

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Μοριακή βάση ακανθοκυτταρικού καρκινώματος κεφαλής τραχήλου Διαγνωστικές, προγνωστικές και θεραπευτικές εφαρμογές

Το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα κεφαλής τραχήλου (ΑΚΚΤ) αποτελεί μια από τις συχνότερες μορφές καρκίνου και χαρακτηρίζεται από αυξανόμενη επίπτωση και υψηλή θνητότητα. Ο κίνδυνος ανάπτυξης του επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως το κάπνισμα, η κατανάλωση οινοπνεύματος και η μόλυνση με συγκεκριμένους ιούς, αλλά και από τη γενετική προδιάθεση του ασθενούς. Η ανάπτυξη του ΑΚΚΤ αποτελεί μια πολυσταδιακή διαδικασία που απαιτεί τη συσσώρευση πολλαπλών και διαδοχικών γενετικών και επιγενετικών αλλοιώσεων, όπως αντανακλάται κλινικά από τη συχνή προϋπαρξη προκαρκινικών εξεργασιών του βλεννογόνου. Οι αλλοιώσεις αφορούν σε ενεργοποίηση ογκογονιδίων και σε απενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων, καθώς και αλλαγές σε βασικούς μοριακούς μηχανισμούς που διέπουν θεμελιώδεις κυτταρικές διεργασίες όπως τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και την απόπτωση. Τα τελευταία χρόνια, με τις ολοένα αυξανόμενες γνώσεις για το μοριακό υπόβαθρο του ΑΚΚΤ, διανοίγονται σημαντικές προοπτικές αξιοποίησης των ευρημάτων για την ταυτοποίηση κατάλληλων μοριακών δεικτών και στόχων, που θα επιτρέψουν την πρόωπη διάγνωση προκαρκινικών και καρκινικών βλαβών, αλλά και την εφαρμογή εξατομικευμένων φαρμακολογικών θεραπευτικών παρεμβάσεων. Πολυάριθμες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στη διερεύνηση και στην ανάλυση της μοριακής βάσης του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος. Στην παρούσα ανασκόπηση συζητούνται μοριακοί μηχανισμοί που έχουν σχετιστεί με το ΑΚΚΤ, περιλαμβάνοντας παρεκτροπές σε ογκογονίδια, ογκοκατασταλτικά γονίδια και σηματοδοτικά μονοπάτια που ενοχοποιούνται για τις καρκινικές ιδιότητες της ανεξέλεγκτης αύξησης, της διήθησης, της νεοαγγειογένεσης, της αποφυγής της ανοσιακής επίβλεψης και της μετάστασης. Αναπτύσσονται οι έννοιες της καρκινογένεσης πεδίου και της κυτταρικής αθανάτοποίησης και διερευνάται ο ρόλος του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV) στο ΑΚΚΤ. Ακόμη, συζητείται η προοπτική κλινικής εφαρμογής των νέων αυτών μοριακών ευρημάτων στην έγκαιρη διάγνωση, στην πρόληψη και στη θεραπεία του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Η συντριπτική πλειοψηφία των καρκινωμάτων των ανώτερων τμημάτων της αναπνευστικής και της πεπτικής οδού, εκτός του οισοφάγου, προέρχονται από το καλυπτικό επιθήλιο και ταξινομούνται ως ακανθοκυτταρικά καρκινώματα κεφαλής και τραχήλου (ΑΚΚΤ) (head and neck squamous cell carcinomas, HNSCC). Το ΑΚΚΤ αποτελεί το 95% όλων των όγκων κεφαλής και τραχήλου και τον έκτο

συχνότερο καρκίνο για τους κατοίκους των αναπτυγμένων χωρών, καθώς και τον όγδοο συχνότερο καρκίνο παγκόσμια.^{1,2} Αντιπροσωπεύει το 3% όλων των νεοπλασιών και κάθε χρόνο αναφέρονται 650.000 νέες περιπτώσεις του, που αντιστοιχούν στο 5–10% όλων των νέων περιπτώσεων καρκίνου στις αναπτυγμένες χώρες.² Οι μισές σχεδόν περιπτώσεις εντοπίζονται στη στοματική κοιλότητα και συχνά συσχετίζονται με προκαρκινικές εξεργασίες του βλεννογόνου, όπως η λευκοπλακία και η ερυθροπλακία.³

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2012, 29(6):655–669
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2012, 29(6):655–669

Μ. Σιδέρη,
Ν. Νικητάκης

Εργαστήριο Στοματολογίας,
Οδοντιατρική Σχολή, Εθνικό και
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα

The molecular basis of head and
neck squamous cell carcinoma.
Implications of novel findings
for prevention and therapy

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα κεφαλής
τραχήλου
Καρκίνος στόματος
Μοριακή Βιολογία
Στοχευμένη Θεραπεία

Υποβλήθηκε 17.4.2012
Εγκρίθηκε 4.6.2012

Οι δύο κύριοι ανεξάρτητοι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με το ΑΚΚΤ είναι η χρήση προϊόντων καπνού και η κατανάλωση οινόπνευματος.⁴ Αυτοί δρουν συνεργικά, καθώς το οινόπνευμα αυξάνει τη διαπερατότητα του βλεννογόνου στις νιτροζαμίνες του καπνού και συχνά συνυπάρχουν στο ίδιο άτομο. Όσοι πίνουν και καπνίζουν έχουν έως και 38 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου από εκείνους που δεν πίνουν ούτε καπνίζουν.⁴ Άλλοι αναφερόμενοι παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνουν την κακή στοματική υγιεινή, την καντιντίαση, τους διαιτητικούς παράγοντες και την προσβολή από ιούς, κυρίως της ομάδας του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων (human papilloma virus, HPV).⁵

Αν και ανέκαθεν τα ΑΚΚΤ αντιμετωπίζονταν ως ενιαία οντότητα που διέφερε μόνο ως προς την εντόπιση των όγκων των διαφόρων επί μέρους ανατομικών περιοχών, σύγχρονες μελέτες δείχνουν ότι αυτά δεν είναι τόσο ομοιόμορφα. Έχει προταθεί ότι η ταυτοποίηση διακριτών μοριακών γονιδιακών χαρακτηριστικών των όγκων της εν λόγω κατηγορίας επιτρέπει την ευχερέστερη διάκριση υποκατηγοριών ως προς τους παράγοντες κινδύνου, την παθογένεια και την κλινική συμπεριφορά των επί μέρους όγκων. Έτσι, οι Chung et al ταυτοποίησαν τέσσερις υποκατηγορίες ΑΚΚΤ με διαφορετικά μοριακά χαρακτηριστικά και διαφορετική πρόγνωση.⁶ Η υποκατηγορία με υψηλή έκφραση του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) παρουσίαζε σχετικά πτωχή πρόγνωση. Τελευταία, μια διάκριση που φαίνεται να κερδίζει έδαφος είναι ανάμεσα σε όγκους σχετιζόμενους με τον ιό HPV και σε εκείνους όπου δεν εμπλέκεται ο HPV.^{1,2,7} Στην πρώτη περίπτωση, η κλινική συμπεριφορά της νόσου και η πρόγνωση είναι σαφώς καλύτερες.

Η παρατηρηθείσα μείωση της επίπτωσης του ΑΚΚΤ σε συνάρτηση με τη μείωση της καμπύλης του καπνίσματος γέννησε ελπίδες ότι ο συγκεκριμένος καρκίνος θα μπορούσε να προληφθεί με τροποποιήσεις της συμπεριφοράς και διακοπή του καπνίσματος στο γενικό πληθυσμό. Αυτές οι προσδοκίες αποδείχθηκαν όμως υπερβολικές, καθώς τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια εκ νέου αύξηση του αριθμού των κρουσμάτων, ειδικά στον καρκίνο του στοματοφάρυγγα. Ο εν λόγω καρκίνος βρέθηκε ότι συνδέεται με μόλυνση με τον HPV μέσω της στοματογεννητικής οδού και σχετίζεται με τις αλλαγές στη σεξουαλική συμπεριφορά κυρίως των νέων, δημιουργώντας ένα νέο προφίλ ασθενούς με ΑΚΚΤ που δεν είναι απαραίτητα μεγάλης ηλικίας, πότης και βαρύς καπνιστής, αλλά νέος (ηλικία 40–60 ετών), που δεν καπνίζει ούτε πίνει.^{1,2}

Παρ' όλες τις προόδους στους τομείς της Ογκολογίας και της Χειρουργικής που έχουν επιτευχθεί τις τελευταίες

δεκαετίες, η πρόγνωση του ΑΚΚΤ εξακολουθεί να είναι δυσμενής καθώς το 50% των ασθενών κατά τη στιγμή της διάγνωσης εμφανίζει ήδη απομακρυσμένες μεταστάσεις.⁵ Η πενταετής επιβίωση επίσης δεν υπερβαίνει το 50%, κυμαινόμενη ευρέως ανάλογα με το χρόνο διάγνωσης και συνεπώς το στάδιο της νόσου, αλλά και με άλλους παράγοντες όπως την εμπλοκή ή όχι του HPV.⁵ Επίσης, τόσο η χειρουργική θεραπεία του ΑΚΚΤ όσο και η ακτινοθεραπεία και η χημειοθεραπεία έχουν σοβαρές επιπτώσεις και ανεπιθύμητες ενέργειες με ταυτόχρονη μείωση της ποιότητας ζωής των ασθενών.⁵ Για τους λόγους αυτούς είναι επιτακτική ανάγκη η επινόηση πιο στοχευμένων θεραπευτικών προσεγγίσεων, με μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες.

Η ανακάλυψη δεικτών που θα ταυτοποιούσαν ασθενείς με προκαρκινικές βλάβες με υψηλό κίνδυνο καρκινικής εξαλλαγής, καθώς και βιολογικά επιθετικούς όγκους με δυσμενέστερη πρόγνωση, θα παρείχε την πολύτιμη δυνατότητα για αναγνώριση των πλέον επικίνδυνων βλαβών και για κατάλληλη θεραπευτική στόχευση. Αν και η έρευνα έχει στραφεί προς τις παραπάνω κατευθύνσεις, κανένας προγνωστικός δείκτης ή θεραπευτικός στόχος δεν έχει αποδειχθεί ιδανικός μέχρι σήμερα.^{8–10}

Στην ανασκόπηση αυτή συζητούνται οι μοριακοί μηχανισμοί που έχουν συσχετιστεί με το ΑΚΚΤ και αναφέρονται τα γονίδια και τα σηματοδοτικά μονοπάτια, καθώς και άλλα κυτταρικά συστατικά που έχουν ενοχοποιηθεί στην παθογένειά του. Παρουσιάζονται ακόμη πιθανοί μοριακοί δείκτες που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν τόσο στη διάγνωση όσο και στον ασφαλέστερο καθορισμό της βιολογικής συμπεριφοράς, της σταδιοποίησης και της πρόγνωσης κάθε όγκου, αλλά και στην επιλογή της καταλληλότερης εξατομικευμένης θεραπείας για το συγκεκριμένο όγκο.

2. ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΑΣΗ ΤΟΥ ΑΚΑΝΘΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΚΕΦΑΛΗΣ ΤΡΑΧΗΛΟΥ

Η καρκινική εξαλλαγή μπορεί να νοηθεί ως το τελικό αποτέλεσμα μιας σειράς μεταβολών σε κυτταρικό επίπεδο που οδηγούν σε απώλεια των μηχανισμών ελέγχου του πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης και της χωροταξίας των κυττάρων. Πρόκειται για μια πολυσταδιακή διαδικασία που συχνά αρχίζει από την έκθεση του οργανισμού σε καρκινογόνους παράγοντες (όπως χημικά καρκινογόνα, ακτινοβολία και ιούς) και καταλήγει στη δημιουργία κυττάρων που έχουν πλεονέκτημα πολλαπλασιασμού και επιβίωσης διαμέσου της επαγωγής αλλοιώσεων σε μοριακά μονοπάτια. Αν και στην περίπτωση κάποιων καρκίνων τα μοριακά αυτά μονοπάτια έχουν προσδιοριστεί, στους

περισσότερους όγκους παραμένουν άγνωστα.¹¹ Για να καταλήξει ο καρκίνος στον κακοήγη φαινότυπο πρέπει να επιδράσουν επιπρόσθετοι παράγοντες και να προκληθούν επί πλέον γενετικές και επιγενετικές αλλοιώσεις, όπως ενεργοποίηση ογκογονιδίων και απενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων.¹² Στις περισσότερες περιπτώσεις καρκίνου παραμένει σκοτεινό ποια ακριβώς από τις γενετικές αλλαγές προκαλεί την έναρξη της νεοπλασίας, καθώς και ποια είναι η ακριβής αλληλουχία αλλαγών που οδηγούν τελικά στον καρκινικό φαινότυπο.¹³ Οι αλλαγές αυτές δεν συμβαίνουν ταυτόχρονα, αλλά, σύμφωνα με τη θεωρία της πολυσταδιακής προέλευσης του καρκίνου, συναθροίζονται συν τω χρόνω, έτσι ώστε κάθε μετάλλαξη έχει ως αποτέλεσμα να δημιουργείται ένας μεγάλος αριθμός κυττάρων που λειτουργούν ως υπόστρωμα για μεταγενέστερες μεταλλάξεις.^{10,11}

Σε μια θεμελιακή δημοσίευση το 2000, οι Hanahan και Weinberg περιέγραψαν έξι χαρακτηριστικά γνωρίσματα του καρκίνου:¹⁴ (α) απόκτηση επάρκειας σε αυξητικά μηνύματα, (β) μη ανταπόκριση σε μηνύματα που εμποδίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (ογκοκατασταλτικά γονίδια), (γ) αποφυγή της απόπτωσης, (δ) κυτταρική αθανάτοποίηση, (ε) επαρκή αγγειογένεση, (στ) διήθηση και μετάσταση. Πρόσφατα, οι Negri et al πρότειναν την προσθήκη της γονιδιακής αστάθειας (genomic instability) στα γνωρίσματα αυτά.¹⁵

Από πειράματα επαγωγής καρκίνου σε πλακώδες επιθήλιο δέρματος ποντικών έχουν προκύψει μοντέλα καρκινογένεσης και έχουν προταθεί τρία στάδια για την καρκινογένεση, που συχνά επικαλύπτονται.

Κατά το στάδιο της έναρξης (initiation), το γενετικό υλικό του κυττάρου υφίσταται βλάβη από κάποιον ενδογενή ή εξωγενή παράγοντα. Αν η βλάβη δεν επιδιορθωθεί, μπορεί να οδηγήσει σε μη αναστρέψιμη μετάλλαξη. Στο στάδιο της προαγωγής (promotion) παρατηρούνται περαιτέρω μεταβολές των μεταλλαγμένων κυττάρων μέσω επιγενετικών και όχι πλέον γενετικών μηχανισμών. Οι μεταβολές εδώ αφορούν σε επίπεδο έκφρασης γονιδίων και περιλαμβάνουν ρύθμιση της μεταγραφής γονιδίων υπεύθυνων για την κυτταρική αύξηση, απόπτωση και διαφοροποίηση. Κύτταρα με αλλοιωμένη γονιδιακή έκφραση και ενζυμική δραστηριότητα οδηγούν σε αλλοιωμένους κλώνους. Φαινοτυπικά, αυτή η φάση εκδηλώνεται με την ανάπτυξη καλοήθων όγκων. Τέλος, κατά το στάδιο της προόδου (progression) συμβαίνουν πρόσθετα γενετικά γεγονότα όπως ανευπλοειδία και απώλεια ετεροζυγωτίας, που οδηγούν σε κυτταρική δυσπλασία, τοπική διήθηση των καρκινικών κυττάρων και μετάσταση.¹⁶

2.1. Γενετικές αλλοιώσεις στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου – προτεινόμενο μοντέλο ογκογένεσης

Έχει προταθεί ένα μοντέλο καρκινογένεσης για το ΑΚΚΤ βασισμένο σε μελέτες των Califano, Sidransky και άλλων ερευνητών.^{17,18} Οι γενετικές αλλοιώσεις που μπορεί να οδηγήσουν σταδιακά σε ανάπτυξη προκαρκινικών βλαβών, όπως η λευκοπλακία, περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση ογκογονιδίων και την απενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων, με σημαντικότερο μεταξύ αυτών το γονίδιο *TP53*. Η μετάβαση από το φυσιολογικό επιθήλιο στο διηθητικό καρκίνο γίνεται σταδιακά με την επίδραση πολλαπλών κτυπημάτων (multiple hits), που έχουν ως αποτέλεσμα τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό, την αγγειογένεση, την τοπική διήθηση και, τέλος, την απομακρυσμένη μετάσταση. Συγκεκριμένα, τα καρκινικά κύτταρα αποκτούν την ικανότητα να αναπτύσσονται ανεξάρτητα και να αποφεύγουν τόσο τις διαδικασίες κυτταρικού ελέγχου, όσο και τις διαδικασίες απόπτωσης. Αθανατοποιούνται δηλαδή και μπορούν να πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα. Καθώς ο όγκος αυξάνεται, είναι σημαντικό να μπορεί να αναπτύξει αγγεία για την επαρκή συντήρησή του και αυτό επιτυγχάνεται μέσω ενεργοποίησης του πολλαπλασιασμού ενδοθηλιακών κυττάρων και της αγγειογένεσης. Ακολουθεί η διήθηση και η μετάσταση με τη συμμετοχή ποικίλων μηχανισμών, όπως οι μεταβολές σε μόρια προσκόλλησης και η διήθηση του υποστρώματος, επιτρέποντας στα καρκινικά κύτταρα να μεταφερθούν μακριά από την αρχική τους θέση.¹⁷⁻¹⁹

2.2. Γονιδιακές αλλοιώσεις στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα κεφαλής τραχήλου

Η συχνότερη γενετική αλλοίωση στο ΑΚΚΤ είναι η απώλεια της ετεροζυγωτίας της περιοχής 9p21, που εμφανίζεται στο 70–80% των δυσπλασιών της στοματικής κοιλότητας και φαίνεται να συμβαίνει στα αρχικά στάδια της βλάβης.^{17,20} Αυτή η περιοχή είναι γνωστή ως *CDKN2A* και κωδικοποιεί τα γονίδια *p16* και *p14^{ARF}*, τα οποία απενεργοποιούνται μέσω υπερμεθυλίωσης.¹⁷ Το γονίδιο *p16* είναι αναστολέας του κυτταρικού κύκλου.

Άλλη περιοχή που υφίσταται γονιδιακή μεταβολή είναι η 3p, που κωδικοποιεί τα ογκοκατασταλτικά γονίδια *FHIT* και *RSSF1A*. Άλλες γονιδιακές μεταβολές που συμβαίνουν αργότερα, κατά τη φάση μετάβασης από τη δυσπλασία στο διηθητικό ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα, είναι η απώλεια της ετεροζυγωτίας (loss of heterozygosity, LOH) της περιοχής 17p και η ως εκ τούτου δυσλειτουργία του γονιδίου *p53*. Η μετάλλαξη ή η απώλεια του *p53* σχετίζονται με αυξημένη γενετική αστάθεια (genomic instability), καθώς βλάβες του

DNA δεν οδηγούν σε αναστολή του κυτταρικού κύκλου ή και απόπτωση, συμβάλλοντας έτσι στην επιτάχυνση των γενετικών αλλοιώσεων κατά τη διαδικασία της καρκινογένεσης.^{5,21}

Ενίσχυση της περιοχής 11q13 και υπερέκφραση της κυκλίνης D1 έχουν επίσης περιγραφεί στη δυσπλασία του στοματικού βλεννογόνου και σχετίζονται με πτωχή πρόγνωση σε όγκους αρχικού σταδίου.²⁰ Άλλες περιοχές που αναφέρονται είναι η 13q21 και η 14q32.^{13,18} Πάντως, η σειρά αλληλοδιαδοχής των συγκεκριμένων αλλαγών δεν έχει διαλευκανθεί πλήρως.¹³

Συνοπτικά, στα αρχικά στάδια της καρκινογένεσης φαίνεται να επηρεάζονται οι περιοχές 9p, 3p και 17p. Σε μεταγενέστερα στάδια παρατηρούνται αλλαγές στις περιοχές 13q και 8q.^{17,20}

2.3. Καρκινοποίηση πεδίου

Έχει παρατηρηθεί ότι στον καρκίνο του στόματος, ακόμη και μετά την επιτυχή θεραπευτική αντιμετώπιση (π.χ. πλήρη χειρουργική αφαίρεση), εμφανίζονται σε μεγάλο ποσοστό δεύτερες πρωτοπαθείς αλλοιώσεις με δυσμενή πρόγνωση. Για να εξηγηθεί το εν λόγω φαινόμενο, οι Slaughter et al²² το 1953 ανέπτυξαν τη θεωρία της καρκινογένεσης πεδίου (field cancerization), βασιζόμενοι σε ιστολογικές μελέτες δυσπλαστικών περιοχών βλεννογόνου που γειτνιάζαν με στοματικούς καρκίνους. Η θεωρία αυτή βασίζεται στην παρατήρηση ότι πολλές από τις προκαρκινικές δυσπλαστικές βλάβες δεν είναι κλινικά ορατές, αλλά επεκτείνονται σε κάποια απόσταση γύρω από την πρωτοπαθή εστία. Σύμφωνα με τη θεωρία καρκινοποίησης πεδίου, μια ολόκληρη περιοχή επιθηλίου (πεδίο) που υποβάλλεται σε μακροχρόνια έκθεση σε καρκινογόνους παράγοντες προδιατίθεται στην ανάπτυξη πολλαπλών καρκινικών εστιών, καθώς και προκαρκινικών αλλοιώσεων. Η ομοιότητα ανάμεσα στα γονιδιακά προφίλ καρκινωμάτων και των περιβαλλόντων τους ιστών οδήγησε στην υπόθεση ότι η ύπαρξη τέτοιων πεδίων προηγείται της ανάπτυξης διηθητικών καρκινωμάτων.^{7,17} Υπάρχουν ενδείξεις ότι αυτών των προκαρκινικών πεδίων προηγείται μετάλλαξη στο γονίδιο *p53*.⁷ Επίσης, έχει βρεθεί ότι οι όγκοι που αναπτύσσονται σε ένα τέτοιο υπόβαθρο σχετίζονται κλωνικά μεταξύ τους και προέρχονται από κοινό πρόγονο.²³ Σύμφωνα με την υπόθεση της κλωνικής επέκτασης (clonal expansion), γενετικά αλλοιωμένα επιθηλιακά κύτταρα της βασικής στιβάδας αρχίζουν να αναπτύσσονται σε οριζόντια κατεύθυνση, κατά μήκος της βασικής και της παραβασικής στιβάδας, σχηματίζοντας στην αρχή μια εστία (patch) και αργότερα επεκτεινόμενα σε πεδίο (field), που τελικά θα εξαλλαχθεί εστιακά σε καρκίνο.^{2,23} Έχει αποδειχθεί ότι τουλάχιστον στο 35% των στοματικών και των ρινοφαρυγγικών

όγκων, ο όγκος περιβάλλεται από φαινομενικά φυσιολογικό αλλά ιστολογικά αλλοιωμένο επιθήλιο. Η κλινική σημασία αυτής της παρατήρησης έγκειται στην παρουσία γενετικά αλλοιωμένου επιθηλίου στα χειρουργικά όρια εξαχθέντων όγκων του 70% των ασθενών με ΑΚΚΤ, γεγονός που σημαίνει ότι, παρά τη χειρουργική αφαίρεση του όγκου, δυσπλαστικό επιθήλιο παραμένει στον ασθενή και μπορεί μελλοντικά να δώσει γένεση σε υποτροπές ή σε ανάπτυξη δεύτερης πρωτοπαθούς εστίας.²³ Η πολυεστιακότητα των καρκίνων αυτών είναι ένας σημαντικός παράγοντας αποτυχίας που συχνά παρατηρείται στη θεραπεία του στοματικού καρκίνου και οδήγησε στην ανάπτυξη της χημειοπροφύλαξης (chemoprevention), η οποία βασίζεται στη χορήγηση συστηματικής θεραπείας ώστε να προστατευτεί το επιθήλιο όλης της ανώτερης αναπνευστικής και πεπτικής οδού από το να ακολουθήσει τα βήματα της σταδιακής καρκινογένεσης.^{17,24} Πάντως, η κλωνική συγγένεια των καρκινικών εστιών καθώς και ο τρόπος επέκτασης των αλλοιωμένων κυττάρων αποτελούν ακόμη πεδίο διερεύνησης.²³

2.4. Επιγενετικές αλλοιώσεις

Ο όρος «επιγενετική» αναφέρεται σε μια μεταβολή της έκφρασης των γονιδίων που δεν οφείλεται σε μεταβολές της αλληλουχίας των κωδικονίων ή της δομής του DNA αλλά σε αλλαγές όπως η μεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου ή η τροποποίηση των ιστονών πάνω στις οποίες ελίσσεται η χρωματίνη.^{11,12} Κατά τη μεθυλίωση του υποκινητή προστίθενται ομάδες μεθυλίου (CH₃) σε κάποιες κυτοσίνες του DNA. Οι περισσότερες μεθυλίώσεις γίνονται σε περιοχές που ονομάζονται νησίδες CpG και είναι πλούσιες σε κυτοσίνη-γουανίνη. Οι μεθυλίώσεις συμβαίνουν φυσιολογικά σε υποκινητές γονιδίων (promoters), με σκοπό να διατηρήσουν το συγκεκριμένο γονίδιο σε μεταγραφικά αδρανή κατάσταση. Από τις υπάρχουσες νησίδες CpG, ποσοστό 60–90% είναι μεθυλιωμένες¹² και εμποδίζουν την πρόσδεση του μεταγραφικού παράγοντα στο DNA ή δεσμεύουν πρωτεΐνες που ενεργοποιούν αποακετυλάσες ιστονών (HDAC). Επιγενετικά φαινόμενα διαδραματίζουν εξ ίσου σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση όσο οι μεταλλάξεις ή η απώλεια ετεροζυγωτίας καθώς είναι ένας συνηθής τρόπος απώλειας της έκφρασης των γονιδίων.²⁵ Μέσω της απενεργοποίησης γονιδίων που σχετίζονται με την επιδιόρθωση του DNA, οι επιγενετικές αλλοιώσεις φαίνεται ότι είναι σημαντικός παράγοντας στη διαδικασία προόδου της ογκογένεσης.^{26,27} Δύο είναι οι διαταραχές της μεθυλίωσης στα καρκινικά κύτταρα: η απομεθυλίωση και η υπερμεθυλίωση.¹²

Φαινομενικά, φυσιολογικός βλεννογόνος που βρίσκεται σε περιοχές γειτονικές μιας καρκινικής βλάβης μπορεί να

εμφανίζει υψηλά ποσοστά μεθυλίωσης κάποιων γονιδίων, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι μεθυλίώσεις του DNA συμβαίνουν νωρίς στη διαδικασία της ογκογένεσης. Έχει μάλιστα προταθεί ότι για την εκτίμηση των χειρουργικών ορίων εξαίρεσης της βλάβης, ο δείκτης μεθυλίωσης είναι πιο ευαίσθητος από την εκτίμηση των ιστολογικών μεταβολών.²⁶ Οι επιγενετικές αλλοιώσεις παρέχουν μια πειστική εξήγηση για το πώς οι περιβαλλοντικοί παράγοντες επιδρούν στο γενετικό υλικό και αλλάζουν την έκφρασή του κατά την καρκινογένεση.¹²

Στο ΑΚΚΤ, η μεταγραφική απενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων λόγω υπερμεθυλίωσης των προαγωγέων τους είναι συχνό φαινόμενο. Πολλά γονίδια ανήκουν σε αυτή την κατηγορία, από τα οποία έχουν μελετηθεί εκτενώς τέσσερα: το *CDKN2A/p16^{INK4a}*, το *CDH1* (cadherin-1), το *MGMT* και το *DAPK1*.^{26,28} Οι Suric et al βρήκαν μεθυλίωση του προαγωγέα του p16 σε 58,4% των καρκίνων του στοματικού επιθηλίου, μεθυλίωση της *E-καντχερίνης* σε 42,9%, του *DAPK* σε 36,8% και του *APC* σε 18,2%.²⁷ Το *MGMT* βρίσκεται μεθυλιωμένο στο 25–52% των πρωτοπαθών καρκίνων στόματος.²⁵ Η υπερμεθυλίωση της *E-καντχερίνης* έχει συσχετιστεί με χαμηλότερο βαθμό διαφοροποίησης και χειρότερα ποσοστά επιβίωσης.^{26,27}

2.5. Πρωτοογκογονίδια και ογκογονίδια

Τα πρωτοογκογονίδια είναι γονίδια που συνήθως ευοδώνουν την κυτταρική ανάπτυξη προάγοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό ή και αναστέλλοντας την απόπτωση. Μεταλλάξεις στα πρωτοογκογονίδια τα μετατρέπουν σε ογκογονίδια και οδηγούν σε ανεξέλεγκτη ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό των κυττάρων.⁹ Η ενεργοποίηση των πρωτοογκογονιδίων σε ογκογονίδια μπορεί να είναι ποσοτική (π.χ. σημειακές μεταλλάξεις) ή ποσοτική (γονιδιακή υπερέκφραση, χρωμοσωμική μετάθεση).²⁹ Πιο αναλυτικά, ενεργοποίηση μπορεί να γίνει με μετάθεση ή μετατόπιση τμήματος του χρωμοσώματος, οπότε το γονίδιο βρίσκεται σε νέα θέση, υπό νέο έλεγχο και σε νέο υποκινητή, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή της αντίστοιχης πρωτεΐνης (π.χ. ενός αυξητικού παράγοντα) σε μεγάλες ποσότητες (υπερέκφραση του γονιδίου). Μπορεί ακόμη να γίνει με γονιδιακή ενίσχυση και να παραχθούν έτσι πολλαπλά αντίγραφα του ίδιου γονιδίου και αυξημένες ποσότητες πρωτεϊνικού προϊόντος, αλλά και μέσω σημειακής μετάλλαξης εντός του γονιδίου, οδηγώντας στην παραγωγή μιας πρωτεΐνης που είναι ανθεκτική στην αποδόμηση ή υπερδραστική.^{16,17}

Ογκογονίδια μπορούν επίσης να προέρχονται από γονίδια ογκογόνων που προσβάλλουν τον οργανισμό.¹² Τα ογκογονίδια από μόνα τους δεν επαρκούν για την

κακοήθη εξαλλαγή των επιθηλιακών κυττάρων. Διαδραματίζουν όμως σημαντικό ρόλο και είναι γνωστό ότι αρκεί η μετάλλαξη ενός μόνο αλληλομόρφου για να προκληθούν κυτταρικές αλλαγές.⁹

Γενικά, τα ογκογονίδια μπορεί να είναι (α) αυξητικοί παράγοντες ή οι υποδοχείς τους, (β) ενδοκυτταριο μεταγωγείς σήματος, (γ) μεταγραφικοί παράγοντες, (δ) ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου και (ε) γονίδια που ρυθμίζουν την απόπτωση.¹⁷

Πολλά είναι τα ογκογονίδια που ενοχοποιούνται στο ΑΚΚΤ. Μερικά από αυτά είναι:

2.5.1. Το γονίδιο του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (*EGFR/c-erb 1*). Αυξημένη έκφραση του EGFR και των προσδετών του TGF-α και EGF διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο στοματικό καρκίνο.^{17,28} Ο EGFR σχηματίζει διμερή και αυτοφωσφορυλιώνεται. Κατόπιν ακολουθεί καταρράκτης ενδοκυτταρίων σημάτων και μέσω ενεργοποίησης κατιόντων μονοπατιών Ras/Raf/MAPK, PI3K/AKT/mTOR, Jak/STAT και πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC), το κύτταρο οδηγείται σε αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό, αποφυγή της απόπτωσης, μετάσταση και αγγειογένεση.⁷ Κάθε όγκος φαίνεται ότι χρησιμοποιεί κυρίως ένα από τα παραπάνω μονοπάτια και έτσι ο EGFR φαίνεται να δρα με πλειοτροπικό τρόπο, γεγονός που ενδεχομένως επηρεάζει και τις προσπάθειες για χρήση του EGFR στη στοχευμένη θεραπεία.⁷ Έχει βρεθεί ότι ο EGFR υπερεκφράζεται στο 80–100% των ΑΚΚΤ και ότι η έκφρασή του αυξάνεται αναλογικά με τη μετάπτωση του επιθηλίου από το στάδιο της προκαρκινικής βλάβης σε διηθητικό καρκίνωμα.¹⁷ Ο ρόλος του EGFR στην πρόοδο της νόσου στα ΑΚΚΤ κινείται σε τέσσερις άξονες: (α) *Κυτταρική αύξηση*. Η διέγερση των EGFR έχει μιτογόνα αποτελέσματα μέσω των κινασών ERK. (β) *Κινητικότητα*. Οι EGFR διαδραματίζουν ρόλο στο φαινόμενο της επιθηλιακής προς μεσεγχυματική μετάπτωση (epithelial to mesenchymal transition, EMT), κατά την οποία τα επιθηλιακά κύτταρα αποδιαφοροποιούνται σε κύτταρα με μεσεγχυματικό γονιδιακό προφίλ. Η μείωση των επιπέδων της *E-καντχερίνης*, που διαδραματίζει ρόλο στη διακυττάρια σύνδεση των επιθηλιακών κυττάρων, αποτελεί ένδειξη ότι έχει αρχίσει η διαδικασία μεσεγχυματοποίησης των επιθηλιακών κυττάρων. (γ) *Διήθηση*. Οι EGFR έχουν ενεργό ρόλο στη διήθηση των καρκινικών κυττάρων και τη μετάστασή τους μέσω δράσης πρωτεολυτικών ενζύμων, ειδικά των μεταλλοπρωτεϊνών. Τα επίπεδα της MMP 9 σχετίζονται ευθέως με το πλήθος των EGFR των κυττάρων, μέσω του μονοπατιού ERK ή της PI3K. (δ) *Νεοαγγειογένεση*. Ένας από τους πλέον ισχυρούς επαγωγείς του VEGF είναι ο EGFR. Αρχίζοντας από τη δέσμευση αγωνιστών στους EGFR και μέσω των MAPK και PI3K οδών, ενεργοποιούνται τα γονίδια των VEGF.²⁴

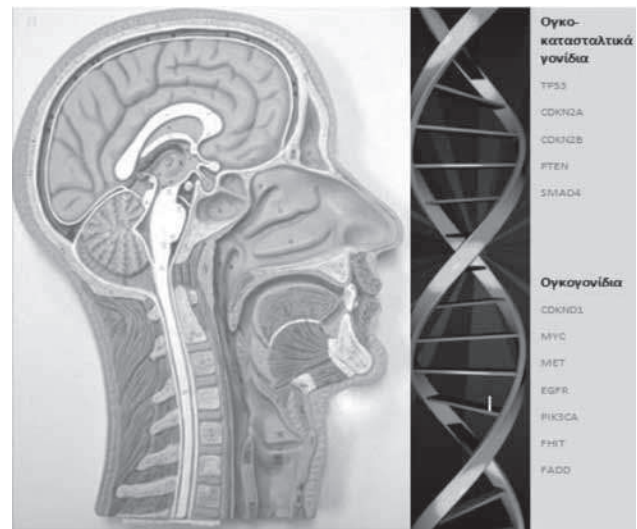
2.5.2. TGF-β (μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας-β). Υπάρχουν αρκετές ενδείξεις που ενοχοποιούν δυσλειτουργίες του μονοπατιού του TGF-β, το οποίο ελέγχει την κυτταρική ανάπτυξη σε διάφορους καρκίνους και στο ΑΚΚΤ.⁷ Μετά την ενεργοποίησή του, ο TGF-β προσδένεται στους υποδοχείς του (TGF-β R) και ενεργοποιεί ενδοκυττάρια αυξητικά μονοπάτια μέσω της οικογένειας μεταγωγέων Smad και των μονοπατιών της κινάσης MAPK (mitogen activated protein kinase).³⁰ Επί πλέον, πρόσφατα το μονοπάτι αυτό συνδέθηκε με το μεταγραφικό παράγοντα NF-κΒ (nuclear factor κΒ),⁷ που αυξάνει την κυτταρική επιβίωση και ενεργοποιεί αντι-αποπτωτικά γονίδια, καθώς και γονίδια που ρυθμίζουν την ανοσιακή απόκριση.^{17,30} Ο ρόλος του TGF-β δεν έχει κατανοηθεί πλήρως. Φαίνεται ότι στα αρχικά στάδια της νόσου λειτουργεί ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο, ενώ σε προχωρημένα στάδια ως ογκογονίδιο.³⁰

2.5.3. Γονίδια της οικογένειας ras. Τα γονίδια *ras* κωδικοποιούν πρωτεΐνες (GTP-binding proteins) που προσκολλώνται στο εσωτερικό της κυτταρικής μεμβράνης και ενεργοποιούν ενδοκυττάρια μονοπάτια που προάγουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Το ενεργό *ras* μπορεί ακόμη να ενεργοποιήσει κατ' ευθείαν την πρωτεΐνη PI3K.³¹ Σε πολλούς ανθρώπινους καρκίνους έχει βρεθεί ότι τα μέλη της οικογένειας *ras* (*H-ras*, *K-ras*, *N-ras*) είναι μεταλλαγμένα. Στον καρκίνο του στόματος, συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι το *H-ras* είναι συχνά μεταλλαγμένο ιδίως σε πληθυσμούς που κάνουν χρήση του betel nut.^{20,32} Στο δυτικό κόσμο, μεταλλάξεις του γονιδίου *ras* βρίσκονται σε <5% των ΑΚΚΤ.³³

C-myc. Το γονίδιο αυτό συμμετέχει στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και η υπερέκφρασή του συνδέεται με όγκους πτωχής διαφοροποίησης.^{9,32} Η υπερέκφραση του γονιδίου *myc* ανευρίσκεται σε 9–48% των ΑΚΚΤ.³³

2.5.4. Το μονοπάτι PI3K (κινάση της φωσφατιδυλνισοσιτόλης-3)-PTEN-AKT. Σωματικές μεταλλάξεις του *PIK3CA*, γονιδίου που εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 3q26 και κωδικοποιεί μια υπομονάδα του Ia PI3K, έχουν βρεθεί στο 10–20% των ΑΚΚΤ.⁷ Οι μεταλλάξεις αυτές έχει δειχθεί ότι συνδέονται με υπερλειτουργία του μονοπατιού και με αυξημένη διηθητικότητα και μετάσταση των μεταλλαγμένων κυττάρων. Μεταλλάξεις που έχουν ως αποτέλεσμα την απώλεια της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης PTEN έχουν επίσης περιγραφεί σε ΑΚΚΤ και έχουν ως αποτέλεσμα συνεχή ενεργοποίηση της PI3K πρωτεΐνης. Και οι δύο αυτοί μηχανισμοί οδηγούν σε ενίσχυση της δράσης της AKT, με αποτέλεσμα αυξημένο πολλαπλασιασμό και μείωση της απόπτωσης.³⁰

2.5.5. Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (vascular endothelial growth factor, VEGF). Στους συμπαγείς όγκους, η αγγειογένεση είναι απαραίτητη για τη θρέψη και



Εικόνα 1. Πλήθος γονιδίων εμπλέκονται στην παθογένεια του καρκίνου κεφαλής τραχήλου.

την αύξηση του όγκου πέρα από τα 2–3 mm. Τα καρκινικά κύτταρα παράγουν αγγειογενετικούς παράγοντες που επάγουν τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και τη δημιουργία νέου αγγειακού δικτύου. Τα νέα αυτά αγγεία παρουσιάζουν παθολογική δομή, ελικοειδή πορεία, τυφλά άκρα και αυξημένη διαπερατότητα των τοιχωμάτων τους, με αποτέλεσμα την υποξία και την έκλυση αγγειογενετικών παραγόντων που επάγουν το σχηματισμό νέων αγγείων.^{34,35} Η βασική δράση του VEGF αφορά στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στα οποία ασκεί μιτογόνο δραστηριότητα και επάγει αγγειογένεση. Επίσης, έχει και αντιαποπτωτική δράση προκαλώντας αναστολή της ανοσιακής απόκρισης του ξενιστή.⁷ Υψηλά επίπεδα του VEGF στο ΑΚΚΤ έχουν συσχετιστεί με προχωρημένη νόσο, μεγάλο βάθος διήθησης και απομακρυσμένες μεταστάσεις.^{35–37} Έως τώρα έχουν ανιχνευτεί έξι μέλη της οικογένειας των VEGF και τρεις αντίστοιχοι υποδοχείς.¹⁷

Άλλα ογκογονίδια που εκφράζονται με αυξημένη συχνότητα στο ΑΚΚΤ είναι μέλη της οικογένειας STAT (signal transducer and activator of transcription), ιδίως η STAT3 και η STAT5,³⁰ ο hepatocyte growth factor/c-MET, η cyclin D1 που ελέγχει την έναρξη της σύνθεσης DNA και τη μετάβαση από την G1 στην S φάση και υπερεκφράζεται σε στοματικούς καρκίνους σε ποσοστό 25–70%, η activating protein-1 (AP-1) και πολλά άλλα.^{17,26,28,38}

2.6. Ογκοκατασταλτικά γονίδια

Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια συνήθως κωδικοποιούν πρωτεΐνες που καταστέλλουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό ή επάγουν την κυτταρική απόπτωση. Αυτά τα γονίδια

ελέγχουν θεμελιώδεις κυτταρικές λειτουργίες, όπως την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου, την επιδιόρθωση του DNA και την κυτταρική απόπτωση. Αντίθετα με τα ογκογονίδια που δρουν ως επικρατή, απαιτείται μετάλλαξη και στα δύο αλληλόμορφα του γονιδίου για να κατασταλεί η δράση τους.¹⁷ Υπό φυσιολογικές συνθήκες, καταστέλλουν την ανάπτυξη των όγκων, η απώλεια της λειτουργίας τους όμως οδηγεί στην καρκινογένεση. Η απώλεια αυτή επέρχεται μέσω διαφόρων μηχανισμών, όπως ατελών μεταθέσεων, μεθυλίωσης των γονιδιακών υποκινητών με επακόλουθη απώλεια της μεταγραφικής τους ικανότητας, αλλά και εξάλειψης ή απώλειας ετεροζυγωτίας, μιας διαδικασίας κατά την οποία χάνεται το ένα από τα δύο αλληλόμορφα γονίδια, του οποίου το άλλο αλληλόμορφο είναι ήδη απενεργοποιημένο.²⁶

Ένα σημαντικό ογκοκατασταλτικό γονίδιο είναι το *TP53*, το οποίο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 17p13 και κωδικοποιεί την πυρηνική πρωτεΐνη p53 (παράγοντας μεταγραφής) που εμπλέκεται στη διατήρηση της ακεραιότητας του γονιδιώματος και είναι υπεύθυνη για την απρόσκοπτη λειτουργία των επανορθωτικών μηχανισμών σε περίπτωση βλάβης στο DNA. Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και στις αποφάσεις που οδηγούν στην απόπτωση, στην κυτταρική διαφοροποίηση και στην επιδιόρθωση βλαβών του DNA.^{13,28} Προκαλεί παύση του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1, επιτρέποντας την επιδιόρθωση του DNA ή, σε περίπτωση σοβαρής βλάβης του, επάγει παράγοντες που προκαλούν απόπτωση. Έτσι, διασφαλίζεται ο μη διπλασιασμός του μεταλλαγμένου DNA και για το λόγο αυτόν το γονίδιο *p53* ονομάζεται και «φρουρός του γονιδιώματος». Προάγει την απόπτωση μέσω της αύξησης της έκφρασης του γονιδίου *Bax* και της ελάττωσης του γονιδίου *bcl-2*. Οι μεταλλαγμένες μορφές του *p53* έχουν αλλοιωμένη λειτουργικότητα και μπορεί να αδρανοποιούν τη φυσική (wild type) πρωτεΐνη.^{12,39} Η μετάλλαξη του *p53* μπορεί να είναι είτε σημειακή, είτε ολοκληρωτική έλλειψη τμημάτων DNA που οδηγεί σε μείωση ή απώλεια της έκφρασης του *p53* και σε επακόλουθη απώλεια της ικανότητας των κυττάρων για απόπτωση.^{12,28} Ακόμη και όταν δεν υπάρχουν μεταλλάξεις, το *p53* μπορεί να απενεργοποιηθεί μέσω άλλων μηχανισμών όπως η σύνδεσή του με την ιική πρωτεΐνη E6 των ογκογόνων στελεχών του ιού HPV που το οδηγούν σε πρωτεόλυση.³² Άλλος μηχανισμός είναι η υπερέκφραση της πρωτεΐνης MDM2, που ενώνεται με την *p53* και την οδηγεί σε αποδόμηση.¹⁷ Το 70% των συμπαγών όγκων των ενηλίκων φέρουν μετάλλαξη του γονιδίου αυτού, η οποία σημειωτέον διεγείρεται από το κάπνισμα. Ειδικά στο ΑΚΚΤ φαίνεται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο,^{9,20} καθώς το 60% των καρκίνων της στοματικής κοιλότητας έχει βρεθεί ότι υπερεκφράζει το *p53*.²⁸ Οι μεταλλάξεις

υφίστανται κυρίως στα εξώνια 5–9 και στα κωδικόνια 157, 173 και 273 και θεωρούνται χαρακτηριστικά της έκθεσης σε προϊόντα καπνού.² Υψηλά ποσοστά μεταλλαγμένου *p53* αποτελούν δείκτη αυξημένου κινδύνου υποτροπής της νόσου. Σε έλεγχο χειρουργικών ορίων όγκων, η έκφραση γενετικά αλλοιωμένου *p53* αυξάνει τις πιθανότητες τοπικής υποτροπής.

Έχουν γίνει προσπάθειες να χρησιμοποιηθεί το *p53* ως δείκτης για την αξιολόγηση θεραπευτικών πρωτοκόλλων στο ΑΚΚΤ. Υπερέκφραση της πρωτεΐνης p53 σε ασθενείς με ΑΚΚΤ σχετίζεται με πτωχότερη πρόγνωση και χαμηλή ανταπόκριση στη θεραπεία με συνδυασμό χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας.⁴⁰

Ένα άλλο ογκοκατασταλτικό γονίδιο είναι το *INK4-ARF*, του οποίου το πρωτεϊνικό προϊόν, η πρωτεΐνη p16, λειτουργεί ως αναστολέας των κυκλινο-εξαρτώμενων κινασών CDK4 και CDK6 εμποδίζοντας το κύτταρο να εισέλθει στη φάση S του κυτταρικού κύκλου και συνεπώς ελέγχοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό.¹⁷ Όταν το γονίδιο απωλέσει τη λειτουργία του, μαζί με υπερέκφραση της κυκλίνης D1, ενισχύεται η δράση των κινασών CDK4 και CDK6, με αποτέλεσμα να αυξάνεται ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός. Η απενεργοποίηση του γονιδίου μπορεί να γίνει μέσω μεταλλάξεων, απωλειών ή μεθυλίωσης του προαγωγέα του γονιδίου.^{17,20,27} Απώλεια της p16 έχει βρεθεί στο 63% των στοματικών ακανθοκυτταρικών καρκίνων και στο 59% των προκαρκινικών αλλοιώσεων της ίδιας περιοχής, υποδηλώνοντας ότι πρόκειται για ένα γεγονός που συμβαίνει νωρίς στην καρκινογένεση.²⁶ Σε HPV θετικούς όγκους στοματοφάρυγγα έχει βρεθεί ότι η λειτουργική απενεργοποίηση του μονοπατιού του *Rb* μέσω της ιικής πρωτεΐνης E7 επάγει την υπερέκφραση της p16 και ως εκ τούτου η πρωτεΐνη αυτή έχει προταθεί ως πιθανός δείκτης για νεοπλασίες της περιοχής.¹ Η απώλεια του *p16* συνδέεται επίσης με πτωχότερη πρόγνωση.^{1,17}

Το γονίδιο της αδενωματούδους πολυποδίασης του παχέος εντέρου *APC* (adenomatous polyposis coli) είναι ένα ογκοκατασταλτικό γονίδιο, η λειτουργία του οποίου καταστέλλεται σε καρκίνους του παχέος εντέρου.¹³ Έχει όμως βρεθεί ότι υπερεκφράζεται και σε καρκίνους της στοματικής κοιλότητας σε ποσοστά που ανέρχονται στο 18–25%.^{10,18,27,41}

Άλλα ογκοκατασταλτικά γονίδια τα οποία ενοχοποιούνται στο ΑΚΚΤ περιλαμβάνουν το γονίδιο του ρετινοβλαστώματος *pRb*, τα γονίδια *p21*, *p27*, *p15* και άλλα.^{20,26,28}

2.7. Κυτταρική αθανάτοποίηση

Φυσιολογικά, τα κύτταρα διαθέτουν περιορισμένη ικανό-

τητα διπλασιασμού και τελικά οδηγούνται στη γήρανση. Στο ΑΚΚΤ, τα κύτταρα αποκτούν απεριόριστο αναπαραγωγικό δυναμικό μέσω γενετικών και επιγενετικών αλλοιώσεων της p16 πρωτεΐνης που φυσιολογικά εμποδίζει τη δράση των κυκλινοεξαρτώμενων κινασών (CDKs) και ελέγχει την είσοδο στη φάση S.³⁰ Κομβικό ρόλο στη γήρανση διαδραματίζουν και τα τελομερή, που εντοπίζονται στα άκρα των χρωμοσωμάτων και προστατεύουν το γενετικό υλικό από την αποδόμηση.¹² Τα τελομερή φυσιολογικά βραχύνονται μετά από κάθε κύκλο πολλαπλασιασμού, με αποτέλεσμα τα κύτταρα να οδηγούνται φυσιολογικά σε γήρανση και απόπτωση. Κύριο χαρακτηριστικό των περισσότερων καρκίνων είναι η διατήρηση του μήκους των τελομερών, μέσω της *de novo* έκφρασης της τελομεράσης, η οποία προσδίδει στα κύτταρα την ικανότητα να υφίστανται συνεχείς μιτώσεις χωρίς να οδηγούνται σε απόπτωση.³⁴ Η τελομεράση είναι ένα ενζυμικό σύμπλεγμα που αποτελείται από τρία κύρια συστατικά: ένα RNA πρότυπο επαναλήψεων των τελομερών (TTAGGG), την πρωτεΐνη που σχετίζεται με την τελομεράση (hTert-1) και μια καταλυτική υποομάδα με δραστηριότητα αντίστροφης μεταγραφάσης (hTERT). Έρευνες έχουν δείξει ότι υπάρχει αυξημένη έκφραση της hTERT σε στοματικούς καρκίνους, η οποία σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση.^{17,34} Έχει αναφερθεί αυξημένη έκφραση τελομεράσης στο 90% των διηθητικών ακανθοκυτταρικών καρκίνων κεφαλής τραχήλου.⁴²

2.8. Ο ρόλος του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα κεφαλής τραχήλου

Αν και η λοίμωξη με τον ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (HPV) έχει αποδειχθεί σημαντικός παράγοντας καρκινογένεσης στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, η συμβολή της στην ανάπτυξη ΑΚΚΤ δεν είναι σαφής. Υπάρχουν >100 στελέχη του ιού και μόνο ελάχιστα είναι ογκογόνα, μεταξύ αυτών τα στελέχη 16 και 18.⁴³ Τα ποσοστά ανίχνευσης HPV σε φυσιολογικό βλεννογόνο του στόματος κυμαίνονται στο 0–81,1%.⁴⁴ Αυτό υποδηλώνει ότι δεν οδηγούν όλες οι HPV-λοιμώξεις απαραίτητα σε καρκινογένεση. Μελέτες έδειξαν ότι τα καρκινώματα του στοματοφάρυγγα αποτελούν ξεχωριστή κλινική οντότητα που συνδέεται σαφώς με τον HPV και παρουσιάζουν καλύτερη πρόγνωση από τους αντίστοιχους HPV-αρνητικούς καρκίνους.⁴⁵ Ογκογόνα στελέχη του HPV ανιχνεύονται επίσης σε αυξημένα ποσοστά στη γλώσσα, στο φάρυγγα και στις παρίσθμιες αμυγδαλές σε ασθενείς με ΑΚΚΤ.⁴⁶ Η πιθανότητα εμπλοκής του HPV βρέθηκε να είναι 2–3 φορές μεγαλύτερη σε προκαρκινικές βλάβες του στόματος και 4–5 φορές μεγαλύτερη σε στοματικό διηθητικό ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα, απ' ό,τι σε φυσιολογικό βλεννογόνο.²⁶ Διάφορα μοριακά μονοπάτια

έχει προταθεί ότι συμμετέχουν στην καρκινογένεση των HPV-θετικών ΑΚΚΤ. Η έκφραση των E6 και E7 ογκογονιδίων σε συνδυασμό με την απενεργοποίηση των πρωτεϊνών p53 και pRb είναι ένα από αυτά. Οι πρωτεΐνες E6 και E7 του ιού συνδέονται με τις ογκοκατασταλτικές πρωτεΐνες p53 και pRb του ξενιστή και τις φωσφορυλιώνουν, απενεργοποιώντας αυτές και αφαιρώντας την ικανότητά τους να επιδιορθώσουν το DNA ή να επάγουν απόπτωση.^{1,26,32,47} Επί πλέον, η παρουσία των ογκογόνων στελεχών του ιού απορρυθμίζει πολλά γονίδια, μεταξύ αυτών την p18, τις ιντερλευκίνες και τις επαγόμενες από ιντερφερόνες πρωτεΐνες. Άλλη σημαντική λειτουργία των E7 πρωτεϊνών είναι η απενεργοποίηση των αναστολέων των κυκλινοεξαρτώμενων κινασών p21^{CIP-1} και p27^{KIP-1}.⁴⁴ Είναι δεδομένη λοιπόν η ικανότητα των ογκογόνων στελεχών του HPV να διαταράσσουν την κυτταρική διαίρεση και την απόπτωση σε βλάβες του βλεννογόνου του στόματος. Ωστόσο, επιδημιολογικά και μοριακά στοιχεία επιβεβαιώνουν την παρουσία HR-HPV σε ένα μικρό τμήμα των περιπτώσεων προκαρκινικών και καρκινικών βλαβών του στόματος. Για τις προκαρκινικές βλάβες, το ποσοστό αυτό κυμαίνεται περίπου στο 33%, ενώ για τις καρκινικές στο 43% περίπου, αν και στις δύο περιπτώσεις τα ποσοστά διακύμανσης είναι εξαιρετικά ευρέα (0–85,2 για τις προκαρκινικές και 0–100% για τις καρκινικές) και εξαρτώνται από τη γεωγραφική προέλευση του δείγματος και την ευαισθησία της μεθόδου ανίχνευσης.⁴⁴

Εκτός από την πιθανότητα τυχαίας συνύπαρξης ΑΚΚΤ και HPV, δεν μπορεί να αποκλειστεί το ενδεχόμενο ενεργοποίησης της λοίμωξης από την κακοήγη νόσο παρά το αντίστροφο.⁴⁴ Μελλοντικές έρευνες ίσως μπορέσουν να αποσαφηνίσουν τόσο τη συχνότητα ανίχνευσης του ιού σε προκαρκινικές και καρκινικές βλάβες, όσο και τη σημασία των ιών αυτών στο ΑΚΚΤ.

2.9. Διήθηση και μετάσταση

Η ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να διηθούν τους παρακείμενους ιστούς και διά της κυκλοφορίας να μεθίστανται σε άλλα σημεία του σώματος είναι από τα χαρακτηριστικά εκείνα που τα καθιστούν απειλητικά για τη ζωή. Σε αυτή τη διαδικασία συμβάλλουν τρεις κύριες κατηγορίες μηχανισμών: (α) μεταβολές στην επαφή μεταξύ κυττάρων, π.χ. απώλεια των διακυτταρικών συνδέσεων, (β) αποδόμηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και (γ) επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετάβαση.³⁴ Μεταξύ των ουσιών που εμπλέκονται στους μηχανισμούς αυτούς συγκαταλέγονται οι καντχερίνες, οι ιντεγκρίνες, οι μεταλλοπρωτεϊνάσες και διάφοροι αυξητικοί παράγοντες.⁴⁸ Το καρκινικό κύτταρο, για να μπορέσει να επιβιώσει σε ένα νέο περιβάλλον, πρέπει να υποστεί ριζικές αλλαγές στο φαινότυπό του.³⁵

Το πρώτο βήμα προς αυτή την κατεύθυνση φαίνεται να είναι η αυξημένη κινητικότητα και η διηθητικότητα των κυττάρων, που έχει συνδεθεί με μετάβαση σε μεσεγχυματική φαινοτυπική μορφή (epithelial-mesenchymal transition).³⁴ Οι μεταβολές στην πόλωση των κυττάρων προέρχονται από την απώλεια διακυτταρικών συνδέσεων, μια διαδικασία στην οποία σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν οι E-καντχερίνες.¹⁷

Οι E-καντχερίνες είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες οι οποίες συνδέουν γειτονικά κύτταρα δημιουργώντας προσκολλητικές συνδέσεις. Είναι υπεύθυνες για τη στενή προσκόλληση μεταξύ κυττάρων, η οποία προσδίδει πολικότητα στα κύτταρα και αποτρέπει τη μετανάστευσή τους. Απαντώνται ως ετεροδιμερή συνδεδεμένα με την ακτίνη του κυτταροσκελετού. Η έκφραση του γονιδίου της E-καντχερίνης μπορεί να αδρανοποιηθεί ή να αποσιωπηθεί μέσω μεταγραφικής καταστολής (που μπορεί να προέρχεται από την υπερέκφραση καταστολέων όπως οι Snail, Slug, SIP1 και Twist), μεταλλάξεων, απώλειας ετεροζυγωτίας ή μέσω επιγενετικών αλλοιώσεων με υπερμεθυλίωση του προαγωγέα του γονιδίου της. Μειωμένη έκφραση ή απώλεια έκφρασης της E-καντχερίνης έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με μεταστάσεις στους επιχώριους λεμφαδένες και πτωχή πρόγνωση σε στοματικούς καρκίνους.^{17,27,34}

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) έχει βρεθεί επίσης ότι υπερεκφράζονται τόσο στο επιθήλιο της πρωτοπαθούς εστίας, όσο και στον υποκείμενο συνδετικό ιστό σε ΑΚΚΤ.²⁰ Είναι πρωτεολυτικά ένζυμα που ανάλογα με το υπόστρωμα της δράσης τους ομαδοποιούνται σε κολλαγονάσες, στρομελυσίνες, ζελατινάσες, ματριλυσίνες, MMP τύπου μεμβράνης και ανεξάρτητες MMP. Συμβάλλουν στη δημιουργία μικροπεριβάλλοντος ευνοϊκού τόσο για την ανάπτυξη, όσο και για τη διήθηση και τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων.⁴² Στις ιδιότητες των μεταλλοπρωτεϊνάσων περιλαμβάνεται η αναστολή απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων και η έκκριση παραγόντων ευνοϊκών για την αγγειογένεση (όπως οι VEGF, TGF-β κ.λπ.).⁴⁸

2.10. COX-2 και ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα κεφαλής τραχήλου

Η κυκλοοξυγενάση (COX) είναι ένα ένζυμο-κλειδί στη σύνθεση των προσταγλανδινών από το αραχιδονικό οξύ. Θεωρείται διαχειριστικό ένζυμο και η isoμορφή της COX-1 εκφράζεται φυσιολογικά στους περισσότερους ιστούς, διαμεσολαβώντας λειτουργίες όπως η παραγωγή βλέννης στο γαστρικό βλεννογόνο και η συνάθροιση αιμοπεταλίων. Αντίθετα, η isoμορφή της COX-2 εκφράζεται μόνο σε συνθήκες φλεγμονής αλλά και στην καρκινική εξαλλαγή.³⁵⁻³⁷ Διάφορες μελέτες αναφέρουν αυξημένη έκφραση COX-2 σε καρκίνους κεφαλής τραχήλου.⁴⁹⁻⁵¹ Σε μια από αυτές, τα

επίπεδα της COX-2 βρέθηκαν να είναι 150 φορές πιο αυξημένα σε καρκινικούς ιστούς ΑΚΚΤ, σε σχέση με φυσιολογικούς ιστούς, ενώ σε φαινομενικά φυσιολογικές παρακείμενες του καρκίνου περιοχές η COX-2 ήταν αυξημένη κατά 50 φορές.⁴⁹ Σε ανοσοϊστοχημικές μελέτες οισοφαγικών καρκίνων, η COX-2 υπερεκφραζόταν σε καλά διαφοροποιημένους όγκους, σε σύγκριση με τους αδιαφοροποιητούς.^{50,51} Η υπερέκφραση της COX-2 συνδέεται με διέγερση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, καταστολή της ανοσιακής επίβλεψης, αποφυγή της απόπτωσης, επαγωγή νεοαγγειογένεσης και σε απομακρυσμένες μεταστάσεις μέσω της παραγωγής διαφόρων προστανοειδών. Αυτά τα προστανοειδή, εκτός των άλλων, θεωρείται ότι εμποδίζουν τους ανοσολογικούς μηχανισμούς προστασίας του κυττάρου.^{35,36}

Μελέτες επισημαίνουν το ρόλο της COX-2 στη διαδικασία καρκινογένεσης και μέσω του μεταβολισμού ξενοβιοτικών ουσιών, τη μετατροπή δηλαδή προκαρκινογόνων ενώσεων σε καρκινογόνες μέσω της ενζυμικής της δραστηριότητας.⁴⁹ Με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους βρέθηκε ότι η COX-2 εμφάνιζε διαβαθμισμένη αύξηση της έκφρασής της σε όλο το φάσμα της καρκινογένεσης στο στοματικό επιθήλιο, από την υπερπλασία και τη δυσπλασία έως το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα. Ακόμη, τα επίπεδα της COX-2 σε καρκινικούς ιστούς του στόματος βρέθηκαν κατά 150 φορές αυξημένα σε σχέση με το φυσιολογικό επιθήλιο.^{52,53}

3. ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ ΣΤΗΝ ΠΡΩΙΜΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ, ΣΤΗΝ ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΣΤΗ ΣΤΟΧΕΥΜΕΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΑΚΑΝΘΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟΥ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑΤΟΣ ΚΕΦΑΛΗΣ ΤΡΑΧΗΛΟΥ

Η διαπίστωση της φαινοτυπικής και της γονοτυπικής ετερογένειας του καρκίνου, καθώς και των διαδοχικών μεταβολών που απαιτούνται πριν από την εκδήλωση του κακοήθους δυναμικού, έχουν επιτρέψει την αναγνώριση της χρονιότητας της νόσου και την εισαγωγή της έννοιας της πολυσταδιακής καρκινογένεσης. Έχει διαπιστωθεί ότι καρκινικές διεργασίες μπορεί να υφίστανται για χρόνια προτού εκδηλωθεί ο κακοήθης φαινότυπος, με τη μορφή συσσώρευσης γονιδιακών αλλαγών και απορρυθμισμένων μοριακών μονοπατιών.⁵⁴ Οι ελπίδες λοιπόν επικεντρώνονται στον καθορισμό ευαίσθητων διαγνωστικών μοριακών δεικτών που θα εντοπίζουν τη νόσο σε πολύ αρχικά στάδια, δεικτών που θα έχουν προγνωστική αξία σε ήδη διαγνωσμένους καρκίνους, αλλά και μοριακών θεραπευτικών στόχων που θα επιτρέπουν τον εξατομικευμένο θεραπευτικό σχεδιασμό για κάθε ασθενή ξεχωριστά, ανάλογα με το μοριακό προφίλ της βλάβης, με τελικό σκοπό την αύξηση των ποσοστών επιβίωσης της νόσου.⁴² Ακολούθως, θα αναφερθούν μερικά

μόνο ενδεικτικά παραδείγματα τέτοιων μορίων και των προτεινόμενων εφαρμογών τους.

3.1. Μοριακή διάγνωση

Η ανακάλυψη βιοδεικτών με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα θα βοηθούσε στη διαλογή (screening) ασθενών υψηλού κινδύνου. Τα κριτήρια που πρέπει να πληροί ένας τέτοιος δείκτης είναι η δυνατότητα ακριβούς μέτρησης της μεταβολής του, η ικανότητα προσδιορισμού σε ελάχιστο δείγμα βιολογικών υγρών, η μεταβολή της συγκέντρωσής του μόνο σε πάσχοντες ιστούς και η χρονική εντόπιση της μεταβολής στα αρχικά στάδια της καρκινογένεσης.⁵⁵

Ένα τέτοιο μοριακό εύρημα θα μπορούσε να είναι η υπερμεθυλίωση προαγωγέων μερικών γονιδίων. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η υπερμεθυλίωση ογκοκατασταλτικών γονιδίων μπορεί να είναι η κρίσιμη διεργασία που αποσιωπά το ήδη μεταλλαγμένο, κατά το ένα αλληλίο, γονίδιο. Οι αρχικές έρευνες επικεντρώθηκαν στην ανίχνευση υπερμεθυλιωμένων γονιδίων στον ορό ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα και στα ούρα ασθενών με καρκίνο ουροδόχου κύστης, ενώ στο ΑΚΚΤ μελετήθηκαν τέσσερα γονίδια (*p16*, *MGMT*, *GDH1* και *DAPK*) στον ορό του αίματος ασθενών.⁴² Η μεθυλίωση των γονιδίων αποτελεί δυναμική διαδικασία που υπόκειται σε αλλαγές αλλά συμβαίνει σε αρχικά στάδια της καρκινογένεσης και μπορεί να ταυτοποιήσει ακόμη και προκαρκινικές βλάβες. Επειδή είναι δυνατή η άμεση και ταχεία ανάλυση ιστών ως προς το βαθμό υπερμεθυλίωσης, έχει διατυπωθεί η άποψη ότι οι δείκτες αυτοί μπορεί να χρησιμοποιηθούν για άμεσο εντοπισμό επιγενετικά μεταλλαγμένων κυττάρων στα χειρουργικά όρια όγκων κατά τη διάρκεια χειρουργικών επεμβάσεων σε ασθενείς με καρκίνο.²⁵

Άλλος δείκτης σε αυτή την κατεύθυνση φαίνεται να είναι η ανίχνευση ογκογόνων στελεχών του ιού HPV, δεδομένης της σαφούς συσχέτισης μεταξύ των στελεχών 16 και 18 του ιού και του καρκίνου του στοματοφάρυγγα.²³ Για τον καρκίνο του στόματος, η σύνδεση δεν είναι τόσο σαφής.¹⁹ Πάντως, ο ιός έχει ανιχνευτεί στο σίελο ασθενών με ΑΚΚΤ, γεγονός που τον καθιστά πιθανό δείκτη για πρώιμη διάγνωση.⁴² Τα ελπιδοφόρα μηνύματα σχετικά με την πρόληψη ενισχύονται, δεδομένης και της ανάπτυξης εμβολίων για την πρόληψη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, που επίσης οφείλεται στα ογκογόνα στελέχη του HPV.²³

3.2. Προγνωστικοί δείκτες

Μέχρι σήμερα, η σταδιοποίηση του όγκου κατά TNM, το βάθος διήθησης και ο βαθμός διαφοροποίησης των καρκινικών κυττάρων αποτελούσαν τους βασικούς προ-

γνωστικούς παράγοντες στο ΑΚΚΤ. Δεδομένης της πτωχής πρόγνωσης του συγκεκριμένου καρκίνου, αναζητούνται πιο ευαίσθητοι δείκτες που θα βοηθούσαν στην επιλογή του καταλληλότερου εξατομικευμένου θεραπευτικού σχήματος.⁹ Παρά την πληθώρα των προτεινόμενων δεικτών, έως τώρα δεν υπάρχει ομοφωνία σχετικά με τη χρήση τους.

Η απώλεια της πρωτεΐνης p53 αποτελεί έναν πολυσυζητημένο τέτοιο δείκτη. Αρκετές μελέτες ασχολήθηκαν με την ύπαρξη μοριακών αλλοιώσεων σε καρκινώματα κεφαλής τραχήλου. Χειρουργικά όρια που είχαν αρχικά χαρακτηριστεί ως υγιή από ιστοπαθολογικής πλευράς, βρέθηκαν να παρουσιάζουν μεταλλάξεις γονιδίων, ιδίως της p53, σε ποσοστό 52–66%.²³ Πολλές μελέτες έδειξαν αυξημένα ποσοστά επιβίωσης και καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία σε ασθενείς με φυσιολογική λειτουργία της p53, ενώ, αντίθετα, μεταλλάξεις της p53 συνδέονταν με χαμηλή πρόγνωση και πτωχή ανταπόκριση.^{23,42,43} Άλλες μελέτες έχουν δώσει αντίθετα αποτελέσματα και έτσι η αξία της p53 ως προγνωστικού δείκτη παραμένει αβέβαιη.¹⁹ Πάντως, όγκοι με μεταλλαγμένο το γονίδιο *TP53* φαίνονται πιο ανθεκτικοί στην ακτινοθεραπεία.¹⁹ Ακόμη, αυτοαντισώματα κατά της πρωτεΐνης p53 έχουν ανιχνευτεί στο σίελο και στον ορό ασθενών με ΑΚΚΤ και αποτελούν δυνητικούς προγνωστικούς δείκτες για το ΑΚΚΤ.⁵⁵

Η τελομεράση, μια ανάστροφη τρανσκριπτάση, είναι υπεύθυνη στα καρκινικά κύτταρα για την αποφυγή της γήρανσης και την κυτταρική αθανάτοποίηση.³⁴ Επειδή τα κύτταρα με δυσλειτουργία της τελομεράσης έχουν βρεθεί να είναι πιο ευαίσθητα στη χημειοθεραπεία, η τελομεράση μπορεί να βοηθήσει στην επιλογή ασθενών που θα είναι κατάλληλοι για τέτοιου είδους θεραπευτική προσέγγιση.⁴²

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMP), που είναι υπεύθυνες για τη διάσπαση της μεσοκυττάριας θεμέλιας ουσίας και την αύξηση της διηθητικής ικανότητας του όγκου, αποτελούν άλλον έναν πιθανό δείκτη. Αυξημένη παρουσία τους έχει σχετιστεί με πτωχή πρόγνωση της νόσου και αυξημένο κίνδυνο λεμφαδενικής μετάστασης.⁴⁸ Πάντως, υπάρχουν μελέτες που παρουσιάζουν αντιφατικά αποτελέσματα και ο ρόλος των MMP ως προγνωστικού δείκτη πρέπει να αξιολογηθεί περαιτέρω.⁵⁶

Άλλες μελέτες ερευνήσαν την υπερέκφραση του γονιδίου *CIF4F* και βρήκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ θετικών και αρνητικών δειγμάτων όσον αφορά στα ποσοστά επανεμφάνισης της νόσου και στις ελεύθερες νόσου χρονικές περιόδους. Ο δείκτης αυτός μάλιστα φάνηκε περισσότερο ευαίσθητος από τον p53.²³

Διεξοδικά επίσης ερευνάται η αξιοποίηση προγνωστικών δεικτών για τον προσδιορισμό της πιθανότητας εξαλλαγής προκαρκινικών βλαβών, όπως είναι η λευκοπλακία και η

ερυθροπλακία.⁵⁷ Ως τέτοιοι αναφέρονται τόσο βιολογικοί δείκτες, όπως η αύξηση στο πλάσμα της συγκέντρωσης του MicroRNA miR-31 ή του VEGF, όσο και μοριακοί δείκτες, όπως η απώλεια της ετεροζυγωτίας, η μικροδορυφορική αστάθεια (microsatellite instability) και οι επιγενετικές μεταβολές συγκεκριμένων ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων σε δείγματα κυττάρων που λαμβάνονται από προκαρκινικές βλάβες.⁵⁸

Ο HPV μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί και ως προγνωστικός δείκτης, δεδομένου ότι η πρόγνωση ασθενών με HPV-συσχετιζόμενο ΑΚΚΤ είναι πολύ καλύτερη, ανεξάρτητα από τη θεραπεία που θα ακολουθήσουν.⁴³

3.3. Μοριακή θεραπεία

Η αποκρυπτογράφηση των μοριακών μεταβολών που επισυμβαίνουν κατά τη γένεση και την εξέλιξη των κακοήθων νεοπλασμάτων έχει οδηγήσει στην προσπάθεια εφαρμογής θεραπευτικών μεθόδων που στοχεύουν στην αποκατάσταση συγκεκριμένων μοριακών βλαβών. Στη συνέχεια, παρατίθενται συνοπτικά και ενδεικτικά κάποιες υπό διερεύνηση μέθοδοι στοχευμένης μοριακής θεραπείας στο ΑΚΚΤ.

Ως αντικαρκινικός θεραπευτικός στόχος, η p53 αποτελεί το αντικείμενο πολυάριθμων μελετών, μιας και έχει κεντρικό ρόλο στη διαφύλαξη της ακεραιότητας του γονιδιώματος. Έχουν γίνει προσπάθειες να αποκατασταθεί η φυσιολογική λειτουργία του διαταραγμένου γονιδίου, μέσω μικρών μορίων, όπως το *PRIMA-1*, που επανενεργοποιούν την p53 και επάγουν απόπτωση σε σειρές καρκινικών κυττάρων ΑΚΚΤ.³⁵ Άλλες μέθοδοι γονιδιακής θεραπείας περιλαμβάνουν τη χρήση του αδενοϊού ONYX-015 για την αποκατάσταση της p53 στα μεταλλαγμένα κύτταρα μέσω της χρήσης στοματοπλυμάτων με ONYX-015.¹⁷

Ο EGFR αποτελεί έναν υποσχόμενο στόχο στη θεραπεία του ΑΚΚΤ, καθώς εκφράζεται στη συντριπτική πλειοψηφία των περιπτώσεων και η έκφρασή του βαίνει αυξανόμενη καθώς η βλάβη μεταβαίνει από δυσπλασία σε διηθητικό καρκίνωμα.^{17,59} Η υπερέκφραση αυτή είναι κακός προγνωστικός δείκτης και σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση.⁶⁰ Μεταξύ των προτεινόμενων μεθόδων στοχευμένης θεραπείας του EGFR συγκαταλέγεται η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων (monoclonal antibodies) που εμποδίζουν την πρόσδεση των αγωνιστών στο εξωκυττάριο τμήμα του υποδοχέα και η χρήση αναστολέων της τυροσινικής κινάσης EGFR (TKIs) που εμποδίζουν την ενδοκυττάρια ενζυμική δράση της κινάσης.^{42,61} Η χορήγηση μάλιστα των εν λόγω αναστολέων φαίνεται ότι αυξάνει την ευαισθησία των όγκων στην ακτινοθεραπεία.⁶¹ Φαίνεται πάντως ότι οι ασθενείς με υψηλά

ποσοστά EGFR δεν ανταποκρίνονται πάντα επαρκώς στην παραπάνω θεραπεία, γεγονός ενδεχομένως οφειλόμενο στην ανίχνευση μιας μεταλλαγμένης μορφής του υποδοχέα, της EGFRvIII, στο 40% των περιπτώσεων ΑΚΚΤ.⁶⁰

Η στόχευση του αγγειογενετικού μορίου VEGF αποτελεί πολλά υποσχόμενη μέθοδο, μιας και ο καρκίνος δεν μπορεί να επιβιώσει χωρίς επαρκή αιμάτωση. Χρησιμοποιούνται και γι' αυτόν το σκοπό μονοκλωνικά αντισώματα και μικρά μόρια-αναστολείς των ενδοκυττάρων κινασών, αλλά υπάρχουν ενδείξεις ότι καλύτερα αποτελέσματα προκύπτουν με την ταυτόχρονη στοχοποίηση των EGFR και VEGF σηματοδοτικών μονοπατιών.¹⁷

Άλλος ελπιδοφόρος στόχος είναι η χρήση αναστολέων της κυκλοοξυγενάσης COX, με τη μορφή των ΜΣΑΦ (μη στεροειδών αντιφλεγμονωδών). Οι αρχικές ενδείξεις των αντικαρκινικών ιδιοτήτων των ΜΣΑΦ προέκυψαν από τη μείωση του κινδύνου ανάπτυξης ορθοκολικού καρκίνου μετά από μακροχρόνια χρήση ασπιρίνης.^{42,62} Οι ενδείξεις από μελέτες σε κυτταρικές σειρές, σε πειραματόζωα και σε ανθρώπους, τόσο με χορήγηση μη εκλεκτικών ΜΣΑΦ όσο και με εκλεκτικούς αναστολείς της COX-2, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι το μονοπάτι της COX-2/PGE₂ αποτελεί έναν ιδανικό στόχο για τη χημειοπροφύλαξη και τη θεραπεία του καρκίνου.³⁷ Η χημειοπροστατευτική επίπτωση των ΜΣΑΦ αφ' ενός στον επιπολασμό και αφ' ετέρου στην πρόοδο των καρκίνων του παχέος εντέρου έχει αναγνωριστεί τόσο σε επιδημιολογικές μελέτες όσο και σε πειραματικές και κλινικές δοκιμές.⁵² Η προστατευτική δράση αφορά κυρίως στην αναστολή σύνθεσης των προσταγλανδινών από την COX-2 μετά από χορήγηση ΜΣΑΦ. Η χορήγησή τους –κυρίως της σουλινδάκης– οδήγησε σε μείωση του αριθμού και του μεγέθους των πολυπόδων του παχέος εντέρου.¹⁷ Ο συνδυασμός ΜΣΑΦ και αναστολέα της τυροσινικής κινάσης EGFR είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση του σχηματισμού πολυπόδων σε εντερικά επιθηλιακά κύτταρα ποντικών.²⁴ Εκτός από την COX-εξαρτώμενη δράση τους, τα ΜΣΑΦ φαίνεται ότι έχουν και COX-ανεξάρτητη αντινεοπλασματική δράση.^{63,64}

Η παρεμπόδιση της έκφρασης της COX φαίνεται να μειώνει την αγγειογενετική δράση και να ρυθμίζει τη διηθητικότητα και τη μετάσταση των όγκων. Η σελεκοξίμη φαίνεται ότι επιβραδύνει την κυτταρική ανάπτυξη όγκων στοματικού επιθηλίου μειώνοντας την ποσότητα των νεοσχηματισθέντων αγγείων, γεγονός που ενισχύει την πιθανότητα χημειοπροφυλακτικής χρήσης των αναστολέων COX στο στοματικό καρκίνο.⁶⁵ Η σελεκοξίμη χορηγήθηκε επίσης ως τοπικό χημειοπροφυλακτικό φάρμακο σε συγκεντρώσεις 3% και 6% σε ποντίκια, στα οποία είχε χορηγηθεί το καρκινογόνο DMBA και μείωσε την επίπτωση του καρκίνου.⁶⁶

Πάντως, παρά τις ελπίδες για χρήση των συγκεκριμένων

ουσιών στην κλινική πράξη, μια κλινική μελέτη χρήσης του ΜΣΑΦ κετορολάκη (ketorolac) ως στοματόπλυμα σε ασθενείς με λευκοπλακία δεν έδειξε στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα.⁶⁷

Σε προκλινικές μελέτες, οι εκλεκτικοί αναστολείς της COX-2 έχουν συνδυαστεί με άλλες θεραπείες για να μειωθούν οι ανεπιθύμητες ενέργειες και να αυξηθούν τα οφέλη. Έτσι, έχουν δοκιμαστεί συνδυασμοί αναστολέων COX με χημειοθεραπευτικά όπως η σισπλατίνη και η κυκλοφωσφαμίδη, με ακτινοθεραπεία ή με αναστολείς των υποδοχέων EGF όπως η herceptin και τα αποτελέσματα υπήρξαν θετικά.^{24,35} Η σημασία αυτών των αποτελεσμάτων πάντως μετριάζεται από τις ανεπιθύμητες ενέργειες των ΜΣΑΦ, που κυμαίνονται από ανεπιθύμητες ενέργειες του γαστρεντερικού έως σοβαρές καρδιαγγειακές επιπλοκές, ιδίως για τους εκλεκτικούς COX-2 αναστολείς.^{68,69}

3.4. Περιορισμοί των μοριακών δεικτών και στόχων

Παρά όλο το ενδιαφέρον που παρουσιάζουν οι βιολογικοί δείκτες, η αξία τους τίθεται συχνά εν αμφιβόλω. Οι Brinkman και Wong επιστούν την προσοχή στο γεγονός ότι ένας μοριακός δείκτης δεν αποτελεί υποχρεωτικά και διαγνωστικό ή προγνωστικό βιολογικό δείκτη, καθώς δεν μπορεί απαραίτητα να μετρήσει την πρόοδο της νόσου ή τα αποτελέσματα της εφαρμοζόμενης θεραπείας.¹⁰ Συχνά, υπάρχει ασυνέχεια μεταξύ ευρημάτων του εργαστηρίου και κλινικής εφαρμογής.¹⁰ Σε μια ενδιαφέρουσα δημοσίευση των Kyzas et al⁷⁰ επισημαίνεται ότι η συντριπτική πλειοψηφία των ερευνών για προγνωστικούς καρκινικούς δείκτες παρουσιάζει στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα και ότι υπάρχει ανάγκη για προσεκτικότερη επιβεβαίωση. Από

πολλές κατευθύνσεις επισημαίνεται πάντως η ανάγκη να διενεργηθούν μελέτες σε μεγαλύτερα δείγματα ασθενών και να υπάρξει τυποποίηση (standardization) των μοριακών δεικτών που ίσως αποβούν χρήσιμοι στο ΑΚΚΤ.⁵⁶

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με την ανακάλυψη πλήθους γονιδίων και μοριακών μονοπατιών που εμπλέκονται στο ΑΚΚΤ γεννήθηκαν ελπίδες για μια διαφορετική προληπτική και θεραπευτική προσέγγιση της νόσου, που θα βασίζεται στο εξατομικευμένο μοριακό προφίλ κάθε ασθενούς. Πλήθος μελετών που επικεντρώνονται στους μοριακούς δείκτες δίνουν ελπίδες για πιο πρώιμη διάγνωση της πρωτοπαθούς εστίας και της πιθανής μεταστατικής εξάπλωσης, διαμόρφωση πρωτοκόλλων για διαλογή (screening) ατόμων υψηλού κινδύνου, καθώς και για παρακολούθηση περιπτώσεων μετά από την αρχική θεραπευτική παρέμβαση. Ο έλεγχος των χειρουργικών ορίων για πιθανές μοριακές μεταβολές, η διατύπωση εξατομικευμένης πρόγνωσης φαινομενικά παρόμοιων όγκων, καθώς και η επιλογή συγκεκριμένης θεραπευτικής παρέμβασης με βάση τα μοριακά χαρακτηριστικά του όγκου αποτελούν κάποιες από τις ελπιδοφόρες προοπτικές της χρήσης μοριακών δεδομένων στην πρόληψη και στη θεραπεία του ΑΚΚΤ. Ωστόσο, πρόκληση παραμένει η ανεύρεση αξιόπιστων δεικτών και στόχων για τους σκοπούς αυτούς. Σε κάθε περίπτωση, πάντως, η στοχευμένη προληπτική, προγνωστική και θεραπευτική προσέγγιση αποτελεί το μέλλον της αντιμετώπισης όχι μόνο του ΑΚΚΤ, αλλά και του καρκίνου γενικά.

ABSTRACT

The molecular basis of head and neck squamous cell carcinoma. Implications of novel findings for prevention and therapy

M. SIDERI, N. NIKITAKIS

Department of Oral Pathology and Medicine, School of Dentistry, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2012, 29(6):655–669

Squamous cell carcinoma of the head and neck (HNSCC) is one of the most common cancers worldwide. It has a rising incidence and is characterized by high mortality and it is frequently preceded by premalignant lesions, such as leukoplakia and erythroplakia. Various environmental factors have been implicated in its etiology, including tobacco and alcohol use and viral agents, and there is a genetic susceptibility. The acquisition of a malignant phenotype is a multi-step process that requires the accumulation of multiple genetic and epigenetic alterations. The steps include activation of oncogenes, inactivation of tumor suppressor genes and deregulation of various molecular pathways that control basic cellular functions such as cell proliferation, differentiation and apoptosis. In recent years new insights into the complex molecular mechanisms underlying the development of HNSCC have created new oppor-

tunities for the identification of appropriate biomarkers to facilitate early diagnosis of precancerous lesions and act as targets for individualized therapeutic interventions. This is a review of the molecular pathogenesis of HNSCC and the various aberrations of genes and signaling pathways that have been correlated with the malignant characteristics of invasion, angiogenesis, evasion of immune surveillance and metastasis. Field cancerization and cell immortalization are discussed together with the emerging role of human papilloma virus (HPV) in the disease. Finally, the implications of these new findings for the prevention and therapy of HNSCC are presented.

Key words: Head and neck squamous cell carcinoma, Molecular biology, Oral cancer, Targeted therapy

Βιβλιογραφία

- WESTRA WH. The changing face of head and neck cancer in the 21st century: The impact of HPV on the epidemiology and pathology of oral cancer. *Head Neck Pathol* 2009, 3:78–81
- CARDESA A, NADAL A. Carcinoma of the head and neck in the HPV era. *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat* 2011, 20:161–173
- REIBEL J. Prognosis of oral pre-malignant lesions: Significance of clinical, histopathological and molecular biological characteristics. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003, 14:47–62
- SCULLY C. Oral cancer aetiopathogenesis; past, present and future aspects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011, 16:e306–e311
- ΣΚΛΑΒΟΥΝΟΥ Α, ΠΙΠΕΡΗ Ε. Νεότερα δεδομένα στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα της στοματικής κοιλότητας. *Ελληνική Νοσοκομειακή Οδοντιατρική* 2009, 1:29–34
- CHUNG CH, PARKER JS, KARACA G, WU J, FUNKHOUSER WK, MOORE D ET AL. Molecular classification of head and neck squamous cell carcinomas using patterns of gene expression. *Cancer Cell* 2004, 5:489–500
- LEEMANS CR, BRAAKHUIS BJ, BRAKENHOFF RH. The molecular biology of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer* 2011, 11:9–22
- CHO WC. MicroRNAs: Potential biomarkers for cancer diagnosis, prognosis and targets for therapy. *Int J Biochem Cell Biol* 2010, 42:1273–1281
- ΚΑΣΦΙΚΗΣ Γ, ΠΟΥΛΟΠΟΥΛΟΣ ΑΘ, ΜΑΡΚΟΠΟΥΛΟΣ Α. Κλινικοί, μορφολογικοί και μοριακοί δείκτες. Η προγνωστική τους αξία στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα της στοματικής κοιλότητας. *Στόμα* 2008, 36:241–248
- BRINKMAN BM, WONG DT. Disease mechanism and biomarkers of oral squamous cell carcinoma. *Curr Opin Oncol* 2006, 18:228–233
- ΛΟΓΟΘΕΤΗ Σ, ΒΛΑΧΟΠΟΥΛΟΣ Σ, ΜΗΚΑΣ Δ, ΖΟΥΜΠΟΥΡΛΗΣ Β. Καρκινικά γονίδια και τα μονοπάτια που ελέγχουν. *Ογκολογική Ενημέρωση* 2005, 7:210–217
- ΚΡΙΚΕΛΗΣ Δ. Ανίχνευση του ογκογονιδίου HPV16 E7 σε επιθηλιακά καρκινώματα, συσχέτιση με την υπερμεθυλίωση στον προαγωγέα του γονιδίου p16. Διδακτορική Διατριβή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη, 2009
- ΠΑΝΑΓΗ Α. Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια. Στο: *Κλινική Ογκολογία*. Τόμος Α, Γενικό μέρος. ΕΕΠΟΕ, Αθήνα, 2007:139–155
- HANAHAN, D, WEINBERG RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000, 100:57–70
- NEGRINI S, GORGOLIS V, HALAZONETIS TD. Genomic instability – an evolving hallmark of cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010, 11:220–228
- ΚΟΥΡΕΛΗΣ Κ. Μορφολογική μελέτη του μοριακού δικτύου των μεταγραφικών παραγόντων PPAR γ , RXR α , NF- κ B, του υποδοχέα EGFR και του ενζύμου COX-2, κατά την καρκινογένεση, στο λαρυγγικό επιθήλιο και το μικροπεριβάλλον του. Διδακτορική Διατριβή. Πανεπιστήμιο Πατρών, 2006
- CHOI S, MYERS JN. Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma: Implications for therapy. *J Dent Res* 2008, 87:14–32
- PATEL V, LEETHANAKUL C, GUTKIND JS. New approaches to the understanding of the molecular basis of oral cancer. *Crit Rev Oral Biol Med* 2001, 12:55–63
- TSANTOULIS PK, KASTRINAKIS NG, TOURVAS AD, LASKARIS G, GORGOLIS VG. Advances in the biology of oral cancer. *Oral Oncol* 2007, 43:523–534
- PÉREZ-SAYÁNS M, SOMOZA-MARTÍN JM, BARROS-ANGUEIRA F, REBOIRAS-LÓPEZ MD, GÁNDARA REY JM, GARCÍA-GARCÍA A. Genetic and molecular alterations associated with oral squamous cell cancer. *Oncol Rep* 2009, 22:1277–1282
- FIELD JK, KIARIS H, HOWARD P, VAUGHAN ED, SPANDIDOS DA, JONES AS. Microsatellite instability in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Br J Cancer* 1995, 71:1065–1069
- SLAUGHTER DP, SOUTHWICK HW, SMEJKAL W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer* 1953, 6:963–968
- PEREZ-ORDOÑEZ B, BEAUCHEMIN M, JORDAN RC. Molecular biology of squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Pathol* 2006, 59:445–453
- CHOE MS, ZHANG X, SHIN HJ, SHIN DM, CHEN ZG. Interaction between epidermal growth factor receptor- and cyclooxygenase 2-mediated pathways and its implications for the chemoprevention of head and neck cancer. *Mol Cancer Ther* 2005, 4:1448–1455
- HA PK, CALIFANO JA. Promoter methylation and inactivation of tumour-suppressor genes in oral squamous-cell carcinoma. *Lancet Oncol* 2006, 7:77–82
- CAMPO-TRAPERO J, CANO-SÁNCHEZ J, PALACIOS-SÁNCHEZ B, SÁNCHEZ-GUTIERREZ JJ, GONZÁLEZ-MOLES MA, BASCONES-MARTÍNEZ A. Update on molecular pathology in oral cancer and precancer. *Anticancer Res* 2008, 28:1197–1205

27. SUPIĆ G, KOZOMARA R, BRANKOVIĆ-MAGIĆ M, JOVIĆ N, MAGIĆ Z. Gene hypermethylation in tumor tissue of advanced oral squamous cell carcinoma patients. *Oral Oncol* 2009, 45:1051–1057
28. NAGPAL JK, DAS BR. Oral cancer: Reviewing the present understanding of its molecular mechanism and exploring the future directions for its effective management. *Oral Oncol* 2003, 39:213–221
29. ΡΗΓΑΣ Γ, ΑΘΑΝΑΣΙΟΥ Α. Ο κυτταρικός κύκλος. Στο: *Κλινική Ογκολογία*. Τόμος Α, Γενικό μέρος. ΕΕΠΟΕ, Αθήνα, 2007:127–138
30. MOLINOLO AA, AMORNPHEMOLTHAM P, SQUARIZE CH, CASTILHO RM, PATEL V, GUTKIND JS. Dysregulated molecular networks in head and neck carcinogenesis. *Oral Oncol* 2009, 45:324–334
31. MURUGAN AK, MUNIRAJAN AK, TSUCHIDA N. Ras oncogenes in oral cancer: The past 20 years. *Oral Oncol* 2012, 48:383–392
32. ΡΟΠΟΝΙΪ Β, JEKIĆ B, ΝΟΒΑΚΟΝΙΪ Ι, ΛΟΥΚΟΝΙΪ Λ, ΚΟΝΣΤΑΝΤΙΝΟΝΙΪ V, ΒΑΒΙĆ Μ ET AL. Cancer genes alterations and HPV infection in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2010, 39:909–915
33. HARDISSON D. Molecular pathogenesis of head and neck squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2003, 260:502–508
34. KUPFERMAN ME, MYERS JN. Molecular biology of oral cavity squamous cell carcinoma. *Otolaryngol Clin North Am* 2006, 39:229–247
35. GHOSH N, CHAKI R, MANDAL V, MANDAL SC. COX-2 as a target for cancer chemotherapy. *Pharmacol Rep* 2010, 62:233–244
36. DEMPKEW, RIE C, GROTHEY A, SCHMOLL HJ. Cyclooxygenase-2: A novel target for cancer chemotherapy? *J Cancer Res Clin Oncol* 2001, 127:411–417
37. GREENHOUGH A, SMARTT H, MOORE AE, ROBERTS HR, WILLIAMS A, PARASKEVA C ET AL. The COX-2/PGE2 pathway: Key roles in the hallmarks of cancer and adaptation to the tumour microenvironment. *Carcinogenesis* 2009, 30:377–386
38. XI S, ZHANG Q, DYER KF, LERNER EC, SMITHGALL TE, GOODING WE ET AL. Src kinases mediate STAT growth pathways in squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Biol Chem* 2003, 278:31574–31583
39. ΖΟΥΡΜΠΟΥΛΗΣ Β, ΣΟΛΑΚΙΔΗ Σ. Ο ρόλος της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης p53 στον καρκίνο. *Ογκολογική Ενημέρωση* 2003, 5:98–103
40. SCHUMAKER L, NIKITAKIS N, GOLOUBEVA O, TAN M, TAYLOR R, CULLEN K. Elevated expression of glutathione S-transferase pi and p53 confers poor prognosis in head and neck cancer patients treated with chemoradiotherapy but not radiotherapy alone. *Clin Cancer Res* 2008, 14:5877–5883
41. LARGEY JS, MELTZER SJ, SAUK JJ, HEBERT CA, ARCHIBALD DW. Loss of heterozygosity involving the APC gene in oral squamous cell carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994, 77:260–263
42. KIM MM, CALIFANO JA. Molecular pathology of head-and-neck cancer. *Int J Cancer* 2004, 112:545–553
43. BAUMAN JE, MICHEL LS, CHUNG CH. New promising molecular targets in head and neck squamous cell carcinoma. *Curr Opin Oncol* 2012, 24:235–242
44. ΜΠΟΖΙΑΡΗ Π, ΝΙΚΗΤΑΚΗΣ Ν, ΣΚΛΑΒΟΥΝΟΥ-ΑΝΔΡΙΚΟΠΟΥΛΟΥ Α. Ο ρόλος των ιών HPV σε προκαρκινικές και καρκινικές βλάβες του στόματος. *Ιατρική* 2008, 94:554–568
45. GILLISON ML, KOCH WM, CAPONE RB, SPAFFORD M, WESTRA WH, WU L ET AL. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst* 2000, 92:709–720
46. BRANDSMA JL, ABRAMSON AL. Association of papillomavirus with cancers of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1989, 115:621–625
47. KIM L, KING T, AGULNIK M. Head and neck cancer: Changing epidemiology and public health implications. *Oncology (Williston Park)* 2010, 24:915–919, 924
48. ΚΟΥΝΟΥΠΗΣ Β. Ο ρόλος των μεταλλοπρωτεϊνών στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα. *Ελληνικά Στοματολογικά Χρονικά* 2010, 54:141–151
49. CHAN G, BOYLE JO, YANG EK, ZHANG F, SACKS PG, SHAH JP ET AL. Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Res* 1999, 59:991–994
50. RATNASINGHE D, TANGREA J, ROTH MJ, DAWSEY S, HU N, ANVER M ET AL. Expression of cyclooxygenase-2 in human squamous cell carcinoma of the esophagus; an immunohistochemical survey. *Anticancer Res* 1999, 19:171–174
51. SHAMMA A, YAMAMOTO H, DOKI Y, OKAMI J, KONDO M, FUJIWARA Y ET AL. Up-regulation of cyclo-oxygenase-2 in squamous carcinogenesis of the esophagus. *Clin Cancer Res* 2000, 6:1229–1238
52. RENKONEN J, WOLFF H, PAAVONEN T. Expression of cyclo-oxygenase-2 in human tongue carcinoma and its precursor lesions. *Virchows Arch* 2002, 440:594–597
53. SHIBATA M, KODANI I, OSAKI M, ARAKI K, ADACHI H, RYOKE K ET AL. Cyclo-oxygenase-1 and -2 expression in human oral mucosa, dysplasias and squamous cell carcinomas and their pathological significance. *Oral Oncol* 2005, 41:304–312
54. SPORN MB, SUH N. Chemoprevention of cancer. *Carcinogenesis* 2000, 21:525–530
55. WU JY, YI C, CHUNG HR, WANG DJ, CHANG WC, LEE SY ET AL. Potential biomarkers in saliva for oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2010, 46:226–231
56. OLIVEIRA LR, RIBEIRO-SILVA A. Prognostic significance of immunohistochemical biomarkers in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2011, 40:298–307
57. LINGEN MW, PINTO A, MENDES RA, FRANCHINI R, CZERNINSKI R, TILAKARATNE WM ET AL. Genetics/epigenetics of oral premalignancy: Current status and future research. *Oral Dis* 2011, 17(Suppl 1):7–22
58. MISHRA R. Biomarkers of oral premalignant epithelial lesions for clinical application. *Oral Oncol* 2012, 48:578–584
59. KARAMOUZIS MV, GRANDIS JR, ARGIRIS A. Therapies directed against the epidermal growth factor receptor in aerodigestive carcinomas. *JAMA* 2007, 298:70–82
60. LANGER CJ. Exploring biomarkers in head and neck cancer. *Cancer* 2012, doi: 10.1002/cncr.26718 [Epub ahead of print]
61. HAMAKAWA H, NAKASHIRO K, SUMIDA T, SHINTANI S, MYERS JN, TAKES RP ET AL. Basic evidence of molecular targeted thera-

- py for oral cancer and salivary gland cancer. *Head Neck* 2008, 30:800–809
62. BARON JA, SANDLER RS. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cancer prevention. *Annu Rev Med* 2000, 51:511–523
63. SCHEPER MA, SAUK JJ, NIKITAKIS NG. COX-independent antineoplastic effects of sulindac in oral cancer are mediated by survivin down-regulation. *Anticancer Res* 2006, 26:4103–4113
64. NIKITAKIS NG, HEBERT C, LOPES MA, REYNOLDS MA, SAUK JJ. PPAR-gamma-mediated antineoplastic effect of NSAID sulindac on human oral squamous carcinoma cells. *Int J Cancer* 2002, 98:817–823
65. WANG Z, FUENTES CF, SHAPSHAY SM. Antiangiogenic and chemopreventive activities of celecoxib in oral carcinoma cells. *Laryngoscope* 2002, 112:839–843
66. GRÖSCH S, MAIER TJ, SCHIFFMANN S, GEISLINGER G. Cyclooxygenase-2 (COX-2)-independent anticarcinogenic effects of selective COX-2 inhibitors. *J Natl Cancer Inst* 2006, 98:736–747
67. MULSHINE JL, ATKINSON JC, GREER RO, PAPADIMITRAKOPOULOU VA, VAN WAES C, RUDY S ET AL. Randomized, double-blind, placebo-controlled phase IIb trial of the cyclooxygenase inhibitor ketorolac as an oral rinse in oropharyngeal leukoplakia. *Clin Cancer Res* 2004, 10:1565–1573
68. WOLFE MM, LICHTENSTEIN DR, SINGH G. Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *N Engl J Med* 1999, 340:1888–1899
69. WONG M, CHOWIENCZYK P, KIRKHAM B. Cardiovascular issues of COX-2 inhibitors and NSAIDs. *Aust Fam Physician* 2005, 34:945–948
70. KYZAS PA, DENAXA-KYZA D, IOANNIDIS JP. Almost all articles on cancer prognostic markers report statistically significant results. *Eur J Cancer* 2007, 43:2559–2579

Corresponding author:

M. Sideri, 27 Ipirou street, GR-153 41 Agia Paraskevi, Greece
e-mail: siderim943@gmail.com

.....