

STUDIUL ANGIOGENEZEI SI LIMFANGIOGENEZEI IN CARCINOAMELE SCUAMOASE ORALE

Raport- ETAPA FINALA-2007

Introducere.

Cancerile orale reprezinta o problema majora de sanatate în lume atât datorita incidentei crescute si a ratei reduse de supravietuire, cât si prin defectele functionale si cosmetice ce insotesc boala si tratamentul ei. În ciuda usurintei cu care poate fi examinata direct cavitatea orala, aceste canceri sunt înca detectate într-un stadiu clinic tardiv, rata lor de supravietuire ramânând neschimbata de-a lungul ultimilor trei decenii cu toate progresele realizate în tratamentul chirurgical, radiologic si chimioterapic, situându-se la 50-55% pentru cinci ani [1,2].

În Statele Unite, pentru cancerile orale si orofaringiene se apreciaza o incidenta de aproximativ 3% din totalul neoplaziilor maligne la barbat si respectiv 2% la persoanele de sex feminin [3], carcinomul scuamos oral fiind responsabil de 90% din totalitatea acestora [1,4]. În ultima jumătate de secol s-a constatat o crestere a incidentei neoplaziilor orale în rândul femeilor si al tinerilor, probabil datorita expunerii în mod egal a acestora la carcinogenii orali cunoscuti, asa cum este tutunul si alcool [5,6].

Carcinogeneza orala constituie un model unic pentru studierea naturii multistadiale a cancerului prin prezenta subsecventa la acelasi individ a leziunilor precanceroase si a celor maligne invazive, reflectând progresia alterarilor fenotipice si genotipice asociate bolii [7,8].

Asa cum s-a demonstrat experimental [9,10] unul din evenimentele importante ale tumorigenezei este achizitionarea unei retele sanguine de nutritie –angiogeneza. Angiogeneza, care presupune formarea de noi vase sanguine din cele preexistente, constituie unul din fenotipurile esentiale ale dezvoltarii neoplazice, fenomen implicat si în procesele fiziologice normale [11-13]. Într-o serie de experimente, devenite deja clasice, Folkman si colab. [14] au demonstrat ca tumorile solide nu pot sa creasca mai mult de 2-3mm în diametru fara a fi capabile sa-si induca propria nutritie sanguina. Progresia celulei normale spre una maligna duce la achizitionarea unui fenotip angiogen “swich” care presupune secretia din partea celulei neoplazice a unei cantitati crescute de factori proangiogeni si inhibarea secretiei de factori inhibitori.

Procesul în sine de angiogeneza tumorală este unul complex care implica relatii intercelulare extensive si o desfasurare seceventiala pe parcursul a mai multor etape: 1) eliberarea proteazelor din celulele endoteliale activate; 2) degradarea membranei bazale a

vasului preexistent; 3) migrarea celulelor endoteliale în spatiul interstitial; 4) proliferarea celulelor endoteliale; 5) formarea lumenului vascular- remodelare vasculara; 6) sinteza de noi precursori pentru o noua membrana bazala; 6) recrutarea si reasamblarea pericitelor; 7) fuzionarea vaselor noi formate; 8) initierea fluxului sanguin.

Interrelatiile dintre celulele tumorale si diferitii constituinti ai stromei înconjuratoare par sa joace si ele un rol important în diferitele aspecte ale biologiei tumorilor inclusiv în inducerea indirecta a angiogenezei. În carcinoamele scuamoase orale, celulele neoplazice atrag monocitele circulante, le activeaza devenind macrofage care secreta factori proangiogeni, dar si anumite citochine care prin actiune paracrina asupra celulelor tumorale determina producerea de nivele crescute de IL-8 si VEGF [15,16]. Mastocitul pare a fi un promotor al angiogenezei normale si tumorale, fapt demonstrat si pentru carcinoamele scuamoase orale [17,18], densitatea lor corelându-se cu microdensitatea vasculara [19].

Toate aceste studii au dus la conturarea unei terapii antitumorale relativ noua, terapia antiangiogenica a carei tinta directa o constituie celulele endoteliale care formeaza microvascularizatia tumorii si prin aceasta controleaza cresterea sa. O serie de experimente animale au demonstrat eficienta unor din agentii antiangiogeni în blocarea cresterii carcinoamelor scuamoase de la nivelul capului si gâtului [20-23], motiv pentru sunt unele sunt folosite în practica chimioterapeutica curenta a carcinoamelor orale sau fac obiectul de studiu al unor trialuri clinice în curs de desfasurare [24-27].

Este stiuta tendinta carcinoamelor orale de a metastaza inca din stadiile incipiente in limfoganglionii laterocervicali, ca urmare a particularitatiilor anatomice ale cavitatii orale [28]. In mare parte acesta caracteristica fenotipica a CSO se datoreaza limfangiognezei, ce presupune formarea de noi vase limfatice din cele preexistente. Unii autori au demonstrat o corelatie directa intre nivelul expresiei VEGF-C in celulele tumorale si rata metastazarii limfoganglionare in CSO [29,30]. Ohno si colab. [31] au aratat ca limfangiogeneza intratumorala din CSO prezinta variatii topografice, neexistand in zonele profunde ale tumorii, la marginea frontului de invazie, cel mai probabil datorita scaderii expresiei VEGF-C in celulele tumorale de la acest nivel.

MATERIAL SI METODE

Prezentul studiu a fost realizat în parte retrospectiv, în parte prin selectarea cazurilor actuale. Cazurile investigate au fost selectionate pe parcursul ultimilor 5 ani ianuarie 2003-septembrie 2007.

Datele clinice ale cazurilor selectate retrospectiv au fost extrase din foile de observatie aflate în arhiva Clinicii de Chirurgie Oro-Maxilo-Faciala, din registrele Policlinicii Spitalului Clinic Judetean de Urgenta Craiova, precum si din registrele Laboratorului de Anatomie Patologica al aceluiasi spital. Principalele date investigate au fost cele epidemiologice (vârsta pacientilor, sexul si identificarea unora dintre factorii de risc asociati cu carcinogeneza orala, cum ar fi asocierea unor leziuni premaligne sau existenta în antecedente de cazuri familiale de cancer oral), date legate de topografia

lezionala (oferite de examenul local si explorari paraclinice) si unele caracteristici macroscopice ale pieselor operatorii (marimea, gradul extensiei tumorale, invazia în structurile adiacente, prezenta focarelor necrotice sau hemoragice si a metastazelor loco-regionale).

Materialul histopatologic utilizat a fost reprezentat de blocuri de parafina corepondente cazurilor selectate existente în histoteca Laboratorului de Anatomie Patologica iar pentru cazurile noi selectate de piesele de exereza chirurgicala furnizate de Clinica de Chirurgie Oro-Maxilo-Faciala. Acestea din urma au fost prin tehnica uzuala de includere la parafina, dupa fixarea în prealabil în formol 10% tamponat, saplare (24H în apa curgatoare), deshidratare (în alcoluri etilice de concentratie crescândă: 50°, 70°, 90° si 100°) si clarificare (în benzen). Blocurile de parafina atât cele vechi cât si cele nou obtinute au fost sectionate la microtom, iar sectiunile seriate rezultate au fost colorate cu coloratia uzuala Hematoxilina-Eozina si cu coloratii speciale tricromic Goldner Szechelly, PAS si Giemsa.

Evaluarea histopatologica a leziunilor a vizat urmatorii parametrii: varietatea carcinomului scuamos, gradul de diferentiere, stadiul progresiei tumorale, aspectul metastazelor, prezenta celulelor maligne reziduale la nivelul marginilor de siguranta, asocierea cu leziuni displazice sau cu alte modificari.

Toate datele colectate (clinico-epidemiologice si histopatologice) au fost stocate computerizat cu ajutorul programului Microsoft Excel (versiunea 2002). O parte a acestor rezultate a fost inscrisa si pe o pagina web (<http://www.grants.umfcv.ro/pniiidpce20071/Prezentare.html>).

REZULTATE SI DISCUTII

Studiul efectuat asupra carcinoamelor mucoasei orale a cuprins un numar de 321 de cazuri ce au constituit 44 % în cadrul patologiei oro-maxilo-faciale pentru intervalul de timp 2003-2007 luat în consideratie. Numarul cazurilor diagnosticat în fiecare an calendaristic luat în studiu a variat între 63 si 73 cazuri, incidenta maxima situându-se în anii 2003 si 2006 cu 73 si respective 71 de cazuri fiecare. Numarul mic de cazuri din anul 2007 se explica prin perioada mai scurta de circa 9 luni de zile pe care s-a facut investigatia, perioada impusa de necesitatea obtinerii de rezultate în vederea finalizarii etapei finale de grant pe anul în curs.

Tabel 1 Repatitia cazuisticii pe ani calendaristice

An calendaristic	2003	2004	2005	2006	2007
Nr. cazuri	73	63	67	71	47
Procente %	22,74	19,63	20,87	22,18	14,58

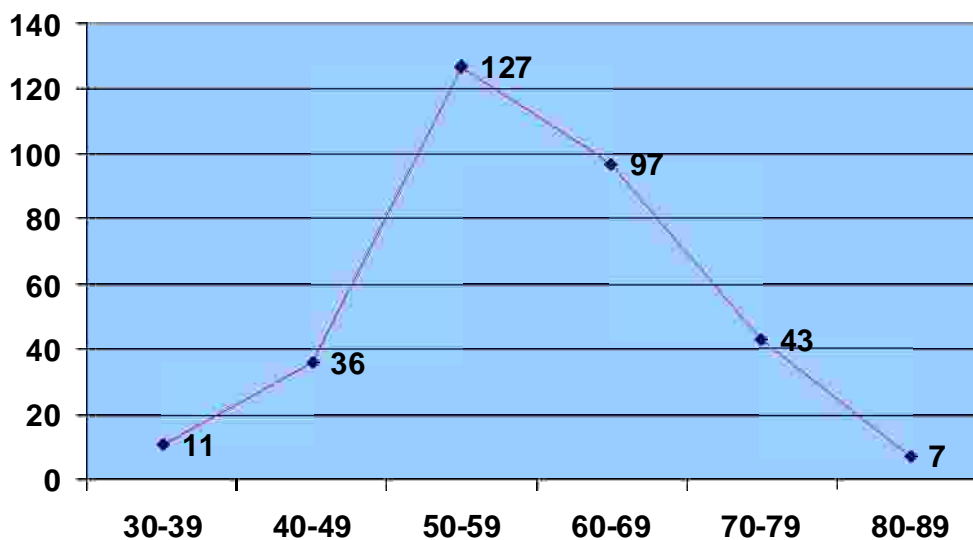
În Statele Unite, Societatea Americana de Cancer a estimat pentru anul 2002 o incidență de 28.900 de noi cazuri de cancer oral din care 7.400 vor deceda [32]. La nivel mondial în anul 2000 au fost raportate 389650 de cazuri de cancer la nivelul capului și gâtului, 266672 dezvoltându-se exclusiv la nivelul cavității orale și 122978 la nivelul orofaringelui [33]. Cea mai mare incidență a cancerului oral este în India, unde reprezintă aproximativ 40% din totalitatea cancerelor umane [33-34]. În Europa incidența variază de la 6 cazuri la 100000 de locuitori în Anglia și Țara Galilor la 16,5/100000 în Malta, unde incidența cea mai mare o au cancerele de buza, cel mai probabil datorită expunerii la razele solare [34]. Procente asemănătoare celor din Malta au fost raportate și în Polonia și în Spania. Variații și mai mari în ceea ce privește incidența cancerului oral au fost consemnate în America de Nord și Canada. Cel mai mare risc în dezvoltarea cancerelor orale se pare că îl au cei din Newfoundland, pescarii de aici fiind de 4,4 ori mai predispuși la cancer de buza decât bărbații ce au orice altă profesie [33].

Date epidemiologice

2 Analizând repartitia carcinoamelor scuamoase luate în studiu în funcție de **grupele de vârstă**, am observat că tumorile au fost diagnosticate la pacienți cu vârstă cuprinsă într-un interval destul de larg, care a variat între decadele III-IX de viață.

Tabel nr.2 Repartitia carcinoamelor orale pe grupe de vârstă

Grupe de vârstă	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89
Nr. cazuri	11	36	127	97	43	7
Procente %	3,43	11,20	39,56	30,22	13,4	2,19



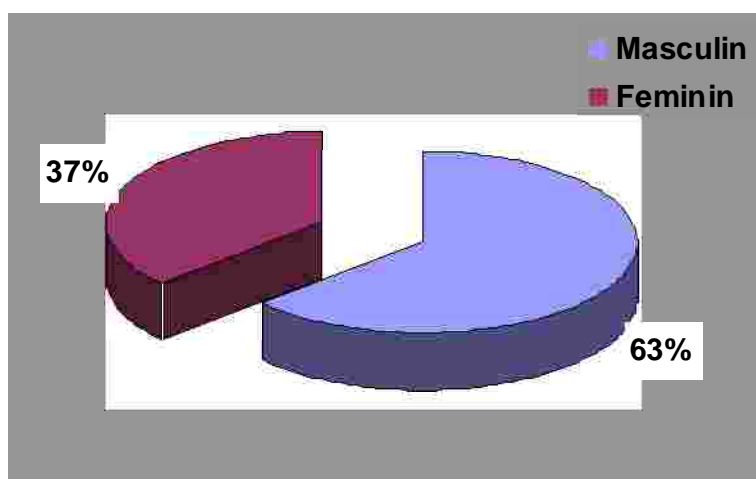
Se poate remarca faptul ca incidenta carcinoamelor orale a crescut progresiv cu fiecare decada de viata, începând cu decada a IV-a pâna în decada a VIII-a. Desi intervalul de vârsta al pacientilor diagnosticati cu astfel de tumori a fost destul de întins, marea majoritate a cazurilor analizate (83,18 %) le-am întâlnit în intervalul cuprins între 50-79 de ani. În primele trei decade de viata nu am întâlnit nici un caz, iar în decada a IV a de viata, premergatoare celor cu incidenta maxima, leziunile au fost reduse numeric, respectiv la numai 11 cazuri. Peste vârsta de 80 de ani incidenta leziunilor a prezentat o scadere marcata fata de decadele anterioare, constitund 2,19 % dintre cazurile analizate si aceasta datorita numarului mic al populatiei ajunse la caeasta vârsta (durata medie de viata fiind sub 60 de ani). Cel mai tânar pacient a avut 33 de ani, iar cel mai vârstnic 83 de ani.

Datele similare din literatura mentioneaza faptul ca aceasta varietate de cancer este o boala a vârstnicului, incidenta sa crescând evident cu înaintarea în vârsta. Se estimeaza ca aproximativ 77% din cancerele orale se dezvolta între 55-77 de ani, iar vârsta medie a diagnosticului se situeaza în jur de 64 de ani, aproximativ 95 % dintre pacientii diagnosticati cu carcinoame scuamoase orale având peste 40 de ani [35-37]. În Marea Britanie vârsta medie a cancerelor orale este de 64 de ani pentru barbati si de 61 de ani pentru femei [1, 33]. În ultimele decade o serie de rapoarte din tarile vestice indica o crestere a incidentei cancerelor orale îndeosebi la persoanele tinere [37-38].

2 În ceea ce priveste incidenta leziunilor pe **sexe** am constatat o predominanta neta a afectiunilor la sexul masculin la care am gasit 203 din cele 321 de carcinoame orale luate în studiu.

Tabel nr. 3 Repartitia carcinoamelor orale pe sexe

Sex	Masculin	Feminin
Nr. cazuri	203	118
Procente %	63	37



Se poate observa faptul ca 63 % din cazurile analizate au aparținut sexului masculin, spre deosebire de sexul feminin la care au fost diagnosticate 118 cazuri ce au constituit 37% dintre tumorile analizate. Asadar raportul pe sexe pe cazuistica noastra este de 1,72 în favoarea sexului masculin.

În literatura datele similare referitoare la carcinoamele mucoasei orale apreciaza ca tumorile intraorale si orofaringiene sunt mult mai frecvent întâlnite la barbati decât la femei, raportul barbati:femei fiind de peste 2:1 [2,4, 39]. Totusi aceasta disproporie între barbati:femei privind incidenta cancerelor orale a devenit mai puțin pronuntata de-a lungul ultimilor 50 de ani, cel mai probabil prin faptul ca femeile sunt expuse în mod egal la carcinogenii orali asa cum sunt fumatul si alcoolul [5, 40].

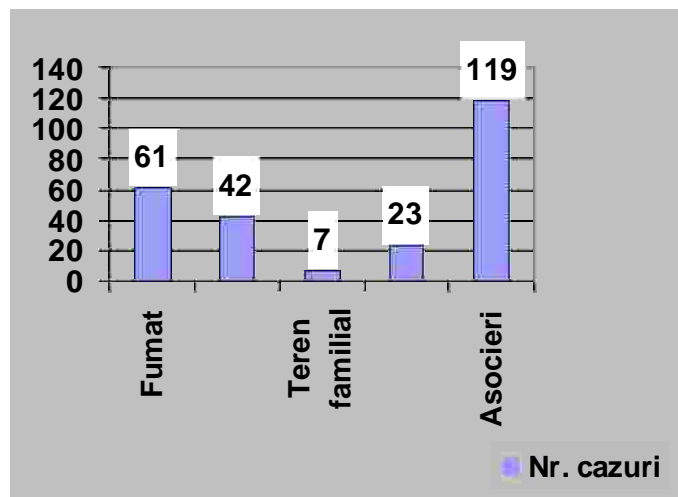
Parkin si colab. [33] au apreciat ca la nivel mondial cancerile orale reprezinta 5% din totalitatea cancerelor la barbat si respectiv 3% din neoplaziile maligne ale femeilor. La barbati, tarile cu cele mai ridicate rate de incidenta dintre tarile vestice sunt Franta, Elvetia (mai ales în rândul populatiei de origine franceza), Italia de Nord, tarile Europei Centrale si de Est (în special Ungaria) si tari din America Latina. În SUA incidenta acestor cancer este de 2 ori mai ridicata printre barbatii din rasa neagra decât la barbatii din rasa alba [33]. Astfel, o serie de rapoarte au aratat ca incidenta anuala a cancerelor orale si orofaringiene la afro-americieni este de 12,4 cazuri la 100000 de locuitori cu mult mai mare decât cea de la cei din rasa alba cu 9,7 cazuri la 100000 de locuitori, cea mai mare incidenta înregistrându-se printre barbatii afro-americieni cu 20,5 cazuri la 100000 de locuitori [1, 2].

Spre deosebire de carcinoamele intraorale si orofaringiene, cancerile vermilionului buzelor sunt mult mai înrudite epidemiologic cu carcinoamele scuamoase tegumentare, ele dezvoltându-se îndeosebi la barbatii din rasa alba [4]. Aceste cancer sunt puternic asociate expunerii cronice la radiatiile solare, desi uneori acestea s-au dezvoltat îndeosebi la locul de contact cu tigarile sau pipele la fumatori [5].

2 Anamneza pacientilor, precum si datele retrospective obtinute din foile de observatie clinica ne-au permis evidentierea unora dintre *factorii de risc* asociati cu carcinogeneza orala. Printre acestia se numara: fumatul, alcoolismul, terenul familial si afectiunile preexistente. Obtinerea datelor retrospective a fost posibila doar pentru un numar de 236 de cazuri, deoarece în restul cazurilor recolatarea a constat în mici fragmente prelevate în scop diagnostic, în Policlinica Spitalului Judetean de Urgenta Craiova, fara întocmirea foii de observatie.

Tabel 5 Repartitia cazuisticii în functie de factorii de risc

Factori risc	Fumat	Alcoolism	Teren familial	Leziuni preexistente	Asocieri
Nr. cazuri	61	42	7	23	119
Procente %	25,85	17,8	2,97	9,75	43,63



Am observat faptul ca cel mai adesea factorii de risc s-au asociat între ei, fiind vorba în special de alcoolism si fumat sau de alcoolism, fumat si afectiunile preexistente. Daca numai fumatul sau numai etanolismul cronic s-au regasit în antecedentelor acestor pacienti în proportie de 17,8% si respectiv de 2,97%, cei doi factori de risc asociati au fost prezenti la un numar de 99 pacienti, constituind 41,94% dintre cazurile analizate. Asocierea dintre fumat si leziunile preexistente a fost prezenta în proportie redusa de numai 1,69%.

Afectiunile locale preexistente neoplaziilor le-am întâlnit în 23 cazuri, izolate sau în asociere cu fumatul, fiind reprezentate de inflamatiile cronice ale limbii si buzelor (tuberculoza, candidoza), leziunile precanceroase (cheilita actinica, leucoplazia) si microtraumatismele (carii dentare, lucrari dentare defectuoase, etc).

Potivit datelor din literatura de specialitate factorii de risc majori pentru cancerile orale sunt: fumatul si alcoolismul, factori care actioneaza sinergic [17]. În Europa, America si Japonia, cei doi factori de risc sunt implicati în 75% din malignitatile cu dezvoltare orala si orofaringiana [18, 41]. Studii epidemiologice au aratat ca riscul dezvoltarii cancerelor orale este de 5-9 ori mai mare la fumatori comparativ cu persoanele nefumatoare, iar riscul poate creste de pâna la 17 ori la fumatorii înraiti ce consuma mai mult de 80 de tigari pe zi [4, 17, 42-45]. Procentajul pacientilor cu cancer oral fumatoare (aproximativ 80%) este de 2-3 ori mai mare decât cel al populatiei generale. În plus pacinetii cu cancer oral tratati care continua sa fumeze au un risc de 2-6 ori mai mare pentru dezvoltarea unei tumori maligne secundare a tractului superior aerodigestiv fata de cei care s-au oprit din fumat [5, 46].

În studii controlate pentru fumat, bautorii moderati sau mari consumatori au prezentat un risc de 3-9 ori mai mare în dezvoltarea cancerelor orale [17, 42, 43, 45]. Un studiu efectuat în franta a aratat ca un consum mai mare de 100 de grame de alcool pe zi creste riscul în dezvoltarea cancerelor orale si orofaringiene de pâna la 30 de ori [44].

De semnificatie si mai mare este efectul sinergic al expunerii la alcool si fumat, unele categorii de pacienti care sunt si fumatori înraiti si mari consumatori de alcool au un risc de de peste 100 de ori de a dezvolta o neoplazie maligna [47, 48]. Riscul relativ în

studiile caz- control au aratat un efect supermultiplicativ în cavitatea orala, unul între aditiv si multiplicativ la nivelul esofagului si unul multiplicativ în laringe, în concordanta cu gradul de contact al acestor zone cu ambii factori de risc [49]. O mare parte din cresterea incidentei cancerelor orale în tarile vestice din ultimii ani a fost atribuita consumului crescut de alcool în Europa de Nord [50] si a consumului de tutun în Europa de Sud.

Infectiile cu HPV, mai ales genotipurile 16 si 18, stiute ca având potential oncogenic la nivelul cervixului si pielii sunt implicate în proportii variabile, dar în general mici în geneza cancerelor orale [51-55]. Astfel HPV-16 a fost detectat în 22% din cancerle orale, în timp ce HPV-18 a fost evidentiat în 14% din cazuri [55].

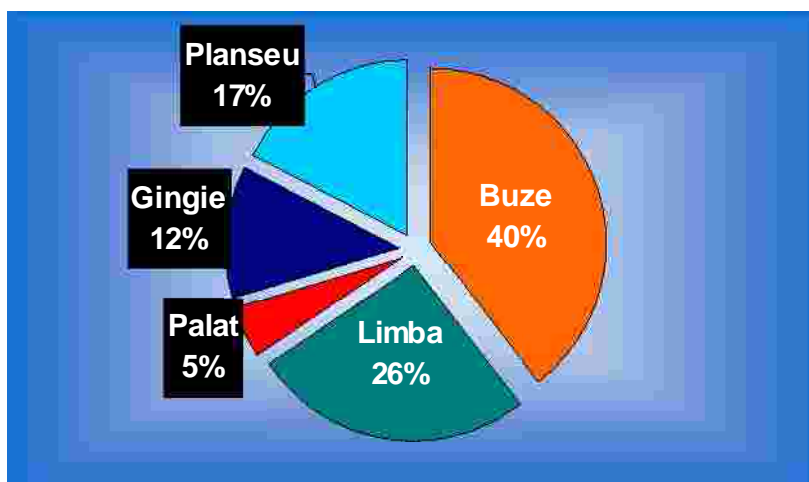
Unele studii epidemiologice au evidentiat pentru familiile cu istoric de cancer al capului si gâtului, existenta unui risc crescut pentru aceasta boala si s-a postulat ca instabilitatea genetica mostenita face indivizii mai susceptibili la dezvoltarea cancerului [56].

Printre factorii de risc sunt mentionate si o serie de leziuni precanceroase printre care se numara eritroplazia, leucoplazia, lichenul plan, cheilita actinica, fibroza orala, etc. De asemenea, risc de a dezvolta un astfel de carcinom oral îl au persoanele cu iritatii cronice ale mucoasei orale cum sunt cele determinate de malocluziile dentare, cariile dentare, precum si inflamatiile cronice ale mucoasei orale (candidoza, tuberculoza, sifilis). Desi iritatiile cronice ale mucoasei orale nu mai sunt considerate a fi antecedente directe importante în cancerul oral, ele pot actiona ca un “promotor” al cancerului într-o maniera similara alcoolului.

2 Confrutând datele furnizate de examenul local cu cele ale examenelor imagistice si cele înscrise în protocoalele operatorii am putut stabili **localizarea** leziunilor. Pentru intervalul de timp mentionat cele 321 de carcinoame scuamoase orale investigate au avut în ordinea frecventei, sediul la nivelul: buzelor, limbii, gingiei, planseului si palatului.

Tabel nr. 4 Repartitia leziunilor în functie de topografie

Localizare	Buze	Limba	Palat	Gingie	Planseu
Nr. cazuri	127	83	16	39	56
Procente %	40	26	5	12	17



Cea mai frecventa localizare a fost la nivelul buzelor cu un procent de 40% din totalitatea cazurilor investigate, marea lor majoritate, respectiv 80% din leziunile din aceasta localizare s-au dezvoltat la nivelul buzei inferioare. Pe locul al doilea ca frecventa au urmat carcinoamele scuamoase linguale cu un procent de 26% in totalul cazuisticii investigate. Distributia resturilor cazurilor a fost dupa cum urmeaza planseu cu 17%, gingie cu 12% si respectiv palat cu 5%.

Studiile efectuate asupra cancerelor orale arata ca aceste tumori se pot dezvolta din orice regiune a cavitatii orale. Frecventa afectarii anumitor regiuni topografice ale cavitatii orale variaza geografic reflectând diferentele existente în ceea ce priveste factorii de risc. Investigarea tumorilor de mici dimensiuni asimptomatice a aratat ca frecventa cea mai mare au avut-o cele localizate la nivelul planseului oral, fetele ventrolaterale ale limbii si palatul moale [57]. Cea mai frecventa localizare a carcinoamelor orale pare a fi limba cu 40% din totalitatea cazurilor, sediul cel mai frecvent al acestora fiind fata ventrala si regiunile posterioare ale marginilor laterale ale limbii. Planseul bucal pare sa fie cel de-al doilea loc ca frecventa al cancerelor orale, iar alte localizari dar cu o frecventa mai mica includ: gingia, mucoasa jugala, mucoasa labiala si palatul dur [4, 5].

Marginile laterale ale limbii împreuna cu planseul oral, gingia orala mandibulara si aria tonsilara realizeaza o arie în forma de potcoava care pare sa fie cea mai predispusa la actiunea factorilor de risc si implicit la dezvoltarea cancerului oral. Exista cel puitin doua explicatii pentru aceasta predispozitie: 1) orice agent carcinogen odata amestecat cu saliva cade pe planseul bucal venind în permanent contact cu aceasta suprafata si 2) mucoasa de la nivelul acestei regiuni este de tip nekeratinizat si cea mai subtire oferind cea mai scazuta protectie împotriva carcinogenilor [43].

În localizarea de la nivelul buzelor cea mai frecvent afectata este buza inferioara, îndeosebi la persoanele expuse la soare care prezinta un luing istoric de leziuni actinice. În localizarea orofaringiana cele mai frecvent incriminate zone sunt portiunile laterale ale palatului moale, regiunea tonsilara si baza limbii [4, 5].

Date macroscopice:

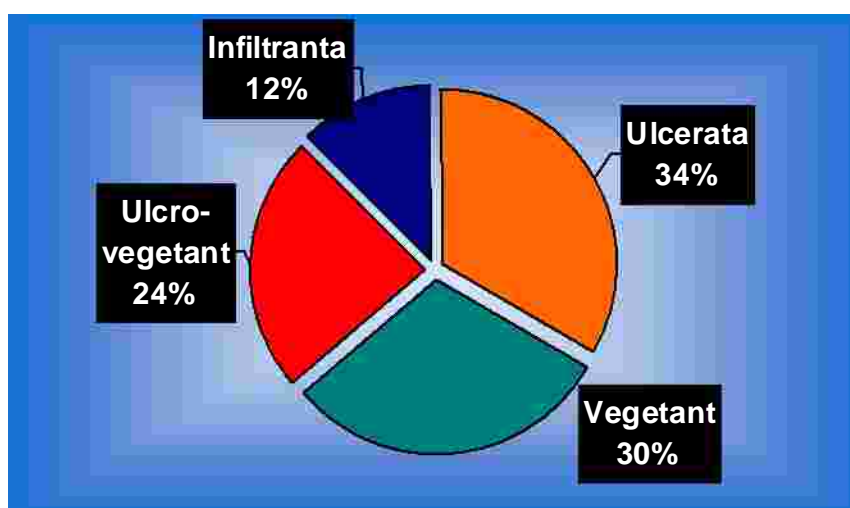
Principalii **parametri morfologici macroscopici** ai carcinoamelor scuamoase orale au fost:

- forma tumorilor,
- dimensiunile tumorilor,
- consistenta tumorilor,
- asocierea zonelor de necroza si hemoragie.

2 Macroscopic, carcinoamele scuamoase orale studiate au fost încadrate în una din următoarele categorii: ulcerata, vegetanta, ulcero-vegetanta si infiltranta.

Tabel nr 6 Forma tumorilor maligne linguale

Forma tumorilor	Ulcerata	Vegetanta	Ulcero-vegetanta	Infiltranta
Nr. cazuri	107	97	77	40
Procente %	34	30	25	12



Forma macroscopica predominanta în cazul carcinoamelor scuamoase studiate a fost cea *ulcerata* cu un procent de 34%. Ca si topografie acest aspect a fost mai des întâlnit la nivelul limbii si a buzei inferioare. Descriptiv aceste tumori s-au prezentat ca pierderi de substanta cu forma rotunjita sau alteori alungita si fisurata, care pe sectiune au avut marginile si baza infiltrante în profunzime. Baza ulceratiilor a fost indurata si acoperita de cruste hematice brun-negricioase si detritus necrotic albicios-cenusiu (**Fig 1**).

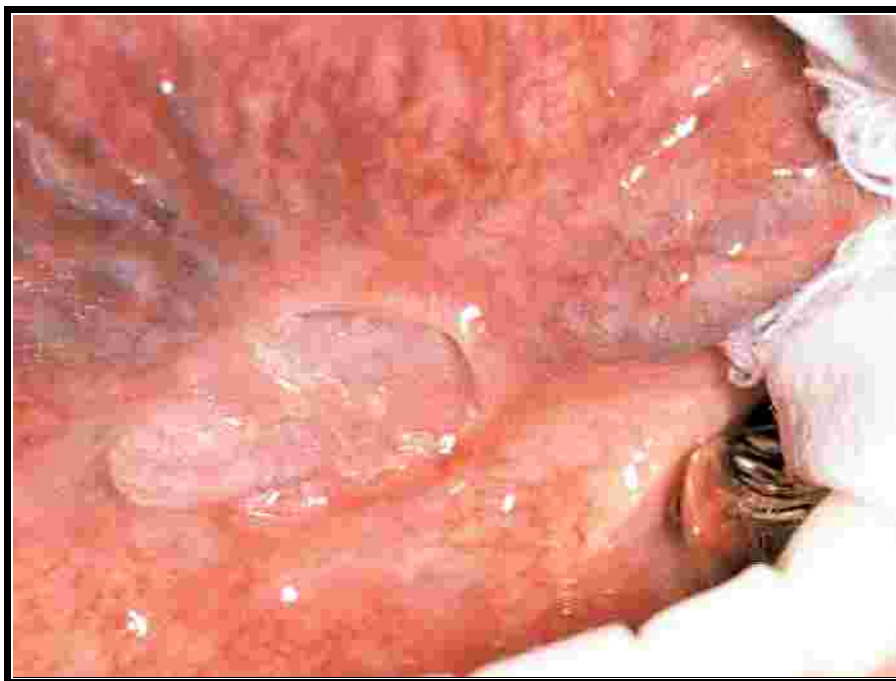


Fig 1 Carcinom ulcerat al planseului bucal si fetei ventrale a limbii.

Pe locul doi ca frecventa s-au situat formele *vegetante* prezente în 97 cazuri ce au constituit 30 % dintre tumorile maligne studiate. Topografic cel mai des au fost întâlnite la nivelul limbii, buzelor si gingiilor. Aspectul a fost cel al unor excrescente proeminente, bombate, cu dimensiuni variabile si în general mai înguste catre baza. Conturul lor a fost neregulat, consistenta mai frecvent redusa, culoarea albicioasa-cenusie si suprafata adesea presarata cu mici eroziuni (**Fig. 2**). Pe suprafata de sectiune am constatat prezenta zonelor de necroza si hemoragie.



Fig 2 Carcinom vegetant al mucoasei jugale

O alta forma macroscopica întâlnita în ordinea frecvenței a fost cea *ulcero-vegetanta* prezenta în 77 cazuri ce au reprezentat 25% din totalul carcinoamelor scuamoase orale investigate. Aspectul a fost unul mixt, sub forma unor formațiuni proeminente, asemanătoare celor vegetante, dar cu centrul ulcerat, deprimat, crateriform și neregulat. Marginile formațiilor tumorale au fost mai proeminente și mai îngrosate decât restul leziunii, cu aspect neregulat și adesea crenelat (Fig. 3). Pe suprafața de secțiune, ca și în forma precedentă, au fost prezente zone de necroză și hemoragie.

Forma infiltrativă tumorală a fost cea mai puțin întâlnită, aceasta regăsindu-se în 40 de cazuri ce au reprezentat 12 % dintre totalitatea cazurilor investigate. Descriptiv a fost vorba de mase nodulare solide, dezvoltate în grosimea limbii, buzelor, planșeului sau a palatului, imprecis delimitate cu consistență redusă și culoare albicioasă-cenușie. Pe suprafața de secțiune am observat existența de zone chistice, alături de zone de necroză și hemoragie.



Fig. 3 Forma mixta ulceroinfiltrativa dezvoltata la nivelul buzei inferioare.

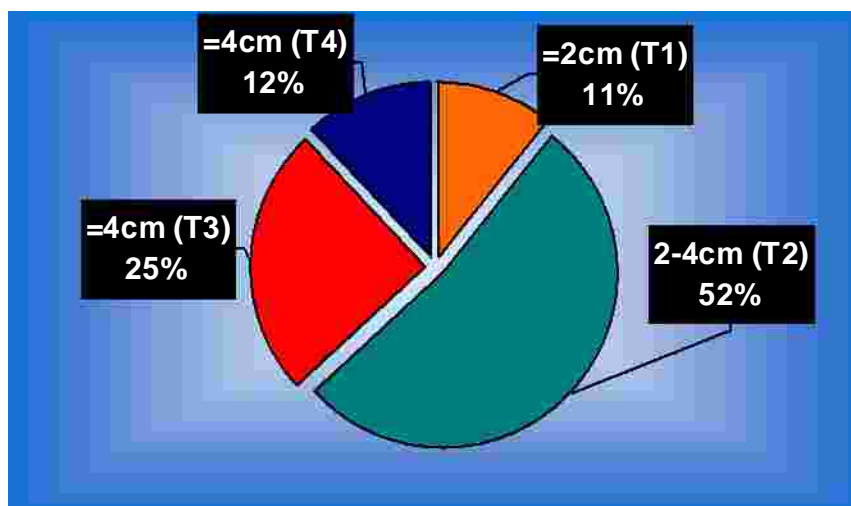
Date din literatura indică faptul că leziunile precoce ale carcinomului scuamos oral se prezintă cel mai adesea sub forma unei plăci albicioase (leucoplazie), plăci roșiatică (eritroplazie) sau un aspect mixt alb-roșiatic (eritoleucoplazie). Uneori pot fi evidențiate și mici ulceratii superficiale ale mucoasei. Pe măsura ce leziunile cresc, devin fie exofitice cu aspect fungos sau papilar la suprafață, fie endofitice cu o suprafață ulcerată și margini ridicate [35, 59]. Cancerul localizat la nivelul mucoasei jugale se prezintă sub forma unor ulceratii cu margini ridicate și indurate sau au aspect exofitic sau verucos. Cel mai adesea se dezvoltă în aria posterioară, adesea traumatizată de dinții molari. În stadii avansate

leziunile infiltreaza muschiul buccinator, osul, pielea si se poate extinde posterior la nivelul valului palatin si fosei tonsilare. Cancerele limbii apar sub forma unor zone rosii amestecate cu noduli sau ca un aspect ulceroso-infiltrativ, uneori infiltrarea ducând la reducerea mobilitatii limbii. Cancerele de la nivelul planseului oral se dezvoltă sub forma unor arii rosii, a unor ulcere mici sau a unor leziuni papilare. Cancerele de la nivelul buzelor, cel mai adesea se dezvoltă la nivelul vermilionului buzei inferioare sub forma unor cruste indurate sau a unor leziuni ulcerate. Cancerele de la nivel gingival se prezinta cel mai adesea sub forma unor cresteri ulceroproliferative. Tumorile dezvoltate la nivelul palatului dur au cel mai frecvent aspectul unor cresteri exofitice sau papilare si mult mai rar aspect plat sau ulcerat. Cancerele palatului moale si ale uvulei apar de regula sub forma unor leziuni ulcerative cu margini bine reliefate sau au aspectul unor mase fungoase. Cancerele scuamoase tonsilare de regula apar ca niste leziuni exofitice sau ulcerative. Cancerele dezvoltate la nivelul bazei limbii într-un stadiu evolutiv tardiv se prezinta sub forma ulceratii indurate.

2 Analiza *dimensiunilor* tumorilor a fost posibila numai în 232 din cele 321 luate în studiu si a indicat variatii importante ale diametrului maxim al acestora. Luând în considerare diametrul maxim tumoral cele 232 de leziuni au putut fi încadrate în conformitate cu clasificarea TNM 2002 [58], dupa cum urmeaza:

Table 7 Repartitia cazuisticii în functie de dimensiunile maselor tumorale

Dimensiuni	= 2 cm (T1)	2-4 cm (T2)	= 4 cm (T3)	= 4 cm (T4)
Nr. cazuri	27	132	63	30
Procente %	12	52	25	12



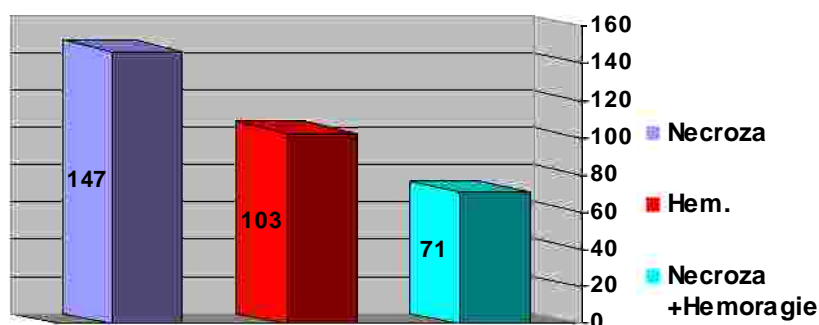
Potrivit datelor înscrise în tabelul de mai sus cel mai frecvent carcinoamele scuamoase investigate au avut dimensiuni cuprinse între 2-4cm, respectiv 52% din cazuistica studiată. Au urmat ca frecvența tumorile cu diametrul maxim mai mare de 4 cm, fără însă a invadea structurile adiacente și fără metastaze, procentul realizat fiind de 25%. Carcinoamele scuamoase corespunzătoare stadiului T4, care au avut dimensiuni mai mari de 4cm în diametrul maxim și care au invadat structurile adiacente au fost întâlnite într-un procent de numai 12%, procent asemănător celor încadrate ca stadiul T1, tumori de dimensiuni mici de 2cm în diametru.

2 Alte aspecte macroscopice vizate au fost cele privind existența focarelor de necroza și hemoragie și implicit consistența acestor tumori.

În tabelul de mai jos sunt redate rezumativ modificările asociate depistate în cursul examenului macroscopic a cazurilor investigate:

Tabel nr. 8 Repartiția carcinoamelor asociate cu necroza sau/si hemoragia

Modificari asociate	Necroza	Hemoragia	Ambele
Nr. cazuri	147	103	71
Procente %	45,8%	32,1	22,1



Cel mai frecvent, respectiv în 45,8% din cazuri s-au asociat zone de necroza, prost delimitate, izolate sau confluențe cu aspect cenușiu sau alb-cenușiu. Pe locul doi au fost prezente ariile hemoragice de întindere variabilă, întâlnite în 103 cazuri, iar în 22,1% din cazuri cele două aspecte au fost prezente simultan în cuprinsul tumorilor.

Consistența a fost una în general redusă, fapt datorat îndeosebi prezenței acestor focare de necroza și hemoragie.

Date histopatologice:

Principalii **parametri histopatologici** investigati ai carcinoamelor scuamoase orale au fost:

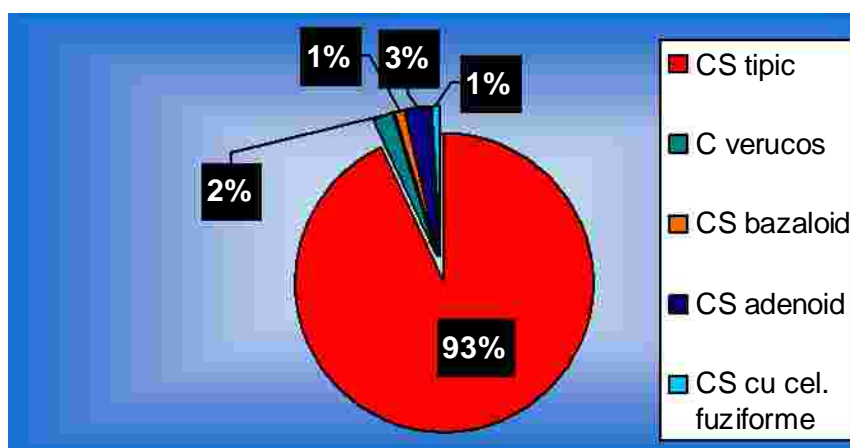
- varietatii carcinomului scuamos,
- gradul de diferentiere,
- stadiul progresiei tumorale,
- prezenta celulelor maligne reziduale la nivelul marginilor de siguranta chirurgicale,
- asocierea cu leziuni displazice,
- asocierea cu modificari de atipie coilocitozica.

Cazuistica investigata a corespuns în totalitate carcinoamelor scuamoase, reprezentând 92% din totalitatea neoplaziilor maligne ale mucoasei orale pentru intervalul de timp luat în discutie. În literatura se apreciaza ca mai mult de 90% din neoplaziile maligne ale cavitatii orale si orofaringelui sunt carcinoame scuamoase dezvoltate din epiteliul de tapetare al mucoasei, restul fiind reprezentate de neoplazii cu originea în glande salivare minore si testurile moi de la acest nivel [4, 6].

2 Potrivit clasificarii OMS din 2003 [58], cele 321 de carcinoame scuamoase orale au fost încadrate în urmatoarele **varietati**: carcinom scuamos tipic cu diferite grade de diferentiere, carcinom verucos, carcinom scuamos bazaloid, carcinomul scuamos adenoid, carcinom scuamos cu celule fuziforme (tabelul si grafic).

Tabel 9 Repartitia cazuisticii în functie de varietatea histopatologica

Tipul carcinomului	CS tipic cu diferite grade diferentiere	C verucos	CS bazaloid	CS adenoid	CS cu celule fusiforme
Nr. cazuri	299	7	3	9	3
Procente %	93	2	1	3	1



Asadar cele mai numeroase sunt carcinoamele scuamoase tipice cu diferite grade de diferentiere, acestea reprezentând 93% din cazuistica investigata. Restul varietatilor au reprezentat aproximativ 7% din totalul cazuisticii investigate, reprezentând forme rare ale carcinomului scuamos oral.

Formele tipice de carcinom scuamos oral s-au dezvoltat în toate localizarile de la nivelul cavitatii orale si histopatologic s-au caracterizat prin proliferari de celule poligonale cu „punti intercelulare”, disparitia membranei bazale, pleomorfism nuclear si hipercromazie, discheratoza si invazia structurilor normale adiacente.

Cheratinizarea anormala duce frecvent la formarea de perle cheratozice în interiorul insulelor de celule scuamoase neoplazice, cu aspectul unor formatiuni rotund-ovalare în care celulele carcinomatoase sunt dispuse concentric în jurul unei zone centrale acelulare, eozinofile formata din cheratina (fig. 3, 4).



Fig. 3 Carcinom scuamos cheratinizat localizat la nivelul buzei inferioare,

Col HE, Ob 40

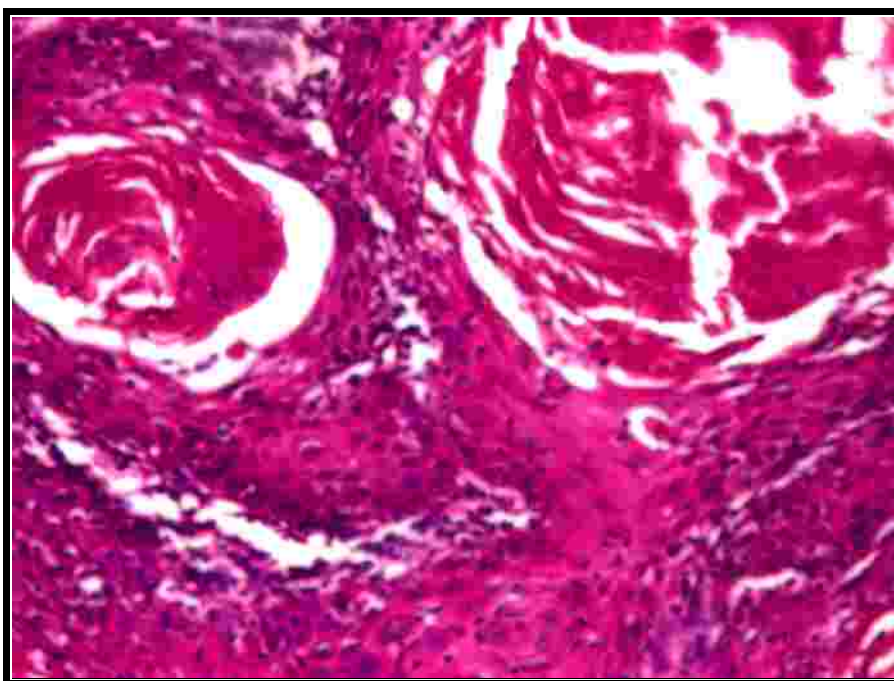


Fig. 4 Carcinom scuamos cheratinizat localizat la nivelul buzei inferioare Col HE, Ob 100

Uneori acest proces de cheratinizare anormala nu este asa de evident îmbracând aspect de cheratinizare unicelulara (fig. 5, 6).

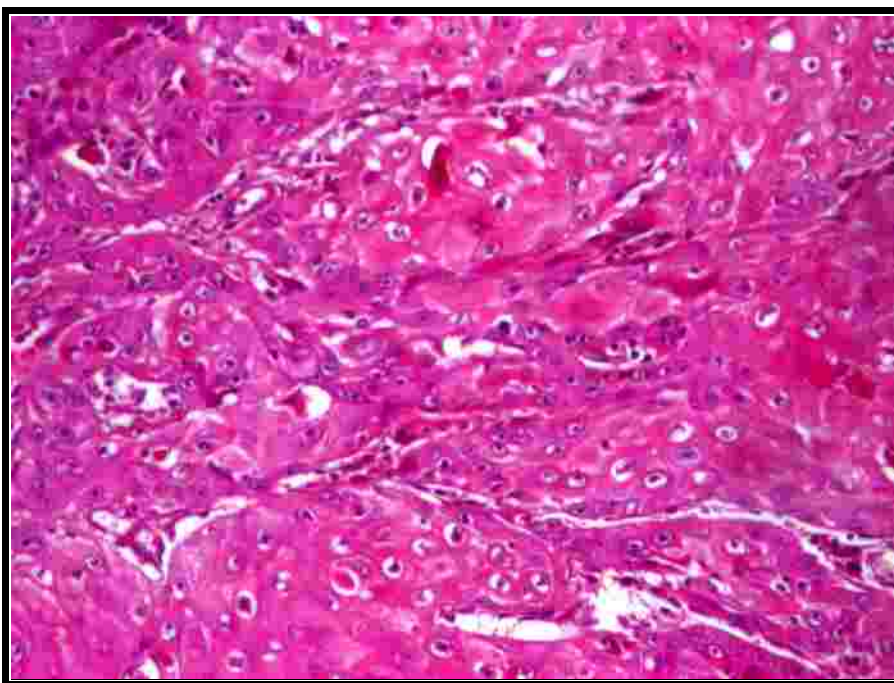


Fig. 5. Carcinom scuamos necheratinizat localizat la nivelul buzei inferioare, Col HE, Ob 40

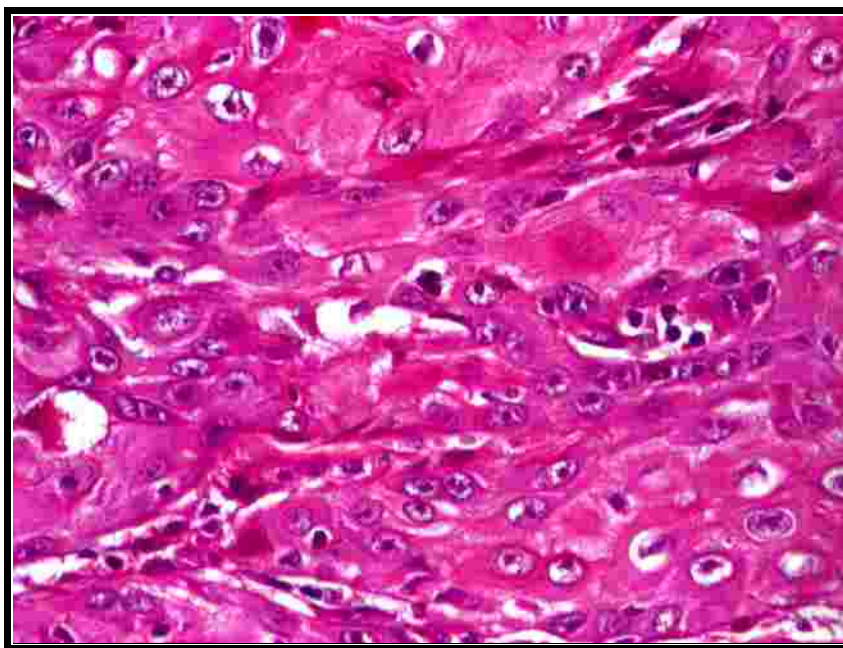


Fig. 6. Carcinom scuamos necheratinizat localizat la nivelul buzei inferioare, Col HE, Ob 100

Carcinomul verucos a fost prezent în șapte cazuri, ceea ce a reprezentat 2% din totalul cazuisticii analizate. Microscopic tumora a fost alcătuită din proiecții ale epitelului scuamos fără formarea de axe conjunctivo-vasculare, cu bază largă și suprafață cheratinizată. La nivelul suprafeței tumorale celulele scuamoase neoplazice au avut aspect diferentiat, matur, cu prezența zonelor de acantoliză și formare de bule, conținând central coloane groase de cheratină (fig 7).



Fig. 7. Carcinom verucos lingual, suprafața leziunii, Col HE, Ob 40

În periferia tumorii, celulele neoplazice au prezentat nuclei ușor măriti de volum, cu nucleoli voluminoși și activitate mitotică minimă, iar la nivelul laminei proprii a existat infiltrat inflamator cronic abundent, alcătuit predominant din limfocite și plasmocite (fig. 8).



Fig. 8. Carcinom verucos lingual, baza leziunii, Col HE, Ob 40

Carcinomul verucos este o formă de carcinom scuamos bine diferentiat, descris pentru prima dată de către Ackerman în 1948 [59]. Aceste tumori se dezvoltă sub forma unor mase exofitice verucoase ce cresc lent dar invaziv local, de obicei fără a metastaza. Marea lor majoritate (75%) se dezvoltă la nivelul cavității orale, următoarele localizări fiind: laringele (15%), fose nazale, sinusuri, nazofaringe, piele, anus, vezică urinară, organe genitale externe și esofag [60]. În etiologia acestor tumori sunt incriminați: mestecatul sau prizatul tutunului [61-62], infecțiile cu HPV, mai frecvent tipurile 16 și 18, și mai rar 6 și 11 [63-66].

Microscopic celulele epiteliale scuamoase tumorale sunt mari și le lipsesc criteriile uzuale citologice de malignitate [67]. Mitozele sunt rare și sunt prezente numai în stratul suprabazal. De regulă invadează stroma subjacentă sub forma unui front larg invaziv și asociază un infiltrat limfoplasmocitar.

În literatura de specialitate au fost raportate și cazuri hibride coexistând carcinoame convenționale scuamoase bine diferențiate cu carcinoame verucoase. Procentul este de 20% în localizarea de la nivelul cavității orale și respectiv 10% pentru cele laringiene [68].

Carcinomul scuamos bazaloid a fost întâlnit în doar 3 cazuri, reprezentând 1% din cazuistica investigata.

Histopatologic a fost vorba de o proliferare de celule cu talie redusa, de forma rotunda sau ovalara, cu citoplasma redusa, bazofila sau amfofila si nuclei hipercromi ce au prezentat intensa activitate mitotica. Celulele tumorale cu morfologie bazaloida, au fost dispuse în insule si cordoane cu dimensiuni variabile, unele continând zone centrale de necroza. La periferia insulelor tumorale, celulele neoplazice au prezentat un aranjament caracteristic palisadic si o membrana bazala groasa. Necroza a fost prezenta situata cel mai frecvent în centrul insulelor neoplazice, conferind tumorilor un pattern de dezvoltare de tip „comedo”. Tumorile au avut pattern de crestere ulcerat si infiltrativ.

În interiorul tumorilor au existat mici focare de diferentiere scuamoasa si cheratinizare uniceulara, dar „perlele „cheratozice au fost absente. Prezenta acestor zone de diferentiere scuamoasa în interiorul insulelor neoplazice a constituit un element deosebit de util diagnosticului, confirmând originea acestuia. Reactia stromala a fost redusa, nesemnificativa (fig. 9, 10).

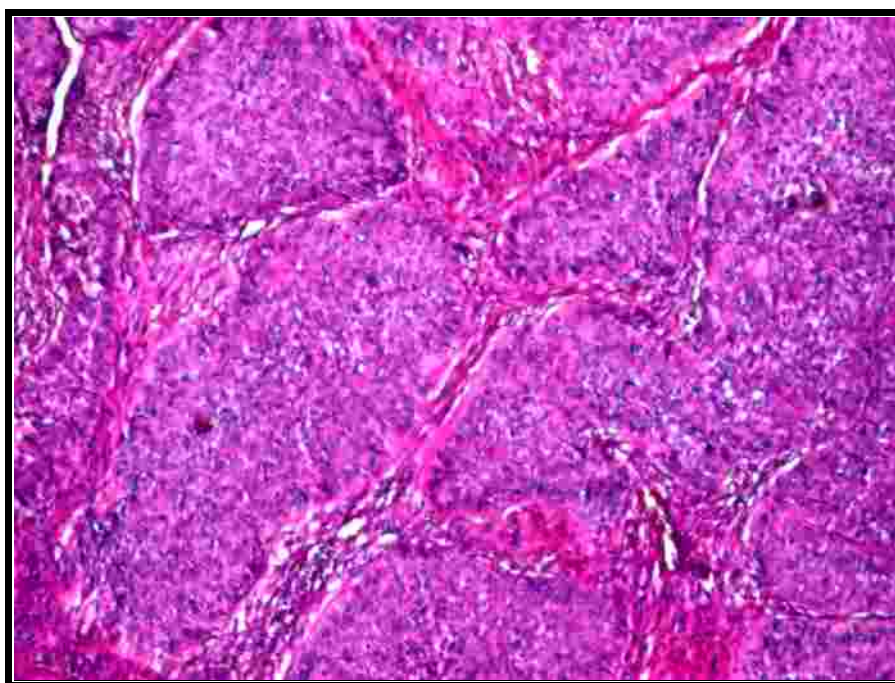


Fig 9. Carcinom scuamos bazaloid cu localizare linguala, Col HE, Ob 40

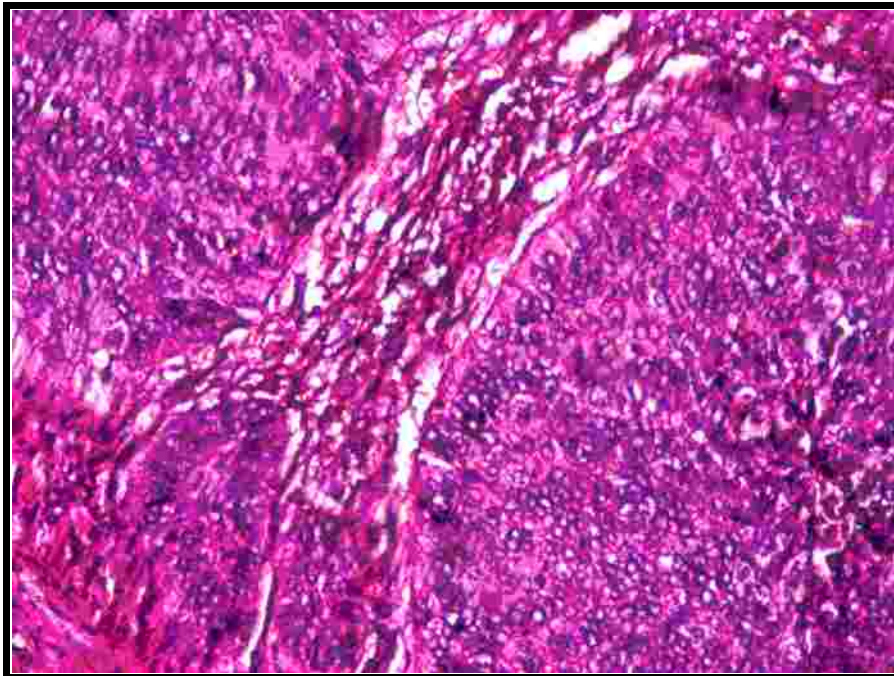


Fig 10. Carcinom scuamos bazaloid cu localizare linguala, Col HE, Ob 100

Carcinomul bazaloid este o varietate slab diferentiata de carcinom scuamos tipic alcatuit din celule bazaloide si celule scuamoase, descris pentru prima data de catre Wain si colab. [69]. Acest tip de carcinom are predilectie pentru tractul aerodigestiv superior, mai ales la nivelul hipofaringelui, bazei limbii si laringelui supraglotic [70-71]. Alte localizari sunt orofaringele [70-71], cavitatea orala [72-74] si traheea [75]. Factori de risc cei mai frecvent asociati cu aceasta varietate de carcinoms cuamos sunt fumatul si alcoolismul [76].

Aspecte microscopice distinctive ale variantei bazaloide fata de carcinomul scuamos conventional sunt: existenta unor spatii chistice mici cu continut de paraaminosalicilati si material albastru Alcian pozitiv, precum si stroma cu hialinizare focala [69, 76]. De obicei se asociaza si cu o componenta obisnuita de carcinom scuamos prezenta fie sub forma unui carcinom in situ, fie ca si un carcinom invaziv de obicei superficial si de tip moderat sau bine diferentiat. Daca se dezvoltă o ulcerare extensiva, la suprafata epitelului se pot distinge numai modificari de tip displazic [76, 77]. Rareori se poate asocia o componenta de tipul carcinomului scuamos cu celule fuziforme [77-78], iar aspectul metastazelor poate fi de tip bazaloid, de tip obisnuit scuamos sau ambele tipuri [77].

Imunohistochimic celule tumorale exprima citokeratine si antigenul epitelial membranar [77]. Unele cazuri exprima antigen carcinoembrionic si enolaza neuronal specifica [70, 76, 79], în timp ce expresia pentru proteina S-100, vimentina si actina de muschi neted variaza în diferite rapoarte [70, 72, 76-77, 80].

Carcinoamele scuamoase adenoide (acantolitice) au fost prezente în 9 cazuri, ceea ce au reprezentat 3% din cazuistica studiată. Tumorile au fost localizate la nivelul buzelor, al bazei și a feței laterale a limbii. Ele au fost diagnosticate la pacienți cu vârsta cuprinsă în decadele VI, VII și VIII de viață, în 6 cazuri de sex masculin.

Microscopic tumorile au fost alcătuite din celule neoplazice asemănătoare cu cele din carcinoamele diferențiate. Caracteristica tumorilor a constat din prezența unui pattern de creștere pseudoglandular în interiorul insulelor de celule neoplazice. Am observat existența de mici spații optice goale ce au imitat lumenele glandulare, datorate probabil proceselor de acantoliză ale celulelor scuamoase neoplazice, limitate de celule carcinomatoase mari, rotunde sau poliedrice, cu citoplasma eozinofilă (fig. 11, 12).

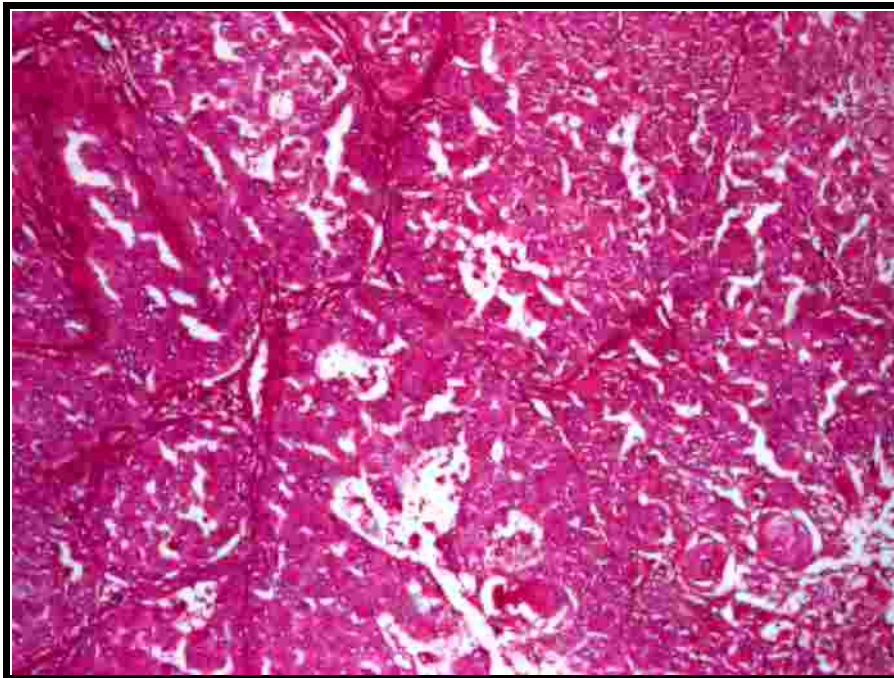


Fig. 11. Carcinom scuamos adenoid, localizat la nivelul buzei superioare Col HE, Ob 40

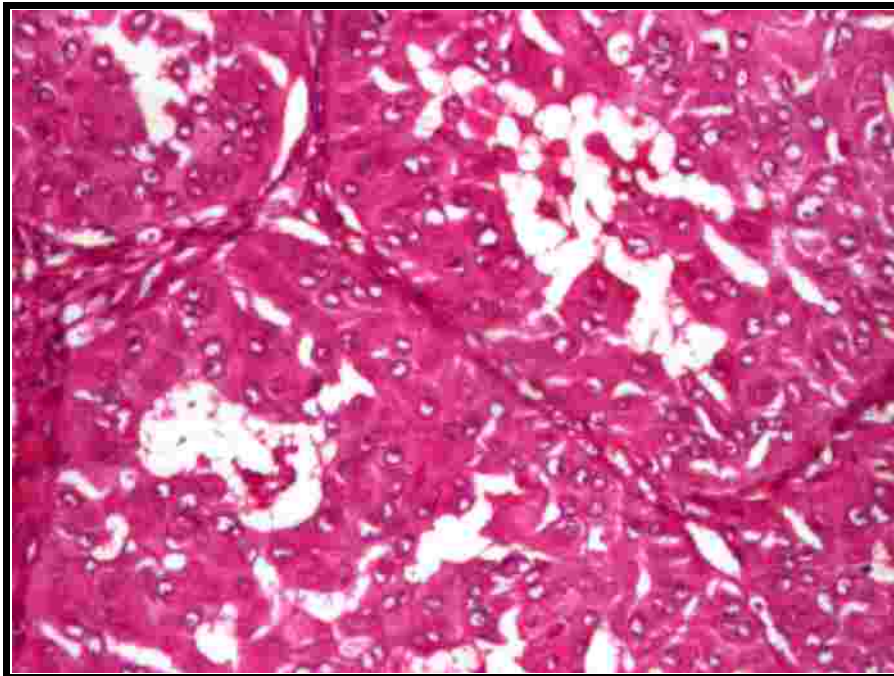


Fig. 12. Carcinom scuamos adenoid, localizat la nivelul buzei superioare Col HE, Ob 100

Carcinomul scuamos adenoid este o varietate de carcinom scuamos descrisa pentru prima data de Lever în 1947 [81]. Este vorba de o varietate obisnuita de carcinom scuamos în care datorita acantolizei celulelor scuamoase maligne se formeaza niste pseudolumene ce dau impresia unor diferentieri glandulare. De fapt nu exista nicio dovada a existentei unor diferentieri glandulare adevarate sau a productiei de mucina. La nivelul capului si gâtului aceste tumori se dezvoltă cel mai frecvent la nivelul pielii, mai ales cea expusa la radiatiile solare [82-83]. La nivelul cavitatii orale cel mai frecvent afectate sunt buzele si limba [84-88].

Structuri pseudoglandulare au central detritusuri ale celulelor neoplazice acantolitice sau pot fi goale. Adiacent exista întotdeauna o componenta de carcinom scuamos conventional. S-a descris si varianta pseudovasculara de carcinom scuamos adenoid rezultata prin anastomozarea spatiilor si canalelor acantolitice ce mimeaza un angiosarcom [83].

Imunohistochimic carcinomul scuamos adenoid este pozitiv la markeri epiteliali de tipul citocheratinelor si antigenului epithelial membranar si mai poate exprima antigenul carcinoembrionar si vimentina [89].

Ultrastructural s-a dovedit inexistentă structurilor glandulare si prezenta hemidesmozomilor si a tonofilamentelor ceea ce sustine originea scuamoasa a acestui carcinom [90].

Carcinomul cu celule fuziforme a fost prezent în doar 3 cazuri, reprezentând 1% din cazuistica studiată. Tumorile au aparținut unor persoane de sex masculin, cu vârsta cuprinsă în decada a VI de viață, fiind localizate într-un caz la nivelul limbii iar în celelalte două la nivelul buzei inferioare.

Microscopic tumorile au fost alcătuite dintr-o proliferare de celule fusiforme, alungite, care au prezentat citoplasma slab eozinofilă sau amfofilă, moderat reprezentată și nuclei de dimensiuni mari, hipercromi, cu frecvente atipii și mitoze atipice (fig. 13).

Celulele neoplazice au fost dispuse sub formă de fascicule dense, frecvent întretăiate unele cu altele, realizând în ansamblu un aspect sarcomatoid. Pe secțiuni seriate, în periferia tumorii au existat și mici zone de diferențiere scuamoasă, a căror evidențiere a ușurat diagnosticul (fig. 14).

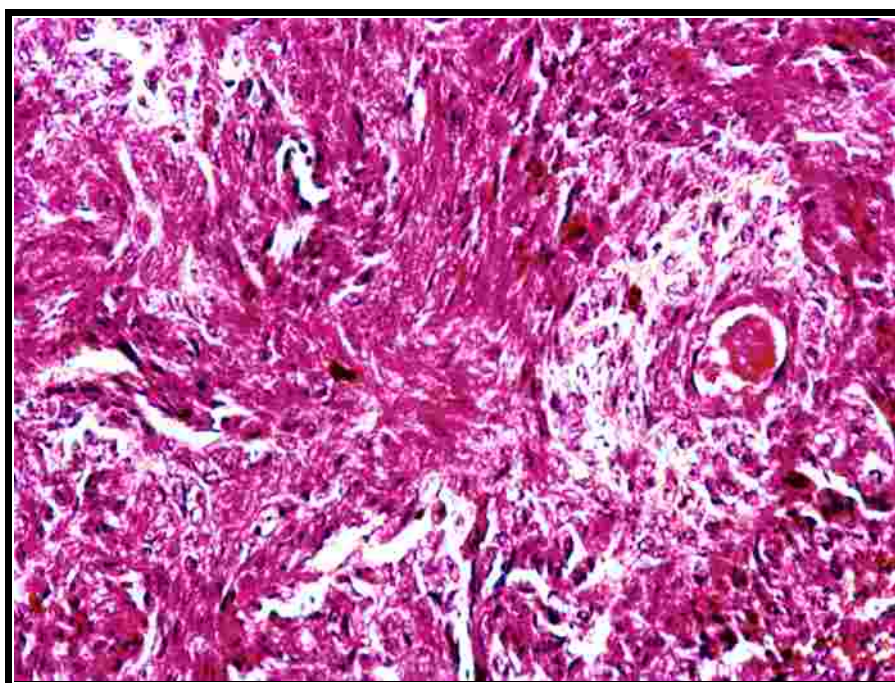


Fig. 13 Carcinom cu celule fusiforme, mica zona de cheratinizare, Col HE, Ob. 40

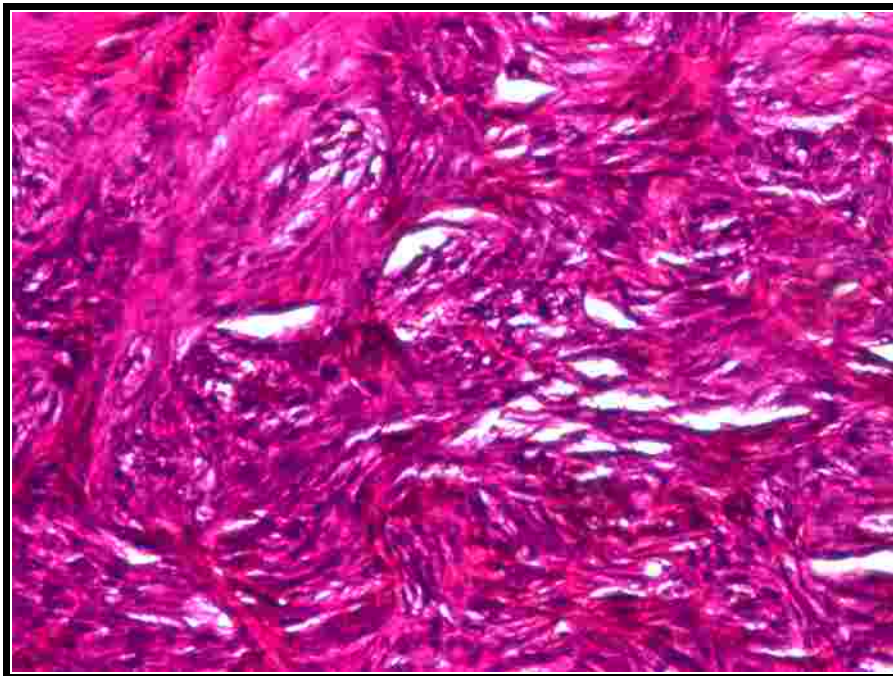


Fig 14. Carcinom cu celule fusiforme, localizare la nivelul planseului, Col HE, Ob 100

Carcinomul cu celule fuziforme este o tumora bifazica compusa dintr-un carcinom scuamos conventional si o componenta maligna cu celule cu morfologie fuziforma. Aceasta varietate de carcinom a fost descrisa în diverse localizari de la nivelul corpului uman: tract respirator, glandele mamare, piele, tract urogenital, tract gastrointestinal si glande salivare [91]. La nivelul capului si gâtului carcinomul cu celule scuamoase se dezvolta cel mai frecvent laringian [92-95], cavitate orala [96-98], piele, tonsile, tract sinonazal si faringe [96, 99]. În etiologia acestor carcinome cel mai frecvent sunt incriminati: fumatul, alcoolismul si expunerea la radiatii [95, 100].

Partea cea mai importanta a tumorii este realizata de componenta sarcomatoasa, care cel mai adesea realizeaza un pattern histologic de tipul histiocitomului sau fibrosarcomului [95, 101]. Pot exista si focare cu diferentieri de tipul osteosarcomului, condrosarcomului sau rabdomiosarcomului, în special la pacientii iradiati [95, 101-102]. Componenta de carcinom conventional se prezinta fie sub forma unui carcionm in situ, fie ca un carcinom scuamos franc invaziv.

Microscopia electronica a demonstrat diferentieri de tipul dezmozomilor sia tonofilamentelor în celulele carcinomatoase fuziforme [103-106]. Imunohistochimia a evidentiat expresia markerilor epiteliali si mezenchimali, deseori celulele tumorale coexprimând keratina si vimentina [106-107].

Literatura de specialitate mai indica prezenta si a altor varietati de carcinom scuamos la nivelul cavitatii orale: carcinomul scuamos papilar, carcinomul adenoscuamos si carcinomul limfoepitelial.

Carcinomul scuamos papilar este o varainta rara de carcinom scuamos descrisa de catre Crissman si colab. în 1988 [108], si caracterizata printr-o crestere papilara si un bun prognostic. În etiologia acestei varietati se pare ca intervine infectia cu HPV [109-110]

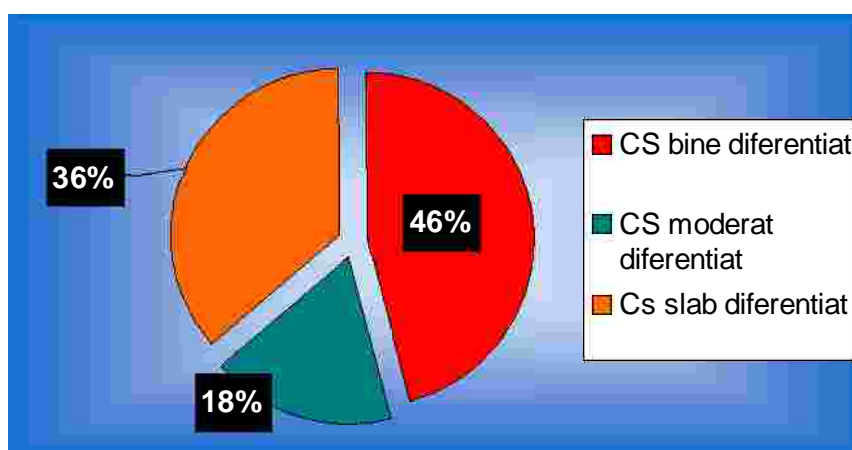
Carcinomul adenoscuamos este o neoplazie maligna rara caracterizata de prezenta atât a unui carcinom scuamos conventional cât si a unui adenocarcinom, neoplazia având un comportament agresiv. La nivelul capului si gâtului a fost descris pentru prima data de catre Gerughty si colab. [111]. Se pare ca originea acestui carcinom rezida în celulele bazale ale epiteliului scuamos capabile de diferentiere divergenta [112-115].

Carcinomul limfoepitelial este o verietate de carcinom scuamos slab diferentiat sau nediferentiat asociat cu un dens infiltrat limfocitar stromal. Initial aceasta varietate a fost descrisa la nivelul nazofaringelui în 1921 de catre Regaud si Reverchon [116]. Etiologic aceasta varietate este asociata cu virusul Epstein- Barr [117]. Aceasta varietate este mult mai agresiva decât carcinomul scuamos conventional [118-119].

2 Raportat la **gradul de diferentiere** carcinoamele scuamoase orale investigate au fost încadrate ca: bine diferentiate, moderat diferentiate si slab diferentiate.

Tabel nr. 9 Repartitia carcinoamelor scuamoase în functie de gradul de diferentiere

Grad de diferentiere	CS bine diferentiat	CS moderat diferentiat	CS slab diferentiat
Nr. cazuri	147	57	117
Procente %	46	18	36



Din tabelul si graficul de mai sus se poate observa ca cel mai frecvent aspect întâlnit din punct de vedere al gradului de diferentiere a fost cel al carcinoamelor scuamoase bine diferentiate, faptul datorându-se probabil incidentei maxime a acestora la nivelul buzelor, localizare în care s-au de zoltat 40 % dintre tumorile analizate. Ele au fost prezente în 147 de cazuri, constituind 46% în cazuistica studiata. Microscopic celulele neoplazice au forma poligonala cu citoplasma bogata, eozinofila si nuclei de talie si colorabilitate inegala. Celulele neoplazice au prezentat aspecte de maturare si cheratinizare, dispunându-se sub forma unor structuri lamelare concentrice si realizând numeroase perle cheratozice (fig 15). Stroma tumorală a fost variabil reprezentata, de tip fibroconjunctiv si adesea a prezentat infiltrate inflamatorii de tip limfo-plasmocitar, uneori cu prezenta celulelor gigante de corp strain (fig. 16).

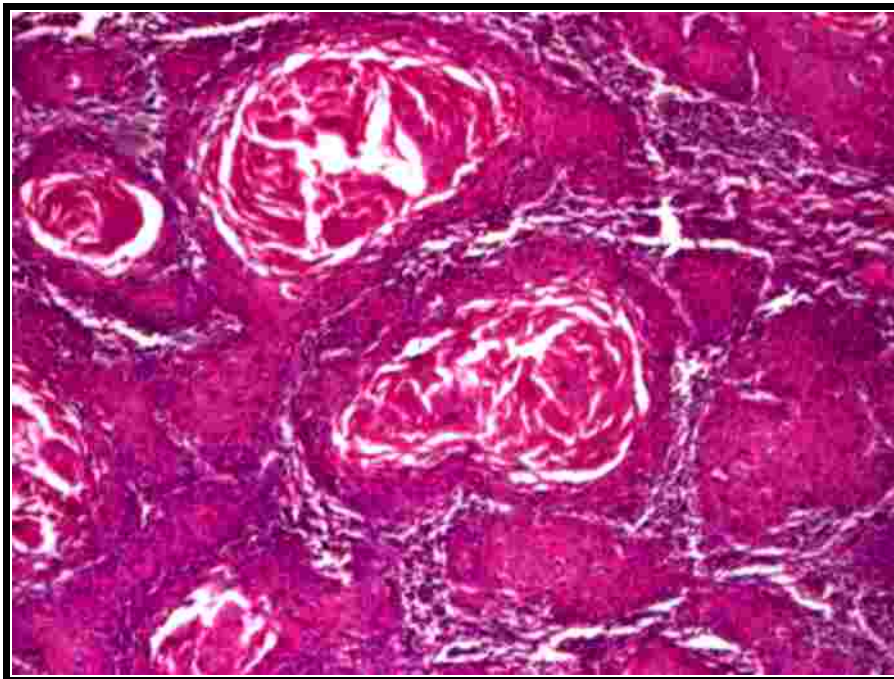


Fig 15. Carcinom scuamos bine diferentiat localizat la nivelul buzei inferioare.
Col HE, Ob 100

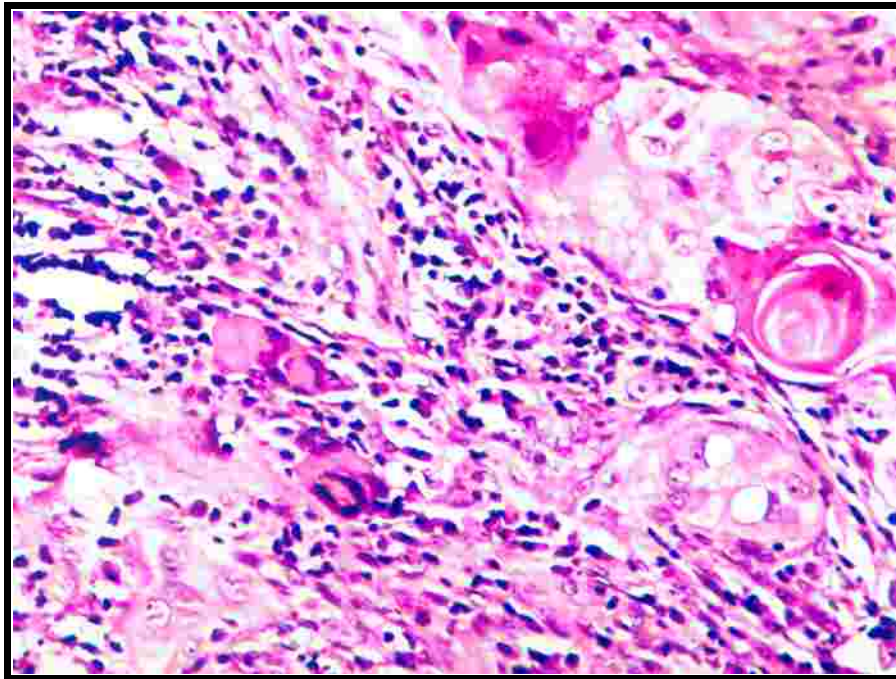


Fig 16. Carcinom scuamos bine diferentiat localizat la nivelul buzei inferioare. Stroma modificata inflamator cu prezenta de celule gigantocelulare. Col HE, Ob 100

Formele moderat diferentiate ale carcinoamele scuamoase au fost prezente în aproape toate localizarile, cu un numar de 57 cazuri ce au constituit 18% din cazuistica investigata.

Microscopic, în formele moderat diferentiate, tumorile au fost alcatuite din celule neoplazice cu forma poligonala cu citoplasma bogata, eozinofila, dispuse sub forma de insule si cordoane neregulate. Ele au continut perle cheratozice, dar acestea au fost mult reduse numeric, iar cheratinizarea a fost frecvent incompleta, cu persistenta nucleilor. Atipiile celulare si mitozele atipice au fost mai frecvente decât în forma bine diferentiata (fig 17).

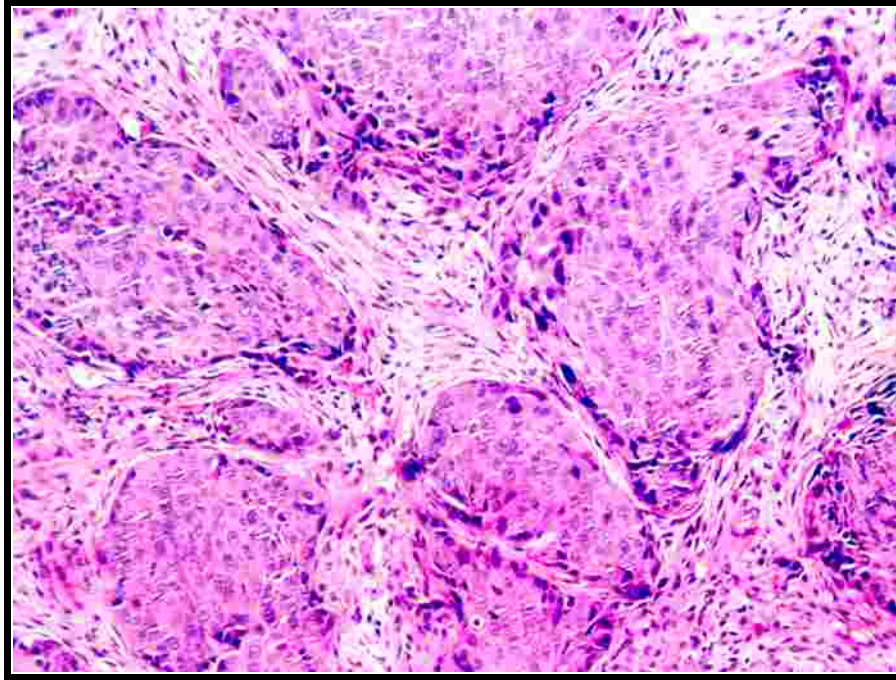


Fig 17. Carcinom scuamos moderat diferentiat localizat la nivelul planseului

Col HE, Ob 100

Carcinoamele scuamoase slab diferentiate s-au situate pe locul al doilea în ordinea frecventei, cu incidenta maxima la nivelul limbii. Ele au fost prezente în 117 de cazuri, reprezentând 36 % dintre tumorile investigate.

Microscopic, tumorile au fost alcatuite din insule compacte de celule cu dimensiuni si forme neregulate. Celule tumorale predominante sunt de tip bazaloid, rareori distingându-se punti intercelulare. Cheratinizarea a fost absenta sau cu caracter unicelular. Atipia celulara a fost marcata si mitozele atipice numeroase (fig 18).

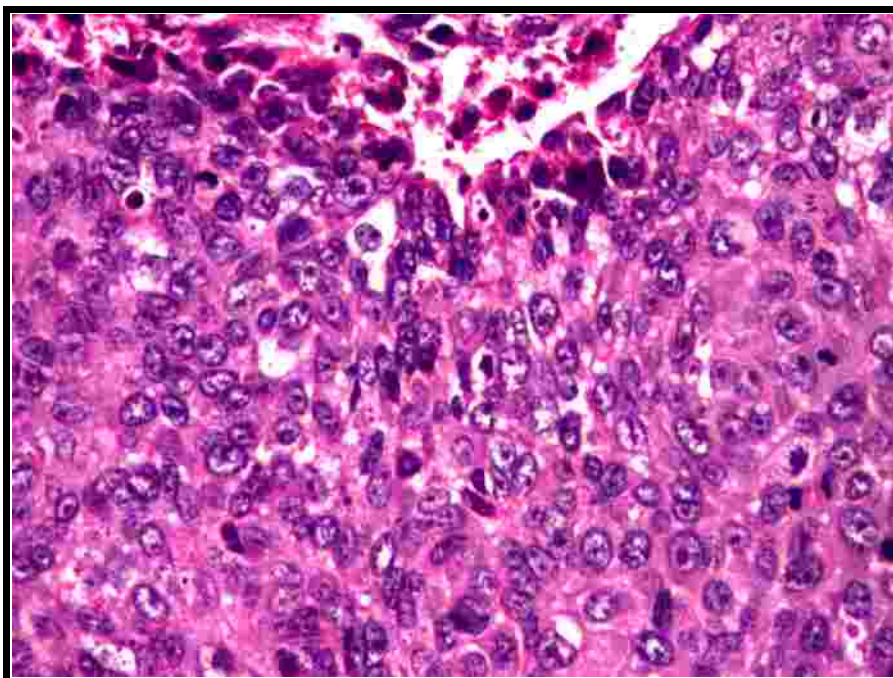


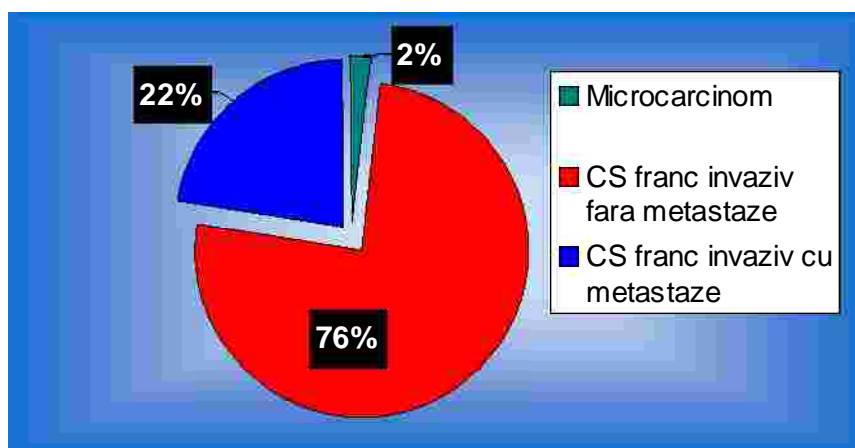
Fig18. Carcinom scuamos slab diferentiat, localizat la nivelul limbii, Col HE, Ob 100

Asa cum am precizat la varietatile carcinomului scuamos, în grupul carcinoamelor scuamoase bine diferite am inclus si carcinomul verucos, în cel al carcinoamele scuamoase moderat diferite am inclus varietatea adenoida, în timp ce în categoria carcinoamele scuamoase slab diferite am inclus carcinoamele bazaloide si cu celule fusiforme.

2 În ceea ce priveste *stadiul progresiei tumorale*, cele 321 de carcinoame scuamoase analizate au corespuns: microcarcinomului în 2 cazuri, carcinoamelor franc invazive în 57 de cazuri si carcinoamelor invazive asociate cu prezenta adenopatiei metastatice în momentul diagnosticului în 3 cazuri.

Tabel 10 Repartitia cazuisticii în functie de stadiul progresiei tumorale

Stadiul progresiei tumorale	Microcarcinom	Carcinom franc invaziv, fara metastaze	Carcinom invaziv cu adenopatie metastatica
Nr. cazuri	6	243	72
Procente %	2	76	22



Microcarcinoamele au fost diagnosticate în 6 cazuri, reprezentând 3,3 % din toate carcinoamele scuamoase analizate. Ele au fost localizate în doua cazuri la nivelul buzei inferioare, asociat cu modificari de cheilita actinica si în patru cazuri la nivelul limbii, în care la nivelul epiteliului adiacent leziunii au existat aspecte de leucoplazie, displazie simpla si depozite miceliene.

Astfel de asocieri sunt consemnate în literatura de specialitate, considerându-se ca cea mai mare parte a carcinoamelor scuamoase mucoasei orale si în particular cele ale limbii se dezvoltă pe leziuni preexistente. Studii comparative efectuate asupra incidentei celor doua grupuri de leziuni, precanceroase si cancere, au indicat o incidenta a leziunilor precanceroase de 0,8 la un milion de persoane investigate, fata de rata incidentei cancerului care a fost de 5 la un milion de persoane [23, 120-122].

Microscopic, aspectul microcarcinoamelor a fost cel al unei proliferari neoplazice maligne cu invazie minima a corionului superficial cu aspectul unui pinten format din celule scuamoase atipice. Celulele carcinomatoase intraepiteliale au avut ctioplasma redusa, bazofila si nuclei mari, hipercromatici cu mitoze atipice, spre deosebire de celulele invasive care au avut tendinta la diferentiere, prezentând o citoplasma mai abundenta si eozinofila. Proliferarea neoplazica stromala s-a însoțit în toate cazurile de prezenta unui infiltrat inflamator, alcatuit din predominant din limfocite si plasmocite (fig. 19-20). Nu am observat aspecte de invazie vasculara sau limfatica pentru nici unul din cazurile analizate.

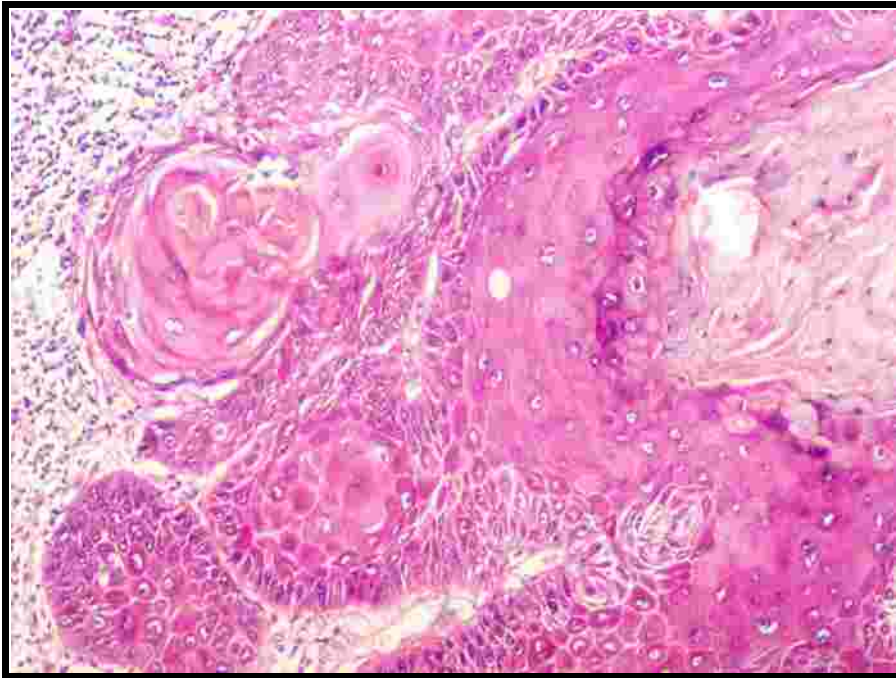


Fig. 19 Microcarcinom, localizare linguala. Col HE, Ob 40



Fig. 20 Microcarcinom, localizare linguala. Col HE, Ob 40

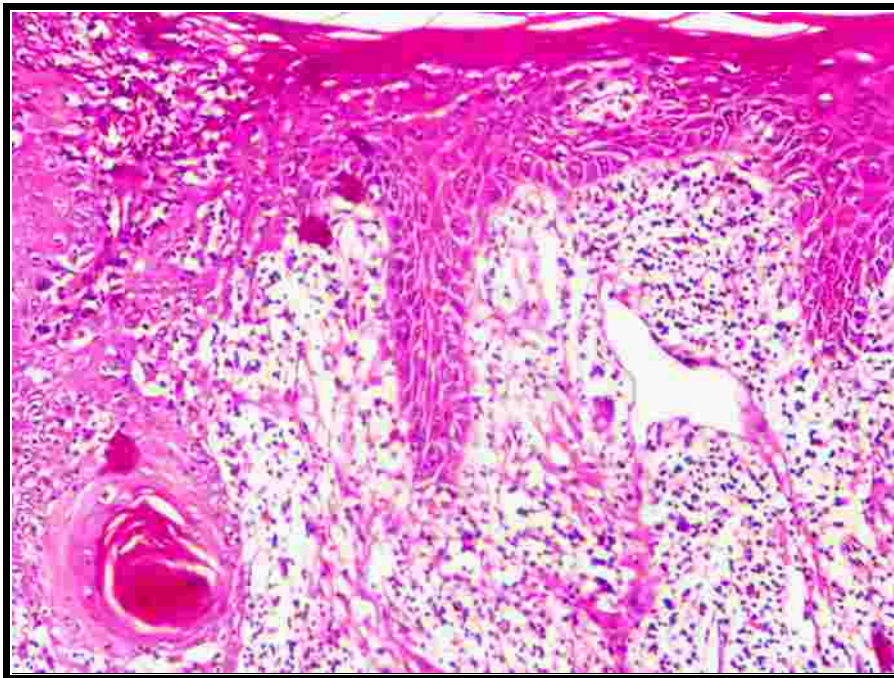


Fig. 21. Microcarcinom localizat la nivelul buzei inferioare, Col. HE Ob. 100

La nivelul zonei de microinvazie membrana bazala a fost absenta sau foarte subtire si slab reprezentata, frecvent intrerupta, spre deosebire de zonele adiacente în care epiteliul a prezentat doar modificari de tip displazic. Modificarile au fost mai evidente în coloratia PAS (fig. 22)

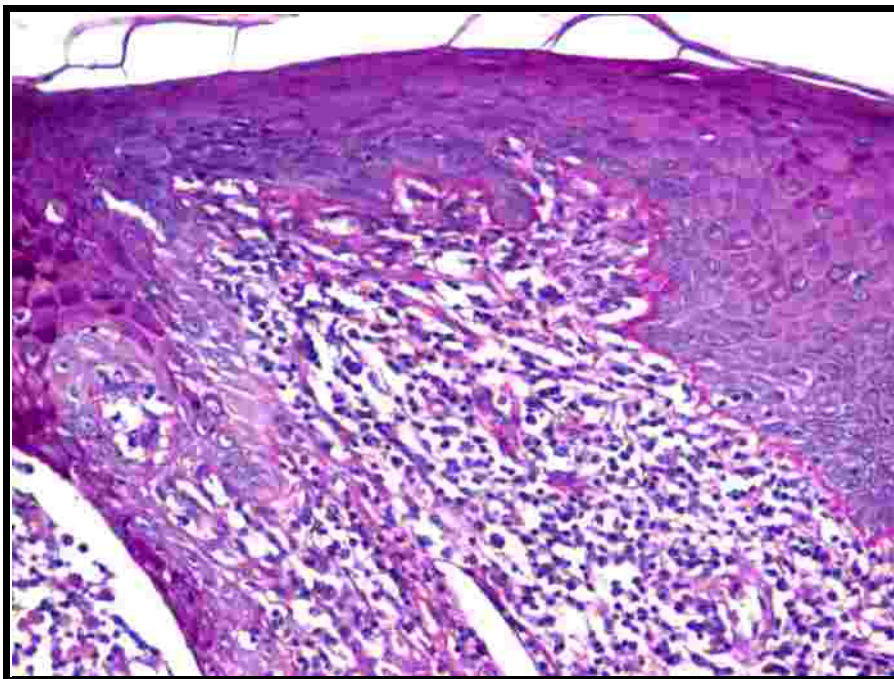


Fig. 22 Microcarcinom localizat la nivelul buzei inferioare, Col PAS, Ob 40

Termenul de microcarcinom are semnificatie speciala în cadrul carcinoamelor invazive. El desemneaza un stadiu precoce al dezvoltarii neoplaziei maligne invazive care corespunde profunzimii leziunii la care aceasta nu se asociaza cu prezenta metastazelor. Nu exista un consens general printre anatomopatologi privind maximum adâncimii invaziei în microcarcinomul scuamos, aceasta variind în general între 0,5 mm [123] si 0,7mm [108]. Masurarea se face întotdeauna de la nivelul membranei bazale a epitelului de suprafata adiacent leziunii. Pentru aceasta categorie de carcinoame scuamoase invazive sunt excluse invazia vasculara sau limfatica [108, 120]. Studii efectuate în cazul microcarcinoamelor de la nivelul planseului oral au aratat ca nu exista sau sunt rare metastazele pentru leziuni care au penetrat membrana bazala pe o adâncime mai mica de 2mm, dar acest potential creste în leziunile mult mai invazive [108, 121-122].

Carcinoamele franc invazive fara adenopatie metastatica au constituit cea mai mare parte a carcinoamelor scuamoase analizate, fiind prezente în 243 de cazuri, care au reprezentat 76 % dintre acestea. Indiferent de forma histopatologica si de gradul lor de diferentiere, tumorile au evoluat infiltrativ si distructiv, sub forma de insule si lobuli neoplazici, în structurile de origine. Patternul invaziei a corespuns: unor cordoane neoplazice neregulate si necoezive, celulelor izolate infiltrative, marginilor tumorale coezive cu front larg de invazie sau insulelor neoplazice rotunde invazive (fig 22, 23, 24, 25).

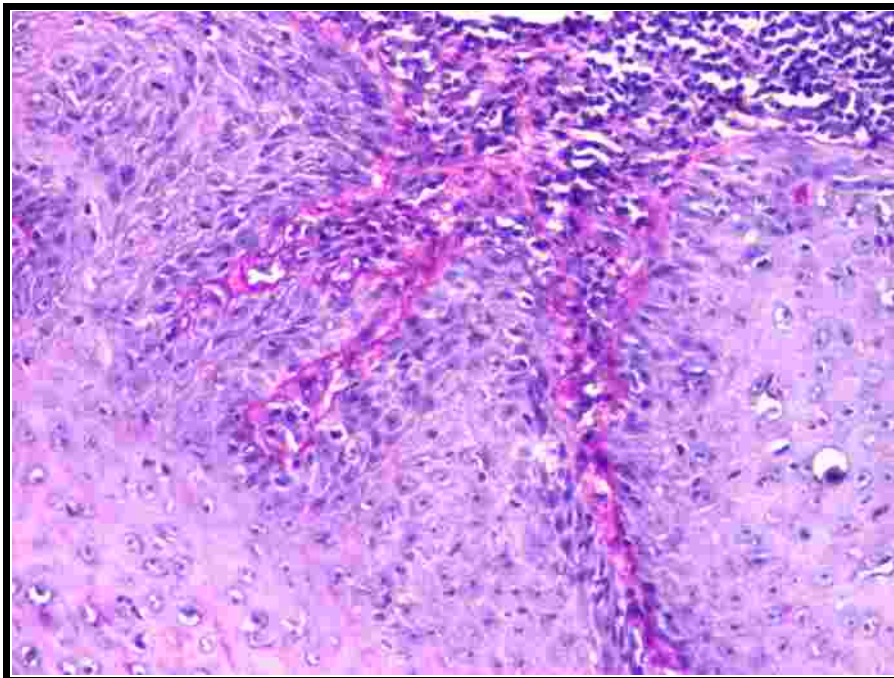


Fig 22 Carcinom verucos, pattern de invazie compact, Col PAS, Ob 100

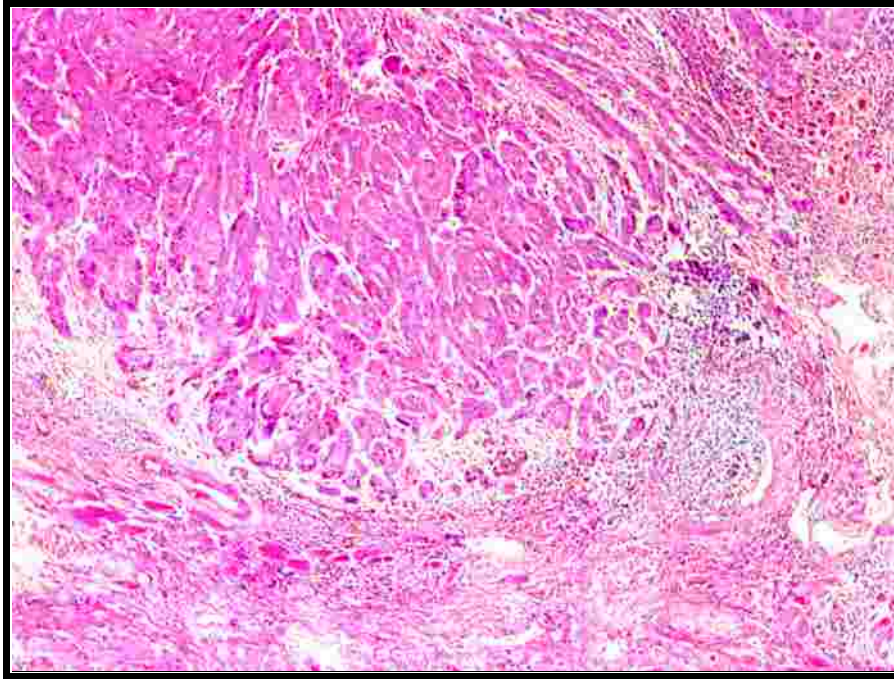


Fig. 23 Carcinom scuamos lingual, forma necheratinizata, margini tumorale noncoezive, Col HE, Ob 40

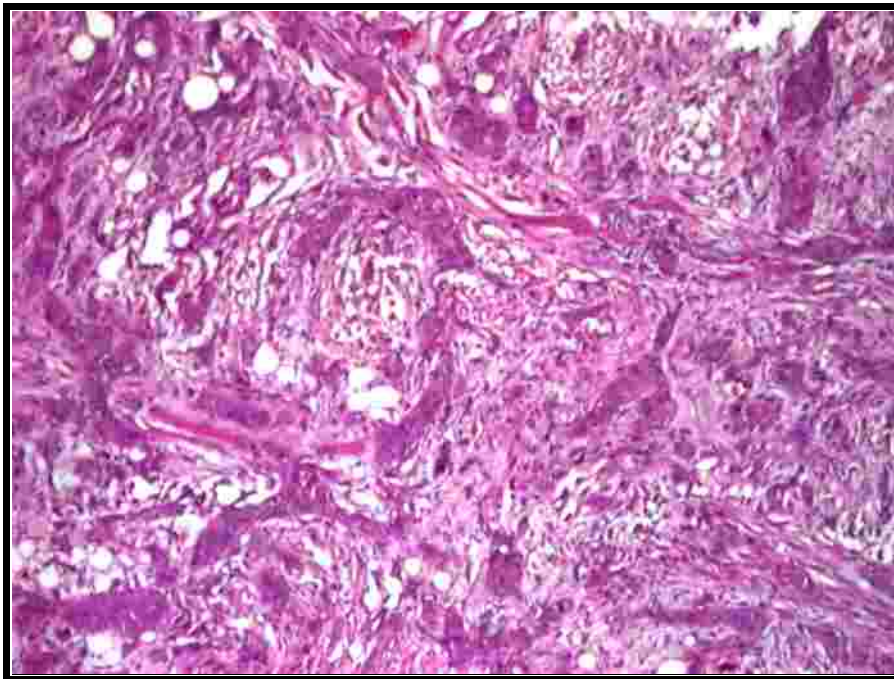


Fig. 24 Carcinom scuamos lingual, forma keratinizata, invazie în muschi sub forma de cordoane, Col HE, Ob 100

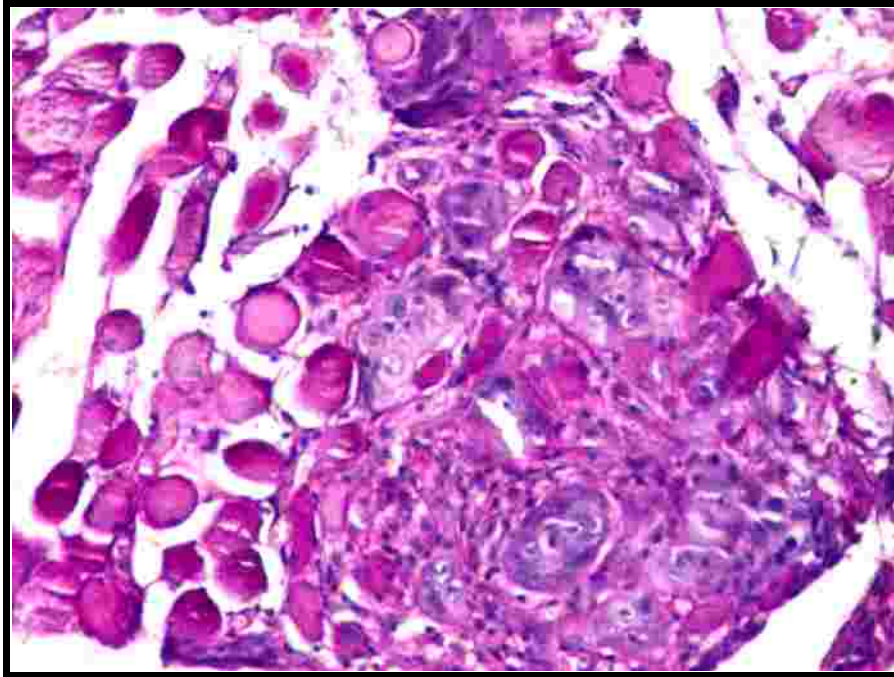


Fig. 25 Carcinom scuamos lingual, forma nekeratinizata, invazie în muschi sub forma de insule neoplazice rotunde, Col PAS, Ob 100

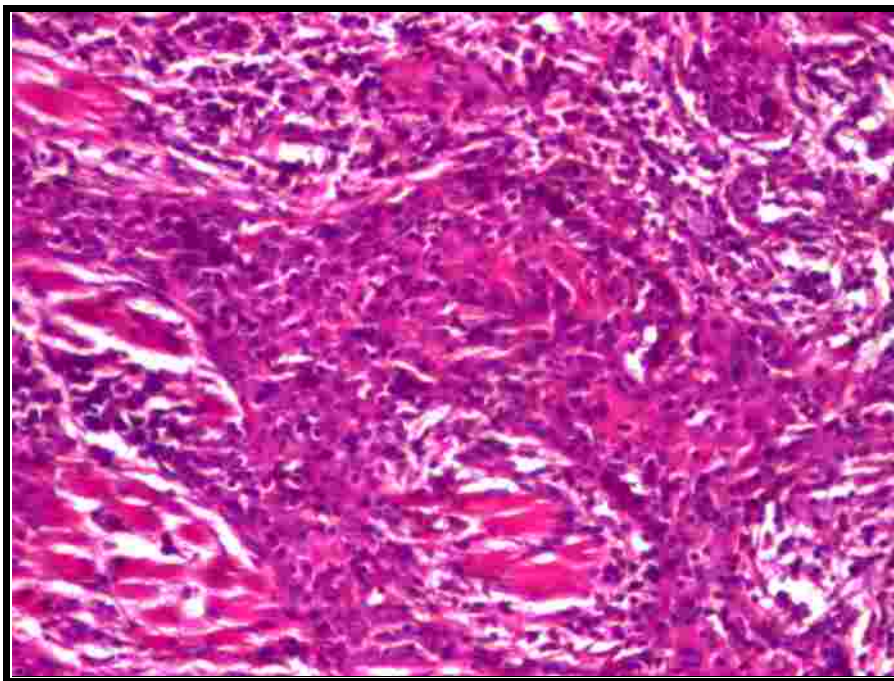


Fig. 26 Carcinom scuamos lingual, invazie infiltrativ-difuza în structurile musculare
Col HE, Ob 100

Datele din literatura arata ca patternul tumoral de invazie are implicatii prognostice. Astfel patternul infiltrativ se asociaza cu o evolutie mult mai agresiva si implicit cu un prognostic mai prost decât paternul expansiv [126-129].

Într-un numar de 53 de cazuri, reprezentând 21% din carcinoamele scuamoase orale fara metastaze, masele tumorale au prezentat emboli neoplazici în interiorul structurilor vasculo-limfatice (fig 27-28). Aspectul a fost prezent în carcinoamele scuamoase moderat si slab diferite.

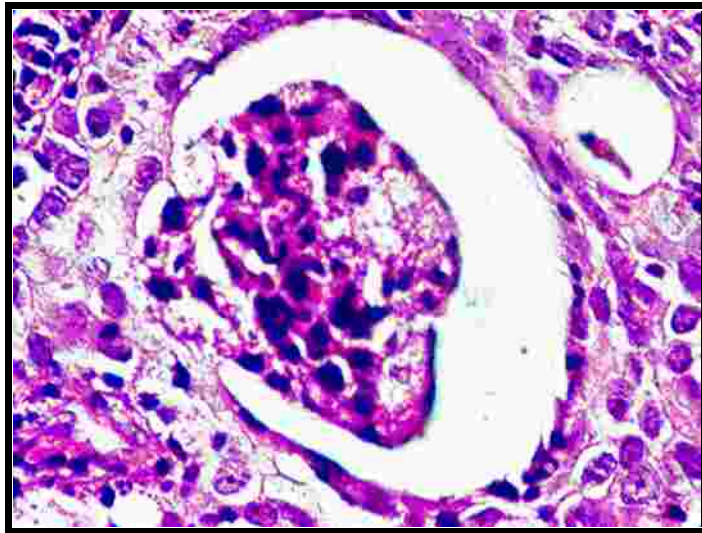


Fig. 27 Carcinom scuamos lingual forma necheratinizata, embol neoplazic intravascular, Col HE, Ob 200

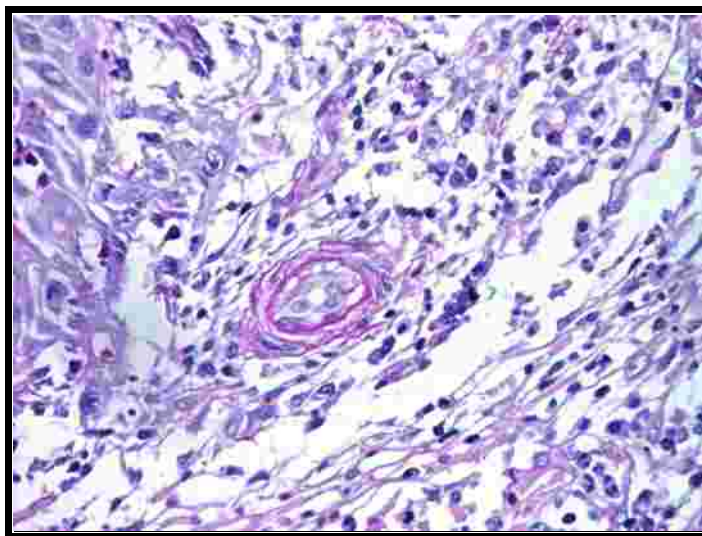


Fig. 28 Carcinom scuamos lingual, embol neoplazic intravascular, Col PAS, Ob 100

De asemenea, în alte 37 cazuri am observat aspecte de invazie neoplazică perineurală și perivasculară (fig. 29-31). Datele din literatură consideră invazia limfovasculară, invazia perineurală, precum și patternul de invazie noncoeziv, ca pe elemente asociate cu risc sporit de metastază [121].

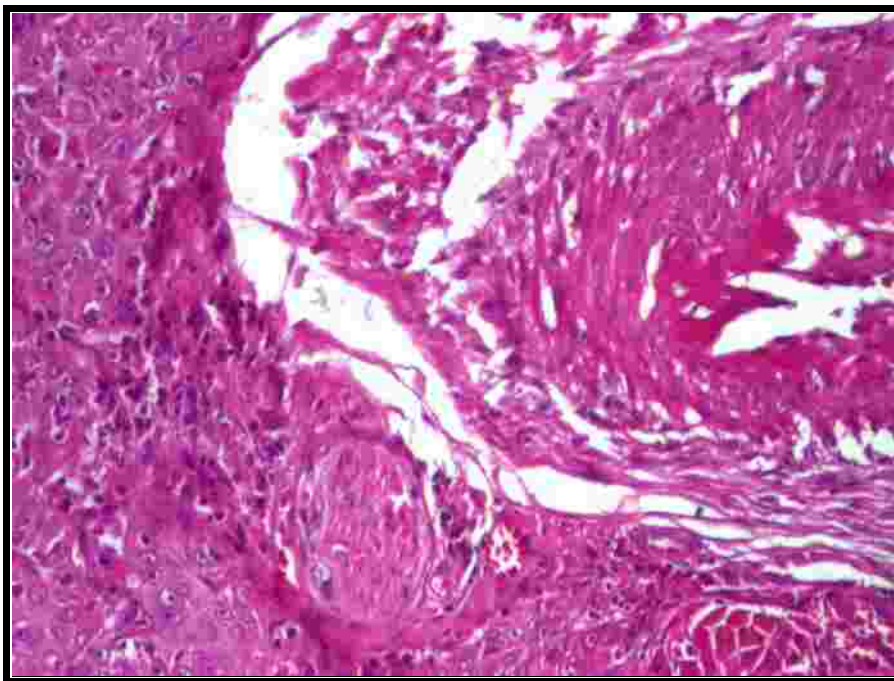


Fig. 29 Carcinom scuamos lingual, invazie perineurală și perivasculară, Col HE, Ob 100



Fig. 30 Carcinom scuamos lingual, invazie perineurală, Col HE, Ob 200

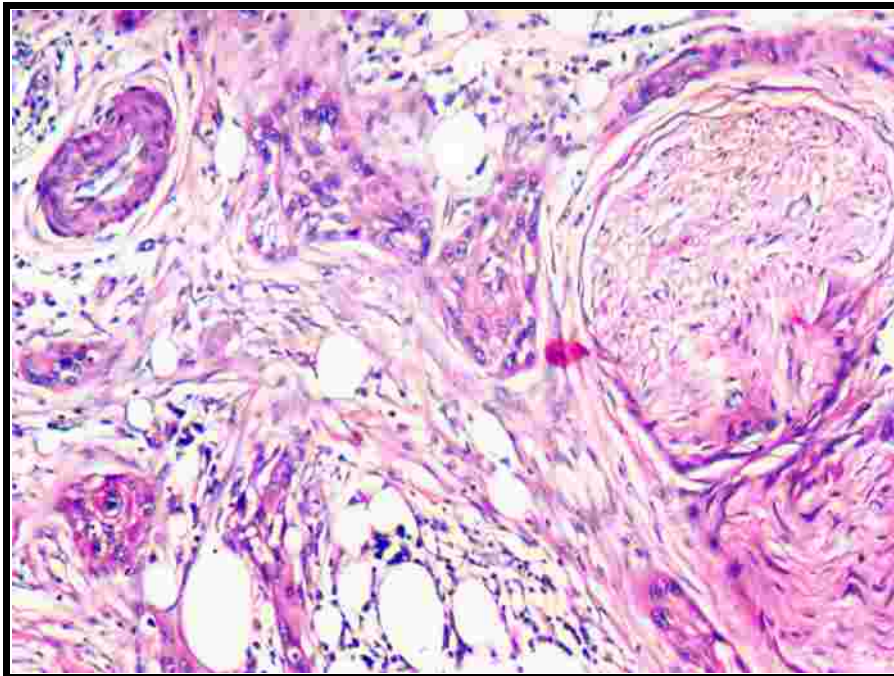


Fig. 31 Carcinom scuamos lingual, invazie perineurala si perivasculara, Col HE, Ob 200

Modalitatea de diseminarea locala a carcinoamelor scuamoase orale este influentata de localizarea topografica a leziunii initiale [58]. Astfel cancerele scuamoase ale buzelor se extind mai întâi superficial si apoi în profunzime. Cele dezvoltate la nivelul planseului oral se extind mai degraba superficial decât în profunzime, invazie la nivelul muschiului milohioidian sau a glandelor sublinguale având loc în stadii foarte avansate. Tumorile marginilor laterale linguale au tendinta la invazie în profunzime, în musculatura intrinseca a limbii. Carcinoamele cu localizare palatinala se extind mai ales superficial. În marea majoritate a cancerelor orale cu exceptia limbii gradul extensiei tumorale poate fi apreciat dupa suprafata interesata [58]. În cazul cancerelor scuamoase linguale, la suprafata putem avea un aspect normal, dar în profunzime tumora poate fi larg invaziva. Dintre oasele maxilare mandibula este cea mai frecvent interesata. La cei cu dinti prezenti calea cea mai frecventa de invazie a mandibulei este de-a lungul ligamentului periodontal. În ariile edentate tumorile se extind de-a lungul crestelor alveolare direct în spatiile medulare dintre trabeculele osoase, ca urmare a incapacitatii formarii de corticala osoasa la nivel alveolar în contextul resorptie progresive de la nivelul alveolei edentate [130]. O alta cale de invazie a mandibulei o reprezinta calea urmata de nervul alveolar inferior [131].

Carcinoamele franc invazive însoțite de adenopatie metastatica au fost prezente în 72 de cazuri, constituind 22 % din cazuistica analizata. În 23 de cazuri metastazele au fost prezente într-un singur ganglion ipsilateral, cu dimensiuni de 3,5 cm si respectiv 4 cm

(N2a). În restul cazurilor metastazele au fost prezente în mai mult de 3 ganglioni limfatici ipsilaterali, cu dimensiuni cuprinse între 3-5 cm (N2b).

Tabel 11 Repartitia cazuisticii în functie de numarul ganglionilor cu metastaza

Nr. ganglionilor cu metastaza	1 ganglion	3 ganglioni
Nr. cazuri	23	49

Microscopic, în cazurile cu stadiul N2a aspectul a corespuns unei micrometastaze subcapsulare, restul cazurilor îmbracând aspect de metastaza ganglionara masiva. Aspectul histopatologic al metastazelor a fost similar cu cel al neoplaziilor primitive în ceea ce priveste forma si gradul de diferentiere al tumorilor, respectiv de carcinom scuamos necheratinizat cu grad moderat si slab de diferentiere (fig. 32-34). În niciunul din cazuri nu am observat invazia capsulei ganglionare.

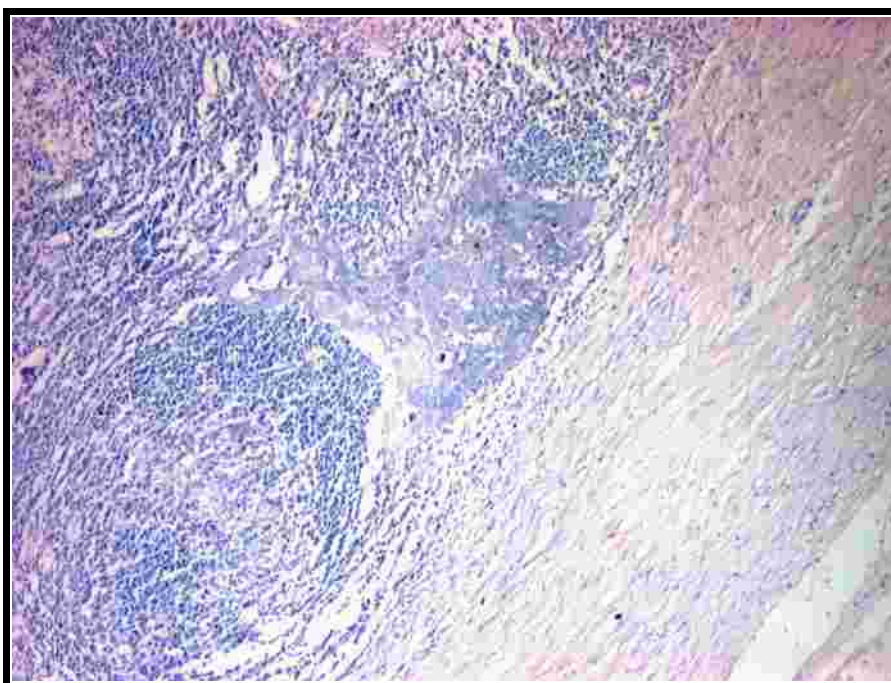


Fig. 32 Micrometastaza unui carcinom scuamos al buzei inferioare, Col Giemsa, Ob 40

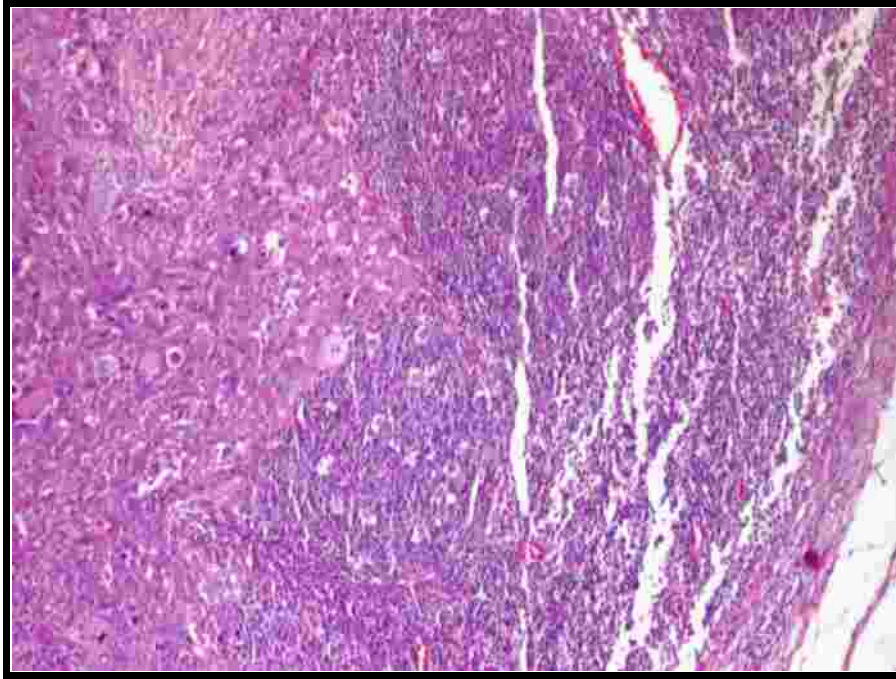


Fig. 33 Metastaza unui carcinom scuamos al lingual, Col HE, Ob 100

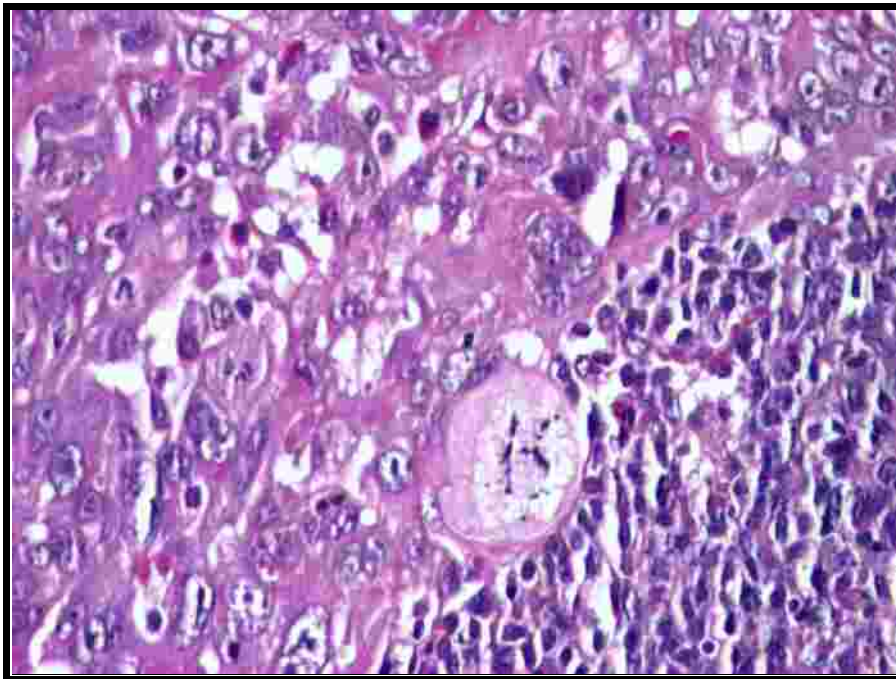


Fig. 34 Metastaza unui carcinom scuamos al lingual, Col HE, Ob 200

Date din literatura indica ca distributia metastazelor limfогanglionare ale cancerelor scuamoase orale sunt dependente în primul rând de topografia lezionala [132]. Astfel cancerele limbii si crestelor alveolare metastazeaza în principal în ganglionii submandibulari, jugolodigastriци si cervicali profunzi mijlocii ipsilaterali. Cancerile trigonului retromolar în ganglionii submandibulari, jugolodigastriци si cervicali profunzi superiori si mijlocii ipsilaterali, precum si în cei parafaringieni. Cancerile buzelor si vârfului limbii intereseaza limfогanglionii submentonieri si submandibulari. Leziunile mediale de la nivelul limbii, buzelor si planseului oral metastazeaza bilateral.

În realitate paternul de metastazare limfatica este unul complex si nu urmeaza un o seceventa ordonata de la un nivel la altul în cazul multor pacienti [134]. Extensia procesului neoplazic dincolo de capsula limfогanglionului se asociaza cu un prognostic prost [134].

De-a lungul timpului au fost facuta numeroase studii în încercarea de a prezice dezvoltarea metastazelor limfогanglionare pe baza aspectelor morfoclinice ale tumorilor primare [135-136]. Cele mai importante sunt marimea tumorii si topografia leziunii. Gradul de diferentiere tumorală nu pare sa fie un factor de prognostic, în schimb patternul invaziv noncoeziv se asociaza cu o rata mai mare de metastazare. O marime mai mare de 5mm a tumorii primare este un indicator de prognostic al metastazarii limfогanglionare [137].

2 Un alt parametru microscopic analizat a fost reprezentat de *prezenta celulelor maligne reziduale* la nivelul marginilor de siguranta chirurgicale, aspect investigat doar într-un numar de 123 cazuri. Dintre acestea, 98 cazuri nu au prezentat invazie la nivelul marginilor de siguranta chirurgicale, în timp ce în alte 25 cazuri invazia a fost prezenta îmbracând aspect de microcarcinom în 22 cazuri sau de carcinom invaziv în alte 3 cazuri (fig 35, 36).

Tabel 12 Repartitia cazuisticii în functie de prezenta celulelor maligne reziduale la nivelul marginilor de siguranta chirurgicale

Limite de rezectie	Indemne	Invadate tumoral
Nr. cazuri	98	25
Procente %	80	20

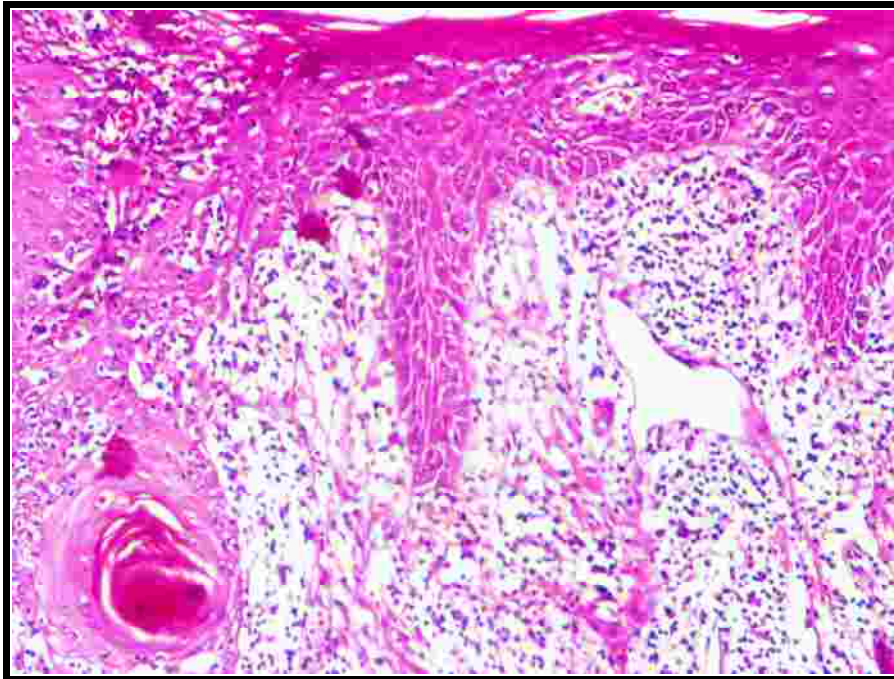
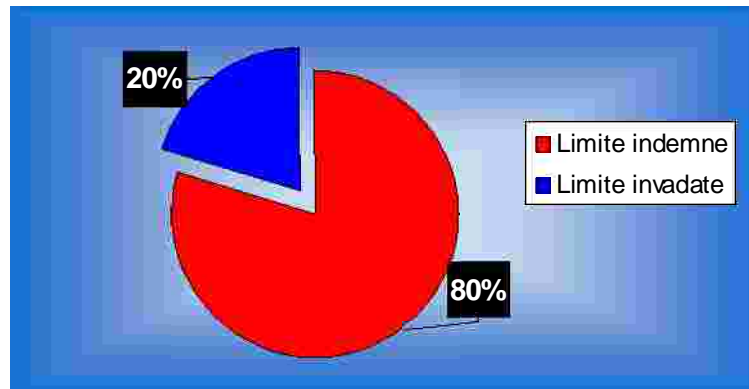


Fig 35 Microcarcinom la nivelul marginii de de siguranta chirurgicale, însoțind un carcinom scuamos al buzelor, Col HE, Ob 100

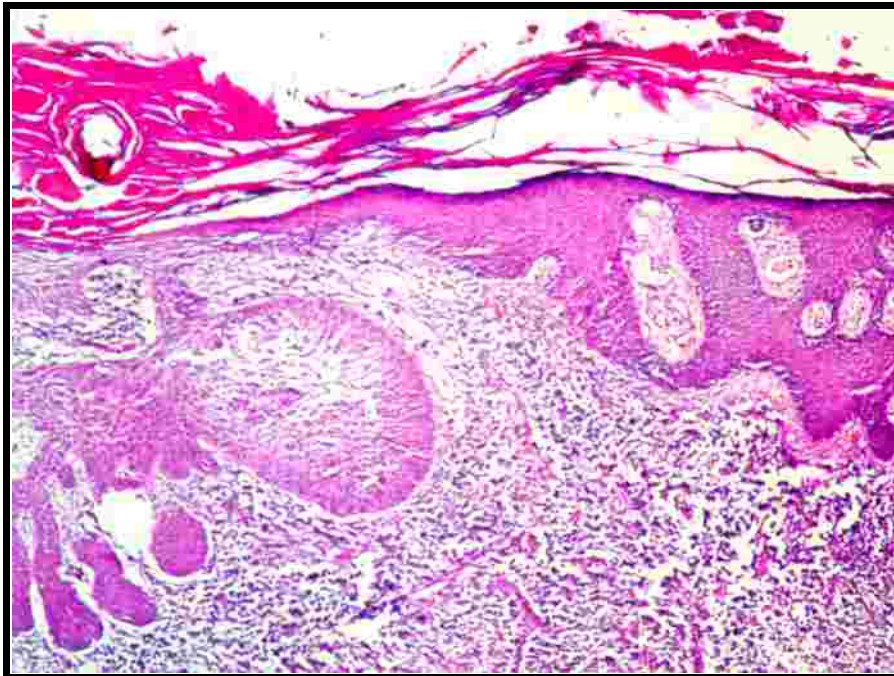


Fig 36 Microcarcinom la nivelul marginii de de siguranta chirurgicale, însoțind un carcinom scuamos lingual, Col HE, Ob 40

Prezența celulelor maligne reziduale la nivelul marginilor de siguranță chirurgicale a constituit subiectul a numeroase studii, fiind corelată cu progresia tumorală și cu rata recidivelor tumorale. Alături de prezența metastazelor ganglionare regionale constituie un factor de prognostic nefavorabil [138].

2 Asocierea modificărilor de tip *displazic* la nivelul epiteliului din periferia carcinoamelor, am observat-o într-un număr de 56 de cazuri îmbracând aspectul unei displazii severe sau a carcinomului in situ, la care s-au asociat zone de displazie simplă.

Microscopic leziunile s-au caracterizat prin modificări ale morfologiei și stratificării celulare extinse la toată grosimea epiteliului scuamos, cu perturbarea arhitecturii acestuia. Stratificarea epitelială a fost absentă, cu pierderea completă a polarității celulare. Celulele epiteliale au avut talie și formă variată, citoplasma redusă cantitativ, bazofilă și nuclei voluminoși, hiper cromatici, cu dipozitie neregulată a cromatinei. Mitozele atipice au fost frecvente, prezente în toată grosimea epiteliului (fig. 37, 38).

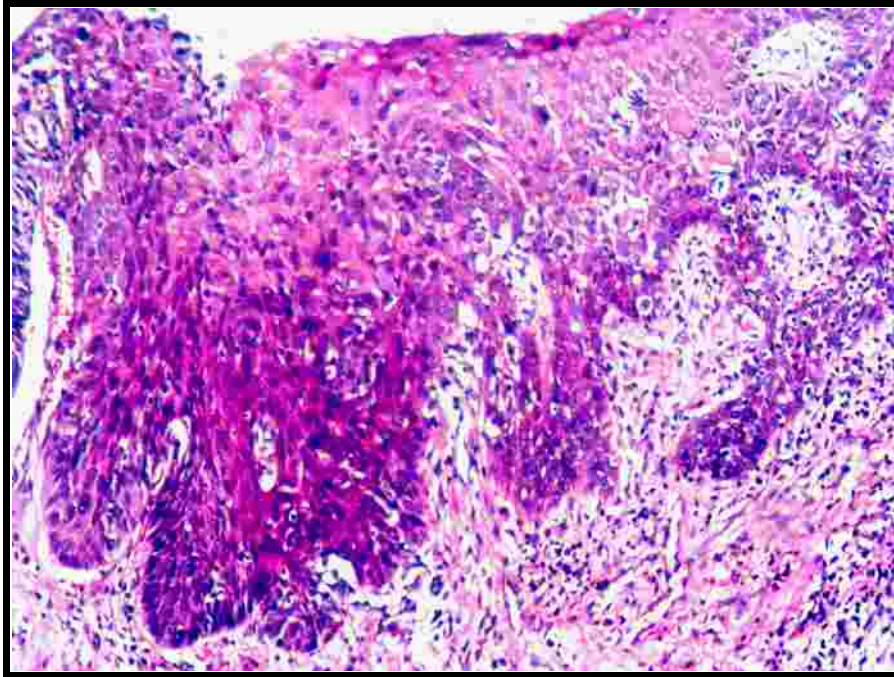


Fig 37 Displazie agravata si carcinom in situ la nivelul epiteliului adiacent unui carcinoma scuamos lingual Col HE, Ob 40

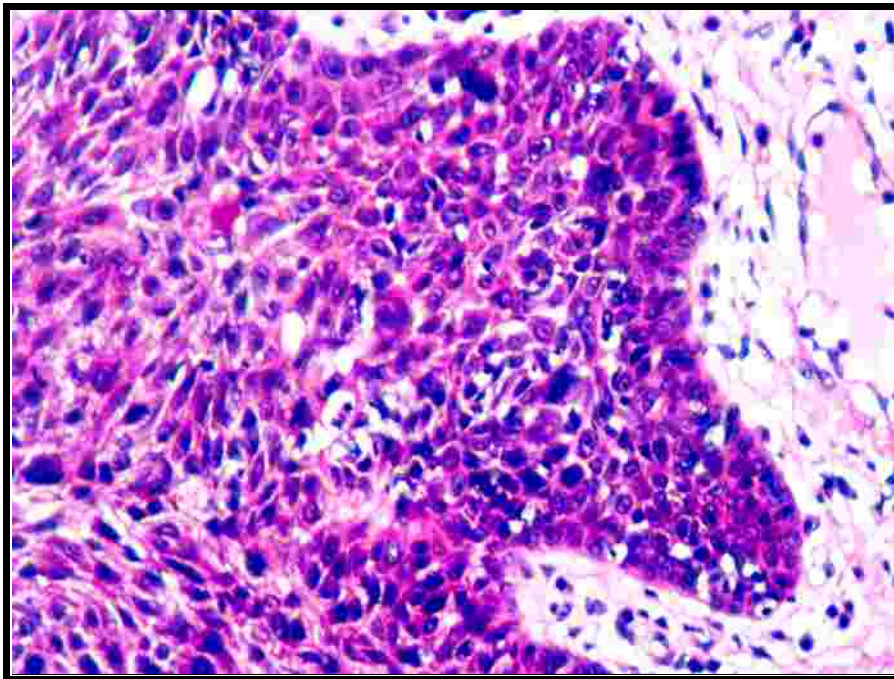


Fig 38 Displazie agravata si carcinom in situ la nivelul epiteliului adiacent unui carcinoma scuamos lingual Col HE, Ob 100

Studii efectuate asupra prezentei modificarilor de tip displazic în epiteliile adiacente carcinoamelor scuamoase orale indica natura multistadiala a malignizarii la acest nivel, prezenta subsecventa la acelasi individ a leziunilor precanceroase si a celor maligne invazive, reflectând progresia alterarilor fenotipice si genotipice asociate cu carcinogeneza orala [139-141]. Se apreciaza ca riscul progresiei maligne a displaziei mucoasei orale variaza între 10-40% [138].

Alte modificari histopatologice asociate carcinoamelor scuamoase analizate, au fost reprezentate de prezenta *coilocitozei*, considerata markerul morfologic al infectiei cu Human Papilloma Virus (HPV). Aspectul l-am observat atât la nivelul epiteliului scuamos adiacent maselor tumorale sau de la nivelul marginilor de siguranta chirurgicala (37 cazuri), cât si interiorul insulelor de celule scuamoase neoplazice (17 cazuri).

Microscopic, celulele cu atipie coilocitica au prezentat halou clar perinuclear, cu aspect de vacuolizare perinucleara, la periferia careia citoplasma s-a colorat mai intens si neregulat. Nuclei celulelor coilocitice au fost situati central sau periferic, cu modificari de atipie nucleara, caracterizata prin marire de volum, hiperchromazie, cromatina dispusa în gramezi neregulate si membrana nucleara îngrosata si neregulata (fig. 39).

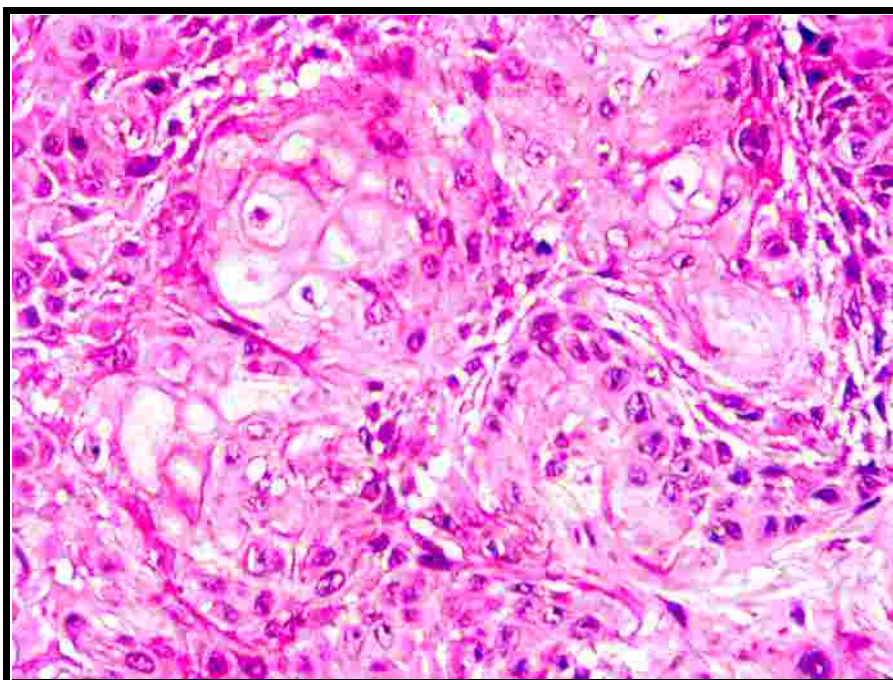


Fig 39 Carcinom scuamos nekeratinizat localizat lingual, atipie coilocitica,
Col HE, Ob 200

Actual este acceptat faptul ca patogenia carcinoamelor scuamoase orale este multifactoriala si etiologia bolii este heterogena. Studiul factorilor implicati în carcinogeneza aero-digestiva a condus la conceptul existentei asa numitului teren al malignizarii, care sustine ca dezvoltarea acestor neoplazii sunt rezultatul expunerii cronice a mucoasei la carcinogeni. Dupa descoperirea asocierii carcinoamelor cervixului cu infectia cu HPV, s-a investigat implicarea acestuia si pentru carcinoamele scuamoase orale, genotipurile HPV cu risc înalt fiind detectate, într-o proportie redusa, atât în displazii cât si în carcinoamele scuamoase orale. Interesant este faptul ca cancererele orale HPV pozitive nu prezinta de regula mutatii TP53, care în schimb sunt prezente la cele ADN-HPV pozitive [143-144]. Se stie de altfel ca proteina E6 a HPV-ului de tip 16 inactiveaza proteina p53, sugerând ca HPV si fumatul pot opera, cel putin în parte, în aceeiasi etapa a procesului multistadial de carcinogeneza de la acest nivel anatomic. În general se apreciaza ca prezenta infectiei HPV se coreleaza cu un prognostic nefavorabil [139, 145-146].

Bibliografie

1. Silverman S Jr. Demographics and occurrence of oral and pharyngeal cancers. The outcomes, the trends, the challenge. *J Am Dent Assoc* 2001;132:7S-11S.
2. Ries LAG, Hankey BF, Miller BA, et al. *Cancer Statistics Review 1973-1988*. National Cancer Institute, NIH Publication No. 91-2789, 1991.
3. American Cancer Society, *Cancer facts and figures 2002*. Atlanta, GA: American Cancer Society; 2002.
4. Neville BW, Damm DD, Allen CM, et al. *Oral & maxillofacial pathology*. 2nd ed. Phila., PA: Saunders; 2002;337-369.
5. Popovtzer A, Shpitzer T, Bahar G, et al. Squamous cell carcinoma of the oral tongue in young patients. *Laryngoscope*. 2004;114(5):915-7.
6. Silverman S Jr. Epidemiology. In: Silverman S Jr ed. *Oral Cancer*. 4th ed. Hamilton, Ontario, Canada: BC Decker Inc; 1998;1-6.
7. Mehrotra R, Yadav S. Oral squamous cell carcinoma: etiology, pathogenesis and prognostic value of genomic alterations. *Indian J Cancer*. 2006;43(2):60-6.
8. Mithani SK, Mydlarz WK, Grumbine FL, et al. Molecular genetics of premalignant oral lesions. *Oral Dis*. 2007;13(2):126-33.
9. Hahn WC, Counter CM, Lundberg AS et al: Creation of human tumor cells with defined genetic elements. *Nature*, 1999;400: 464-468
10. Hanahan D, Weinberg RA: The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000;100: 57-70
11. Arnold F, West DC. Angiogenesis in wound healing. *Pharmacol Ther* 1991;52:407-22.
12. Torry RJ, Rongish BJ. Angiogenesis in the uterus: potential regulation and relation to tumor angiogenesis. *Am J Reprod Immunol* 1992;27:171-9.
13. Welsh AO, Enders AC. Chorioallantoic placenta formation in the rat: angiogenesis and maternal blood circulation in the mesometrial region of the implantation chamber prior to placenta formation. *Am J Anat* 1991;192:347-65.
14. Folkman J. Tumor angiogenesis. In: Mendelsohn J, Howley PM, Israel MA, Liotta LA, eds. *The molecular basis of cancer*. Philadelphia: W. B. Saunders, 1995:206-32.
15. Li C, Shintani S, Terakado N, et al. Infiltration of tumor-associated macrophages in human oral squamous cell carcinoma. *Oncol Rep*. 2002;9(6):1219-23.

16. Liss C, Fekete MJ, Hasina R, et al. Characterization of a paracrine loop for the expression of the angiogenic phenotype in head and neck cancer. *Int J Cancer* 2001;93:781-5.
17. Iamaroon A, Pongsiriwet S, Jittidecharaks S, et al. Increase of mast cells and tumor angiogenesis in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2003;32(4):195-9.
18. Rojas IG, Spencer ML, Martinez A, et al. Characterization of mast cell subpopulations in lip cancer. *J Oral Pathol Med.* 2005;34(5):268-73.
19. Ranieri G, Labriola A, Achille G, et al. Microvessel density, mast cell density and thymidine phosphorylase expression in oral squamous carcinoma. *Int J Oncol.* 2002;21(6):1317-23.
20. Kawano T, Yanoma S, et al. The inhibitory effects of TNP470 on tumour growth of head and neck carcinoma cell producing interleukin-8. *Laryngol Otol.* 2001;115(10):802-7.
21. Khan MK, Mamou F, Schipper MJ, et al. Combination tetrathiomolybdate and radiation therapy in a mouse model of head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006;132(3):333-8.
22. Myoung H, Hong SD, Kim YY, et al. Evaluation of the anti-tumor and anti-angiogenic effect of paclitaxel and thalidomide on the xenotransplanted oral squamous cell carcinoma. *Cancer Lett* 2001;163:191-200.
23. Myoung H, Hong SP, Yun PY, et al. Anti-cancer effect of genistein in oral squamous cell carcinoma with respect to angiogenesis and in vitro invasion. *Cancer Sci.* 2003;94(2):215-20.
24. Clark JI, Hofmeister C, Choudhury A, et al. Phase II evaluation of paclitaxel in combination with carboplatin in advanced head and neck carcinoma. *Cancer.* 2001;92(9):2334-40.
25. Shin DM, Khuri FR, Glisson BS, et al. Phase II study of paclitaxel, ifosfamide, and carboplatin in patients with recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer.* 2001;91(7):1316-23.
26. Tseng JE, Glisson BS, Khuri FR, et al. Phase II study of the antiangiogenesis agent thalidomide in recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer.* 2001;92(9):2364-73.
27. Worden FP, Moon J, Samlowski W, et al.; Southwest Oncology Group, Head and Neck Working Group. A phase II evaluation of a 3-hour infusion of paclitaxel, cisplatin, and 5-fluorouracil in patients with advanced or recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck: Southwest Oncology Group study 0007. *Cancer.* 2006;107(2):319-27.
28. Houck JR, Medina JE. Management of cervical lymph nodes in squamous carcinomas of the head and neck. *Semin Surg Oncol* 1995; 11: 228-39.
29. Kishimoto K, Sasaki A, Yoshihama Y, et al: Expression of vascular endothelial growth factor-C predicts regional lymph node metastasis in early oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2003;39:391.
30. O-charoenrat P, Rhys-Evans P, Eccles SA: Expression of vascular endothelial growth factor family members in head and neck squamous cell carcinoma correlates with lymph node metastasis. *Cancer* 2001;92:556.
31. Ohno F, Nakanishi H, Abe A, et al. Regional difference in intratumoral lymphangiogenesis of oral squamous cell carcinomas evaluated by immunohistochemistry using D2-40 and podoplanin antibody: an analysis in comparison with angiogenesis. *J Oral Pathol Med.* 2007 May;36(5):281-9.
32. American Cancer Society, *Cancer facts and figures 2002.* Atlanta, GA: American Cancer Society; 2002.
33. Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, et al (2003). *Cancer Incidence in Five Continents, Vol. VIII.* IARC Press: Lyon.
34. Moore SR, Johnson NW, Pierce AM, Wilson DF *Oral Dis.* The epidemiology of mouth cancer: a review of global incidence. 2000 Mar;6(2):65-74.
35. Rosai J, *Ackerman's Surgical pathology, CV Mosby Company, vol I, eight edition, 2006.*
36. Wingo PA, Tong T, Bolden S. *Cancer statistics, 1995. CA Cancer J Clin* 1995;45:8-30.

37. Llewellyn CD, Linklater K, Bell J, et al. Squamous cell carcinoma of the oral cavity in patients aged 45 years and under: a descriptive analysis of 116 cases diagnosed in the South East of England from 1990 to 1997. *Oral Oncol* 2003;39: 106-114.
38. Schantz SP, Yu GP. Head and neck cancer incidence trends in young Americans, 1973-1997, with a special analysis for tongue cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;128: 268-274.
39. Swango PA. Cancers of the oral cavity and pharynx in the United States: An epidemiologic overview. *J Public Health Dent* 1996;56:309-318.
40. Chen JK, Katz RV, Krutchkoff DJ. Intraoral squamous cell carcinoma. Epidemiologic patterns in Connecticut from 1935 to 1985. *Cancer* 1990;66:1288-1296.
41. Negri E, La Vecchia C, Franceschi S, et al. Attributable risk for oral cancer in northern Italy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1993;2: 189-193.
42. Andre K, Schraub S, Mercier M, et al. Role of alcohol and tobacco in the aetiology of head and neck cancer: A case-control study in the Doubs region of France. *Oral Oncol, Eur J Cancer* 1995;31B:301-309
43. Jovanovic A, Schulten EA, Kostense PJ, et al. Tobacco and alcohol related to the anatomical site of oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 1993;22:459-462.
44. Lewin F, Norell SE, Johansson H, et al. Smoking tobacco, oral snuff, and alcohol in the etiology of squamous cell carcinoma of the head and neck. A population-based case-referent study in Sweden. *Cancer* 1998;82:1367-1375.
45. Mashberg A, Boffetta P, Winkelmann R, et al. Tobacco smoking, alcohol drinking, and cancer of the oral cavity and oropharynx among U.S. veterans. *Cancer* 1993;72:1369-1375.
46. Silverman S Jr, Griffith M. Smoking characteristics of patients with oral carcinoma and the risk for second oral primary carcinoma. *J Am Dent Assoc* 1972;85:637-640.
47. Brugere J, Guenel P, Leclerc A, et al. Differential effects of tobacco and alcohol in cancer of the larynx, pharynx, and mouth. *Cancer* 1986;57: 391-395.
48. Nadal A, Jares P, Cazorla M, et al. p21WAF1/Cip1 expression is associated with cell differentiation but not with p53 mutations in squamous cell carcinomas of the larynx. *J Pathol* 1997;183: 156-163.
49. Franceschi S, Talamini R, Barra S, et al. Smoking and drinking in relation to cancers of the oral cavity, pharynx, larynx, and esophagus in northern Italy. *Cancer Res* 1990;50: 6502-6507.
50. Macfarlane GJ, Macfarlane TV, Lowenfels AB. The influence of alcohol consumption on worldwide trends in mortality from upper aerodigestive tract cancers in men. *J Epidemiol Community Health* 1996;50: 636-639.
51. Lindel K, Beer KT, Laissue J, et al. Human papillomavirus positive squamous cell carcinoma of the oropharynx: A radiosensitive subgroup of head and neck carcinoma. *Cancer* 2001;92:805-813.
52. Gillison ML, Shah KV. Human papillomavirus-associated head and neck squamous cell carcinoma: Mounting evidence for an etiologic role for human papillomavirus in a subset of head and neck cancers. *Curr Opin Oncol* 2001;13:183-188.
53. Miller CS, White DK. Human papillomavirus expression in oral mucosa, premalignant conditions, and squamous cell carcinoma. A retrospective review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996;82:57-68.
54. Mork J, Lie AK, Glatte E, et al. Human papillomavirus infection as a risk factor for squamous cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2001;344:1125-1131.
55. Sugeran PB, Shillito EJ. The high risk human papillomaviruses and oral cancer: Evidence for and against a causal relationship. *Oral Dis* 1997;3:130-147.
56. Braakhuis BJM, A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implication, *Cancer Res* 2003;63: 1727.
57. Mashberg A, Samit A. Early diagnosis of asymptomatic oral and oropharyngeal squamous cancers. *CA Cancer J Clin* 1995;45: 328-351.

58. World Health Organization Classification of Tumors. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumors, Barnes L., Eveson J.W., Reichart P., Sidransky D., IARC, Lyon, France, 2005.
59. Ackerman LV. Verrucous carcinoma of the oral cavity. *Surgery* 1948;23:670-678.
60. Spiro RH. Verrucous carcinoma, then and now. *Am J Surg.* 1998 Nov;176(5):393-7.
61. Ferlito A, Recher G. Ackerman's tumor (verrucous carcinoma) of the larynx: a clinicopathologic study of 77 cases. *Cancer.* 1980 Oct 1;46(7):1617-30.
62. Florin EH, Kolbusz RV, Goldberg LH. Verrucous carcinoma of the oral cavity. *Int J Dermatol.* 1994 Sep;33(9):618-22.
63. Brandsma JL, Steinberg BM, Abramson AL, et al. Presence of human papillomavirus type 16 related sequences in verrucous carcinoma of the larynx. *Cancer Res.* 1986 Apr;46(4 Pt 2):2185-8.
64. Bryan RL, Bevan IS, Crocker J, et al. Detection of HPV 6 and 11 in tumours of the upper respiratory tract using the polymerase chain reaction. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 1990 Apr;15(2):177-80.
65. Fliss DM, Noble-Topham SE, McLachlin M, et al. Laryngeal verrucous carcinoma: a clinicopathologic study and detection of human papillomavirus using polymerase chain reaction. *Laryngoscope.* 1994 Feb;104(2):146-52.
66. Johnson TL, Plieth DA, Crissman JD, et al. HPV detection by polymerase chain reaction (PCR) in verrucous lesions of the upper aerodigestive tract. *Mod Pathol.* 1991 Jul;4(4):461-5.
67. Cooper JR, Hellquist HB, Michaels L. Image analysis in the discrimination of verrucous carcinoma and squamous papilloma. *J Pathol.* 1992 Apr;166(4):383-7.
68. Orvidas LJ, Olsen KD, Lewis JE, et al. Verrucous carcinoma of the larynx: a review of 53 patients. *Head Neck.* 1998 May;20(3):197-203.
69. Wain SL, Kier R, Vollmer RT, et al. Basaloid-squamous carcinoma of the tongue, hypopharynx, and larynx: report of 10 cases. *Hum Pathol.* 1986 Nov;17(11):1158-66.
70. Klijanienko J, el-Naggar A, Ponzio-Prion A, et al. Basaloid squamous carcinoma of the head and neck. Immunohistochemical comparison with adenoid cystic carcinoma and squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1993 Aug;119(8):887-90.
71. Raslan WF, Barnes L, Krause JR, et al. Basaloid squamous cell carcinoma of the head and neck: a clinicopathologic and flow cytometric study of 10 new cases with review of the English literature. *Am J Otolaryngol.* 1994 May-Jun;15(3):204-11.
72. Coletta RD, Cotrim P, Almeida OP, et al. Basaloid squamous carcinoma of oral cavity: a histologic and immunohistochemical study. *Oral Oncol.* 2002 Oct;38(7):723-9.
73. Coppola D, Catalano E, Tang CK, et al. Basaloid squamous cell carcinoma of floor of mouth. *Cancer.* 1993 Oct 15;72(8):2299-305
74. Ide F, Shimoyama T, Horie N, et al. Basaloid squamous cell carcinoma of the oral mucosa: a new case and review of 45 cases in the literature. *Oral Oncol.* 2002 Jan;38(1):120-4.
75. Saltarelli MG, Fleming MV, Wenig BM, et al. Primary basaloid squamous cell carcinoma of the trachea. *Am J Clin Pathol.* 1995 Nov;104(5):594-8.
76. Banks ER, Frierson HF Jr, Mills SE, et al. Basaloid squamous cell carcinoma of the head and neck. A clinicopathologic and immunohistochemical study of 40 cases. *Am J Surg Pathol.* 1992 Oct;16(10):939-46.
77. Barnes L, Ferlito A, Altavilla G, et al. Basaloid squamous cell carcinoma of the head and neck: clinicopathological features and differential diagnosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1996 Jan;105(1):75-82.
78. Muller S, Barnes L. Basaloid squamous cell carcinoma of the head and neck with a spindle cell component. An unusual histologic variant. *Arch Pathol Lab Med.* 1995 Feb;119(2):181-2.
79. Seidman JD, Berman JJ, Yost BA, et al. Basaloid squamous carcinoma of the hypopharynx and larynx associated with second primary tumors. *Cancer.* 1991 Oct 1;68(7):1545-9.
80. Morice WG, Ferreiro JA. Distinction of basaloid squamous cell carcinoma from adenoid cystic and small cell undifferentiated carcinoma by immunohistochemistry. *Hum Pathol.* 1998 Jun;29(6):609-12.

- 81.** Lever WF. Adenoacanthoma of sweat glandsS carcinoma of sweat glands with glandular and epidermal elements. Report of 4 cases. *Arch Dermatol Syphilol* 56:157-171
- 82.** Reghezi JA, Sciubba JJ, Jordan RCK. Oral pathology. Clinical pathologic correlations, 4th edn.. Saunders, St. Louis, 2003; pp143-156.
- 83.** Nappi O, Wick MR, Pettinato G, et al. Pseudovascular adenoid squamous cell carcinoma of the skin. A neoplasm that may be mistaken for angiosarcoma. *Am J Surg Pathol.* 1992 May;16(5):429-38.
- 84.** Batsakis JG, Huser J. Squamous carcinomas with glandlike (adenoid) features. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1990 Jan;99(1):87-8.
- 85.** Blackburn TK, Macpherson D, Conroy B. Primary adenoid squamous cell carcinoma of the upper lip associated with a locoregional metastasis: a case report and review of the literature. *J Oral Maxillofac Surg.* 1999 May;57(5):612-6.
- 86.** Goldman RL, Klein HZ, Sung M. Adenoid squamous cell carcinoma of the oral cavity: report of the first case arising in the tongue. *Arch Otolaryngol.* 1977 Aug;103(8):496-8.
- 87.** Jones AC, Freedman PD, Kerpel SM. Oral adenoid squamous cell carcinoma: a report of three cases and review of the literature. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993 Jun;51(6):676-81.
- 88.** Takagi M, Sakota Y, Takayama S, et al. Adenoid squamous cell carcinoma of the oral mucosa: report of two autopsy cases. *Cancer.* 1977 Nov;40(5):2250-5.
- 89.** Ferlito A, Devaney KO, Rinaldo A, et al. Mucosal adenoid squamous cell carcinoma of the head and neck. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1996 May;105(5):409-13
- 90.** Zaatari GS, Santoianni RA. Adenoid squamous cell carcinoma of the nasopharynx and neck region. *Arch Pathol Lab Med.* 1986 Jun;110(6):542-6.
- 91.** Batsakis JG, Suarez P. Sarcomatoid carcinomas of the upper aerodigestive tracts. *Adv Anat Pathol.* 2000 Sep;7(5):282-93.
- 92.** Berthelet E, Shenouda G, Black MJ, et al. Sarcomatoid carcinoma of the head and neck. *Am J Surg.* 1994 Nov;168(5):455-8.
- 93.** Ferlito A, Rinaldo A, Devaney KO, et al. Impact of phenotype on treatment and prognosis of laryngeal malignancies. *J Laryngol Otol.* 1998 Aug;112(8):710-4.
- 94.** Lewis JE, Olsen KD, Sebo TJ. Spindle cell carcinoma of the larynx: review of 26 cases including DNA content and immunohistochemistry. *Hum Pathol.* 1997 Jun;28(6):664-73
- 95.** Thompson LD, Wieneke JA, Miettinen M, et al. Spindle cell (sarcomatoid) carcinomas of the larynx: a clinicopathologic study of 187 cases. *Am J Surg Pathol.* 2002 Feb;26(2):153-70.
- 96.** Ansari-Lari MA, Hoque MO, Califano J, et al. Immunohistochemical p53 expression patterns in sarcomatoid carcinomas of the upper respiratory tract. *Am J Surg Pathol.* 2002 Aug;26(8):1024-31.
- 97.** Ellis GL, Langloss JM, Heffner DK, et al. Spindle-cell carcinoma of the aerodigestive tract. An immunohistochemical analysis of 21 cases. *Am J Surg Pathol.* 1987 May;11(5):335-42.
- 98.** Rizzardi C, Frezzini C, Maglione M, et al. A look at the biology of spindle cell squamous carcinoma of the oral cavity: report of a case. *J Oral Maxillofac Surg.* 2003 Feb;61(2):264-8.
- 99.** Wenig BM. Squamous cell carcinoma of the upper aerodigestive tract: precursors and problematic variants. *Mod Pathol.* 2002 Mar;15(3):229-54.
- 100.** Leventon GS, Evans HL. Sarcomatoid squamous cell carcinoma of the mucous membranes of the head and neck: a clinicopathologic study of 20 cases. *Cancer.* 1981 Aug 15;48(4):994-1003.
- 101.** Lewis JS, Ritter JH, El-Mofty S. Alternative epithelial markers in sarcomatoid carcinomas of the head and neck, lung, and bladder-p63, MOC-31, and TTF-1. *Mod Pathol.* 2005 Nov;18(11):1471-81.
- 102.** Lambert PR, Ward PH, Berci G. Pseudosarcoma of the larynx: a comprehensive analysis. *Arch Otolaryngol.* 1980 Nov;106(11):700-8.
- 103.** Battifora H. Spindle cell carcinoma: ultrastructural evidence of squamous origin and collagen production by the tumor cells. *Cancer.* 1976 May;37(5):2275-82.
- 104.** Hellquist H, Olofsson J. Spindle cell carcinoma of the larynx. *APMIS.* 1989 Dec;97(12):1103-13.

- 105.** Takata T, Ito H, Ogawa I, et al. Spindle cell squamous carcinoma of the oral region. An immunohistochemical and ultrastructural study on the histogenesis and differential diagnosis with a clinicopathological analysis of six cases. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1991;419(3):177-82.
- 106.** Zarbo RJ, Crissman JD, Venkat H, et al. Spindle-cell carcinoma of the upper aerodigestive tract mucosa. An immunohistologic and ultrastructural study of 18 biphasic tumors and comparison with seven monophasic spindle-cell tumors. *Am J Surg Pathol.* 1986 Nov;10(11):741-53.
- 107.** Meijer JW, Ramaekers FC, Manni JJ, et al. Intermediate filament proteins in spindle cell carcinoma of the larynx and tongue. *Acta Otolaryngol.* 1988 Sep-Oct;106(3-4):306-13.
- 108.** Crissman JD, Kessis T, Shah KV, et al. Squamous papillary neoplasia of the adult upper aerodigestive tract. *Hum Pathol.* 1988 Dec;19(12):1387-96.
- 109.** Batsakis JG, Suarez P. Papillary squamous carcinoma: will the real one please stand up? *Adv Anat Pathol.* 2000 Jan;7(1):2-8.
- 110.** Suarez PA, Adler-Storhiz K, Luna MA, et al. Papillary squamous cell carcinomas of the upper aerodigestive tract: a clinicopathologic and molecular study. *Head Neck.* 2000 Jul;22(4):360-8.
- 111.** Gerughty RM, Hennigar GR, Brown FM. Adenosquamous carcinoma of the nasal, oral and laryngeal cavities. A clinicopathologic survey of ten cases. *Cancer.* 1968 Dec;22(6):1140-55.
- 112.** Alos L, Castillo M, Nadal A, et al. Adenosquamous carcinoma of the head and neck: criteria for diagnosis in a study of 12 cases. *Histopathology.* 2004 Jun;44(6):570-9.
- 113.** Napier SS, Gormely JS, Newlands C, et al. Adenosquamous carcinoma. A rare neoplasm with an aggressive course. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995 May;79(5):607-11.
- 114.** Newman J, Antonakopoulos GN, Darnton SJ, et al. The ultrastructure of oesophageal carcinomas: multidirectional differentiation. A transmission electron microscopic study of 43 cases. *J Pathol.* 1992 Jun;167(2):193-8.
- 115.** Scully C, Porter SR, Speight PM, et al. Adenosquamous carcinoma of the mouth: a rare variant of squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1999 Apr;28(2):125-8.
- 116.** Regaud C, Reverchon L. Sur un cas de epithelioma epidermoide developpe dans le masif maxillaire superieure etendu aux ligaments de la face, aux cavaties buccale, nasale et orbitaire ainsi que aux ganglions du cou gueri par la radiotherapie. *Rev. Laryngol Othol Rhinol (Bord)* 1921;42:369-378.
- 117.** Niedobitek G, Hansmann ML, Herbst H, et al. Epstein-Barr virus and carcinomas: undifferentiated carcinomas but not squamous cell carcinomas of the nasopharynx are regularly associated with the virus. *J Pathol.* 1991 Sep;165(1):17-24.
- 118.** Dubey P, Ha CS, Ang KK, et al. Nonnasopharyngeal lymphoepithelioma of the head and neck. *Cancer.* 1998 Apr 15;82(8):1556-62.
- 119.** MacMillan C, Kapadia SB, Finkelstein SD, et al. Lymphoepithelial carcinoma of the larynx and hypopharynx: study of eight cases with relationship to Epstein-Barr virus and p53 gene alterations, and review of the literature. *Hum Pathol.* 1996 Nov;27(11):1172-9.
- 120.** Bouquot JE, Gundlach KKH. Odd tongues: the prevalence of common tongue lesions in 23,616 white Americans over 35 years of age. *Quintessence Internat* 1986; 17:719-730.
- 121.** Wooglar JA, Scott J. Prediction of cervical lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the tongue/floor or mouth, *Head Neck,* 17: 463-472, 1995.
- 122.** Speight PM, Farthing PM, Bouquot JE. The pathology of oral cancer and precancer. *Curr Diag Path* 1996; 3:165-177.
- 123.** Barnes L. Diseases of the larynx, hypopharynx, and esophagus. In: Barnes` surgical pathology of the head and neck, 2nd edn. Dekker, New York, 2001, pp 128-237.
- 124.** Crissman JD, Gluckman J, Whiteley J, et al. Squamous-cell carcinoma of the floor of the mouth. *Head Neck Surg.* 1980 Sep-Oct;3(1):2-7.
- 125.** Mohit-Tabatabai MA, Sobel HJ, Rush BF, et al. Relation of thickness of floor of mouth stage I and II cancers to regional metastasis. *Am J Surg.* 1986 Oct;152(4):351-3.

- 126.** Bryne M. Is the invasive front of an oral carcinoma the most important area for prognostication? *Oral Dis.* 1998 Jun;4(2):70-7.
- 127.** Bryne M, Jenssen N, Boysen M. Histological grading in the deep invasive front of T1 and T2 glottic squamous cell carcinomas has high prognostic value. *Virchows Arch.* 1995;427(3):277-81.
- 128.** Crissman JD, Liu WY, Gluckman JL, et al. Prognostic value of histopathologic parameters in squamous cell carcinoma of the oropharynx. *Cancer.* 1984 Dec 15;54(12):2995-3001.
- 129.** Yilmaz T, Hosal S, Gedikoglu G, et al. Prognostic significance of depth of invasion in cancer of the larynx. *Laryngoscope.* 1998 May;108(5):764-8.
- 130.** McGregor AD, MacDonald DG. Routes of entry of squamous cell carcinoma to the mandible. *Head Neck Surg* 1988;10: 294-301.
- 131.** McGregor AD, MacDonald DG. Patterns of spread of squamous cell carcinoma within the mandible. *Head Neck* 1989;11: 457-461.
- 132.** Mukherji SK, Armao D, Joshi VM. Cervical nodal metastases in squamous cell carcinoma of the head and neck: what to expect. *Head Neck* 2001;23: 995-1005.
- 133.** Woolgar JA. Detailed topography of cervical lymph-node metastases from oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1997;26: 3-9.
- 134.** Woolgar JA, Rogers SN, Lowe D, et al. Cervical lymph node metastasis in oral cancer: the importance of even microscopic extracapsular spread. *Oral Oncol* 2003;39: 130-137.
- 135.** Genden EM, Ferlito A, Bradley PJ, et al. Neck disease and distant metastases. *Oral Oncol* 2003;39: 207-212.
- 136.** Woolgar JA, Scott J. Prediction of cervical lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the tongue/floor of mouth. *Head Neck* 1995;17: 463-472.
- 137.** Charoenrat P, Pillai G, Patel S, et al. Tumour thickness predicts cervical nodal metastases and survival in early oral tongue cancer. *Oral Oncol* 2003;39: 386-390.
- 138.** Crissman JD, Zarbor J, Displasia, in situ carcinoma and progression to invasive carcinoma of upper aerodigestive tract. *Am. J. Surg. Pathol.*, 13:5, 1989.
- 139.** Cao J, Zhang ZY, Patima, et al. Human papillomavirus infection and p53 alteration in oral squamous cell carcinoma *Chin J Dent Res.* 2000 Nov; 3(3):44-9
- 140.** Partridge, M. Head and neck cancer and precancer: can we use molecular genetics to make better predictions? *Ann. R. Coll. Surg. Engl.*, 81: 1–11, 1999.
- 141.** Soames JV, Southam JC, *Oral Pathology*, third edition, Edinburg, 1997, 159-177.
- 142.** Silverman S, Gorsky M, Lozada F: Oral leukoplakia and malignant transformation: a follow-up study. *Cancer*, 1984; 53: 563-568.
- 143.** Elamin F, Steingrimsdottir H, Wanakulasuriya S, et al. Prevalence of human papillomavirus infection in premalignant and malignant lesions of the oral cavity in U.K. subjects: a novel method of detection. *Oral Oncol* 1998;34: 191-197.
- 144.** Herrero R, Castellsagué X, Pawlita M, et al, International Agency for Research on Cancer (IARC) Multicentric Cervical Cancer Study Group. The viral etiology of oral cancer: evidence from the IARC multi-centric study. *J Natl Cancer Inst* 2003;47-51.
- 145.** Kreimer AR, Clifford GM, Franceschi S. Human papillomavirus types in head and neck squamous cell carcinomas worldwide: a systematic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005 Feb;14(2):467-75.
- 146.** Lo Muzio, Campisi G, Giovannelli L, et al. HPV DNA and survivin expression in epithelial oral carcinogenesis: a relationship? *L. Oral Oncol.*, 2004, Aug;40(7):736-41.