

**Università degli Studi di Napoli
"Federico II"
Facoltà di Medicina e Chirurgia**

**Dipartimento di Scienze
Odontostomatologiche e Maxillo-Facciali**

**Dottorato di Ricerca
Scienze Odontostomatologiche
Indirizzo: Patologia e Clinica
Odontostomatologica
XVIII ciclo**

TESI DI DOTTORATO

**“La trasformazione maligna lichen planus orale:
cancerizzazione di campo e prognosi”**

COORDINATORE

Ch.mo Prof.
Sandro Rengo

DOTTORANDO

Dott. Lucio Lo Russo

ANNO ACCADEMICO 2004-05

**LA TRASFORMAZIONE MALIGNA DEL
LICHEN PLANUS ORALE:
CANCERIZZAZIONE DI CAMPO E
PROGNOSI.**

SOMMARIO

ASPETTI GENERALI DEL LICHEN PLANUS ORALE	4
LA PROBLEMATICA DELLA TRASFORMAZIONE MALIGNA DEL LICHEN PLANUS ORALE	8
TRASFORMAZIONE MALIGNA DEL LICHEN PLANUS E CANCERIZZAZIONE DI CAMPO	12
INTRODUZIONE	12
PAZIENTI E METODI.....	16
RISULTATI.....	22
<i>Caratteristiche dei pazienti</i>	22
<i>Trasformazione maligna</i>	23
<i>Staging tumorale e mortalità</i>	31
DISCUSSIONE	34
<i>Aspetti diagnostici del lichen planus orale rilevanti per la trasformazione maligna.</i>	34
<i>Trasformazione maligna del lichen planus orale e sviluppo di carcinomi orali multipli e multifocali</i>	35
<i>Follow up dei pazienti con OLP, monitoraggio per la displasia-neoplasia e sopravvivenza</i>	39
CONCLUSIONI	49
BIBLIOGRAFIA	51

ASPETTI GENERALI DEL LICHEN PLANUS ORALE

Il Lichen Planus Orale (OLP) è una delle più comuni patologie della mucosa orale la cui prevalenza nella popolazione generale varia tra lo 0,5% e il 2%, con un picco di incidenza tra la quarta e la quinta decade e una lieve predilezione per il sesso femminile. Descritto clinicamente per la prima volta nel 1869 da Wilson, esso interessa gli epitelii squamosi stratificati e riconosce una patogenesi infiammatoria autoimmune; da un punto di vista istopatologico è caratterizzato da ipercheratosi, acantosi, degenerazione vacuolare delle cellule basali, e un infiltrato infiammatorio linfomonocitario con tipica disposizione a banda nella parte superiore della lamina propria. Le manifestazioni orali sono molto variabili; sono state, infatti, descritte almeno sei forme cliniche, ovvero: lichen papulare, reticolare, a placca, atrofico, erosivo, bolloso, che spesso possono in vario modo coesistere (Figura 1 e Figura 2). La sintomatologia ad esse legate è molto variabile, oscillando dalla completa assenza di sintomi al dolore intenso che limita le funzioni orali. In questo studio prenderemo in

considerazione il carattere precanceroso del lichen planus orale e gli aspetti ad esso correlati.

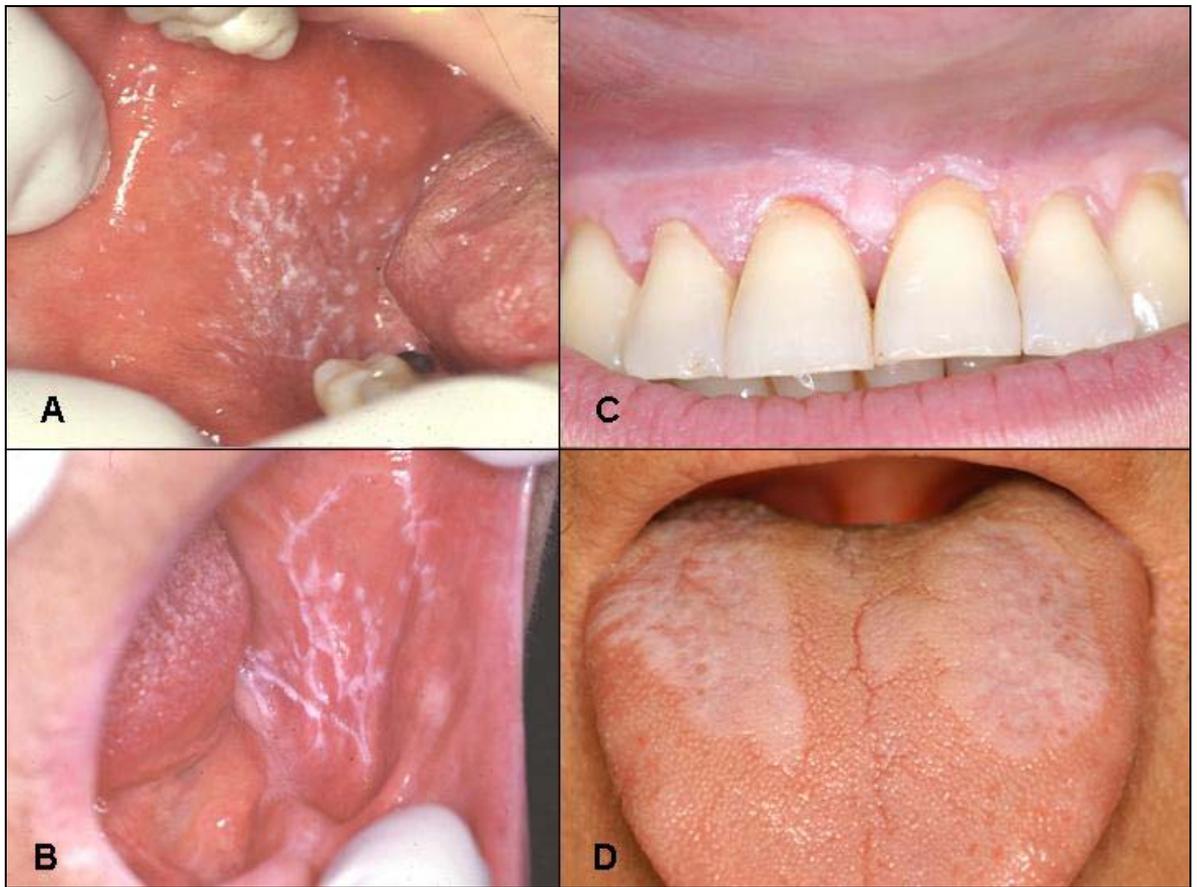


Figura 1: Aspetti clinici delle lesioni da lichen planus orale;

A: lesioni papulari della mucosa geniena

B: lesioni reticolari della mucosa geniena

C: lesioni a placca della gengiva aderente

D: lesioni a placca del dorso linguale



Figura 2: Aspetti clinici delle lesioni da lichen planus orale;

A: lesioni atrofico-erosive della gengiva aderente

B: lesioni bollose del margine gengivale

C: ampia lesione ulcerativa della mucosa geniena circondata da lesioni reticolari

D: lesioni di aspetto misto del labbro inferiore

LA PROBLEMATICA DELLA TRASFORMAZIONE MALIGNA DEL LICHEN PLANUS ORALE.

Attualmente il lichen planus orale è classificato dalla Organizzazione Mondiale della Sanità come una condizione precancerosa.

La possibilità di trasformazione del lichen è stata osservata sin dall'inizio del secolo; infatti, Hallopeau nel 1910 descrisse, per primo, un caso di lichen andato incontro a degenerazione maligna. Da allora sono stati riportati in letteratura molti casi sporadici di cancerizzazione, e sono stati realizzati, nel corso degli anni ed in vari paesi, molti studi retrospettivi (1), i quali hanno evidenziato un certo rischio di trasformazione maligna del lichen planus orale, con una frequenza ampiamente variabile tra lo 0% e il 10%. Nonostante ciò, hanno avuto luogo, ed in parte continuano ad esserci, controversie circa la fondatezza o meno di considerare il lichen una reale condizione precancerosa. Lo scetticismo di alcuni studi si fonda principalmente sull'ipotesi che il lichen planus orale "vero" ("true OLP") è una patologia benigna, ossia priva di una

predisposizione intrinseca ad andare incontro a trasformazione maligna, e che molti dei casi di OLP cancerizzati riportati in letteratura non sono in realtà OLP, ma lesioni displastiche con caratteristiche lichenoidi e lesioni lichenoidi non-OLP che, a differenza del “true OLP”, realmente costituiscono delle condizioni precancerose. A sostegno di tali ipotesi, alcuni autori tra cui Eisenberg (2), Krutchkoff (3, 4), e van der Meij (5) hanno proposto che rigidi criteri diagnostici sia clinici che istopatologici avrebbero potuto identificare, nell’ambito di un largo gruppo di lesioni lichenoidi, quelle con potenzialità oncologiche da quelle prive di tale potenzialità. Tuttavia, è opportuno sottolineare che la validazione di tali criteri diagnostici non è ancora comparsa in letteratura (6) o manca di significatività statistica (7). Al contrario, studi molto più recenti hanno messo in evidenza che anche pazienti affetti da OLP soddisfacenti i criteri diagnostici di Krutchkoff e van der Meij possono andare incontro a trasformazione maligna (8) e che alcuni di tali tentativi di classificazione (5) presentano numerosi punti oscuri (5, 6, 7). Negli ultimi anni, quindi, vanno corroborandosi le evidenze scientifiche che sostengono la natura precancerosa del lichen planus orale, anche in assenza dei

tradizionali fattori di rischio per il cancro orale (5, 8-12), mostrandone un rischio di potenziale evoluzione oncologica, fortunatamente, basso, ma tuttavia significativo. Ora, l'acquisizione della consapevolezza che i pazienti affetti da OLP siano maggiormente esposti al rischio di sviluppare un cancro orale lascia spazio ad ulteriori considerazioni ed interrogativi. Infatti, sembra lecito chiedersi quale sia il comportamento clinico e la prognosi dei carcinomi orali a cellule squamose (OSCC) correlati al lichen planus, se esso sia sovrapponibile a quello del tradizionale carcinoma orale non correlato al lichen. Ebbene, i dati relativi a tali aspetti prognostici sono ancora molto scarsi; tuttavia, sono disponibili alcune segnalazioni che mettono in evidenza una prognosi sfavorevole. Hietanen e collaboratori hanno riportato, infatti, che cinque di otto pazienti affetti da OSCC insorto su lichen orale sono morti nel giro di alcuni mesi dalla diagnosi di carcinoma, senza però fornire ulteriori importanti informazioni prognostiche quali lo stadio tumorale e l'incidenza di recidive o "second primary" (13). Più recentemente noi abbiamo studiato in via retrospettiva un gruppo di 21 pazienti affetti da OLP andati incontro a trasformazione maligna ed abbiamo trovato una

allarmate tendenza a sviluppare “second primary tumours” metacroni del cavo orale o metastasi linfonodali malgrado lo stadio iniziale dei primi carcinomi insorti (14). Inoltre, di pari passo con le crescenti evidenze relative al ruolo dello stroma, delle cellule e dei prodotti dell’infiammazione nell’inizio e nella promozione del processo neoplastico (15-18), è stato ipotizzato per il lichen un possibile coinvolgimento dei suoi processi infiammatori eziopatogenetici nel determinare l’insorgenza del cancro orale e nel condizionare il comportamento clinico e la prognosi di quest’ultimo (10). Tali considerazioni sembrano suggerire un maggior grado di attenzione per il cancro orale insorto su OLP, istituendo anche per quest’ultimo un parallelo tra il suo andamento clinico ed il concetto della cancerizzazione di campo. Pertanto, in questo studio, mediante la valutazione clinico-prognostica di un gruppo di pazienti affetti da OLP andati incontro a trasformazione maligna, prendiamo in considerazione l’applicabilità e l’estensibilità al lichen planus orale del concetto di cancerizzazione di campo.

TRASFORMAZIONE MALIGNA DEL LICHEN PLANUS ORALE E CANCERIZZAZIONE DI CAMPO

Introduzione

Il concetto della "cancerizzazione di campo" fu introdotto da Slaughter et al. nel 1953 prendendo le mosse dall'osservazione istologica di tessuto anomalo intorno a carcinomi orali a cellule squamose (19, 20); l'intento era quello di spiegare lo sviluppo di neoplasie multiple delle vie aerodigestive superiori in pazienti con cancro del distretto testa-collo quale conseguenza della esposizione continua di tali vie ad agenti carcinogeni. Da allora tale concetto è stato ulteriormente ampliato per includere non solo la più alta prevalenza di "second primary tumors" multipli a livello locale e la presenza di tumori sincroni a distanza nelle vie aerodigestive superiori, ma anche il verificarsi di lesioni precancerose orali multiple (21). La leucoplachia orale, la fibrosi sottomucosa orale e la eritroplasia sono generalmente considerate le tre maggiori precancerosi orali, infatti condividono con il cancro orale gli stessi fattori di rischio e gli stessi eventi subclinici alla base della cancerizzazione di campo, quali: espansione

clonale in senso laterale di un singolo progenitore cellulare e/o eventi molecolari indipendenti a carico di cloni cellulari multipli (22-24). Una importante implicazione clinica di un tale processo è che settori di mucosa orali esprimenti alterazioni molecolari e istologiche ma clinicamente ancora indenni, possano poi rimanere al di fuori dei limiti di resezione chirurgica e dare così origine a nuove lesioni precancerose (21). Anche se tali “second primary tumors” e/o recidive locali non hanno un grosso peso sulla mortalità correlata al cancro del distretto testa-collo (25, 26), essi possono tuttavia condizionare fortemente la prognosi, il piano terapeutico ed il follow up di tali pazienti. Inoltre, recenti studi hanno evidenziato come un sottogruppo di lesioni precancerose con marcate aberrazioni genomiche (eritroplasia e leucoplachia aneuploide) siano associati ad una elevata incidenza di neoplasie multiple e multifocali in successione, diagnosticate in uno stadio avanzato malgrado un regolare follow up e gravati da una prognosi sfavorevole (27, 28). Tali studi suggeriscono quindi un comportamento biologico molto aggressivo per lo meno in alcuni casi di cancerizzazione di campo, dove

carcinomi orali multipli, multifocali e rapidamente invasivi rappresentano la principale causa di morte in tali pazienti.

Al momento non è noto con certezza se tale concetto di cancerizzazione di campo possa essere esteso *de plano* anche al lichen planus orale, seppure i pochi dati prognostici presenti in letteratura sembrano confortare tale ipotesi; infatti, è stato evidenziato come alcuni pazienti con cancro orale insorto su OLP siano gravati da una prognosi sfavorevole e ciò è, almeno in parte, legato ad una forte tendenza a sviluppare carcinomi orali multipli e metacroni (13, 52). In tal senso, è degno di nota il fatto che anche altre patologie infiammatorie croniche associate alla insorgenza di cancro, quali esofago di Barrett e la colite ulcerosa (29-31) sono caratterizzate da aree multifocali di trasformazione maligna (displasia severa o carcinoma invasivo) sincrona o metacrona. Tutto ciò potrebbe, quindi, supportare l'ipotesi che il concetto di cancerizzazione di campo possa essere applicato anche a tali patologie, probabilmente come risultato di una diffusa e persistente attivazione stromale di natura infiammatoria nella quale cellule infiammatorie

attivate ed il relativo network di citochine potrebbero svolgere il ruolo di agenti oncogenici promuovendo la trasformazione epiteliale (10, 15-18).

In tale ottica, con questo studio ci siamo riproposti di analizzare retrospettivamente i dati relativi ai pazienti affetti da OLP, attualmente in follow up presso la sezione di Medicina Orale del Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche e Maxillo-Facciali dell'Università "Federico II" di Napoli, selezionando coloro che siano andati incontro ad episodi di trasformazione maligna della mucosa orale al fine di verificare l'incidenza, il ripresentarsi e la localizzazione dei carcinomi orali a cellule squamose insorti, nonché i relativi aspetti prognostici.

PAZIENTI E METODI

In questo studio è stato preso in considerazione un gruppo di pazienti affetti da lichen planus orale, diagnosticato clinicamente ed istologicamente, presso la Sezione di Medicina Orale del Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche e Maxillo-Facciali dell'Università "Federico II" di Napoli.

Sono stati selezionati i pazienti che nel corso del follow up sono andati incontro ad episodi di trasformazione maligna della mucosa orale, definita come l'insorgenza di neoplasia intraepiteliale (32) (diagnosticata istologicamente come displasia severa/carcinoma *in situ*) e/o carcinomi invasivi nell'ambito di lesioni da lichen orale precedentemente diagnosticate come libere da alterazioni displastiche all'analisi istopatologica. In particolare, tra tali pazienti sono stati considerati quelli che hanno presentato neoplasie multiple sincrone e metacrone, al fine di analizzarne l'incidenza e la localizzazione nonché il follow up e la prognosi. La diagnosi di OLP è stata basata sulle manifestazioni cliniche (lesioni papulari, a placca e/o reticolari come tali o in associazioni a lesioni atrofiche o erosive, generalmente ma non esclusivamente bilaterali e simmetriche) e confermata da

biopsia incisionale al fine di verificare aspetti istopatologici caratteristici, quali: iperorto-iperparacheratosi dell'epitelio, degenerazione vacuolare dello strato basale e infiltrato linfocitario a banda subepiteliale. Sono stati esclusi i pazienti che presentavano segni di displasia al momento della prima diagnosi o lesioni lichenoidi correlate a farmaci o materiali da restauro dentale. Ulteriori dettagli relativi a tali criteri di inclusione nello studio sono forniti nella sezione della discussione. Il grading dei carcinomi orali è stato definito in accordo ai criteri dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (33), mentre la loro stadiazione clinica è stata determinata in accordo ai criteri dell'American Joint Committee on Cancer (34). La International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O) è stata usata per identificare le sedi dei carcinomi: la codificazione ICD-O è stata confermata con dei disegni standardizzati per ciascun paziente (35). Le neoplasie intraepiteliali e i carcinomi orali microinvasivi sono stati trattati con l'escissione chirurgica estesa almeno 0,5 cm in tessuto sano. Le ulteriori neoplasie eventualmente insorte sono state definite come "second primary tumours" quando i margini della precedente resezione erano negativi, ossia liberi da neoplasia

intraepiteliale (displasia severa/carcinoma *in situ*) e/o carcinoma invasivo. In caso di margini positivi, ossia con presenza di carcinoma o neoplasia intraepiteliale, i pazienti sono stati rioperati, qualora possibile, nello stesso sito e con una escissione più ampia in mucosa clinicamente sana. I pazienti con displasia moderata ai margini di resezione sono stati solo sottoposti ad uno stretto follow up, intensificando la frequenza dei controlli clinici. Sulla base delle valutazioni cliniche, qualora considerato utile, è stato usato come presidio diagnostico ausiliario l'uso di coloranti vitali quali il blue di toluidina (36, 37). In tutti i pazienti la diagnosi di OLP, il grado di displasia e lo stato dei margini di resezione sono stati determinati dopo aver raggiunto, in modo indipendente, l'accordo di due patologi. I carcinomi in stadio avanzato sono stati trattati, qualora possibile, con adeguata resezione chirurgica maxillo-facciale; in caso di necessità sono stati attuati lo svuotamento del collo, la ricostruzione oro-facciale, la radioterapia postchirurgica e/o la chemioterapia. Il follow up dei pazienti con OLP è stato attuato regolarmente ogni quattro mesi (38). Le modalità adottate per tale monitoraggio clinico sono accuratamente dettagliate nella tabella 1; in sintesi, i

pazienti sono stati esaminati con una frequenza quadrimestrale e ad ogni esame clinico sono stati applicati in maniera estremamente attenta i criteri di monitoraggio per la displasia/neoplasia. In caso di presenza di lesioni clinicamente sospette, in primo luogo veniva esclusa ed eventualmente eliminata la presenza di fattori locali in grado di modificare l'aspetto clinico delle lesioni. Dopo quattro settimane, quindi, il paziente veniva richiamato e rivalutato; in occasione di tale rivalutazione se veniva riscontrata la persistenza delle lesioni sospette, si procedeva ad effettuare una o più biopsie incisionali e/o escissionali in accordo al giudizio clinico circa l'estensione e l'aspetto delle lesioni. La biopsia delle lesioni sospette era effettuata, invece, senza nessun periodo di attesa se non era possibile riscontrare fattori locali confonditori .

Tabella 1: Criteri clinici per il monitoraggio della displasia/neoplasia in pazienti affetti da OLP

<p>Eseguire il follow up tre volte l'anno. I pazienti con lesioni sospette o sottoposti recentemente ad escissione di neoplasia intraepiteliale/carcinoma invasive del cavo orale dovrebbero essere esaminati con maggiore frequenza in accordo con l'aspetto clinico delle lesioni, l'anamnesi e la storia medica.</p>
<p>Rimuovere tutti i fattori locali che possono modificare o confondere l'aspetto clinico delle lesioni, ossia: i fattori dentali e/o parodontali (rimozione tartaro, estrazione di denti mobili o in posizioni anomale), protesi incongrue. Sospensione da parte del paziente di tutti i farmaci o altre sostanze applicate topicamente, sottolineando l'importanza di una igiene orale accurata.</p>
<p>Durante l'esame clinico analizzare con estrema accuratezza la morfologia, la localizzazione e l'estensione delle lesioni. Consigliabile e clinicamente di grosso rilievo la documentazione fotografica delle lesioni a fine comparativo nel corso del follow up.</p>
<p>Nelle aree cheratosiche di OLP, particolare scrupolosità dovrebbe essere data alla valutazione della omogeneità delle lesioni: infatti, una perdita di omogeneità in un sito (per esempio l'insorgenza di aree rosse/erosive o lesioni nodulari) esprime clinicamente una alterazione della biologia dell'epitelio. Ciò può essere considerato sospetto soprattutto quando sono coinvolte aree ristrette, dal momento in cui la modificazioni correlate alle fasi di attività della malattia, generalmente, coinvolgono un intero sito o siti multipli.</p>

Le aree rosse di OLP (forme atrofico-erosive) se sintomatiche devono essere rapidamente e adeguatamente trattate al fine di differenziare l'eritema dovuto alla flogosi dalle alterazioni neoplastiche/displastiche (aspetto eritroplastico). Generalmente, le aree rosse infiammatorie rispondono rapidamente agli steroidi topici reverendo l'aspetto verso la mucosa rosea sana o forme cheratosiche di OLP, mentre le lesioni eritroplastiche displastiche non subiscono variazioni a seguito di tale terapia.

Se le lesioni rosse sono asintomatiche il criterio *ex-adiuvantibus* non può essere applicato; pertanto, una attenzione minuziosa dovrebbe essere prestata nell'analizzare l'omogeneità delle lesioni: le lesioni rosse da OLP di natura infiammatoria sono generalmente inframmezzate o circondate da strie bianche cheratosiche. Le lesioni rosse di natura displastica/neoplastica, al contrario sono piatte, lievemente depresse o lievemente rilevate sul piano mucoso ed hanno un aspetto punctato, mostrando multipli ed irregolari punti bianchi o piccoli noduli dispersi nella macchia rossa.

Alterazioni displastiche possono comunque essere presenti nell'ambito di ampie lesioni omogenee completamente rosse e senza lesioni bianche nel loro contesto: in tal caso la superficie piatta o lievemente elevata/depressa può mostrare un aspetto granulare con piccoli noduli multipli o una superficie liscia e appare marcatamente separata dai tessuti circostanti.

In una minoranza di casi le alterazioni displastiche si manifestano microscopicamente come lesioni sessili protruse con una superficie granulare o punctata. Tale forma clinica richiede un elevato grado di sospetto, poiché assomigliano a una lesione infiammatoria iperplastica che manca dei caratteri tipici dei tumori maligni esofitici, quali i margini rilevati ed induriti alla palpazione.

Tabella 1 (seconda parte): Criteri clinici per il monitoraggio

RISULTATI

Caratteristiche dei pazienti.

L'analisi retrospettiva dei dati clinici relativi ai nostri pazienti con OLP ha evidenziato che 25 pazienti sono andati incontro ad episodi ripetuti di trasformazione maligna; di questi 17 (68%) sono donne. Solo due pazienti erano stati fumatori, mentre nessuno aveva dichiarato di abusare di sostanze alcoliche o avere l'abitudine di masticare tabacco. Il follow up dei pazienti variava da 3 a 12 anni dopo la diagnosi di OLP. Tre pazienti avevano avuto bisogno di cicli di terapia con steroidi topici al fine di controllare la sintomatologia legata alla presenza di lesioni erosive. Un paziente era stato sottoposto a terapia chemopreventiva con acido 13-cis-retinoico, beta-carotene e α -tocoferolo per via sistemica, data l'elevata incidenza di tumori orali secondari; tuttavia, tale terapia era stata sospesa dopo circa 10 mesi a causa dell'insorgenza di effetti collaterali (tossicità cutanea, ipertrigliceridemia e ipercolesterolemia).

Trasformazione maligna

La maggioranza dei pazienti ha avuto almeno tre anni di follow up dalla diagnosi di OLP. Sono stati raccolti i dati di 45 pazienti andati incontro a trasformazione maligna di OLP; la distribuzione e l'andamento clinico degli eventi neoplastici in tale gruppo di pazienti è rappresentato in figura 3.

Di tali pazienti, 25 hanno avuto almeno un "second primary tumour" (neoplasia intraepiteliale o carcinoma invasivo); in particolare, gli eventi neoplastici (insorgenza di neoplasia intraepiteliale/carcinoma invasivo) erano distribuiti nel modo seguente: 2 episodi in nove pazienti (36%), 3 episodi in sette pazienti (28%), 4 episodi in sei pazienti (24%), 6 episodi in un paziente (4%), e 12 e 16 episodi in due pazienti (rispettivamente 4% e 4%). La figura 4 evidenzia la distribuzione temporale degli eventi neoplastici in questi 25 pazienti con eventi neoplastici multipli.

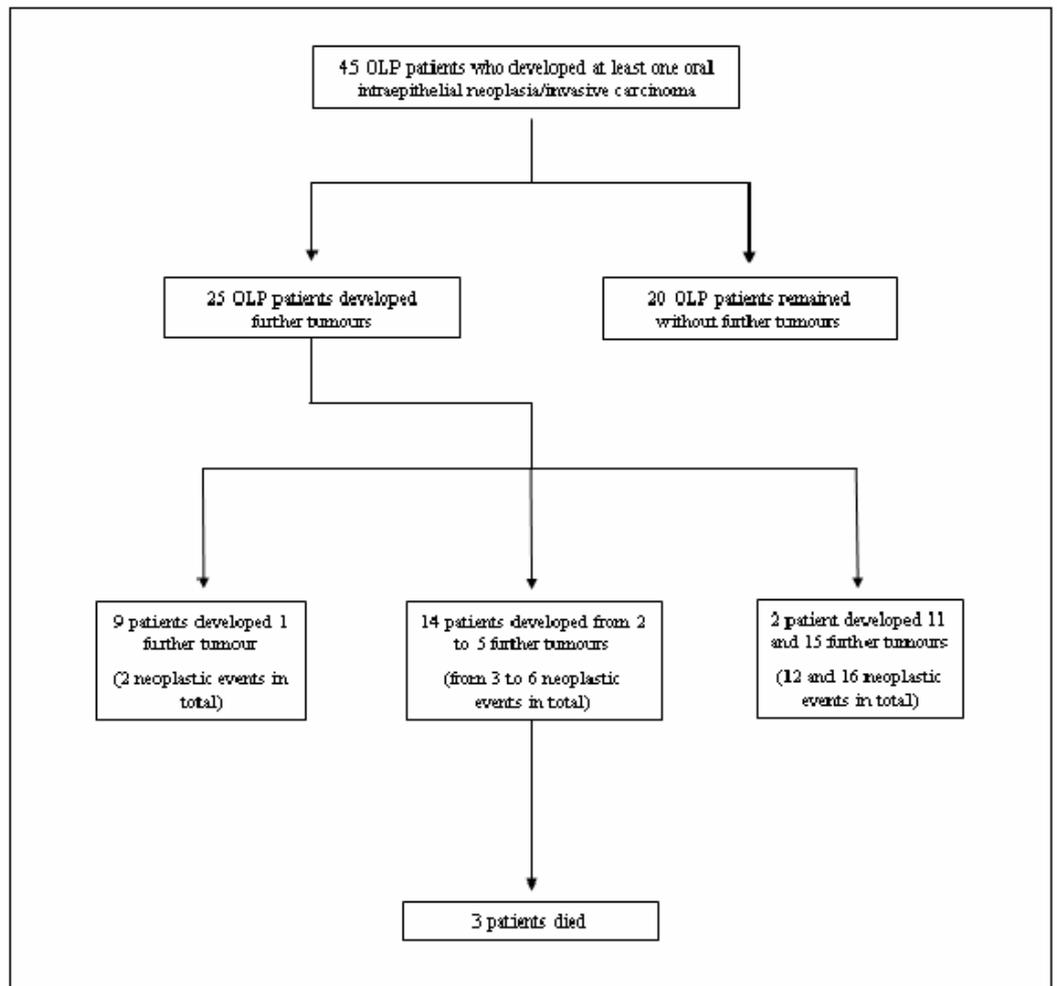


Figura 3:

Distribuzione e andamento clinico degli eventi neoplastici nei 45 pazienti affetti da lichen planus orale andati incontro a trasformazione maligna.

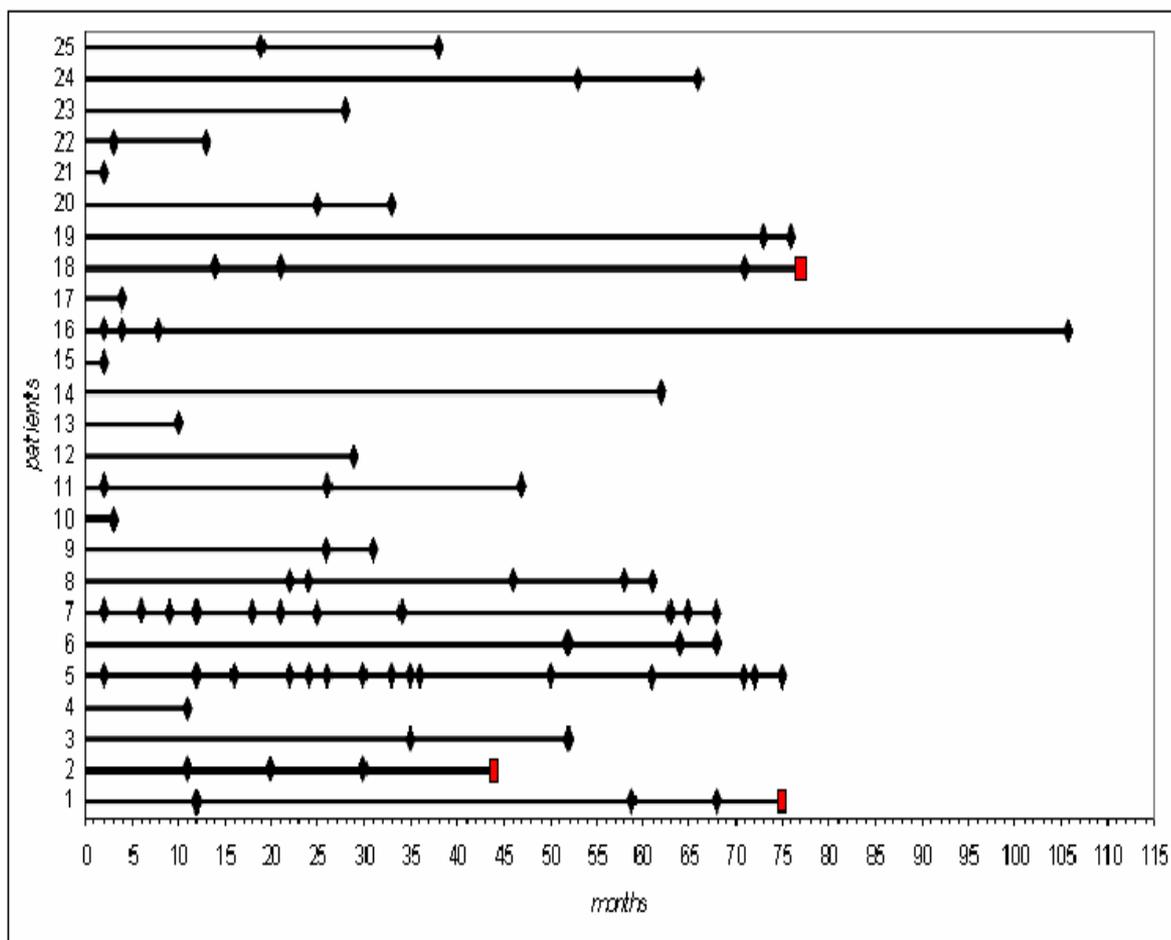


Figura 4:

Distribuzione temporale degli eventi neoplastici in 25 pazienti con OLP che hanno sviluppato almeno due neoplasie intraepiteliali/carcinoma invasivo.

Month 0: insorgenza del primo tumore.

Segmento orizzontale: periodo di osservazione .

Rombo: evento neoplastico successivo al primo tumore.

Quadrato: morte del paziente.

Il periodo di follow up dal primo tumore era di almeno tre anni per la maggioranza dei pazienti (80%; 20/25), con un range variabile tra 3 e 12 anni (periodo di osservazione medio: 6,75 anni). Considerando anche i 5 pazienti con il primo tumore insorto nel 2003 (un caso) e nel 2004 (4 casi), il follow up varia da 1 a 12 anni, con un periodo di osservazione media di 5,64 anni. Mentre in molti casi ogni episodio di trasformazione era generalmente caratterizzato da un singolo carcinoma invasivo/neoplasia intraepiteliale a carico di un singolo sito della mucosa orale, in alcuni pazienti si è avuta l'insorgenza di trasformazione maligna sincrona multifocale in due o tre aree contigue e/o distanti, in corrispondenza di diversi siti secondo la classificazione ICD-O. Le relazioni topografiche tra il tumore primario e gli eventi neoplastici successivi sono rappresentati in figura 5.

In sintesi, in cinque casi su 25 (20%) gli eventi neoplastici hanno interessato solo la stessa sede del precedente. Gli altri venti pazienti hanno sviluppato successive neoplasie intraepiteliali/carcinomi invasivi multifocali, interessanti anche più siti che secondo la classificazione ICD-O possono essere definiti come distanti.

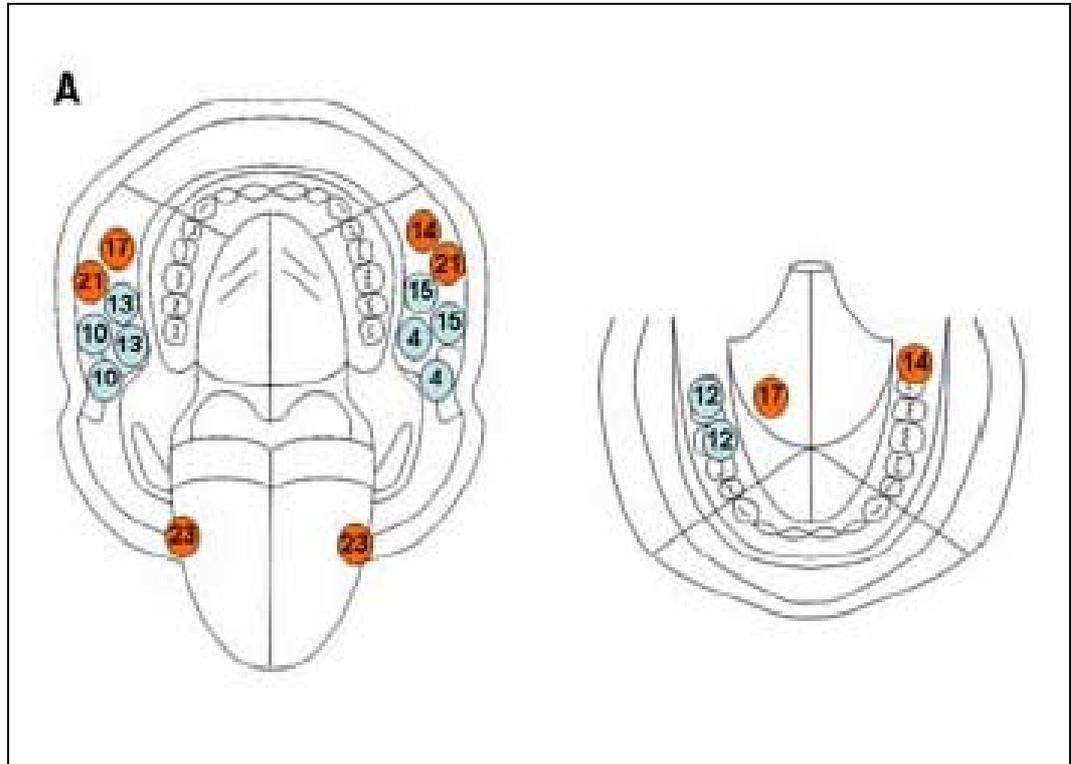


Figura 5:
Relazione topografica tra la prima neoplasia e gli eventi neoplastici successivi.

A: nove pazienti affetti da lichen planus orale con un solo ulteriore evento neoplastico successivo al primo (pazienti n. 4, 10, 12, 13, 14, 15, 17, 21, 23).

La localizzazione individuale è rappresentata da ellissi racchiudenti il numero identificativo del paziente.

Le ellissi blu rappresentano tumori successivi insorti nella stessa area di quello precedente.

Le ellissi rosse indicano tumori insorti in siti orali distanti rispetto al precedente.

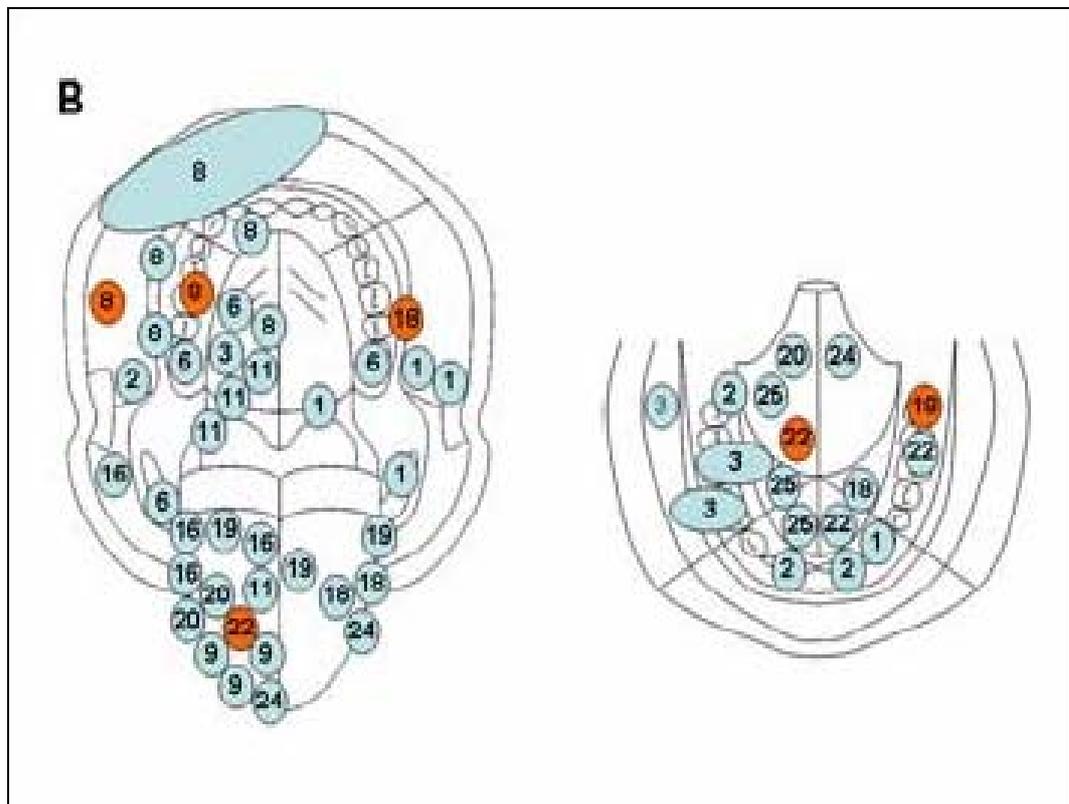


Figura 5:
Relazione topografica tra la prima neoplasia e gli eventi neoplastici successivi.

B: 14 pazienti affetti da lichen planus orale che hanno sviluppato da 2 a 5 ulteriori eventi neoplastici dopo il primo (pazienti n. 1, 2, 3, 6, 8, 9, 11, 16, 18, 19, 20, 22, 24, 25).

La localizzazione individuale è rappresentata da ellissi racchiudenti il numero identificativo del paziente.

Le ellissi blu grandi rappresentano tumori sincroni insorti in siti orali multipli e contigui.

Le ellissi rosse indicano tumori sincroni insorti in siti orali multipli e distanti.

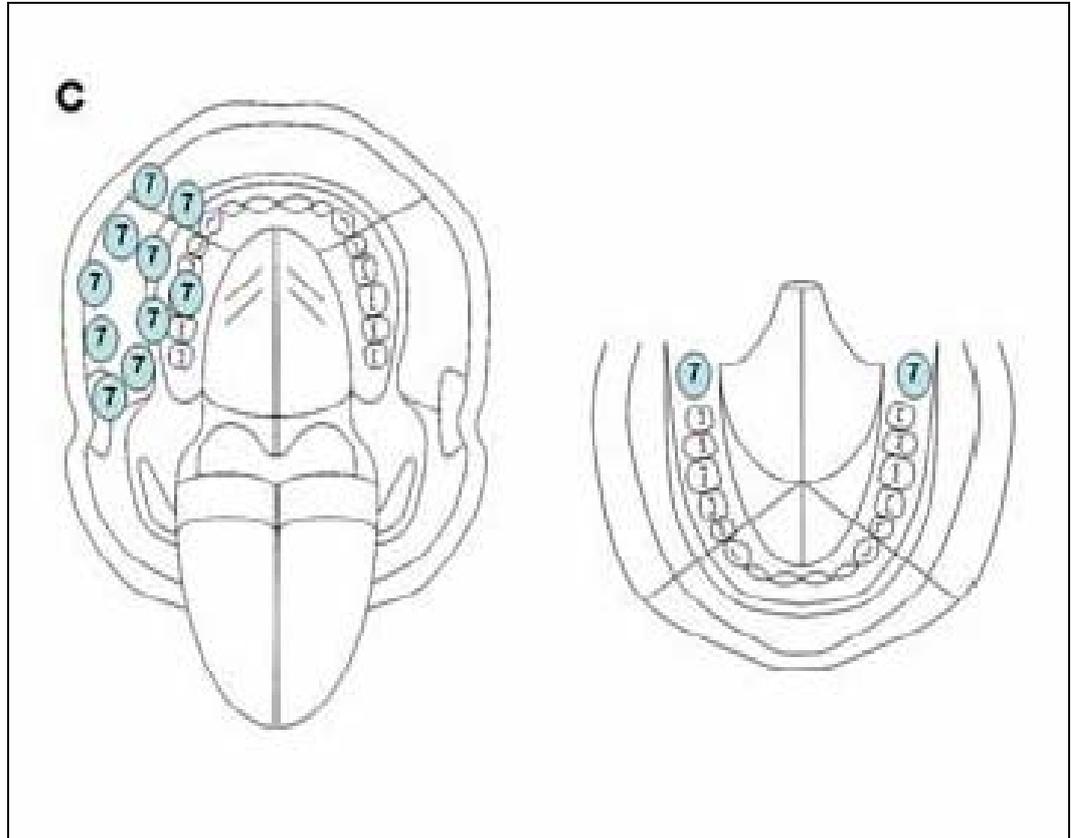


Figura 5:

Relazione topografica tra la prima neoplasia e gli eventi neoplastici successivi.

C: paziente affetto da lichen planus orale (paziente n. 7) andato incontro a 11 ulteriori eventi neoplastici successivi al primo (12 in totale).

La localizzazione individuale è rappresentata da ellissi racchiudenti il numero identificativo del paziente.

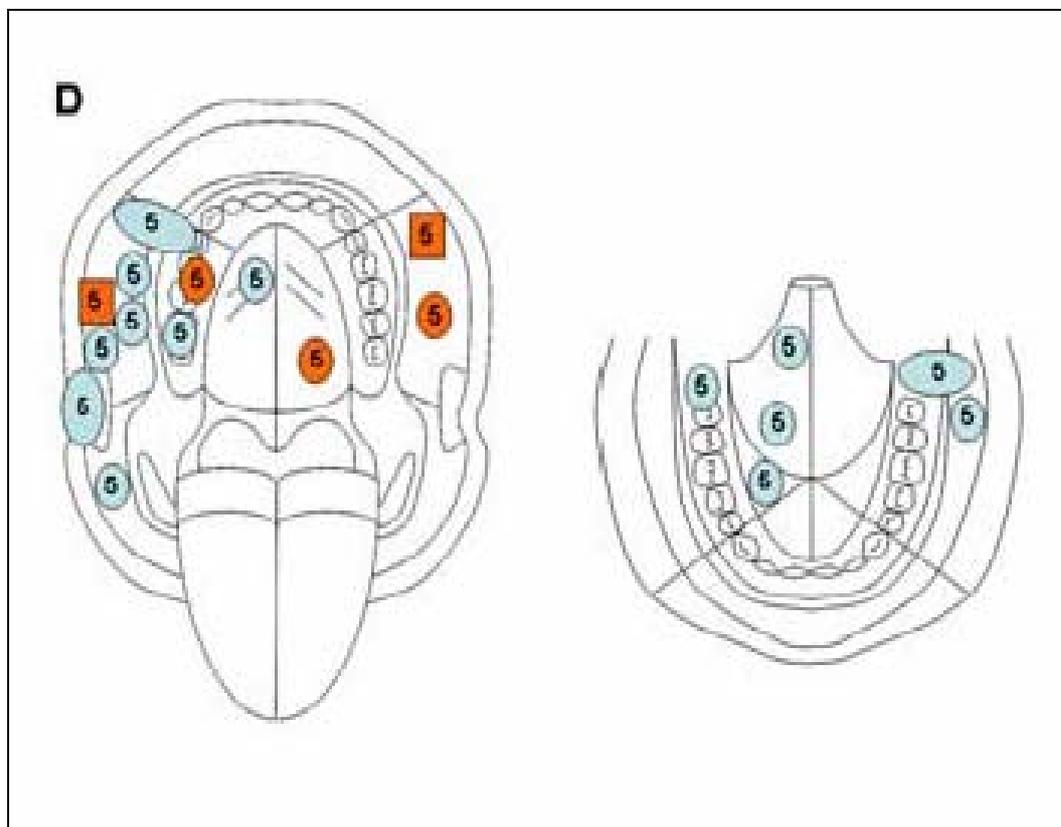


Figura 5:

Relazione topografica tra la prima neoplasia e gli eventi neoplastici successivi.

D: paziente affetto da lichen planus orale (paziente n. 5) andato incontro a 15 ulteriori eventi neoplastici successivi al primo (16 in totale).

La localizzazione individuale è rappresentata da ellissi racchiudenti il numero identificativo del paziente.

Le ellissi blu grandi rappresentano tumori sincroni insorti in siti orali multipli e contigui.

Le ellissi rosse e i quadrati indicano tumori sincroni insorti in siti orali multipli e distanti.

In generale, più alto è il numero di eventi neoplastici secondari, maggiore è la probabilità che vengano interessate sedi differenti. Infatti, in quattro di cinque pazienti (80%) in cui il sito del tumore primario e di quello secondario erano identici, si è avuto solo un secondo evento neoplastico (due in totale), mentre in tutti i pazienti con più di un evento neoplastico successivo al primo si è avuto anche il coinvolgimento di molteplici siti distanti nella cavità orale.

Staging tumorale e mortalità

Considerando l'intero gruppo di studio, sono stati riscontrati 97 eventi neoplastici, di cui 91 (93,9%) erano neoplasie intraepiteliali o carcinomi microinvasivi (≤ 1 mm) e come tali tumori maligni orali in stadio 0 e I (TisN0M0 oppure T1N0M0). Gli altri tumori avevano le seguenti caratteristiche: tre erano stati diagnosticati in stadio IV (T4N1M0) e tre in stadio III (T1N1M0). Tutti i carcinomi in stadio IV sono insorti in pazienti andati incontro ad eventi neoplastici metacroni multipli e multifocali. Due carcinomi in stadio III sono insorti in pazienti con un solo "second primary" successivo alla prima neoplasia

intraepiteliale/carcinoma invasivo, mentre l'altro in un paziente con eventi neoplastici multipli. Tre pazienti sono morti a causa del loro carcinoma orale a cellule squamose in stadio IV, il che equivale a una mortalità pari al 12% (3/25).

Una sintesi dei dati clinici dei pazienti è riportata nella tabella 2.

Patient n.	Number of neoplastic events	Staging		N. of involved ICD-O oral sites	Date of OLP diagnosis	Date of first neoplastic event	Survival (years from first tumour)	Date of death
		Early	Advanced					
1	4	3 Tis-T1 N0M0	1 T4N2M0	4	Mar-98	Feb-99	6	Apr-05
2	4	3 Tis-T1 N0M0	1 T4N1M0	4	Oct-97	Feb-99	3	Oct-02
3	3	3 Tis-T1 N0M0	-	5	Feb-00	Feb-01	4	-
4	2	2 Tis-T1 N0M0	-	1	Jan-02	Dec-03	2	-
5	16	16 Tis-T1 N0M0	-	11	Mar-97	Jan-99	6	-
6	4	4 Tis-T1 N0M0	-	4	Jun-97	Oct-99	6	-
7	12	12 Tis-T1 N0M0	-	5	Nov-98	Oct-99	6	-
8	6	6 Tis-T1 N0M0	-	7	Dec-97	Apr-99	6	-
9	3	3 Tis-T1 N0M0	-	1	Mar-97	Dec-98	7	-
10	2	2 Tis-T1 N0M0	-	2	Oct-97	May-98	7	-
11	4	4 Tis-T1 N0M0	-	3	Apr-94	Apr-96	9	-
12	2	2 Tis N0M0	-	1	Jul-94	Jun-97	8	-
13	2	2 Tis N0M0	-	1	Oct-99	Jun-04	1	-
14	2	2 T1 N0M0	-	2	Apr-91	Jan-93	12	-
15	2	2 Tis-T1 N0M0	-	1	Jun-95	Dec-04	1	-
16	4	3 Tis-T1 N0M0	1 T1N1M0	2	Sep-93	Jun-95	10	-
17	2	1 Tis N0M0	1 T1N1M0	2	Feb-97	Jan-99	6	-
18	4	3 Tis-T1 N0M0	1 T4N1M0	3	May-92	Oct-93	7	Mar-00
19	3	3 Tis-T1 N0M0	-	2	Jan-96	Dec-97	8	-
20	3	3 Tis-T1 N0M0	-	2	Apr-99	Jun-01	4	-
21	2	2 Tis N0M0	-	2	Dec-02	Mar-04	1	-
22	3	3 Tis-T1 N0M0	-	3	Feb-02	Apr-04	1	-
23	2	1 T1 N0M0	1 T1N1M0	2	Apr-01	Jan-02	3	-
24	3	3 Tis-T1 N0M0	-	3	Oct-96	Sep-99	6	-
25	3	3 Tis-T1 N0M0	-	2	Jul-97	Mar-02	3	-

Tabella 2:

Dati clinici dei 25 pazienti affetti da lichen palnus orale andati incontro ad almeno due eventi di trasformazione maligna.

Discussione

Aspetti diagnostici del lichen planus orale rilevanti per la trasformazione maligna.

I criteri diagnostici adottati nel presente studio sono strettamente affini, anche se non completamente identici, a quelli proposti da Krutchkoff (3) e più recentemente da van der Meij (5). In letteratura sono presenti studi con un approccio diagnostico simile e sono considerati a sostegno dell'evidenza che il lichen orale è un condizione associata ad un aumentato rischio di trasformazione maligna (7, 8). Inoltre, i pazienti con OLP con segni di displasia alla prima biopsia sono stati esclusi in quanto è generalmente accettato che gli studi sulla trasformazione maligna del lichen planus orale dovrebbero essere basati, possibilmente, su una documentata evidenza di progressione da epitelio privo di alterazioni displastiche a carcinoma in situ e/o invasivo. Infatti, questo è il modello di cancerizzazione più accettato per la maggior parte delle neoplasie maligne solide, incluso il cancro del distretto testa-collo, il quale si suppone progredisca attraverso una serie di ben definiti stadi clinici ed istopatologici che

notoriamente corrispondono a un processo multifasico di accumulo di alterazioni genetiche (39-41). E' degno di nota che la presenza di displasia è considerata come un forte indicatore di incipiente trasformazione maligna o sottostante carcinoma, anche in pazienti affetti da altre patologie infiammatorie associate ad aumentato rischio di cancerizzazione come ad esempio la colite ulcerosa e l'esofagite da reflusso (31). Inoltre, un concetto simile è stato applicato anche alla leucoplachia, la più comune precancerosi orale, dove la presenza di displasia, generalmente riscontrata nel 5-15% dei casi, è considerata, dopo la ploidia, l'unico fattore prognostico affidabile che può essere applicato di routine al fine di predire il rischio di sviluppo di cancro orale (42).

Trasformazione maligna del lichen planus orale e sviluppo di carcinomi orali multipli e multifocali

Lo sviluppo di carcinomi orali multipli e multifocali è una evenienza ben nota per il cancro del distretto testa-collo e, recentemente, il concetto della cancerizzazione di campo è stato esteso anche alle lesioni orali preneoplastiche

(20). Infatti, Sudbo e collaboratori recentemente hanno evidenziato che la leucoplachia aneuploide, un sottotipo di leucoplachia gravato dall'insorgenza di carcinoma orale in più del 90% dei casi, così come la eritroplasia aneuploide, è caratterizzata dall'insorgenza di tumori "second primary" multipli e multifocali, con un elevata mortalità ad essi correlata (27, 28). Non è al momento chiaro se tale concetto possa essere esteso anche ad altre condizioni precancerose orali quali il lichen planus. I nostri dati hanno tuttavia evidenziato l'insorgenza di neoplasie orali multiple in più del 50% dei pazienti andati incontro a trasformazione maligna del lichen planus, e in alcuni casi, il lichen planus orale può presentare un comportamento simile alla leucoplachia aneuploide ed alla eritroplasia, con una elevata prevalenza di "second primary tumours", seguendo il modello della cancerizzazione di campo. Infatti, la storia clinica dei nostri pazienti è stata caratterizzata da ben 12 e 16 eventi neoplastici in due casi, da 3 a 6 eventi in altri 14 casi ed infine da 2 eventi in 9 pazienti (tabella 2). In tal modo, il 64% dei pazienti con OLP in cui è occorsa la trasformazione maligna (16/25) hanno sviluppato, dopo il primo tumore, almeno due successive neoplasie

intraepiteliali/carcinomi invasivi (tre in totale). In relazione alla distribuzione topografica di tali neoplasie, i nostri dati evidenziano chiaramente una elevata (80%) variabilità tra il tumore primario ed i successivi eventi neoplastici. Tale aspetto è compatibile con il fenomeno della cancerizzazione di campo e l'ipotesi che nella sua determinazione siano cloni cellulari separati ed indipendenti (Figura 6) (43). Tuttavia, nel 20% dei casi gli eventi neoplastici successivi al primo sono insorti nella stessa sede di quest'ultimo, il che mette in evidenza anche la presenza di alterazioni clonali occulte in corrispondenza di margini di resezione istopatologicamente negativi o una diffusione clonale in senso laterale (44, 45).

Nel corso degli ultimi anni è stato evidenziato come il processo di cancerizzazione di campo non sia necessariamente associato con l'esposizione del campo stesso ad agenti carcinogeni ambientali, ed è stato descritto in altri organi quali: polmoni, esofago, vulva, cervice, colon, mammella, rene, cute (20). E' degno di nota il fatto che se consideriamo, per esempio, il cancro del colon, l'insorgenza di carcinoma e displasia in pazienti affetti da condizioni infiammatorie croniche intestinali è tipicamente multifocale e multicentrica e potrebbe presentare molte caratteristiche

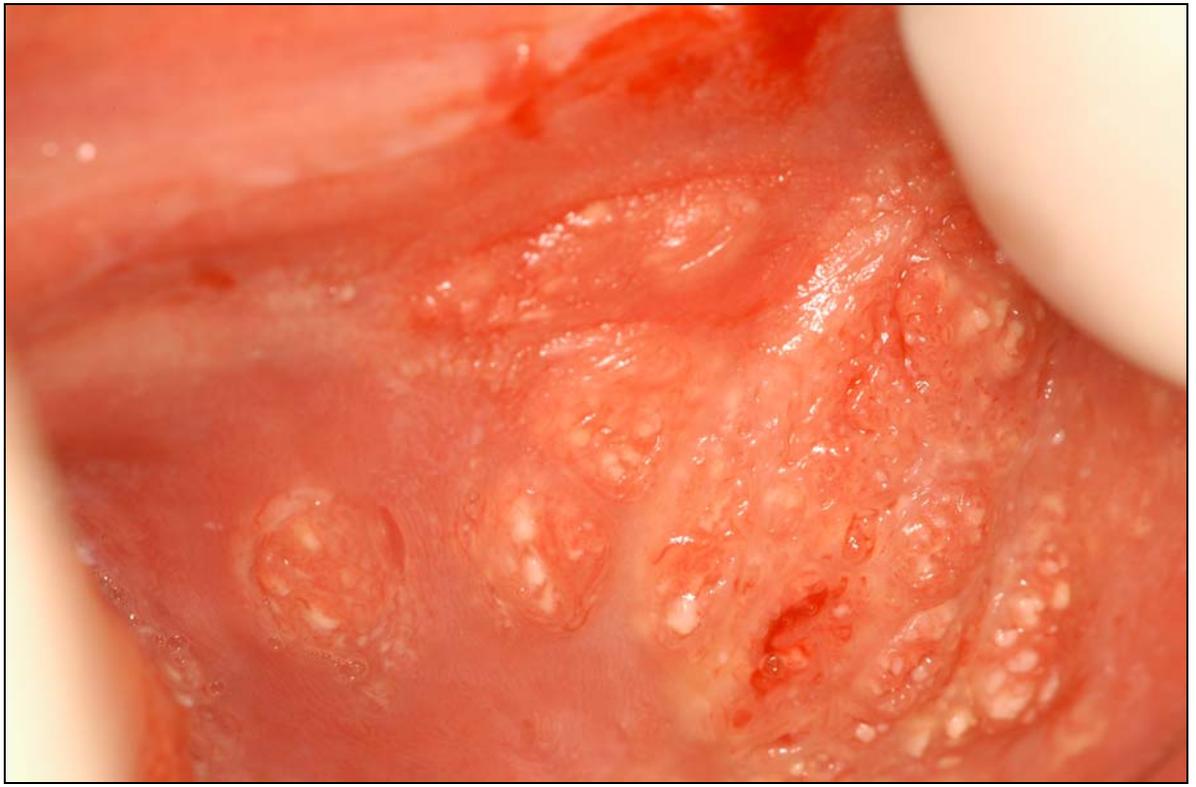


Figura 6: Carcinoma orale a cellule squamose insorto su lesioni da lichen planus orale della mucosa geniena. La presenza di piccoli noduli carcinomatosi in parte confluenti tra loro ed in parte separati da mucosa apparentemente libera da neoplasia sembrerebbe esprimere clinicamente come gli eventi molecolari alla base del processo di cancerizzazione possano interessare cloni cellulari separati ed indipendenti e/o espandersi attraverso una diffusione clonale in senso laterale.

in comune con i carcinomi orali a cellule squamose correlati al lichen planus. Infatti, è stato riportato che l'infiammazione cronica e l'attivazione immunologica agiscono da agenti oncogenici in questo tipo di patologie (10, 46, 47). Sarebbe, quindi, possibile speculare che le cellule infiammatorie attivate e la cascata di citochine che agiscono da promotori della tumorigenesi delle cellule squamose, potrebbero allo stesso modo influenzare la diffusione clonale supportando così il processo della cancerizzazione di campo in tali patologie infiammatorie croniche.

Follow up dei pazienti con OLP, monitoraggio per la displasia-neoplasia e sopravvivenza

Il follow up dei pazienti affetti da OLP è ancora un argomento controverso dal momento in cui alcuni autori hanno evidenziato come i dati attualmente disponibili in letteratura non dimostrano con chiarezza che un follow up stretto comporti un miglioramento della morbilità o della mortalità dei carcinomi orali a cellule squamose correlati al lichen planus (48). Tuttavia, lo stesso scetticismo è stato sollevato a riguardo della sorveglianza della displasia per via endoscopica in

pazienti affetti da altre patologie infiammatorie croniche associate all'insorgenza di cancro come l'esofago di Barrett e le patologie infiammatorie intestinali, dove non è stata ancora chiaramente dimostrata una riduzione della mortalità e morbilità del carcinoma esofageo e coloretale, anche se i carcinomi identificati con i programmi di sorveglianza vengono diagnosticati in genere ad uno stato più precoce rispetto a quelli diagnosticati senza la valutazione endoscopica e potrebbero, quindi, avere una prognosi più favorevole (49-51).

Riscontri simili sono stati evidenziati in alcuni nostri precedenti lavori, dove abbiamo suggerito che il follow up dei pazienti affetti da OLP dovrebbe essere effettuato con frequenza almeno quadrimestrale al fine di intercettare le lesioni displastiche e quelle francamente carcinomatose ad uno stadio precoce (stadio < I nel 95% dei casi) (Figura 7 e Figura 8), mentre uno schema di follow up precedente basato su controlli annuali era caratterizzato da una diagnosi di OSCC ad uno stadio più avanzato (stadio > II nel 70% dei casi) (Figura 9) (52).

La modalità di effettuazione della sorveglianza è un altro punto cruciale dal momento in cui esiste una scarsa evidenza riguardo ai criteri clinici più



Figura 7: Carcinoma microinvasivo del margine linguale con il relativo dettaglio istologico (sopra), e della mucosa geniena (sotto); in entrambi i casi sono evidenti le lesioni da lichen.



Figura 8: Carcinoma microinvasivo della mucosa geniena (sopra), e del margine gengivale (sotto); in entrambi i casi sono evidenti le lesioni da lichen.



Figura 9: Carcinoma invasivo del margine linguale; la lesione si presenta come una grossa ulcera dai margini rilevati ed induriti alla palpazione, mentre sul dorso linguale è possibile notare le lesioni cheratosiche ed atrofiche da lichen.

efficaci o alle tecniche da adottare. Pertanto, molti clinici fondano la loro attività sull'esperienza personale o su quella della scuola cui appartengono. I criteri da noi adottati per il monitoraggio clinico dei pazienti con OLP sono stati descritti in un precedente lavoro (52), e nel corso degli anni sono stati affinati e così riassunti nella tabella 1; i risultati del presente studio, basato su un periodo di osservazione più lungo rispetto al precedente, sembrano validare l'adeguatezza di tali criteri confermando che un accurato programma di monitoraggio è in grado di intercettare la trasformazione maligna in una fase precoce di displasia intraepiteliale o neoplasia microinvasiva, che generalmente sono caratterizzate da una prognosi molto favorevole. Infatti, molti pazienti con lichen che hanno sviluppato carcinomi orali multipli e multifocali hanno avuto una prognosi favorevole. Anche se in alcuni casi sono stati necessari più di venti procedure chirurgiche, rappresentate sia da biopsie incisionali che da resezioni più o meno estese, il monitoraggio ci ha permesso di intercettare le neoplasie ad uno stadio molto precoce (stadio 0 e I in più del 90% dei casi). Considerando come riferimento il periodo di tempo trascorso dalla prima neoplasia, abbiamo potuto

rilevare i dati relativi alla sopravvivenza a 5 anni in 16 pazienti ed a 3 anni in venti pazienti; così, la sopravvivenza a 5 anni è stata del 93,8% (15 dei 16 pazienti sono ancora vivi a 5 anni dal primo carcinoma) e quella a 3 anni era del 100% (tutti i 20 pazienti sono ancora vivi a tre anni di distanza dalla loro prima neoplasia). Malgrado ciò, è importante sottolineare che in un piccolo sottogruppo di pazienti con OLP che hanno sviluppato carcinomi orali multipli e multifocali (6 su 25) (Figura 10) il nostro programma di monitoraggio clinico non è stato in grado di evidenziare la trasformazione maligna in fase precoce. In tali casi i carcinomi orali sono stati, purtroppo, diagnosticati in uno stadio avanzato e pertanto si è reso necessario il ricorso alla chirurgia maxillo-facciale per garantire una resezione radicale associata, all'occorrenza, allo svuotamento delle stazioni linfonodali del collo e radioterapia adiuvante, o a chemioradioterapia. Tre di questi sei pazienti sono morti a causa del loro carcinoma orale. Un paziente (n.1) è morto dopo sei anni dalla sua prima neoplasia orale, mentre gli altri due (n.2 e n.18) rispettivamente dopo 3 e 7 anni. Siccome, i criteri usati per il follow up ed il monitoraggio clinico di tali pazienti erano esattamente identici a quelli applicati

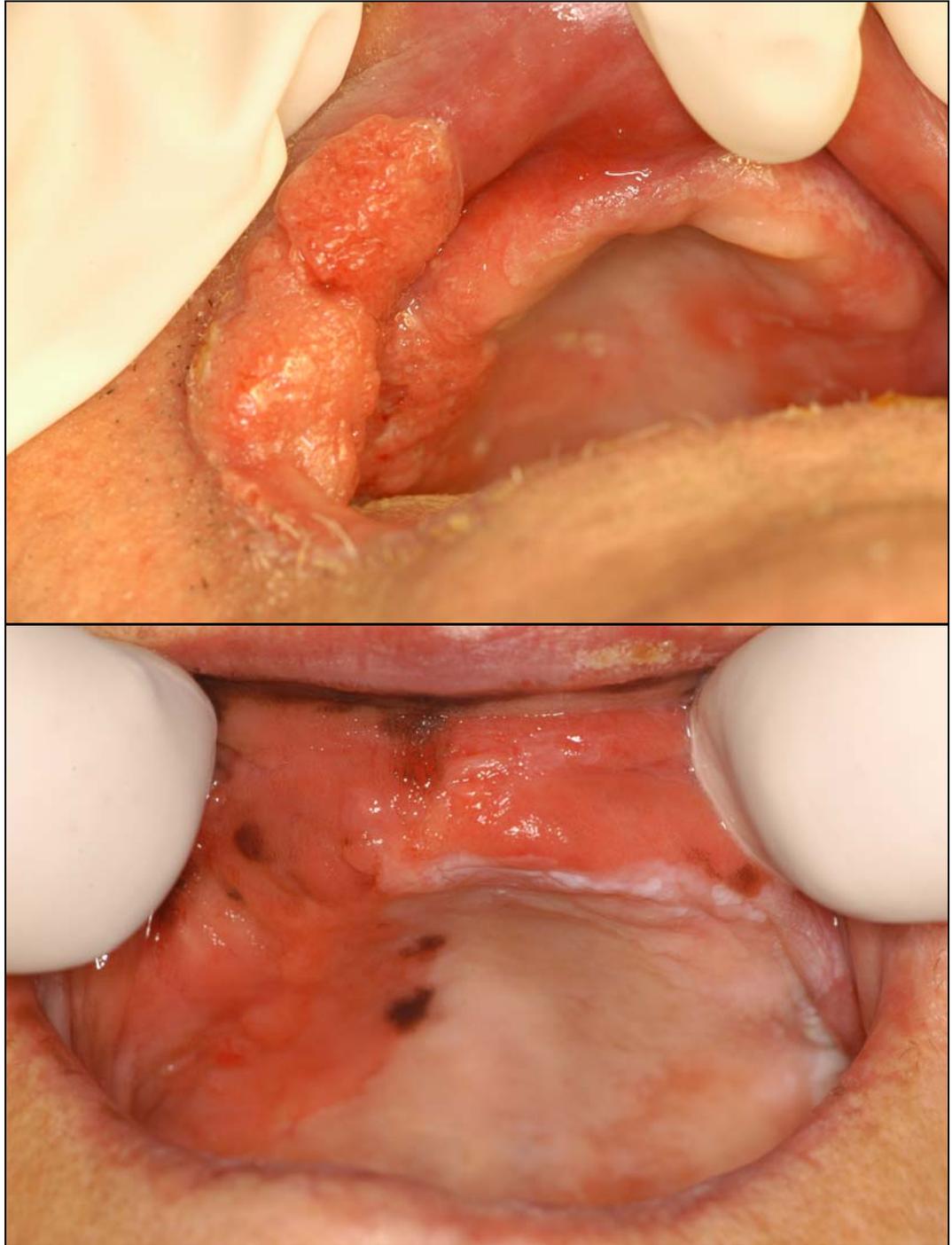


Figura 10: carcinomi orali con interessamento multifocale; sono coinvolte ampie aree del labbro, del fornice, delle creste alveolari, del palato e della mucosa geniena. In alcune zone si evidenziano aree cheratosiche di aspetto lichenoidale.

negli altri pazienti, non siamo in grado di fornire una spiegazione per il verificarsi di tali carcinomi molto avanzati. Tuttavia, dei riscontri simili sono stati riportati anche da Sudbo e collaboratori, i quali hanno trovato in un piccolo sottogruppo di pazienti affetti da leucoplachia orale, ossia quelli con leucoplachia aneuploide, una incidenza di carcinomi orali in stadio III e IV molto più alta rispetto a quella prevedibile e non compatibile con un follow up semestrale. Da tali considerazioni noi possiamo speculare che in alcuni casi le fasi iniziali di trasformazione maligna potrebbero non essere clinicamente evidenti fino a che non sia intervenuta l'invasione stromale profonda; o in alternativa, potrebbero esserci alcuni casi caratterizzati da un comportamento molto aggressivo con un passaggio estremamente veloce da neoplasia intraepiteliale a carcinoma francamente invasivo, rendendo così inefficace il monitoraggio clinico periodico. Per quanto attiene al trattamento chirurgico della neoplasia intraepiteliale e del carcinoma orale in fase iniziale, è generalmente accettato che una resezione chirurgica inadeguata dei carcinomi orali in stadio avanzato (cioè, presenza di neoplasia ai margini di resezione) è associata ad una prognosi sfavorevole sia in termini di

recidiva locale che di sopravvivenza. Pertanto, è stato suggerito un margine di resezione di 1 cm al fine di asportare anche il tessuto periferico al tumore clinicamente indenne che spesso contiene alterazioni di spastiche o molecolari. Nonostante ciò, studi più recenti hanno sottolineato come lo stato dei margini di escissione sia un argomento piuttosto mal definito nella letteratura scientifica ed è inverosimile che possa rappresentare un fattore prognostico indipendente (53-54).

Non è noto se tale concetto debba essere applicato anche alla neoplasia intraepiteliale (displasia severa/carcinoma in situ) ed al carcinoma in stadio precoce. Generalmente noi cerchiamo di escindere le lesioni sospette da un punto di vista clinico o con alterazioni displastiche/neoplastiche evidenziate attraverso biopsia incisionale, posizionando i margini 0,5 cm in tessuto sano. Tale impostazione ci ha portato ad ottenere margini negativi (liberi da alterazioni displastiche o neoplastiche) in tutti i pazienti inseriti in questo studio, sia alla resezione del primo tumore che agli interventi successivi, il che potrebbe spiegare almeno in parte la prognosi favorevole della maggioranza dei nostri pazienti.

Tuttavia, è importante notare che recentemente è stato dimostrato come la

resezione completa (marginari negativi) delle lesioni precancerose ad alto rischio (per esempio leucoplachia aneuploide con displasia) non è in grado di prevenire lo sviluppo di carcinoma orale, suggerendo che il comportamento biologico aggressivo di tali lesioni si estrinseca indipendentemente dall'adeguato trattamento standard ed è associato con l'insorgenza di carcinomi orali multipli e multifocali in stadio avanzato e spesso gravati da una prognosi infausta (27).

Conclusioni

In questo studio abbiamo riportato, per la prima volta, che i pazienti andati incontro a trasformazione maligna del lichen planus orale possono sviluppare carcinomi orali multipli e multifocali, con un comportamento clinico sovrapponibile al ben noto processo della cancerizzazione di campo del carcinoma orale e di alcuni pazienti affetti da leucoplachia ad alto rischio. Un accurato monitoraggio clinico può diagnosticare la maggioranza dei tumori in uno stadio precoce (intraepiteliale o microinvasivo) portando così ad una buona

sopravvivenza a lungo termine. Tuttavia, un piccolo sottogruppo di pazienti sembra non avere benefici da tale monitoraggio ed è caratterizzato dal rapido sviluppo di carcinomi orali in stadio avanzato gravati, di conseguenza da una prognosi sfavorevole. Al momento non ci sono mezzi o criteri atti ad identificare tali pazienti con un profilo oncologico ad alto rischio. Si deduce, quindi, la necessità e l'urgenza di identificare e validare criteri precisi come quelli inerenti alterazioni molecolari e aberrazioni genetiche riscontrate in altre precancerosi che, in maniera analoga, possano essere applicati anche nei pazienti con lichen planus orale come fattori prognostici affidabili.

Bibliografia

1. van der Meij EH, Schepman KP, Smeele LE, van der Wal JE, Bezemer PD, van derWaal I. A review of the recent literature regarding malignant transformation of oral lichen planus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1999 Sep;88(3):307-10.
2. Eisenberg E. Oral lichen planus: a benign lesion. *J Oral Maxillofac Surg* 2000;58(11):1278-85.
3. Krutchkoff DJ, Cutler L, Laskowski S. Oral lichen planus: the evidence regarding potential malignant transformation. *J Oral Pathol* 1978;7(1):1-7.
4. Krutchkoff DJ, Eisenberg E. Lichenoid dysplasia: a distinct histopathologic entity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1985;60(3):308-15.
5. van der Meij EH, Schepman KP, van der Waal I. The possible premalignant character of oral lichen planus and oral lichenoid lesions: a prospective study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;96(2):164-71.

6. van der Meij EH, van der Waal I. Lack of clinicopathologic correlation in the diagnosis of oral lichen planus based on the presently available diagnostic criteria and suggestions for modifications. *J Oral Pathol Med* 2003;32(9):507-12.
7. Gandolfo S, Carrozzo M, Pagano M. Oral lichenoid lesions: what are they? *Oral Oncol.* 2004;40(10):1057-58.
8. Gandolfo S, Richiardi L, Carrozzo M, Broccoletti R, Carbone M, Pagano M, Vestita C, Rosso S, Merletti F. Risk of oral squamous cell carcinoma in 402 patients with oral lichen planus: a follow-up study in an Italian population. *Oral Oncol* 2004;40(1):77-83.
9. Rodstrom PO, Jontell M, Mattsson U, Holmberg E. Cancer and oral lichen planus in a Swedish population. *Oral Oncol.* 2004;40(2):131-38.
10. Mignogna MD, Fedele S, Lo Russo L, Lo Muzio L, Bucci E. Immune activation and chronic inflammation as the cause of malignancy in oral lichen planus: is there any evidence ? *Oral Oncol.* 2004;40(2):120-30.

11. Epstein JB, Wan LS, Gorsky M, Zhang L. Oral lichen planus: progress in understanding its malignant potential and the implications for clinical management. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;96(1):32-7.
12. Ogmundsdottir HM, Hilmarsdottir H, Astvaldsdottir A, Johannsson JH, Holbrook WP. Oral lichen planus has a high rate of TP53 mutations. A study of oral mucosa in iceland. *Eur J Oral Sci* 2002;110(3):192-8.
13. Hietanen J, Paasonen M-R, Kuhlefelt M, Malmstrom M. A retrospective study of oral lichen planus patients with concurrent or subsequent development of malignancy. *Oral Oncology* 1999;35: 278-282.
14. Mignogna MD, Lo Russo L, Fedele S, Ruoppo E, Califano L, Lo Muzio L. Clinical behaviour of malignant transforming oral lichen planus. *Eur J Surg Oncol* 2002;28(8):838-43.
15. O'Byrne KJ, Dalglish AG. Chronic immune activation and inflammation as the cause of malignancy. *Br J Cancer* 2001;85(4):473-83.

16. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *The Lancet* 2001;357:539-45.
17. Liotta LA, Kohn EC. The microenvironment of the tumour-host interface. *Nature* 2001;411:375-79.
18. Pupa SM, Menard S, Forti S, Tagliabue E. New insights into the role of extracellular matrix during tumor onset and progression. *J Cell Physiol* 2002;192:259-67.
19. Slaughter, D. P., Southwick, H. W., and Smejkal, W. "Field cancerization" in oral stratified squamous epithelium. *Cancer (Phila.)* 1953;6:963–68.
20. Braakhuis BJ, Tabor MP, Kummer JA, Leemans CR, Brakenhoff RH. A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications. *Cancer Res* 2003;63(8):1727-30.
21. Ha PK, Califano JA. The molecular biology of mucosal field cancerization of the head and neck. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14(5):363-69.

22. Braakhuis BJ, Tabor MP, Kummer JA, Leemans CR, Brakenhoff RH. A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications. *Cancer Res* 2003;63(8):1727-30.
23. van Oijen MG, Slootweg PJ. Oral field cancerization: carcinogen-induced independent events or micrometastatic deposits? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9(3):249-56.
24. Partridge M, Pateromichelakis S, Phillips E, Emilion G, Langdon J. Profiling clonality and progression in multiple premalignant and malignant oral lesions identifies a subgroup of cases with a distinct presentation of squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001;7(7):1860-66.
25. Erkal HS, Mendenhall WM, Amdur RJ, Villaret DB, Stringer SP. Synchronous and metachronous squamous cell carcinomas of the head and neck mucosal sites. *J Clin Oncol* 2001;19(5):1358-62.
26. Cianfriglia F, Di Gregorio DA, Manieri A. Multiple primary tumours in patients with oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 1999;35(2):157-63.

27. Sudbo J, Lippman SM, Lee JJ, et al. The influence of resection and aneuploidy on mortality in oral leukoplakia. *N Engl J Med*. 2004;350(14):1405-13.
28. Sudbo J, Kildal W, Johannessen AC, et al. Gross genomic aberrations in precancers: clinical implications of a long-term follow-up study in oral erythroplakias. *J Clin Oncol* 2002;20(2):456-462.
29. Kara MA, Bergman JJ, Tytgat GN. Follow-up for high-grade dysplasia in Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2003;13(3):513-33.
30. Weston AP, Badr AS, Hassanein RS. Prospective multivariate analysis of clinical, endoscopic, and histological factors predictive of the development of Barrett's multifocal high-grade dysplasia or adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol* 1999;94(12):3413-19.
31. Pohl C, Hombach A, Kruis W. Chronic inflammatory bowel disease and cancer. *Hepatology* 2000;47(31):57-70.
32. Lippman SM, Sudbo J, Hong WK. Oral cancer prevention and the evolution of molecular targeted drug development. *J Clin Oncol* 2005;23(2):346-56.

33. Pindborg JJ, Reichart PA, Smith CJ, Van der Waal I. Histological typing of cancer and precancer of the oral mucosa. Berlin Heidelberg: Springer, 2nd ed. 1997, page 30.
34. Fleming ID, Cooper JS, Henson DE, et al., eds. AJCC cancer staging manual. 5th ed. Philadelphia: Lippincott–Raven, 1997:29-39.
35. Fritz A, Percy C, Jack A, Shanmugaratnam K, Sobin L, Parkin DM, Whelan S, eds. WHO International Classification of Diseases for Oncology ICD-O, 3rd ed. Geneva: WHO; 2000.
36. Onofre MA, Sposto MR, Navarro CM. Reliability of toluidine blue application in the detection of oral epithelial dysplasia and in situ and invasive squamous cell carcinomas. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2001;91(5):535-40.
37. Martin IC, Kerawala CJ, Reed M. The application of toluidine blue as a diagnostic adjunct in the detection of epithelial dysplasia. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998;85(4):444-46.

38. Mignogna MD, Lo Muzio L, Lo Russo L, Fedele S, Ruoppo E, Bucci E.
Clinical guidelines in early detection of oral squamous cell carcinoma arising in oral lichen planus: a 5-year experience. *Oral Oncol* 2001;37(3):262-67.
39. Fearon E. R., Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990;61:759-67
40. Califano J, van der Riet P, Westra W, et al. Genetic progression model for head and neck cancer: implications for field cancerization. *Cancer Res* 1996;56:2488-92
41. Califano J, Westra WH, Meininger G, Corio R, Koch WM, Sidransky D.
Genetic progression and clonal relationship of recurrent premalignant head and neck lesions. *Clin Cancer Res* 2000;6(2):347-52.
42. Sudbo J, Kildal W, Risberg B, Koppang HS, Danielsen HE, Reith A. DNA content as a prognostic marker in patients with oral leukoplakia. *N Engl J Med.* 2001;344(17):1270-78.

43. Jang SJ, Chiba I, Hirai A, Hong WK, Mao L. Multiple oral squamous epithelial lesions: are they genetically related? *Oncogene*. 2001;20(18):2235-42.
44. Braakhuis BJ, Tabor MP, Leemans CR, van der Waal I, Snow GB, Brakenhoff RH. Second primary tumors and field cancerization in oral and oropharyngeal cancer: molecular techniques provide new insights and definitions. *Head Neck* 2002;24(2):198-206.
45. Tabor MP, Brakenhoff RH, Ruijter-Schippers HJ, et al. Multiple head and neck tumors frequently originate from a single preneoplastic lesion. *Am J Pathol* 2002;161(3):1051-60.
46. Pikarsky E, Porat RM, Stein I, Abramovitch R, et al. NF-kappaB functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer. *Nature* 2004;431(7007):461-66.
47. Balkwill F, Coussens LM. Cancer: an inflammatory link. *Nature* 2004;431(7007):405-06.

48. Mattsson U, Jontell M, Holmstrup P. Oral lichen planus and malignant transformation: is a recall of patients justified? *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13(5):390-96.
49. Mashimo H, Wagh MS, Goyal RK. Surveillance and screening for Barrett esophagus and adenocarcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2005;39(4 Suppl 2):S33-41.
50. Bergman JJ, Tytgat GN. New developments in the endoscopic surveillance of Barrett's oesophagus. *Gut*. 2005;54 Suppl 1:i38-42.
51. Mpofu C, Watson AJ, Rhodes JM. Strategies for detecting colon cancer and/or dysplasia in patients with inflammatory bowel disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004;(2):CD000279.
52. Mignogna MD, Lo Russo L, Fedele S, Ruoppo E, Califano L, Lo Muzio L. Clinical behaviour of malignant transforming oral lichen planus. *Eur J Surg Oncol* 2002;28(8):838-43.

53. Sutton DN, Brown JS, Rogers SN, Vaughan ED, Woolgar JA. The prognostic implications of the surgical margin in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2003;32:30–34.
54. McMahon J, O'Brien CJ, Pathak I, et al. Influence of condition of surgical margins on local recurrence and disease-specific survival in oral and oropharyngeal cancer. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2003;41:224–231.