

Νεότερα δεδομένα στο ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα της στοματικής κοιλότητας

Αλεξάνδρα Σκλαβούνου*, Ευαγγελία Πιπέρη**

Το Ακανθοκυτταρικό Καρκίνωμα (ΑΚ) του στόματος αποτελεί τον πιο συχνό τύπο καρκίνου της στοματικής κοιλότητας σε ποσοστό που ανέρχεται στο 90% και τον 8ο κατά σειρά συχνότητας τύπο καρκίνου του ανθρώπου. Παρά την πρόοδο που έχει επιτευχθεί στον τομέα της θεραπευτικής αντιμετώπισης της νόσου, τα ποσοστά επιβίωσης παγκοσμίως παραμένουν χαμηλά. Αν και προς το παρόν η πρώιμη διάγνωση παραμένει ο πιο αξιόπιστος προγνωστικός δείκτης καλύτερης επιβίωσης, τα νεότερα δεδομένα που προκύπτουν από την εφαρμογή των μοριακών μεθόδων της γονιδιωματικής και της πρωτεομικής είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικά.

Η ανίχνευση συγκεκριμένων βιολογικών δεικτών στις προκαρκινικές βλάβες, στο πρωτοπαθές νεόπλασμα αλλά και στο πλάσμα και στο σάλιο των ασθενών με ΑΚ μπορεί να έχει κλινική αξία, εξασφαλίζοντας δυνητικά όχι μόνο την αναγνώριση ασθενών με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΑΚ και κατά συνέπεια την έγκαιρη διάγνωση της νόσου αλλά και την εφαρμογή της ενδεδειγμένης εξατομικευμένης θεραπείας με βάση το γονιδιακό προφίλ του νεοπλασματος.

ελληνική νοσοκομειακή οδοντιατρική 1: 29-34, 2008

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το **Ακανθοκυτταρικό Καρκίνωμα-ΑΚ (Squamous Cell Carcinoma-SCCA)** αποτελεί τον πιο συχνό κακοήγη όγκο της στοματικής κοιλότητας, αντιπροσωπεύοντας περισσότερο από το 90% όλων των τύπων καρκίνου και τον έκτο κατά σειρά συχνότητας καρκίνο του ανθρώπου, με επιδημιολογικές διαφορές μεταξύ των αναπτυγμένων και αναπτυσσόμενων χωρών^{1,2}. Αποτελεί μία νόσο με ιδιαίτερο αντίκτυπο στην γενική υγεία και επιβίωση των ασθενών, καθώς ποσοστό περίπου 50% εμφανίζουν κατά τη στιγμή της διάγνωσης προχωρημένη νόσο³. Παρά την εξέλιξη στον τομέα της ογκολογίας και της χειρουργικής τις τελευταίες δεκαετίες το προσδόκιμο 5-ετούς επιβίωσης των ασθενών με ΑΚ εξακολουθεί να παραμένει χαμηλό κυμαινόμενο μεταξύ 10-40%, κυρίως λόγω καθυ-

στέρησης στη διάγνωση, γεγονός που υποδηλώνει την αναγκαιότητα μίας πιο αποτελεσματικής και έγκαιρης διαγνωστικής, προγνωστικής και θεραπευτικής προσέγγισης^{1,3}.

Σε αυτά τα πλαίσια, η κλινική εφαρμογή των νεότερων δεδομένων μίας πληθώρας μοριακών μελετών που στοχεύουν στην ανίχνευση, επιβεβαίωση και εδραίωση του προγνωστικού ρόλου βιολογικών δεικτών μπορεί δυνητικά να προσφέρει μία καλύτερη κατανόηση της πολυσταδιακής διαδικασίας της καρκινογένεσης και κατά συνέπεια νέες μεθόδους πρώιμης διάγνωσης, αξιόπιστης πρόγνωσης και στοχευμένης θεραπευτικής αντιμετώπισης, με βάση τα εξατομικευμένα κλινικά και βιολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα του στόματος^{1,2,4}.

ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΤΟΥ ΑΚ

Οι παραδοσιακοί μέχρι σήμερα προγνωστικοί και θεραπευτικοί δείκτες για το ΑΚ περιλαμβάνουν παράγοντες που αφορούν στον ίδιο τον ασθενή, στο είδος της θεραπείας και στο νεόπλασμα¹.

Λέξεις κλειδιά: Ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα στόματος, Προκαρκινικές βλάβες, Βιολογικοί δείκτες, Γονιδιακές τεχνικές.

* Καθηγήτρια

** Ειδική Επιστήμονας Εργαστηρίου Στοματολογίας Παν/μίου Αθηνών

Ανασκόπηση

Παράγοντες που σχετίζονται με τον ασθενή (Patient-related factors)

Η καθυστέρηση στη διάγνωση αποτελεί καθοριστικό παράγοντα, καθώς συμβάλλει αποφασιστικά στην πτωχή πρόγνωση του ΑΚ^{1,3}. Η αναγνώριση του ΑΚ συνήθως γίνεται με επισκόπηση και συχνά με καθυστέρηση καθώς συμπτώματα όπως ο πόνος, η δυσφαγία και το βράγχος της φωνής που οδηγούν τους ασθενείς σε αναζήτηση βοήθειας παρατηρούνται συνήθως σε προχωρημένο στάδιο της νόσου^{3,4}. Οι υποβοηθητικές μέθοδοι πρώιμης ανίχνευσης του ΑΚ περιλαμβάνουν τη χρώση με κυανού της τολουοιδίνης αλλά και νεότερες τεχνικές όπως η φθορίζουσα απεικόνιση⁵ και η κυτταρολογική βιοψία για την ανίχνευση αποφολιδωμένων κυττάρων σε συνδυασμό με DNA κυτταρομετρία με σκοπό τη μέτρηση της DNA ανευπλοϊδίας⁶. Η τελευταία εμφανίζει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα για την ανίχνευση της κακοήθειας, καθώς ανάλογη μελέτη σε σειρές ασθενών με προκαρκινικές βλάβες της στοματικής κοιλότητας έδειξε ότι, η κυτταρολογική εξέταση σε συνδυασμό με απεικονιστική DNA κυτταρομετρία μπορεί να προβλέπει την εμφάνιση νεοπλασματικής εξαλλαγής έως και 15 μήνες πριν από την ιστολογική διάγνωση του ΑΚ⁶.

Το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ συσχετίζονται, σύμφωνα με τα δεδομένα της διεθνούς βιβλιογραφίας, όχι μόνο με υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας αλλά και με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης δεύτερου πρωτοπαθούς νεοπλασματος^{7,8}. Επίσης, το χαμηλό κοινωνικο-οικονομικό επίπεδο, η συνύπαρξη νοσημάτων όπως η καρδιακή ανεπάρκεια, οι πνευμονικές και νεφρικές νόσοι, η ταυτόχρονη λήψη ανοσοκατασταλτικής θεραπείας και η ανοσοανεπάρκεια αλλά και η παρουσία συμπτωμάτων όπως η οδυνοφαγία και η απώλεια βάρους αποτελούν πρόσθετους παράγοντες που φαίνεται να επηρεάζουν αρνητικά την πρόγνωση των ασθενών με ΑΚ^{7,9}.

Παράγοντες που σχετίζονται με τη θεραπεία (Treatment-related factors)

Η θεραπευτική αντιμετώπιση του ΑΚ περιλαμβάνει την ευρεία χειρουργική εξαίρεση σε συνδυασμό ή όχι με χημειο- ή/και ακτινοθεραπεία^{1,2,4}. Γενικά, η παρουσία ελεύθερων χειρουργικών ορίων σχετίζεται με υψηλότερο ποσοστό επιβίωσης και μεγαλύτερο χρονικό διάστημα μεταξύν των υποτροπών, ενώ νεότερα δεδομένα δείχνουν ότι η διατήρηση της μίας ή και των 2 σφαγιτίδων φλεβών σχετίζεται με μείωση του ποσοστού θνησιμότητας χωρίς επιβάρυνση στην πρόγνωση¹.

Παράγοντες που σχετίζονται με το νεόπλασμα (Tumor-related factors)

Προς το παρόν δεν υπάρχει κάποιο αξιόπιστο προγνωστικό μοντέλο για την αντικειμενική εκτίμηση του κινδύνου υποτροπής του ΑΚ μετά την αρχική θεραπεία. Η σταδιοποίηση της νόσου με το σύστημα **TNM** αποτελεί μέχρι σήμερα τον «χρυσό κανόνα», με το μεγάλο μέγεθος του όγκου και την παρουσία λεμφαδενικών και απομακρυσμένων μεταστάσεων να αποτελούν τους πλέον αξιόπιστους δείκτες πτωχής πρόγνωσης^{1,4,10-12}. Ιστοπαθολογικά, το ΑΚ διακρίνεται σε καλής, μέτριας και

χαμηλής διαφοροποίησης με κριτήρια το βαθμό διαφοροποίησης των επιθηλιακών κυττάρων (κερατινοποίηση, σχηματισμός κερατίνων σφαιρών και παρουσία μεσοκυττάρων γεφυρών), το βαθμό της κυτταρικής πλειομορφίας και το μιτωτικό δείκτη των νεοπλασματικών κυττάρων¹. Αν και σύμφωνα με ορισμένες μελέτες ο βαθμός διαφοροποίησης του ΑΚ εμφανίζει προγνωστική αξία, εντούτοις έχει περιορισμένη αξία σε σύγκριση με το κλινικό στάδιο και δεν σχετίζεται άμεσα με το μέγεθος του όγκου^{1,4}. Αντίθετα, αρκετές μελέτες δείχνουν ότι το πρότυπο διήθησης του υποστρώματος από το νεόπλασμα (μικρές, ανώμαλες δοκίδες ή διάσπαρτα, μεμονωμένα νεοπλασματικά κύτταρα σε σύγκριση με καλά αφοριζόμενα, ευρέα όρια ή αποστρωγγυλεμένες νεοπλασματικές νησίδες), το πάχος του νεοπλάσματος/ βάθος διήθησης >5 mm^{11,13} και η παρουσία περινευρικής διήθησης^{1,4,14} εμφανίζουν συσχέτιση με υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης επιχώριων και απομακρυσμένων μεταστάσεων και χαμηλότερο ποσοστό 5-ετούς επιβίωσης.

Η ικανότητα των νεοπλασμάτων να επάγουν την αγγειογένεση είναι ιδιαίτερα σημαντική για την ανάπτυξη του όγκου, την επιθετικότητά του και την ικανότητα μετάστασης¹. Μελέτες αξιολόγησης της αγγειογένεσης στο ΑΚ, είτε με ανοσοϊστοχημική καταμέτρηση της μικροαγγειακής πυκνότητας (**MVD-MicroVessel Density**) είτε με μεθόδους όπως η κυτταρομετρία ροής και η μέθοδος Chalkley^{1,15} δείχνουν ότι, η νεοπλασματική αγγειογένεση σχετίζεται με τις παραμέτρους T και N και αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη της πιθανότητας υποτροπής ενώ η εξεσημασμένη αγγειογένεση σχετίζεται με την παρουσία επιχώριων μεταστάσεων, εύρημα που υποδηλώνει την ανάγκη εφαρμογής μίας πιο επιθετικής μεταχειρουργικής συμπληρωματικής θεραπείας¹⁶. Επίσης, η υψηλή έκφραση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF-Vascular Endothelial Growth Factor) στο ΑΚ και η συσχέτιση των υποτύπων A και B με τη νεοπλασματική αγγειογένεση και των υποτύπων C και D με τον κίνδυνο εμφάνισης λεμφαδενικών μεταστάσεων, υποδηλώνουν τον πιθανό του ρόλο στην ικανότητα διήθησης του νεοπλάσματος και κατά συνέπεια στην πτωχή πρόγνωση¹⁷.

Η παρουσία τραχηλικών μεταστάσεων αποτελεί έναν από τους πιο αξιόπιστους προγνωστικούς παράγοντες για τους ασθενείς με ΑΚ, καθώς σχετίζεται με μείωση του ποσοστού επιβίωσης σχεδόν κατά 50% και με υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης υποτροπών^{1,4,18,19}. Οι τραχηλικές μεταστάσεις διαχωρίζονται στις **εμφανείς (clinical)** και τις **μη εμφανείς (occult)** και οι τελευταίες κατηγοριοποιούνται στις ανιχνεύσιμες με τη χρώση ρουτίνας A-H και στις **υπομικροσκοπικές (submicroscopic)**, οι οποίες γίνονται εμφανείς μετά από διενέργεια ανοσοϊστοχημείας ή μοριακής ανάλυσης των εξαιρεθέντων λεμφαδένων²⁰. Νεότερες μελέτες με την εφαρμογή των τεχνικών αυτών δείχνουν ότι, σε ποσοστό 20-40% των ασθενών με απουσία κλινικής ή ακτινολογικής ένδειξης μεταστατικής διασποράς (cN0) ανιχνεύονταν μη εμφανείς λεμφαδενικές μεταστάσεις (pN+)^{18,21}.

Η παρουσία **εξωκαψικής επέκτασης (ECS-ExtraCapsular Spread)** ορίζεται ως η εξωλεμφαδενική ε-

πέκταση μεταστατικών εστιών πέραν της λεμφαδενικής κάψας και διαχωρίζεται στην μακροσκοπικά και τη μικροσκοπικά εμφανή. Αποτελεί τον πιο σημαντικό προγνωστικό δείκτη επιβίωσης, καθώς σχετίζεται με υψηλότερο ποσοστό ανάπτυξης επιχώριων και απομακρυσμένων μεταστάσεων, αυξημένο κίνδυνο υποτροπών και χαμηλότερο ποσοστό επιβίωσης^{18, 19, 21}.

Η ιστοπαθολογική εκτίμηση μη εμφανών μεταστάσεων και εξωκαψικής διήθησης των λεμφαδένων με την εφαρμογή νεότερων τεχνικών ως συμπληρωματική παράμετρος του συστήματος TNM μπορεί να συμβάλλει στην ακριβέστερη σταδιοποίηση και αναγνώριση των ασθενών εκείνων που πιθανόν χρειάζονται συμπληρωματική θεραπεία.

ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΟΙ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΟ ΑΚ

Η ανάπτυξη του ΑΚ συνιστά μία πολυσταδιακή διεργασία γενετικών, επιγενετικών και μεταβολικών αλλοιώσεων των επιθηλιακών κυττάρων του στοματικού βλενογόνου, οι οποίες προκύπτουν ως αποτέλεσμα της έκθεσης σε καρκινογόνους παράγοντες όπως ο καπνός και το αλκοόλ και οδηγούν στην γονιδιωματική αστάθεια, στην ανάπτυξη προκαρκινικών βλαβών και τελικά στο κακόηθες νεόπλασμα^{1, 2, 4}. Η συνισταμένη των διαταραχών των μηχανισμών που ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό και την ομοίωση των φυσιολογικών κυττάρων εξασφαλίζει την αὐτάρκεια των νεοπλασματικών κυττάρων στα σήματα αύξησης, την μη ανταπόκριση στα σήματα αναστολής της αύξησης, την παρεμπόδιση της απόπτωσης, την απεριόριστη δυνατότητα αντιγραφής και την ικανότητα επαγωγής της αγγειογένεσης, διήθησης των πέριξ ιστών και ανάπτυξης μεταστάσεων^{1, 2, 4}. Νεότερες μελέτες δείχνουν ότι, στην ανάπτυξη του ΑΚ εμπλέκεται η υπερέκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, τη μετάδοση σημάτων, την απόπτωση και την αποδόμηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας^{1, 4, 22}.

Διάφορες γενετικές διαταραχές έχουν αναγνωρισθεί στο ΑΚ του στόματος, κυρίως στα χρωμοσώματα 3, 9, 11, 13 και 17, εκ των οποίων σημαντικότερο ρόλο στην καρκινογένεση διαδραματίζουν η αναστολή ογκοκατα-

σταλικών γονιδίων όπως τα *p53* (17p) και *p16* (9p21), η υπερέκφραση γονιδίων όπως το *PRAD-1* (11q) και οι μεταβολές γονιδίων που σχετίζονται με το μεταβολισμό των καρκινογόνων ή την επιδιόρθωση του DNA^{1, 2, 4, 23-28}.

Όπως ισχύει για όλους τους τύπους καρκίνου, η παρουσία υψηλής δραστηριότητας πολλαπλασιασμού στο ΑΚ σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση^{1, 2, 4}. Γνωστούς μοριακούς δείκτες της νεοπλασματικής αύξησης στο ΑΚ αποτελούν η οικογένεια του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR-Epidermal Growth Factor Receptor), η κυκλίνη D1 (cyclin D1), τα πυρηνικά αντιγόνα κυτταρικού πολλαπλασιασμού (NCPA-Nuclear Cell Proliferation Antigens), τα p120 και Ki-67/MIB1 αντιγόνα, οι πρωτεΐνες που σχετίζονται με τις αργυρόφιλες περιοχές οργανωτή Region-associated proteins), τα Skp2, Bcl2/BAG1 και p27 γονίδια, οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ 27 και 70 (hsp-heat shock proteins 27/70), η τελομεράση και η survinin. Γνωστοί δείκτες αγγειογένεσης είναι ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας και ο υποδοχέας του (VEGF/VEGFR-Vascular Endothelial Growth Factor/Receptor), ο αιμοπεταλιακός αυξητικός παράγοντας των ενδοθηλιακών κυττάρων (PD-ECGF- Platelet Derived-Endothelial Cell Growth Factor), ο αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (FGF-Fibroblast Growth Factor) και ο επαγόμενος από υποξία παράγοντας 1α (HIF1a Hypoxia-inducible Factor-1a) ενώ οι δείκτες της νεοπλασματικής διήθησης και του μεταστατικού δυναμικού περιλαμβάνουν ουσίες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας όπως οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMP-Matrix MetalloProteinases) και τα μόρια προσκόλλησης (cathepsins, integrins, cadherins, catenins, desmoplakin/placoglobin και Ets-1) (Πίνακας 1)²³⁻²⁸.

Η γονιδιωματική αστάθεια αντανάκλα την ευπάθεια του γονιδιώματος. Η ανευπλοϊδία, η παρουσία δηλαδή πολλαπλών διαταραχών των χρωμοσωμάτων, έχει παρατηρηθεί συχνά στις προκαρκινικές βλάβες και στο ΑΚ του στόματος και η καταμέτρηση του περιεχομένου του πυρηνικού DNA (πλοϊδία) μπορεί να αποτελέσει μελλοντικά έναν αξιόπιστο προγνωστικό δείκτη της κλινικής έκβασης^{1, 2}. Διαταραχές όπως η απώλεια της ετεροζυγωτίας

Πίνακας 1

ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΟ ΑΚΑΝΘΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΩΜΑ ΤΟΥ ΣΤΟΜΑΤΟΣ^{1, 2, 4, 23-28}

Ογκογονίδια (Oncogenes)	EGFR, <i>c-myc</i> , Cyclin D1, Cyclin A, <i>CCND1</i>
Ογκοκατασταλτικά γονίδια (Tumor-suppressor genes)	<i>p53</i> , <i>Rb</i> , <i>P14^{ARF}</i> , <i>p16^{INK4A}</i> , <i>p21^{WAF1/CIP1}</i> , <i>p27^{kip1}</i> , <i>p34^{cdc2}</i> , <i>FHIT</i> , <i>TP53</i> , <i>Bax</i> , <i>Fas/FasL</i>
Ανισορροπία αλληλίων / Απώλεια ετεροζυγωτίας (Allelic Imbalance /Loss Of Heterozygosity)	3p24-26, 3p13, 9p21
Πλοϊδία (Ploidy)	Ανευπλοϊδία
Δείκτες κυτταρικού πολλαπλασιασμού (Cell proliferation markers)	Ki-67/MIB1, AgNORs
Μόρια μεσοκυττάριας προσκόλλησης/ (Intercellular adhesion molecules)	CD44, E-/P- cadherins, catenins, desmoplakin/placoglobin, Ets-1, integrins, MMP
Διάφορα	UPase (Uridine Phosphorylase), COX-2 (Cyclooxygenase-2), Τελομεράση (telomerase)

Ανασκόπηση

και η μικροδορυφορική αστάθεια υποδηλώνουν τη συμμετοχή των ογκοκατασταλτικών γονιδίων στην γένεση του ΑΚ, καθώς μεταλλάξεις των *p16*, *APC*, *p53* ανευρίσκονται στο 70, 50 και 40% όλων των καρκίνων του στόματος²⁶. Η οδός του ρετινοβλαστώματος (*Rb*) και του *p53* αποτελούν επίσης δύο σημαντικές αλληλοσυνδεόμενες μοριακές οδούς που συχνά διαταράσσονται στο ΑΚ. Όπως αναφέρεται, > 90% των ΑΚ εμφανίζουν τουλάχιστον μία γενετική διαταραχή είτε στην οδό του ρετινοβλαστώματος είτε της κυκλίνης D1 ή του *p16*^{1, 2, 4, 23-28}.

Πίνακας 1.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΟ ΑΚ

Οι προαναφερθέντες νεοπλασματικοί δείκτες αποτελούν γονίδια ή πρωτεΐνες που διαδραματίζουν άμεσο ρόλο στην καρκινογένεση και μπορεί δυνητικά να αξιοποιηθούν ως βιοδείκτες για την εκτίμηση της πορείας της νόσου ή την ανταπόκριση στη θεραπεία^{1, 2, 4}. Οι βιολογικοί δείκτες μπορεί να χρησιμοποιούνται ως διαγνωστικά εργαλεία σε συνδυασμό ή όχι με τις παραδοσιακές μεθόδους αλλά και ως μέτρο επιτυχίας της στοχευμένης θεραπείας¹.

Παρά την εξέλιξη στις μεθόδους πρώιμης ανίχνευσης και διάγνωσης και τις υπάρχουσες κλινικές προγνωστικές παραμέτρους, το ποσοστό των ασθενών με προχωρημένο ΑΚ κατά τη στιγμή της διάγνωσης συνεχίζει να αυξάνεται διεθνώς¹⁴. Καθώς η αποτελεσματική θεραπεία σχετίζεται άμεσα με το στάδιο της νόσου^{1, 3}, νέες μοριακές μέθοδοι όπως η μικροδορυφορική ανάλυση, με σκοπό την ανίχνευση γενετικών διαταραχών σε αποφολιδωμένα επιθηλιακά κύτταρα από προκαρκινικές βλάβες της στοματικής κοιλότητας και η ανάλυση του γονιδιακού και πρωτεϊνικού προφίλ ενός δεδομένου νεοπλάσματος και των βιολογικών υγρών καλούνται να απαντήσουν στο ερώτημα κατά πόσον μπορούν να αναδείξουν βιολογικούς δείκτες που θα εξασφαλίζουν την έγκαιρη διάγνωση μίας μη μακροσκοπικά ανιχνεύσιμης κακοήθειας στον πληθυσμό με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΑΚ αλλά και την έγκυρη πρόγνωση με σκοπό την εξατομίκευση της θεραπείας αντίστοιχα.

ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΠΡΟΦΙΛ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΣΤΟ ΑΚ

Η μοριακή τεχνολογία του DNA και των πρωτεϊνικών μικροσυστοιχιών (cDNA, protein microarray technology) εφαρμόζεται τελευταία με σκοπό την αναγνώριση των γονιδιακών και πρωτεϊνικών διαταραχών που σχετίζονται με την καρκινογένεση²⁹⁻³². Η ταυτόχρονη ανάλυση της έκφρασης χιλιάδων γονιδίων που εξασφαλίζουν οι **γονιδιωμιακές τεχνικές (Genomics)** επιτρέπει την καταγραφή του προφίλ της γονιδιακής έκφρασης και μπορεί δυνητικά να απομονώσει ομάδες γονιδίων που λειτουργούν είτε ως προγνωστικοί δείκτες είτε ως βιολογικοί δείκτες της θεραπευτικής ανταπόκρισης δεδομένου νεοπλάσματος, ενώ η συγκριτική αξιολόγηση υγιών και νεοπλασματικών ιστών οδηγεί στην αναγνώριση γονιδίων που σχετίζονται με την καρκινογένεση^{1, 2, 4}.

Χαρακτηριστικά, μελέτη σε προκαρκινικές βλάβες ανέδειξε την παρουσία διαταραχής ενός μεγάλου αριθμού γονιδίων που σχετίζονταν με το μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος, εύρημα που υποδηλώνει ότι η οδός αυτή μπορεί να εμπλέκεται στη μη αναστρέψιμη μετάβαση σε προχωρημένα στάδια του ΑΚ³³. Ιδιαίτερα σημαντικές είναι επίσης μελέτες που αναδεικνύουν τη συσχέτιση συγκεκριμένων προτύπων γονιδιακής έκφρασης με κλινικές παραμέτρους όπως την παρουσία επιχώριων μεταστάσεων κατά την αρχική διάγνωση και την κατά βάθος διήθηση του όγκου αλλά και με την τελική έκβαση και επιβίωση, παρά την κλινική ετερογένεια των μελετώμενων νεοπλασμάτων³⁴⁻³⁷. Η διαφορική επίσης έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την NF-κΒ μοριακή οδό όπως τα *CCND1*, *Gro-1* και η γλουταθειόνη S-μεταφοράση (glutathione S-transferase) μεταξύ των φυσιολογικών, των νεοπλασματικών και των μεταστατικών κερατινοκυττάρων υποδηλώνει ότι, η ανίχνευση της έκφρασης των γονιδίων αυτών μπορεί να έχει προγνωστική αξία για τον αυξημένο κίνδυνο μετάβασης ενός δεδομένου νεοπλάσματος σε έναν πιο κακοήθη φαινότυπο με επιθετικότερη βιολογική συμπεριφορά και δυνατότητα υποτροπών³⁸.

Η μελέτη βιολογικών υγρών όπως ο ορός, το πλάσμα, ο σάλιο και τα ούρα αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη μη επεμβατική οδό για την ανίχνευση νεοπλασματικών βιολογικών δεικτών^{1, 2, 4}. Η συνδυασμένη παρουσία 7 mRNA στο σάλιο κατέστησε δυνατή την πρόβλεψη της ανάπτυξης ΑΚ με ακρίβεια 91%³⁹, ενώ η ανάλυση του προφίλ της πρωτεϊνικής έκφρασης στον ορό και στο σάλιο ασθενών με ΑΚ ανέδειξε την παρουσία διαταραχών σε γονίδια που εμπλέκονται σε καθοριστικής σημασίας μοριακές οδούς όπως το *p16*^{40, 41}. Η μικροδορυφορική ανάλυση για την ανίχνευση γενετικών διαταραχών σε αποφολιδωμένα κύτταρα της στοματικής κοιλότητας⁴² ή στον ορό⁴³ αποτελούν νεότερες διαγνωστικές προσεγγίσεις που μπορεί μελλοντικά να αναγνωρίζουν μη εμφανή καρκινώματα σε ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΑΚ ή/και απομακρυσμένες μεταστάσεις.

ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΠΡΟΦΙΛ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΙΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΣΤΟ ΑΚ

Η **Πρωτεομική (Proteomics)**, η οποία αφορά στην ανάλυση της πρωτεϊνικής έκφρασης σε ελάχιστο υλικό βιοψιών ή σε βιολογικά υγρά με τεχνικές όπως η ηλεκτροφόρηση δύο διαστάσεων σε γέλη (two-dimensional gel electrophoresis), οι πρωτεϊνικές συστοιχίες σε ανάστροφη φάση (reverse phase protein arrays) κ.α. (ESI, MALDI-TOF MS, SELDI και antibody array systems) αποδεικνύεται ένα ακόμη χρήσιμο διαγνωστικό εργαλείο για την πρώιμη ανίχνευση των ατόμων με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΑΚ αλλά και την εξατομικευμένη θεραπεία^{1, 2, 4, 44, 45, 46}.

Χαρακτηριστικά, σύμφωνα με πρόσφατη μελέτη η καταγραφή του προφίλ της πρωτεϊνικής έκφρασης στον ορό με την εφαρμογή ενός αλγορίθμου σε δένδρο ταξινόμησης έδειξε ότι, χρησιμοποιώντας ως βιολογικό δείκτη την metalloproteinase-1 ήταν δυνατή η διάκριση μεταξύ

των ασθενών με ΑΚ και των υγιών ατόμων⁴⁷ ενώ σε αντίστοιχη μελέτη η χρήση ενός πεπτιδικού τμήματος της αλυσίδας του ινωδογόνου-α (fibrinogen) ως βιολογικού δείκτη κατέστησε δυνατή τη διάκριση μεταξύ υγιών ατόμων και ασθενών με ΑΚ με ευαισθησία και ειδικότητα που ανερχόταν στο 90%⁴⁵. Η πρωτεομική επίσης ανάλυση πολλαπλών βιολογικών δεικτών στο σάλιο μπορεί μελλοντικά να αποτελέσει μία μη επεμβατική συμπληρωματική μέθοδο για την ανίχνευση ατόμων με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ΑΚ^{48,49}.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μοριακή ανίχνευση βιολογικών δεικτών αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο πεδίο έρευνας στον τομέα της μοριακής ανάγνωσης του καρκίνου γενικά και του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος της στοματικής κοιλότητας ειδικότερα. Η ανίχνευση αξιόπιστων και κλινικά εφαρμόσιμων βιολογικών δεικτών με τις τεχνικές της Γονιδιωματικής και Πρωτεομικής μπορεί μελλοντικά να εξασφαλίσει την πρώιμη διάγνωση, την καλύτερη πρόγνωση και την εξατομικευση της θεραπευτικής αντιμετώπισης των ασθενών με ΑΚ. Η κλινική εφαρμογή των βιολογικών δεικτών στο ΑΚ προϋποθέτει την τυποποίηση και απλοποίηση των μεθόδων ανίχνευσης και την επιβεβαίωση της κλινικής προγνωστικής τους αξίας από ανεξάρτητες μελέτες. Η εφαρμογή των νεότερων επιτευγμάτων της νανο-βιοτεχνολογίας και των αλγορίθμων βιοπληροφορικής πιστεύεται ότι μελλοντικά θα επιτρέψει τη διαγνωστική προσέγγιση σε πλατφόρμες με βάση συγκεκριμένα πρότυπα και την εισαγωγή της ανίχνευσης των βιολογικών δεικτών στην καθημέρα κλινική πράξη⁵⁰.

SUMMARY

Current concepts in oral squamous cell carcinoma A. Sklavounou-Andrikopoulou, E. Piperi

hellenic hospital dentistry 1: 29-34, 2008

Oral Squamous Cell Carcinoma (SCC) accounts for almost 90% of all oral malignancies and represents the sixth most common type of human cancer. In spite of the great progress regarding the therapeutic management of oral SCC, the overall survival rate worldwide remains low. Although until today early diagnosis remains the most reliable prognostic factor, current advances in the molecular field with the use of genomic and proteomic analysis are extremely promising.

Detection of certain biomarkers in precancerous lesions, in the primary neoplasm or the serum and saliva of patients with oral SCC may prove of prognostic value, by identifying patients at increased risk of oral SCC and thus providing early diagnosis and a treatment based on the genetic profile of the neoplasm.

Key words: Oral squamous cell carcinoma, Precancerous lesions, Biomarkers, Genomics

ελληνική νοσοκομειακή οδοντιατρική 1: 29-34, 2008

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Massano J, Regateiro FS, Janeiro G, Ferreira A. Oral squamous cell carcinoma: review of prognostic and predictive factors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 102: 67-76.
2. Brinkman BMN, Wong DTW. Disease mechanism and biomarkers of oral squamous cell carcinoma. *Curr Opin Oncol* 2006; 18: 228-233.
3. Brouha XD, Tromp DM, Hordijk GL et al. *Head Neck* 2005; 27: 939-945.
4. Thomas GR, Nadiminti H, Regalado J. *Int J Exp Path* 2005; 86: 347-363.
5. Zheng W, Soo KC, Sivanandan R, Olivo M. *Int J Oncol* 2002; 21: 763-768.
6. Maraki D, Becker J, Boecking A. *J Oral Pathol Med* 2004; 33: 398-404.
7. Ribeiro KCB, Kowalski LP, Latorre MGDO. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 126: 1079-1085.
8. Day GL, Blot WJ, Shore RE et al. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 131-137.
9. Piccirillo JF, Lacy PD, Basu A, Spitznagel EL. Development of a new head and neck cancer-specific comorbidity index. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 128: 1172-1179.
10. Guerra MFM, Gias LN, Campo FR, Perez JS. Marginal and segmental mandibulectomy in patients with oral cancer: a statistical analysis of 106 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 2003; 61: 1289-1296.
11. Gonzales-Moles MA, Esteban F, Rodriguez-Archilla A, Ruiz-Avila I, Gonzales-Moles S. Importance of tumour thickness measurement in prognosis of tongue cancer *Oral Oncol* 2002; 38: 394-397.
12. Takes RP. Staging of the neck in patients with head and neck squamous cell cancer: imaging techniques and biomarkers *Oral Oncol* 2004; 40: 656-667.
13. O-charoenrat P, Pillai G, Patel S et al. Tumour thickness predicts cervical nodal metastases and survival in early oral tongue cancer. *Oral Oncol* 2003; 39: 386-390.
14. Rahima B, Shingaki S, Nagata M, Saito O. Prognostic significance of perineural invasion in oral and oropharyngeal carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 40: 257-263.
15. Hannen EJM, Riediger D. The quantification of angiogenesis in relation to metastasis in oral cancer: a review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004; 33: 2-7.
16. Bettendorf O, Piffko J, Bankfalvi A. Prognostic and predictive factors in oral squamous cell cancer: important tools for planning individual therapy? *Oral Oncol* 2004; 40: 110-119.
17. Uehara M, Sano K, Ikeda H et al. Expression of vascular endothelial growth factor and prognosis of oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2004; 40: 321-325.
18. Greenberg JS, Fowler R, Gomez J et al. Extent of extracapsular spread: a critical prognosticator in oral tongue cancer. *Cancer* 2003; 97: 1464-1470.
19. Woolgar JA, Rogers SN, Lowe D, Brown JS, Vaughan ED. Cervical lymph node metastasis in oral cancer: the importance of even microscopic extracapsular spread. *Oral Oncol* 2003; 39: 130-137.
20. Ferlito A, Rinaldo A, Robbins KT et al. Changing concepts in the surgical management of the cervical node metastasis. *Oral Oncol* 2003; 39: 429-435.
21. Greenberg JS, El Naggar AK, Mo V et al. Disparity in pathologic and clinical lymph node staging in oral tongue carcinoma. Implication for therapeutic decision making. *Cancer* 2003; 98: 508-515.

Ανασκόπηση

22. Kornberg LJ, Villaret D, Popp M et al. Gene expression profiling in squamous cell carcinoma of the oral cavity shows abnormalities in several signaling pathways. *Laryngoscope* 2005; 115: 690-698.
23. Scully C, Field JK, Tanzawa H. Genetic aberrations in oral or head and neck squamous cell carcinoma 2: chromosomal aberrations. *Oral Oncol* 2000; 36: 311-327.
24. Bettendorf O, Piffko J, Bankfalvi A. Prognostic and predictive factors in oral squamous cell cancer: important tools for planning individual therapy? *Oral Oncol* 2004; 40: 110-119.
25. Chimenos-Kustner E, Font-Costa I, Lopez-Lopez J. Oral cancer risk and molecular markers. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2004; 9: 377-384.
26. 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.
27. Garnis C, Rosin MO, Zhang L et al. Alteration of AKAP220, an upstream component of the Rb pathway, in oral carcinogenesis. *Int J Cancer* 2005; 116: 813-819.
28. Baldwin C, Garnis C, Zhang L et al. Multiple microalterations detected at high frequency in oral cancer. *Cancer Res* 2005; 65: 7561-7567.
29. El-Naggar A, Kim H, Clayman G et al. Differential expression profiling of head and neck squamous carcinoma: significance in their phenotypic and biological classification. *Oncogene* 2002; 21: 8206-8219.
30. Lemaire F, Millon R, Young J. Differential expression profiling of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). *Br J Cancer* 2003; 89: 1940-1949.
31. Sok J, Kuriakose M, Mahajan V, Pearlman A, DeLacure M, Chen F. Tissue-specific gene expression of head and neck squamous cell carcinoma in vivo by complementary DNA microarray analysis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 129: 760-770.
32. Wu W, Tang X, Hu W, Lotan R, Hong W, Mao L. Identification and validation of metastasis-associated proteins in head and neck cancer cell lines by two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. *Clin Exp Metastasis* 2002; 19: 319-326.
33. Banerjee AG, Bhattancharyya I, Vishwanatha JK. Identification of genes and molecular pathways involved in the progression of premalignant oral epithelia. *Mol Cancer Ther* 2005; 4: 865-875.
34. Warner GC, Reis PP, Jurisica I et al. Molecular classification of oral cancer by cDNA microarrays identifies overexpressed genes correlated with nodal metastasis. *Int J Cancer* 2004; 110: 857-868.
35. Roepman P, Wessels LF, Kettelarij N et al. An expression profile for diagnosis of lymph node metastases from primary head and neck squamous cell carcinomas. *Nat Genet* 2005; 37: 182-186.
36. O' Donnell RK, Kupferman M, Wei SJ et al. Gene expression signature predicts lymphatic metastasis in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Oncogene* 2005; 24: 1244-1251.
37. Ginos M, Page G, Michalowicz B et al. Identification of a gene expression signature associated with recurrent disease in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Res* 2004; 64: 55-63.
38. Loercher A, Lee TL, Ricker JL. Nuclear factor-kappaB is an important modulator of the altered gene expression profile and malignant phenotype in squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2004; 64: 6511-6523.
39. Li Y, Zhou X, St John MA et al. RNA profiling of cell-free saliva using microarray technology. *J Dent Res* 2004; 83: 199-203.
40. Sanchez-Cespedes M, Esteller M, Wu L et al. Gene promoter hypermethylation in tumors and serum of head and neck cancer patients. *Cancer Res* 2000; 60: 892-895.
41. Rosas SL, Koch W, da Costa Carvalho MG et al. Promoter hypermethylation patterns of p16, O6-methylguanine-DNA-methyltransferase, and death-associated protein kinase in tumors and saliva of head and neck cancer patients. *Cancer Res* 2001; 61: 939-942.
42. Spafford MF, Koch WM, Reed AL et al. Detection of head and neck squamous cell carcinoma among exfoliated oral mucosal cells by microsatellite analysis. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 607-612.
43. Nawroz-Danish H, Eisenberg CF, Yoo GH. Microsatellite analysis of serum DNA in patients with head and neck cancer. *Int J Cancer* 2004; 111: 96-100.
44. Kolch W, Mischak H, Pitt AR. The molecular make-up of a tumour: proteomics in cancer research. *Clin Sci (Lond)* 2005; 108: 369-383.
45. Cheng AJ, Chen LC, Chien KY et al. Oral cancer plasma tumor marker identified with bead-based affinity-fractionated proteomic technology. *Clin Chem* 2005; 51: 2236-2244.
46. Chen J, He QY, Yuen AP et al. Proteomics of buccal squamous cell carcinoma: the involvement of multiple pathways in tumorigenesis. *Proteomics* 2004; 4: 2465-2475.
47. Wadsworth JT, Somers KD, Stack BC et al. Identification of patients with head and neck cancer using serum protein profiles. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 130: 98-104.
48. Vitorino R, Lobo MJC, Ferrer-Correia AJ. Identification of human whole saliva protein components using proteomics. *Proteomics* 2004; 4: 1109-1115.
49. Hu S, Xie Y, Ramachandran P et al. Large-scale identification of proteins in human salivary proteome by liquid chromatography/mass spectrometry and two-dimensional gel electrophoresis-mass spectrometry. *Proteomics* 2005; 5: 1714-1728.
50. Jain KK. Nanotechnology in clinical laboratory diagnostics. *Clin Chim Acta* 2005; 358: 37-54.