

Cáncer oral: oncogenes y virus como posibles factores etiológicos

Sabater Recolons M M*, Viñals Iglesias H**, Caballero Herrera R***

RESUMEN

La aparición del cáncer oral se ha vinculado a la presencia de multitud de factores de riesgo. En este artículo se intentan dar unas nociones sobre la posible relación de determinadas alteraciones genéticas y de los virus como factores etiológicos.

Palabras Clave: Cáncer oral, oncogenes, virus, factores etiológicos.

SUMMARY

Oral cancer is a process related to many risk factors. This paper tries to clarify the possibility of genetic disturbs and virus as ethiological factors.

Key Words: Oral cancer, oncogenes, virus, ethiological factors.

Aceptado para publicación: Septiembre 1996.

* Médico Estomatólogo. ABS Santa Eulàlia Sud, L'Hospitalet de Llobregat.

** Médico Estomatólogo. Profesora Asociada de Medicina Bucal de la Facultad de Odontología. Universidad de Barcelona.

*** Médico Estomatólogo. Profesor Titular de Odontología Integrada de Adultos. Facultad de Odontología. Universidad de Barcelona.

Sabater Recolons M M, Viñals Iglesias H, Caballero Herrera R: Cáncer oral: oncogenes y virus como posibles factores etiológicos. *Av Odontoestomatol* 1999; 15: 215-22.

INTRODUCCIÓN

La patogénesis del cáncer es un proceso multifactorial. Se considera que el cáncer y concretamente el cáncer oral, se debería a los efectos combinados de factores causales, o de predisposición, que en un momento determinado, bajo condiciones favorables y en individuos predispuestos, puede desarrollarse (1, 2, 3, 4).

El cáncer oral constituye la sexta neoplasia más frecuente en el mundo. Su mortalidad es todavía alta y en determinados países, como la India y el Sudeste Asiático, representa entre un 40% y un 50% del total (5, 2, 6). Un trabajo publicado en el año 1993 en nuestro país por Serra y col. (7), sobre la mortalidad por cáncer orofaríngeo en España, indica que las tasas de mortalidad están sufriendo un incremento sobre todo en las edades más

jóvenes (menores de 65 años), y se observa también este fenómeno en otros países europeos.

Según la estadística publicada en el año 1986 por la Sociedad Americana del Cáncer, el cáncer oral representa un 4% en el varón y un 2% en la mujer (8, 9).

En Europa, el cáncer bucal representa del 2 al 3% de todos los tumores malignos, correspondiendo el 80% al carcinoma epidermoide (6, 9, 10).

En España, según datos aportados por la Asociación Española contra el Cáncer en el año 1992, el cáncer oral representa el 7% de todos los tumores malignos (incluyendo faringe y labios) (9).

Existen multitud de factores de riesgo relacionados con la aparición de cáncer oral. Entre ellos, son muy importantes el tabaco y el alcohol, juntos o por separado. Pero además existen otros como son los factores dietéticos, los agentes químicos, los físicos, las radiaciones ionizantes, las infecciones víricas, los factores inmunológicos e individuales y las alteraciones genéticas (1, 2, 9, 10, 11, 12, 13, 14). Así, se ha evidenciado una progresiva disminución de la capacidad de los linfocitos para responder a determinados antígenos en las fases iniciales de un carcinoma y también en la leucoplasia (4).

ALTERACIONES GENÉTICAS EN EL CÁNCER ORAL

El cáncer es el resultado de una serie de accidentes genéticos al azar, sujetos a una selección natural, por lo que no es probable que se produzcan dos casos de cáncer genéticamente iguales (4, 11).

El mecanismo para que se inicie un cáncer suele ser la afectación del ADN celular, lo que produce una proliferación celular incontrolada.

Las células cancerosas presentan como característica fundamental el desafío de los controles normales de la división celular (4, 9, 11, 15, 16, 17). Además, muestran una variabilidad anormal en el tamaño y la forma de sus núcleos, así como en el número y estructura de sus cromosomas (4, 15).

Muchos cánceres presentan defectos morfológicos celulares que pueden ser característicos y permiten identificarlos. Un ejemplo serían algunos carcinomas escamosos

orales en los que se han detectado anomalías que afectan a los cromosomas I y II (11).

En general, se cree que los cánceres aparecen por un proceso en el cual una población inicial de células descendientes de una única mutación evolucionan mal a través de ciclos sucesivos de mutación y de selección natural. Esta evolución implica un gran componente de azar y generalmente requiere muchos años (4, 11).

Una sola aplicación de un agente cancerígeno no produce por sí sola un tumor o ninguna otra anomalía permanente, aunque sí puede originar una alteración genética latente (4).

Algunos factores actúan como iniciadores tumorales mutagénicos, provocando directamente un cambio genético (es el caso del humo del tabaco). Otros, en cambio, posiblemente actúen como promotores tumorales, ayudando a incrementar la población de células obligadas a progresar a través de sucesivas mutaciones hasta conseguir un cáncer en pleno desarrollo (4, 15).

Los genes pueden actuar mediante dos vías para producir una lesión cancerosa (4):

- Afectando el sistema inmunológico del huésped de manera que éste sea incapaz de reconocer y eliminar tumores incipientes.
- Alterando la capacidad de reparación del ADN celular.

Existen dos mecanismos capaces de producir una proliferación celular incontrolada (4):

1. *Convertir en hiperactivo un gen estimulador.* Este tipo de mutación tiene un efecto dominante (es suficiente con que el tipo de cambio afecte a una de las dos copias del gen de la célula). El gen alterado se denomina ONCOGÉN y su alelo normal PROTO-ONCOGÉN.

2. *Inactivar un gen inhibidor.* Este tipo de mutación es recesiva (para que la célula quede libre de inhibición es necesario que las dos copias del gen en la célula estén inactivadas). Al gen perdido se le llama GEN SUPRESOR O ONCOSUPRESOR.

ONCOGENES

Los oncogenes son genes presentes en las células huma-

nas. Han sufrido mutaciones de modo que o bien dan lugar a productos anormales, o bien han perdido los factores que habitualmente regulan su actividad (4, 11, 15, 16, 18).

Los oncogenes pueden estar relacionados con la carcinogénesis, pero no son suficientes para la formación de un tumor, ya que la carcinogénesis es un proceso multifactorial. Algunos oncogenes pueden estar relacionados con la fase de iniciación del tumor, otros con la fase de promoción y otros con la de progresión y formación de metástasis (4, 11, 15, 18).

Actualmente se han identificados más de 50 oncogenes, y se denominan mediante una abreviación de tres letras según el animal o el tumor sobre el que fueron por primera vez identificados (igual ocurre con los proto-oncogenes) (11, 16, 19, 20):

- familia ras: H-ras, K-ras, N-ras
- myc, myb, fos, jun, int-2
- ski, src, ros, abl
- bcl-1, bcl-2

La asociación de un oncogén a una determinada neoplasia depende en principio de poder aislar el oncogén amplificado o mutado en ésta. En ocasiones, la detección de niveles elevados de oncoproteínas o la presencia de ARN mensajero suele ser suficiente (11).

Los oncogenes producen ONCOPROTEÍNAS, y éstas pueden actuar de distintas formas (20):

- Alterando el intercambio de información a través de la membrana celular.
- Alterando la adhesividad celular.
- Alterando la replicación y transcripción del ADN (oncogenes myc, myb, fos y ski). El oncogén myc se encuentra activado en varias neoplasias, incluyendo el carcinoma oral y el linfoma de Burkitt, y produce la oncoproteína P-62, que regula la proliferación celular (11).

PROTO-ONCOGENES

Son los genes presentes en las células normales. Controlan el crecimiento, la proliferación y la diferenciación celular.

Dan lugar a proteínas que actúan a varios niveles (11, 20):

- Estimulando el crecimiento celular.
- Como receptores celulares para los factores de crecimiento.
- En la transducción de señales entre células, o sea, regulando la actividad del ARN mensajero.

Algunos agentes carcinogénicos, como los virus, pueden afectar a los proto-oncogenes; es el caso de las radiaciones ionizantes y algunos agentes químicos, que los pueden activar, con lo cual sufren mutaciones, transducciones, translocaciones y amplificaciones del ADN (4, 11, 15, 19, 20).

ONCOSUPRESORES

Los oncosupresores actúan normalmente como reguladores de la proliferación celular. Han sido demostrados en los cromosomas 13 y 17. Pueden actuar regulando la actividad de los oncogenes o mediante proteínas que antagonicen con los efectos producidos por las onco-proteínas (11, 15, 16, 18).

Mutaciones o deleciones en los oncosupresores pueden dar lugar a proteínas supresoras defectuosas y por tanto incapaces de actuar en la supresión tumoral. Hay dos oncosupresores principales el Rb (retinoblastoma gen) y el P-53 (15, 16, 21).

El número de genes implicados en la etiopatogénesis del cáncer en el ser humano está en continuo aumento y, concretamente, la proteína P-53 se relaciona con múltiples alteraciones malignas (11, 22). Por este motivo se cree que podría ser útil su detección como marcador genético en individuos que presenten lesiones con elevado riesgo de malignizar (13, 15, 16, 22).

La alteración genética más frecuente en el cáncer humano se encuentra situada en el brazo corto del cromosoma 17, en la zona donde se encuentra el oncosupresor P-53, el cual produce una proteína que al unirse al ADN celular influye negativamente en el crecimiento y división de la célula (11, 13, 15, 16, 21, 22).

En su estado normal, el P-53 bloquea la progresión de las células en la fase G1 de la replicación. Sus formas mutantes fracasan en este bloqueo e incluso tendrían un efecto promotor de los procesos tumorales (15, 16, 21, 22).

La proteína P-53 normal tiene una vida media muy corta, lo que dificulta su detección histoquímica, pero la mutación del gen P-53 suele dar lugar a una proteína más estable que se puede detectar con más facilidad (13, 15, 21, 22).

Se ha demostrado una superexpresión de la proteína P-53 en carcinomas de cabeza y cuello, carcinomas orales y lesiones premalignas. Además, hay una correlación entre la expresión del P-53 y pacientes fumadores y bebedores importantes. Posiblemente, este oncosupresor sea mutado por carcinógenos presentes en el tabaco y en el alcohol (11, 13, 16, 21, 22).

RELACIÓN ENTRE ONCOGENES/ ONCOSUPRESORES Y EL CARCINOMA ESCAMOSO ORAL

La mayoría de las anomalías cromosómicas en los carcinomas de cabeza y cuello son alteraciones estructurales del cariotipo. Los cromosomas más afectados son: 1, 3, 9, 11, 13, 14 y 17 (16, 18).

Los oncogenes pueden tener un papel importante en el proceso de iniciación tumoral, promoción y/o progresión del mismo. La familia de los «oncogenes ras», constituye un hallazgo frecuente en las células cancerosas humanas (18, 20, 23).

Se han encontrado niveles elevados de oncogenes ras mutados en carcinomas orales de la población de la India (35%), que contrasta con la población de USA y Europa, probablemente debido al hábito de masticar hojas de betel, un tipo especial de tabaco (23, 24).

Asimismo, genes de la familia ras mutados han sido detectados en un 15% de los tumores de la especie humana, aunque la incidencia varía según el tipo de tumor, siendo la más elevada la del adenocarcinoma pancreático (19).

Se ha detectado la presencia de algunos oncogenes y oncosupresores en relación con lesiones orales malignas. Por ejemplo:

- *H-ras* mutados en aproximadamente un tercio de los carcinomas orales relacionados con el tabaco, y en un 4% de otros tumores orales (11, 20). Un estudio llevado a cabo en la Universidad de Belgrado en el año 1994 (19), encuentra elevado el número de los genes H-ras

mutados en carcinomas localizados en el bermellón labial.

- En el oncogén *H-ras*, localizado en el cromosoma 11, se encuentra en niveles elevados en los tumores orales de pacientes de la India, sobre todo los relacionados con el tabaco y en estadios medios y avanzados (11, 23, 24), mientras que no se han detectado valores importantes en pacientes procedentes de Estados Unidos y Europa Occidental (23, 24).

- El oncogén *int-2* está localizado en el sector q13, un lugar de alteración frecuente en los carcinomas orales. Este oncogén puede estar amplificado en las células del carcinoma oral, tanto a nivel tisular como en la metástasis. No se encuentra en la mucosa oral normal adyacente al tumor. Suele detectarse en estadios avanzados y se relaciona con un peor pronóstico (16, 20).

- Los oncogenes *c-erb-1*, *c-erb-2*, *bcl-1*, *K-ras*, *N-ras*, *c-myc* y *Nmyc* pueden detectarse en más de un 40% de carcinomas orales humanos (11, 16, 20, 24, 25).

- La proteína *P-21* se encuentra en el tejido displásico oral y en el tejido canceroso oral, pero muy pocas veces en la mucosa oral normal (16).

- La presencia de la proteína *P-53* mutada es un hallazgo frecuente en el desarrollo del carcinoma escamoso oral: esta proteína también se ha detectado en lesiones leucoplásicas (15).

- Los niveles de receptores del factor de crecimiento están elevados en el carcinoma oral y esto se refleja en un aumento de la expresión del oncogén *c-erb-B1* (11).

- Algunos estudiosos han demostrado histoquímicamente la presencia de proteínas dependientes en los oncogenes *H-ras*, *K-ras* y *N-ras* en carcinomas escamosos de cabeza y cuello (23).

- La amplificación o sobreexpresión del receptor para el factor de crecimiento EGFR, del oncogén *int-2* y el oncogén *myc* parecen ser hallazgos frecuentes en el carcinoma escamoso oral (16).

FACTOR EPIDERMÓIDE O FACTOR EPITELIAL DE CRECIMIENTO (EGF)

El factor epitelial de crecimiento (EGF) es un polipéptido

do con capacidad para inducir mitosis en las células epiteliales. Actúa uniéndose a un receptor propio situado en la superficie de los queratinocitos y de otras células epiteliales (EGFR) regulando su crecimiento y su diferenciación (11, 16, 20, 25).

El EGF se encuentra en pequeñas cantidades en la mucosa oral normal, localizándose en la zona superior de la lámina propia, cerca del epitelio.

El EGF está elevado en leiones orales displásicas y malignas de origen epitelial (leucoplasias y en la mayoría de carcinomas orales) (20).

VIRUS

En los últimos años se presta mucha atención a determinadas partículas virales como posibles factores etiológicos en el desarrollo tumoral. Entre ellas son importantes el virus del herpes simple (VHS) tipo I y tipo II y el virus del papiloma humano (VPH) (1, 3, 9, 26).

Algunos autores postulan que los VHS actuarían en fases precoces de la enfermedad (1, 3). En este sentido, en algunos trabajos se ha demostrado la presencia de genomas de VHS tipo II con mucha mayor frecuencia en lesiones preinvasivas que en neoplasias avanzadas. Galloway y Mcdougall, en el año 1983 (3), explican estos hallazgos mediante una hipótesis que denominaron *hit and run*, según la cual los genomas de los VHS no serían necesarios para mantener un estado de transformación celular, sino que sólo están presentes de forma temporal, aunque dejan en la célula epitelial una serie de cambios que inducen la transformación oncogénica.

Posteriormente, González Moles y col. (3), en el año 1993, analizan la expresión de genomas de VHS y VPH en el carcinoma escamoso oral y en la mucosa oral normal, y no encuentran ninguna expresión de VHS tras estudiar 27 carcinomas epidermoides y 13 mucosas orales normales.

Estos resultados se oponen a los de Scully y col. (3, 16) del año 1986, quienes, utilizando técnicas de hibridación *in situ*, encontraron ARN complementario para ADN de VHS en el 50% de los carcinomas escamosos de cavidad oral estudiados.

Recientemente se ha detectado una elevada prevalencia

de anticuerpos frente al virus del herpes tipo 6 en pacientes con carcinoma oral al compararlos con grupos controles, aunque faltan estudios para averiguar el significado etiopatológico de estos hallazgos (16).

En cuanto a los adenovirus, no hay evidencia de antígenos frente a estos virus en tejidos tumorales (16).

El virus de Epstein-Barr (VEB) es un virus DNA que pertenece a la familia de los herpes virus y que se asocia a la presencia de carcinoma anaplásico nasofaríngeo, de linfoma de Burkitt, a la mononucleosis infecciosa y a la leucoplasia vellosa en pacientes afectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (16, 26, 27, 28). Sin embargo, también se han encontrado receptores del VEB en la mucosa oral normal así como en lesiones orales malignas, según refieren Er-Jia Mao y C. Smith en un trabajo publicado en el año 1993 (27). Otros autores, como Scully, no han encontrado antígenos ni ADN viral del VEB en tejido carcinomatoso oral (16, 28).

Tampoco hay evidencia de asociación entre carcinoma oral y citomegalovirus ni el virus varicela-zóster (16).

PAPILOMA HUMANO Y CARCINOMA ORAL

La primera posibilidad de que el virus del papiloma humano (VPH) tuviera relevancia como factor etiológico en el cáncer oral fue formulada por Syrjänen y col. en 1983 (29, 30, 31).

Los VPH son virus ADN que producen lesiones hiperplásicas, papilomatosas y escamo-verruccosas en la piel y mucosas del organismo humano y en muchos animales (14, 16, 17, 29, 32).

El VPH está involucrado en multitud de lesiones benignas orales, tales como los papilomas escamosos, los condilomas, la verruga vulgar, la hiperplasia epitelial focal, la hiperplasia fibrosa, el liquen plano y la leucoplasia (29, 30, 33).

Se han identificado más de sesenta tipos diferentes de VPH, y en general, éstos se denominan con las iniciales de su huésped natural (29, 32). Algunos VPH se han vinculado como factores etiológicos en el desarrollo de lesiones precancerosas y en el carcinoma escamoso oral (26, 29, 31, 33, 34).

Los VPH tienen un tropismo especial para el epitelio escamoso. Se cree que las células basales del epitelio son objetivos prioritarios para la infección por VPH. Los virus podrían tener acceso directo a las células basales a través de heridas o abrasiones del epitelio (1, 17, 29, 32).

Las infecciones por VPH presentan histológicamente unas células características que nos dan el diagnóstico patognómico y que se denominan koilocitos o *balloon cells*, y que deben ser diferenciadas de otras células vacuoladas sobre todo cuando se encuentran en cavidad oral (29, 30).

La respuesta inmunológica desempeña un papel importante en las infecciones por VPH. Se ha demostrado una gran incidencia de infecciones cutáneas y genitales por VPH en individuos con inmunodeficiencia primaria (por ejemplo, epidermodisplasia verruciforme) o secundaria (por ejemplo, SIDA, trasplantes renales...) (32). Tanto los mecanismos inmunológicos celulares como los humorales están involucrados en la persistencia o regresión de los carcinomas escamosos inducidos, al parecer, por VPH (30, 31, 32, 34, 35).

Se ha detectado un aumento de los tumores malignos en individuos inmunodeprimidos tanto por el VIH como por trasplantes de órganos (9, 34, 35), así como en pacientes farmacológicamente inmunodeprimidos, lo cual evidencia el importante papel de la respuesta inmune en la protección del huésped frente a transformaciones malignas (9, 16, 35).

Se ha visto que un 45% de pacientes con inmunodepresión sistémica durante un período de 10 años desarrollan tumores malignos, principalmente linfomas no Hodgkin, sarkoma de Kaposi, carcinoma hepatocelular y tumores cutáneos (35).

La asociación entre el VPH y los tumores malignos es cada vez más evidente, aunque es poco probable que la infección por VPH sea capaz por sí sola de dar lugar a un carcinoma en un individuo inmunocompetente (12, 14, 31, 32, 34).

A pesar de los diferentes tipos de VPH identificados, sólo algunos de ellos tienen especial predilección por el epitelio escamoso oral. Así, por ejemplo, se sabe que los tipos 6 y 11 se encuentran principalmente en lesiones orales benignas, los tipos 16 y 18 son más frecuentes en

los carcinomas epidermoides y los tipos 13 y 32 lo son en la hiperplasia epitelial focal. Otros tipos de VPH se han identificado en las leucoplasias, el liquen plano y las queratosis del fumador (5, 12, 14, 16, 26, 29, 31, 32, 34).

CORRESPONDENCIA

Dra. M M Sabater
C/ Mandri, 21, 3.º, 1.ª
08034 Barcelona

BIBLIOGRAFÍA

1. García-Pola M J, García Martín J M, López Arranz J S: Factores etiológicos del cáncer oral. Revista Europea de Odontología 1991; III (2): 103-10.
2. Bermudo Aniño L, Torres Corpas J, Valiente Álvarez A: Estudio retrospectivo del cáncer oral en la provincia de Málaga. 1988-1991. Rev Esp Cirug Oral y Maxilof 1994; 16 (3): 137-47.
3. González Moles M A, Ruiz Ávila I, Correa Vázquez I, Ceballos Salobreña A: Presencia de genomas de papilomavirus humanos y virus del herpes simple tipos I y II en carcinoma escamoso de cavidad oral. Estudio mediante hibridación de DNA in situ. Av Odontoes-tomatol 1993; 9: 583-8.
4. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raft M y col.: Biología molecular de la célula. Ed. Omega, SA. 2.ª ed. Barcelona 1994; pp. 1265-98.
5. Jala H, Sanders C M, Prime S S, Scully C, Maitland N J: Deyection of human papillomavirus tipe 16 DNA in oral squames from normal young adults. J Oral Pathol Med 1992; 21: 465-70.
6. Aguirre J M, Echebarría M A, Martínez Conde R: El odontólogo/estomatólogo frente al precáncer oral. Rec Act Odontoes-tomatol Esp 1994; 44 (10): 47-64.
7. Serra Majem LI, La Vecchia C, Lucchini F, Ramón J M, Franceschi S, Ribas L, Cuenca E: Tendencia de la mortalidad por cáncer orofaríngeo en España, 1955-1989. Archivos de Odontología 1993; 9 (4): 169-74.
8. Oliveras J M, Montes J, Gutiérrez J L: Epidemiología

- del cáncer bucal en el suroeste español. Análisis de 619 casos. *Revista Europea de Odontostomatología* 1993; V (5): 283-8.
9. Donado Rodríguez M, Sada García-Lomas J M, Martínez González J M, Donado Azcárate A: Actitud del profesional de la salud bucodental ante el cáncer bucal. *Rev Act Odontostomatol Esp* 1995; 55 (6): 19-31.
 10. Harada H, Osaki Y, Kukita T, Kuriso K, Tashiro H, Yasumoto S: Monoclonal antibody G6K 12 specific for membrane-associated differentiation marker of human stratified squamous epithelia and squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 145-52.
 11. Scully C: Oncogenes, onco-suppressors, carcinogenesis and oral cancer. *Br Dent J* 1992; 173: 53-9.
 12. Woods K V, Shillitoe E J, Spitz M R, Schantz S P, Adler-Storthz K: Analysis of human papillomavirus DNA in oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 101-8.
 13. Slootweg P J, Koole R, Hordijk G J: The presence of P-53 protein in relation to Ki-67 cellular proliferation marker in head and neck squamous cell carcinoma and adjacent dysplastic mucosa. *Oral Oncol, Eur J Cancer* 1994; (30 B): 2: 138-41.
 14. González Moles M A, Ruiz Ávila I, Giner Martínez M, Ceballos A: Consideraciones sobre las implicaciones pronósticas de los papilomavirus humanos en leucoplasias orales. *Av Odontostomatol* 1993; 9: 473-6.
 15. Langdon J D, Partridge M: Expression of the tumour suppression gene P-53 in oral cancer. *Br J Oral Maxillofac Surgery* 1992; 30: 214-20.
 16. Scully C: Oncogenes, tumour suppressors and viruses in oral squamous carcinoma. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 337-47.
 17. Chimenos E, Ferre L, Jané E, López J y col.: Medicina Bucal: revisión bibliográfica del año 1992. *Archivos de Odontostomatología* 1993; 9 (6): 273-96.
 18. Byrne M: Prognostic value of various molecular and cellular features in oral squamous cell carcinomas: a review. *J Oral Pathol Med* 1991; 20: 413-20.
 19. Ilić J, Pujic N, Dedovic N, Nikolic Z, Petrovic V, Dimitrijevic B: High incidence of H-ras oncogene mutations in squamous cell carcinoma of lip vermilion. *J Oral Pathol Med* 1994; 23: 298-301.
 20. Scully C, Burkhardt A: Tissue markers of potentially malignant human oral epithelial lesions. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 246-56.
 21. Piffkó J, Bánkfalvi A, Öfner D, Berens A, Tkotz T, Joos U, Böcker W, Schmid K W: Expression of P-53 protein in oral squamous cell carcinomas and adjacent non-tumorous mucosa of the floor of the mouth: an archival immunohistochemical study using wet autoclave pretreatment for antigen retrieval. *J Oral Pathol Med* 1995; 24: 337-42.
 22. Warnakulasuriya K A A S, Johnson N W: Expression of P-53 mutant nuclear phosphoprotein in oral carcinoma and potentially malignant oral lesions. *J Oral Pathol Med* 1992; 21: 404-8.
 23. McDonald J S, Jones H, Pavelic Z P, Pavelic L J, Stambrook P J, Gluckman J L: Immunohistochemical detection of de H-ras, K-ras and N-ras oncogenes in squamous cell carcinomas of the head and neck. *J Oral Pathol Med* 1994; 23: 342-6.
 24. Warnakulasuriya K A A S, Chang S E, Johnson N W: Point mutations in H-ras oncogene are detectable in formalin-fixed tissues of oral squamous cell carcinomas, but are infrequent in British cases. *J Oral Pathol Med* 1992; 21: 225-9.
 25. Yamada T, Tagaki M, Shioda S: Evaluation of epidermal growth factor receptor in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Oral Surg Med Oral Pathol* 1992; 73: 67-70.
 26. Nagao Y, Sata M, Tanikawa K, Itoh K, Itoh K, Kamenaya T: High prevalence of hepatitis C virus antibody and RNA in patients with oral cancer. *J Oral Pathol Med* 1995; 24: 354-60.
 27. Mao Er-Jia, Smith C J: Detection of Epstein-Barr virus (EBV) DNA by the polymerase chain reaction

- (PCR) in oral smears from healthy individuals and patients with squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 12-17.
28. Scully C: The immunology of cancer of the head and neck with particular reference to the oral cancer oral *Surg* 1992; 53 (2): 157-67.
 29. Chang F, Syrjänen S, Kellokoski J, Syrjänen K: Humanpapilloma virus (HPV) infections and their associations with oral disease. *J Oral Pathol Med* 1991; 20: 305-17.
 30. Syrjänen K, Syrjänen S, Lamberg M, Pyrhönen S, Nuutinen J: Morphological and immunohistochemical evidence suggesting human papillomavirus (HPV) involvement in orals squamous cell carcinogenesis. *Int J Oral Surg* 1983; 12: 418-24.
 31. Ostwald C, Müller P, Barten M, Rutsatz K y col.: Human papillomavirus DNA in oral squamous cell carcinoma and normal mucosa. *J Oral Pathol Med* 1994; 23: 220-3.
 32. González Moles M A, Ruiz Ávila I, Urquía M, Nogales F, Ceballos A: Papilomavirus humano y carcinoma escamoso. Revisión bibliográfica. *Av Odontoestomatol* 1992; 8: 361-373.
 33. Bouquot J E: Revisión de la leucoplasia oral: conceptos clínicos para la década de los 90. *Archivos de Odontoestomatología* 1992; 8 (19): 50-4.
 34. Howell R E, Gallant L: Human papillomavirus type 16 in an oral squamous carcinoma and its metastasis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 74: 469-72.
 35. Thomas D W, Seddon S V, Sheperd J P: Systemic immunosuppression and oral malignancy: a report of a case and review of the literatura. *Br J Oral Maxillofac Surgery* 1993, 31: 391-393.