

Epidemiologia e biomarcadores em câncer de cabeça e pescoço. *Head and neck cancer epidemiology and biomarkers.*

Mariangela T. Ruiz¹; Érika Pavarino-Bertelli²; José Victor Maniglia³; Maurício J.C. Ruback⁴; Eny M. Goloni-Bertollo⁵.

¹ Doutoranda em Ciências da Saúde*; ² Doutora em Genética*; ³ Livre Docente em Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço**;

⁴ Mestrando em Ciências da Saúde**; ⁵ Livre Docente em Genética Humana e Médica*.

* Unidade de Pesquisa em Genética e Biologia Molecular – UPGEM- Departamento de Biologia Molecular – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP

** Departamento de Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP

Resumo O presente artigo é uma revisão com o objetivo de atualizar os aspectos epidemiológicos e marcadores moleculares em câncer de cabeça e pescoço com ênfase nos fatores de riscos desta doença, na prevalência e nas novas descobertas de marcadores moleculares. Para isso foi realizado um levantamento bibliográfico para a obtenção destes dados. O câncer de cabeça e pescoço é responsável por uma grande incidência de óbitos e apresenta uma frequência de aproximadamente 200.000 casos novos por ano. O tabagismo e o consumo de álcool são os principais fatores etiológicos dessa doença. A análise de marcadores moleculares é útil para a compreensão da fisiologia, diagnóstico, prognóstico, seleção de tratamentos e prevenção desta doença.

Palavras-chave Epidemiologia; Neoplasias de Cabeça e Pescoço; Marcadores Biológicos; Genética; Tabagismo; Alcoolismo.

Abstract This study is a review aiming to update the epidemiological aspects and molecular markers of head and neck cancer, focusing the risks factors, the prevalence and the new findings of molecular markers of this disease. A literature review was made to obtain these data. Head and neck cancer accounts for a great incidence of deaths, and its frequency is approximately 200.000 new cases a year. Smoking and alcohol consumption are the main etiological factors of this disease. The analysis of molecular markers is useful to understand the physiology, diagnosis, prognosis, treatment choices and prevention of this disease.

Keywords Epidemiology; Head and Neck Neoplasms; Biological Markers; Genetics; Smoking; Alcoholism.

Aspectos epidemiológicos

O câncer de cabeça e pescoço é responsável por uma grande incidência de óbitos em todo o mundo, constituindo a 6ª causa de morte por câncer. Segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), no Estado de São Paulo, as estimativas de câncer na cavidade oral, para o ano 2006, mostram um total de 13.470 novos casos por 100.000 habitantes, com taxas de 10.060 para o sexo masculino e 3.410 para o sexo feminino¹.

A incidência do câncer de cabeça e pescoço aumenta com a idade. Na Europa, 98% dos pacientes têm idade superior a 40 anos de idade² e apenas 4 a 6% são indivíduos mais jovens. Entretanto, a incidência nesta faixa etária tem aumentado em vários países³ e os mecanismos envolvidos na tumorigênese de pacientes jovens são pouco conhecidos^{4,5,6}.

O tipo histológico mais freqüente, presente em mais de 90% dos casos⁷, é o carcinoma de células escamosas com ocorrência aproximada de 40% na cavidade oral, 15% na faringe e 25% na laringe. O restante nos demais sítios remanescentes, como por exemplo as glândulas salivares. Outros tumores da região da cabeça e pescoço, tais como, cérebro, tireóide e face não são

convencionalmente inclusos no termo “câncer de cabeça e pescoço”².

O câncer de cabeça e pescoço é caracterizado pela agressividade local e pelo risco de ocorrência de tumores secundários. O risco para o desenvolvimento de tumores secundários está estimado em 20% correspondendo a uma taxa anual de 4-6%⁸, geralmente maior em mulheres quando comparadas aos homens⁹. Os pacientes em tratamento apresentam risco para neoplasmas adicionais principalmente no trato aerodigestivo. A taxa de mortalidade é estimada em, aproximadamente, 12.300 mortes por ano¹⁰ e a de sobrevida é de apenas 40 a 50% no mundo^{11,12}.

Evidências epidemiológicas sugerem que muitos fatores diferentes podem estar associados com o aumento da probabilidade de ocorrência destes cânceres. Vários estudos têm mostrado uma relação consistente do fumo com câncer de laringe e da cavidade oral. Na União Européia estima-se que aproximadamente 60% do câncer oral em homens e 30% em mulheres seriam atribuídos somente ao cigarro².

Além do fumo, o consumo de álcool também é um fator de risco

bem estabelecido para o câncer de cabeça e pescoço. Estes fatores de risco isolados podem aumentar de duas a três vezes o risco para esta doença; para a cavidade oral e laringe o risco aumenta mais de 15 vezes quando o consumo de álcool e cigarro estão combinados^{3,4,13,14,15,16,17}.

Embora os homens sejam mais afetados que as mulheres, nos últimos anos, observou-se um aumento notável na incidência entre mulheres, o que parece refletir a alteração de hábitos tabagistas e etilistas neste grupo¹⁸.

Uma pobre higiene bucal pode agir sinergisticamente com o álcool que nessas condições, aumenta a produção de acetaldéido na saliva, um metabólito do etanol que contribui para o desenvolvimento do câncer².

Em relação à dieta, as deficiências de micronutrientes parecem estar associadas com um risco aumentado deste tipo de neoplasia, entretanto essas evidências são inconsistentes. Paralelamente, há evidência de que uma dieta rica em vegetais (particularmente em carotenos) e frutas provavelmente diminui o risco^{2,19}. Por outro lado, uma história familiar positiva aumenta em 3,5 vezes a probabilidade empírica do desenvolvimento do câncer de cabeça e pescoço²⁰.

Variações geográficas ou regionais indicam que o estilo de vida sociocultural de uma população pode refletir a apresentação clínica e as características do tumor. Um estudo realizado no Brasil, país em desenvolvimento, revela diferenças estatisticamente significantes dessas características quando comparado àquelas de pacientes provenientes de uma instituição de país desenvolvido (Estados Unidos)²¹.

Marcadores moleculares

Os avanços na compreensão da biologia molecular do câncer de cabeça e pescoço têm aberto novas direções na ciência. O aumento das pesquisas está sendo direcionado para o desenvolvimento de terapias com alvos moleculares ou marcadores moleculares que são úteis na predição dos tratamentos ou na seleção de pacientes para terapias moleculares específicas baseadas nas características dos tumores²².

Cada passo da progressão da doença é seguido por alterações cromossômicas resultantes tanto da perda como do ganho de material genético e, conseqüentemente perda ou ganho de função celular. Os resultados fenotípicos dessas alterações estão descritos em diferentes níveis do desenvolvimento do câncer: crescimento e supressão do tumor, angiogênese e invasão, potencial metastático, resposta imune. A maioria das alterações genéticas que ocorrem durante este processo ainda não é conhecida ou não está totalmente compreendida²³. O Quadro 1 mostra algumas alterações moleculares mais freqüentes em câncer de cabeça e pescoço.

Marcadores moleculares, tais como *EGFR*, *CICLINA DL*, *FAS/FASL*, proteína *p27*, *VEGF*, e metaloproteínas têm auxiliado no prognóstico de tumores de cabeça e pescoço.

Os fatores de crescimento e seus receptores de membrana desempenham papéis importantes na proliferação celular, sobrevivência, adesão, migração e diferenciação²⁵. O gene *EGFR* (*Epidermal Growth Factor Receptor*) possui expressão elevada em câncer de cabeça e pescoço, e está relacionado com um mau prognóstico para a doença. A ativação do gene *EGFR* estimula o crescimento e proliferação, angiogênese, invasão, metástase e inibição da apoptose. É amplamente expresso por vários tipos celulares, incluindo linhagens epiteliais e mesenquimais^{26, 27}. Em câncer de cabeça e pescoço, é encontrada expressão elevada do RNA mensageiro em 92% a 87% dos tumores, e está

aumentada 69 vezes em 92% dos tumores quando comparados à mucosa normal^{22,28,29, 30}.

O gene da ciclina D1 (*CCDN1*) localizado em 11q13, é expresso em células epiteliais na transição G1-S do ciclo celular. Em alguns tipos celulares induz a apoptose³¹. A atividade da ciclina D1 pode ser inibida por vários genes supressores de tumor incluindo as proteínas p16 (gene *CDKN2A* - *Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A*), p21 (gene *WAF1/CIP1* - *cyclin-dependent kinase inhibitor 1A*) e p27 (gene *KIP1* - *cyclin-dependent kinase inhibitor 1B*). Vários estudos mostram que a amplificação ou expressão elevada foram associadas com a doença em estágios avançados, expansão precoce de nódulos, pobre resposta à quimioterapia e redução da sobrevida^{20, 30, 32}.

A amplificação da região 11q13 que contém os oncogenes *INT-2* (*FGF-3*), *HST-1* (*FGF-4*), *CICLINA D1* (*PRAD-1*, *BCL-1*) e *EMS-1* foi correlacionada com carcinomas invasivos e está presente em 30-50% dos tumores³⁰.

O gene *FAS* (*TNF RECEPTOR SUPERFAMILY MEMBER*) também conhecido como *TNFSF6*, *CD95*, ou *APO-1* é um receptor de superfície celular que desempenha um papel central na sinalização da apoptose em vários tipos celulares. Este receptor interage com seu ligante natural *FASL* (também conhecido como *CD95L*), um membro da superfamília de fatores de necrose tumoral. A diminuição da expressão de *FAS* e/ou o aumento da expressão de *FASL* favorece a transformação maligna e progressão do tumor. Mutações em linhagens somáticas e germinativas do gene *FAS* e também do gene *FASL* estão associadas com um risco aumentado de câncer^{33, 34, 35}.

A proteína p16, codificada pelo gene supressor de tumor *CDKN2A* (*Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A*), localizado em 9p21, pertence a família dos inibidores de quinase dependentes de ciclina, que incluem as proteínas p15 (gene *INK4B* - *cyclin-dependent kinase inhibitor 2B*), p21 e p27. Estes genes regulam a fase G1 do ciclo celular de uma maneira negativa. A proteína p16 se liga a *CDK4* (*cyclin-dependent kinase-4*) e *CDK6* (*cyclin-dependent kinase-6*), inibindo sua associação com a ciclina D1. A inibição da atividade do complexo ciclina D1/CDK4/6 interrompe a fosforilação da proteína Rb (retinoblastoma) e a liberação do fator de transcrição E2F, o que leva à inibição do ciclo celular na fase de transição G1-S. Alterações genéticas em p16 podem conferir vantagens para o crescimento celular contribuindo com o processo tumorigênico³⁶. Estudos mostram que a proteína p16 alterada está associada com baixa sobrevida, aumento de recorrências, progressão tumoral, e metástase nodular em muitos estudos³². Entretanto, os resultados relacionados ao prognóstico, utilizando a proteína p16 como marcador em câncer de cabeça e pescoço são conflitantes e, portanto, o papel dessa proteína na carcinogênese ainda não está claramente estabelecido³⁷.

A proteína VEGF (gene *vascular endothelial growth factor*) foi relacionada à agressividade^{38, 39}, invasão e metástase de tumores sólidos. Desempenha um papel crítico na angiogênese, essencial para o crescimento tumoral e ocorrência de metástase. Induz a proliferação, migração e sobrevivência das células endoteliais durante o crescimento tumoral pela ligação às quinases receptoras de tirosinas específicas. Vários estudos mostram o valor prognóstico de *VEGF* e seu papel na promoção da invasão e no comportamento agressivo de tumores de cabeça e pescoço^{40,41,42}.

As metaloproteínas (MMPs) são enzimas proteolíticas dependentes de zinco que degradam a maioria dos componentes da

Quadro 1. Alterações moleculares em câncer de cabeça e pescoço*

Cromossomo	Cromossomo	Alteração	Frequência(%)	Genes associados	Significado
3q11-qter	3q11-qter	Ganho	37-71	AIS (p40/73)	Carcinogênese e fenótipo transformado
7p12-p22	7p12-p22	Ganho	34-47	EGFR	Crescimento e fenótipo agressivo
8q13-q24.3	8q13-q24.3	Ganho	27-50	MYC, PTK2	Adesão e regulação do crescimento
11q13	11q13	Ganho	39-61	CICLINA D1, EMS, FGF3, FGF4	Progressão do ciclo celular, migração, regulação do crescimento
20q12-q13.2	20q12-q13.2	Ganho	33-48	BCAS1, ZNF217	Fenótipo agressivo
3p12-p24	3p12-p24	Perda	53-72	FHIT	Supressão de tumor
8pter-p21	8pter-p21	Perda	62-43	Desconhecidos	Suposta supressão tumoral
9p21-p24	9p21-p24	Perda	39-67	Proteínas p16, p15, p18, p19	Progressão do ciclo celular, senescência
18q	18q	Perda	58-59	DCC, DPC4, MADR2, P15, SCCA1, SCCA2, PAI2, PAI3	Pobre prognóstico
17p13	17p13	Perda ou mutação	55	TP53	Regulação do ciclo celular, apoptose

* Adaptado de Le & Giaccia, 2003 (24).

matriz extracelular incluindo colágeno, elastina e fibronectina. A degradação da matriz de colágeno é importante para a invasão de tecidos subjacentes e metástases⁴³. Várias MMPs possuem expressão elevada em câncer de cabeça e pescoço incluindo MMP-2⁴⁴, MMP-8⁴⁵, MMP-9⁴⁶ e MMP-13⁴⁷. MMP-2 e MMP-9 e desempenham um papel importante na carcinogênese de cabeça e pescoço por degradar o colágeno tipo IV, o principal componente da membrana basal. Alguns estudos mostram uma correlação significativa entre a expressão de MMP-9 e baixa sobrevida em pacientes com câncer de cabeça e pescoço³⁷.

O gene *TP53* (*tumor protein p53*), mapeado em 17q13, está envolvido em muitas funções celulares, incluindo a manutenção da estabilidade genômica, progressão do ciclo celular, diferenciação celular, reparo a danos no DNA e apoptose. A produção da proteína é aumentada na célula em resposta a danos no DNA, induzindo a parada do ciclo celular na transição G1/S. Se o dano não for reparado, p53 leva a célula à apoptose. Na presença de mutações deste gene, o produto gênico é frequentemente presente em altas concentrações. No câncer de cabeça e pescoço, são relatadas mutações em 33 a 59% dos casos, perdas alélicas em 38% e expressão aumentada da proteína em 37 a 76%^{32,47}.

A detecção de mutações da p53 nas margens cirúrgicas ou nos nódulos linfáticos cervicais considerados histologicamente livres da doença, pode auxiliar na localização das células cancerígenas persistentes, no sangue ou na medula óssea, na ausência de doença clínica, radiológica e histopatológica. Isto poderia teoricamente evidenciar a necessidade de uma terapia adjuvante²³. A expressão elevada da proteína p53 nos tumores primários é considerada um sinal preditivo de sobrevida reduzida em função de sua associação com a recorrência de tumores primários e secundários²⁰.

A expressão elevada de *c-ERBB-2* (*HER-2*), gene codificador do receptor para o fator de crescimento epidérmico, localizado no cromossomo 17, observada em 75% dos pacientes com câncer de cabeça e pescoço, também foi correlacionada à baixa sobrevida. Expressão diferencial de outros genes como aqueles rela-

cionados com a matriz extracelular, adesão, motilidade, inflamação e inibição da protease tem contribuído para o desenvolvimento de carcinomas oral e faríngeo metastáticos e não-metastáticos⁴⁸. A análise dos padrões de metilação (hipometilação e hipermetilação) de genes específicos também pode ser utilizada para diagnóstico precoce^{24,29}.

Genes que codificam enzimas envolvidas na biotransformação de carcinógenos têm sido associados ao desenvolvimento do câncer de cabeça e pescoço. Dois genes em particular, *GSTT1* e *GSTM1*, que codificam enzimas pertencentes à família das glutatíon S-transferases (GSTs), parecem relevantes para a suscetibilidade ao carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço, pois atuam na detoxificação de metabólitos reativos de substâncias carcinógenas da fumaça do tabaco⁴⁹. Os estudos dos polimorfismos *GSTT1* e *GSTM1* realizados em carcinomas de cabeça e pescoço são contraditórios. Vários autores demonstram uma associação com o genótipo nulo [-] *GSTM1*^{50,51,52,53,54,55} enquanto outros não^{56,57,58,59,60}. Para o genótipo nulo [-] *GSTT1* também foi demonstrada uma relação em alguns casos^{51,52} e ausência da mesma em outros^{56,57,59,60}. Desse modo, a variabilidade individual em genes relacionados aos processos de ativação e detoxificação metabólica parece crucial na suscetibilidade ao câncer de cabeça e pescoço.

Considerações finais

A detecção de alterações moleculares pode auxiliar no diagnóstico e no tratamento do câncer de cabeça e pescoço, o que tem estimulado a busca de biomarcadores com aplicações clínicas potenciais. A era da genômica e da proteômica, com o desvendamento do genoma humano tem melhorado significativamente a compreensão da fisiologia dos tumores sólidos resultando na rápida identificação de novos alvos moleculares para o diagnóstico, prevenção e tratamento do câncer de cabeça e pescoço²⁴

Referências bibliográficas

1. Instituto Nacional do Câncer. Incidência de câncer na cavidade oral no Brasil. [citado 2005 Nov 20]. Disponível em: <http://www.inca.gov.br>
2. Döbrossy L. Epidemiology of head and neck cancer: magnitude of the

problem. *Cancer Metastasis Rev* 2005;24(1):9-17.

3. Iamaroon A, Pattanaporn K, Pongsiriwet S, Wanachantararak S, Prapayastok S, Jittidecharaks S, et al. Analysis of 587 cases of oral squamous cell carcinoma in northern Thailand with a focus on young people. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2004; 33(1):84-8.
4. Llewellyn CD, Linklater K, Bell J, Johnson NW, Warnakulasuriya S. An analysis of risk factors for oral cancer in young people: a case-control study. *Oral Oncol* 2004;40(3):304-13.
5. Gilroy JS, Morris CG, Amdur RJ, Mendenhall WM. Impact of young age on prognostic for head and neck cancer: a matched-pair analysis. *Head Neck* 2005;27(4):269-73.
6. Subdo J, Bryne M, Mao L, Lotan R, Reith A, Kildal W, et al. Molecular based treatment of oral cancer. *Oral Oncol* 2003;39(8):749-58.
7. Casiglia J, Woo SB. A comprehensive review of oral cancer. *Gen Dent* 2001;49(1):72-82.
8. Kim ES, Hong WK, Khuri FR. Chemoprevention of aerodigestive tract cancers. *Annu Rev Med* 2002;53:223-43.
9. Braakhuis BJ, Leemans CR, Brakenhoff RH. Expanding fields of genetically altered cells in head and neck squamous carcinogenesis. *Semin Cancer Biol* 2005;15(2):113-20.
10. McMahon S, Chen AY. Head and neck cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2003;22(1):21-4.
11. Franceschi S, Bidoli E, Herrero R, Munoz N. Comparison of cancers of the oral cavity and pharynx worldwide: etiological clues. *Oral Oncol* 2000;36(1):106-15.
12. Zender CA, Petruzzelli GJ. Why do patients with head and neck squamous cell carcinoma experience distant metastases: can they be prevented? *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2005;13(2):101-4.
13. Syrjänen S. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer. *J Clin Virol* 2005;32 Suppl 1:S59-66.
14. Ahrendt SA, Chowm JT, Yang SC, Wu L, Zhang MJ, Jen J et al. Alcohol consumption and cigarette smoking increase the frequency of p53 mutations in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2000;60(12):3155-9.
15. Brennan JA, Boyle JO, Koch WM, Goodman SN, Hruban RH, Eby YJ et al. Association between cigarette smoking and mutation of the p53 gene in squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 1995;332(11):712-7.
16. Foulkes WD, Brunet JS, Sieh W, Black MJ, Shenouda G, Narod SA. Familial risks of squamous all cell carcinoma of the head and neck: retrospective case-control study. *BMJ* 1996;313(7059):716-21.
17. Kjaerheim K, Gaard M, Andersen A. The role of alcohol, tobacco, and dietary factors in upper aerogastric tract cancers: a prospective study of 10,900 Norwegian men. *Cancer Causes Control* 1998;9(1):99-108.
18. Bradley PJ, Raghavan U. Cancers presenting in the head and neck during pregnancy. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;12(2):76-81.
19. Sanchez MJ, Martinez C, Nieto A, Castellsague X, Quintana MJ, Bosch FX et al. Oral and oropharyngeal cancer in Spain: influence of dietary patterns. *Eur J Cancer Prev* 2003;12(1):49-56.
20. Chin D, Boyle GM, Theile DR, Parsons PG, Coman WB. Molecular introduction to head and neck cancer (HNSCC) carcinogenesis. *Br J Plast Surg* 2004;57(7):595-602.
21. Carvalho AL, Singh B, Spiro RH, Kowalski LP, Shah JP. Cancer of the oral cavity: a comparison between institutions in a developing and a developed nation. *Head Neck* 2004;26(1):31-8.
22. Ang KK, Berkey BA, Tu X, Zhang HZ, Katz R, Hammond EH et al. Impact of epidermal growth factor receptor expression on survival and pattern of relapse in patients with advanced head and neck carcinoma. *Cancer Res* 2002;62(24):7350-6.
23. Awada A, Lalami Y. Molecular markers, molecular-targeted therapies and taxanes: how to integrate the progress into clinical research and practice for the management of head and neck cancers. *Curr Opin Oncol* 2005;17(3):209-11.
24. Le QT, Giaccia AJ. Therapeutic exploitation of the physiological and molecular genetic alterations in head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 2003;9(12):4287-95.
25. Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer: signalling mechanisms and therapeutic opportunities. *Eur J Cancer* 2001;37 Suppl 4:S3-8.
26. Mendelsohn J. The epidermal growth factor receptor as a target for cancer therapy. *Endocr Relat Cancer* 2001;8(1):3-9.
27. Harari PM. Epidermal growth factor receptor inhibition strategies in oncology. *Endocr Relat Cancer* 2004;11(4):689-708.
28. Kalyankrishna S, Grandis JR. Epidermal growth factor receptor biology in head and neck cancer. *J Clin Oncol* 2006;24(17):2666-72.
29. Estecio MR, Youssef EM, Rahal P, Fukuyama EE, Góis-Filho JF, Maniglia JV, Goloni-Bertollo EM, Issa JP, Tajara EH. LHX6 is a sensitive methylation marker in head and neck carcinomas. *Oncogene* 2006;25(36):5018-26.
30. Namazie A, Alavi S, Olopade OI, Pauletti G, Aghamohammadi N, Aghamohammadi M et al. Cyclin D1 amplification and p16 (MTS1/CDK41) deletion correlate with poor prognosis in head and neck tumors. *Laryngoscope* 2002;112(3):472-81.
31. Kövesi G, Szende B. Prognostic value of cyclin D1, p27, and p63 in oral leukoplakia. *J Oral Pathol Med* 2006;35(5):274-7.
32. Gleich LL, Salamone FN. Molecular genetics of head and neck cancer. *Cancer Control* 2002;9(5):369-78.
33. Shibakita M, Tachibana M, Dhar DK, Kotoh T, Kinugasa S, Kubota H et al. Prognostic significance of Fas and Fas ligand expressions in human esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 1999;5(9):2464-9.
34. Sun T, Miao X, Zhang X, Tan W, Xiong P, Lin D. Polymorphisms of death pathway genes FAS and FASL in esophageal squamous-cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2004;96(13):1030-6.
35. Bel Hadj Jrad B, Mahfouth W, Bouaouina N, Gabbouj S, Ahmed SB, Ltaïef M et al. A polymorphism in FAS gene promoter associated with increased risk of nasopharyngeal carcinoma and correlated with anti-nuclear autoantibodies induction. *Cancer Lett* 2006;233(1):21-7.
36. Hardisson D. Molecular pathogenesis of head and neck squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2003;260(9):502-8.
37. Thomas GR, Nadiminti H, Regalado J. Molecular predictors of clinical outcome in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Exp Pathol* 2005;86(6):347-63.
38. Maeda T, Matsumura S, Hiranuma H, Jikko A, Furukawa S, Ishida T et al. Expression of vascular endothelial growth factor in human oral squamous cell carcinoma: its association with tumour progression and p53 gene status. *J Clin Pathol* 1998;51(10):771-5.
39. Lim SC. Expression of c-erbB receptors, MMPs and VEGF in head and neck squamous cell carcinoma. *Biomed Pharmacother* 2005;59 Suppl 2:S366-9.
40. Tae K, El-Naggar AK, Yoo E, Feng L, Lee JJ, Hong WK et al. Expression of vascular endothelial growth factor and microvessel density in head and neck tumorigenesis. *Clin Cancer Res* 2000;6(7):2821-8.
41. Artese L, Rubini C, Ferrero G, Fioroni M, Santinelli A, Piattelli A. Microvessel density (MVD) and vascular endothelial growth factor expression (VEGF) in human oral squamous cell carcinoma. *Anticancer Res* 2001;21(1B):689-95.
42. Schimming R, Reusch P, Kuschnierz J, Schmelzeisen R. Angiogenic factors in squamous cell carcinoma of the oral cavity: do they have prognostic relevance? *J Craniomaxillofac Surg* 2004;32(3):176-81.
43. Werner JA, Rathcke IO, Mandic R. The role of matrix metalloproteinases in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Clin Exp Metastasis* 2002;19(4):275-82.
44. Yoshizaki T, Maruyama Y, Sato H, Furukawa M. Expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 correlates with activation of matrix metalloproteinase-2 and predicts poor prognosis in tongue squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2001;95(1):44-50.
45. Moilanen M, Pirila E, Grenman R, Sorsa T, Salo T. Expression and regulation of collagenase-2 (MMP-8) in head and neck squamous cell carcinomas. *J Pathol* 2002;197(1):72-81.
46. Franchi A, Santucci M, Masini E, Sardi I, Paglierani M, Gallo O. Expression of matrix metalloproteinase 1, matrix metalloproteinase 2, and matrix metalloproteinase 9 in carcinoma of the head and neck. *Cancer* 2002;95(9):1902-10.
47. Canevari RA, Rogatto SR. Câncer de cabeça e pescoço. In: Ferreira CG, Casalli JCR, organizadores. *Oncologia molecular*. 1ª ed. São Paulo:

Atheneu; 2004 . p.189-203.

48. Schmalbach CE, Chepeha DB, Giordano TJ, Rubin MA, Teknos TN, Bradford CR et al. Molecular profiling and the identification of genes associated with metastatic oral cavity/pharynx squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004;130(3):295-302.
49. Evans AJ, Henner WD, Eilers KM, Montalto MA, Wersinger EM, Andersen PE et al. Polymorphisms of GSTT1 and related genes in head and neck cancer risk. *Head Neck* 2004;26(1):63-70.
50. Gronau S, Koeni-Greger D, Jerg M, Riechelmann H. Gene polymorphisms in detoxification enzymes as susceptibility factor for head and neck cancer? *Otolaryngol Head Neck Surg* 2003;128(5):674-80.
51. Amador AG, Righi PD, Radpour S, Everett ET, Weisberger E, Langer M et al. Polymorphisms of xenobiotic metabolizing genes in oropharyngeal carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002;93(4):440-5.
52. Sreelekha TT, Ramadas K, Pandey M, Thomas G, Nalinakumari KR, Pillai MR. Genetic polymorphism of CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 genes in Indian oral cancer. *Oral Oncol* 2001;37(7):593-8.
53. Drummond SN, Gomez RS, Motta Noronha JC, Pordeus IA, Barbosa AA, De Marco L. Association between GSTT-1 gene deletion and the susceptibility to oral squamous cell carcinoma in cigarette-smoking subjects. *Oral Oncol* 2005;41(5):515-9.
54. Rossit ARB, Conforti-Froes NDT. Suscetibilidade genética, biometabolismo e câncer. *Rev Soc Bras Cancerol* 2000;10:22-30.
55. Kietthubthew S, Sriplung H, Au WW. Genetic and environmental interactions on oral cancer in Southern Thailand. *Environ Mol Mutagen* 2001;37(2):111-6.
56. Chang HW, Ling GS, Wei WI, Yuen AP. Smoking and drinking can induce p15 methylation in the upper aerodigestive tract of healthy individuals and patients with head and neck squamous cell carcinoma.

Cancer 2004;101(1):125-32.

57. To-Figueras J, Gené M, Gómez-Catalán J, Piqué E, Borrego N, Caballero M et al. Microsomal epoxide hydrolase and glutathione S-transferase polymorphism in relation to laryngeal carcinoma risk. *Cancer Lett* 2002;187(1-2):95-101.
58. Li R, Folsom AR, Sharrett AR, Couper D, Bray M, Tyroler HA. Interaction of the glutathione S-transferase genes and cigarette smoking on risk of lower extremity arterial disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Atherosclerosis* 2001; 154(3):729-38.
59. Goloni-Bertollo EM, Biselli JM, Correa LCL, Maniglia JV, Rossit ARB, Ruiz MT. et al., Avaliação da influência da nulidade dos genótipos *GSTT1* e *GSTM1* na carcinogênese em cabeça e pescoço. *Rev Assoc Med Bras* (in press), 2006.
60. Biselli JM, Leal RCAC, Ruiz MT, Maniglia JV, Rossit ARB, Goloni-Bertollo EM et al. Polimorfismos *GSTT1* e *GSTM1* em indivíduos tabagistas com carcinoma espinocelular de cabeça e pescoço. *Rev Bras Otorinolaringol*. No prelo 2006.

Correspondência:

Eny Maria Goloni Bertollo

Av. Brigadeiro Faria Lima, 5416 Bloco U6 – Laboratório UPGEM

15090-000 – São José do Rio Preto - SP

Tel: (17)3201-5720 Fax: (17)32015708

e-mail: eny.goloni@famerp.br
