

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN
CRAIOVA
FACULTATEA DE MEDICINĂ**

TEZĂ DE DOCTORAT

***ANGIOGENEZA ȘI LIMFANGIOGENEZA ÎN CARCINOAMELE
SCUAMOASE ORALE
STUDIU HISTOPATOLOGIC ȘI IMUNOHISTOCHIMIC***

REZUMAT

CONDUCĂTOR:

Prof. univ. dr. Laurențiu MOGOANTĂ

**Doctorand,
ADINA MAGDALENA BUNGET**

CRAIOVA, 2013

INTRODUCERE

Cancerul cavității orale este a șasea cauză de cancer la nivel mondial. Numai în Statele Unite sunt depistate peste 21.500 de cazuri noi de carcinoame orale în fiecare an și 6.000 de americani mor anual din aceasta cauză (Landis și colab. 1999). Incidența carcinomului oral variază la nivel mondial, cu estimări ce depășesc 40 la 100 000 de locuitori în unele părți ale Franței, sudul Asiei, Ungaria și Singapore.

Etiologia cancerului oral este multifactorială, încă incomplet cunoscută. Principalii factori etiopatogenici sunt considerați expunerea la fumul de țigară și consumul de alcool.

Expunerea cronică la carcinogeni determină anomalii genetice la nivelul celulelor mucoasei orale. Când aceste anomalii genetice determină activarea protooncogenelor și inactivarea genelor supresoare tumorale, celulele își modifică ritmul de creștere și de multiplicare. Aceste populații celulare au o tendință marcată de a acumula anomalii genetice adiționale, datorită instabilității genomice. Instabilitatea genomică este rezultatul ciclurilor celulare rapide și controlului inadecvat al proliferării celulare datorită unei capacități scăzute de a repara defectele de. În aceste populații celulare, rata de acumulare a anomaliilor genetice dobândite crește logaritmice cu timpul (Califano și colab. 1996).

În ceea ce privește relația dintre consumul de alcool și apariția cancerului de cavitate orală, în 1988 Agenția Internațională pentru Cercetarea Cancerului (IARC) arătată că băuturile alcoolice sunt cancerigene pentru om (Room R, Rehm J, 2010; Rehm J, Baliunas D, Borges GLG, et al. 2010). Mecanismele prin care consumul de alcool își exercită efectul cancerigen nu au fost definit cu exactitate. Cel mai adesea se menționează efect genotoxic al acetaldehidei rezultate în cursul metabolismului alcoolului (Seitz HK, Stickel F, 2007; Gyamfi MA, Wan YJY, 2010). Alcoolul poate fi un factor important în inițierea cancerizării, fie prin creșterea expresiei anumitor oncogene fie prin reducerea capacității celulelor de a repara ADN-ul crescând astfel probabilitatea apariției unor mutații oncogene.

În ultimii 20 de ani, la o mare parte din carcinoamele scuamoase ale capului și gâtului, a fost demonstrată existența materialului genetic al virusului human papilloma (HPV) (Steinberg, 1999). În cazul carcinoamelor cu celule scuamoase în general, proporția cancerelor care conțin materialul genetic al HPV pare să varieze, în funcție de localizarea anatomică de la nivelul tractului aero-digestiv. După același autor (Steinberg 1999), localizarea tumorală cu cea mai mare frecvență a infecției HPV este amigdala (74%) și apoi, în ordine descrescătoare, limba (22%) și planșeul bucal (5%).

CAPITOLUL I. Dezvoltarea cavității orale

În săptămâna a treia de viață intrauterină, între proeminența frontală a craniului și primul arc branhiar, pe fața ventrală, apare o depresiune largă, puțin adâncă, ectodermală, numită aditus anterior, care se prelungește în profunzime până la membrana faringiană care o separă de intestinul cefalic. Depresiunea aditusului anterior devine din ce în ce mai accentuată și astfel se schițează stomodeumul sau gura primitivă.[2]. Treptat membrana bucofaringiană se perforază și dispare, printr-un proces de necroză care apare la începutul săptămânii a 4-a, când stomodeumul se deschide în faringe. Prin dezvoltarea palatului dur și a palatului moale, stomodeumul va fi separat în cavitate nazală și cavitate bucală.

Înainte de apariția palatului dur din gura primitivă ia naștere adenohipofiza și pungea faringiană a lui Luschka.

În jurul orificiului bucal primitiv se dezvoltă din mezoderm niște proeminente care vor da naștere mugurilor faciali. Mugurii feței se dezvoltă pe baza unor mecanisme de inducție care determină, de asemenea, și dezvoltarea veziculelor cerebrale. Regiunea facială se diferențiază pe baza mugurelui frontal și a arcurilor branhiare pe parcursul a două etape importante: etapa de înmugurire și etapa de coalescență. În etapa de înmugurire, din primul arc branhiar iau naștere mugurele maxilar superior și mugurele maxilar inferior.

În etapa de coalescență mugurii mandibulari, care iau naștere din arcul I branhiar, cresc și se dezvoltă oblic înainte și înapoi, și se vor întâlni pe linia mediană. Prin unirea celor doi muguri, drept și stâng, ia naștere arcul mandibular. În porțiunea anterioară și superioară, mugurii mandibulari dau naștere buzei inferioare.

Mugurii nazali interni se unesc și formează piesa intermaxilară sau incisivă care ulterior prin unire cu mugurii maxilari superiori formează arcada superioară.

Mugurii maxilari superiori se unesc lateral cu mugurii mandibulari și formează regiunile obrazilor și comisurile bucale.

Arcurile branhiare sunt formațiuni mezenchimatoase delimitate spre exterior de ectoderm și la interior de endoderm și unite între ele prin adâncituri interbranhiare ecto- și endodermice. Există 4 perechi de arcuri branhiare bine reprezentate la care se adaugă două rudimentare. Primele patru arcuri duc la formarea părților moi și dure ale capului și gâtului, iar celelalte două fac parte din toracele superior.

Începând cu săptămâna a V-a ia naștere limba prin apariția unui sac de membrană mucoasă care treptat se umple cu masă mandibulară. Materialul provine din mugurii mandibulari, cu participarea celorlalte arcuri branhiare. Corpul limbii sau porțiunea orală este situată anterior de V-ul lingual, conține papilele gustative și are rol în masticatie. Are origine

ectodermică, se va forma din trei primordii linguale aparținând primului arc branhial: o pereche care reprezintă tuberculii linguali laterali și o umflătură mediană situată între ceilalți doi, tuberculul impar. Rădăcina limbii sau porțiunea faringiană conține glande și țesut limfoid, are rol în deglutiție. Cele două porțiuni ale limbii sunt delimitate între ele prin șanțul terminal de origine endodermică, se va forma din eminența hipobranhială sau copula care provine din arcul branhial II cu contribuția arcurilor III și IV.

În luna a doua de viață intrauterină apare o proliferare a epiteliului gurii embrionare, de origine ectodermică, care se prelungește spre interior formând îngroșări ce se înfundă în mezenchimul subiacent și vor genera:

- lamă labială sau vestibulară, care prin resorbție va forma vestibulul bucal,
- lamă dentară primară, care se adâncește în mezenchimul viitoarelor maxilare, dând naștere mugurilor dentari.

Din lama dentară primitivă sau creasta dentară primitivă pornesc spre fața profundă 20 de proeminențe numite muguri dentari ai dentiției primitive sau temporare. Începând cu săptămâna a 20-a, din lama dentară primară, prin proliferarea ei, ia naștere lama dentară secundară. Aceasta va determina constituirea mugurilor dinților permanenți care înlocuiesc dinții temporari. Mugurii dentari, atât cei ai dinților temporari cât și cei ai dinților permanenți, se formează în urma unor transformări celulare epiteliale și conjunctive.

CAPITOLUL II. Anatomia și histologia cavității orale

Cavitatea orală este o unitate morfofuncțională complexă, alcătuită din structuri diferite histologic și funcțional, care fac ca la acest nivel să se desfășoare o multitudine de acte fiziologice. Pereții cavității orale, în număr de șase, sunt constituiți din structuri osoase, rigide și din structuri cutanate, mucoase, musculoaponevrotice, care sunt mobile și permit modificări de formă și volum ale cavității orale în raport cu necesitățile funcționale.

Cavitatea orală este împărțită în două compartimente, separate de arcadele alveolo-dentare:

- vestibulul bucal este delimitat anterior de buze și obraji, iar spre posterior de arcadele dento-alveolare. La locul de întâlnire între peretele labiojugal și procesele alveolare se formează fundurile de sac vestibulare, câte unul pentru fiecare maxilar;

- cavitatea orală propriu-zisă, situată înapoia arcașelor alveolo-dentare.

Cavitatea orală este formată din structuri dure, reprezentate de dinți, osul alveolar, și structuri moi, care formează mucoasa orală. Este o membrană conjunctivo-epitelială, de

culoare roz, care tapetează cavitatea orală la interior și se continuă spre posterior cu mucoasa faringiană.

Din punct de vedere histologic, mucoasa orală este formată dintr-un epiteliu de acoperire și un corion, despărțite printr-o membrană bazală continuă. Mucoasa orală este o mucoasă de tip corio-papilar deoarece corionul trimite către epiteliu ridicături numite papile, iar epiteliul, la rândul său trimite printre papile niște creste epiteliale.

Epiteliul de acoperire al mucoasei orale este un epiteliu de tip pavimentos stratificat fără keratinizare, având anumite zone unde poate să apară orto- sau parakeratinizare. Alături de celulele epiteliale (keratinocite), în straturile bazal și spinos se mai pot găsi și alte tipuri de celule migrate: melanocite, celule Langerhans, celule Merkel.

Corionul mucoasei orale, numit și lamina propria, este reprezentat de țesut conjunctiv lax în cea mai mare parte. El prezintă o structură și grosimi variabile în funcție de zona topografică unde se situează.

Vascularizația mucoasei orale este foarte bogată, fiind reprezentată de ramuri ale arterei carotide interne, care formează două rețele arteriale: una în corionul profund și alta în corionul superficial.

Inervația mucoasei orale este bine reprezentată atât prin fibre nervoase aparținând sistemului nervos somatic, cât și prin fibre nervoase aparținând sistemului nervos vegetativ. Structurile nervoase sunt reprezentate de fibre nervoase senzitive, ramuri din nervul trigemen, și corpusculi senzitivi Meissner, Golgi, Rufini, care asigură sensibilitatea tactilă, termică și dureroasă.

Buzele sunt niște formațiuni musculo-cutanate care constituie acele pliuri care formează orificiul bucal. Ele prezintă o porțiune externă, acoperită de piele și o porțiune internă, acoperită de mucoasa orală. Între cele două straturi se găsesc mușchii orbiculari ai buzelor, care dau forma buzelor, vase de sânge, nervi, glande salivare. Roșul buzelor reprezintă suprafața de trecere între piele și mucoasa orală. În structura buzelor intră în primul rând mușchiul orbicular al buzelor format din fibre musculare striate, care formează un schelet central. Roșul buzelor acoperă marginea liberă a buzelor, având un epiteliu mai subțire ca în alte regiuni și un țesut conjunctiv foarte bine vascularizat și lipsit de glande salivare. Prezența vaselor de sânge în vecinătatea epiteliului oferă aspectul roșu al acestei regiuni.

Limba este un organ musculo-epitelial, cu multe roluri fiziologice în supt, fonație, deglutiție și receptor pentru sensibilitatea gustativă. Ea este formată din musculatură care alcătuiește structura centrală, mucoasa linguală care tapetează suprafața externă, formațiuni limfoide ce alcătuiesc amigdala linguală, vase și nervi.

Dinții fac parte din aparatul dentar, fiind implantați în arcadele dentare ale maxilarelor. Din punct de vedere anatomic, dinții sunt formați, din trei regiuni: coroană (regiunea care se vede în cavitatea orală), rădăcina (care se găsește la nivelul osului alveolar) și coletul (zona de trecere între coroană și rădăcină).

CAPITOLUL III. Leziunile maligne ale cavității orale

Cancerul cavității orale pare să fie una dintre cele mai frecvente neoplazii. Incidența acestei maladii variază de la regiune geografică la alta, de la 3-4% la circa 40%. Etiopatogenia cancerului de cavitate orală este heterogenă și incomplet cunoscută. Studii clinico-statistice au evidențiat faptul că această maladie se corelează cu fumatul și consumul de alcool. În Statele Unite, 90% din riscul de a dezvolta cancer al cavității orale este atribuit în mod direct fumatului (Shopland și colab. 1991). Riscul relativ de a dezvolta cancer oral la marii fumători este de 7 ori mai mare decât la nefumători. Riscul marilor băutori este de 6 ori mai mare decât la cei care nu consumă băuturi alcoolice. Riscul pacienților ce abuzează atât de țigări cât și de alcool este de 38 de ori mai mare față de persoanele abstinente (Blot și colab. 1988).

Tutunul conține peste 30 de agenți carcinogeni cunoscuți. Majoritatea acestora sunt hidrocarburi aromate policiclice și nitrozamine (International Agency for Research on Cancer 1986). Consumul crescut de gudron a fost asociat cu cancerul cavității orale și cel faringian într-o manieră dependentă de doză.

Consumul de băuturi alcoolice mărește, de asemenea, riscul de cancer oral, precum și alte tipuri de cancer ale capului și gâtului. Băutorii cronici prezintă un risc de cancer de zece ori mai mare față de abștinenți și băutorii ocazionali.

Igiena orală deficitară este asociată cu cancerul cavității orale, nefiind însă stabilită o relație de cauzalitate directă. Inflamația gingivală cronică a fost întâlnită mai frecvent la pacienții cu cancer (Maier H et al, 1993).

Infecția cronică cu virusul papiloma uman (HPV), pare să fie un factor de risc important, în special în pentru cancerul de limbii și oro-faringian (Kreimer AR, et al, 2005). Virusul Herpes simplex a fost asociat cu cancerul cavității orale. O asociere mai puternică a fost observată în cazul antecedentelor de infecție cu HSV-1 (Schildt EB, 1998).

Și mortalitatea în lume este variabilă de la o zonă la alta a globului și de la o țară la alta, în funcție de statusul socio-economic, de programele de depistare a cancerului și de nivelul de educație medicală. Rata de supraviețuire la 5 ani pentru cancerul cavității orale și faringelui este de 46% la nivel mondial însă diferă între țările dezvoltate (59%) și țările în curs de dezvoltare (39%).

Leziunile premaligne cuprind o serie de modificări ale mucoasei cavității orale, cu morfologie foarte variată, care în anumite condiții prezintă risc de transformare malignă. Aceste leziuni pot exista o perioadă mai lungă sau mai scurtă de timp înainte de apariția unei leziuni maligne la nivelul mucoaselor. Cele mai importante leziuni precanceroase ale mucoasei orale sunt reprezentate de: leucoplazie, displazie, boala Bowen, eritroplazia Querat, cheilita actinică exfoliativă, papilomatoza floridă orală, candidoza cronică, lichenul plan, fibroza submucoasei și xeroderma pigmentosum.

CAPITOLUL IV. Obiectivele studiului

În prezenta teză de doctorat ne-am propus următoarele obiective:

- evaluarea leziunilor tumorale de la nivelul cavității orale la persoanele internate într-un serviciu medical de specialitate, respectiv în Clinica de Chirurgie oro-maxilo-facială pe o perioadă de 5 ani, cu stabilirea procentului fiecărei leziuni tumorale și în special a carcinomului cu celule scuamoase;
- evaluarea factorilor de risc care intervin în carcinomatoza orală;
- evaluarea mediului social, a sexului și a vârstei de apariția a leziunilor tumorale de cavitate orală;
- studiul histopatologic al carcinomului oral cu celule scuamoase;
- studiul imunohistochimic al carcinomului cu celule scuamoase, cu evidențierea angiogenezei și limangiogenezei tumorale, participarea macrofagelor și mastocitelor la procesele de angieneză și corelarea acestor procese cu factorii de proliferare celulară.

CAPITOLUL V. Studiul clinico-statistic al tumorilor de cavitate orală

Studiul nostru a evaluat leziunile tumorale apărute la nivelul cavității orale, la persoanele internate în Clinica de Chirurgie Oro-maxilo-facială a Spitalului Clinic de Urgență din Craiova în perioada 2008-2012, care au fost supuse unor intervenții chirurgicale cu intenție de radicalitate. Studiul a cuprins un număr de 143 de pacienți, cu vârsta cuprinsă între 1 și 82 de ani. Evaluând corelația dintre mediu social și leziunile tumorale, am constatat că 64% au fost din mediul rural și doar 36% din mediul urban.

Leziunile tumorale de la nivelul cavității orale au apărut preponderent la persoanele de sex masculin: 96 au fost de sex masculin (69%), iar 45 (31%) au fost de sex feminin.

Raportat la întregul lot, un procent de 27,2%, respectiv 39 de pacienți au avut diferite vicii, fiind fie fumători (33%), fie consumatori de alcool (10%), majoritatea având însă ambele vicii (57%). Vârstele pacienților au fost între 1 și 87 de ani, cu o medie de $63 \pm 14,45$

ani. Marea majoritate a pacienților a fost de peste 50 de ani (86,71%). În ceea ce privește igiena dentară, studiul nostru a relevat faptul că la un număr de 76 de pacienți (53%), aceasta a fost absentă, comparativ cu o igienă dentară satisfăcătoare la 47%.

Localizarea leziunilor tumorale a fost: la nivelul buzei inferioare (n=52, 36,4%), la nivelul mandibulei (n=36, 25,2%), planșeul bucal (n=18, 12,6%), limbă (n=12, 8,4%), comisura bucală și buza superioară (câte 8 cazuri, 5,6% fiecare), baza limbii și maxilarul superior (câte 4 cazuri, 2,8% fiecare) și la nivelul arcului mentonier (3 cazuri, 2%).

Aspectele macroscopice ale cancerelor orale au fost extrem de diverse; au predominat leziunile infiltrative, dar și leziunile ulcero-vegetative. Cea mai mare parte a tumorilor au fost depistate în stadiul III și IV. Studiul microscopic a relevat faptul că din totalul de 143 de leziuni tumorale, 18 au fost tumori benigne și 125 au fost tumori maligne. Dintre tumorile maligne, de departe, principalul tip histologic al tumorilor studiate a fost carcinomul scuamos (n=115, 92%). Dintre acestea tipul de carcinomul scuamos bine diferențiat a fost reprezentat de 61 de cazuri (53,05%), de carcinoamele scuamoase moderat diferențiate 36 de cazuri (31,30%) și carcinoamele scuamoase slab diferențiate 18 cazuri (15,65%).

CAPITOLUL VI. Studiul histopatologic al carcinomului oral cu celule scuamoase

Studiul histopatologic a cuprins un număr de 115 cazuri de carcinoame orale cu celule scuamoase, reprezentând peste 92% din totalul leziunilor tumorale maligne dezvoltate la nivelul cavității orale. La periferia leziunilor tumorale au fost identificate leziunile displazice, atât în carcinomul de cavitate orală cât și în carcinoamele de buză, ceea ce confirmă ipoteza că leziunile neoplazice sunt precedate de leziuni displazice. În leziunile displazice grave, histoarhitectura epitelului de acoperire a fost total afectată, întregul epiteliu fiind format din celule cu numeroase atipii datorită pierderii polarității celulare.

Din 115 pacienți, cu carcinoame cu celule scuamoase identificate în studiul nostru, carcinomul scuamos bine diferențiat a fost reprezentat de 61 de cazuri (53,05%), carcinoamele scuamoase moderat diferențiate au fost diagnosticate la 36 cazuri, reprezentând 31,30%, iar carcinoamele scuamoase slab diferențiate au fost identificate la 18 cazuri reprezentând 15,65% din totalul carcinoamelor cu celule scuamoase.

Carcinoamele scuamoase bine diferențiate au fost formate din celule scuamoase dispuse în insule de formă și dimensiuni variate, cu perle de keratină în interiorul lor, rezultate dintr-un proces de "maturizare neoplazică". Carcinoamele moderat diferențiate au fost formate din cordoane sau insule de celule epiteliale atipice, neoplazice, de formă ovalară, alungite, rotunde care infiltrau stroma fibroasă tumorală, iar carcinoamele cu celule slab diferențiate au

apărut sub formă de cordoane celulare, insule sau celule cu aspect epitelioid de forme și mărimi variate, fără nici o asemănare cu epiteliul din care au luat naștere.

Stroma tumorală a fost formată dintr-un țesut conjunctiv tânăr, bogat în fibroblaste, vase de sânge congestionate, vase de angiogeneză și celule de tip inflamator mai abundente în zonele de proliferare tumorală.

CAPITOLUL VII. Studiul imunohistochimic al carcinomelor orale.

Din totalul de 115 de carcinoame orale cu celule scuamoase diagnosticate histopatologic, pentru studiul imunohistochimic am selectat un număr de 43, înlăturând din studiu materialul biologic vechi care se preta la artefacte. Pentru a menține proporția de material biologic diagnosticat histopatologic, am selectat 24 de carcinoame orale bine diferențiate, 15 carcinoame moderat diferențiate și 4 carcinoame slab diferențiate.

Pentru studiul imunohistochimic am utilizat următorii anticorpi:

- PCNA, (Dako), IgG2a k, clona PC10 (marker al proliferării celulare);
- p53 (Dako), IgG2b k, clona DO-7 (proto-oncogenă);
- Ki-67 (Dako), IgG1k, clona MIB-1 (marker de proliferare celulară);
- CD34 (Dako) IgG1, (endoteliul vascular);
- CD68 (Dako) IgG1 clona KP1 (macrophage);
- D2-40 (Abcam) IgG1, clona M2A, (endoteliul limfatic);
- Mast Cell Tryptase (Dako), IgG1, clona AA1, M7052 (mastocite).

Numărul vaselor angiogeneză a fost crescut atât în procesele displazice cât și în carcinoamele bine diferențiate sau mai slab diferențiate. Trebuie să menționăm faptul că numărul vaselor de angiogeneză a fost mult mai mare acolo unde s-au evidențiat celule de tip inflamator în stroma tumorală.

În ceea ce privește limfangiogeneza, în studiul nostru am remarcat faptul că în carcinoamele scuamoase de cavitate orală există un număr crescut de vase limfatice. Credem că aceste vase sunt vase noi, de limfangiogeneza, apărute ca urmare a unor stimuli cu proprietăți limfangiogenetice, elaborați de celulele tumorale, fie parenchimotoase, fie stromale sau inflamatorii peritumorale.

În studiul nostru, macrofagele CD68 pozitive au fost identificate în număr mare atât în stromă cât și în parenchimul tumoral. Distribuția macrofagelor a fost diferită de la un caz la altul și chiar de la o zonă la alta a aceluiași preparat histopatologic.

Mastocitele, au apărut în număr foarte mare perivascular și în infiltratul inflamator peritumoral. Ele au un rol activ în derularea procesului de angiogeneză.

P53 a apărut intens pozitiv în 86% din cazurile de carcinoame cu celule scuamoase luate în studiu, ceea ce denotă o perturbare profundă a materialului genetic, în timp ce Ki67 a apărut mai intens pozitiv în carcinoamele slab diferențiate.

PCNA a apărut intens pozitiv la toate cazurile de carcinoame studiate.

Concluzii:

Carcinomul cu celule scuamoase a reprezentat 92% din totalul tumorilor maligne diagnosticate la nivelul cavității orale la pacienții internați în Clinica de Chirurgie Oro-maxilo-facială a Spitalului Clinic de Urgență din Craiova, în perioada 2008-2012.

Afecțiunea a afectat preponderent pacienții de sex masculin, raportul dintre sexe fiind 2/1 în defavoarea sexului masculin. În raport cu mediul social, 64% din pacienții cu carcinoame scuamoase au fost din mediul rural și doar 36% din mediul urban.

Vârstele pacienților cu tumori de cavitare prală au fost cuprinse între 1 și 87 de ani, cu o medie de 63±14,45 ani. Marea majoritate a pacienților a fost de peste 50 de ani (86,71%).

Localizarea leziunilor tumorale a fost localizate: la nivelul buzei inferioare (36,4%), la nivelul mandibulei (25,2%), planșeului bucal (12,6%), limbii (11,2%), comisurii bucale (5,6%), buzei superioare (5,6%), maxilarului superior (5,6%), arcului mentonier (2%).

Din totalul de 115 carcinoame cu celule scuamoase, carcinomul scuamos bine diferențiat a fost reprezentat de 61 de cazuri (53,05%), carcinoamele scuamoase moderat diferențiate 36 de cazuri (31,30%) și carcinoamele scuamoase slab diferențiate 18 cazuri (15,65%).

Numărul vaselor angiogeneză și limfangiogeneză, ca și aria vasculară a acestora, a fost crescute atât în procesele displazice cât și în carcinoamele bine diferențiate sau mai slab diferențiate.

P53 a apărut intens pozitiv în 86% din cazurile de carcinoame cu celule scuamoase luate în studiu, ceea ce denotă o perturbare profundă a materialului genetic, în timp ce Ki67 a apărut mai intens pozitiv în carcinoamele slab diferențiate.

Bibliografie

1. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1999. *CA Cancer J Clin* 1999;49:8–31.
2. Shopland DR, Eyre HJ, Pechacek TF. Smoking-attributable cancer mortality in 1991: is lung cancer now the leading cause of death among smokers in the United States? *J Natl Cancer Inst* 1991;83:1142–1148.
3. Blot WJ, McLaughlin JK, Winn DM, et al. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res* 1988;48:3282–3287.

4. Califano J, van der Reit P, Westra W, et al. Genetic progression model for head and neck cancer: implications for field cancerization. *Cancer Res* 1996;56:2488–2492.
5. Room R, Rehm J. Alcohol and non-communicable diseases-cancer, heart disease and more. *Addiction* 2010;106:1-2.
6. Rehm J, Baliunas D, Borges GLG, Graham K, Irving H, Kehoe T, Parry CD, Patra J, Popova S, Poznyak V, Roerecke M, Room R, Samokhvalov AV, Taylor B. The relation between different dimensions of alcohol consumption and burden disease: an overview. *Addiction* 2010;105:817-843.
7. Seitz HK, Stickel F, Homann N. Pathogenetic mechanisms of upper aerodigestive tract cancer in the alcoholic. *Int J Cancer* 2004;108:483-487.
8. Seitz HK, Stickel F. Molecular mechanisms of alcohol-mediated carcinogenesis. *Nat Rev Cancer* 2007;7:599-612.
9. Gyamfi MA, Wan YJY. Pathogenesis of alcoholic liver disease: the role of nuclear receptors. *Exp Biol Med* 2010;235:547-560.
10. Steinberg BM. Viral etiology of head and neck cancer. In: Harrison LB, Sessions RB, Hong WK, editors. *Head and neck cancer: a multidisciplinary approach*. Philadelphia (PA): Lippincott-Raven; 1999. p. 35–47.