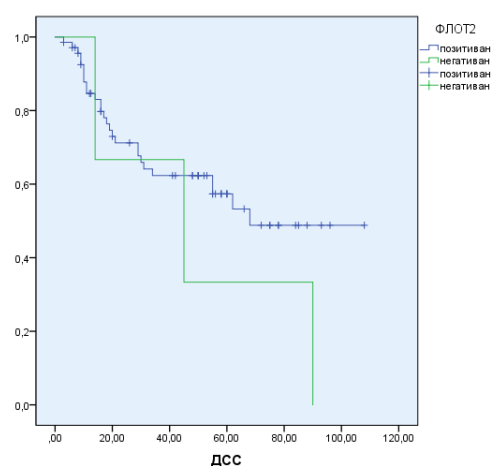
Табела 32. Степен експресије ФЛОТ2 код ОПЦ, подјела на негативне (скор 0) и позитивне (скор 1+, 2+ и 3+)

| Присуство и степен експресије ФЛОТ2 у туморским ћелијама | Н | % |
|--|----|------|
| Негативна | 3 | 4,2 |
| Позитивна | 69 | 95,8 |
| Укупно | 72 | 100 |

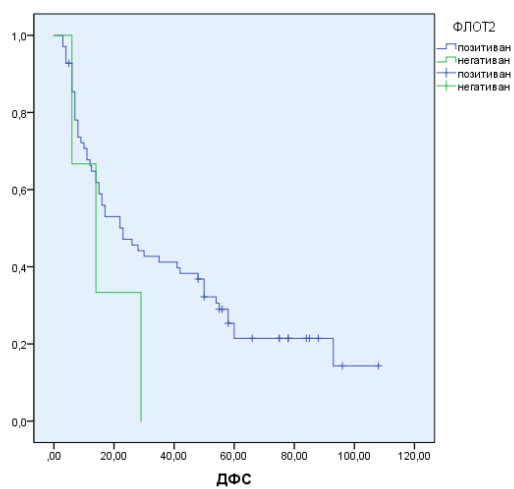
Три пацијента који су имали негативну реакцију су имали егзитус леталис, а од 69 пацијената који су имали позитивну интерпретацију туморских ћелија (1+, 2+ и 3+) ФЛОТ2, њих 16 (23,2%) је преживјело. Такође, од групе пацијената које је имало негативну реакцију сви су имали релапс, а у групи који су имали позитивну реакцију 34 пацијента (49,3%). Преживљавање пацијената код којих је интерпретација укупне позитивности у туморским ћелијама ФЛОТ2 била негативна статистички није показана сигнификантност у ОС ($p=0,870$), ДФС ($p=0,196$) и ДСС ($p=0,268$) у односу на пацијенте код којих је интерпретација укупне позитивности у туморским ћелијама ФЛОТ2 била позитивна (табела 33). Експресија ФЛОТ2 не утиче значајно на преживљавање пацијената са ОПЦ (слика 55).



(а)



(б)



Слика 24. Каплан Меиреове кривуље ОС, ДФС и ДСС у односу на ФЛОТ2 експресију.

(ц)

Табела 33. Анализа стопа преживљавања у односу на степен експресије ФЛОТ2 по различитим категоријама.

| Интерпретација ФЛОТ2 | Н | ОС (%) | ДСС (%) | ДФС (%) |
|-------------------------|----|-----------|-----------|-----------|
| Негативна | 3 | 45 (0,0) | 45 (0,0) | 14 (0,0) |
| Позитивна | 69 | 41 (23,2) | 68 (60,9) | 23 (23,2) |
| Укупно | 72 | 41 (22,2) | 68 (71,4) | 22 (22,2) |

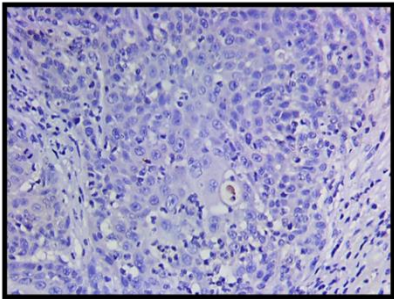
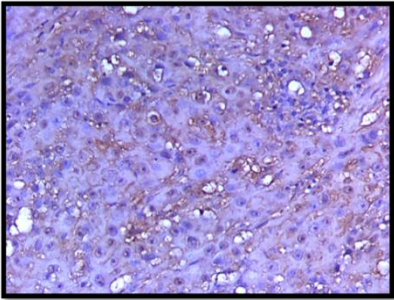
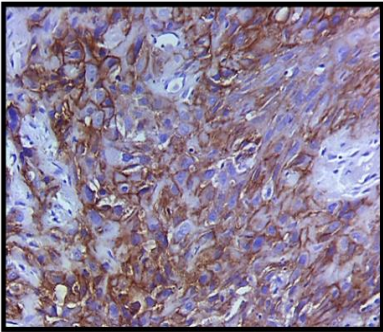
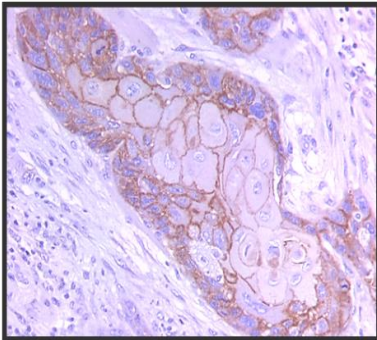
5.2.2 Анализа експресије ЕГФР у узорцима карцинома орофаринкса и утицај на преживљавање

Анализом је утврђено да је експресија ЕГФР у туморским ћелијама ОПЦ била присутна најчешће слабог (40,2%) или умјереног интензитета (42,8), табела 34.

Табела 34. Степен експресије ФЛОТ2 код ОПЦ.

| Присуство и степен експресије ЕГФР у туморским ћелијама | Н | % |
|---|----|------|
| Негативан (0) | 30 | 41,5 |
| Слабо позитиван (1+) | 20 | 28,0 |
| Гранично позитиван (2+) | 13 | 18,0 |
| Јако позитиван (3+) | 9 | 12,5 |
| Укупно | 72 | 100 |

У коначној анализи одсуство експресије и слабо позитивна експресија (score 0 и score 1+) сматрали смо негативним резултатом. Такође, умјерену (2+) и јако позитивну реакцију (3+) смо сматрали позитивном имунолошком реакцијом. Сходно наведеном, смо начинили подјелу на негативне (0 и 1+) и позитивне (2+ и 3+) (слика 56). Даље статистичке обраде ће се изводити на основу ове подјеле. На основу наведеног, 69,5% случајева код наших испитаника показује негативну имунолошку реакцију на ЕГФР (табела 35).

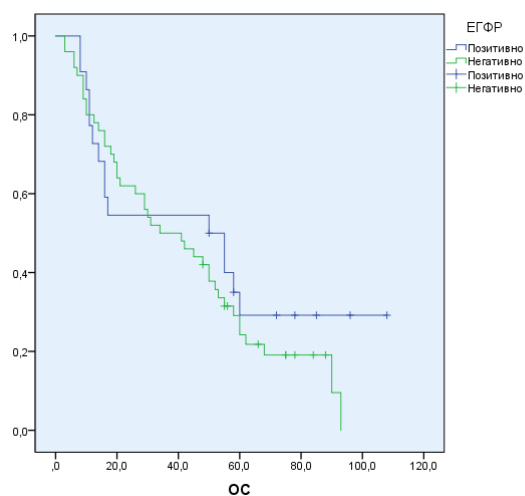
| ИНС Скор | Имунохистохемијско бојење ЕГФР | Карцином орофаринкса |
|-------------|--|--|
| 0 | Нема реакције у ћелијама или је мање од 10% туморских ћелија позитивно | x200  |
| 1+ | Слабо, парцијално и/или комплетно мембранско бојење у више од 10% туморских ћелија | x200  |
| 2+ | Умјерено и комплетно мембранско бојење у више од 10% туморских ћелија | X200  |
| 3+ | Јако и комплетно мембранско бојење у више од 10% туморских ћелија | x200  |

Слика 56. Оцјена имунохистохемијског бојења ЕГФР на узорцима карцинома ларинкса и карцинома орофаринкса (Сликано у Центру за биомедицинска истраживања Медицинског факултета у Бањој Луци).

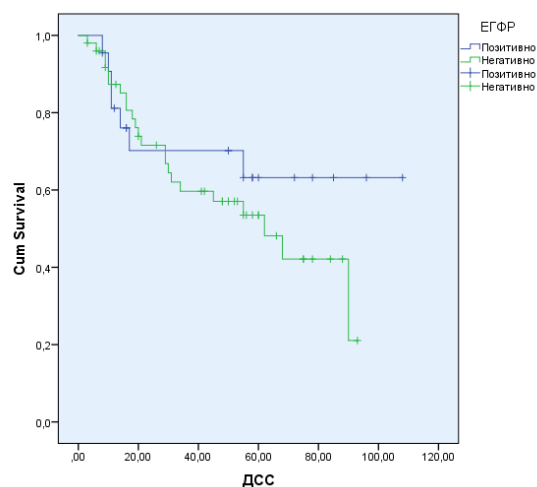
Табела 35. Степен експресије ЕГФР код ОПЦ, подјела на негативне (скор 0 и 1+) и позитивне (скор 2+ и 3+)

| Присуство и степен експресије ЕГФР у туморским ћелијама | Н | % |
|---|----|------|
| Негативна | 50 | 69,5 |
| Позитивна | 22 | 30,5 |
| Укупно | 72 | 100 |

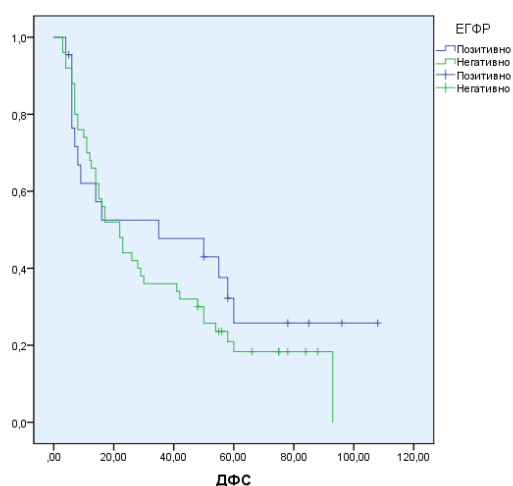
Прегруписавањем података, 50 пацијената је имало негативну интерпретацију (0 и 1+), од којих је девет преживјело (18,0%), а 41 није, а од 22 пацијента који су имали позитивну интерпретацију туморских ћелија (2+ и 3+) ЕГФР, њих седам (31,8%) је преживјело. Такође, од групе пацијената које је имало негативну реакцију релапс је развило 27 пацијената (54,0%), а у групи који су имали позитивну реакцију 10 пацијената (45,5%), табела 36. Преживљавање пацијената код којих је интерпретација укупне позитивности у туморским ћелијама ЕГФР била негативна статистички није показана сигнификантност у ОС ($p=0,322$), у односу на пацијенте код којих је интерпретација укупне позитивности у туморским ћелијама ЕГФР била позитивна. Исто се не може рећи за ДФС ($p=0,352$) и ДСС ($p=0,329$). Експресија ЕГФР не утиче значајно на ОС пацијената са карциномом орофаринкса (слика 33).



(a)



(б)



Слика 57. (а) Каплан Меиреве кривуље ОС-а у односу на ЕГФР експресију.

(ц)

Табела 36. Анализа стопа преживљавања у односу на степен експресије ЕГФР по различитим категоријама.

| Интерпретација ЕГФР | Н | ОС (%) | ДСС (%) | ДФС (%) |
|---------------------|----|-----------|-----------|-----------|
| Негативна | 50 | 34 (54,0) | НР (76,6) | 22(18,0) |
| Позитивна | 22 | 50 (68,2) | НР (63,3) | 35 (31,8) |
| Укупно | 72 | 41 (58,3) | НР (71,4) | 22 (22,2) |

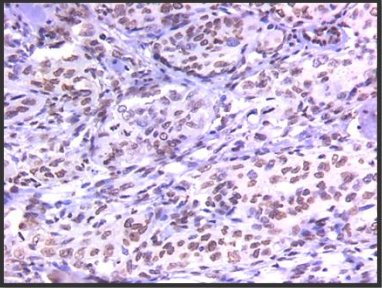
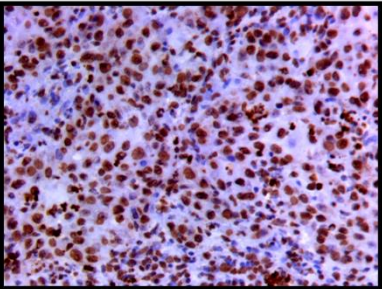
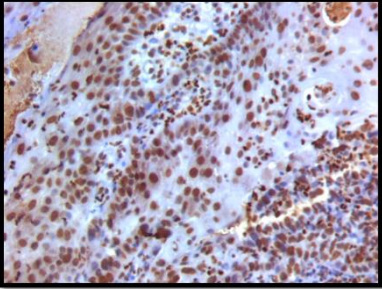
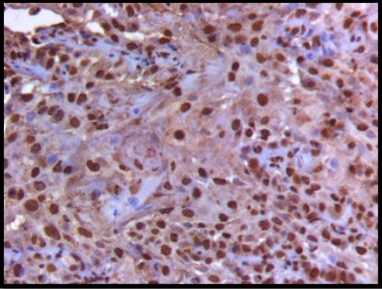
5.2.3 Анализа експресије п16инк4а у узорцима ОПЦ и утицај на преживљавање

Анализом је утврђено да је експресија п16 у туморским ћелијама ОПЦ-а најчешће била негативна (29,2%) или спорадична (31,9), табела 54.

Табела 54. Степен експресије ФЛОТ2 код ОПЦ

| Присуство и степен експресије п16 у туморским ћелијама | Н | % |
|--|----|------|
| Негативан (0) | 21 | 29,2 |
| Слабо позитиван (1+) | 23 | 31,9 |
| Фокално (2+) | 15 | 20,8 |
| Дифузно (3+) | 13 | 18,1 |
| Укупно | 72 | 100 |

Позитивна експресија п16ИНК4А је дефинисана као јако дифузно имунолошко бојење (скор 3+) и нуклеуса и цитоплазме у најмање 80 процената прегледаних туморских ћелија. Сходно наведеном, смо начинили подјелу на негативне (0, 1+, 2+) и позитивне (3+) (слика 58). Даље статистичке обраде ће се изводити на основу ове подјеле. На основу наведеног, 18,1% случајева код наших испитаника показује позитивну имунолошку реакцију на п16 (табела 55).

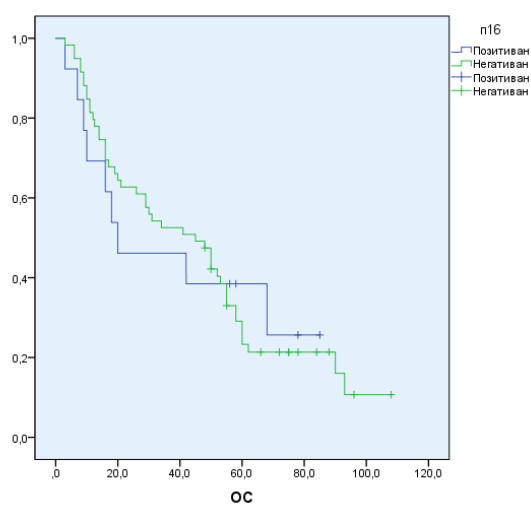
| | | | |
|-------------|--|----------------------|--|
| IХХ Скор | Имунохистохемијско бојење p16 | Карцином орофаринкса | |
| 0 | Негативан резултат: <1% позитивних ћелија; | x200 |  |
| 1+ | Спорадична позитивност Појединачне позитивне ћелије, <5% позитивних ћелија | x200 |  |
| 2+ | Фокална позитивност Мали кластери позитивних ћелија, али <80% позитивних ћелија | x200 |  |
| 3+ | Дифузна позитивност >80% позитивних ћелија | x200 |  |

Слика 58. Оцјена имунохистохемијског бојења p16 на узорцима ОПЦ. Сликано у Центру за биомедицинска истраживања Медицинског факултета у Бањој Луци.

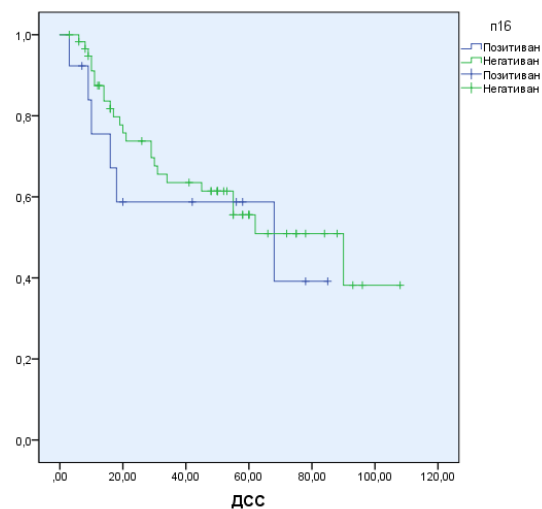
Табела 55. Степен експресије п16 код ОПЦ, подјела на негативне (скор 0, 1+, 2+) и позитивне (скор 3+).

| Присуство и степен експресије п16 у туморским ћелијама | Н | % |
|--|----|------|
| Негативна | 59 | 81,9 |
| Позитивна | 13 | 18,1 |
| Укупно | 72 | 100 |

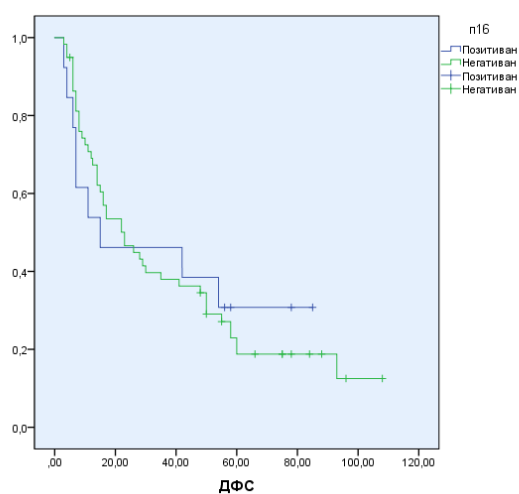
Прегруписавањем података, 59 пацијената је имало негативну интерпретацију (0, 1+ и 2+), од којих је 12 преживјело (20,3%), а 47 није, а од 13 пацијената који су имали позитивну интерпретацију туморских ћелија (3+) п16, њих четири (30,8%) је преживјело. Такође, од групе пацијената које је имало негативну реакцију релапс је развило 31 пацијента (47,5%), а у групи који су имали позитивну реакцију шест пацијената (53,8%), табела 56. Преживљавање пацијената код којих је интерпретација укупне позитивности у туморским ћелијама п16 била негативна статистички није показана сигнификантност у ОС ($p=0,993$), ДФС ($p=0,859$) и ДСС ($p=0,540$) у односу на пацијенте код којих је интерпретација укупне позитивности у туморским ћелијама п16 била позитивна. Експресија п16 не утиче значајно на преживљавање пацијената са карциномом орофаринкса (слика 34).



(а)



(б)



Слика 59. Каплан Меиреове кривуље ОС, ДФС, ДСС у односу на п16 експресију.

(ц)

Табела 56. Анализа стопа преживљавања у односу на степен експресије п16 по различитим категоријама.

| Интерпретација п16 | Н | ОС (%) | ДФС (%) | ДСС (%) |
|--------------------|----|-----------|-----------|-----------|
| Негативна | 59 | 45 (20,3) | 90 (59,3) | 23 (20,3) |
| Позитивна | 13 | 20 (30,8) | 68 (53,8) | 15 (30,8) |
| Укупно | 72 | 31 (22,2) | 68 (58,3) | 22 (22,2) |

5.3 Регресиона анализа различитих параметара код пацијената са карциномом орофаринкса

Униваријантна анализа је показала да врста хируршке интервенције ОПЦ, релапси, ВИ, ЛИ и ПИ, узнапредовали Т и Н стадијум болести и пушење значајно утичу на различите типове преживљавања (Табела 57). Међутим, мултиваријантна анализа (Табела 57) значајних варијабли показало је да су рецидив, ВИ и хирургија једини фактори који је имао независан ефекат на ОС и ДФС. Релапс болести и Н стадијум су се показали као независни прогностички фактори за ДСС.

Табела 57. Резултати униваријатних и мултиваријатних анализа, Сох-ових пропорционалних хазарда.

| Карактеристике | ОС | | | ДСС | | | ОС | | | ДСС | | |
|----------------------------------|--------|----------|---------------|--------|---------|---------------|--------|----------|---------------|--------|----------|---------------|
| | ХР (а) | 95% ЦИ | р вриједнос т | НР (б) | 95% ЦИ | р вриједнос т | ХР (а) | 95% ЦИ | р вриједнос т | ХР (б) | 95% ЦИ | р вриједнос т |
| Врста хируршке процедуре | 3,0 | 1,7:5,1 | <0,001 | 2,8 | 1,6:4,9 | 0,001 | 2,47 | 1,2:5,1 | 0,015 | | | |
| Релапс болести | 3,4 | 1,9:6,1 | <0,001 | 3,4 | 1,9:6,1 | <0,001 | 24,5 | 5,7:45,8 | <0,001 | 23,4 | 5,5:48,4 | <0,001 |
| ВИ | 2,1 | 1,2:3,9 | 0,020 | 1,8 | 1,0:3,5 | 0,05 | | | | | | |
| ЛИ | 2,2 | 1,1:4,3 | 0,017 | | | | 2,5 | 1,0:6,4 | 0,05 | | | |
| ПИИ | 2,5 | 1,4:4,4 | 0,002 | | | | 2,4 | 1,1:5,3 | 0,026 | | | |
| Узнапредовали Т стадијум болести | 2,9 | 1,5:5,5 | 0,001 | | | | 3,3 | 1,1:10,8 | 0,009 | | | |
| Н стадијум болести | 1,9 | 1,08:3,4 | 0,027 | | | | 4,1 | 1,5:10,8 | 0,04 | 3,6 | 1,3:9,5 | 0,10 |
| Пушење | 2,8 | 1,2:6,6 | 0,017 | | | | | | | | | |
| ДФС | | | | | | | | | | | | |

| Карактеристике | ХР (а) | 95% ЦИ | р ври јед нос т | ХР (б) | 95% ЦИ | р ври јед нос т |
|--------------------------------|-----------|-----------|-----------------------------|-----------|-----------|-----------------------------|
| Врста хируршке процедуре | 2,55 | 1,5:4,3 | 0,00 | 2,3 | 1,3:4,1 | 0,00 |
| Васкуларна инвазија | 2,1 | 1,1:3,8 | 0,02 | 1,7 | 1,1:3,3 | 0,05 |
| Лимфна инвазија | 2,2 | 1,2:4,3 | 0,01 | | | |
| Перинеурална инвазија | 2,5 | 1,4:4,5 | 0,00 | | | |
| Релапс болести | 8,9 | 4,3:18,2 | <0,001 | 8,8 | 4,3:8,1 | <0,001 |
| Узнапредовали стадијум болести | 2,7 | 1,4:5,2 | 0,00 | | | |
| Пушење | 2,7 | 1,1:6,4 | 0,02 | | | |

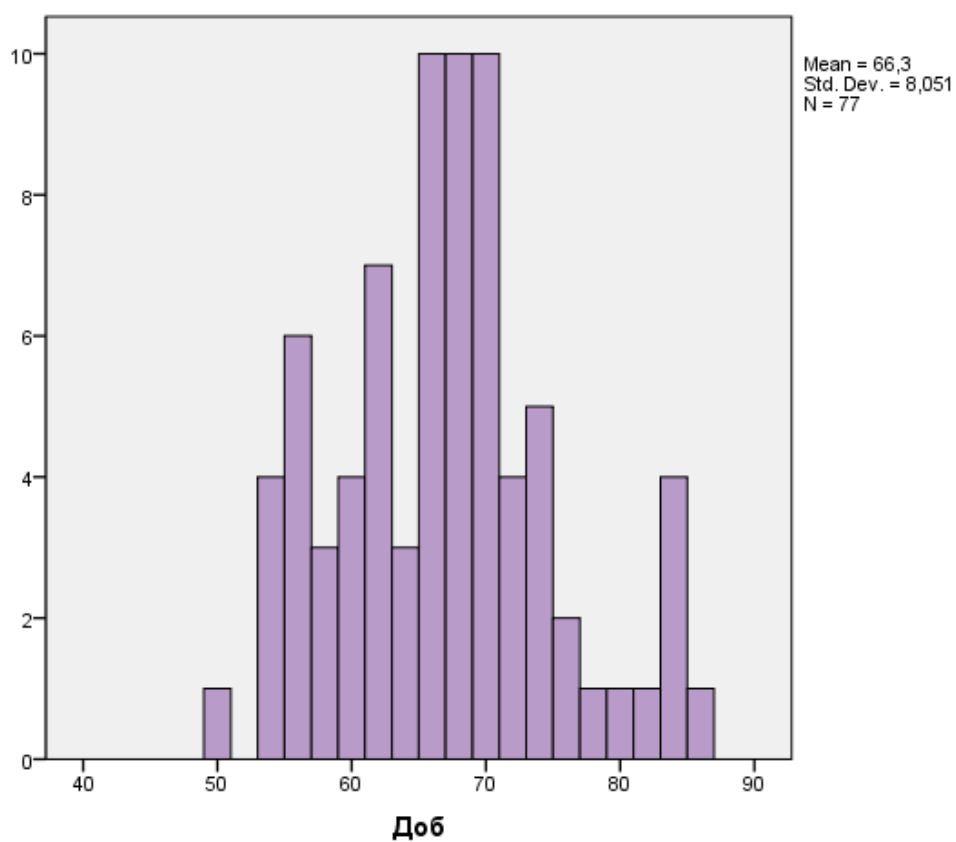
а: Резултати униваријантне анализе; ХР; 95% ЦИ; п вриједност.

б: Резултати мултиваријантне анализе; ХР; 95% ЦИ; п вредност.

5.4 Карцином ларинкса

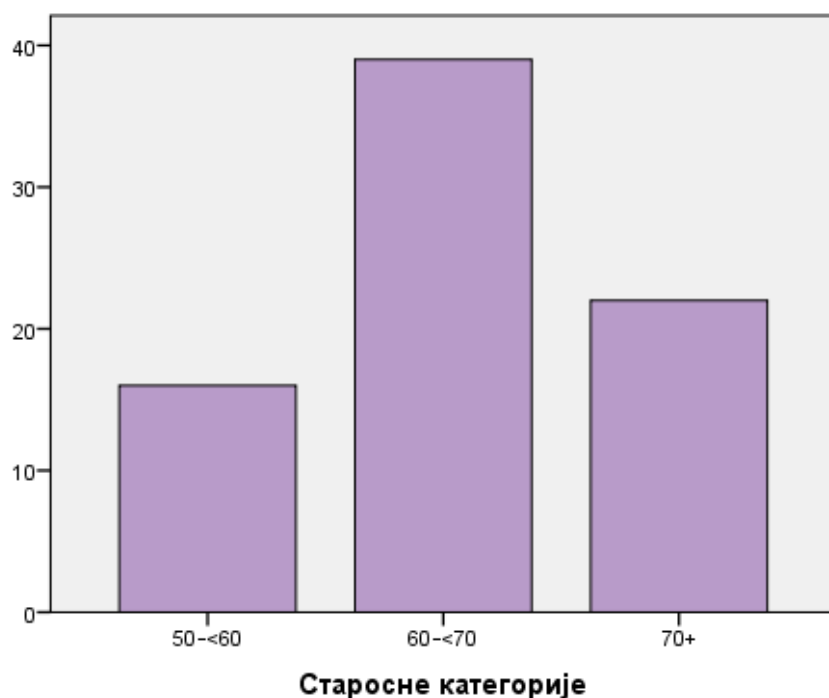
5.4.1 Карактеристике узорка

Ово истраживање је обухватило 77 пацијената, 71 мушкарац и шест жена, просјечне старости 66,3 године (слика 60). Сви су имали патохистолошки доказан карцином сквамозних ћелија ларинкса.



Слика 60. Распоред пацијената по доби за ЛЦ.

Пацијенти су најчеће били у седмој деценији живота. У наведеној старосној групи (60–<70 година) је било 50,6% (39 пацијената), слика 61.



Слика 61. Раподјела пацијената са ЛЦ по старосним категоријама.

Клиничкопатолошке карактеристике са процентуално израженим стопама преживљавања су детаљније представљене у табели 58. Сви пацијенти су лијечени са куративном намером. Код пет пацијената (6,5%) операција није била изведена као иницијална метода лечења, уместо тога су били подвргнути РТ или ХТ/РТ. Већина пацијената је имала само хирургију или хирургију у комбинацији са другим модалитетом лечења у адјувантном режиму. Код 72 операбилна пацијената са ЛЦ, извршено је 47 ЛПС (61%) и 25 (32,5%) ТЛ. Након просјечног праћења од 75 мјесеци, 23 (30%) пацијента је имало релапс болести. Локални рецидиви су потврђени директном ларингоскопијом и биопсијом. У случајевима гдје је било несигурности, сви случајеви су поново класификовани користећи УЗ, КТ и ПЕТ. Највећи број релапса болести, укупно 15 (44%), десио се у највећој групи, хирургија + ХТ/РТ. Четири пацијента (13,8%) имала су релапс у групи само са хирургијом, један (11%) у групи хирургија + РТ, један пацијент у групи са РТ и и оба пацијента у групи ХТ/РТ. Шема рецидива је приказана у табели 59.

Табела 58. Клиничкопатохистолошке карактеристике пацијената са стопама преживљавања.

| Карактеристике | Категорија | Н (%) | ОС (%) | ДСС (%) | ДФС (%) |
|---------------------|---------------------|-----------|--------|---------|---------|
| Пол | Мушкарци | 71 (92,2) | 52,1 | 71,8 | 52,1 |
| | Жене | 6 (7,8) | 50 | 66,6 | 50 |
| Доб | 50–<60 Years | 16 (20,8) | 50 | 68,8 | 50 |
| | 60–<70 years | 39 (50,6) | 61,5 | 76,9 | 61,5 |
| | 70+ years | 22 (28,6) | 36,4 | 63,6 | 36,4 |
| Локализација | Глотис (а) | 43 (55,8) | 67,4 | 83,7 | 83,3 |
| | Супраглотис | 34 (44,2) | 32,4 | 55,9 | 48,7 |
| Хирургија | ЛПС | 47 (61) | 56,9 | 76,5 | 77,6 |
| | ТЛ | 25 (32,5) | 42,3 | 61,5 | 55,2 |
| Хируршка маргина | Негативна | 52 (67,5) | 55,8 | 75 | 73,2 |
| | Позитивна | 21 (27,3) | 42,9 | 61,9 | 57,1 |
| | Не може се одредити | 4 (5,2) | | | |
| Градус тумора | Градус 1 | 13 (16,9) | 69,2 | 69,2 | 66,7 |
| | Градус 2 | 53 (68,8) | 50,9 | 73,6 | 67,2 |
| | Градус 3 | 11 (14,3) | 36,4 | 63,6 | 63,6 |
| Васкуларна инвазија | Није присутна | 39 (50,6) | 61,5 | 79,5 | 75 |
| | Присутна | 31 (40,3) | 38,7 | 58,1 | 51,5 |
| | Непознато | 7 (9,1) | | | |
| Лимфна инвазија | Није присутна | 42 (54,5) | 59,5 | 69 | 72,7 |
| | Присутна | 28 (36,4) | 39,3 | 71,4 | 54,5 |
| | Непознато | 7 (9,1) | | | |

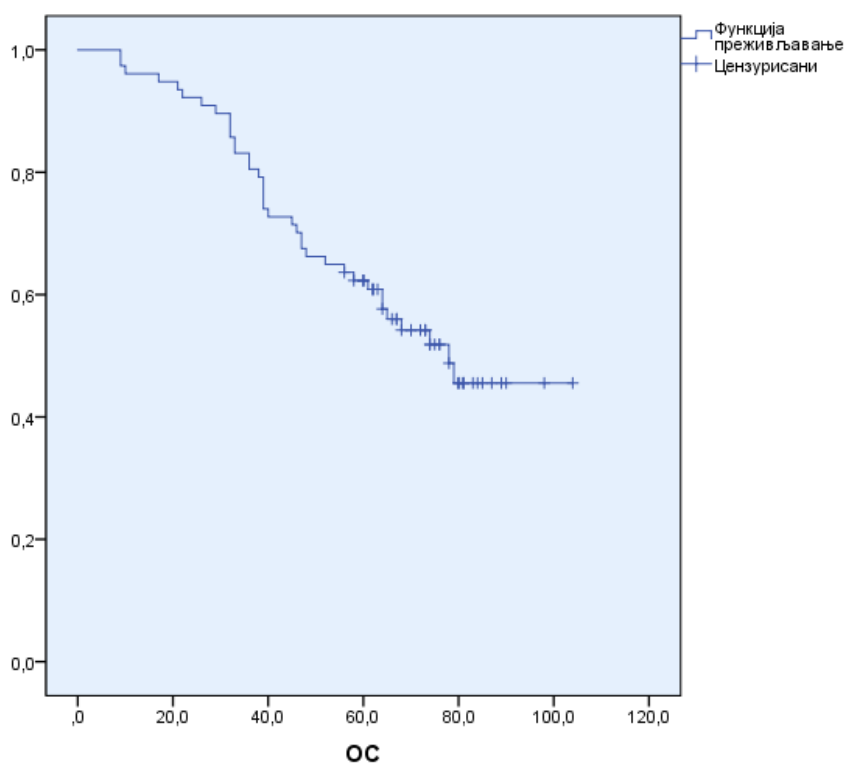
| | | | | | |
|---------------------------|-------------|-----------|------|------|------|
| Перинеурал на инвазија | Није | 35 (45,5) | 62,9 | 77,1 | 78,9 |
| | Присутна | 35 (45,5) | 40 | 62,9 | 51,3 |
| | Непознато | 7 (9,1) | | | |
| Пушење | Да | 67 (87) | 56,7 | 76,1 | 74,3 |
| | Не | 10 (13) | 20,0 | 40,0 | 60,0 |
| Алкохол | Да | 49 (63,6) | 55,1 | 79,6 | 74,5 |
| | Не | 28 (36,4) | 46,4 | 57,1 | 54,5 |
| Т стадијум | T1 | 14 (18,2) | 78,6 | 71,4 | 78,6 |
| | T2 | 34 (44,2) | 50 | 76,5 | 75,0 |
| | T3 | 14 (18,2) | 35,7 | 71,4 | 62,5 |
| | T4 | 15 (19,5) | 46,7 | 60 | 44,4 |
| Н стадијум | N0 | 54 (70,1) | 55,6 | 70,4 | 73,2 |
| | N1-3 | 23 (29,9) | 43,5 | 73,9 | 53,6 |
| Стадијум болести | I | 14 (18,2) | 78,6 | 71,4 | 78,6 |
| | II | 22 (28,6) | 50 | 77,3 | 82,6 |
| | III | 19 (24,7) | 52,6 | 89,5 | 77,3 |
| | IVa | 22 (28,6) | 36,4 | 50 | 36,0 |
| Терапија | Хирургија+ | 34 (44,2) | 44,1 | 70,6 | 52,8 |
| | ХТ/РТ | | | | |
| | Хирургија | 29 (37,7) | 69,0 | 75,9 | 86,7 |
| | Хирургија + | 9 (11,7) | 44,4 | 77,8 | 75,0 |
| | РТ | | | | |
| | РТ | 3 (3,9) | 33,3 | 66,7 | 50,0 |
| | ХТ/РТ | 2 (2,6) | 00,0 | 00,0 | 50,0 |

Табела 59. Локализација релапса болести и инциденција нових примарних тумора.

| Мјесто релапса | Н | % |
|-------------------------------------|----------|------------|
| Локални рецидив | 18 | 23,4 |
| Плућа | 14 | 18,2 |
| Лимфни чворови | 9 | 11,7 |
| Кости | 5 | 6,5 |
| Јетра | 2 | 2,6 |
| Инциденција других примарних тумора | 4 | 5,2 |
| Карцином плућа | 2 | 2,6 |
| Карцином ректума | 1 | 1,3 |
| Акутна мијелоидна леукемија | 1 | 1,3 |

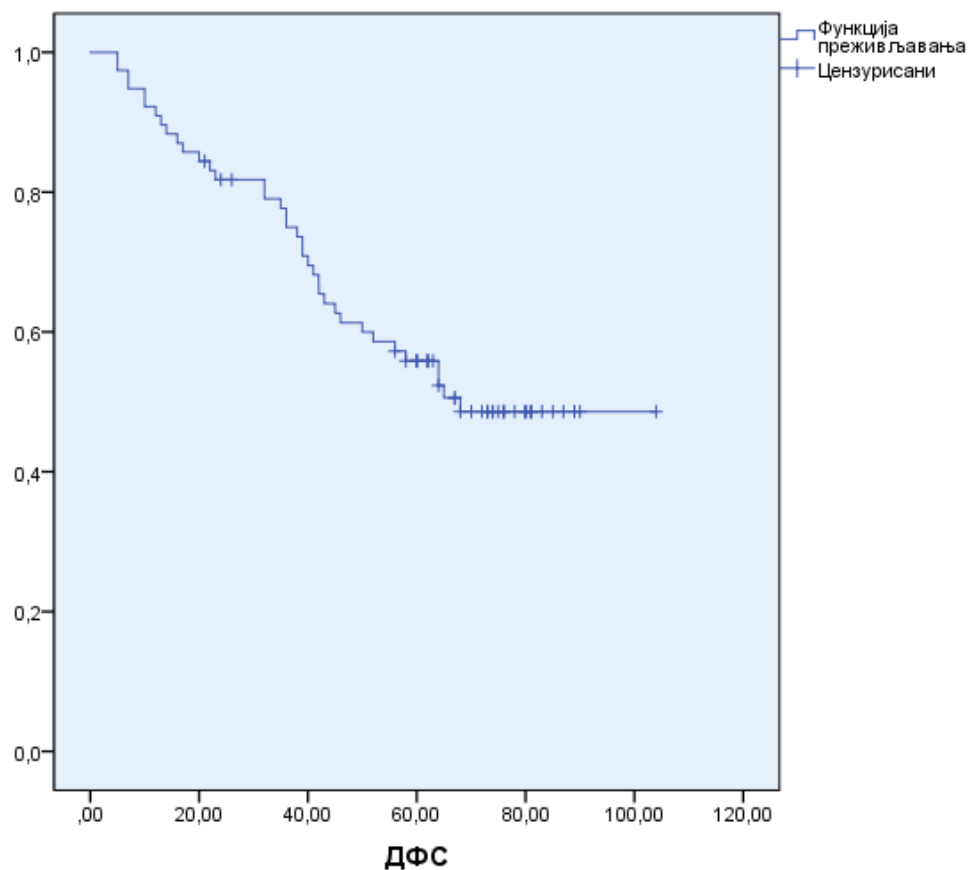
5.4.2 Анализа преживљавања

Након медијане праћења од 75 мјесеци израчунати медијан ОС-а код свих пацијената био је 78 мјесеци, 95% интервал повјерења (95% ЦИ): 64,86–79,98%, са догађајем забиљеженим код 51,9% пацијената (Слика 62).



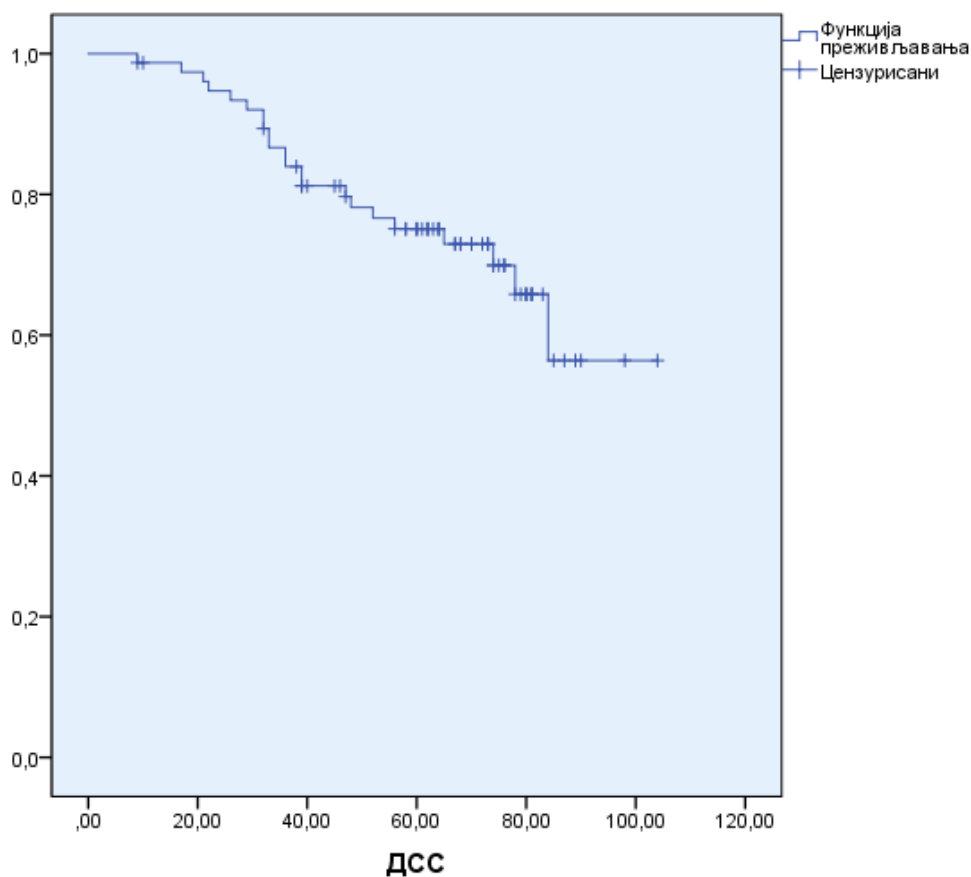
Слика 62: Каплан Меирева кривуља ОС-а за укупну популацију ЛЦ, Н=77.

Медијана ДФС-а је била 68 мјесеци, а укупно 23 пацијента (29,9%) имало је релапс болести (слика 63).



Слика 63: Каплан Меирева кривуља ДФС-а за укупно популацију ЛЦ, N=77.

Стопа преживљавања ДСС-а била је 71,4% са медијаном преживљавања која није досегнута (НР), (Слика 64).



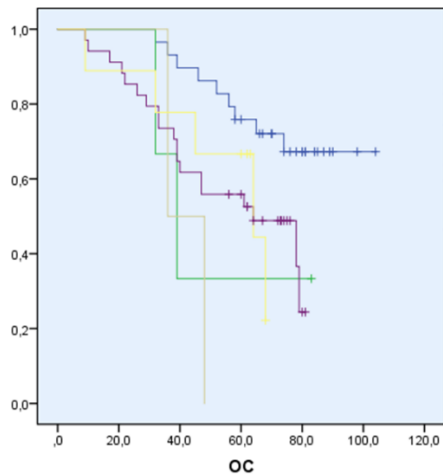
Слика 64: Каплан Меирова кривуља ДФС-а за укупно популацију ЛЦ, Н=77.

5.4.3 Терапијски модалитет и утицај на преживљавање пацијената

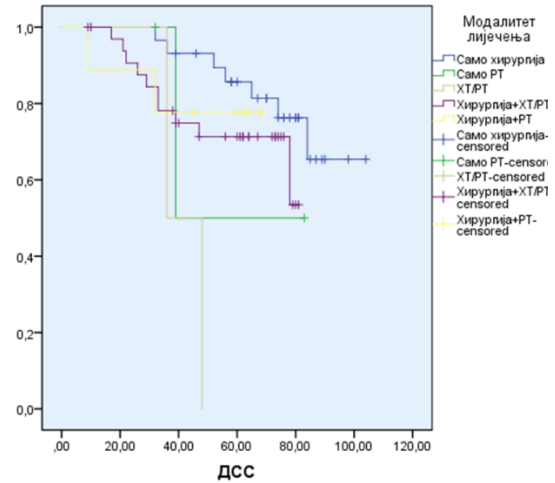
Табела 60 показује стопу преживљавања за одређене категорије. Дистрибуција ОС, ДФС и ДСС, за различите терапијске модалитете је статистички значајна само за ОС. Каплан-Меиерове криве ОС, ДФС и ДСС су приказане на слици 65. Анализирани су и узроци смрти, а резултати су показали да су 21 пацијената (27,3%) умрла од прогресије болести, 16 (20,8%) од узрока који нису повезани са примарном болешћу, а 40 (51,9%) пацијената је било живо на крају периода праћења (слика 66).

Табела 60: Преживљавање пацијената по различитим категоријама и терапијском модалитету за ЛЦ.

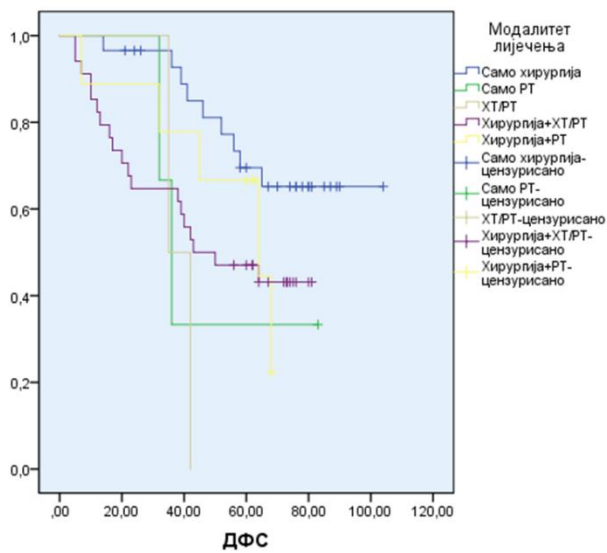
| Статистик а | Хирургиј а | РТ | ХТ/Р Т | Хирургија+ХТ/Р Т | Хирургија+R Т | Укупно |
|---------------------|---------------|---------------|-----------|---------------------|------------------|---------------|
| ОС (мјесеци) | НР | 39 | 36 | 64 | 64 | 78 |
| Н | 29 | 3 | 2 | 34 | 9 | 77 |
| Н догађаји | 9 | 2 | 2 | 19 | 5 | 37 |
| 95% ЦИ | | 27,8:50, 2 | | 36,2:91,7 | 28,9-99,1 | 64,8:79, 9 |
| р вриједнос т | | | | | | 0,05 |
| ДСС | НР | 36 | 48 | 78 | НР | НР |
| Н | 29 | 3 | 2 | 34 | 9 | 77 |
| Н догађаји | 7 | 1 | 2 | 10 | 2 | 23 |
| 95% ЦИ | | | | | | |
| р вриједнос т | | | | | | 0,224 |
| ДФС | НР | 36 | 35 | 43 | 64 | НР |
| Н | 29 | 3 | 2 | 34 | 9 | 84 |
| Н догађаји | 9 | 2 | 2 | 19 | 5 | 28 |
| 95% ЦИ | | 25,6:42, 4 | | 11,3:74,6 | 28,8:99,1 | |
| р вриједнос т | | | | | | 0,086 |



(а)

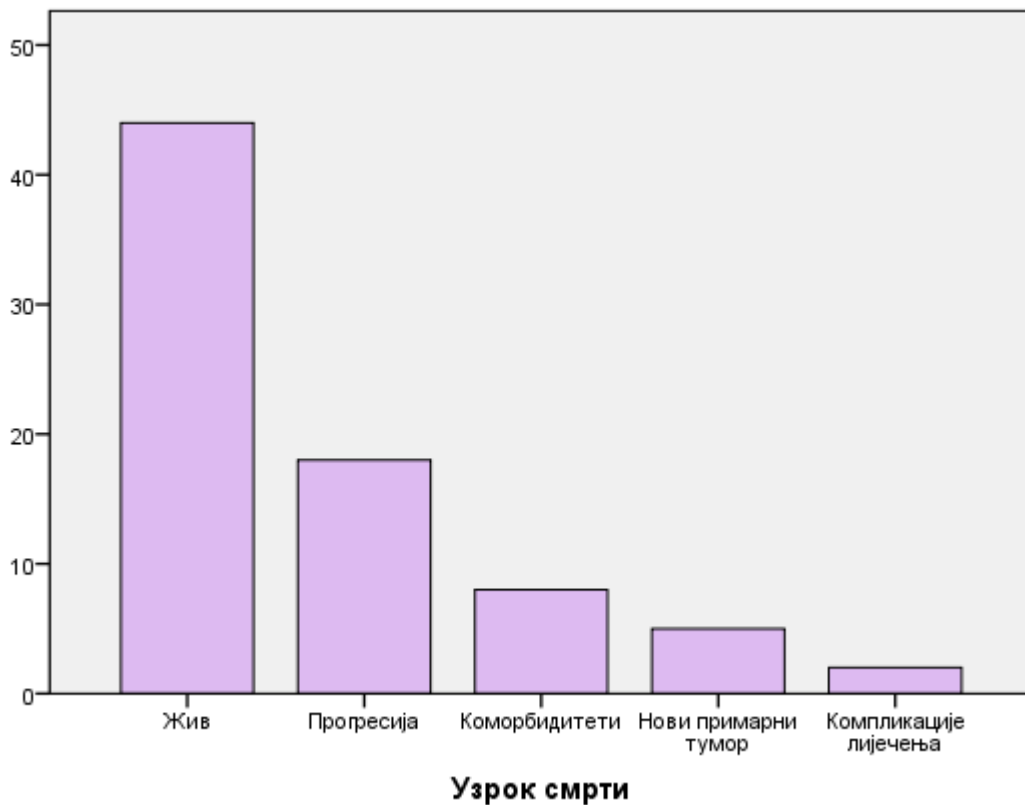


(б)



(ц)

Слика 65. (а) Каплан Меирове кривуље ОС-а у односу на терапијски модалитет, медијана 78 мјесеци $p=0,05$, (б) ДСС медијана НР, лог ранк $p=0,224$, (ц) ДФС медијана НР, лог ранк $p=0,086$



Слика 66: стратификација пацијената на основу коначног исхода и узрока смрти.

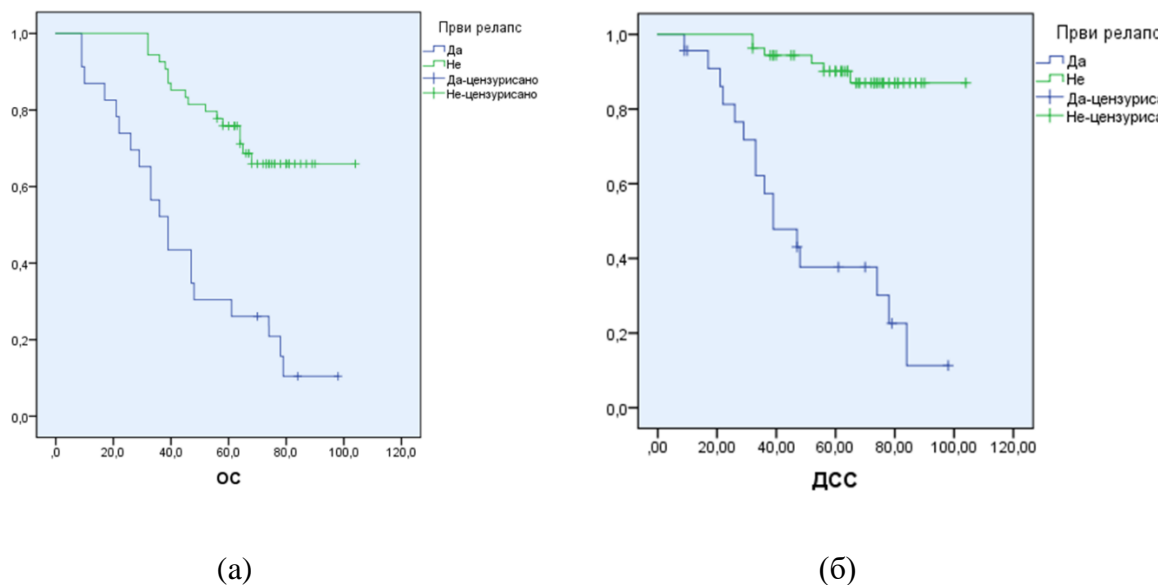
Примјеном Pearson Chi-square теста није добијена статистички значајна разлика ($\chi^2 = 6,647$, $p=0.156$) терапијског модалитета и преживљавања пацијената. Такође, није добијена статистички значајна разлика примјеном Fisher exact теста ($p=0.129$). На основу наведеног можемо закључити да најкраће преживљавање имају пацијенти третирани са ХТ/РТ и само РТ. На основу Каплан Меиерове кривуље показано је да терапијски модалитет утиче на ОС у нашој групи пацијената $p=0,05$, док у групама ДСС-а и ДФС-а није показана статистичка сигнификантност.

5.4.4 Први релапс и утицај на преживљавање пацијената

Укупно 23 пацијента (29,9%) је имало релапс болести у укупном периоду праћења. Стопа преживљавања је изузетно мала код пацијената који су имали релапс и износи 13%, док код пацијената који нису имали релапс износи 68,5%. ОС код групе са брзим релапсом износи 39 мјесеци (95%ЦИ 29,6:48,3), а у групи без првог релапса је НР. Када искључимо узроке смрти који нису имали везе са примарном болешћу односно

израчунамо стопе преживљавања за ДСС долазимо до закључка да је стопа преживљавања 30,4% за оне са релапсом и 88,9% за оне које нису имали релапс болести. ОС код групе са брзим релапсом износи 39 мјесеци (95%ЦИ 22,6:55,3), а у групи без првог релапса је НР.

Постоји значајна статистичка сигнификантност на основу Fisher exact i Spearman Chi-square теста $p < 0,001$. Такође, видљиво је и јасно раздвајање Каплан Меиревих кривуља ОС-а и ДСС-а, лог ранк $p < 0,001$ (слика 67).



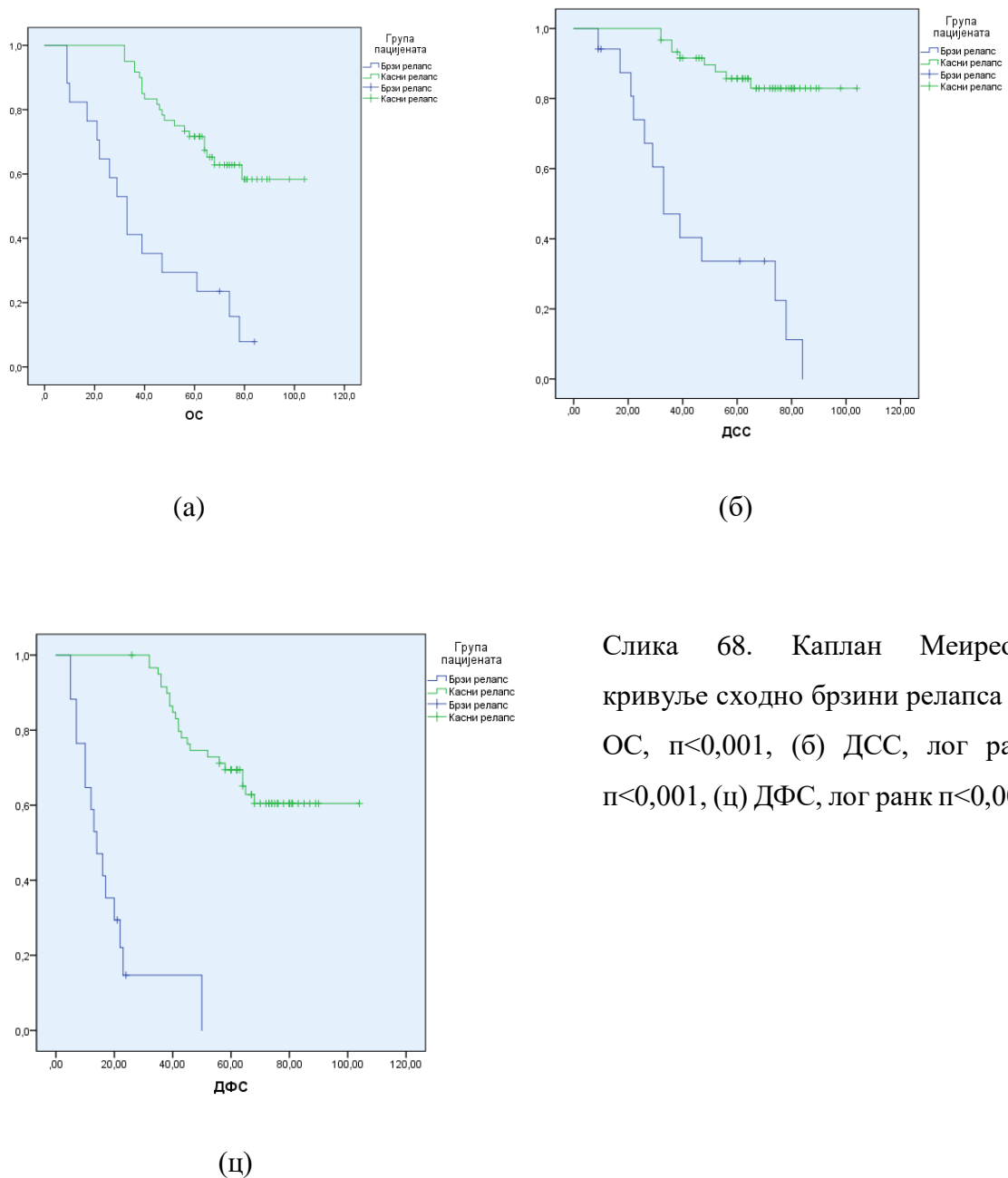
Слика 67. (а) Каплан Меиреве кривуље ОС-а у односу на настанак првог релапса, $p < 0,001$, (б) кривуља ДСС-а, лог ранк $p < 0,001$.

5.4.5 Подгрупе пацијената са брзим и касним релапсом и утицај на преживљавање

Укупно 17 пацијената (22,1%) је имало релапс унутар 24 мјесеца од почетка праћења. На основу овога можемо закључити да већина пацијената са релапсом има релапс унутар 24 мјесеца од почетка болести. Стопа преживљавања остаје мала код I групе пацијената и износи 11,8%, док у II групи пацијената који су имали релапс после 24 мјесеца износи 63,3%. Стопа преживљавања за ДСС износи у I групи 23,5%, а у II групи 85%. ОС код групе са брзим релапсом износи 33 мјесеца (95%ЦИ 23,7:42,2), а у

групи касног релапса је НР. ДФС у I групи износи 14 мјесеци, у II групи 68 мјесеци. ДСС у I групи износи 33 мјесеца (95%ЦИ 20,4:45,5), у II групи је НР.

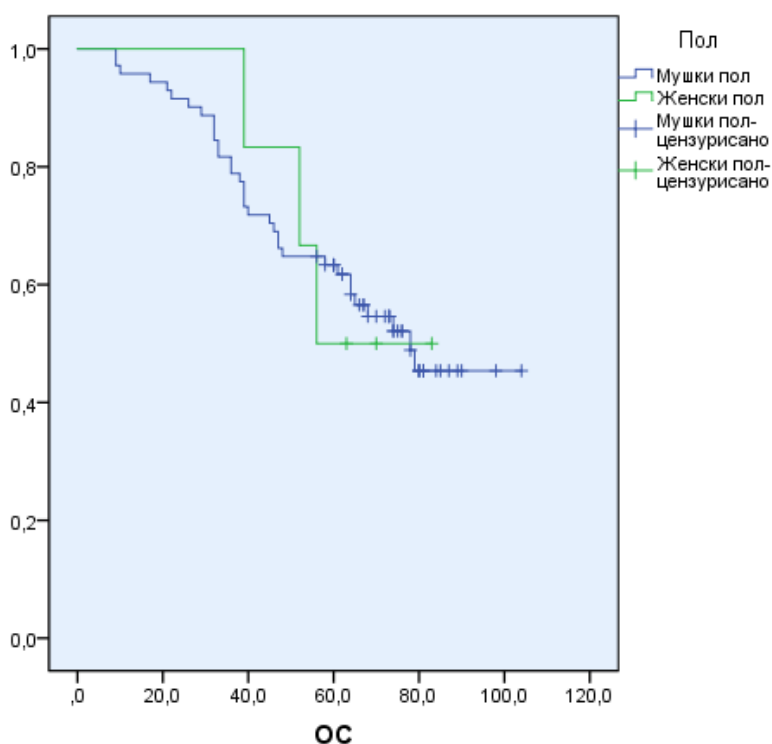
Што се тиче статистичке сигнификантности за ове двије групе пацијената са ЛЦ, показана је висока статистичка сигнификантност у свим групама ОС, ДФС И ДСС на основу лог ранк теста уз јасно раздвајање кривуља преживљавања између ове двије групе пацијената (слика 68). Примјеном Fisher exact и Spearman Chi-square теста нађена је висока статистичка сигнификантност за ове двије групе пацијената и преживљавања $p < 0,001$.



Слика 68. Каплан Меирове кривуље сходно брзини релапса (а) ОС, $p < 0,001$, (б) ДСС, лог ранк $p < 0,001$, (ц) ДФС, лог ранк $p < 0,001$.

5.4.6 Утицај пола на преживљавање пацијената и настанак релапса

Као што је претходно већ наведено доминантно је био присутан мушки пол у нашој групи пацијената 71 (92,2%). Статистичком анализом није нађено статистичке сигнификантности о утицају пола на ОС, ДФС и ДСС. На слици 69 је приказана Каплан Меиерова кривуља ОС за фактор пол. Примјеном Spearman Chi-square теста није добијена статистички значајна разлика пола и преживљавања пацијента ($\chi^2 = 0.010$, $p=0.921$), а ни релапса болести ($\chi^2 = 2.772$, $p=0.096$). Слично се може рећи и за Fisher exact тест за преживљавање ($p=0,992$) и настанак релапса ($p=0,170$).

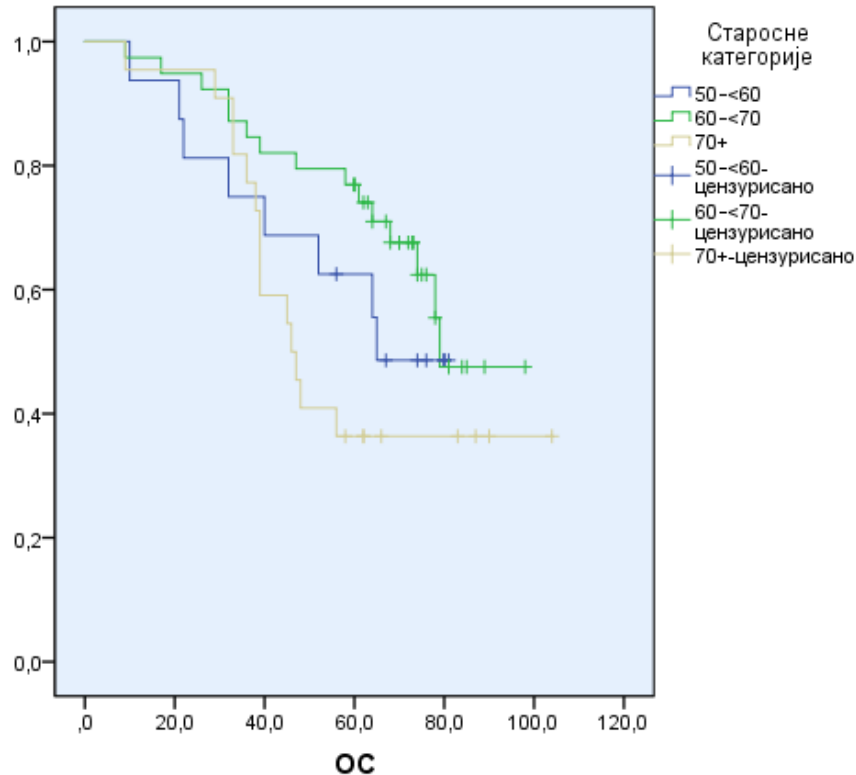


Слика 69: Каплан Меиерова кривуља ОС-а у односу на пол пацијента, лог ранк $p=0,986$.

5.4.7 Утицај доби на преживљавање пацијената и настанак релапса

Претходно су већ наведене стопе преживљавања за различите добне групе и можемо закључити да најлошију стопу преживљавања имају пацијенти старији од 70 година. Каплан меиеровом анализом није нађено статистичке сигнификантности о утицају пола на ОС ($p=0,097$), ДФС ($p=0,200$) и ДСС ($p=0,416$). На слици 70 је приказана Каплан Меиерова кривуља ОС-а за различите добне групе. Примјеном Spearman Chi-square

теста није добијена статистички значајна разлика између добних скупина и преживљавања пацијента ($\chi^2 = 3.602$, $p=0.165$), а ни релапса болести ($\chi^2 = 1.202$, $p=0.547$). Слично се може рећи и за Fisher exact тест за преживљавање ($p=0,168$) и настанак релапса ($p=0,575$).



Слика 70: Каплан Меирева кривуља ОС-а у односу на добну скупину пацијената, лог ранк $p=0,097$.

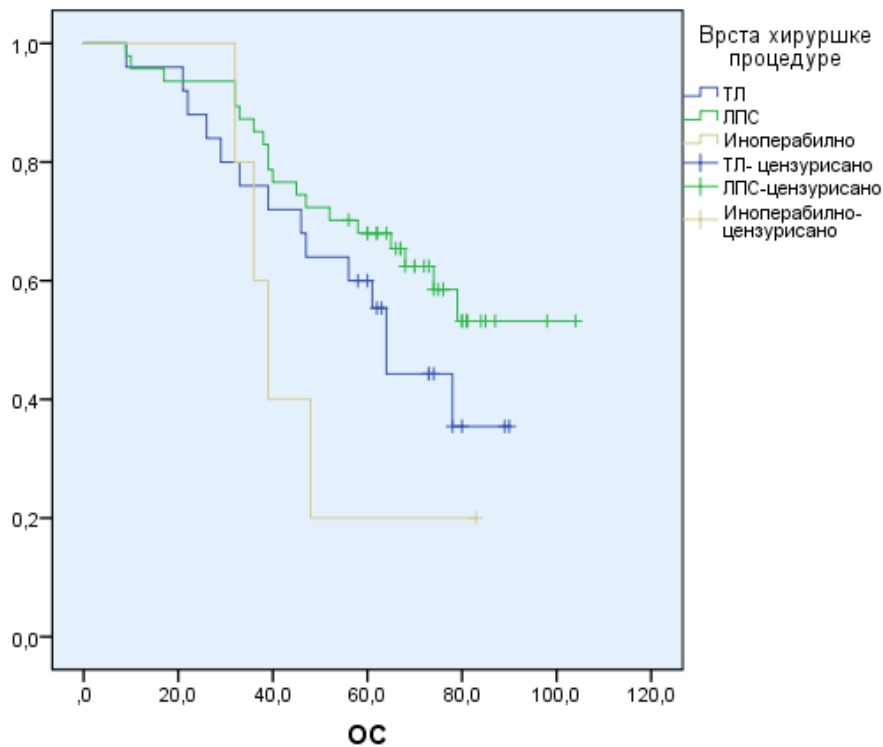
5.4.8 Утицај хируршке процедуре на преживљавање пацијената и настанак релапса

Анализа пацијената према врсти хируршке процедуре је приказана у табели 61. Највећи број операција су биле ЛПС 47 (61%), ТЛ 25 (32,5%) и иноперабилних је било 5 (6,5%). Каплан меиревом анализом није нађено статистичке сигнификантности о утицају хируршке процедуре на ОС ($p=0,107$), ДФС ($p=0,129$) и ДСС ($p=0,075$). На слици 71 је

приказана Каплан Меиерова кривуља ОС-а за примјене хируршке процедуре. Примјеном Spearman Chi-square теста није добијена статистички значајна разлика између добних скупина и преживљавања пацијента ($\chi^2 = 3.772$, $p=0.152$), а ни релапса болести ($\chi^2=5.048$, $p=0.080$). Слично се може рећи и за Fisher exact тест за преживљавање ($p=0,162$) и настанак релапса ($p=0,070$). Можемо закључити да у нашој групи пацијената са ЛЦ хируршка процедура није утицала на преживљавање пацијената.

Табела 61. Преживљавање пацијената по различитим категоријама на основу хируршке процедуре за ЛЦ.

| Статистика | ТЛ | ЛПС | Иноперабилно | Укупно |
|------------|-----------|-----|--------------|--------|
| ОС | 64 | НР | 39 | 78 |
| (мјесеци) | | | | |
| Н | 25 | 47 | 5 | 77 |
| Н догађаји | 14 | 19 | 4 | 37 |
| 95% ЦИ | 58,3:69,6 | | 32,5:45,4 | |
| р | | | | 0,107 |
| вриједност | | | | |
| ДСС | НР | НР | 39 | НР |
| Н | 25 | 47 | 5 | 77 |
| Н догађаји | 9 | 10 | 3 | 23 |
| 95% ЦИ | | | 27,2:50,7 | |
| р | | | | 0,075 |
| вриједност | | | | |
| ДФС | 64 | НР | 36 | 68 |
| Н | 25 | 47 | 5 | 77 |
| Н догађаји | 14 | 19 | 4 | 37 |
| 95% ЦИ | 45,3:82,7 | | 33,8:38,1 | |
| р | | | | 0,129 |
| вриједност | | | | |

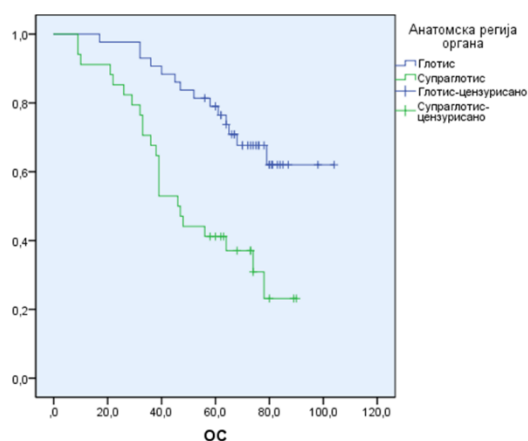


Слика 71: Каплан Меиреова кривуља ОС-а у односу на врсту хируршке процедуре, лог ранк $p=0,107$.

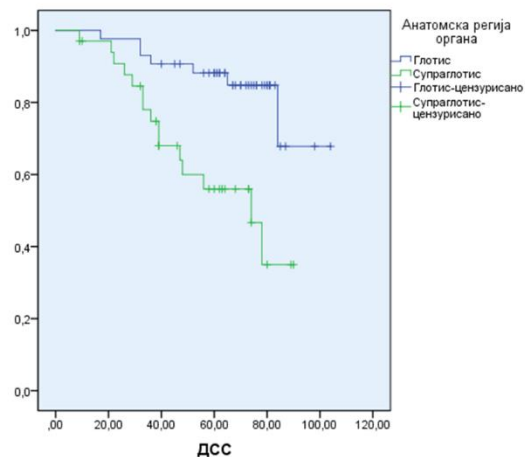
5.4.9 Утицај анатомске регије тумора ларинкса на преживљавање пацијената и настанак релапса

У овој анализи било је 43 (55,8%) пацијената са глотичким карциномом и 34 (44,2%) са супраглотично локализованим карциномом ларинкса. Због поједностављења статистичке анализе два пацијента са субглотичким карциномом стављена су у глотичку групу. Стопе преживљавања су биле значајно веће код пацијената са глотичким карциномом (67,4%), док код пацијената са супраглотичким карциномом износи 32,4%. ОС код супраглотичног карцинома је 46 мјесеци (95%ЦИ 37,8:54,1), а код глотичког је НР. ДФС код супраглотичког карцинома је 38 мјесеци (95%ЦИ 32,2:43,7), а код глотичког је НР. ДСС код супраглотичког карцинома је 74 мјесеца (95%ЦИ 50,3:97,6), а код глотичког је такође НР. Резултати преживљавања за различите туморске локализације су високо статистички сигнификантни у све три групе $p<0,001$, (слика 72). На основу Spearman Chi-square теста добијена је статистички значајна разлика између

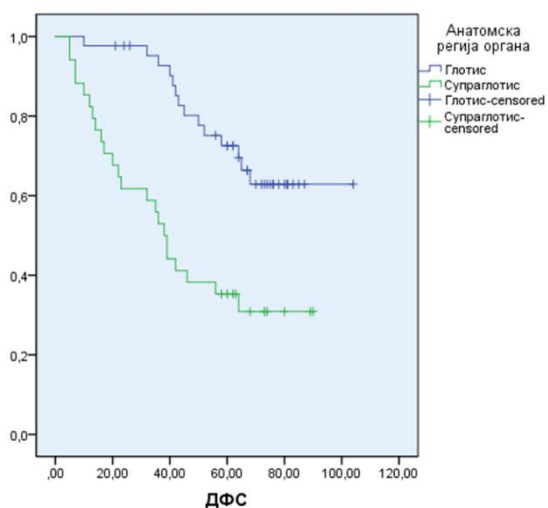
анатомске регије органа и преживљавања пацијента ($\chi^2=9.365$, $p=0.002$) и релапса болести ($\chi^2=8.587$, $p=0.003$). Слично се може рећи и за Fisher exact тест за преживљавање ($p=0,003$) и настанак релапса ($p=0,005$).



(а)



(б)



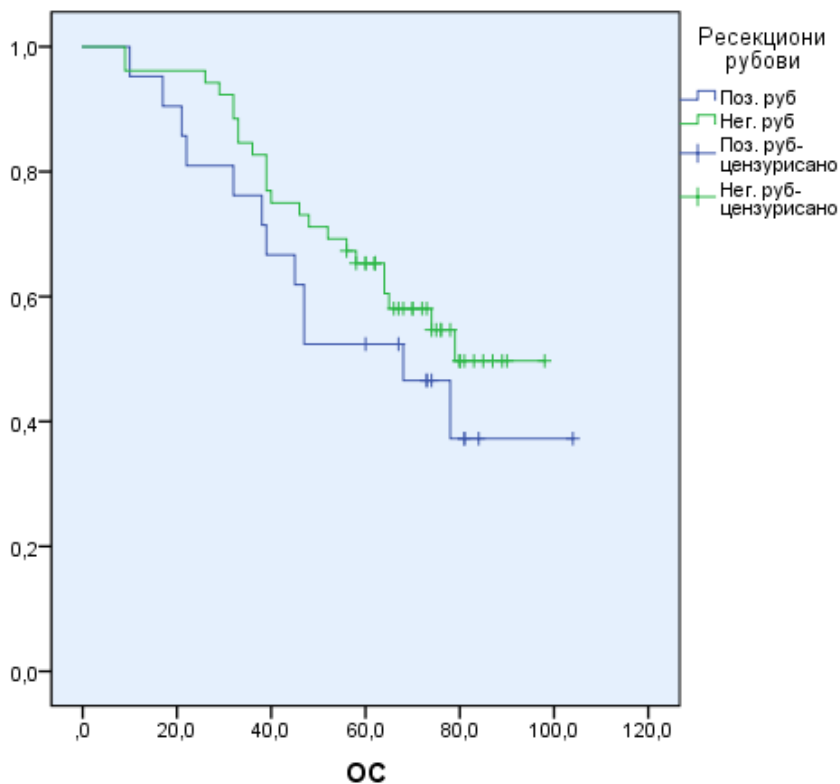
(ц)

Слика 72. Каплан Меиреове кривуље у односу на анатомску регију ЛЦ (а) ОС, $p<0,001$, (б) ДСС, лог ранк $p<0,001$, (ц) ДФС, лог ранк $p<0,001$

5.4.10 Утицај ресекционих рубова на преживљавање пацијената

Код 73 испитаника позитиван ресекциони руб је присутан код 21 испитаника (27,3%), а негативан ресекциони руб је имало 52 испитаника (67,5), код четири испитаника исти

није могао бити одређен. Није нађена статистичка сигнификантност ни за ОС ($p=0,285$), ДСС ($p=0,198$), ДФС ($p=0,198$), (слика 73). Примјеђено је нижи ДФС код групе позитиван руб, 45 мјесеци (95%ЦИ 5,9:84), док је ДФС за негативан руб НР. ОС код позитивног руба је 68 мјесеци (95%ЦИ 38,7:97,2), а негативног 79 мјесеци. ДСС код групе позитиван руб је 84 мјесеца (95%ЦИ 75,1:92,9), а за негативан руб НР. Такође, није нађена статистичка сигнификантност на Spearman Chi-square тесту за утицај ресекционих рубова на преживљавање ($\chi^2=1.001$, $p=0.317$) и релапс болести ($\chi^2=2.856$, $p=0.091$), као ни на Fisher exact тесту за преживљавање ($p=0,438$) и настанак релапса ($p=0,152$).



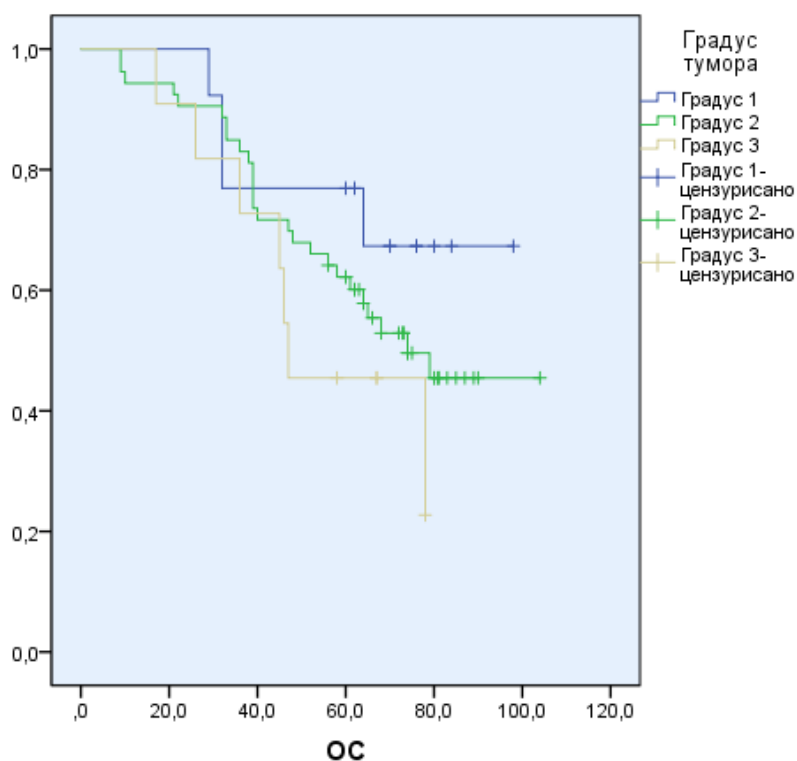
Слика 73: Каплан Меирева кривуља ОС-а у односу на ресекционе рубове, лог ранк $p=0,285$.

5.4.11 Хистолошки градус и утицај на преживљавање пацијената

Статистичком анализом није доказано да градус утиче на преживљавање пацијената, као ни на настанак релапса болести. Детаљније се може видјети на табели 62, слика 74.

Табела 62. Анализа преживљавања у односу градус тумора код ЛЦ.

| Категорија | Градус 1 Н (%) | Градус 2 Н (%) | Градус 3 Н (%) | р вриједност |
|----------------------------------|----------------|----------------|----------------|--------------|
| Укупно (%) | 13 (14,3) | 53 (68,8) | 11 (16,9) | |
| ОС (мјесеци) | НР | 74 | 47 | 0,269 |
| ДСС (мјесеци) | 84 | НР | 78 | 0,657 |
| ДФС (мјесеци) | НР | 68 | 45 | 0,402 |
| Spearman Chi-square преживљавање | | | | 0,266 |
| Spearman Chi-square релапс | | | | 0,866 |
| Fisher exact преживљавање | | | | 0,303 |
| Fisher exact релапс | | | | 0,865 |



Слика 74: Каплан Меирева кривуља ОС-а у односу на градус тумора, лог ранк $p=0,269$.

5.4.12 Инвазија у крвне и лимфне судове и перинеурална инвазија и њихов утицај на преживљавање пацијената

Код 70 пацијената код којих је могуће било урадити ову анализу нађене су статистичке сигнификантности. Ради лакше прегледности резултати ове анализе ће бити представљени табеларно и сликовно, табела 63 и слике 75-77.

Табела 63. Преживљавање и стопе преживљавања на основу ЛИ, ВИ, ПНИ код ЛЦ.

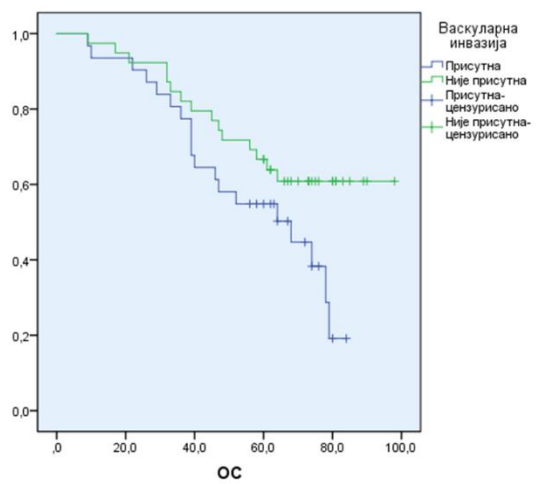
| Статистика | ВИ | ЛИ | ПНИ |
|----------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| ОС (мјесеци) | 68 | 64 | 68 |
| Н (%) | 31 | 28 (36,4) | 35 (50) |
| Н догађаји | 19 | 17 | 21 |
| 95% ЦИ | 37,8:98,1 | 34,9:93,1 | 39,4:96,5 |
| р вриједност | 0,050 | 0,048 | 0,057 |
| ДСС | 78 | 78 | 78 |
| Н | 31 | 28 (36,4) | 35 (50) |
| Н догађаји | 13 | 8 | 13 |
| 95% ЦИ | 69,6:86,3 | | |
| р вриједност | 0,039 | 0,600 | 0,147 |
| ДФС | 46 | 45 | 42 |
| Н | 31 | 28 (36,4) | 35 (50) |
| Н догађаји | 13 | 17 | 21 |
| 95% ЦИ | 28,8:63,2 | 22,7:67,2 | 35,1:48,9 |
| р вриједност | 0,025 | 0,077 | 0,034 |
| Spearman Chi-square | 3,603 $p=0,058$ | 2,755 $p=0,097$ | 3,660 $p=0,056$ |
| преживљавање | | | |
| Spearman Chi-square релапс | 4,869 $p=0,027$ | 1,337 $p=0,248$ | 6,629 $p=0,010$ |
| Fisher exact | $p=0,091$ | $p=0,143$ | $p=0,093$ |
| преживљавање | | | |

Fisher exact $p=0,039$

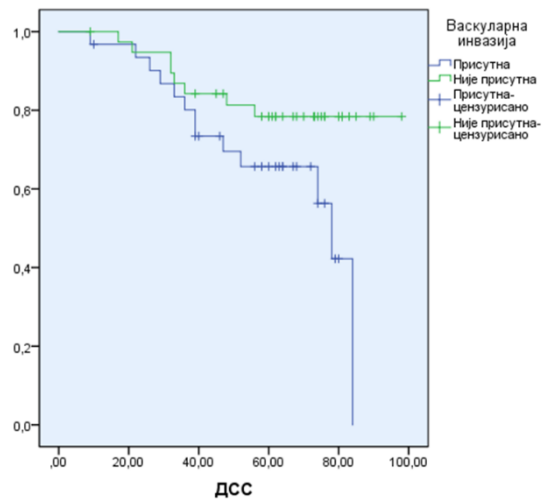
$p=0,298$

$p=0,019$

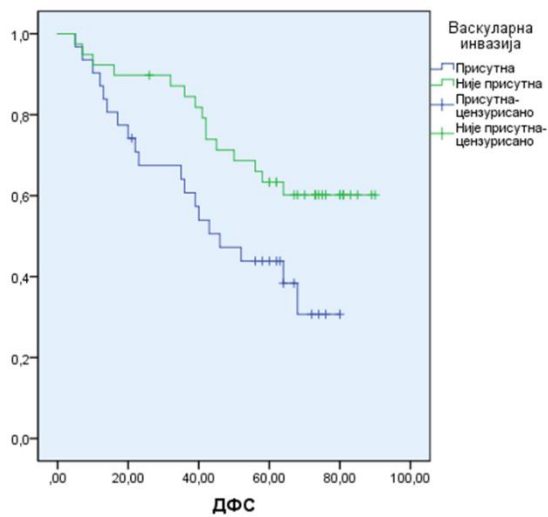
релапс



(а)

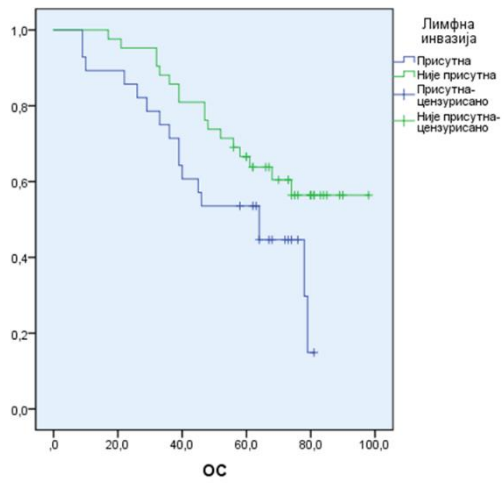


(б)

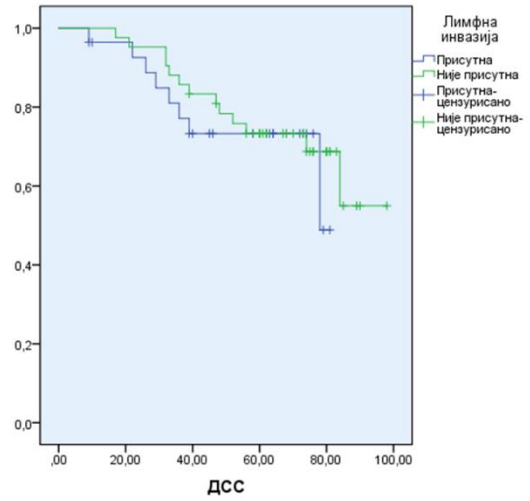


(в)

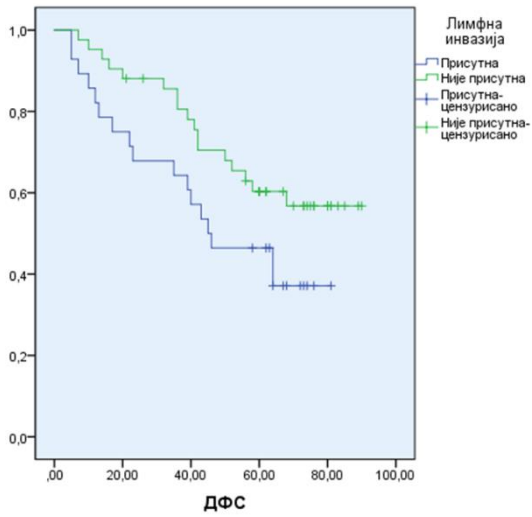
Слика 75. Каплан Меирове кривуље у односу на ВИ код ЛЦ.



(a)

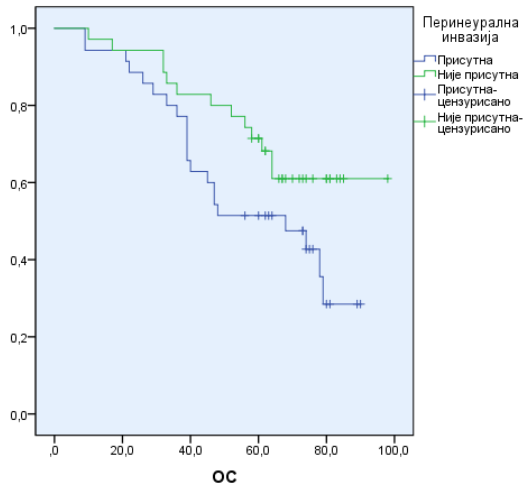


(б)

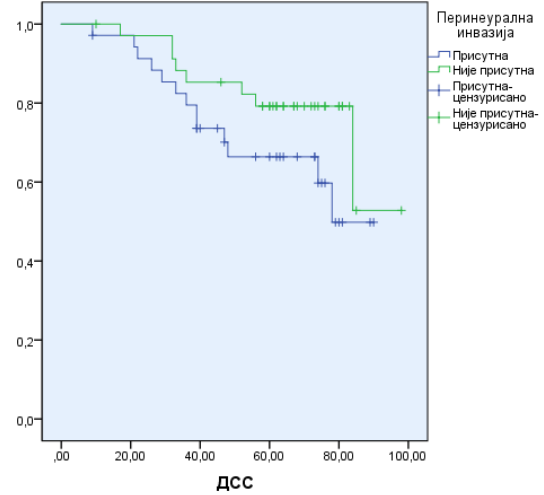


(ц)

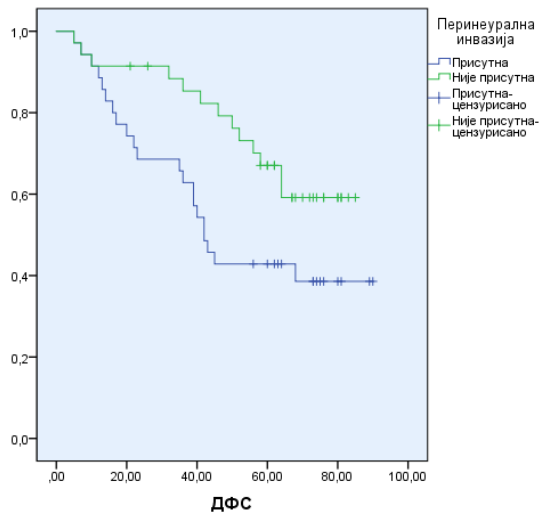
Слика 76. Каплан Меиреове кривуље у односу на ЛИ код ЛЦ.



(a)



(б)



(ц)

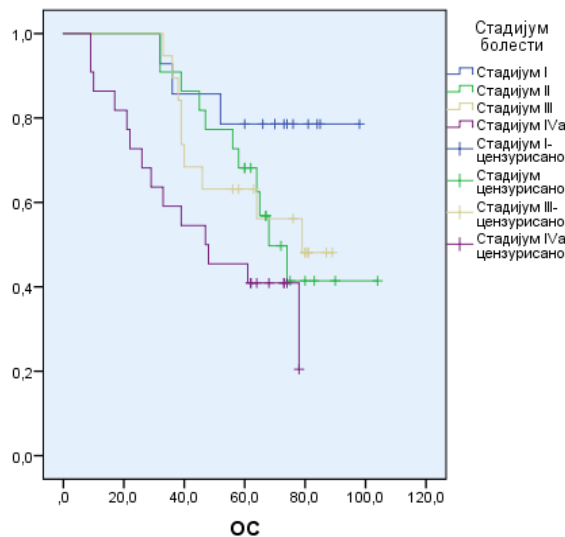
Слика 77. Каплан Меиреове кривуље у односу на ПНИ код ЛЦ

5.4.13 АЈЦЦ ТНМ стадијум болести карцинома ларинкса и утицај на преживљавање пацијената

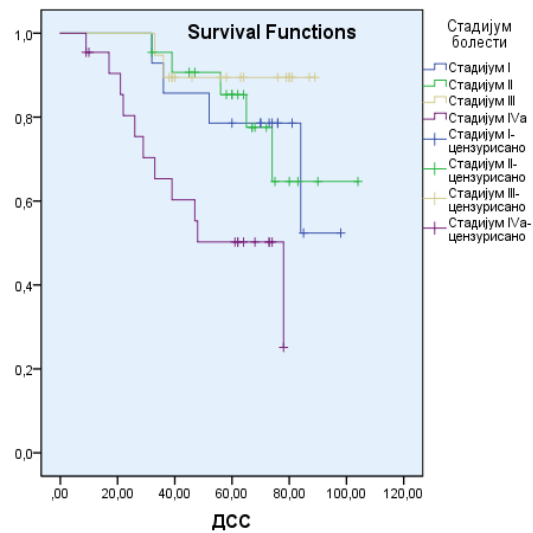
У табели 64 су приказани Т, Н стадијум и АЈЦЦ стадијум болести са вриједностима преживљавања. На слици 78 су приказане криве преживљавања.

Табела 64. Преживљавање и стопе преживљавања у односу на ТНМ класификацију.

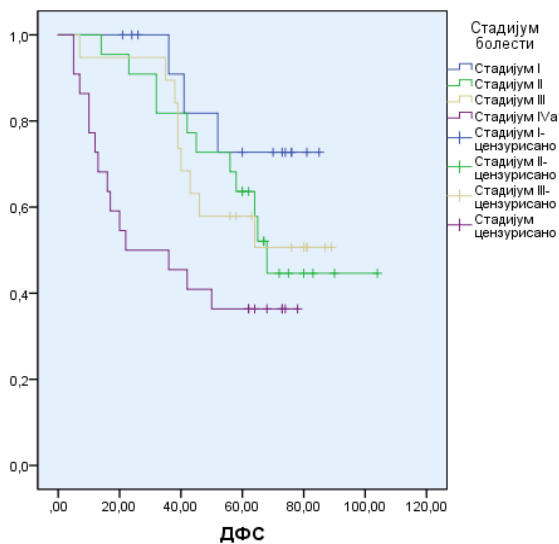
| Статистика | Т стадијум | Н стадијум | Стадијум болести |
|----------------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| ОС (мјесеци) | 68 | 64 | 68 |
| Н (%) | 31 | 28 (36,4) | 35 (50) |
| Н догађаји | 19 | 17 | 21 |
| 95% ЦИ | 37,8:98,1 | 34,9:93,1 | 39,4:96,5 |
| р вриједност | 0,050 | 0,048 | 0,057 |
| ДСС | 78 | 78 | 78 |
| Н | 31 | 28 (36,4) | 35 (50) |
| Н догађаји | 13 | 8 | 13 |
| 95% ЦИ | 69,6:86,3 | | |
| р вриједност | 0,039 | 0,600 | 0,147 |
| ДФС | 46 | 45 | 42 |
| Н | 31 | 28 (36,4) | 35 (50) |
| Н догађаји | 13 | 17 | 21 |
| 95% ЦИ | 28,8:63,2 | 22,7:67,2 | 35,1:48,9 |
| р вриједност | 0,025 | 0,077 | 0,034 |
| Spearman Chi-square | 3,603 $p=0,058$ | 2,755 $p=0,097$ | 3,660 $p=0,056$ |
| преживљавање | | | |
| Spearman Chi-square релапс | 4,869 $p=0,027$ | 1,337 $p=0,248$ | 6,629 $p=0,010$ |
| Fisher exact | $p=0,091$ | $p=0,143$ | $p=0,093$ |
| преживљавање | | | |
| Fisher exact релапс | $p=0,039$ | $p=0,298$ | $p=0,019$ |



(a)



(б)



(ц)

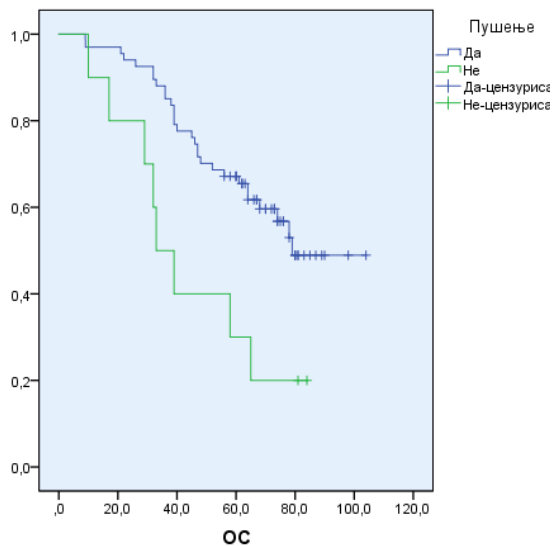
Слика 78. (а) Каплан Меирове кривуље ОС-а у односу на стадијум болести, медијана 78, лог ранк $p=0,033$, (б) ДСС медијана НР, лог ранк $p=0,033$, (ц) ДФС медијана 68, лог ранк $p=0,044$

5.4.14 Анализа утицаја пушења и алкохолизма на преживљавање и појаву релапса

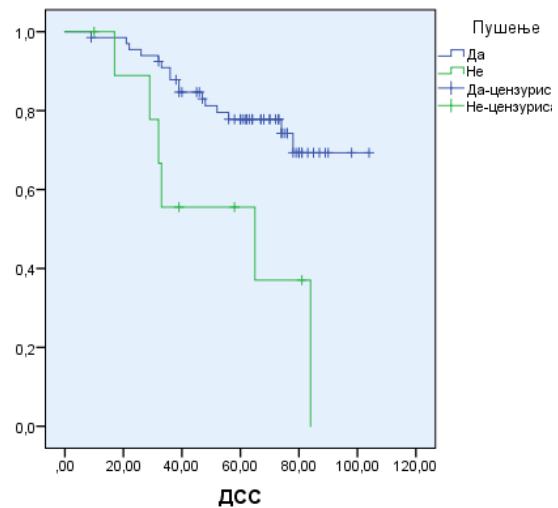
У анализираној групи пацијената доминирају пушачи 67 (87%) и 10 непушача (13%). Резултати преживљавања показали су да је у малој групи непушача смртност значајно већа него код пушача (80%) са ОС од 33 мјесеца. Постоји јасно раздвајање кривуља у корист бољег преживљавања код пушача, ОС 79 мјесеци, статистички сигнификантно $p=0,009$ (слика 79). Што се тиче ДСС-а преживљавање износи 65 мјесеци за непушаче, а

медијана за пушаче је НР, $p=0,005$. Непушачи такође имају нижи и ДФС, са медијаном од 39 мјесеци, а код пушача је НР, $p=0,003$. На основу Pearson Chi-Square теста показана је статистичка сигнификантност за преживљавање ($\chi^2=4.699$, $p=0.030$), али не и за настанак релапса ($\chi^2=2.223$, $p=0.136$). Fisher exact тест је показао статистичку сигнификантност за преживљавање $p=0.042$, а не за настанак релапса $p=0.154$.

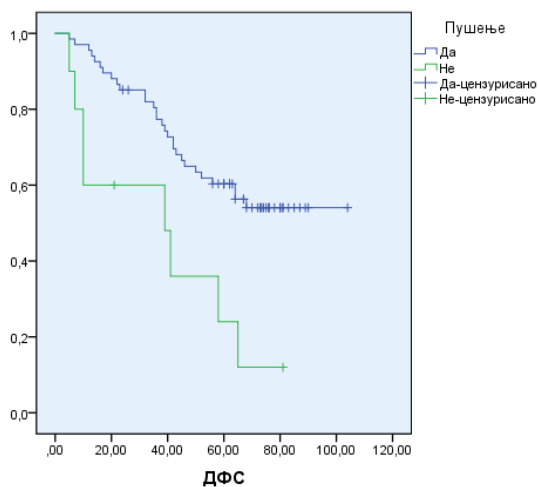
Пацијената који су редовно конзумирали алкохол је 49 (63,6%), а оних који нису је 28 (36,4%). Није нађена статистичка сигнификантност у преживљавању и настанку релапса код ове групе пацијената (слика 80). Нађена је позитивна корелација са пушачима $p=0.002$, тј. често су алкохол и пушење у синергизму.



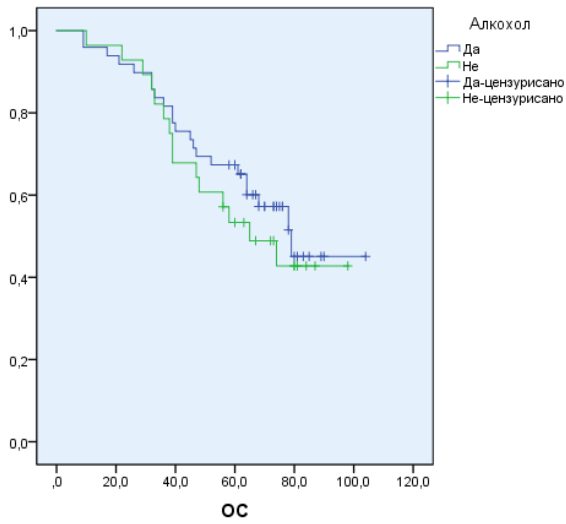
(а)



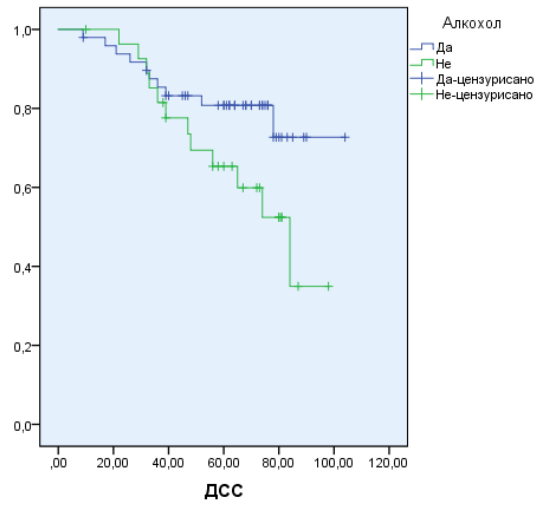
(б)



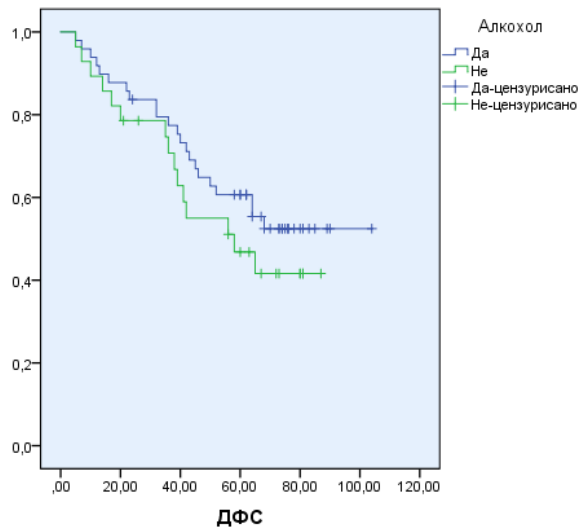
Слика 79. (а) Каплан Меирове кривуље ОС-а у односу на стадијум болести, медијана 78, лог ранк $p=0,009$, (б) ДСС медијана НР, лог ранк $p=0,005$, (в) ДФС медијана 68, лог ранк $p=0,004$



(а)



(б)



(в)

Слика 80. (а) Каплан Меирове кривуље ОС-а у односу на стадијум болести, медијана 78, лог ранк $p=0,508$, (б) ДСС медијана 89, лог ранк $p=0,072$, (в) ДФС медијана 68, лог ранк $p=0,305$

5.4.15 Анализа експресије ФЛОТ2 у узорцима карцинома ларинкса и утицај на преживљавање

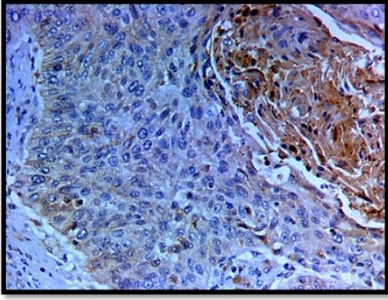
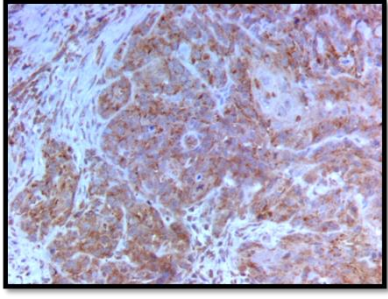
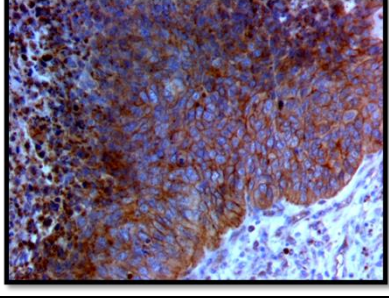
Анализом је утврђено да је експресија ФЛОТ2 у туморским ћелијама ЛЦ била присутна најчешће слабог (40,2%) или умјереног интензитета (42,8), табела 64.

Табела 64. Степен експресије ФЛОТ2 код ЛЦ.

| Присуство и степен експресије ФЛОТ2 у туморским ћелијама | Н | % |
|--|----|------|
| Негативан (0) | 9 | 11,7 |
| Слабо позитиван (1+) | 31 | 40,2 |
| Умјерено позитиван (2+) | 33 | 42,8 |
| Јако позитиван (3+) | 4 | 5,3 |
| Укупно | 77 | 100 |

У коначној анализи одсуство експресије (скор 0) сматрали смо негативним резултатом. Такође, ниску позитивну имунолошку реакцију (1+), умјерену (2+) и јако позитивну реакцију (3+) смо сматрали позитивном имунолошком реакцијом. Сходно наведеном, смо начинили подјелу на негативне (0) и позитивне (1+, 2+ и 3+) (слика 81, табела 65). Даље статистичке обраде ће се изводити на основу ове подјеле. На основу наведеног, 81,2% случајева код наших испитаника показује позитивну имунолошку реакцију на ФЛОТ 2 (табела 65).

| ИХХ скор | Имунохистохемијско бојење FLOTILLIN 2 | Карцином ларинкса |
|----------|--|---|
| 0 | Глобални скор ≤ 1 је дефинисан као негативно бојење (0) | x200  |

| | | | |
|----|---|------|---|
| 1+ | Глобални скор $\geq 2 \leq 4$ је дефинисан као слабо позитивно бојење (1+) | x200 |  |
| 2+ | Глобални скор $\geq 6 \leq 8$ је дефинисан као умјерено позитивно бојење (2+) | x200 |  |
| 3+ | Глобални скор ≥ 9 је дефинисан као јако позитивно бојење (3+) | x200 |  |

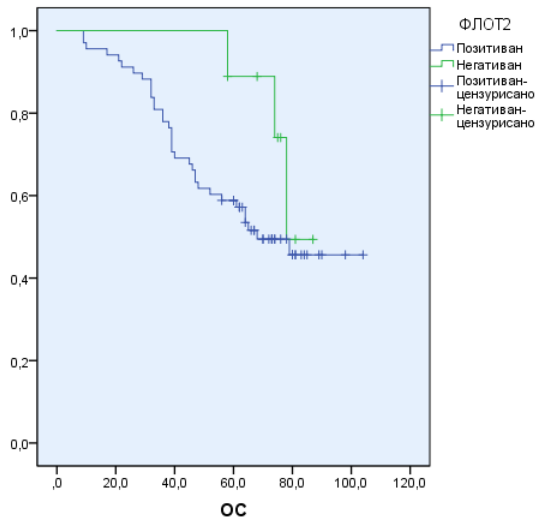
Слика 81. Оцјена ИХХ бојења ФЛОТ2 на узорцима Л. Сликано у Центру за биомедицинска истраживања Медицинског факултета у Бањој Луци.

Табела 65. Степен експресије ФЛОТ2 код ЛЦ, подјела на негативне (скор 0) и позитивне (скор 1+, 2+ и 3+)

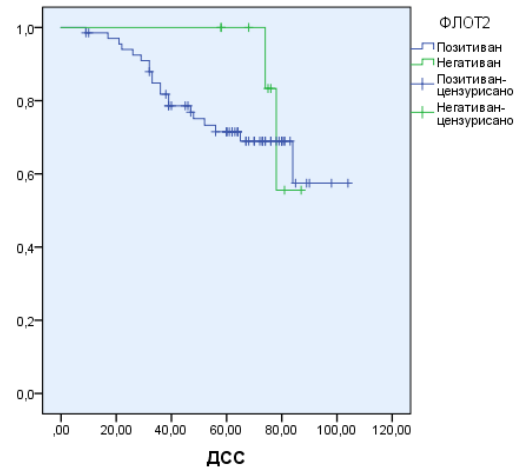
| Присуство и степен експресије ФЛОТ2 у туморским ћелијама | Н | % |
|--|----|------|
| Негативна | 9 | 11,7 |
| Позитивна | 68 | 88,3 |
| Укупно | 77 | 100 |

Прегруписавањем података, девет пацијената је имало негативну интерпретацију, од којих је шест преживјело, а троје није, а од 68 пацијената који су имали позитивну интерпретацију туморских ћелија (1+, 2+ и 3+) ФЛОТ2, њих 34 (50%) је преживјело. Такође, од групе пацијената које је имало негативну реакцију релапс је развило два

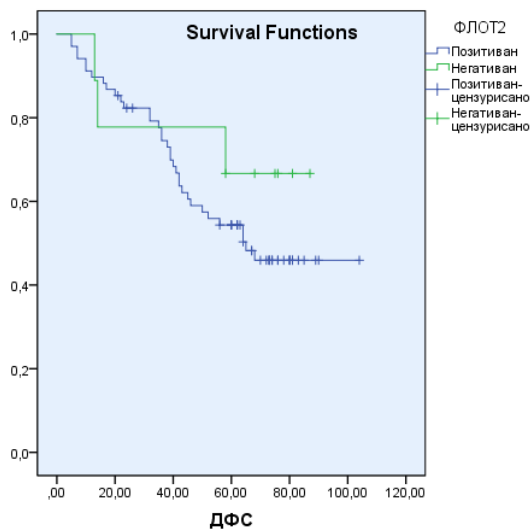
пацијента (22,2%), а у групи који су имали позивну реакцију 21 пацијент (77,8%), табела бб. Преживљавање пацијената код којих је интерпретација укупне позитивности у туморским ћелијама ФЛОТ2 била негативна статистички није показана сигнификантност у ОС ($p=0,212$), ДФС ($p=0,346$) и ДСС ($p=0,429$) у односу на пацијенте код којих је интерпретација укупне позитивности у туморским ћелијама ФЛОТ2 била позитивна. Експресија ФЛОТ2 не утиче значајно на преживљавање пацијената са ЛЦ (слика 82).



(а)



(б)



(ц)

Слика 82. (а) Каплан Меирове кривуље ОС-а у односу на ФЛОТ2 експресију, медијана 78, лог ранк $p=0,212$, (б) ДСС медијана НР, лог ранк $p=0,429$, (ц) ДФС медијана 68, лог ранк $p=0,346$

Табела 66. Анализа стопа преживљавања у односу на степен експресије ФЛОТ2 по различитим категоријама.

| Интерпретација ФЛОТ2 | Н | ОС (%) | ДСС (%) | ДФС (%) |
|-------------------------|----|-----------|-----------|-----------|
| Негативна | 9 | 78 (66,7) | НР (77,8) | НР (66,7) |
| Позитивна | 31 | 68 (50,0) | НР (70,6) | 65 (50) |
| Укупно | 77 | 78 (51,9) | НР (71,4) | 68 (51,9) |

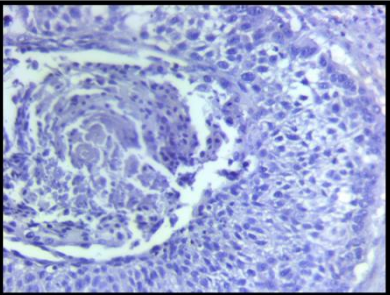
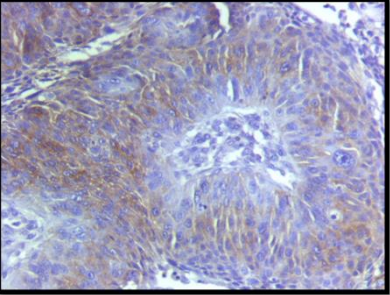
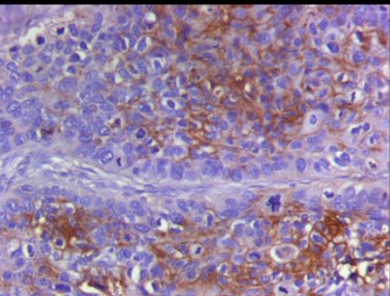
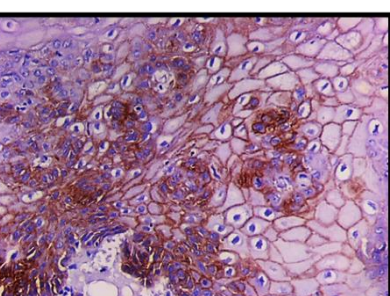
5.4.16 Анализа експресије ЕГФР у узорцима карцинома ларинкса и утицај на преживљавање

Анализом је утврђено да је експресија ЕГФР у туморским ћелијама ЛЦ била присутна најчешће негативна (35,0%) или слабо позитивног интензитета (26,0%), табела 67.

Табела 67. Степен експресије ФЛОТ2 код ЛЦ.

| Присуство и степен експресије ЕГФР у туморским ћелијама | Н | % |
|--|----|------|
| Негативан (0) | 27 | 35,0 |
| Слабо позитиван (1+) | 20 | 26,0 |
| Гранично позитиван (2+) | 19 | 24,7 |
| Јако позитиван (3+) | 11 | 14,3 |
| Укупно | 77 | 100 |

У коначној анализи одсуство експресије и слабо позитивна експресија (скор 0 и скор 1+) сматрали смо негативним резултатом. Такође, умјерену (2+) и јако позитивну реакцију (3+) смо сматрали позитивном имунолошком реакцијом. Сходно наведеном, смо начинили подјелу на негативне (0 и 1+) и позитивне (2+ и 3+) (слика 83). Даље статистичке обраде ће се изводити на основу ове подјеле. На основу наведеног, 61,0% случајева код наших испитаника показује негативну имунолошку реакцију на ЕГФР (табела 68).

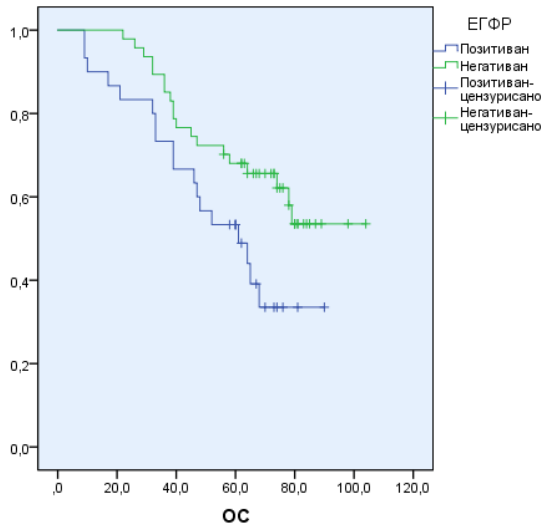
| | | | |
|---------------------|--|-------------------|--|
| ИХ Х Ско р | Имунохистохемијско бојење ЕГФР | Карцином ларинкса | |
| 0 | Нема реакције у ћелијама или је мање од 10% туморских ћелија позитивно | x200 |  |
| 1+ | Слабо, парцијално и/или комплетно мембранско бојење у више од 10% туморских ћелија | x200 |  |
| 2+ | Умјерено и комплетно мембранско бојење у више од 10% туморских ћелија | x200 |  |
| 3+ | Јако и комплетно мембранско бојење у више од 10% туморских ћелија | x200 |  |

Слика 83. Оцјена ИХХ бојења ЕГФР на узорцима ЛЦ. Сликано у Центру за биомедицинска истраживања Медицинског факултета у Бањој Луци.

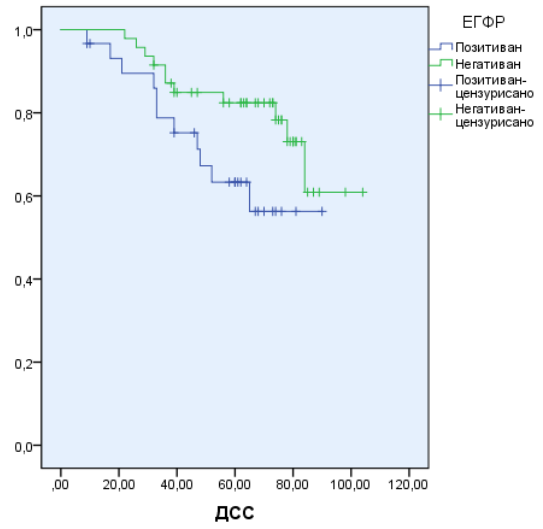
Табела 68. Степен експресије ЕГФР код ЛЦ, подјела на негативне (скор 0 и 1+) и позитивне (скор 2+ и 3+).

| Присуство и степен експресије ЕГФР у туморским ћелијама | Н | % |
|---|----|------|
| Негативна | 47 | 61,0 |
| Позитивна | 30 | 39,0 |
| Укупно | 77 | 100 |

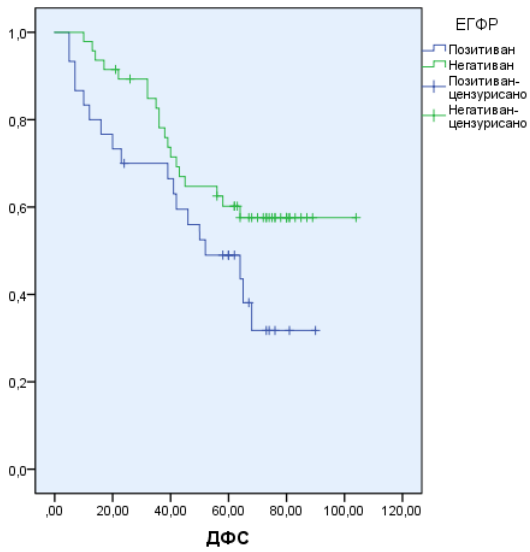
Прегруписавањем података, 47 пацијената је имало негативну интерпретацију (0 и 1+), од којих је 28 преживјело (59,6%), а 19 није, а од 30 пацијената који су имали позитивну интерпретацију туморских ћелија (2+ и 3+) ЕГФР, њих 12 (40%) је преживјело. Такође, од групе пацијената које је имало негативну реакцију релапс је развило 11 пацијената (23,4%), а у групи који су имали позитивну реакцију 12 пацијент (40%), табела 69. Преживљавање пацијената код којих је интерпретација укупне позитивности у туморским ћелијама ЕГФР била негативна статистички је показана сигнификантност у ОС ($p=0,034$), у односу на пацијенте код којих је интерпретација укупне позитивности у туморским ћелијама ЕГФР била позитивна. Исто се не може рећи за ДФС ($p=0,071$) и ДСС ($p=0,068$). Експресија ЕГФР утиче значајно на ОС пацијената са ЛЦ (слика 84).



(a)



(б)



(ц)

Слика 84. (а) Каплан Меиреове кривуље ОС-а у односу на ЕГФР експресију, медијана 78, лог ранк $p=0,034$, (б) ДСС медијана НР, лог ранк $p=0,068$, (ц) ДФС медијана 68, лог ранк $p=0,071$

Табела 69. Анализа стопа преживљавања у односу на степен експресије ЕГФР по различитим категоријама.

| Интерпретација ЕГФР | Н | ОС (%) | ДСС (%) | ДФС (%) |
|---------------------|----|-----------|-----------|-----------|
| Негативна | 47 | НР (59,6) | НР (76,6) | НР (59,6) |
| Позитивна | 30 | 61 (40,0) | НР (63,3) | 52(40,0) |
| Укупно | 77 | 78 (51,9) | НР (71,4) | 68 (51,9) |

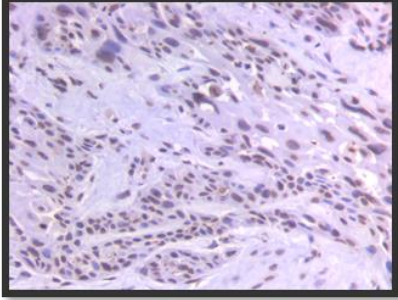
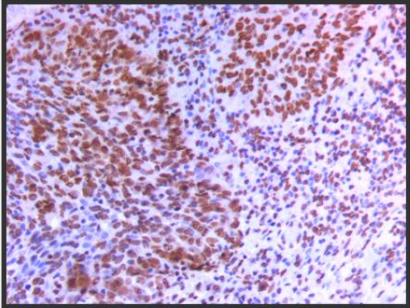
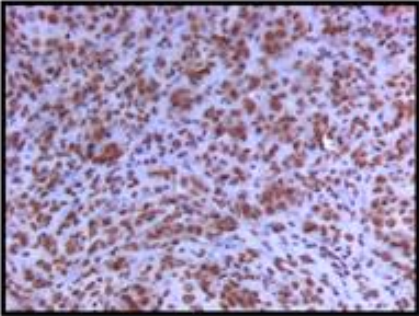
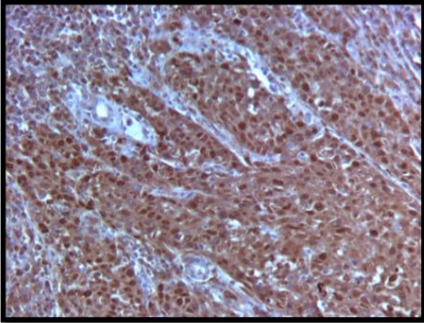
5.4.17 Анализа експресије п16инк4а у узорцима карцинома ларинкса и утицај на преживљавање

Анализом је утврђено да је експресија п16ИНК4а у туморским ћелијама ЛЦ најчешће била негативна (54,5%) или спорадична (23,4%), табела 70.

Табела 70. Степен експресије п16ИНК4а код ЛЦ.

| Присуство и степен експресије п16 у туморским ћелијама | Н | % |
|--|----|------|
| Негативан (0) | 42 | 54,5 |
| Слабо позитиван (1+) | 18 | 23,4 |
| Фокално (2+) | 9 | 11,7 |
| Дифузно (3+) | 8 | 10,4 |
| Укупно | 77 | 100 |

Позитивна експресија п16ИНК4А је дефинисана као јако дифузно имунолошко бојење (скор 3+) и нуклеуса и цитоплазме у најмање 80 процената прегледаних туморских ћелија. Сходно наведеном, смо начинили подјелу на негативне (0, 1+, 2+) и позитивне (3+) (слика 85). Даље статистичке обраде ће се изводити на основу ове подјеле. На основу наведеног, 10,4% случајева код наших испитаника показује позитивну имунолошку реакцију на п16 (табела 71).

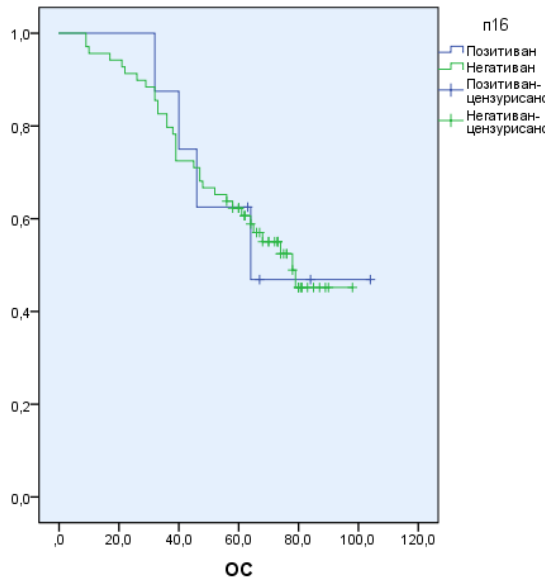
| | | | |
|-------------|--|-------------------|--|
| IХХ Скор | Имунохистохемијско бојење p16 | Карцином ларинкса | |
| 0 | Негативан резултат: <1% позитивних ћелија; | x200 |  |
| 1+ | Спорадична позитивност Појединачне позитивне ћелије, <5% позитивних ћелија | x200 |  |
| 2+ | Фокална позитивност Мали кластери позитивних ћелија, али <80% позитивних ћелија | x200 |  |
| 3+ | Дифузна позитивност >80% позитивних ћелија | x200 |  |

Слика 85. Оцјена ИХХ бојења п16 на узорцима ЛЦ. Сликано у Центру за биомедицинска истраживања Медицинског факултета у Бањој Луци.

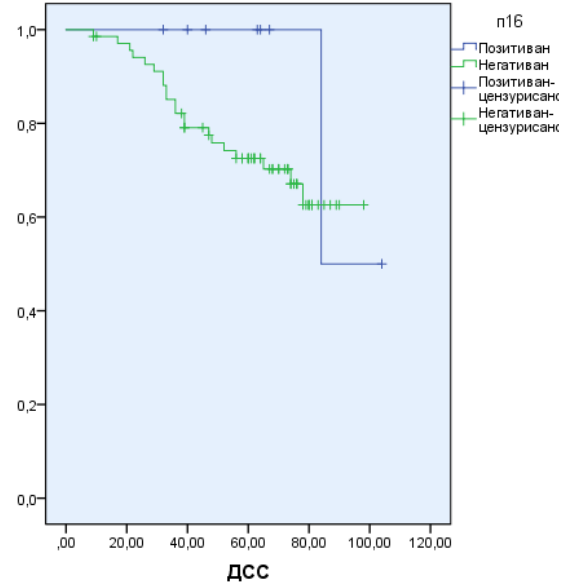
Табела 71. Степен експресије п16 код ЛЦ, подјела на негативне (скор 0, 1+ и 2+) и позитивне (скор 3+).

| Присуство и степен експресије ЕГФР у туморским ћелијама | Н | % |
|---|----|------|
| Негативна | 69 | 89,6 |
| Позитивна | 8 | 10,4 |
| Укупно | 77 | 100 |

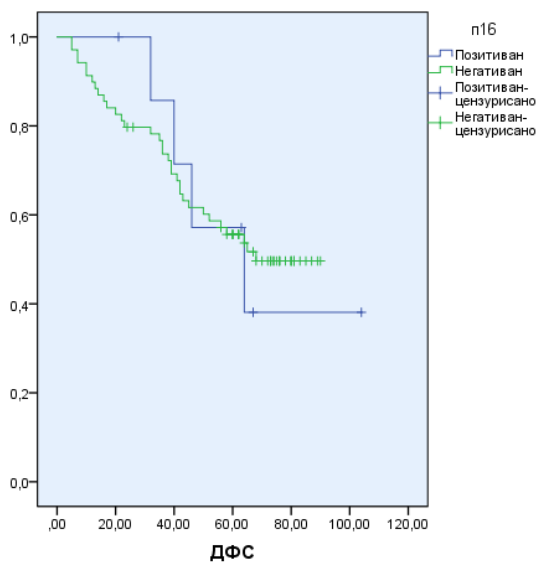
Прегруписавањем података, 69 пацијената је имало негативну интерпретацију (0, 1+ и 2+), од којих је 36 преживјело (52,2%), а 33 није, а од осам пацијената који су имали позитивну интерпретацију туморских ћелија (3+) п16, њих четири (50%) је преживјело. Такође, од групе пацијената које је имало негативну реакцију релапс је развило 22 пацијента (31,9%), а у групи који су имали позитивну реакцију један пацијент (12,5%), табела 72. Преживљавање пацијената код којих је интерпретација укупне позитивности у туморским ћелијама п16 била негативна статистички није показана сигнификантност у ОС ($p=0,982$), ДФС ($p=0,930$) и ДСС ($p=0,306$) у односу на пацијенте код којих је интерпретација укупне позитивности у туморским ћелијама п16 ИНК4а била позитивна. Експресија п16 не утиче значајно на преживљавање пацијената са карциномом ларинкса (слика 86).



(a)



(б)



(ц)

Слика 86. (а) Каплан Меирове кривуље ОС-а у односу на ЕГФР експресију, медијана 78, лог ранк $p=0,034$, (б) ДСС медијана НР, лог ранк $p=0,068$, (ц) ДФС медијана 68, лог ранк $p=0,071$

Табела 72. Анализа стопа преживљавања у односу на степен експресије p16 по различитим категоријама.

| Интерпретација p16 | Н | ОС (%) | ДСС (%) | ДФС (%) |
|--------------------|----|-----------|-----------|-----------|
| Негативна | 69 | 78 (52,2) | НР (69,6) | 68 (52,2) |
| Позитивна | 8 | 64 (50,0) | 84 (87,5) | 64 (50,0) |
| Укупно | 77 | 78 (51,9) | НР (71,4) | 68 (51,9) |

5.5 Регресиона анализа различитих параметара код пацијената са карциномом ларинкса

Униваријантна анализа је показала да анатомска регија ЛЦ, релапси, ВИ, ЛИ, ПНИ, узрапредовали стадијум болести, група пацијената, модалитет лијечења, пушење и ЕГФР значајно утичу на различите типове преживљавања (табела 38). Међутим, мултиваријантна анализа (табела 73) значајних варијабли показало је да су рецидив, ЛИ, ЕГФР и пушење једини фактори који је имао независан ефекат на ОС. Анатомска регија и релапс болести су показали статистички сигнификантна утицај на ДСС. Штавише, анатомска регија, релапс болести, пушење и модалитет лијечења су фактори у мултиваријантној анализи који су утицали на ДФС.

Табела 73. Резултати униваријатних и мултиваријатних анализа, Сох-ових пропорционалних хазарда.

| Карактеристике | ОС | | | ДСС | | | | | | | | |
|--------------------------------|--------|-----------|------------|--------|---------|------------|--------|----------|------------|--------|----------|------------|
| | ХР (а) | 95% ЦИ | р вредност | ХР (б) | 95% ЦИ | р вредност | ХР (а) | 95% ЦИ | р вредност | ХР (б) | 95% ЦИ | р вредност |
| Анатомска регија | 3,2 | 1,6:6,2 | 0,001 | | | | 4,0 | 1,6:9,8 | <0,003 | 2,9 | 1,1:8,0 | 0,026 |
| Релапс болести | 4,6 | 2,4:8,9 | <0,001 | 5,7 | 1,3:5,6 | <0,001 | 10,0 | 3,8:25,7 | <0,001 | 9,4 | 3,4:26,4 | <0,001 |
| Васкуларна инвазија | | | | | | | 2,4 | 1,0:6,0 | 0,046 | | | |
| Лимфна инвазија | 1,9 | 1,0:3,8 | 0,05 | 2,5 | 1,2:5,2 | 0,025 | | | | | | |
| Перинеурална инвазија | | | | | | | | | | | | |
| Узнапредовали стадијум болести | 4,9 | 1,4:17,4 | 0,035 | | | | 3,3 | 1,1:10,8 | 0,009 | | | |
| ЕГФР | 1,9 | 1,03:3,83 | 0,039 | 2,7 | 1,3:5,6 | 0,019 | | | | | | |
| Пушење | 2,7 | 1,2:6,0 | 0,023 | 2,4 | 1,1:5,9 | 0,048 | 3,5 | 1,3:8,9 | 0,009 | | | |
| Модалитет лијечења | 2,6 | 1,1:5,3 | 0,05 | | | | 2,3 | 1:5,2 | 0,047 | | | |
| Карактеристике | ДФС | | | | | | | | | | | |
| | ХР (а) | 95% ЦИ | р вредност | ХР (б) | 95% ЦИ | р вредност | | | | | | |
| Анатомска регија | 3,2 | 1,6:6,3 | 0,001 | 3,1 | 1,4:6,8 | 0,002 | | | | | | |
| Васкуларна инвазија | 2,1 | 1,1:4,2 | 0,029 | | | | | | | | | |
| Перинеурална инвазија | 2,0 | 1,03:4,1 | 0,039 | | | | | | | | | |

| | | | | | | |
|---------------------------------------|------|--------------|------------|------|------------------|------------|
| Релапс болести | 16,4 | 7,2:3 7,5 | <0,00 1 | 23,8 | 7,9: 47, 2 | <0,00 1 |
| Узнапредова ли стадијум болести | 4,4 | 1,2:1 5,6 | 0,05 | | | |
| Пушење | 3,0 | 1,3:3, 7 | 0,005 | 4,2 | 1,7: 10, 4 | 0,005 |
| Модалитет лијечења | | | | 3,6 | 1,1: 12, 9 | 0,039 |

а: Резултати униваријантне анализе; хазардни однос (ХР); 95% ЦИ; п вриједност.

б: Резултати мултиваријантне анализе; ХР; 95% ЦИ; п вредност.

6 ДИСКУСИЈА

У овој студији, средња старост пацијената је била 61 година у групи орофаринкс и 66 година у групи ларинкс, а преовлађивање мушкараца у епидемиологији болести је у складу са налазима објављеним у литератури у обје категорије (258, 259). Ово се може приписати навикама зависности које су чешће међу мушкарцима (260). У обје групе више од 80% пацијената били су страствени пушачи (≥ 2 кутије цигарета), а око 50% је редовно конзумирало алкохол. У нашој болници, мултидисциплинарни тим (МДТ) за туморе главе и врата одговоран је за избор оптималног третмана. Одлуке о лијечењу свих пацијената са карциномом главе и врата, укључујући ЛЦ и ОПЦ, доноси овај тим. Ларинкс игра кључну улогу у говору и комуникацији; стога су стратегије очувања органа у лијечењу ЛЦ од виталног значаја. Важно је напоменути да тип ЛПС који се користи зависи од сублокације ЛЦ и проширености, као и од укупног здравља пацијента и индивидуалних потреба. У нашем клиничком центру урађен је значајан број ЛПС (61,0%), али је пет пацијената било иноперабилно због високог стадијума болести, старости и/или коморбидитета. ЛПС је укључивао: хордектомију, ендоскопску ласерску хирургију, супраглотичну ларингектомију и хемиларингектомију. Као што је претходно приказано, три пацијента су подвргнута РТ као нехируршком третману за очување ларинкса. Недавна и занимљива студија из Румуније открила је да је ТЛ најчешћа опција хируршког лечења, која чини 63,15% случајева (261). Што се тиче ОПЦ-а хируршко лијечење има своје специфичности. У нашој групи пацијената 32 пацијента (44,5%) нису били операбилни. Главни разлог за то је локално узрапредовала иноперабилна болест, лош перформанс статус и коморбидитети. Оптимални третман за ове пацијенте би можда био троструки модалитет, али некада због општег стања пацијента није могао бити примјењен. Стога имамо велики број пацијената који је примао ХТ/РТ, или пак РТ или ИХТ. Без обзира, сви наведени третмани су по стандардним препорукама лијечења за ОПЦ (98, 99, 117-119). На основу досадашњих резултата знамо да $p16+$ пацијенти имају бољи одговор на ХТ/РТ (14, 22, 23). Проблематика је што до сада нисмо имали одређивање $p16$ као стандард у дијагносици и третману наших пацијената.

Нажалост, нема доступних података о преживању и клиничкопатолошким карактеристикама ова два карцинома у БиХ. Међутим, наишли смо на студију спроведену на Клиници за ухо, грло и нос у нашој земљи која се уопштено фокусира на туморе главе и врата. Анализа 230 случајева ЛЦ између 2003. и 2007. године открила

је дивергентни тренд међу половима. Конкретно, дошло је до значајног смањења стопа обољевања код мушкараца, док су порасле код жена (262). Од раних 1980-их, стопе морталитета од ЛЦ код мушкараца се изједначавају у већини земаља западне и јужне Европе и за ОПЦ и ЛЦ, док се у централној и источној Европи то дешава од раних 1990-их. Земље источне Европе, као што је Мађарска, имају највише стопе обољевања и морталитета од орофарингеалног канцера (263). У периоду 2010–2011, највеће стопе морталитета мушкараца од ЛЦ забиљежене су у Мађарској, Републици Молдавији и Румунији, са стопама преко 6 на 100.000, док су најниже стопе забележене у Финској, Норвешкој, Шведској и Швајцарској, са стопама испод један на 100.000. За жене у ЕУ, стопе морталитета су остале стабилне на око 0,29 на 100.000 између 1980. и 1994., а затим су се незнатно смањиле уз просечну годишњу промену процента од -1,3%, што је резултирало стопом од 0,23 на 100.000 у периоду 2000–2001 (263, 264).

Већина наших случајева ОПЦ локализовани су у регији коријена језика и тонзилама, 38,6% и 36,5% респективно. Код ЛЦ најчешћи су били глотични тумори (55,8%). Интересантан налаз је да су пацијенти са ВИ, ЛИ или ПНИ имали ниже стопе преживљавања и веома значајан ефекат на све категорије преживљавања у униваријантној анализи код обје групе пацијената. У мултиваријантним моделима, само ВИ је имала независан ефекат на ОС код ОПЦ, а ЛИ код ЛЦ. Такође, показано је да ВИ утиче на ДФС код ОПЦ. Ниједна од ове три категорије нема независног утицаја на ДСС. Друге студије су показале да ЛИ и ВИ имају значајну прогностичку вриједност и значајно утичу на ДФС, те стопе регионалних и удаљених метастаза (265-267). Клиничари такође треба да размотре ПНИ јер је њено присуство показатељ рецидива тумора и нижег преживљавања. Присуство ПНИ је повезано са повећаним ризиком од локалног рецидива и регионалног нодалног ширења, што негативно утиче на прогнозу ових пацијената (268-270).

Након медијане праћења од 78 мјесеци код ОПЦ, стопе преживљавања за ОС, ДФС и ДСС су биле 22,2%, 48,6% и 58,3%. Студије често извјештавају о петогодишњем праћењу, док је наше истраживање имало праћење од 76 и 78 мјесеци. Подаци из литературе показују велику дискрепанцу у преживљавању код ОПЦ. То се првенствено односи на географску локализацију и навике становништа. У студији из МД Андерсон центра, Хјустон-Тексас, примјећене су изузетно добре стопе петогодишњег, али и 10 годишњег преживљавања, 83% и 63% (271). Када се детаљније анализирају подаци њихових 1699 пацијената, уочава се значајна разлика у клиничкопатолошким и

демографским карактеристикама пацијената у поређењу са нашом групом. Значајно је напоменути да су имали значајно већи број непушача, 44%, и да је п16+ било скоро 90% случајева. Такође, Т4 стадијум болести је имало само 10,8%, док је у нашем истраживању то била доминантна група пацијената са огромних 40,6%. Видљива је и разлика у Н стадијуму болести гдје су имали велики број Н2 стадијума болести, а што се уклапа у досадашње податке да су чешће метастазе у лимфне чворове код п16+ пацијената. Кориштени терапијски модалитети су били слични нашим, али је био значајно мањи број релапса (271). Слични резултати преживљавања су и у студији из Велике Британије (272). Ово иде у прилог претходне приче, да п16+ пацијенти имају доста бољи одговор на примјене модалитете лијечења, те имају дуже преживљавање. У нашој групи пацијената п16 позитивно бојење имало је 18,1% пацијената. Комбинација тога, високог процента пушача (82%), висок Т стадијум болести, мањи Н стадијум болести, говори нам у прилог једног конвенционалног пацијента са уобичајеним факторима ризика за настанак овог тумора. Све ове карактеристике за последицу имају мање стопе преживљавања, веће шансе за некомпетирање лијечења и компликације лијечења, те рани настанак релапса болести. У групи пацијената са раним релапсом, тј. унутар 24 мјесеца од компетирања лијечења, показан је статистички сигнификантно лошији ОС, ДФС и ДСС у односу на групу са касним релапсом или без релапса. Са друге стране, када погледамо резултате петогодишњег преживљавања у другим земљама, које нису САД и Западна Европа можемо уочити сигнификантан пад у преживљавању. У двије студије из Бразила показано је петогодишње преживљавање код ове групе пацијената 27,8% (273) и чак 1,1% (274). На основу података из реалне клиничке праксе у кинеској популацији, петогодишња стопа преживљавања је 59%, стим да су у тој популацији било мањи број п16+ тумора, већи стадијум болести и мање кориштена адјувантна терапија у односу на податке СЕЕР за азијску популацију гдје стопа ОС-а била 64% (275). На основу резултата студије из Хрватске петогодишње преживљавање је било релативно ниско (30,9%), међутим, на то је утицао недостатак података о морталитету специфичним за болест, што омогућава прорачун заснован само на морталитету од свих узрока за већину пацијената (276). У нашој студији смо радили ДСС, тј. преживљавање специфично за болест, са медијаном од 68 мјесеци и укупном стопом приживљавања од 58,3%. Ово нам говори о значају одређивања ДСС код онколошких пацијената, тј. одређивања узрока смрти код ових пацијената. Код наших пацијената обољелих од ОПЦ главни узроци смрти су прогресија болести (43,1%), коморбидитети (22,2%), затим компликације лијечења (9,7%) и нови примарни тумор

(2,8%), а 16 (22,2%) пацијената је било живо на крају периода праћења. У Хрватској студији укупни резултати показују да је 29,3% случајева ОПЦ имало активну транскрипцију мРНК ХПВ Е6 и да су стога вјероватно били изазвани ХПВ-ом, али без разлике у преживљавању између група (276), а што је слично и нашим резултатима, нарочито када се узме у обзир и велики број пушача и алкохоличара 86% и 87% (276).

Након медијане праћења од 76 месеци, стопе преживљавања за ОС, ДСС, ДФС за ЛЦ у нашој студији биле су 51,2%, 72%, 51,2% респективно. Студије које приказују податке из реалне клиничке праксе са петогодишњим праћењем и већим бројем пацијената показале су бројке од 83%, 96%, 64% и 82–87%, респективно (277-281). Каплан–Меиерова крива је показала статистички значајне резултате за модалитет лечења у ОС, ДСС и ДФС. Због диспаритета броја узорака, регресиони модели нису примењени на категорију врста терапије. У узнапредовалим случајевима (стадијум III-IV), стопе преживљавања су биле ниже, како се очекивало, и сличне резултатима из других студија (130, 277, 281). Високе стопе ДСС указују на то да што дуже пратимо пацијенте, већа је шанса за догађај и смрт од болести које нису повезане са примарним процесом, што се огледа у ниској стопи ОС у нашој групи пацијената. Стога, коморбидитети могу играти важну улогу у предвиђању ОС код ове групе пацијената. Поред тога, други литерарни подаци нам показују да коморбидитети могу утицати на дијагнозу, лијечење и прогнозу, а познато је да су јаки независни предиктори морталитета код пацијената са туморима главе и врата (282). Преваленција удаљених метастаза ЛЦ у нашој студији била је посебно висока и износила је 25%, са преваленцијом метастаза у плућима (17,9%) и углавном присутним локалним или регионалним рецидивом. Могуће објашњење је да многи пацијенти нису имали почетни КТ грудног коша. Преваленција нових примарних тумора у ЛЦ била је 4,8%. Као што је раније поменуто, велики део пацијената је умро од коморбидитета. Уз то, смрт услед секундарног малигнитета мора се узети у обзир када говоримо о ОС код пацијената са ЛЦ. Студија тумора главе и врата у Каролини (The Carolina Head and Neck Cancer Study - CHANCE) спровела је студију контроле случајева засновану на популацији како би анализирали примарни тумор главе и врата дијагностикован код пацијената који су живели у централној Сјеверној Каролини. Студија је открила укупну петогодишњу стопу преживљавања од 59% за ЛЦ. Накнадна дугорочна анализа случајева који су преживјели дуже од пет година након третмана сугерише да почетни тумор и нодални статус могу бити мање важне детерминанте ОС-а (283). Претходне студије су показале да се смртност која се директно приписује

карциному стабилизује након пет година, али ипак остаје водећи узрок смрти (284). Занимљиво је да минимални утицај стадијума болести на ОС након пет година сугерише да фактори који се не могу директно приписати примарном тумору, као што су други примарни тумори и кардиоваскуларне болести, могу постати важније детерминанте морталитета (283). У нашој студији је ОС 48,1% након седам година праћења. С обзиром на добру стопу ДСС-а у нашој студији (71,4%), можемо се сложити са овим налазима да секундарни фактори значајно доприносе морталитету на дужи рок код ЛЦ. Недавна студија о ЛЦ спроведена у нашој суседној земљи, Хрватској, известила је о сличним резултатима као и наши резултати. Конкретно, студија је открила сличне стопе појаве локалног релапса и метастаза, али већи проценти нових примарних тумора. Међутим, студија није извршила анализу преживљавања или анализу прогностичких фактора (285).

Наша анализа показује да преживљавање након дијагнозе ОПЦ зависи од више фактора који делују у комбинацији. Поређење стопа преживљавања у студијама је изазов, јер се већина фокусира на специфичне популације пацијената, а не на општи узорак. У униваријантној анализи различитих фактора који би могли утицати на преживљавање код пацијената са ОПЦ показали су се статистички сигнификантни: врста хируршке процедуре, релапс болести, ВИ, ЛИ, ПНИ, узнапредовали Т стадијум болести, Н стадијум болести и пушење. Ово не важи за све врсте преживљавања. ВИ и пушење се није показала сигнификантно за ДСС у инваријантној анализи. У мултиваријантном моделу раније показаних статистички сигнификантних фактора, оперативни захват, ВИ и релапс болести показани су као независни прогностички фактори ОС-а и ДФС-а. Релапс болести и Н стадијум болести су се показали статистички сигнификантни за ДСС у овом моделу. Ниједан од фактора раста (ЕГФР, ФЛОТ2 и p16) није имао утицаја на преживљавање у примјењеним регресионим моделима.

У униваријантној анализи различитих фактора код пацијената са ЛЦ показали су се статистички сигнификантни: анатомска регија тумора, релапс болести, ВИ, ЛИ, ПНИ, узнапредовали Т стадијум болести, Н стадијум болести, АЛЦЦ стадијум болести, пушење и модалитет лијечења. Развој локалног или регионалног рецидива код ЛЦ је најистакнутији фактор ризика за морталитет у нашој студији, као независни прогностички фактор за ОС, ДФС и ДСС. ЛИ, ЕГФР и пушење су се такође показали као независни прогностички фактор за ОС. Као и у неколико других студија (286,287), анатомска подлокација тумора значајно повећава ризик од морталитета у

мултиваријантној анализи за ДФС и ДСС. Пацијенти са супраглотичним туморима имају већи ризик у поређењу са онима са туморима глотиса, вјероватно због одложене дијагнозе. Узнапредовали стадијум болести били су значајни у униваријантној анализи, али не као независни прогностички фактори. У научном раду из Пакистана испитана је већа група пацијената. Резултати мултиваријантне анализе су показали да захваћеност чворова има независан утицај на преживљавање пацијената. Међутим, студија се суочила са неколико изазова, укључујући недостатак хируршке експертизе у ендоскопским операцијама ларинкса за рану фазу болести. Као резултат тога, многи пацијенти су у почетку били подвргнути нехируршким третманима, а салваж ТЛ је понуђена у случајевима неуспјеха лијечења. Нажалост, утврђено је да је стопа одбијања пацијента за ову операцију висока и износи 34%. То је довело до тога да су многе операбилне болести напредовале у инооперабилне. Код оних пацијената који су подвргнути ТЛ, болест је релапсирала у око 43,3% случајева (288). Пушење и конзумација алкохола су познати фактори ризика и за развој болести и за преживљавање након дијагнозе ЛЦ (289, 290). Међутим, укључивање ових фактора животног стила није значајно промјенило горе описане резултате. Терапијски модалитет, заједно са пушењем, се показао као независни прогностички фактор за ДФС.

Што се тиче експресије фактора раста у обје групе пацијената показано је да само ЕГФР утиче на различите врсте преживљавања. Изненађујући резултати су што у обје групе пацијената и код карцинома орофаринкса и ларинкса није примјећен високи проценат експресије ЕГФР-а (скор 2+ и 3+) као у неким претходно наведеним студијама (236). У нашој групи пацијената код ОПЦ експресија ЕГФР износи 30,5%, а у ЛЦ је нешто већа, 39%. Експресија ЕГФР није показала статистичку сигнификантност за преживљавање код ОПЦ, а исто тако није се показао као независни прогностички фактор у мултиваријантном моделу. Код ЛЦ експресија ЕГФР се показала као статистички сигнификантна за ОС, а такође и као независни прогностички фактор у мултиваријантном моделу. Показана је негативна корелација са високо експримираним ЕГФР у смислу сниженог ОС-а у односу на пацијенте који нису имали високу експресију ЕГФР, а што се поклапа са резултатима других студија (240-248). Ниједан пацијент није примао цетуксимаб конкомитантно са РТ, што је показано да може донијети одређени бенефит, али некада уз изражену токсичност (291). У случају регионалног релапса или удаљених метастаза цетуксимаб се може давати у комбинацији са ХТ. У нашој групи мали број пацијената је примао ову терапију након релапса болести, али није детаљно анализиран

ефекат ових врста терапија јер није циљ овог истраживања. Имајући у виду резултате EXTREME клиничке студије можемо очекивати сигнификантне резултате и у овом стадијуму болести (292).

У обје групе пацијената показана је висока експресија ФЛОТ2, код ОПЦ 95,8% и код ЛЦ 88,3%. Није показано статистичка сигнификантност у преживљавању. Такође, није показана статистичка сигнификантност ни у једном регресионом моделу. Вен и колеге су идентификовали позитивну експресију ФЛОТ2 као независног прогностичког маркера за ОПЦ пацијенте. Поред тога, повећана експресија ФЛОТ2 протеина у ОПЦ у поређењу са нормалном оралном слузокожом пружа додатне доказе о његовој улози у настанку и напредовању ОПЦ (235). За ЛЦ практично немамо литературних података о утицају експресије ФЛОТ2 на преживљавање и прогнозу. Ми нисмо могли доказати статистичку сигнификантност на ОС, ДФС и ОС, али смо јасно показали да је висока експресија присутна у великом проценту код овог карцинома. Даља истраживања у вези са интеракцијом ФЛОТ2 са другим потенцијалним генима или факторима ризика могу расвјетлити важну улогу овог гена у настанку ЛЦ и других тумора главе и врата, али и на потенцијални прогностички и предиктивни значај. Такође, имајући у виду високу позитивност експресије овог гена, он би могао бити потенцијална мета са неке нове терапијске агенсе. Већи број истраживања и на већим кохортама су потребна да бисмо добили значајнија сазнања о овоме.

Ово истраживање је јединствено у БиХ, као и у земљама у окружењу и шире, по томе што представља резултате детаљне мултиваријантне анализе и стопа преживљавања након дијагнозе ОПЦ и ЛЦ комбиновано са одређивањем ИХХ одређених фактора раста тумора. Поред овога, будућа истраживања би могла ићи у смјеру истраживања утицаја лијечења на квалитет живота кроз мултиваријантну анализу. Поред тога, можемо истражити ефекте фактора ризика који се могу промјенити, као што су пушење и смањење конзумације алкохола или престанка истих након дијагнозе, на стопе преживљавања. Поред тога, ова студија има тачност података од дијагнозе до последњег праћења због једноцентричне природе студије и дугог периода праћења. Међутим, потребно је размотрити неке потенцијалне недостатке, једним дијелом студија је била ретроспективне природе и базе података, која онемогућава контролу свих варијабли и искључивање пристрасности и збуњујућих фактора. Поред тога, потенцијално нејављање пацијената који се лијече ван установе током праћења може бити проблем. Међутим, с обзиром на стандардизован клинички режим и сарадњу са рефералним

оториноларинголошким одељењима, немамо индикације за такву пристрасност. Штавише, напредак у дијагностичком и сликовном надзору након третмана могао би да утиче на класификацију тумора и на способност да се тачно дефинишу случајеви са релапсом. Упркос овим ограничењима, сматрамо да је мултиваријантна Коксова регресиона анализа најбољи метод за представљање прилагођеног ХР вишеструких фактора ризика у свакодневной клиничкој пракси.

С обзиром на то да је велики број пацијената дијагностикован са локално узнапредовалим стадијумом болести, нарочито код ОПЦ, императив је фокусирати се на механизме превенције ових карцинома. Примарне мјере треба да буду усмјерене на смањење пушења, конзумирања алкохола и побољшање оралног здравља. Поред тога, неопходни су редовни контролни прегледи како би се обезбједило благовремено откривање релапса болести (хируршка процјена, УЗ врата или КТ врата и грудног коша). Пацијенти су заказивани за контроле сваких 8-12 недеља током прве године праћења, а затим су опсервирани 2-3 пута током друге и треће године.

ТНМ стејдинг је понекад био неадекватан; неки пацијенти нису имали стартни КТ грудног коша, а ова студија је студија показала висок проценат релапса у плућа код ЛЦ. Да бисмо рјешили овај проблем, предлажемо да ЦТ грудног коша постане стандард током првог прегледа пацијента, од стране хирурга или током МДТ процјене. Наш центар нуди широк спектар могућности лечења ових карцинома, укључујући ЛПС и ТЛ хируршке третмане, као и интензитетом модулирану РТ и пратећу цитостатску терапију. Међутим, недостаје нам приступ новијим методама лечења метастатске болести или локално узнапредовале иноперабилне болести, као што је имунотерапија. Штавише, постоје ограничења у примјени циљане терапије са цетуксимабом иако то сада више није иновативна терапија.

Експресија фактора раста ФЛОТ2, ЕГФР и p16 у комбинацији са другим клиничкопатолошким факторима дали су нам сазнања о нашем класичном пацијенту са тумором орофаринкса и ларинкса. То су углавном пацијенти у седмој деценији са анамнезом вишедеценијског пушења и конзумације алкохола. То је такође јасно демонстрирано са ниским процентом експресије p16ИНК4а. Такође, мање од 50% пацијената је имало високу експресију ЕГФР, што дугорочно може имати утицаја на дуже преживљавање али у метастатској болести може имати лошији импакт на преживљавање због потенцијално лошијег одговора на цетуксимаб. У ери

имуноterapiје у онкологији, показано је да тумори главе и врата имају солидан одговор на имунотерапијске агенсе (293). На основу уочене ефикасности и безбедности, пембролизумаб плус циплатин и 5-флуороурацил је одговарајући третман прве линије за рекурентни или метастатски сквамозни карцином главе и врата, а монотерапија пембролизумабом је одговарајући третман прве линије за програмирани лиганд ћелијске смрти (ПД-Л1) - позитивну рекурентну или метастатску болест (293). Будуће напоре треба усмјерити на персонализованом приступу и проналажењу подгрупа пацијената који ће имати одговоре на одређене терапије. Било да су то експресије одређених фактора раста или одређене клиничкопатолошке карактеристике пацијента са тим карциномима.

Сквамозни карциноми орофаринкса и ларинкса су озбиљна онколошка обољења која значајно нарушавају опште стање пацијента. То се одражава у смислу појаве болног синдрома, одређеним степенима естетског и функционалног оштећења, психосоцијалним стресом и у коначници смањењем преживљавања и смрћу. Ово истраживање је једна свеобухватна анализа клиничкопатолошких карактеристика ових пацијената, а што је додатно испреплетено са сазнањима о биомаркерској експресији p16INK4a, ФЛОТ2 и ЕГФР. Урађена је корелација свих ових фактора и њихов учинак на преживљавање. На основу тих резултата стичемо једну свеобухватну слику о овим карциномима и на основу тога креирамо планове за адекватно лијечење ових пацијената. Практично нам то доноси многе бенефите, гдје можемо идентификовати пацијенте који имају лоше или добре прогностичке параметре, те сходно томе спровести интензивнији третман или пак деескалирати терапијске опције за оне пацијенте са добрим прогностичким параметрима.

7 ЗАКЉУЧЦИ

На основу спроведеног истраживања у овој популацији пацијената, могу се донијети следећи закључци:

1. Средња доб обољевања од карцинома орофаринкса је 61 година, а код карцинома ларинкса 66 година, са преминацијом мушког пола у обје групе.
2. Пушење је један од главних фактора ризика за настанак ових карцинома, пушача код карцинома орофаринкса је било 82%, а са карциномом ларинкса 87%. Прекомјерног конзумирања алкохола је било код 57,2% пацијената у групи са карциномом орофаринкса и 63,6 % у групи карцином ларинкса.
3. Група са раним релапсом у обје групе је показала статистички сигнификантно лошије преживљавање по свим категоријама.
4. Након медијане праћења од 78 мјесеци за карцином орофаринкса стопа ОС-а је 22,2%, а након медијане праћења од 75 мјесеци за карцином ларинкса стопа ОС-а је 48,1%.
5. Експресија фактора раста у туморским ћелијама карцинома орофаринкса је била: ФЛОТ2 95,8%, ЕГФР 30,5%, п16 18,1%.
6. Експресија фактора раста у туморским ћелијама карцинома ларинкса је била: ФЛОТ2 88,3%, ЕГФР 39,0%, п16 10,4%.
7. На ОС код карцинома орофаринкса су утицали: врста хируршке процедуре, релапс болести, васкуларна инвазија, лимфна инвазија, перинеурална инвазија, унапредовали Т стадијум болести, Н стадијум болести, пушење.
8. На ОС код карцинома ларинкса су утицали: анатомска регија, релапс болести, васкуларна инвазија, лимфна инвазија, перинеурална инвазија, унапредовали стадијум болести, ЕГФР, пушење, модалитет лијечења.
9. На ДФС код карцинома орофаринкса су утицали: врста хируршке процедуре, релапс болести, васкуларна инвазија, лимфна инвазија, перинеурална инвазија, унапредовали Т стадијум болести, пушење.
10. На ДФС код карцинома ларинкса су утицали: анатомска регија, васкуларна инвазија, перинеурална инвазија, релапс болести, унапредовали стадијум болести, пушење, модалитет лијечења.

11. На ДСС код карцинома орофаринкса су утицали: врста хируршке процедуре, васкуларна инвазија, перинеурална инвазија, релапс болести и Н стадијум болести.
12. На ДСС код карцинома ларинкса су утицали: анатомска регија, васкуларна инвазија, релапс болести, узрапредовали стадијум болести, пушење, модалитет лијечења.
13. Као независни прогностички фактори за ОС код карцинома орофаринкса су се показали: врста хируршке процедуре, васкуларна инвазија и релапс болести, а независни прогностички фактори за ОС код карцинома ларинкса су се показали: релапс болести, лимфна инвазија, ЕГФР и пушење.
14. Као независни прогностички фактори за ДФС код карцинома орофаринкса су се показали: врста хируршке процедуре, васкуларна инвазија и релапс болести, а независни прогностички фактори за ДФС код карцинома ларинкса су се показали: релапс болести, анатомска регија, модалитет лијечења и пушење.
15. Као независни прогностички фактори за ДСС код карцинома орофаринкса су се показали: релапс болести и Н стадијум болести, а независни прогностички фактори за ДСС код карцинома ларинкса су се показали: релапс болести и анатомска регија.

8 ЛИТЕРАТУРА

1. Chow LQM. Head and neck cancer. *New England Journal of Medicine* 2020; 382(1):60–72. doi:10.1056/NEJMra1715715
2. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010 Dec 15;127(12):2893-917. doi: 10.1002/ijc.25516. PMID: 21351269.
3. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*. 2015 Mar;65(2):87-108. doi: 10.3322/caac.21262. Epub 2015 Feb 4. PMID: 25651787.
4. Levi F, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C. Trends in mortality from major cancers in the European Union, including acceding countries, in 2004. *Cancer*. 2004 Dec 15;101(12):2843-50. doi: 10.1002/cncr.20666. PMID: 15526321.
5. Gillison ML, Chaturvedi AK, Anderson WF, Fakhry C. Epidemiology of Human Papillomavirus-Positive Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *J Clin Oncol*. 2015 Oct 10;33(29):3235-42. doi: 10.1200/JCO.2015.61.6995. Epub 2015 Sep 8. PMID: 26351338; PMCID: PMC4979086.
6. Näsman A, Attner P, Hammarstedt L, Du J, Eriksson M, Giraud G, et al. Incidence of human papillomavirus (HPV) positive tonsillar carcinoma in Stockholm, Sweden: an epidemic of viral-induced carcinoma? *Int J Cancer*. 2009 Jul 15;125(2):362-6. doi: 10.1002/ijc.24339. PMID: 19330833.
7. Chaturvedi AK, Anderson WF, Lortet-Tieulent J, Curado MP, Ferlay J, Franceschi S, et al. (2013) Worldwide trends in incidence rates for oral cavity and oropharyngeal cancers. *J Clin Oncol*, 31: 4550-4559.
8. Jay FP, Costas I, Reichman ME. Chapter 2: Cancers of the Head and Neck. In: Ries LAG, Young JL, Keel GE, Eisner MP, Lin YD, Horner M-J (editors). *SEER Survival Monograph: Cancer Survival Among Adults: U.S. SEER Program, 1988-2001, Patient and Tumor Characteristics*. National Cancer Institute, SEER Program, NIH Pub. Bethesda, MD, USA, 2007: 07-6215.
9. Sturgis EM, Cinciripini PM. Trends in head and neck cancer incidence in relation to smoking prevalence: an emerging epidemic of human papillomavirus-associated cancers? *Cancer*. 2007; 110(7):1429-1435.
10. Gillison ML, Broutian T, Pickard RK, et al. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. *JAMA*. 2012; 307(7):693-703.

11. Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM, Hernandez BY, Xiao W, Kim E, et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. *J Clin Oncol*. 2011;29(32):4294-4301.
12. Gillison ML, Castellsagué X, Chaturvedi A, Goodman MT, Snijders P, Tommasino M, et al. Eurogin Roadmap: comparative epidemiology of HPV infection and associated cancers of the head and neck and cervix. *Int J Cancer*. 2014 Feb 1;134(3):497-507. doi: 10.1002/ijc.28201. Epub 2013 Aug 5. PMID: 23568556.
13. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, Pawlita M, Fakhry C, Koch WM, et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med*. 2007 May 10;356(19):1944-56. doi: 10.1056/NEJMoa065497. PMID: 17494927.
14. Fakhry C, Westra WH, Li S, Cmelak A, Ridge JA, Pinto H, et al. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J Natl Cancer Inst*. 2008 Feb 20;100(4):261-9. doi: 10.1093/jnci/djn011. Epub 2008 Feb 12. PMID: 18270337.
15. Chaturvedi AK, Engels EA, Anderson WF, Gillison ML. Incidence trends for human papillomavirus-related and –unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. *J Clin Oncol* 2008; 26 (4): 612-619.
16. Castellsague X, Alemany L, Quer M et al. HPV involvement in head and neck cancers: comprehensive assessment of biomarkers in 3680 patients. *J Natl Cancer Inst* 2016; 108: djv403.
17. Gillison ML. Current topics in the epidemiology of oral cavity and oropharyngeal cancers. *Head Neck* 2007; 29: 779-792.
18. Chaturvedi AK, Graubard BI, Broutian T, Pickard RK, Tong ZY, Xiao et al. NHANES 2009-2012 findings: association of sexual behaviors with higher prevalence of oral oncogenic human papillomavirus infections in U.S. men. *Cancer Res* 2015; 75(12): 2468-2477.
19. Gillison ML, Koch WM, Capone RB, Spafford M, Westra WH, Wu L, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst*. 2000;92: 709–20.
20. Lindel K, Beer KT, Laissue J, Greiner RH, Aebersold DM. Human papillomavirus positive squamous cell carcinoma of the oropharynx: a radiosensitive subgroup of head and neck carcinoma. *Cancer*. 2001 Aug 15;92(4):805-13.
21. Rietbergen MM, Leemans CR, Bloemena E, Heideman DA, Braakhuis BJ, Hesselink AT et al. Increasing prevalence rates of HPV attributable oropharyngeal squamous cell

- carcinomas in the Netherlands as assessed by a validated test algorithm. *Int J cancer* 2013; 24(7): 1565-1671.
22. Rietbergen MM, Brakenhoff RH, Bloemena E, Witte BI, Snijders PJ, Heideman DA et al. Human papillomavirus detection and comorbidity: critical issues in selection of patients with oropharyngeal cancer for treatment De-escalation trials. *Ann Oncol.*2013; 24(11): 2740-2745.
 23. Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tan PF, et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med.* 2010;363: 24–35.
 24. GBD 2017 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet.*
 25. Nocini R, Molteni G, Mattiuzzi C, Lippi G. Updates on larynx cancer epidemiology. *Chin J Cancer Res.* 2020;32(1):18-25. Doi: 10.21147/j.issn.1000-9604.2020.01.03
 26. El-Naggar AK, Chan JKC, Takata T, Grandis JR, Slootweg PJ. The fourth edition of the head and neck World Health Organization blue book: editors' perspectives. *Hum Pathol.* 2017 Aug; 66:10-12.
 27. Betiol J, Villa LL, Sichero L. Impact of HPV infection on the development of head and neck cancer. *Braz J Med Biol Res.* 2013 Mar;46(3):217-26. doi: 10.1590/1414-431x20132703. Epub 2013 Mar 15. PMID: 23532264; PMCID: PMC3854371.
 28. Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, Austin DF, Greenberg RS, Preston-Martin S, et al. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res.* 1988 Jun 1;48(11):3282-7. PMID: 3365707.
 29. Bagnardi V, Rota M, Botteri E, Tramacere I, Islami F, Fedirko V, et al. Light alcohol drinking and cancer: a meta-analysis. *Ann Oncol.* 2013 Feb;24(2):301-308.
 30. Guha N, Warnakulasuriya S, Vlaanderen J, Straif K. Betel quid chewing and the risk of oral and oropharyngeal cancers: a meta-analysis with implications for cancer control. *Int J Cancer.* 2014 Sep 15;135(6):1433-43.
 31. Society, A.C. Can Oral Cavity and Oropharyngeal Cancers Be Prevented? 2018a. <https://www.cancer.org/cancer/oral-cavity-and-oropharyngealcancer/causes-risks-prevention/prevention.html>
 32. Chi AC, Day TA, Neville BW. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma--an update. *CA Cancer J Clin.* 2015 Sep-Oct;65(5):401-21.

33. Orell-Kotikangas H, Schwab U, Österlund P, Saarilahti K, Mäkitie O, Mäkitie AA. High prevalence of vitamin D insufficiency in patients with head and neck cancer at diagnosis. *Head Neck*. 2012 Oct;34(10):1450-5.
34. Richie JP Jr, Kleinman W, Marina P, Abraham P, Wynder EL, Muscat JE. Blood iron, glutathione, and micronutrient levels and the risk of oral cancer. *Nutr Cancer*. 2008;60(4):474-82.
35. Collett D, Mumford L, Banner NR, Neuberger J, Watson C. Comparison of the incidence of malignancy in recipients of different types of organ: a UK Registry audit. *Am J Transplant*. 2010 Aug;10(8):1889-96.
36. Grulich AE, van Leeuwen MT, Falster MO, Vajdic CM. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis. *Lancet*. 2007 Jul 7;370(9581):59-67.
37. Berkower AS, Biller HF. Head and neck cancer associated with Bloom's syndrome. *Laryngoscope*. 1988 Jul;98(7):746-8.
38. Hussain SK, Sundquist J, Hemminki K. Familial clustering of cancer at human papillomavirus-associated sites according to the Swedish Family-Cancer Database. *Int J Cancer*. 2008 Apr 15;122(8):1873-8.
39. Monroe MM, Hashibe M, Orb Q, Alt J, Buchmann L, Hunt J, Cannon-Albright LA. Familial clustering of oropharyngeal squamous cell carcinoma in the Utah population. *Head Neck*. 2018 Feb;40(2):384-393.
40. Rothman KJ, Cann CI, Flanders D, Fried MP. Epidemiology of laryngeal cancer. *Epidemiol Rev*. 1980;2:195–209.
41. Kuper H, Boffetta P, Adami HO. Tobacco use and cancer causation: association by tumour type. *J Intern Med*. 2002;252:206–224.
42. Boffetta P, Hashibe M. Alcohol and cancer. *Lancet Oncol*. 2006;7:149–156.
43. Bosetti C, Gallus S, Franceschi S, Levi F, Bertuzzi M, Negri E, et al. Cancer of the larynx in non-smoking alcohol drinkers and in non-drinking tobacco smokers. *Br J Cancer*. 2002 Aug 27;87(5):516-8.
44. Stell PM, McGill T. Asbestos and laryngeal carcinoma. *Lancet*. 1973;2:416-417.
45. Paget-Bailly S, Cyr D, Luce D. Occupational exposures and cancer of the larynx-systematic review and meta-analysis. *J Occup Environ Med*. 2012;54:71–84.
46. Di Maso M, Talamini R, Bosetti C, et al. Red meat and cancer risk in a network of case-control studies focusing on cooking practices. *Ann Oncol*. 2013;24:3107–3112.

47. Garavello W, Lucenteforte E, Bosetti C, Talamini R, Levi F, Tavani A, et al. Diet diversity and the risk of laryngeal cancer: a case-control study from Italy and Switzerland. *Oral Oncol.* 2009 Jan;45(1):85-9.
48. Zhang D, Zhou J, Chen B, Zhou L, Tao L. Gastroesophageal reflux and carcinoma of larynx or pharynx: a meta-analysis. *Acta Otolaryngol.* 2014;134:982–989.
49. Galli J, Cammarota G, Volante M, De Corso E, Almadori G, Paludetti G. Laryngeal carcinoma and laryngo-pharyngeal reflux disease. *Acta Otorhinolaryngol Ital.* 2006;26:260–263.
50. Gama RR, Carvalho AL, Longatto Filho A, Scorsato AP, López RV, Rautava J, et al. Detection of human papillomavirus in laryngeal squamous cell carcinoma: Systematic review and meta-analysis. *Laryngoscope.* 2016 Apr;126(4):885-93.
51. Ndiaye C, Mena M, Alemany L, Arbyn M, Castellsagué X, Laporte L, et al. HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Oncol.* 2014 Nov;15(12):1319-31.
52. Chernock RD, Wang X, Gao G, Lewis JS Jr, Zhang Q, Thorstad WL, et al. Detection and significance of human papillomavirus, CDKN2A(p16) and CDKN1A(p21) expression in squamous cell carcinoma of the larynx. *Mod Pathol.* 2013 Feb;26(2):223-31.
53. Young RJ, Urban D, Angel C, Corry J, Lyons B, Vallance N, et al. Frequency and prognostic significance of p16(INK4A) protein overexpression and transcriptionally active human papillomavirus infection in laryngeal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer.* 2015 Mar 17;112(6):1098-104.
54. Chung CH, Zhang Q, Kong CS, Harris J, Fertig EJ, Harari PM, et al. p16 protein expression and human papillomavirus status as prognostic biomarkers of nonoropharyngeal head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2014 Dec 10;32(35):3930-8.
55. Muto M, Nakane M, Katada C, Sano Y, Ohtsu A, Esumi H, et al. Squamous cell carcinoma in situ at oropharyngeal and hypopharyngeal mucosal sites. *Cancer.* 2004 Sep 15;101(6):1375-81.
56. Nieminen M, Aro K, Jouhi L, Bäck L, Mäkitie A, Atula T. Causes for delay before specialist consultation in head and neck cancer. *Acta Oncol.* 2018 Dec;57(12):1677-1686.

57. Chen PH, Shieh TY, Ho PS, Tsai CC, Yang YH, Lin YC, et al. Prognostic factors associated with the survival of oral and pharyngeal carcinoma in Taiwan. *BMC Cancer*. 2007 Jun 15;7:101.
58. Joshi P, Dutta S, Chaturvedi P, Nair S. Head and neck cancers in developing countries. *Rambam Maimonides Med J*. 2014 Apr 28;5(2):e0009
59. Carpén T, Sjöblom A, Lundberg M, Haglund C, Markkola A, Syrjänen S, Tarkkanen J, Mäkitie A, Hagström J, Mattila P. Presenting symptoms and clinical findings in HPV-positive and HPV-negative oropharyngeal cancer patients. *Acta Otolaryngol*. 2018 May;138(5):513-518.
60. McIlwain WR, Sood AJ, Nguyen SA, Day TA. Initial symptoms in patients with HPV-positive and HPV-negative oropharyngeal cancer. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*. 2014 May;140(5):441-7.
61. Bannister M, Ah-See KW. Is oropharyngeal cancer being misdiagnosed as acute tonsillitis? *Br J Gen Pract*. 2014 Nov;64(628):e742-4.
62. Oral and Oropharyngeal Cancer: Diagnosis. Citirano Oktobar 2022. Dostupno na: <https://www.cancer.net/cancer-types/oral-and-oropharyngeal-cancer/diagnosis>.
63. Hu S, Yu T, Xie Y, Yang Y, Li Y, Zhou X, et al. Discovery of oral fluid biomarkers for human oral cancer by mass spectrometry. *Cancer Genomics Proteomics*. 2007 Mar-Apr;4(2):55-64.
64. Dickinson A, Saraswat M, Mäkitie A, Silén R, Hagström J, Haglund C, et al. Label-free tissue proteomics can classify oral squamous cell carcinoma from healthy tissue in a stage-specific manner. *Oral Oncol*. 2018 Nov; 86:206-215.
65. Harris TM, Du P, Kawachi N, Belbin TJ, Wang Y, Schlecht NF, et al. Proteomic analysis of oral cavity squamous cell carcinoma specimens identifies patient outcome-associated proteins. *Arch Pathol Lab Med*. 2015 Apr;139(4):494-507.
66. Wei Y, Chen L, Zhou W, Chingin K, Ouyang Y, Zhu T, et al. Tissue spray ionization mass spectrometry for rapid recognition of human lung squamous cell carcinoma. *Sci Rep*. 2015 May 11; 5:10077.
67. Bagordakis, E., Sawazaki-Calone, I., Macedo, C.C., Carnielli, C.M., de Oliveira, C.E., Rodrigues, P.C., et al. Secretome profiling of oral squamous cell carcinoma-associated fibroblasts reveals organization and disassembly of extracellular matrix and collagen metabolic process signatures. *Tumour Biol*; 2016 Jul; 37(7):9045-57.

68. Korvala, J., Jee, K., Porkola, E., Almangush, A., Mosakhani, N., Bitu, C., et al. MicroRNA and protein profiles in invasive versus non-invasive oral tongue squamous cell carcinoma cells in vitro. *Exp Cell Res.* 2017; 350 (1), 9-18.
69. Tuhkuri Matvejeff, A. A., Saraswat, M., Mäkitie, A., Mattila, P., Silen, R., Dickinson, A., et al. Patients with early-stage oropharyngeal cancer can be identified with label-free serum proteomics. *British Journal of Cancer*, (2018); 119(2), 200-212.
70. Chu EA, Kim YJ. Laryngeal cancer: diagnosis and preoperative work-up. *Otolaryngol Clin North Am.* 2008 Aug;41(4):673-95, v.
71. Becker M, Zbären P, Casselman JW, Kohler R, Dulguerov P, Becker CD. Neoplastic invasion of laryngeal cartilage: reassessment of criteria for diagnosis at MR imaging. *Radiology.* 2008 Nov;249(2):551-9.
72. Fleming AJ Jr, Smith SP Jr, Paul CM, Hall NC, Daly BT, Agrawal A, et al. Impact of [18F]-2-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography/computed tomography on previously untreated head and neck cancer patients. *Laryngoscope.* 2007 Jul;117(7):1173-9.
73. Cantrell SC, Peck BW, Li G, Wei Q, Sturgis EM, Ginsberg LE. Differences in imaging characteristics of HPV-positive and HPV-Negative oropharyngeal cancers: a blinded matched-pair analysis. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2013 Oct;34(10):2005-9.
74. Trotta BM, Pease CS, Rasamny JJ, Raghavan P, Mukherjee S. Oral cavity and oropharyngeal squamous cell cancer: key imaging findings for staging and treatment planning. *Radiographics.* 2011 Mar-Apr;31(2):339-54.
75. Ng SH, Yen TC, Liao CT, Chang JT, Chan SC, Ko SF, et al. 18F-FDG PET and CT/MRI in oral cavity squamous cell carcinoma: a prospective study of 124 patients with histologic correlation. *J Nucl Med.* 2005 Jul;46(7):1136-43.
76. Ng SH, Yen TC, Chang JT, Chan SC, Ko SF, Wang HM, et al. Prospective study of [18F] fluorodeoxyglucose positron emission tomography and computed tomography and magnetic resonance imaging in oral cavity squamous cell carcinoma with palpably negative neck. *J Clin Oncol.* 2006 Sep 20;24(27):4371-6.
77. Iyer NG, Clark JR, Singham S, Zhu J. Role of pretreatment 18FDG-PET/CT in surgical decision-making for head and neck cancers. *Head Neck.* 2010 Sep;32(9):1202-8.
78. Richards PS, Peacock TE. The role of ultrasound in the detection of cervical lymph node metastases in clinically N0 squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Imaging.* 2007 Nov 19;7(1):167-78.

79. Chen SA, Muller S, Chen AY, Hudgins PA, Shin DM, Khuri F et al. Patterns of extralaryngeal spread of laryngeal cancer: thyroid cartilage penetration occurs in a minority of patients with extralaryngeal spread of laryngeal squamous cell cancers. *Cancer*. 2011; 117:5047–5051.
80. Mor N, Blitzer A. Functional anatomy and oncologic barriers of the larynx. *Otolaryngol Clin North Am*. 2015;48:533–545.
81. Kaczmar JM, Tan KS, Heitjan DF, Lin A, Ahn PH, Newman JG et al. HPV-related oropharyngeal cancer: Risk factors for treatment failure in patients managed with primary transoral robotic surgery. *Head Neck* 2016; 38: 59-65.
82. Dahlstrom KR, Garden AS, William WN Jr, Lim MY, Sturgis EM. Proposed Staging System for Patients With HPV-Related Oropharyngeal Cancer Based on Nasopharyngeal Cancer N Categories. *J Clin Oncol*. 2016 Jun 1;34(16):1848-54.
83. Gillison ML. Human papillomavirus and oropharyngeal cancer stage. *J Clin Oncol* 2016; 34:1833-1835.
84. O'Sullivan B, Huang SH, Siu LL, Waldron J, Zhao H, Perez-Ordóñez B et al. Deintensification candidate subgroups in human papillomavirus-related oropharyngeal cancer according to minimal risk of distant metastasis. *J Clin Oncol* 2013; 31:543-550.
85. Quon H, Forastiere AA. Controversies in treatment deintensification of human papillomavirus-associated oropharyngeal carcinomas: should we, how should we, and for whom? *J Clin Oncol* 2013; 31:520-522
86. Masterson L, Moualed D, Masood A, Dwivedi RC, Benson R, Sterling JC, et al. De-escalation treatment protocols for human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Feb 15;2014(2):CD010271.
87. Psyrri A, Rampias T, Vermorken JB. The current and future impact of human papillomavirus on treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ann Oncol* 2014;25:2101-2115.
88. Kofler B, Laban S, Busch CJ, Lörincz B, Knecht R. New treatment strategies for HPV-positive head and neck cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2014 Jul;271(7):1861-7.
89. Mehanna H. Update on de-intensification and intensification studies in HPV. *Recent Results Cancer Res* 2017;206:251-256.
90. Marur S, Li S, Cmelak AJ, Gillison ML, Zhao WJ, Ferris RL, et al. E1308: phase II trial of induction chemotherapy followed by reduced-dose radiation and weekly

- cetuximab in patients with HPV-associated resectable squamous cell carcinoma of the oropharynx- ECOG-ACRIN Cancer Research Group. *J Clin Oncol* 2017; 35:490-497.
91. Chen AM, Felix C, Wang PC, Hsu S, Basehart V, Garst J, et al. Reduced-dose radiotherapy for human papillomavirus-associated squamous-cell carcinoma of the oropharynx: a single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2017; 18:803-811.
 92. Chera BS, Amdur RJ, Tepper JE, Tan X, Weiss J, Grilley-Olson JE, et al. Mature results of a prospective study of deintensified chemoradiotherapy for low-risk human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2018; 124:2347-2354.
 93. hera BS, Amdur RJ, Green R, Shen C, Gupta G, Tan X, et al. Phase II trial of de-intensified chemoradiotherapy for human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2019; 37:2661-2669.
 94. Ma DJ, Price KA, Moore EJ, Patel SH, Hinni ML, Garcia JJ, et al. Phase II evaluation of aggressive dose de-escalation for adjuvant chemoradiotherapy in human papillomavirus-associated oropharynx squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2019; 37:1909-1918.
 95. Hegde JV, Shaverdian N, Daly ME, Felix C, Wong DL, Rosove MH, et al. Patient-reported quality-of-life outcomes after de-escalated chemoradiation for human papillomavirus-positive oropharyngeal carcinoma: findings from a phase 2 trial. *Cancer* 2018; 124:521-529.
 96. Vermorken JB, Remenar E, van Herpen C, Gorlia T, Mesia R, Degardin M, et al. Cisplatin, fluorouracil, and docetaxel in unresectable head and neck cancer. *N Engl J Med* 2007; 357:1695-1704.
 97. Amin MB, Greene FL, Edge SB, Compton CC, Gershenwald JE, Brookland RK, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin*. 2017 Mar;67(2):93-99.
 98. Adelstein DJ, Ridge JA, Brizel DM, Holsinger FC, Haughey BH, O'Sullivan B, et al. Transoral resection of pharyngeal cancer: summary of a National Cancer Institute Head and Neck Cancer Steering Committee Clinical Trials Planning Meeting, November 6-7, 2011, Arlington, Virginia. *Head Neck* 2012; 34:1681-1703.
 99. Li RJ, Richmon JD. Transoral endoscopic surgery: new surgical techniques for oropharyngeal cancer. *Otolaryngol Clin North Am* 2012; 45:823-844.

100. Hinni ML, Zarka MA, Hoxworth JM. Margin mapping in transoral surgery for head and neck cancer. *Laryngoscope* 2013; 123:1190-1198.
101. Cracchiolo JR, Baxi SS, Morris LG, Ganly I, Patel SG, Cohen MA, Roman BR. Increase in primary surgical treatment of T1 and T2 oropharyngeal squamous cell carcinoma and rates of adverse pathologic features: National Cancer Data Base. *Cancer*. 2016 May 15;122(10):1523-32.
102. Nichols AC, Theurer J, Prisman E, Read N, Berthelet E, Tran E, et al. Radiotherapy versus transoral robotic surgery and neck dissection for oropharyngeal squamous cell carcinoma (ORATOR): an open-label, phase 2, randomised trial. *Lancet Oncol*. 2019 Oct;20(10):1349-1359.
103. Nichols AC, Theurer J, Prisman E, Read N, Berthelet E, Tran E et al. Final results of the 94-01 French Head and Neck Oncology and Radiotherapy Group randomized trial comparing radiotherapy alone with concomitant radiochemotherapy in advanced-stage oropharynx carcinoma. *J Clin Oncol* 2004; 22:69-76.
104. Zumsteg ZS, Kim S, David JM, Yoshida EJ, Tighiouart M, Shiao SL et al. Impact of concomitant chemoradiation on survival for patients with T1-2N1 head and neck cancer. *Cancer* 2017; 123:1555-1565.
105. Yoshida EJ, Luu M, Mallen-St Clair J, Mita AC, Scher KS, Lu DJ, et al. Stage I HPV-positive oropharyngeal cancer: should all patients receive similar treatments? *Cancer* 2020; 126:58-66.
106. Sinha P, Lewis JS Jr, Piccirillo JF, Kallogjeri D, Haughey BH. Extracapsular spread and adjuvant therapy in human papillomavirus-related, p16-positive oropharyngeal carcinoma. *Cancer*. 2012 Jul 15;118(14):3519-30.
107. Sinha P, Kallogjeri D, Gay H, Thorstad WL, Lewis JS Jr, Chernock R, et al. High metastatic node number, not extracapsular spread or N-classification is a node-related prognosticator in transorally-resected, neck-dissected p16-positive oropharynx cancer. *Oral Oncol* 2015;51:514-520.
108. Iyer NG, Dogan S, Palmer F, Rahmati R, Nixon IJ, Lee N, et al. Detailed analysis of clinicopathologic factors demonstrate distinct difference in outcome and prognostic factors between surgically treated HPV-positive and negative oropharyngeal cancer. *Ann Surg Oncol* 2015;22:4411-4421.
109. Maxwell JH, Ferris RL, Gooding W, Cunningham D, Mehta V, Kim S, et al. Extracapsular spread in head and neck carcinoma: impact of site and human papillomavirus status. *Cancer* 2013; 119:3302-3308.

110. Geiger JL, Lazim AF, Walsh FJ, Foote RL, Moore EJ, Okuno SH, et al. Adjuvant chemoradiation therapy with high-dose versus weekly cisplatin for resected, locally-advanced HPV/p16-positive and negative head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2014;50:311-318.
111. An Y, Park HS, Kelly JR, Stahl JM, Yarbrough WG, Burtness BA, et al. The prognostic value of extranodal extension in human papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Cancer* 2017; 123:2762-2772.
112. Cooper JS, Pajak TF, Forastiere AA, Jacobs J, Campbell BH, Saxman SB, et al. Postoperative concurrent radiotherapy and chemotherapy for high-risk squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2004;350:1937-1944.
113. Bernier J, Dommenege C, Ozsahin M, Matuszewska K, Lefèbvre JL, Greiner RH, et al. Postoperative irradiation with or without concomitant chemotherapy for locally advanced head and neck cancer. *N Engl J Med* 2004;350:1945-1952.
114. Bernier J, Cooper JS, Pajak TF, van Glabbeke M, Bourhis J, Forastiere A, et al. Defining risk levels in locally advanced head and neck cancers: a comparative analysis of concurrent postoperative radiation plus chemotherapy trials of the EORTC (#22931) and RTOG (# 9501). *Head Neck* 2005; 27:843-850
115. Sinha P, Piccirillo JF, Kallogjeri D, Spitznagel EL, Haughey BH. The role of postoperative chemoradiation for oropharynx carcinoma: a critical appraisal of the published literature and National Comprehensive Cancer Network guidelines. *Cancer*. 2015 Jun 1;121(11):1747-54.
116. Cooper JS, Fortpied C, Gregoire V, Le QT, Pajak TF, Zhang QE, Bernier J. The role of postoperative chemoradiation for oropharynx carcinoma: A critical appraisal revisited. *Cancer*. 2017 Jan 1;123(1):12-16.
117. Sher DJ, Adelstein DJ, Bajaj GK, Brizel DM, Cohen EEW, Halhore A, et al. Radiation therapy for oropharyngeal squamous cell carcinoma: Executive summary of an ASTRO Evidence-Based Clinical Practice Guideline. *Pract Radiat Oncol* 2017;7:246-253.
118. Denis F, Garaud P, Bardet E, Alfonsi M, Sire C, Germain T, et al. Final results of the 94-01 French Head and Neck Oncology and Radiotherapy Group randomized trial comparing radiotherapy alone with concomitant radiochemotherapy in advanced-stage oropharynx carcinoma. *J Clin Oncol*. 2004 Jan 1;22(1):69-76.

119. Haughey BH, Hinni ML, Salassa JR, Hayden RE, Grant DG, Rich JT, et al. Transoral laser microsurgery as primary treatment for advanced-stage oropharyngeal cancer: a United States multicenter study. *Head Neck* 2011; 33:1683-1694.
120. Kelly JR, Park HS, An Y, Yarbrough WG, Contessa JN, Decker R et al. Upfront surgery versus definitive chemoradiotherapy in patients with human Papillomavirus-associated oropharyngeal squamous cell cancer. *Oral Oncol* 2018;79:64-70
121. Adelstein DJ, Moon J, Hanna E, Giri PG, Mills GM, Wolf GT, Urba SG. Docetaxel, cisplatin, and fluorouracil induction chemotherapy followed by accelerated fractionation/concomitant boost radiation and concurrent cisplatin in patients with advanced squamous cell head and neck cancer: A Southwest Oncology Group phase II trial (S0216). *Head Neck*. 2010 Feb;32(2):221-8.
122. Lefebvre JL, Pointreau Y, Rolland F, Alfonsi M, Baudoux A, Sire C, et al. Induction chemotherapy followed by either chemoradiotherapy or bioradiotherapy for larynx preservation: the TREMPLIN randomized phase II study. *J Clin Oncol* 2013; 31:853-859
123. Rödel RM, Steiner W, Müller RM, Kron M, Matthias C. Endoscopic laser surgery of early glottic cancer: involvement of the anterior commissure. *Head Neck*. 2009 May;31(5):583-92.
124. Zouhair A, Azria D, Coucke P, Matzinger O, Bron L, Moeckli R, et al. Decreased local control following radiation therapy alone in early-stage glottic carcinoma with anterior commissure extension. *Strahlenther Onkol* 2004;180:84-90.
125. Silver CE, Beitler JJ, Shaha AR, Rinaldo A, Ferlito A. Current trends in initial management of laryngeal cancer: the declining use of open surgery. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2009 Sep;266(9):1333-52.
126. Warner L, Lee K, Homer JJ. Transoral laser microsurgery versus radiotherapy for T2 glottic squamous cell carcinoma: a systematic review of local control outcomes. *Clin Otolaryngol* 2017;42:629-636.
127. Mo HL, Li J, Yang X, Zhang F, Xiong JW, Yang ZL, et al. Transoral laser microsurgery versus radiotherapy for T1 glottic carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Lasers Med Sci* 2017; 32:461-467.
128. Yoo J, Lacchetti C, Hammond JA, Gilbert RW. Role of endolaryngeal surgery (with or without laser) versus radiotherapy in the management of early (T1) glottic cancer: a systematic review. *Head Neck* 2014;36:1807-1819.

129. Forastiere AA, Zhang Q, Weber RS, Maor MH, Goepfert H, Pajak TF, et al. Long-term results of RTOG 91-11: a comparison of three nonsurgical treatment strategies to preserve the larynx in patients with locally advanced larynx cancer. *J Clin Oncol* 2013; 31:845-852.
130. Forastiere AA, Goepfert H, Maor M, Pajak TF, Weber R, Morrison W, et al. Concurrent chemotherapy and radiotherapy for organ preservation in advanced laryngeal cancer. *N Engl J Med* 2003; 349:2091-2098
131. Janoray G, Pointreau Y, Garaud P, Chapet S, Alfonsi M, Sire C, et al. Long-term results of a multicenter randomized phase III trial of induction chemotherapy with cisplatin, 5-fluorouracil, +/- docetaxel for larynx preservation. *J Natl Cancer Inst* 2016;108.
132. Pointreau Y, Garaud P, Chapet S, Sire C, Tuchais C, Tortochaux J et al. Randomized trial of induction chemotherapy with cisplatin and 5-fluorouracil with or without docetaxel for larynx preservation. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:498-506.
133. Semrau S, Schmidt D, Lell M, Waldfahrer F, Lettmaier S, Kuwert T, et al. Results of chemoselection with short induction chemotherapy followed by chemoradiation or surgery in the treatment of functionally inoperable carcinomas of the pharynx and larynx. *Oral Oncol* 2013;49:454-460
134. Stokes WA, Jones BL, Bhatia S, Oweida AJ, Bowles DW, Raben D, et al. A comparison of overall survival for patients with T4 larynx cancer treated with surgical versus organ-preservation approaches: A National Cancer Data Base analysis. *Cancer* 2017; 123:600-608
135. Whang SN, Filippova M, Duerksen-Hughes P. Recent Progress in Therapeutic Treatments and Screening Strategies for the Prevention and Treatment of HPV-Associated Head and Neck Cancer. *Viruses*. 2015 Sep 17;7(9):5040-65.
136. Chabeda A, Yanez RJR, Lamprecht R, Meyers AE, Rybicki EP, Hitzeroth II. Therapeutic vaccines for high-risk HPV-associated diseases. *Papillomavirus Res*. 2018 Jun;5:46-58.
137. Ehrsson YT, Langius-Eklöf A, Laurell G. Nutritional surveillance and weight loss in head and neck cancer patients. *Support Care Cancer* 2012;20:757-765.
138. Locher JL, Bonner JA, Carroll WR, Caudell JJ, Keith JN, Kilgore ML, et al. Prophylactic percutaneous endoscopic gastrostomy tube placement in treatment of head and neck cancer: a comprehensive review and call for evidence-based medicine. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2011;35:365-374.

139. Langius JA, van Dijk AM, Doornaert P, Kruizenga HM, Langendijk JA, Leemans CR, et al. More than 10% weight loss in head and neck cancer patients during radiotherapy is independently associated with deterioration in quality of life. *Nutr Cancer* 2013; 65:76-83.
140. Bar Ad V, Weinstein G, Dutta PR, Dosoretz A, Chalian A, Both S, et al. Gabapentin for the treatment of pain syndrome related to radiation-induced mucositis in patients with head and neck cancer treated with concurrent chemoradiotherapy. *Cancer* 2010;116:4206-4213.
141. Leenstra JL, Miller RC, Qin R, Martenson JA, Dornfeld KJ, Bearden JD, et al. Doxepin rinse versus placebo in the treatment of acute oral mucositis pain in patients receiving head and neck radiotherapy with or without chemotherapy: a phase III, randomized, double-blind trial (NCCTG-N09C6 [Alliance]). *J Clin Oncol* 2014;32:1571-1577.
142. Sio TT, Le-Rademacher JG, Leenstra JL, Loprinzi CL, Rine G, Curtis A, et al. Effect of doxepin mouthwash or diphenhydramine-lidocaine-antacid mouthwash vs placebo on radiotherapy-related oral mucositis pain: the Alliance A221304 randomized clinical trial. *JAMA* 2019;321:1481-1490
143. Paleri V, Urbano TG, Mehanna H, Repanos C, Lancaster J, Roques T, et al. Management of neck metastases in head and neck cancer: United Kingdom National Multidisciplinary Guidelines. *J Laryngol Otol* 2016;130(S2):S161-S169.
144. Ho AS, Tsao GJ, Chen FW, Shen T, Kaplan MJ, Colevas AD, et al. Impact of positron emission tomography/computed tomography surveillance at 12 and 24 months for detecting head and neck cancer recurrence. *Cancer* 2013; 19:1349-1356.
145. Hammerlid E, Ahlner-Elmqvist M, Bjordal K, Biörklund A, Evensen J, Boysen M, et al. A prospective multicentre study in Sweden and Norway of mental distress and psychiatric morbidity in head and neck cancer patients. *Br J Cancer*. 1999; 80:766–774.
146. Verdonck-de Leeuw IM, Hilgers FJ, Keus RB, Koopmans-van Beinum FJ, Greven AJ, de Jong JM, et al. Multidimensional assessment of voice characteristics after radiotherapy for early glottic cancer. *Laryngoscope*. 1999; 109:241–248.
147. Ehrsson YT, Langius-Eklof A, Laurell G. Nutritional surveillance and weight loss in head and neck cancer patients. *Support Care Cancer*. 2012;20:757–765.
148. Rettig EM, Zaidi M, Faraji F, Eisele DW, El Asmar M, Fung N, et al. Oropharyngeal cancer is no longer a disease of younger patients and the prognostic

- advantage of Human Papillomavirus is attenuated among older patients: Analysis of the National Cancer Database. *Oral Oncol.* 2018 Aug; 83:147-153.
149. Windon MJ, D'Souza G, Rettig EM, Westra, W.H., van Zante, A., Wang, S.J et al. Increasing prevalence of human papillomavirus-positive oropharyngeal cancers among older adults. *Cancer.* 2018 Jul;124(14):2993-2999.
 150. Motz K, Herbert RJ, Fakhry C, Quon H, Kang H, Kiess AP, et al. Short- and long-term outcomes of oropharyngeal cancer care in the elderly. *Laryngoscope.* 2018 Sep;128(9):2084-2093.
 151. Lacy PD, Piccirillo JF, Merritt MG, Zequeira MR. Head and neck squamous cell carcinoma: better to be young. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2000 Feb;122(2):253-8.
 152. Misono S, Marmor S, Yueh B, Virnig BA. Treatment and survival in 10,429 patients with localized laryngeal cancer: a population-based analysis. *Cancer.* 2014 Jun 15;120(12):1810-7.
 153. Brandstorp-Boesen J, Sorum Falk R, Folkvard Evensen J, Boysen M, Brondbo K. Risk of recurrence in laryngeal cancer. *PLoS One.* 2016;11: e0164068.
 154. Amini A, Jasem J, Jones BL, Robin TP, McDermott JD, Bhatia S, Raben D, Jimeno A, Bowles DW, Karam SD. Predictors of overall survival in human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer using the National Cancer Data Base. *Oral Oncol.* 2016 May;56:1-7.
 155. Saba NF, Goodman M, Ward K, Flowers C, Ramalingam S, Owonikoko T, et al. Gender and ethnic disparities in incidence and survival of squamous cell carcinoma of the oral tongue, base of tongue, and tonsils: a surveillance, epidemiology and end results program-based analysis. *Oncology.* 2011;81(1):12-20.
 156. Coleman MP, Gatta G, Verdecchia A, Estève J, Sant M, Storm H, et al; EUROCARE Working Group. EUROCARE-3 summary: cancer survival in Europe at the end of the 20th century. *Ann Oncol.* 2003;14 Suppl 5: v128-49.
 157. de Souza DL, Bernal MM, Jerez Roig J, Curado MP. Oropharyngeal Cancer Survival: A Population-Based Study of Patients Diagnosed between 1978 and 2002. *ISRN Oncol.* 2012;2012:207263.
 158. Burke, S.C., Smith, K.V., Sharmin, S., and Winkelman, C. Prevalence of risk factors related to Head and Neck Squamous Cell Carcinoma (HNSCC) among college students. *Cancer and Oncology Research,* 2014. 2, 7-16.

159. Chaturvedi, A.K., Graubard, B.I., Broutian, T., Pickard, R.K., Tong, Z.-Y., Xiao, W., et al. Effect of prophylactic human papillomavirus (HPV) vaccination on oral HPV infections among young adults in the United States. *J Clin Oncol.* 2018.; 36, 262.
160. Liu C, Talmor G, Low GM, Wang TV, Mann DS, Sinha UK, Kokot NC. How Does Smoking Change the Clinicopathological Characteristics of Human Papillomavirus-Positive Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma? One Medical Center Experience. *Clin Med Insights Ear Nose Throat.* 2018 Aug 19; 11:1179550618792248.
161. El-Naggar, A.K., Chan, J.K.C., Grandis, J.R., Takata, T., and Slotweg, P.J. WHO Classification of Head and Neck Tumours, 2017. Vol 9, 134-138 4th edn (Lyon).
162. Liskamp, C.P., Janssens, G.O., Bussink, J., Melchers, W.J., Kaanders, J.H., Verhoef, C.G. Adverse effect of smoking on prognosis in human papillomavirus-associated oropharyngeal carcinoma. *Head Neck.* 2016. 38, 1780-1787.
163. Weller, M.A., Ward, M.C., Berriochoa, C., Reddy, C.A., Trosman, S., Trosman S, Greskovich JF et al. Predictors of distant metastasis in human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer. *Head Neck.* 2017. 39, 940-946.
164. Stephenson WT, Barnes DE, Holmes FF, Norris CW. Gender influences subsite of origin of laryngeal carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1991; 117:774-778.
165. Leoncini E, Vukovic V, Cadoni G, Giraldi L, Pastorino R, Arzani D, et al. Tumour stage and gender predict recurrence and second primary malignancies in head and neck cancer: a multicentre study within the INHANCE consortium. *Eur J Epidemiol.* 2018 Dec;33(12):1205-1218.
166. Johansen LV, Grau C, Overgaard J. Laryngeal carcinoma—multivariate analysis of prognostic factors in 1252 consecutive patients treated with primary radiotherapy. *Acta Oncol.* 2003; 42:771-778.
167. Giraldi L, Leoncini E, Pastorino R, Wünsch-Filho V, de Carvalho M, Lopez R et al. Alcohol and cigarette consumption predict mortality in patients with head and neck cancer: a pooled analysis within the International Head and Neck Cancer Epidemiology (INHANCE) Consortium. *Annals of Oncology* 2017. 28: 2843–2851
168. Li ZQ, Zou L, Liu TR, Yang AK. Prognostic value of body mass index before treatment for laryngeal squamous cell carcinoma. *Cancer Biol Med.* 2015; 12:394-400.
169. Stell PM. Prognostic factors in laryngeal carcinoma. *Clin Otolaryngol.* 1988; 13:399-409.

170. van Bokhorst-de van der Schueren MA, van Leeuwen PA, Sauerwein HP, Kuik DJ, Snow GB, Quak JJ. Assessment of malnutrition parameters in head and neck cancer and their relation to postoperative complications. *Head Neck*. 1997; 19:419-425.
171. Rowan NR, Johnson JT, Fratangelo CE, Smith BK, Kemerer PA, Ferris RL. Utility of a perioperative nutritional intervention on postoperative outcomes in high-risk head & neck cancer patients. *Oral Oncol*. 2016;54:42-46.
172. Bøje CR, Dalton SO, Grønberg TK, Primdahl H, Kristensen CA, Andersen E, et al. The impact of comorbidity on outcome in 12623 Danish head and neck cancer patients: a population-based study from the DAHANCA database. *Acta Oncol*. 2013; 52:285-293.
173. Cuny F, Meunier A, Heutte N, Rame JP, De Raucourt D, Babin E et al. Laryngeal preservation in ENT oncology. Retrospective series of 246 patients managed in the Caen University Hospital and Francois Baclesse Cancer Care Center between 1998 and 2008. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*. 2015;132:129-134.
174. Smee RI, De-loyde KJ, Broadley K, Williams JR. Prognostic factors for supraglottic laryngeal carcinoma: importance of the unfit patient. *Head Neck*. 2013;35:949-958.
175. Grant DG, Hussain A, Hurman D. Pre-treatment anaemia alters outcome in early squamous cell carcinoma of the larynx treated by radical radiotherapy. *J Laryngol Otol*. 1999;113:829-833.
176. Liu CT, Chiu TJ, Huang TL, Chien CY, Fang FM. Impact of comorbidity on survival for locally advanced head and neck cancer patients treated by radiotherapy or radiotherapy plus chemotherapy. *Chang Gung Med J*. 2010;33(3):283-291.
177. Nao EE, Dassonville O, Chamorey E, Poissonnet G, Pierre CS, Riss JC, et al. Head and neck free-flap reconstruction in the elderly. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis*. 2011;128(2):47-51.
178. Bøje CR. Impact of comorbidity on treatment outcomes in head and neck squamous cell carcinoma – a systematic review. *Radiother Oncol*. 2014;100:81-90.
179. Huang Z, Han D, Bian Y. The cellular immunologic status of the laryngeal cancer patients in Chinese. *Zhonghua Er bi Yan Hou Ke Za Zhi*. 1996;31:107-109.
180. Rabinovics N, Mizrachi A, Hadar T, et al. Cancer of the head and neck region in solid organ transplant recipients. *Head Neck*. 2014;36(2):181-186.

181. Cooper, T., Biron, V., Adam, B., Klimowicz, A.C., Puttagunta, L., and Seikaly, H. Prognostic utility of basaloid differentiation in oropharyngeal cancer. *J Otolaryngol Head Neck Surg.* 2013. 42, 57.
182. Cooper, T., Biron, V.L., Adam, B., Klimowicz, A.C., Puttagunta, L., and Seikaly, H. Association of keratinization with 5-year disease-specific survival in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2015. 141, 250-256.
183. Carter, R., Pittam, M., and Tanner, N. Pain and dysphagia in patients with squamous carcinomas of the head and neck: the role of perineural spread. *J R Soc Med.* 1982. 75, 598-606.
184. Devaney KO, Hunter BC, Ferlito A, Rinaldo A. Pretreatment pathologic prognostic factors in head and neck squamous cell carcinoma. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1997 Nov;106(11):983-8.
185. Fagan, J.J., Collins, B., Barnes, L., D'Amico, F., Myers, E.N., and Johnson, J.T. Perineural invasion in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998. 124, 637-640.
186. Rahima, B., Shingaki, S., Nagata, M., and Saito, C. Prognostic significance of perineural invasion in oral and oropharyngeal carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004. 97, 423-431.
187. Albergotti WG, Schwarzbach HL, Abberbock S, Ferris RL, Johnson JT, Duvvuri U, Kim S. Defining the Prevalence and Prognostic Value of Perineural Invasion and Angiolymphatic Invasion in Human Papillomavirus-Positive Oropharyngeal Carcinoma. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg.* 2017 Dec 1;143(12):1236-1243.
188. Close, L.G., Brown, P.M., Vuitch, M.F., Reisch, J., and Schaefer, S.D. Microvascular invasion and survival in cancer of the oral cavity and oropharynx. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1989. 115, 1304-1309.
189. Yilmaz T, Hosal AS, Gedikoğlu G, Onerci M, Gürsel B. Prognostic significance of vascular and perineural invasion in cancer of the larynx. *Am J Otolaryngol.* 1998 Mar-Apr;19(2):83-8.
190. Park, J.O., Lee, Y.S., Joo, Y.H., Nam, I.C., Cho, K.J., Cho, J.H., and Kim, M.S. Significant invasion of the pharyngeal constrictor muscle in early squamous cell carcinoma of the tonsil: prediction of multiple regional metastasis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012. 138, 1034-1039.

191. Granados-Garcia, M. Oropharyngeal cancer: an emergent disease? *Salud Publica Mex.* 2016. 58, 285-290.
192. Ferreira, M.B., De Souza, J.A., and Cohen, E.E. Role of molecular markers in the management of head and neck cancers. *Curr Opin Oncol.* 23, 259-264. 2011.
193. Lothaire P, de Azambuja E, Dequanter D, Lalami Y, Sotiriou C, Andry G, et al. Molecular markers of head and neck squamous cell carcinoma: promising signs in need of prospective evaluation. *Head Neck.* 2006 Mar;28(3):256-69.
194. Doorbar J, Egawa N, Griffin H, Kranjec C, Murkami I. Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Rev Med Virol.* 2015;25(suppl 1):2-23.
195. de Villiers EM. Cross-roads in the classification of papillomaviruses. *Virology* 2013;445:2-10.
196. Bouvard V, Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, et al. A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol* 2009;10:321-2.
197. Anantharaman D, Gheit T, Waterboer T, Abedi-Ardekani B, Carreira C, McKay-Chopin S, et al. Human papillomavirus infections and upper aero-digestive tract cancers: the ARCAGE study. *J Natl Cancer Inst* 2013;105:536-45.
198. Michaud DS, Langevin SM, Eliot M, Nelson HH, Pawlita M, McClean MD, et al. High-risk HPV types and head and neck cancer. *Int J Cancer* 2014;135:1653-61.
199. Viens LJ, Henley SJ, Watson M, Markowitz LE, Thomas CC, Thompson TD, et al. Human Papillomavirus-Associated Cancers - United States, 2008-2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65:661-6.
200. Steinau M, Saraiya M, Goodman MT, Peters ES, Watson M, Cleveland JL, et al. Human papillomavirus prevalence in oropharyngeal cancer before vaccine introduction, United States. *Emerg Infect Dis* 2014;20:822-8.
201. Kreimer AR, Clifford GM, Boyle P, Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:467-75.
202. Ndiaye C, Mena M, Alemany L, Arbyn M, Castellsague X, Laporte L, et al. HPV DNA, E6/E7 mRNA, and p16INK4a detection in head and neck cancers: a systematic review and metaanalysis. *Lancet Oncol* 2014;15:1319-31.
203. Roberts JN, Buck CB, Thompson CD, et al. Genital transmission of HPV in a mouse model is potentiated by nonoxynol-9 and inhibited by carrageenan. *Nat Med.* 2007;13:857-861.

204. Roman A, Munger K. The papillomavirus E7 proteins. *Virology*. 2013;445:138-168.
205. Vande Pol SB, Klingelutz AJ. Papillomavirus E6 oncoproteins. *Virology*. 2013;445:115-137.
206. 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;63:1129-36.
207. Bunz F, Dutriaux A, Lengauer C, Waldman T, Zhou S, Brown JP, et al. Requirement for p53 and p21 to sustain G2 arrest after DNA damage. *Science* 1998;282:1497-501.
208. Taylor WR, Stark GR. Regulation of the G2/M transition by p53. *Oncogene* 2001;20:1803-15.
209. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991;253:49-53.
210. Castellsague X, Alemany L, Quer M, Halc G, Quiros B, Tous S, et al. HPV Involvement in Head and Neck Cancers: Comprehensive Assessment of Biomarkers in 3680 Patients. *J Natl Cancer Inst* 2016;108:djv403.
211. Werness BA, Levine AJ, Howley PM. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 1990;248:76-9.
212. Chai RC, Lambie D, Verma M, Punyadeera C. Current trends in the etiology and diagnosis of HPV-related head and neck cancers. *Cancer Med*. 2015;4:596-607.
213. Guo T, Gaykalova DA, Considine M, Wheelan S, Pallavajjala A, Bishop JA, et al. Characterization of functionally active gene fusions in human papillomavirus related oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2016;139:373-82.
214. Tiwana MS, Wu J, Hay J, Wong F, Cheung W, Olson RA. 25 year survival outcomes for squamous cell carcinomas of the head and neck: population-based outcomes from a Canadian province. *Oral Oncol* 2014;50:651-6.
215. D'Souza G, Agrawal Y, Halpern J, Bodison S, Gillison ML. Oral sexual behaviors associated with prevalent oral human papillomavirus infection. *J Infect Dis* 2009;199:1263-9.
216. Panwar A, Batra R, Lydiatt WM, Ganti AK. Human papilloma virus positive oropharyngeal squamous cell carcinoma: a growing epidemic. *Cancer Treat Rev* 2014;40:215-9.

217. Satterwhite CL, Torrone E, Meites E, Dunne EF, Mahajan R, Ocfemia MC, et al. Sexually transmitted infections among US women and men: prevalence and incidence estimates, 2008. *Sex Transm Dis* 2013;40:187-93.
218. Plummer M, de Martel C, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Franceschi S. Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. *Lancet Glob Health* 2016;4:e609-16.
219. Giuliano AR, Lu B, Nielson CM, Flores R, Papenfuss MR, Lee JH, et al. Age-specific prevalence, incidence, and duration of human papillomavirus infections in a cohort of 290 US men. *J Infect Dis* 2008;198:827-35.
220. Isayeva T, Li Y, Maswahu D, Brandwein-Gensler M. Human papillomavirus in non-oropharyngeal head and neck cancers: a systematic literature review. *Head Neck Pathol.* 2012 Jul; 6 Suppl 1():S104-20.
221. Vlachtsis K, Nikolaou A, Markou K, Fountzilias G, Daniilidis I. Clinical and molecular prognostic factors in operable laryngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2005 Nov; 262(11):890-8.
222. Morshed K. Association between human papillomavirus infection and laryngeal squamous cell carcinoma. *J Med Virol.* 2010 May; 82(6):1017-23.
223. Duray A, Descamps G, Arafa M, Decaestecker C, Remmelink M, Sirtaine N, et al. High incidence of high-risk HPV in benign and malignant lesions of the larynx. *Int J Oncol.* 2011 Jul;39(1):51-9.
224. Stephen JK, Chen KM, Shah V, Havard S, Lu M, Schweitzer VP, et al. Human papillomavirus outcomes in an access-to-care laryngeal cancer cohort. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012 May;146(5):730-8.
225. Chernock RD, Wang X, Gao G, Lewis JS Jr, Zhang Q, Thorstad WL, El-Mofty SK. Detection and significance of human papillomavirus, CDKN2A(p16) and CDKN1A(p21) expression in squamous cell carcinoma of the larynx. *Mod Pathol.* 2013 Feb;26(2):223-31.
226. Schulte T, Paschke KA, Laessing U, Lottspeich F, Stuermer CA. Reggie-1 and reggie-2, two cell surface proteins expressed by retinal ganglion cells during axon regeneration. *Development.* 1997 Jan;124(2):577-87.
227. Schroeder WT, Stewart-Galetka S, Mandavilli S, Parry DA, Goldsmith L, Duvic M. Cloning and characterization of a novel epidermal cell surface antigen (ESA). *J Biol Chem.* 1994 Aug 5;269(31):19983-91.

228. Bickel PE, Scherer PE, Schnitzer JE, Oh P, Lisanti MP, Lodish HF. Flotillin and epidermal surface antigen define a new family of caveolae-associated integral membrane proteins. *J Biol Chem*. 1997 May 23;272(21):13793-802.
229. Hazarika P, McCarty MF, Prieto VG, George S, Babu D, Koul D, Bar-Eli M, Duvic M. Up-regulation of Flotillin-2 is associated with melanoma progression and modulates expression of the thrombin receptor protease activated receptor 1. *Cancer Res*. 2004 Oct 15;64(20):7361-9.
230. Doherty SD, Prieto VG, George S, Hazarika P, Duvic M. High flotillin-2 expression is associated with lymph node metastasis and Breslow depth in melanoma. *Melanoma Res*. 2006 Oct;16(5):461-3.
231. Yang XY, Ren CP, Wang L, Li H, Jiang CJ, Zhang HB, et al. Identification of differentially expressed genes in metastatic and non-metastatic nasopharyngeal carcinoma cells by suppression subtractive hybridization. *Cell Oncol*. 2005;27(4):215-23.
232. Wen Q, Li J, Wang W, Xie G, Xu L, Luo J, et al. Increased expression of flotillin-2 protein as a novel biomarker for lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma. *PLoS One*. 2014;9:e101676.
233. Wang X, Yang Q, Guo L, et al. Flotillin-2 is associated with breast cancer progression and poor survival outcomes. *J Transl Med*. 2013;11:190.
234. Zhu Z, Wang J, Sun Z, et al. Flotillin2 expression correlates with HER2 levels and poor prognosis in gastric cancer. *PLoS One*. 2013;8:e62365.
235. Wen Q, Alnemah MM, Luo J, et al. FLOT-2 is an independent prognostic marker in oral squamous cell carcinoma. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2015;8(7):8236-8243.
236. Kalyankrishna S, Grandis JR. Epidermal growth factor biology in head and neck cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24:2666–72.
237. Maxwell SA, Sacks PG, Gutterman JU, Gallick GE. Epidermal growth factor receptor protein-tyrosine kinase activity in human cell lines established from squamous carcinomas of the head and neck. *Cancer Res*. 1989;49:1130–1137.
238. Kearsley JH, Furlong KL, Cooke RA, Waters MJ. An immunohistochemical assessment of cellular proliferation markers in head and neck squamous cell cancers. *Br J Cancer*. 1990;61:821–827.

239. Ishitoya J, Toriyama M, Oguchi N, Kitamura K, Ohshima M, Asano K, Yamamoto T. Gene amplification and overexpression of EGF receptor in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Br J Cancer*. 1989;59:559–562.
240. Temam S, Kawaguchi H, El-Naggar AK, Jelinek J, Tang H, Liu DD, et al. Epidermal growth factor receptor copy number alterations correlate with poor clinical outcome in patients with head and neck squamous cancer. *J Clin Oncol*. 2007 Jun 1;25(16):2164-70.
241. Mrhalova M, Plzak J, Betka J, Kodet R. Epidermal growth factor receptor-its expression and copy numbers of EGFR gene in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Neoplasma*. 2005;52:338–43.
242. Chung CH, Ely K, McGavran L, Varella-Garcia M, Parker J, Parker N, et al. Increased epidermal growth factor receptor gene copy number is associated with poor prognosis in head and neck squamous cell carcinomas. *J Clin Oncol*. 2006 Sep 1;24(25):4170-6.
243. Chiang WF, Liu SY, Yen CY, Lin CN, Chen YC, Lin SC, Chang KW. Association of epidermal growth factor receptor (EGFR) gene copy number amplification with neck lymph node metastasis in areca-associated oral carcinomas. *Oral Oncol*. 2008 Mar;44(3):270-6.
244. Ang KK, Berkey BA, Tu X, Zhang HZ, Katz R, Hammond EH, et al. Impact of epidermal growth factor receptor expression on survival and pattern of relapse in patients with advanced head and neck carcinoma. *Cancer Res*. 2002 Dec 15;62(24):7350-6.
245. Wheeler S, Siwak DR, Chai R, LaValle C, Seethala RR, Wang L, et al. Tumor epidermal growth factor receptor and EGFR PY1068 are independent prognostic indicators for head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2012 Apr 15;18(8):2278-89.
246. Rubin Grandis J, Melhem MF, Gooding WE, Day R, Holst VA, Wagener MM, et al. Levels of TGF-alpha and EGFR protein in head and neck squamous cell carcinoma and patient survival. *J Natl Cancer Inst*. 1998 Jun 3;90(11):824-32.
247. Jedlinski A, Ansell A, Johansson AC, Roberg KJ. EGFR status and EGFR ligand expression influence the treatment response of head and neck cancer cell lines. *Oral Pathol Med*. 2013;42:26–36.
248. Bentzen SM, Atasoy BM, Daley FM, Dische S, Richman PI, Saunders MI, et al. Epidermal growth factor receptor expression in pretreatment biopsies from head and

- neck squamous cell carcinoma as a predictive factor for a benefit from accelerated radiation therapy in a randomized controlled trial. *J Clin Oncol.* 2005 Aug 20;23(24):5560-7.
249. Vermorken JB, Mesia R, Rivera F, Remenar E, Kawecki A, Rottey S, et al. Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N Engl J Med.* 2008 Sep 11;359(11):1116-27.
250. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, Cohen RB, Jones CU, Sur RK, et al. Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5-year survival data from a phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab-induced rash and survival. *Lancet Oncol.* 2010 Jan;11(1):21-8.
251. Machiels JP, Subramanian S, Ruzsa A, Repassy G, Lifirenko I, Flygare A, et al. Zalutumumab plus best supportive care versus best supportive care alone in patients with recurrent or metastatic squamous-cell carcinoma of the head and neck after failure of platinum-based chemotherapy: an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2011 Apr;12(4):333-43.
252. Vermorken JB, Herbst RS, Leon X, Amellal N, Baselga J. Overview of the efficacy of cetuximab in recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck in patients who previously failed platinum-based therapies. *Cancer.* 2008;112:2710–9.
253. Rivera F, García-Castaño A, Vega N, Vega-Villegas ME, Gutiérrez-Sanz L. Cetuximab in metastatic or recurrent head and neck cancer: the EXTREME trial. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2009 Oct;9(10):1421-8. doi: 10.1586/era.09.113. PMID: 19828002.
254. Vermorken JB, Mesia R, Rivera F, Remenar E, Kawecki A, Rottey S, et al. Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N Engl J Med.* 2008 Sep 11;359(11):1116-27.
255. Hashmi et al. *World Journal of Surgical Oncology* (2018) 16:118
<https://doi.org/10.1186/s12957-018-1425-3>
256. Politi et al. *In Vivo* May 2019, 33 (3) 815-819; DOI:
<https://doi.org/10.21873/invivo.11544>
257. Meng HX, Miao SS, Chen K, Li HN, Yao G, Geng J, et al. Association of p16 as Prognostic Factors for Oropharyngeal Cancer: Evaluation of p16 in 1470 Patients for a 16 Year Study in Northeast China. *Biomed Res Int.* 2018 Sep 17; 2018:9594568.

258. Calkovsky V., Wallenfels P., Calkovska A., Hajtman A. Laryngeal Cancer: 12-Year Experience of a Single Center. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016; 911:9–16. doi: 10.1007/5584_2015_201.
259. Ganatra S, Sawani S, Badri P, Pakseresht M, Amin M. Demographic and Clinicopathologic Distribution of Oral Cavity and Oropharyngeal Cancer in Alberta, Canada: A Comparative Analysis. *J Can Dent Assoc.* 2022 Dec;88:m10. PMID: 37098276.
260. Islami F., Tramacere I., Rota M., Bagnardi V., Fedirko V., Scotti L., et al. Alcohol drinking and laryngeal cancer: Overall and dose-risk relation—A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol.* 2010; 46:802–810. doi: 10.1016/j.oraloncology.2010.07.015.
261. Cîrstea A.I., Berteșteanu Ș.V.G., Scăunașu R.V., Popescu B., Bejenaru P.L., Simion-Antonie C.B., et al. Management of Locally Advanced Laryngeal Cancer-From Risk Factors to Treatment, the Experience of a Tertiary Hospital from Eastern Europe. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2023; 20:4737. doi: 10.3390/ijerph20064737
262. Altumbabić H, Salkić A, Ramas A, Burgić M, Kasumović M, Brkić F. Pattern of head and neck malignant tumours in a Tuzla ENT clinic--a five year experience. *Bosn J Basic Med Sci.* 2008 Nov;8(4):377-80. doi: 10.17305/bjbms.2008.2901. PMID: 19125712; PMCID: PMC5677284.
263. O'Sullivan A, Kabir Z, Harding M. Lip, Oral Cavity and Pharyngeal Cancer Burden in the European Union from 1990-2019 Using the 2019 Global Burden of Disease Study. *Int J Environ Res Public Health.* 2022 May 27;19(11):6532. doi: 10.3390/ijerph19116532. PMID: 35682117; PMCID: PMC9180496.
264. Chatenoud L., Garavello W., Pagan E., Bertuccio P., Gallus S., La Vecchia C., et al. Laryngeal cancer mortality trends in European countries. *Int. J. Cancer.* 2016; 138:833–842. doi: 10.1002/ijc.29833.
265. Mascitti M, Togni L, Caponio VCA, Zhurakivska K, Bizzoca ME, Contaldo M, et al. Lymphovascular invasion as a prognostic tool for oral squamous cell carcinoma: a comprehensive review. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2022 Jan;51(1):1-9. doi: 10.1016/j.ijom.2021.03.007. Epub 2021 Apr 2. PMID: 33814227.
266. Chirila M., Bolboaca S.D., Muresan M., Tomescu E., Cosgarea M. Die lymphatische und vaskuläre Ausbreitung von Larynx- und Sinus piriformis Plattenepithelkarzinomen [Lymphatic and vascular invasion in laryngeal and pyriform

- sinus carcinomas] *Laryngorhinootologie*. 2011;9 0:358–363. doi: 10.1055/s-0031-1271758.
267. Yilmaz T., Hosal A.S., Gedikoğlu G., Onerci M., Gürsel B. Prognostic significance of vascular and perineural invasion in cancer of the larynx. *Am. J. Otolaryngol*. 1998; 19:83–88. doi: 10.1016/S0196-0709(98)90100-4.
268. Sandeep Purohit, Parveen Ahlawat, Sarthak Tandon, Avani Jain, Munish Gairola. Challenges seen with peri-neural invasion in head and neck cancer – A review article. *Oral Oncology Reports*, Volume 6, 2023, 100028, ISSN 2772-9060, <https://doi.org/10.1016/j.oor.2023.100028>.
269. Devaney K.O., Hunter B.C., Ferlito A., Rinaldo A. Pretreatment pathologic prognostic factors in head and neck squamous cell carcinoma. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol*. 1997; 106:983–988.
270. Fagan J.J., Collins B., Barnes L., D’Amico F., Myers E.N., Johnson J.T. Perineural invasion in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg*. 1998; 124:637–640.
271. Dahlstrom KR, Song J, Thall PF, Fuller CD, Hutcheson KA, Johnson FM, et al. Conditional survival among patients with oropharyngeal cancer treated with radiation therapy and alive without recurrence 5 years after diagnosis. *Cancer*. 2021 Apr 15;127(8):1228-1237. doi: 10.1002/cncr.33370. Epub 2020 Dec 11.
272. De Felice F, Humbert-Vidan L, Lei M, King A, Guerrero Urbano T. Analyzing oropharyngeal cancer survival outcomes: a decision tree approach. *Br J Radiol*. 2020 Jul;93(1111):20190464. doi: 10.1259/bjr.20190464. Epub 2020 May 21.
273. Le Champion ACOV, Ribeiro CMB, Luiz RR, da Silva Júnior FF, Barros HCS, Dos Santos KCB, Ferreira SJ, Gonçalves LS, Ferreira SMS. Low Survival Rates of Oral and Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. *Int J Dent*. 2017;2017:5815493. doi: 10.1155/2017/5815493. Epub 2017 May 30.
274. de França GM, da Silva WR, Medeiros CKS, Júnior JF, de Moura Santos E, Galvão HC. Five-year survival and prognostic factors for oropharyngeal squamous cell carcinoma: retrospective cohort of a cancer center. *Oral Maxillofac Surg*. 2022 Jun;26(2):261-269. doi: 10.1007/s10006-021-00986-4. Epub 2021 Jul 23. PMID: 34297231.
275. Cheng D, Rao Y, Qiu J, Song Y, Pang W, Qiu K, et al. Survival Outcomes Related to Treatment Modalities in Patients With Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. *Ear Nose Throat J*. 2022 Jul 15:1455613221115608.

276. Božinović K, Sabol I, Rakušić Z, Jakovčević A, Šekerija M, Lukinović J, et al. HPV-driven oropharyngeal squamous cell cancer in Croatia - Demography and survival. *PLoS One*. 2019 Feb 1;14(2):e0211577.
277. Haapaniemi A., Koivunen P., Saarilahti K., Kinnunen I., Laranne J., Aaltonen L.M., et al. Laryngeal cancer in Finland: A 5-year follow-up study of 366 patients. *Head Neck*. 2016;38:36–43. <
278. Mendenhall W.M., Amdur R.J., Morris C.G., Hinerman R.W. T1-T2N0 squamous cell carcinoma of the glottic larynx treated with radiation therapy. *J. Clin. Oncol*. 2001;19:4029–4036.
279. Warde P., O’Sullivan B., Bristow R.G., Panzarella T., Keane T.J., Gullane P.J., et al. T1/T2 glottic cancer managed by external beam radiotherapy: The influence of pretreatment hemoglobin on local control. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys*. 1998;41:347–353.
280. Dechaphunkul T. Epidemiology, risk factors, and overall survival rate of laryngeal cancer in Songklanagarind Hospital. *J. Med. Assoc. Thail*. 2011;94:355–360.
281. Chedid H.M., Lehn C.N., Rapoport A., Amar A., Franzi S.A. Assessment of disease-free survival in patients with laryngeal squamous cell carcinoma treated with radiotherapy associated or not with chemotherapy. *Braz. J. Otorhinolaryngol*. 2010;76:225–230.
282. Chen A.Y., Matson L.K., Roberts D., Goepfert H. The significance of comorbidity in advanced laryngeal cancer. *Head Neck*. 2001;23:566–572.
283. Du E., Mazul A.L., Farquhar D., Brennan P., Anantharaman D., Abedi-Ardekani B., et al. Long-term Survival in Head and Neck Cancer: Impact of Site, Stage, Smoking, and Human Papillomavirus Status. *Laryngoscope*. 2019;129:2506–2513.
284. Baxi S.S., Pinheiro L.C., Patil S.M., Pfister D.G., Oeffinger K.C., Elkin E.B. Causes of death in long-term survivors of head and neck cancer. *Cancer*. 2014;120:1507–1513.
285. Vukelić J., Dobrila-Dintinjana R., Marijić B., Maržić D., Braut T. Clinical Course of the Disease and Treatment Outcome in Patients with Malignant Laryngeal Tumor: Retrospective Five-Year Analysis. *Acta Clin. Croat*. 2022;61:311–319.
286. Cosetti M., Yu G.P., Schantz S.P. Five-year survival rates and time trends of laryngeal cancer in the US population. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg*. 2008;134:370–379.

287. Hoffman H.T., Porter K., Karnell L.H., Cooper J.S., Weber R.S., Langer C.J., et al. Laryngeal cancer in the United States: Changes in demographics, patterns of care, and survival. *Pt 2Laryngoscope*. 2006;116((Suppl. S111)):1–13.
288. Adeel M., Faisal M., Rashid A., Usman S., Khaleeq U., Abbas T., et al. An Overview of Laryngeal Cancer Treatment at a Tertiary Care Oncological Center in a Developing Country. *Cureus*. 2018;10:e2730.
289. Koskinen W.J., Brøndbo K., Mellin Dahlstrand H., Luostarinen T., Hakulinen T., Leivo I., et al. Alcohol, smoking and human papillomavirus in laryngeal carcinoma: A Nordic prospective multicenter study. *J. Cancer Res. Clin. Oncol*. 2007;133:673–678.
290. Mayne S.T., Cartmel B., Kirsh V., Goodwin W.J., Jr. Alcohol and tobacco use prediagnosis and postdiagnosis, and survival in a cohort of patients with early stage cancers of the oral cavity, pharynx, and larynx. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev*. 2009;18:3368–3374.
291. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, Cohen RB, Jones CU, Sur RK, et al. Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5-year survival data from a phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab-induced rash and survival. *Lancet Oncol*. 2010 Jan;11(1):21-8.
292. Vermorken JB, Mesia R, Rivera F, Remenar E, Kawecki A, Rottey S, et al. Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N Engl J Med*. 2008 Sep 11;359(11):1116-27.
293. Burtneß B, Harrington KJ, Greil R, Soulières D, Tahara M, de Castro G Jr, et al; KEYNOTE-048 Investigators. Pembrolizumab alone or with chemotherapy versus cetuximab with chemotherapy for recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-048): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet*. 2019 Nov 23;394(10212):1915-1928.

9 ПРИЛОЗИ

9.1 Списак скраћеница

ЕГФР – рецептор епидермалног фактора раста

ФЛОТ2 – *Flotillin2*

ОПЦ – орофарингеални карцином

ЛЦ – ларингеални карцином

ХПВ – хумани папилома вирус

п16+ – хумани папилома вирус тип 16 позитиван

п16- – хумани папилома вирус тип 16 негативан

ЕУ – Европска Унија

СЗО – Свјетска здравствена организација

КТ – компјутеризована томографија

МР – магнетна резонанца

УЗ – ултразвук

ПЕТ – позитронска емисиона томографија

ЕНЕ – екстранодална екстензија

ЛИ – лимфна инвазија

ВИ – васкуларна инвазија

ПНИ – перинеурална инвазија

ТНМ – тумор, нодус, метастаза систем стадирања болести

АЛЦЦ – Амерички заједнички одбор за рак

УИЦЦ – Међународна унија за контролиу рака

ХТ – хемиотерапија

РТ – радиотерапија

ИХТ – индукциона хемиотерапија
ХТ/РТ – конкомитантна хемиорадиотерапија
ТОРС – трансорална роботска хирургија
ОС – укупно преживљавање
ДФС – преживљавање до појаве релапса болести
ДСС – болест специфично преживљавање
ТЛ – тотална ларингектомија
ЛПС – ларинкс презервирајућа хирургија
5-ФУ – 5-флуороурацил
PD-L1- лиганд програмиране ћелијске смрти
MSI-H - микросателитска нестабилност, висока експресија
CPS – комбиновани позитивни скор
ТСХ - тироид-стимулишући хормон
БМИ – индекс тјелесне масе
ЕСА - епидермални површински антиген
ИХХ – имунохистохемија
УКЦ РС – Универзитетски клинички центар Републике Српске
95% ЦИ – 95% интервал повјерења
ХР – хазардни однос
БиХ – Босна и Херцеговина
МДТ – мултидисциплинарни тим

10 БИОГРАФИЈА

Дејан Ђокановић је рођен 03. априла 1989. године у Сребреници. Основну школу и Средњу медицинску школу завршио је у родном граду. 2008. године је уписао Медицински факултет у Бањој Луци, а дипломирао у јулу 2014. године, одбраном завршног рада под називом “Рани резултати примјене неoadјувантне терапије у лијечењу карциному ректума“. Током факултетског образовања радио је двије године као демонстратор на предмету Патолошка анатомија, Катедра за патологију. Након завршеног факултета у октобру 2014. године наставља стручни рад и усавршавање у Универзитетском клиничком центру Републике Српске, Клиника за онкологију, гдје и данас ради. У новембру 2015. године започиње специјализацију из интернистичке онкологије и завршава специјализацију у децембру 2020. године. Од 2019. године ангажован је као стручни сарадник на Катедри за онкологију са радиотерапијом, Медицинског факултета у Бањој Луци. Докторску дисертацију под називом “Прогностички значај морфолошких карактеристика и експресије p16INK4a, ФЛОТ2 и ЕГФР у сквамозном карциному орофаринкса и ларинкса“ израдио је под менторством Проф. др Радослава Гајанина и коменторством Проф. др Зденке Гојковић. Био је предавач на бројним конгресима, симпозијумима и стручним састанцима националног, европског и свјетског карактера. Аутор је и коаутор већег броја научних публикација и коаутор је у изради водича добре клиничке праксе за меланом и карцином дојке. У својству главног истраживача и подистраживача учествовао је у већем броју клиничких студија за различите туморске локализације. У децембру 2017. године судјелује у радионици за меланом одржаној у Универзитетској болници Шлесвиг-Холштајн у Њемачком граду Килу. 2021. године полазник је Европске школе онкологије (ЕСО) у области карцинома дојке. Члан је Удружења онколога Републике Српске, Европске асоцијације онколога – ЕСМО, те Коморе доктора медицине Републике Српске. Изузетно залагање и ангажман у струци у свакодневном раду са онколошким пацијентима др Дејан Ђокановић је посебно показао у раду са пацијентима оболелим од карцинома главе и врата и меланома, што је данас и главни правац његовог даљег усавршавања и истраживања.

Ожењен је и отац три кћери.

Изјава 1

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем
да је докторска дисертација

„Прогностички значај морфолошких карактеристика и експресије p16INK4a, ФЛОТ2 и ЕГФР у сквамозном карциному орофаринкса и ларинкса “

" Prognostic significance of morphological characteristics and the expression of p16INK4a, FLOT2, and EGFR in squamous carcinoma of the oropharynx and larynx"

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да докторска дисертација, у цјелини или у дијеловима, није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Бањој Луци, децембар 2023.

Потпис докторанта



Изјава 2

Изјава којом се овлашћује Универзитет у Бањој Луци да докторску дисертацију учини јавно доступном

Овлашћујем Универзитет у Бањој Луци да моју докторску дисертацију под насловом

„Прогностички значај морфолошких карактеристика и експресије p16INK4a, ФЛОТ2
и ЕГФР у сквамозном карциному орофаринкса и ларинкса“

која је моје ауторско дјело, учини јавно доступном.

Докторску дисертацију са свим прилозима предао сам у електронском формату
погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у дигитални репозиторијум Универзитета у
Бањој Луци могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу
лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио.

1. Ауторство
2. Ауторство-некомерцијално
3. Ауторство - некомерцијално - без прераде
- 4. Ауторство - некомерцијално - дијелити под истим условима**
5. Ауторство - без прераде
6. Ауторство - дијелити под истим условима

У Бањој Луци, децембар 2023.

Потпис докторанта



Изјава 3

**Изјава о идентичности штампане и електронске верзије
докторске дисертације**

Име и презиме аутора Дејан Ђокановић

Наслов рада Прогностички значај морфолошких карактеристика и експресије
 p16INK4a, ФЛОТ2 и ЕГФР у сквамозном
 карциному орофаринкса и ларинкса

Ментор Проф. др Радослав Гајанин

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације идентична електронској верзији коју сам предао за дигитални репозиторијум Универзитета у Бањој Луци.

У Бањој Луци, децембар 2023. године

Потпис докторанта