

Κλινικοί, μορφολογικοί και μοριακοί δείκτες. Η προγνωστική τους αξία στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα της στοματικής κοιλότητας.

Γ. ΚΑΣΦΙΚΗΣ¹, ΑΘ. ΠΟΥΛΟΠΟΥΛΟΣ², Α. ΜΑΡΚΟΠΟΥΛΟΣ³
Εργαστήριο Στοματολογίας, Οδοντιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

The prognostic value of clinical, morfological and molecular markers in oral squamous cell carcinomas

G. KASFIKIS¹, A. POULOPOULOS², A. MARKOPOULOS²
Depart. of Stomatology, School of Dentistry, Aristotle University of Thessaloniki

Περίληψη

Παρά την μεγάλη πρόοδο που έχει υπάρξει τα τελευταία χρόνια όσον αφορά τη διάγνωση και θεραπεία του καρκίνου, η πρόγνωση των κακοήθων νεοπλασμάτων της στοματικής κοιλότητας παραμένει ακόμα πτωχή. Έτσι, γίνεται πιο επιτακτική η ανάγκη της γνώσης και αξιολόγησης των διαφόρων προγνωστικών παραμέτρων, που αυτόνοτητα σχετίζονται και με την επιλογή του κατάλληλου θεραπευτικού σχήματος στον κάθε ασθενή. Αυτοί οι παράγοντες μπορεί να σχετίζονται με τον ασθενή (ηλικία, φύλο, γενικοί παράγοντες, ανοσολογικές παράμετροι) ή με τον όγκο (εντόπιση, TNM σταδιοποίηση, ιστολογικές παράμετροι κ.τ.λ.). Τα τελευταία χρόνια, στο επίκεντρο της προσοχής των επιστημόνων βρίσκονται οι μελέτες για την κατανομή του DNA, οι δείκτες πολλαπλασιασμού, συγκεκριμένα ογκογονίδια, συστατικά του εξωκυττάρου οργανισμού και οι μεταλλοπρωτεϊνάσες. Οι παράγοντες αυτοί φαίνεται να παίζουν καθοριστικό ρόλο σε βιολογικά φαινόμενα που σχετίζονται άμεσα με την εξέλιξη ενός κακοήθους νεοπλάσματος, τη διήθηση, τη μετάσταση και συνεπώς την επιβίωση του ασθενή.

Summary

Despite of considerable advances in the diagnostic and therapeutic possibilities, the prognosis of malignant tumors in the oral cavity is still very poor. A knowledge of the prognostic factors at the begining of treatment is therefore indispensable for determination of the appropriate therapy for each patient. These factors may be linked to the patient (e.g. age, sex, general condition and immunological parameters) or to the tumor (localization, TNM stage, histological parameters e.t.c.). During the last years, studies of the DNA content distribution, the proliferation markers and certain oncogenes has come into the focus of attention; great interest was focused in the extracellular matrix components and the metalloproteinases, which play key roles in the invasion, metastasis and consequently patient's survival.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: καρκίνος στόματος, προγνωστικοί παράγοντες, ογκογονίδια, επιβίωση.

KEY WORDS: oral cancer, prognostic factors, oncogels, survival.

Στάλθηκε στις 27.6.2007. Εγκρίθηκε στις 14.1.2008.

¹ Προπτυχιακός Φοιτητής Οδοντιατρικής

² Επίκουρος Καθηγητής

² Αναπληρωτής Καθηγητής

Received on 27th June 2007. Accepted on 14th Jan., 2008.

¹ Dentist

² Assistant Professor

² Assoc.Professor

Εισαγωγή

Το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα αποτελεί την συχνότερη μορφή καρκίνου του στόματος και αναπτύσσεται από τα κύτταρα του καλυπτικού επιθηλίου. Αποτελεί το 90% των κακοήθων όγκων της στοματικής κοιλότητας και παρουσιάζεται συχνότερα στον αντρικό πληθυσμό. Τα ποσοστά αυτά, ωστόσο, διαφέρουν πολύ μεταξύ διαφορετικών χωρών, φυλών και κοινωνικών ομάδων. Έτσι, ενώ στο Ηνωμένο Βασίλειο και τις ΗΠΑ αποτελεί περίπου το 2% του συνόλου των νεοπλασμάτων, στην Ινδία αποτελεί το 30-40% και σε άλλες περιοχές έχουν αναφερθεί ποσοστά που πλησιάζουν το 50%¹. Εμφανίζεται, συνήθως, μεταξύ της 5ης και της 7ης δεκαετίας της ζωής και ο κίνδυνος εμφάνισής του αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας. Στη στοματική κοιλότητα το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα εμφανίζεται με διαφορετική συχνότητα ανάλογα με τη θέση εντόπισης. Τα τελευταία χρόνια έχει δοθεί μεγάλη έμφαση στο να καθοριστούν οι προγνωστικοί παράγοντες των καρκινωμάτων κεφαλής και τραχήλου. Τελικά, η πρόγνωση του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος της στοματικής κοιλότητας φαίνεται να εξαρτάται τόσο από παράγοντες που σχετίζονται με τον ασθενή όσο και από παράγοντες που σχετίζονται με τη νόσο, αλλά και από μία σειρά άλλων παραμέτρων.

Παράγοντες που σχετίζονται με τον ασθενή

Ο ρόλος της ηλικίας όσον αφορά την πρόγνωση της νόσου έχει κατά καιρούς συζητηθεί πολύ. Έχει γίνει μία σειρά κλινικών ερευνών οι οποίες όμως δεν έδειξαν συσχέτιση ηλικίας με πρόγνωση². Έτσι σήμερα πιστεύεται ότι δεν υπάρχει καμία σχέση ηλικίας με πρόγνωση, καθώς και ηλικίας με ανταπόκριση στη χημειοθεραπεία³.

Η αναλογία μεταξύ ανδρών και γυναικών για τα κακοήθη νεοπλασμάτα της στοματικής κοιλότητας είναι 2/1. Πρόσφατες επιδημιολογικές έρευνες έδειξαν ότι το ποσοστό των γυναικών με καρκίνο του στόματος τείνει να αυξάνεται χρόνο με το χρόνο και αυτό συμβαίνει εξαιτίας της αύξησης στην κατανάλωση αλκοόλης και καπνού από αυτές τα τελευταία χρόνια. Επιπρόσθετα είναι γνωστό ότι η κατανάλωση αλκοολούχων ποτών σε συνδυασμό με το κάπνισμα αποτελεί ένα σημαντικό επιβαρυντικό παράγοντα για την ανάπτυξη καρκίνου της στοματικής κοιλότητας^{4,5}.

Εξαιτίας της ετερογένειας και της πολυπλοκότητας του ανοσιακού συστήματος, οι ανοσολογικοί παράμετροι είναι δύσκολο να αξιολογηθούν ως προγνωστικοί παράγοντες. Έχουν γίνει πολλές παρατηρήσεις στην προσπάθεια να διαπιστωθεί, εάν η αποτελεσματικότητα των κυτταροστατικών παραγόντων εξαρτάται από τον απόλυτο αριθμό των λεμφοκυττάρων, από τις αναλο-

γίες των υποπληθυσμών των Τ-λεμφοκυττάρων⁶ και από τα επίπεδα των ανοσοσφαιρινών στον ορό του αίματος⁷. Παρόλα αυτά δε φαίνεται οι μετρήσεις αυτές να παρουσιάζουν ιδιαίτερο προγνωστικό ενδιαφέρον. Η διατήρηση της εναπομένουσας ανοσοαντίδρασης του ογκολογικού ασθενούς, αποτελεί κομβικό σημείο για την εξέλιξη της νόσου. Η καταστολή του ανοσιακού συστήματος μπορεί να αποφευχθεί με τη βοήθεια υποστηρικτικών θεραπειών και συνεχόμενης κλινικής και εργαστηριακής παρακολούθησης. Η γενική κατάσταση του οργανισμού έχει συσχετισθεί με την αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας^{8,9}.

Παράγοντες που σχετίζονται με τη νόσο

Η εντόπιση αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα, ο οποίος καθορίζει την πρόγνωση. Τα ποσοστά επιβίωσης είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικά στις περιπτώσεις καρκίνου του κάτω χείλους. Η πρόγνωση είναι, επίσης, καλύτερη σε ορισμένα καρκινώματα της παρειάς και του πρόσθιου μέρους της γλώσσας σε σχέση με εκείνα ίδιου σταδίου, τα οποία όμως βρίσκονται στη βάση της γλώσσας, στο μεσοφάρυγγα και στο έδαφος του στόματος¹⁰.

Το μέγεθος του όγκου, όπως και σε καρκίνους σε άλλες περιοχές του σώματος, έτσι και στον καρκίνο στόματος, έχει μεγάλη σημασία στην πρόγνωση της νόσου^{11,12}. Η TNM κλινική σταδιοποίηση βασίζεται στις διαστάσεις του όγκου, καθώς και στην ύπαρξη τοπικών ή απομακρυσμένων μεταστάσεων. Έχει αναφερθεί ότι καθοριστική σημασία για την πρόγνωση ενός όγκου έχει το βάθος διείσδυσης και όχι οι επιφανειακές διαστάσεις του^{13,14}. Το κρίσιμο βάθος διείσδυσης είναι τα 6 mm. Σε όγκους που ξεπερνούν αυτό το όριο οι τοπικο-περιοχικές μεταστάσεις υφίστανται στα τρία τέταρτα των ασθενών¹⁵.

Οι λεμφαδενικές μεταστάσεις έχουν χαρακτηριστεί από πολλούς ως ο σημαντικότερος προγνωστικός παράγοντας στους ασθενείς με καρκίνο κεφαλής και τραχήλου. Έχει αναφερθεί ότι η επιβίωση των ασθενών έχει αρνητική συσχέτιση με τον αριθμό των μεταστατικών λεμφαδένων, την εντόπισή τους και το βαθμό της κινητικότητάς τους. Πολλοί συγγραφείς υποστηρίζουν ότι η πρόγνωση δεν εξαρτάται, κυρίως, από τον αριθμό των μεταστατικών λεμφαδένων, αλλά και από τη διήθησή τους¹⁶⁻¹⁹.

Οι μακρινές μεταστάσεις, σύμφωνα με μερικούς συγγραφείς, υφίστανται μόνο στο 10% των καρκίνων κεφαλής και τραχήλου την στιγμή της διάγνωσης²⁰. Στην πορεία όμως της νόσου αυτό το ποσοστό αυξάνεται και η αυτοψία μας αποκαλύπτει ότι μακρινές μεταστάσεις αφορούν το 45-50% των ασθενών που αποβιώνουν. Αυτές μπορεί να βρίσκονται στους πνεύμονες, στους μεσοθωρακικούς λεμφαδένες, στο ήπαρ και στα οστά²¹. Όσον αφορά όμως τα καρκινώματα της στοματικής κοιλότητας οι μακρινές μεταστάσεις είναι σπάνιες, αφού ακόμα και αθεράπευτοι για 1-1,5 χρόνια

όγκοι σπάνια δίνουν μεταστάσεις κάτω από το επίπεδο της κλείδας.

Ιστολογικές παράμετροι

Η διαφοροποίηση των ιστών παίζει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της νόσου. Τα τελευταία χρόνια έχουν προταθεί πολλά συστήματα ταξινόμησης των όγκων κεφαλής και τραχήλου ως προς τη διαφοροποίηση των ιστών²²⁻²⁵. Ως επικρατέστερο σύστημα θεωρείται η ταξινόμηση του Thomson σε καλώς διαφοροποιημένα, μέτριας και χαμηλής διαφοροποίησης κακοήθη νεοπλασμάτα²³. Έρευνες έχουν αποδείξει ότι χαμηλής διαφοροποίησης νεοπλασμάτα σχετίζονται με αυξημένη συχνότητα λεμφαδενικών μεταστάσεων²⁶.

Η περινευρική διήθηση έχει χαρακτηριστεί από πολλούς ως ο δείκτης της επιθετικότητας του καρκίνου²⁷⁻²⁹. Έτσι, έχει αναφερθεί σε δείγμα 20 ασθενών με καρκίνο του κάτω χείλους, η ύπαρξη περινευρικής διήθησης που συνοδεύονταν από σημαντικά αυξημένη συχνότητα λεμφαδενικών μεταστάσεων και βράχυνση της επιβίωσης²⁵.

Άλλος σημαντικός προγνωστικός παράγοντας είναι η νεοαγγειογένεση. Η νεοαγγειογένεση είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη του όγκου και περιλαμβάνει τη δημιουργία νέων αγγείων αρχίζοντας από το ήδη υπάρχον αγγειακό σύστημα³⁰. Αν παρατηρηθεί έντονη αγγειοβρίθεια στη μορφολογική εξέταση του όγκου, αυτό αποτελεί ένδειξη κακής πρόγνωσης. Υπάρχουν αρκετές έρευνες που υποστηρίζουν ότι ο βαθμός της αγγειοβρίθειας σχετίζεται άμεσα με την αυξημένη πιθανότητα ύπαρξης τραχηλικών μεταστάσεων σε καρκινώματα κεφαλής και τραχήλου³¹.

Επιπρόσθετα, ερευνητικές μελέτες έχουν εστιασθεί στην πληθυσμιακή αναλογία αποπτωτικών και μιτωτικών κυττάρων. Ο αποπτωτικός δείκτης (η επί τοις εκατό αναλογία του αριθμού των αποπτωτικών κυττάρων προς τον συνολικό κυτταρικό πληθυσμό) έχει αμφιλεγόμενη προγνωστική αξία³². Ο μιτωτικός δείκτης (η επί τοις εκατό αναλογία του αριθμού των μιτωτικών κυττάρων προς τον συνολικό κυτταρικό πληθυσμό) αποτελεί σημαντικό στοιχείο για τον καθορισμό του βαθμού της κακοήθειας. Πολλές μελέτες έχουν τεκμηριώσει ότι σε μερικές περιπτώσεις ο υψηλός μιτωτικός δείκτης σχετίζεται με την καλύτερη απάντηση στην χημειοθεραπεία. Ωστόσο, στην ίδια ομάδα ασθενών ο χαμηλός μιτωτικός δείκτης φαίνεται να έχει συσχετισθεί με μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης³³.

Η κυτταρική κατανομή του περιεχόμενου DNA αποτελεί, επίσης, έναν σημαντικό προγνωστικό παράγοντα. Υπάρχει άμεση σχέση ανάμεσα στην αστάθεια των χρωμοσωμάτων και στην επιθετικότητα του όγκου³⁴. Το περιεχόμενο DNA των καρκινικών κυττάρων μπορεί να είναι το ίδιο με τα φυσιολογικά κύτταρα (ευπλοϊδία), μπορεί, όμως, να είναι περισσότερο ή λιγότερο (ανευπλοϊδία). Τα ανευπλοϊδικά κύτταρα είναι χαρακτηριστι-

κά των κακοήθων όγκων. Το περιεχόμενο DNA των κυττάρων μπορεί να είναι χρήσιμο στο χαρακτηρισμό της ετερογένειας των καρκινικών κυττάρων. Φαίνεται πάντως ότι η πρόγνωση σε περιπτώσεις ανευπλοϊδών όγκων με αυξημένη περιεκτικότητα σε DNA είναι χειρότερη από εκείνους τους όγκους με ελαττωμένη ποσότητα DNA³⁵⁻³⁷. Σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε χειρουργική θεραπεία και ακτινοθεραπεία, παρατηρήθηκε ότι το υψηλό περιεχόμενο σε DNA συνοδεύονταν από δυσμενέστερη πρόγνωση και αντοχή στη θεραπεία³⁸.

Ανοσοϊστοχημικές παράμετροι

Ορισμένοι δείκτες πολλαπλασιασμού όπως η PCNA πρωτεΐνη, πιθανώς, επηρεάζουν την εξέλιξη του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος. Η PCNA (proliferation cell nuclear antigen) είναι μια πυρηνική πρωτεΐνη, η οποία υποδεικνύει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Αποτελεί έναν ιστολογικό δείκτη της G1/S φάσης του κυτταρικού κύκλου. Η προγνωστική της αξία είναι αμφιλεγόμενη. Κάποιοι συγγραφείς υποστηρίζουν ότι τα υψηλά επίπεδα PCNA σχετίζονται με πτωχή πρόγνωση, ενώ κάποιοι άλλοι θεωρούν ότι τα επίπεδά της δεν επηρεάζουν την πορεία της νόσου^{39,40}. Η παρουσία πάντως υψηλών επιπέδων PCNA σχετίζεται με περισσότερες πιθανότητες επιτυχίας της ακτινοθεραπείας⁴¹.

Το Kι67 είναι ένα πυρηνικό αντιγόνο που παρουσιάζεται στις φάσεις G1, S, G2 και M του κυτταρικού κύκλου αλλά όχι στη φάση G0. Για το λόγο αυτό αποτελεί δείκτη πολλαπλασιασμού. Έχει αναφερθεί ότι υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ της αυξημένης έκφρασης του Kι67 και της παρουσίας των λεμφαδένων⁴². Άλλοι συγγραφείς παρατήρησαν ότι η έκφραση του αντιγόνου είναι αυξημένη σε πτωχής διαφοροποίησης όγκους, εντούτοις το εύρημα αυτό δεν έχει συσχετισθεί με την επιβίωση του αρρώστου⁴³.

Τα AgNOR (argyrophilic nucleolar organizer regions) είναι περιοχές του DNA, οι οποίες συμμετέχουν στην μεταγραφή του RNA και μπορούν να εντοπιστούν με τη βοήθεια της αργυροφιλικής σύνδεσης (silver binding). Πολλοί συγγραφείς έχουν αναφέρει ότι υπάρχει σχέση μεταξύ της έκφρασης της περιοχής αυτής και της εξέλιξης κακοήθων νεοπλασμάτων της στοματικής κοιλότητας^{44,45}.

Συστατικά της κυτταρικής μεμβράνης

Το μόριο της λαμινίνης αποτελεί ένα από τα πιο κύρια συστατικά της βασικής μεμβράνης και έχει πολλαπλούς βιολογικούς ρόλους π.χ. στην κυτταρική μετανάστευση, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων^{46,47}. Χαρακτηριστική είναι η γραμμική συσσώρευση της λαμινίνης, η οποία ποικίλλει σε ένταση γύρω από την κυτταρική συσσώρευση. Η λαμινίνη-5 συσχετίζεται με την πορεία της νόσου, αφού έχει βρεθεί ότι η ολική ή μερική έλλειψή της από το

κυτταρόπλασμα των επιθηλιακών καρκινικών κυττάρων συνδέεται με δυσμενή πρόγνωση.

Το κολλαγόνο IV αποτελεί άλλο ένα κύριο συστατικό της βασικής μεμβράνης των υγιών ιστών (αγγεία, επιθήλιο), το οποίο όμως εμφανίζεται και στην περιφέρεια των καρκινωμάτων του στόματος. Παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και σταθεροποίηση της μεσοκυττάρου ουσίας των καρκινικών κυττάρων και ως εκ τούτου στην παρεμπόδιση της καρκινικής διήθησης και της δημιουργίας μετάστασης.

Έναν ακόμη προγνωστικό παράγοντα αποτελούν οι μεταλλοπρωτεϊνάσες της μεσοκυττάρου ουσίας (MMP) και ιδιαίτερα η 2 και η 9, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την διάσπαση του κολλαγόνου IV και συνεπώς της βασικής μεμβράνης των επιθηλιακών όγκων⁴⁸. Έτσι, η έκφραση των ενζύμων αυτών σχετίζεται με την αυξημένη πιθανότητα διήθησης του όγκου και δημιουργίας μεταστάσεων^{49,50}. Μελέτες έχουν δείξει ότι η ανεπαρκής παραγωγή κολλαγόνου IV, όπως και η υπερβολική έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνάσων 2 και 9 σχετίζονται με πτωχή πρόγνωση⁵¹. Ο σημαντικός αυτός ρόλος των μεταλλοπρωτεϊνάσων στην πρόγνωση των επιθηλιακών όγκων οδήγησε τους ερευνητές στη μελέτη ουσιών που αναστέλλουν την έκφρασή της⁵²⁻⁵⁵.

Αυξητικοί παράγοντες

Στην καρκινογένεση φαίνεται να συμμετέχουν καθοριστικά οι αυξητικοί παράγοντες^{56,57}. Η ανώμαλη έκφραση του μετατρεπτικού αυξητικού παράγοντα α (TGF-α) έχει αναφερθεί ότι υπάρχει στα αρχικά στάδια της στοματικής καρκινογένεσης, πρώτα στο υπερπλαστικό επιθήλιο και μετά μέσα στο καρκίνωμα. Ο TGF-α διεγείρει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό συνδεδόμενος με τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGF-R). Ο TGF-α έχει βρεθεί σε φυσιολογικό βλεννογόνο σε ασθενείς που απέκτησαν αργότερα ένα δεύτερο πρωτοπαθές καρκίνωμα^{58,49}. Για το λόγο αυτό η ύπαρξή του σχετίζεται με την πιθανότητα τοπικής υποτροπής του καρκίνου.

Ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας β (TGF-β) παρουσιάζει τρεις υποκατηγορίες, TGFβ1, TGFβ2 και TGFβ3 και συμμετέχει στην ιστική αναγέννηση και στην κυτταρική διαφοροποίηση. Από τους παραπάνω τύπους ο TGFβ1 φαίνεται να δρα κατασταλτικά στον όγκο στα αρχικά στάδια της καρκινογένεσης, ενώ στα μετέπειτα στάδια του όγκου βοηθά στην ανάπτυξη του⁶⁰. Ωστόσο, από έρευνες που έχουν γίνει έχει βρεθεί ότι ο TGFβ1 δεν αποτελεί αξιόπιστο προγνωστικό παράγοντα⁶¹.

Ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF) σχετίζεται με τη ρύθμιση της ανάπτυξης, του πολλαπλασιασμού, και της διαφοροποίησης των κυττάρων. Για να ξεκινήσει τη δράση του ο EGF συνδέεται με τον υποδοχέα του (EGF-R) που βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη. Ο EGF-R λοιπόν συνδέεται τόσο με τον EGF όσο

και με τον TGFα. Ο υποδοχέας EGF-R και οι αυξητικοί παράγοντες EGF και TGF-α παρουσιάζουν πολύ συχνά υπερέκφραση στον καρκίνο του στόματος⁶². Ωστόσο, η υπερέκφραση των EGF και EGFR στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα της στοματικής κοιλότητας σχετίζεται επίσης και με την καλύτερη απάντηση στην χημειοθεραπεία^{63,64}. Αυτό, πιθανότατα, να συμβαίνει διότι στα καρκινώματα αυτά ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός έχει γρηγορότερο ρυθμό κάνοντάς τα, έτσι, περισσότερο ευαίσθητα στα κυτταροτοξικά φάρμακα.

Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF) και οι υποδοχείς του, παίζουν σημαντικό ρόλο στη δημιουργία νέων αγγείων⁶⁵. Η νεοαγγειογένεση προάγει την εξέλιξη και την εξάπλωση του όγκου. Από έρευνες που έχουν γίνει, έχει βρεθεί ότι έντονη έκφραση του VEGF υφίσταται σε ασθενείς με περιοχικές μεταστάσεις των λεμφαδένων και συνεπώς σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση⁶⁶. Έτσι, ο VEGF μπορεί να αποτελέσει προγνωστικό δείκτη για τον καρκίνο του στόματος⁶⁷.

Ογκογονίδια

Τα ογκογονίδια αποτελούν μεταλλάξεις των πρωτο-ογκογονιδίων, τα οποία βρίσκονται φυσιολογικά στα ανθρώπινα κύτταρα και προάγουν την κυτταρική ανάπτυξη. Παρόλο που τα ογκογονίδια από μόνα τους δεν επαρκούν για την κακοήγη εξαλλαγή των επιθηλιακών κυττάρων, φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στην έναρξη του φαινομένου και είναι γνωστό ότι προκαλούν κυτταρικές αλλαγές μέσω μεταλλάξεων ενός μόνον γενετικού αντιγράφου. Τα ογκογονίδια που ενοχοποιούνται για τον καρκίνο του στόματος είναι πολλά. Μερικά από αυτά είναι το πρωτο-ογκογονίδιο του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR/c-erb 1), μερικά της οικογένειας ras όπως και τα c-myc, int-2, PRAD-1, και bcl-1⁶⁸.

Τα ογκογονίδια H-ras, K-ras, N-ras ανήκουν όλα στην οικογένεια ras και κωδικοποιούν την πρωτεΐνη p21, η οποία βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη και μεταδίδει μιτογενετικά σήματα συνδεδόμενη με το GTP. Τα μιτογενετικά σήματα τερματίζονται με την υδρόλυση του GTP σε GDP. Όταν, όμως, υπάρχει μετάλλαξη στο ras ογκογονίδιο, η μετατροπή αυτή είναι δυνατό να ανασταλεί και να οδηγήσει σε συνεχόμενη διέγερση και πολλαπλασιασμό. Μερικές έρευνες έχουν δείξει ότι ογκογονίδια της οικογένειας ras υπερεκφράζονται στον καρκίνο του στόματος⁶⁹⁻⁷¹. Ωστόσο, οι μεταλλάξεις των ras γονιδίων δεν είναι τόσο συχνές στο στοματικό καρκίνο όσον αφορά το δυτικό κόσμο και υφίστανται σε λιγότερο από 5% όλων των περιπτώσεων^{67,68}. Αντίθετα, στο 55% του καρκίνου του χείλους υπάρχει ras μετάλλαξη⁷².

Στον καρκίνο του στόματος ενεργοποιούνται επίσης αντιγραφικοί παράγοντες που διεγείρουν άλλα γονίδια. Το c-myc αποτελεί ένα από αυτά τα γονίδια.

δια^{73,74}. Το c-myc συμμετέχει στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και η υπερέκφρασή του σχετίζεται συχνά με όγκους πτωχής διαφοροποίησης, ενώ τελευταία έχει παρατηρηθεί και σε μέτριας ή καλής διαφοροποίησης καρκινώματα.

Άλλα ογκογονίδια που σχετίζονται με τον καρκίνο του στόματος είναι το PRAD-1, το hst-1 και το int-2⁷⁵⁻⁷⁸.

Ογκοκατασταλτικά γονίδια

Όπως αναφέρθηκε, προηγουμένως, τα ογκογονίδια από μόνα τους δεν είναι ικανά να προκαλέσουν καρκίνο του στόματος. Η κρίσιμη μετάλλαξη στην οποία οφείλεται τελικά η ανάπτυξη κακοήθειας είναι αυτή των ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια συνήθως απενεργοποιούνται από πιθανές σημειακές μεταλλάξεις και ελλείψεις⁷⁹⁻⁸¹.

Ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο στη μετάλλαξη του οποίου οφείλεται η καρκινογένεση είναι το p53. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί την p53 πρωτεΐνη που είναι υπεύθυνη για τη διέγερση των επανορθωτικών μηχανισμών του DNA σε περίπτωση κάποιας βλάβης. Η μετάλλαξη της p53 μπορεί να είναι είτε σημειακή, η οποία οδηγεί σε μια δομικά αλλαγμένη πρωτεΐνη, είτε ολοκληρωτική έλλειψη τμημάτων του DNA που οδηγεί σε μείωση ή απώλεια της έκφρασης της p53 και της λειτουργικότητάς της. Μετάλλαξη αυτού του γονιδίου υφίσταται στο 70% των συμπαγών όγκων των ενηλίκων⁸². Το p53 έχει αποδειχθεί ότι απενεργοποιείται και στις περιπτώσεις καρκίνου στόματος και πνεύμονα⁸³⁻⁸⁵. Τη μετάλλαξή του διεγείρει το κάπνισμα.

Το doc-1 μεταλλάσσεται στα κακοήθη κερατινοκύτταρα του βλεννογόνου του στόματος, οδηγώντας σε μείωση της έκφρασης και της λειτουργικότητας της αντίστοιχης πρωτεΐνης⁸⁶. Ο ακριβής ρόλος του γονιδίου στην καρκινογένεση δεν έχει καθοριστεί ακόμα πλήρως. Η λειτουργία του πάντως φαίνεται να έγκειται στη μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και στην αύξηση της διαφοροποίησης.

Άλλα ογκοκατασταλτικά γονίδια που έχουν βρεθεί να παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη καρκίνου του στόματος είναι τα pR6, p16 και το LOH⁸⁷⁻⁸⁹.

Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, μπορούμε να πούμε ότι η προγνωστική αξία των κλασικών κλινικοπαθολογικών παραμέτρων τίθεται ορισμένες φορές υπό αμφισβήτηση. Ωστόσο, μέχρι σήμερα η TNM σταδιοποίηση, ο βαθμός και το βάθος διήθησης των ιστών από τον όγκο, καθώς και η διαφοροποίησή του αποτελούν τους βασικούς προγνωστικούς παράγοντες για την πορεία της νόσου. Οι μοριακοί δείκτες φαίνεται να σχετίζονται με την πρόγνωση σε πολλές περιπτώσεις. Παρόλα αυτά η αξιοπιστία τους όσον αφορά την προγνωστική τους

αξία στον καρκίνο του στόματος χρήζει περαιτέρω έρευνας.

Βιβλιογραφία

1. Cawson RA, Odell EW. Essentials of oral pathology and oral medicine. Sixth Edition 228-237. 1998.
2. Verschuur HP, Hish JC, O'Sullivan, et al. A matched control study of treatment outcome in young patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. Laryngoscope 1999; 109:249-58.
3. Kademani D, Bell RB, Bagheti S. et al. Prognostic factor in intraoral squamous cell carcinoma: the influence of histologic grade. J Oral Maxillofac Surg 2005; 63:1599-605
4. Schmidt BL, Dierks EJ, Homer L, Potter B. Tobacco smoking history and presentation of oral squamous cell carcinoma. J Oral Maxillofac Surg. 2004 Sep; 62(9):1055-8.
5. Goldenberg D, Lee J, Koch WM, Kim MM, Trink B, Sidransky D, Moon CS. Habitual risk factors for head and neck cancer. Otolaryngol Head Neck Surg. 2004 Dec; 131(6):986-93.
6. Strome M, Clark J, Fried M. The prognostic implications of defining natural killer cell function and T-cell subsets in patients with squamous cell carcinoma. In: Fee W, Goepfert H, Jones M et al, editors. Head and Neck Cancer. Philadelphia, BC Decker 1990; 89-93.
7. Schantz SB, Goepfert TH. Multimodal therapy in distant metastasis: The impact of natural killer cell activity. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 1987; 113:1207-13.
8. Anneroth G, Batsakis J, Luna M. Review of the literature and recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas. Scand J Dent Res 1987; 95:229-49.
9. Cognetti FC, Pinnar P, Ruggeri EM et al. Prognostic factors for chemotherapy response and survival using combination chemotherapy as initial treatment for advanced head and neck squamous cell cancer. J Clin Oncol 1989; 7:829-37.
10. Daniele E, Rodolico V, Leonardi V, Tralongo V. Prognosis in lower lip squamous cell carcinoma: Assessment of tumor factors. Pathol Res Pract 1998; 194: 319-24.
11. Gorsky M, Epstein JB, Oakley C, Le ND, Hay J, Stevenson-Moore P. Carcinoma of the tongue: a case series analysis of clinical presentation, risk factors, staging, and outcome. Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol Edod. 2004 Nov; 98(5):546-52
12. Sciubba JJ. Oral cancer. The importance of early diagnosis and treatment. Am J Clin Dermatol. 2001; 2(4):239-51.
13. Fang FM, Leung SW, Huang CC, Liu YT, Wang CJ et al. Combined-modality therapy for squamous carcinoma of the buccal mucosa: treatment results and prognostic factors. Head Neck 1997; 19:506-12.
14. Woolgar JA, Scott J. Prediction of cervical lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the tongue/floor of mouth. Head Neck 1995; 17:463-72.
15. Frierson HF, Cooper PH. Prognostic factors in squa-

- mous cell carcinoma of the lower lip. *Hum Pathol* 1986; 17: 346-54.
16. Baatenburg de Jong RJ, Hermans J, Molenaar J, Bri-aire JJ, Le Cessie S. Prediction of survival in patients with head and neck cancer. *Head Neck* 2001; 23:718-24.
 17. Einband JD, Elias EG, Suter CM, Gray WC, Didolkar MS. Prognostic factors in squamous cell carcinoma of the larynx. *Am J Surg* 1989; 158:314-7.
 18. Szabo G, Klen G, Veer A, Nemeth Z. Correlation of the combination of alcoholism and smoking with the occurrence of cancer in the oral cavity. A screening study in an endangered population. *Mund-Kiefer Gesichts Chir* 1999; 3:119-22.
 19. Mitsuo Goto, Yasuhima Hasegawa, Akihiro Terada, Ikuo Hyodo, Nobuhiro Hanai, Kei Ijichi, Hiroko Yamada, Yasushi Fujimoto and Tetsuya Ogawa. Prognostic significance of late cervical metastasis and distant failure in patients with stage I and II oral tongue cancers. *Oral Oncology*. 2005 Jan; 44(1):62-9.
 20. Merino OR, Lindberg RD, Fletcher GH. An analysis of distant metastasis from squamous cell carcinoma of the upper respiratory and digestive tracts. *Cancer* 1977; 40:145-51.
 21. Zbaren P, Lehmann W. Frequency and sites of distant metastases in head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1987; 113:762-4.
 22. Broders AC. The microscopic grading of cancer. *Surg Clin North Am* 1941; 21:947-61.
 23. Bryne M, Koppang HS, Lilleng R, Stene T, Bang G et al. New malignancy grading is a better prognostic indicator than Broders grading in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 1989; 18:432-7.
 24. Thomson ST CL. The history of cancer of the larynx. *J Laryngol* 1939; 54:61-87.
 25. Jacobsson PA, Eneroth CM, Killander D, Moberger G, Martensson B et al. Histologic classification and grading of malignancy in carcinoma of the larynx (a pilot study). *Acta Radiol Ther Phys Biol* 1973; 12:1-8.
 26. Morimoto Y, Kurokawa H, Tanaka T, Yamashita Y, Kito S, Okabe S et al. Correlation between the incidence of central nodal necrosis in cervical lymph node metastasis and the extent of differentiation in oral squamous cell carcinoma. *Dentomaxillofac Radiol*. 2006 Jan; 35(1):18-23.
 27. Byers RM, O'Brien CJ, Waxler J. The therapeutic and prognostic implications of nerve invasion in cancer of the lower lip. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1978; 4:215-9.
 28. Fagan JJ, Collins B, Barnes L, D'Amico F, Myers EN, Johnson JT. Perineural invasion in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 1998 Jun;124(6):637-40.
 29. Αντωνιάδης Κ, Παπαδάκη Μ, Αντωνιάδης Β, Κιριζίδου Α. Περινευρική διήθηση - Καρκίνος του στόματος, *ΣΤΟΜΑ* 2000; 28:269-74.
 30. Artese L, Rubini C, Ferrero G, Fioroni M, Santinelli A et al. Microvessel density (MVD) and vascular endothelial growth factor expression (VEGF) in human oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 2001; 21:689-95.
 31. Alcade RE, Shintani S, Yoshihama Y, Matsumura T. Cell proliferation and tumor angiogenesis in oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 1995; 15:1417-22.
 32. Ito T, Fujieda S, Tsuzuki H, Sanaga H, Fan G et al. Decreased expression of Bax is correlated with poor prognosis in oral and oropharyngeal carcinoma. *Cancer Lett* 1999; 140: 81-91.
 33. Akashi-Tanaka S, Tsuda H, Fukuda H. Prognostic value of histopathological therapeutic effects and mitotic index in locally advanced breast cancers after neoadjuvant chemotherapy. *Jap J Clin Otolaryngol Abstract* 1999; 193:5-11.
 34. Sudbo J, Bryne M, Johannessen AC, Kildal W, Danielsen HE et al. Comparison of histological grading and large scale genomic status (DNA ploidy) as prognostic tools in oral dysplasia. *J Pathol* 2001; 194:303-10.
 35. Koelbl O, Rosenwald A, Haberl M et al. p53 and Ki-67 as predictive markers for radiosensitivity in squamous cell carcinoma of the oral cavity? An immunohistochemical and clinicopathological study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 49:147-54.
 36. Rua S, Comino A, Fruttero A, Cera G, Semeria C et al. Relationship between histologic features, DNA flow cytometry, and clinical behaviour of squamous cell carcinomas of the larynx. *Cancer* 1991; 67:141-9.
 37. Tylor M, Gerryd P, Grenko R, Lundgren J, Lundquist PG et al. Adenoid cystic carcinoma: significance of DNA ploidy. *Head Neck* 1995; 17:319-27.
 38. Bradford CR, Wolf GT, Carey TE, Zhu S, Beals TF. Predictive markers for response to chemotherapy, organ preservation, and survival in patients with advanced laryngeal carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 121:534-8.
 39. Kim MJ, Lim KY, Kim JW, Nam IW, Lee JH, Myoung H. Stage and mRNA expression of survivin in lymph node as prognostic indicators in patients with oral squamous cell carcinoma. *Cancer Lett*. 2005 Jun 28; 224(2):253-61.
 40. Allison RT, Best T. p53, PCNA and Ki-67 expression in oral squamous cell carcinomas: the vagaries of fixation and microwave enhancement of immunocytochemistry. *J Oral Pathol Med*. 1998 Oct; 27(9):434-40.
 41. Bradford CR, Wolf GT, Carey TE, Zhu S, Beals TF. Predictive markers for response to chemotherapy, organ preservation, and survival in patients with advanced laryngeal carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 121:534-8.
 42. Liu M, Lawson G, Delos M, Jamart T, Ide C. Predictive value of the fraction of cancer cells immunolabeled for proliferating cell nuclear antigen or Ki67 in biopsies of head and neck carcinomas to identify lymph node metastasis: comparison with clinical and radiologic examinations. *Head Neck* 2003; 25:280-8.
 43. Gonzalez-Moles MA, Cabalero R, Rodriguez--Archilla A. Prognosis value of the expression of Ki-67 for squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Acta Stomatol Belg* 1996; 93:159-65.
 44. Migaldi M, Criscuolo M, Zunarelli E, Lo Bianco L, Martinelli BM et al. p120 and AgNOR nucleolar protein

- expression. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85:189-96.
45. Teixeira G, Antonangelo L, Kowalski L, Saldiva P, Ferrar A et al. Argyrophilic nucleolar organizer regions staining is useful in predicting recurrence-free interval in oral tongue and floor of mouth squamous cell carcinoma. *Am J Surg* 1996; 172:681-3.
 46. Patel V, Aldridge K, Ensley JF, Odell E, Boyd A et al. Laminin-gamma2 overexpression in Head and Neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2002; 99:583-8.
 47. Pirila E, Sharabi A, Salo T, Quaranta V, Tu H et al. Matrix metalloproteinases process the laminin-5 gamma2-chain and regulate epithelial cell migration. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 18: 303:1012-7.
 48. De Vicente JC, Fresno MF, Villalain L, Vega JA, Hernandez Vallejo G. Expression and clinical significance of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*. 2005 Mar; 41(3):283-93.
 49. Nyberg P, Moilanen M, Paju A, Sarin A, Stenman UH, Sorsa T, Salo T. MMP-9 activation by tumor trypsin-2 enhances in vivo invasion of human tongue carcinoma cells. *J Dent Res*. 2002 Dec; 81(12):831-5.
 50. Juarez J, Clayman G, Nakajima M, Tanabe KK, Saya H, Nicolson GL, Boyd D. Role and regulation of expression of 92-kDa type-IV collagenase (MMP-9) in 2 invasive squamous-cell-carcinoma cell lines of the oral cavity. *Int J Cancer*. 1993 Aug 19; 55(1):10-8.
 51. Shi H, He R, Lin G. Role of type IV collagenase and type IV collagenase in the invasion and metastasis of salivary adenoid cystic carcinoma. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 1997; 15:218-9.
 52. Kylmaniemi M, Oikarinen A, Oikarinen K, Salo T. Effects of dexamethasone and cell proliferation on the expression of matrix metalloproteinases in human mucosal normal and malignant cells. *J Dent Res*. 1996 Mar; 75(3):919-26.
 53. Beppu M, Ikebe T, Shirasuna K. The inhibitory effects of immunosuppressive factors, dexamethasone and interleukin-4, on NF-kappaB-mediated protease production by oral cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2002 Jan 2;1586(1):11-22.
 54. Nyberg P, Heikkila P, Sorsa T, Luostarinen J, Heljasvaara R, Stenman UH et al. Endostatin inhibits human tongue carcinoma cell invasion and intravasation and blocks the activation of matrix metalloproteinase-2, -9, and -13. *J Biol Chem*. 2003 Jun 20; 278(25):22404-11.
 55. Sundelin K, Roberg K, Grenman R, Hakansson L. Effects of cytokines on matrix metalloproteinase expression in oral squamous cell carcinoma in vitro. *Acta Otolaryngol*. 2005 Jul; 125(7):765-73.
 56. Wong DT, Weller PF, Galli SJ, et al. Human eosinophils express transforming growth factor alpha. *J Exp Med* 1990; 172:673-81.
 57. Todd R, Chou MY, Matossian K, et al. Cellular sources of transforming growth factor-alpha in human oral cancer. *J Dent Res* 1990; 70:917-23.
 58. Todd R, Donoff BR, Gertz R, et al. TGF- and EGF receptor mRNAs in human oral cancers. *Carcinogenesis* 1989; 10:1553-6.
 59. Grandis JR, Tweardy DJ. Elevated levels of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor alpha and epidermal growth factor receptor messenger RNA are early markers of head and neck cancer. *Cancer Res* 1993; 53:3579-84.
 60. Prime SS, Davies M, Pring M, Paterson IC. The role of TGF-beta in epithelial malignancy and its relevance to the pathogenesis of oral cancer (part II). *Crit Rev Oral Biol Med*. 2004 Nov 1; 15(6):337-47.
 61. Logullo AF, Nonogaki S, Miguel RE, Kowalski LP, Nishimoto IN, Pasini FS et al. Transforming growth factor beta1 (TGFbeta1) expression in head and neck squamous cell carcinoma patients as related to prognosis. *J Oral Pathol Med*. 2003 Mar; 32(3):139-45.
 62. Partridge M, Gullick WJ, Langdon JD, et al. Expression of epidermoid growth factor receptor in oral squamous cell carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1988; 26:381-9.
 63. Osaku M, Ueda M, Miyakawa T, Toyoda H, Uesato K, Yamada Y et al. Correlation between EGF receptor expression and peplomycin cytotoxicity in squamous cell carcinoma cell lines. *Oncol Rep*. 2001 Jul-Aug; 8(4):855-60.
 64. Nouri AM, Thompson C, Cannell H, Symes M, Purkiss S, Amirghofran Z. Profile of epidermal growth factor receptor (EGFr) expression in human malignancies: effects of exposure to EGF and its biological influence on established human tumour cell lines. *Int J Mol Med*. 2000 Oct;6(4):495-500.
 65. Partridge M, Emilion G, Pateromichelakis S et al. The prognostic significance of allelic imbalance at key chromosomal loci in oral cancer. *Br J Cancer* 1999;79:1821-7.
 66. Kikuchi K, Kusama K, Sano M, Nakanishi Y, Ishige T, Ohni S et al. Vascular endothelial growth factor and dendritic cells in human squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Anticancer Res*. 2006 May-Jun; 26(3A):1833-48.
 67. Jablonska E, Piotrowski L, Jablonski J, Grabowska Z. VEGF in the culture of PMN and the serum in oral cavity cancer patients. *Oral Oncol*. 2002 Sep; 38(6):605-9.
 68. Todd R, Donoff RB, Wong DTW. The molecular biology of oral cancer: toward a tumour progression model. *J Oral Maxillofac Surg* 1997; 55:613-23.
 69. McDonald JS, Jones H, Pavelic ZP, et al. Immunohistochemical detection of the H-ras, K-ras and N-ras oncogenes in squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Oral Pathol Med* 1994; 23:342-6.
 70. Wendell G, Yarborough MD, Shores C, et al. Ras mutations and expression in head and neck squamous cell carcinomas. *Laryngoscope* 1994; 104:1337-47.
 71. Kiaris H, Spandidos DA, Jones AS, et al. Mutations, expression and genomic instability of the H-ras oncogene in chewing tobacco-related human oral carcinoma in India. *Br J Cancer* 1991; 63:70-4.
 72. Milasin J, Pujic N, Dedovic N, et al. High incidence of H-ras mutations in squamous cell carcinoma of lip vermilion. *J Oral Pathol Med* 1994; 23:298-301.
 73. Field JK. The role of oncogenes and tumour suppressor genes in the aetiology of oral, head and neck squamous cell carcinoma. *J R Soc Med* 1995; 88:35P-9P.
 74. Spandidos DA, Lamonth A, Field JK. Multiple tran-

- scriptional activation of cellular oncogenes in human head and neck solid tumours. *Anticancer Res* 1985; 5:221-4.
75. Williams ME, Gaffey MJ, Weiss LM, et al. Chromosome 11q13 amplification in head and squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1993; 119:1238-43.
76. Callender T, El-Nagger AK, Lee MS, et al. PRAD-1 (CCND)/cyclin D1 oncogene amplification in primary head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer* 1994; 74:152-8.
77. Lese CM, Rossie KM, Appel BN, et al. Visualisation of int-2 and HST1 amplification in oral squamous cell carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer* 1985; 12:288-95.
78. Somers KD, Cartwright SL, Schechter GL. Amplification of the int-2 gene in human head neck squamous cell carcinomas. *Oncogene* 1990; 5:915-20.
79. Lee WH. Tumour suppressor genes the hope [editorial]. *FASEB J* 1993; 7:819.
80. Yokota J, Sugimura T. Multiple steps in carcinogenesis involving alterations of multiple tumour suppress genes. *FASEB J* 1993; 7:920-5.
81. Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer. *Trends Genet* 1993; 9:138-41.
82. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, et al. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253:49-53.
83. Langdon JD, Partidge M. Expression of the tumour suppressor gene p53 in oral cancer. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1992; 30:214-20.
84. Brennan A, Boyle JO, Koch WM. Association between cigarette smoking and mutation of the p53 gene in squamous cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 1995; 332:712-17.
85. Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, et al. Mutations in the p53 tumour suppressor gene: clues to cancer aetiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res* 1994; 54:4855-78.
86. Todd R, McBride J, Tsuji T, et al. Deleted in oral cancer-1 (doc-1) a novel oral tumour suppressor gene. *FASEB J* 1995; 9:1362-70.
87. Pande P, Mathur MR, Shukla NK, et al. PRb and p16 protein alterations in human oral tumorigenesis. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1998; 34:396-403.
88. Largey JS, Meltzer SJ, Sauk JJ, et al. Loss of heterozygosity involving the APC gene in squamous cell carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1994; 77:260-3.
89. Huang JS, Chiang CP, Kok S-H. Loss of heterozygosity of APC and MCC genes in oral squamous cell carcinomas in Taiwan. *J Oral Pathol Med* 1997; 26:322-6.