

CERCETAREA SEMNIFICAȚIEI PROGNOSTICE
A PARAMETRILOR CLINICI, HISTOLOGICI
ȘI IMUNOHISTOCHEMICI ÎN CARCINOMUL SCUAMOS
DE BUZĂ

RESEARCH OF PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF
CLINICAL, HISTOLOGICAL AND
IMMUNOHISTOCHEMICAL PARAMETERS IN LIP
SQUAMOUS CELL CARCINOMA

V. PĂTRAȘCU*, ANDREEA-OANA ENACHE*, RALUCA NICULINA CIUREA**

Rezumat

Carcinomul scuamos (CS) de buză este o tumoră malignă de origine epitelială, infiltrantă și distructivă, cu potențial de metastazare pe cale limfatică și/sau sanguină. El reprezintă 15-30% din CS ale extremității cefalice și 1/5 din cancerele tractului aerodigestiv superior.

Noi am efectuat un studiu clinic, histopatologic și imunohistochimic pe un lot format din 43 bolnavi spitalizați și tratați în Clinica Dermatologie Craiova în anii 2013-2014.

Bolnavi și metodă. Fiecărui bolnav i s-a întocmit o fișă, cuprinzând date de identificare, mediul de proveniență, profesia, factorii de risc, istoricul bolii, localizarea și diametrul tumorii, forma clinică, rezultatul examenului histopatologic și al investigațiilor imunohistochimice. Pentru studiul histopatologic piesele au fost prelucrate prin tehnica clasică de includere la parafină și colorate cu hematoxilină-eozină. Evaluarea histopatologică a vizat: varietatea carcinomului scuamos; gradul de diferențiere; prezența invaziei perineurale și perivascularare; asocierea cu leziuni displazice la periferia tumorii; prezența celulelor maligne reziduale la nivelul marginilor de siguranță chirurgicală.

Summary

Lip Squamous cell carcinoma (SCC) is an infiltrating and destructive malignant epithelial tumor, with potential for lymphatic and/or blood metastasizes, which represents 15-30% of all SCC of the cephalic extremity and 1/5 of the upper aerodigestive tract cancers.

We have performed a clinical, histopathological and immunohistochemical study, on a group of 43 patients hospitalized and treated in Craiova Dermatology Clinic in 2013-2014.

Patients and Methods. For each patient was elaborated an observation sheet including identification data, origin environment, profession, risk factors, medical history, location and tumor diameter, clinical form, histopathological examination and immunohistochemical investigations.

For the histopathological study the pieces were processed by the classical technique with paraffin embedding and sections were stained with Hematoxylin-Eosin. The histopathological evaluation focused on: the variety of squamous cell carcinoma; the degree of differentiation; the presence of perivascular and perineural invasion; the association with dysplastic lesions

* Disciplina Dermatovenerologie, Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova.
Department of Dermatology, University Of Medicine and Pharmacy from Craiova.

** Disciplina Morfopatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova.
Department of Pathology, University Of Medicine and Pharmacy from Craiova.

Am efectuat investigații imunohistochimice la zece cazuri, utilizând ca anticorpi p53, VEGF și Ki67. Am folosit sistemul de vizualizare LSAB2 (Dako, cod K0675). Developarea s-a realizat cu ajutorul cromogenului 3,3'-diaminobenzidina tetrahidroclorid (Dako, cod K3468). Controlul negativ s-a realizat prin omiterea anticorpului primar.

Rezultate

În toate cele 43 de cazuri, tumora a fost localizată la nivelul buzei inferioare. Dintre acestea, 31 de cazuri le-am întâlnit la bărbați, restul celor 12 cazuri au fost prezente la femei. Din rural proveneau 37 de cazuri. Vârsta bolnavilor a fost cuprinsă între 40 și 87 ani (vârsta medie 70,86 ani). Forme clinice: CS vegetant ulcerat (13 cazuri), ulcero-infiltrativ (10 cazuri), nodular (9 cazuri), keratozic (5 cazuri), ulcerat (4 cazuri), carcinom in situ (2 cazuri).

Sub aspect histopatologic a predominat CS moderat diferențiat (23 cazuri), urmat de varianta bine diferențiată (13 cazuri) și slab diferențiată (2 cazuri). La 3 bolnavi am întâlnit carcinom verrucos și ceilalți doi bolnavi prezentau carcinom in situ. Invasia perineurală și perivasculară a fost prezentă la 4 bolnavi, iar la 26 de cazuri au fost prezente modificări de tip displazic la periferia tumorii. Am întâlnit la 5 bolnavi celulele maligne reziduale la nivelul marginilor de siguranță chirurgicală.

Investigațiile imuno-histochimice au relevat că marcajul pozitiv VEGF a fost prezent în toate cazurile studiate, expresia fiind intens pozitivă la 8 cazuri (80%), moderat pozitivă la 2 cazuri (20%). Marcajul p53 este nuclear și a fost observat în toate cazurile, intens pozitiv difuz în 6 cazuri (60%) și pozitiv focal în 4 cazuri (40%). Marcajul Ki-67 este nuclear și 9 cazuri au prezentat pozitivitate în >50% din celule (90%), doar într-un caz pozitivitatea fiind prezentă în 10-50% dintre celulele tumorale.

Concluzii

- CS de buză afectează cu predilecție buza inferioară la bărbații trecuți de 60 de ani, cu expunere prelungită la soare și care fumează;

- Debutul CS de buză are loc frecvent pe leziuni cu potențial de malignizare, îndeosebi pe cheilite cronice keratozice, relevând importanța diagnosticului precoce și a tratamentului adecvat pentru cheilitele preblastomatoase;

- Examenul histopatologic evaluează gradul de diferențiere, invazia tumorală perineurală și perivasculară, profunzimea invaziei și prezența celulelor maligne reziduale la nivelul marginii de siguranță, apreciindu-se astfel stadiul progresiei tumorale și prognosticul CS de buză;

- Investigațiile imunohistochimice privind expresia VEGF, p53 și Ki67 în celulele tumorale, au arătat pozitivitate în toate cele 10 cazuri studiate, ceea ce sugerează prognosticul și capacitatea de progresie ale acestora, contând pentru a evalua evoluția tumorală.

Cuvinte cheie: carcinom scuamos de buză, factori de prognostic, p53, VEGF, Ki67.

Intrat în redacție: 5.08.2014

Acceptat: 8.09.2014

in the periphery of the tumor; the presence of residual malignant cells around the edges of surgical safety.

Ten cases have been processed immunohistochemical using the following antibodies p53, VEGF and Ki67. As visualization system it was used LSAB2 (Dako, code K0675) and as chromogen 3, 3'- diaminobenzidine tetrahydrochloride (Dako, code K3468). Negative controls were obtained by omitting the primary antibodies.

Results

In all 43 cases, the tumor was located at the lower lip level. Of these, 31 cases were at men and the rest of the 12 cases were present in women. From rural area were 37 cases. The age of the patients ranged between 40 and 87 years (mean age 70.86 years). Clinical forms: ulcero-vegetant type of SCC (13 cases), ulcerative infiltrative type (10 cases), nodular type (9 cases), keratotic type (5 cases), ulcerate SCC (4 cases) and 2 cases were found to be carcinoma in situ.

In terms of histopathological examination moderately differentiated SCC was predominant (23 cases), followed by well differentiated type (13 cases) and poorly differentiated (2 cases).

In 3 patients we found verrucous carcinoma and the other two patients presented carcinoma in situ. Perineural and perivascular invasion was present in four patients, and in 26 cases were dysplastic changes at tumor periphery. At five patients we found residual malignant cells around the edges of surgical safety.

Immunohistochemical investigations have revealed that positive expression for VEGF was present in all the studied cases, being intensely positive in 8 cases (80%) and moderately positive in 2 cases (20%). The expressions of p53 is nuclear and was present in all the studied cases, was diffuse positive in 6 cases (60%) and focal positive in 4 cases (40%). The expressions of Ki-67 is nuclear, in 9 cases showed positivity in over 50% of the tumor cells (90%), in one case, the positivity being present in 10-50% of the tumor cells.

Conclusions

- SCC of the lip affects with predilection men past 60 years with long-standing exposure to the sun and who smoke;

- SCC of the lip onset occurs frequently on lesions with a malignant potential, especially in chronic keratotic cheilitis, highlighting the importance of early diagnosis and adequate treatment for preblastomatous cheilitis;

- The histopathological exam assesses the degree of differentiation, perineural and perivascular tumor invasion, the depth of invasion and the presence of residual malignant cells around the edges of surgical safety, thus appreciating the stage of tumor progression and the prognosis of SCC of the lip;

- Immunohistochemical investigations on the expression of VEGF, p53 and Ki67 in tumor cells showed positivity in all the 10 studied cases, suggesting their outcome and their progression capacity, counting to assess tumor development.

Keywords: Lip Squamous cell carcinoma, prognostic factors, p53, VEGF, Ki67.

Received: 5.08.2014

Accepted: 8.09.2014

Introducere

Carcinomul scuamos (CS) de buză este o tumoră malignă de origine epitelială, infiltrantă și distructivă, cu potențial de metastazare pe cale limfatică și/sau sanguină. El reprezintă 15-30% din CS ale extremității cefalice și 1/5 din cancerele tractului aerodigestiv superior.^{1,2} Se estimează că anual apar în SUA aproximativ 40000 de cazuri noi de carcinoame scuamoase orale și circa 500000 de cazuri noi în întreaga lume. În SUA sunt diagnosticate în fiecare an 3500-4000 de noi cazuri de cancer de buză, iar incidența este de 2 %000.³

Cancerul de buză reprezintă o localizare cu risc mult mai crescut de metastazare decât cancerul scuamos cutanat, pentru care s-au conturat mai mulți factori de prognostic (clinici și histopatologici).⁴

P53 este o proteină implicată în controlul ciclului celular ce determină apoptoza celulelor tumorale și oprește proliferarea lor, prin menținerea unui status hipofosforilat al proteinei retinoblastomului, în timp ce Ki67 este prezent în nucleul aflat în diviziune.⁵

VEGF este o moleculă proangiogenică importantă în creșterea permeabilității vaselor de sânge, creșterii, proliferării, migrării și diferențierii celulelor endoteliale, fiind capabil să faciliteze extravazarea celulelor tumorale prin degradarea enzimatică a matricei extracelulare în zona marginală a tumorilor și, prin urmare, dezvoltarea metastazelor.^{6,7}

Noi am efectuat un studiu clinic, histopatologic și imunohistochimic pe un lot format din 43 bolnavi spitalizați și tratați în Clinica Dermatologie Craiova în anii 2013-2014.

Bolnavi și metodă

Fiecărui bolnav i s-a întocmit o fișă, cuprinzând date de identificare, mediul de proveniență, profesia, factorii de risc, istoricul bolii, localizarea și diametrul tumorii, forma clinică, rezultatul examenului histopatologic și al investigațiilor imunohistochimice.

Pentru studiul histopatologic piesele au fost prelucrate prin tehnica clasică de includere la parafină și colorate cu hematoxină-eozină. Evaluarea histopatologică a vizat: varietatea carcinomului scuamos; gradul de diferențiere;

Introduction

Lip Squamous cell carcinoma (SCC) is an infiltrating and destructive malignant epithelial tumor, with potential for lymphatic and/or blood metastasizes, which represents 15-30% of all SCC of the cephalic extremity and 1/5 of the upper aerodigestive tract cancers.^{1,2} It is estimated that in the U.S. annually occur approximately 40,000 new cases of oral squamous cell carcinomas and about 500,000 new cases worldwide. In the US are diagnosed each year 3500-4000 new cases of lip cancer, and the incidence is 2% 000.³

Lip SCC represents a location with a higher risk to metastasize than cutaneous SCC for which were outlined more prognostic factors (clinical and histopathological).⁴

P53 is a protein involved in cell cycle control which causes apoptosis of tumor cells and stops their proliferation; by maintain the retinoblastoma protein in its active hypophosphorylated state, while Ki67 is present in the nucleus located in the division.⁵

VEGF is considered the most important proangiogenic molecule. It increase blood vessels permeability, the growth, proliferation, migration and differentiation of endothelial cells, being capable to facilitate the extravasation of tumor cells by enzymatic degradation of the extracellular matrix in the marginal area of the tumor, and therefore, leads to the development of metastases.^{6,7}

We have performed a clinical, histopathological and immunohistochemical study, on a group of 43 patients hospitalized and treated in Craiova Dermatology Clinic in 2013-2014.

Patients and Methods

For each patient was elaborated an observation sheet including identification data, origin environment, profession, risk factors, medical history, location and tumor diameter, clinical form, histopathological examination and immunohistochemical investigations.

For the histopathological study the pieces were processed by the classical technique with paraffin embedding and sections were stained with Hematoxylin-Eosin. The histopathological evaluation focused on: the variety of squamous cell carcinoma; the degree of differentiation; the



Fig. 1. Forma vegetantă ulcerată
Fig. 1. Ulcero-vegetant form



Fig. 2. Carcinom scuamos buză forma ulceroinfiltrativă
Fig. 2. Squamous cell carcinoma ulcero infiltrative form

prezența invaziei perineurale și perivasculară; asocierea cu leziuni displazice la periferia tumorii; prezența celulelor maligne reziduale la nivelul marginilor de siguranță chirurgicală.

Am efectuat investigații imuno-histochimice pentru 10 cazuri utilizând ca anticorpi:

- p53 (DO-7) cu diluție 1:50 și demascare în Tris-EDTA, la un pH 9;
- VEGF (policlonal) în diluție 1:200 și demascare Citrate buffer, la un pH 6;
- Ki67 (MIB1) în diluție 1:100 și demascare Tris-EDTA, la un pH 9.

Am folosit sistemul de vizualizare LSAB2 (Dako, Redox, Romania, cod K0675) iar dezvoltarea s-a realizat cu ajutorul cromogenului 3,3'-diaminobenzidina tetrahidroclorid (Dako, Redox, Romania, cod K3468). Controlul negativ s-a realizat prin omiterea anticorpului primar.

Rezultate

În toate cele 43 de cazuri, tumora a fost localizată la nivelul buzei inferioare. Dintre acestea, 31 de cazuri le-am întâlnit la bărbați, restul celor 12 cazuri au fost prezente la femei. Din rural proveneau 37 de cazuri. Vârsta bolnavilor a fost cuprinsă între 40 și 87 ani (vârsta medie 70,86 ani).

Leziunile s-au încadrat în categoriile T_1 – 38 cazuri și T_2 – 5 cazuri.

Formele clinice întâlnite au fost: 13 cazuri forma vegetantă ulcerată (Fig.1), 10 cazuri forma ulcero-infiltrativă (Fig.2), 9 cazuri forma nodulară (Fig.3), 5 cazuri forma keratozică

presence of perivascular and perineural invasion; the association with dysplastic lesions in the periphery of the tumor; the presence of residual malignant cells around the edges of surgical safety.

Ten cases have been processed immuno-histochemical using the following antibodies:

- p53 (DO-7), dilution 1:50; antigen retrieval in Tris-EDTA, pH 9;
- VEGF (policlonal) dilution 1:200; microwave antigen retrieval in citrate buffer, pH 6;
- Ki67 (MIB1) dilution 1:100; antigen retrieval in Tris-EDTA, pH 9.

As visualization system it was used LSAB2 (Dako, Redox, Romania, code K0675) and as chromogen 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (Dako, Redox, Romania, code K3468). Negative controls were obtained by omitting the primary antibodies.

Results

In all 43 cases, the tumor was located at the lower lip level. Of these, 31 cases were at men and the rest of the 12 cases were present in women. From rural area were 37 cases. The age of the patients ranged between 40 and 87 years (mean age 70.86 years).

In the category T_1 were included 38 cases and 5 cases in T_2 category.

Concerning the clinical forms: 13 patients had ulcero-vegetant form of SCC (Fig.1), 10 cases – ulcerative infiltrative form (Fig.2), 9 cases – nodular form (Figure 3), 5 cases- keratotic form



Fig. 3. Forma nodulară
Fig. 3. Nodular form



Fig. 4. Forma keratozică
Fig. 4 Keratotic form



Fig. 5. Forma ulcerată
Fig. 5. Ulcerated form

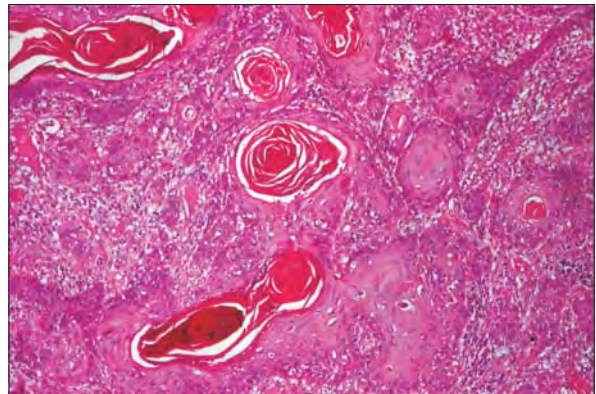


Fig. 6. CS bine diferențiat, perle de cheratină,
col. HE, ob.X40

Fig. 6. Well differentiated SCC, keratotic pearls, HE, X40

(Fig.4), 4 cazuri forma ulcerată (Fig.5) și două cazuri s-au dovedit a fi carcinom in situ.

În urma examenului histopatologic, diagnosticul a fost de carcinom scuamos moderat diferențiat pentru 23 cazuri, urmat de varianta bine diferențiată (13 cazuri) și slab diferențiată (2 cazuri) (Fig 6, 7, 8). La 3 bolnavi am întâlnit carcinom verucos și ceilalți doi bolnavi prezentau carcinom in situ. Invazia perineurală și perivasculară a fost prezentă la 4 bolnavi, iar la 26 de cazuri au fost prezente modificări de tip displazic la periferia tumorii. Am întâlnit la 5 bolnavi celulele maligne reziduale la nivelul marginilor de siguranță chirurgicală.

Investigațiile imuno-histochemice au relevat că marcajul pozitiv VEGF a fost prezent în toate cazurile studiate, expresia fiind intens pozitivă la 8 cazuri (80%), moderat pozitivă la 2 cazuri (20%) (Fig.9, 10). Marcajul p53 este nuclear și a fost

(Fig. 4), 4 cases- ulcerate SCC (Figure 5) and 2 cases were found to be carcinoma in situ.

Following histopathological exam the diagnosis was: moderately differentiated squamous cell carcinoma in 23 cases, followed by well-differentiated form (13 cases) and poorly differentiated form (2 cases) (Fig 6, 7, 8).

In 3 patients we found verrucous carcinoma and the other two patients presented carcinoma in situ. Perineural and perivascular invasion was present in four patients, and in 26 cases were dysplastic changes at tumor periphery. At five patients we found residual malignant cells around the edges of surgical safety.

Immunohistochemical investigations have revealed that positive expression for VEGF was present in all the studied cases, being intensely positive in 8 cases (80%) and moderately positive in 2 cases (20%) (Fig. 9,10).

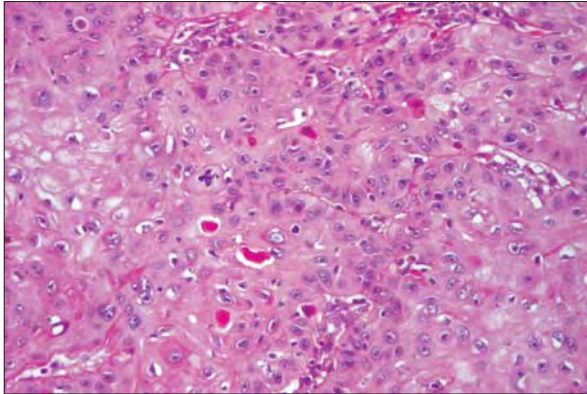


Fig. 7. CS moderat diferențiat, cheratinizări unicelulare, col. HE, ob.X100
Fig. 7. Moderately differentiated SCC, unicellular keratinization, HE, X100

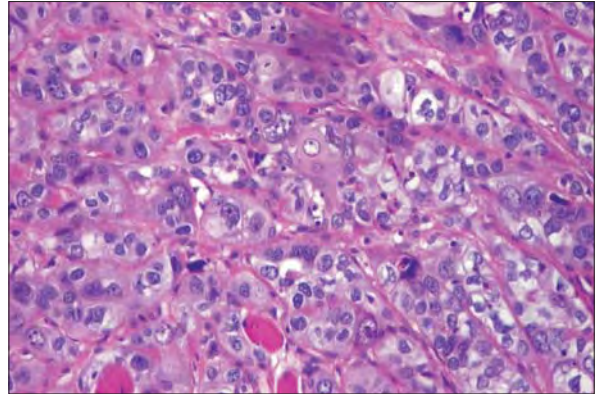


Fig. 8. CS slab diferențiat, monstroozități nucleare, col. HE, ob.X200
Fig. 8. Poorly differentiated SCC, nuclear monstrosities, HE, X200

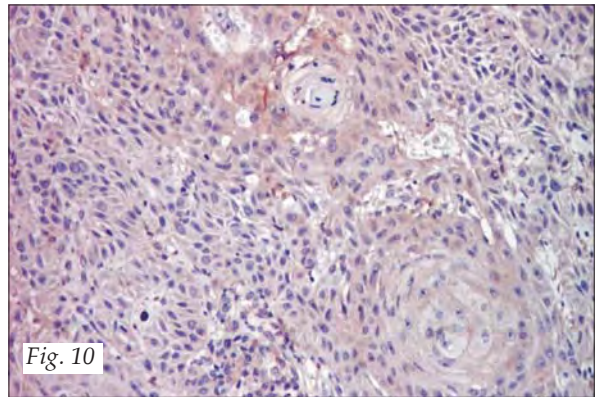
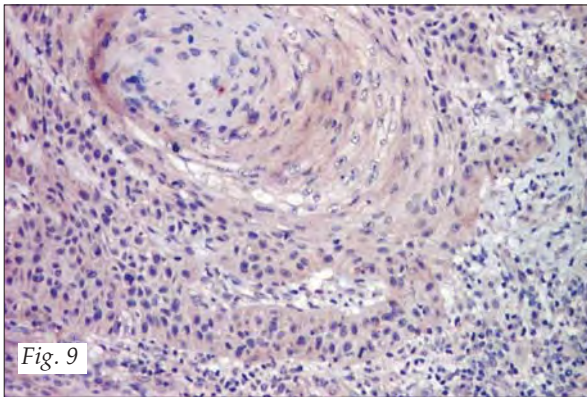


Fig. 9, 10. VEGF moderat pozitiv în celulele tumorale
Fig. 9, 10. VEGF moderately positive in tumor cells

observat în toate cazurile, intens pozitiv difuz în 6 cazuri (60%) și pozitiv focal în 4 cazuri (40%) (Fig. 11). Marcajul Ki-67 este nuclear și 9 cazuri au prezentat pozitivitate în >50% din celule (90%) (Fig. 12), doar într-un caz pozitivitatea fiind prezentă în 10-50% dintre celulele tumorale (Fig. 13).

Discuții

Tendința de extensie caracterizează CS de buză și se manifestă fie în suprafață, fie în profunzime, fie în ambele dimensiuni. Acest proces este în raport cu mai mulți factori, unii țin de tumoră, alții de terenul bolnavului. În prima fază este vorba de evoluția strict localizată a CS de buză, după care putem întâlni metastaze în

The expressions of p53 was present in all the studied cases, was diffuse positive in 6 cases (60%) and focal positive in 4 cases (40%) (Fig.11). The expressions of Ki-67 is nuclear, in 9 cases showed positivity in over 50% of the tumor cells (90%) (Fig 12), in one case, the positivity being present in 10-50% of the tumor cells (Fig 13).

Discussions

Lip SCC is characterized by the tendency of extension, either in the surface or in the depth, or in both dimensions. This process is related to several factors, some related to the tumor and others related to the patient. In the first phase it's shown a strictly localized evolution of lip SCC, after which we can found metastases in regional

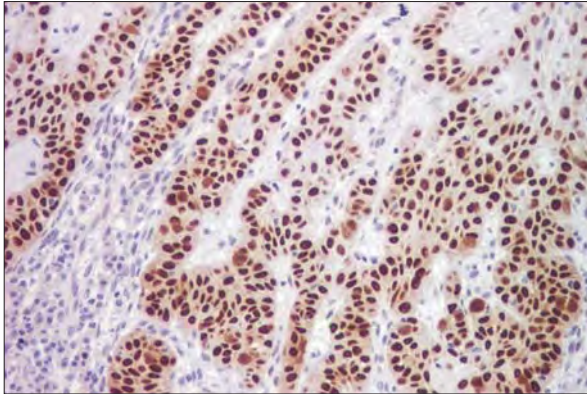


Fig. 11. p53 intens pozitiv difuz (marcaj nuclear)
Fig. 11. Intense positive and diffuse nuclear staining for p53

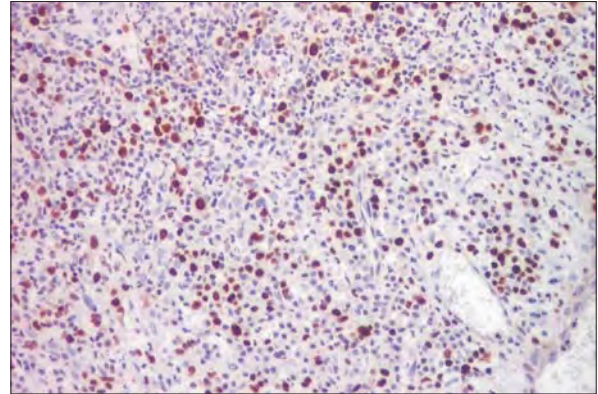


Fig. 12. ki67 pozitiv în >90% din celulele tumorale
Fig. 12. ki67 positive in >90% of tumor cells

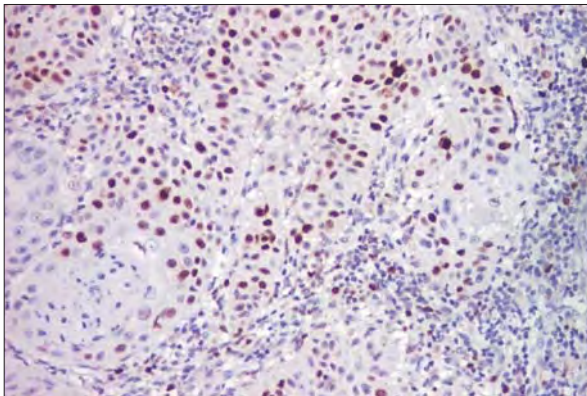


Fig. 13. ki67 pozitiv în >50% din celulele tumorale
Fig. 13. ki67 positive in >50% of tumor cells

ganglionii limfatici regionali, afectarea oaselor de vecinătate și mai rar metastaze la distanță.

Cancerul de buză prezintă un risc mult mai crescut de metastazare decât cancerul scuamos cutanat, pentru care s-au conturat mai mulți factori de prognostic (clinici și histopatologici). Factori de histoprognotic constau în: forma histopatologică, gradul de diferențiere, dimensiunea, profunzimea invaziei, prezența invaziei perineurale și perivascularare. Factorii de prognostic clinici sunt: localizarea, talia tumorii, infiltrarea în profunzime, apariția semnelor neurologice de invazie perineurală și imuno-depresia.⁸

Un alt factor care poate influența agresivitatea tumorală este factorul de creștere al endoteliului vascular (VEGF), proteina a cărei producție este stimulată în condiții de hipoxie și care promovează îndeosebi creșterea permeabilității vasculare și proliferarea celulelor endoteliale. În carcinoamele scuamoase de la nivelul capului și gâtului, nivelul crescut al VEGF

lymph nodes, the affecting of adjacent bones and more rarely distant metastases.

Lip SCC has a higher risk to metastasis than cutaneous squamous cell carcinoma, for which there are studies that outlined several prognostic factors (clinical and histopathological). Histoprognotic factors are: histopathological type, degree of differentiation, size, depth of invasion, presence of perivascular and perineural invasion.

Clinical prognostic factors are: location, size of tumor, infiltration depth, neurological signs of perineural invasion and immunosuppression.⁸

Another factor that can influence the aggressiveness of the tumor is Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), a protein whose production is stimulated under conditions of hypoxia, and who especially promote the raise of vascular permeability and the proliferation of endothelial cells. In squamous cell carcinoma of the head and neck, increased levels of VEGF are associated with an increased rate of local

se asociază cu o rată crescută de recidive locale, metastazare la distanță și o durată redusă de supraviețuire. Aceste cercetări deschid noi perspective terapeutice, alături de cele clasice, în încercarea de a îmbunătăți rata de supraviețuire a pacienților cu cancere orale, inclusiv cele de buză.⁹

Forma sălbatică a proteinei p53 joacă un rol important în „arestarea” celulelor cu ADN-ul deteriorat care trec de la faza G1 la faza S a ciclului celular și inducerea apoptozei lor, modificarea expresiei fiind demonstrată în diferite localizări ale celulelor maligne. Se cunoaște că inactivarea genelor supresoare tumorale precum p53 și activarea proto-oncogenelor, așa cum sunt ciclina D1 și EGFR, duc la dereglări ale ciclului celular și la promovarea neoplaziei. Procentul de pozitivitate pentru p53 în carcinoamele scuamoase orale variază în diferite studii de la 0-100%, fiind raportate corelații între expresia sa și severitatea leziunii.¹⁰⁻¹³

În studiul nostru, expresia Ki67 a fost identificată în toate cazurile și a fost corelată cu gradul de displazie și gradul de diferențiere a carcinoamelor scuamoase de buză. A prezentat valori ridicate și intensitate mai mare la partea de invazie tumorală. Rezultatele sunt în concordanță cu datele din literatura de specialitate, Ki67 dovedindu-se util în evaluarea agresivității tumorale.^{14,15}

Studiile din literatura de specialitate au analizat expresia p53 și Ki67 pe grupuri diferite de pacienți ca număr și semne clinice și histomoleculare. Rezultatele obținute în carcinoamele cavității orale, ale buzei în mod special, sunt mai omogene comparativ cu cele obținute pentru tumori cu alte locații, lucru care poate argumenta utilitatea practică a acestui panel de anticorpi.¹⁶

Concluzii

- CS de buză afectează cu predilecție buza inferioară la bărbații trecuți de 60 de ani, cu expunere prelungită la soare și care fumează;
- debutul CS de buză are loc frecvent pe leziuni cu potențial de malignizare, îndeosebi pe cheilite cronice keratozice, relevând importanța diagnosticului precoce și a tratamentului adecvat pentru cheilitele preblastomatoase;
- examenul histopatologic evaluează gradul de diferențiere, invazia tumorală perineurală și

recurență, distanță metastasis and a low rate of survival. These researches provide for new therapeutic perspectives, alongside the classics ones, in an attempt to improve the survival of patients with oral cancers, including lip cancer.⁹

The wild-type p53 protein plays an important role in the arrest of cells with damaged DNA which pass from the G1 phase to the S phase of the cell cycle and inducing their apoptosis, the modification of the expression being demonstrated in various sites of malignant cells. It is known that inactivation of the tumor suppressor genes such as p53 and the activation of proto-oncogenes such as the cyclin D1 and EGFR, leading to disorders of the cell cycle and promotes neoplasia. The percentage of positivity for p53 in oral SCC vary in different studies from 0 to 100%, being reported correlations between p53 expression and the severity of the lesion.¹⁰⁻¹³

In our study, the Ki67 expression was identified in all cases and was correlated with the degree of dysplasia and differentiation of oral SCC. Ki 67 had high values and a higher intensity in the part of tumoral invasion. The results are in accordance to the literature data, Ki-67 proved to be usefull in the assessment of tumor aggressiveness.^{14,15}

In some studies were analyzed the expression of p53, and Ki67 in different groups of patients as number and histomolecular and clinical signs. The results obtained in carcinomas of the oral cavity, especially lip, are more homogeneous than those obtained for tumors with other locations, thing which can argue the practical utility of this panel of antibodies.¹⁶

Conclusions

- SCC of the lip affects with predilection men past 60 years with long-standing exposure to the sun and who smoke;
- SCC of the lip onset occurs frequently on lesions with a malignant potential, especially in chronic keratotic cheilitis, highlighting the importance of early diagnosis and adequate treatment for preblastomatous cheilitis;
- The histopathological exam assesses the degree of differentiation, perineural and perivascular tumor invasion, the depth of invasion and the presence of residual malignant cells around the edges of surgical

perivasculară, profunzimea invaziei și prezența celulelor maligne reziduale la nivelul marginii de siguranță, apreciindu-se astfel stadiul progresiei tumorale și prognosticul CS de buză;

- Investigațiile imunohistochimice privind expresia VEGF, p53 și Ki67 în celulele tumorale, au arătat pozitivitate în toate cele 10 cazuri studiate, ceea ce sugerează prognosticul și capacitatea de progresie ale acestora, contând pentru a evalua evoluția tumorală.

safety, thus appreciating the stage of tumor progression and the prognosis of SCC of the lip;

- Immunohistochemical investigations on the expression of VEGF, p53 and Ki67 in tumor cells showed positivity in all the 10 studied cases, suggesting their outcome and their progression capacity, counting to assess tumor development.

Bibliografie/Bibliography

1. Nemes J, Redl P, Boda R, Márton I. Oral squamous cell carcinoma in North-Eastern Hungary. *Fogory Sy* 2006, 99 (4): 161-7.
2. Ezzoubi M, Benbrahim A, Fibri JF, Bahechar N, Boukindel H. Reconstruction after tumour's excision in lip's cancer: report of 100 cases. *Rev. Laringol.Otol.Rhinol (Bord)* 2005; 126(3):141-6.
3. American Cancer Society: Cancer Facts and Figures 2008. Atlanta. Ga: American Cancer Society. 2008. Also available online. Last accessed october 1, 2008.
4. Martin L., Bonerandi J.J. et al. Carcinome épidermoïde cutané (carcinome spinocellulaire). Recomandations de pratique clinique pour la prise en charge diagnostique et thérapeutique. *Ann Dermatol Venereol* 2009, suppl 15: S 166-S 175.
5. Hartwell L. Defects in a cell cycle checkpoint may be responsible for the genomic instability of cancer cells, *Cell*, 1992, 71(4):543-546.
6. Salven P, Heikkilä P, Anttonen A, Kajanti M, Joensuu H, Vascular endothelial growth factor in squamous cell head and neck carcinoma: expression and prognostic significance, *Mod Pathol*, 1997, 10(11):1128-1133.
7. Murray JD, Carlson GW, McLaughlin K, Pennington M, Lynn M, DeRose PB, Williams JK, Cohen C, Tumor angiogenesis as a prognostic factor in laryngeal cancer, *Am J Surg*, 1997, 174(5):523-526.
8. Hiramoto K., Shimizu K., Narita M. Et al. - Squamous cell carcinoma of the lower lip in an elderly patient with Xeroderma pigmentosum, *Asian J Oral Maxillofac Surg*, 2007, 19:222-225.
9. Bozec A, Sudaka A, Toussan N, Fischel JL, Etienne-Grimaldi MC, Milano G. Combination of sunitinib, cetuximab and irradiation in an orthotopic head and neck cancer model. *Ann Oncol*. 2009 Oct; 20(10):1703-7. Epub 2009 Jun 19.
10. Carlos de Vicente J, Junquera Gutiérrez LM, Zapatero AH, Fresno Forcelledo MF, Hernández-Vallejo G, López Arranz JS, Prognostic significance of p53 expression in oral squamous cell carcinoma without neck node metastases, *Head Neck*, 2004, 6(1):22-30.
11. Yuen AP, Lam KY, Chan AC, Wei WI, Lam LK, Ho WK, Ho CM, Clinicopathological analysis of elective neck dissection for N0 neck of early oral tongue carcinoma, *Am J Surg*, 1999, 177(1):90-92.
12. Girod SC, Krämer C, Knüfermann R, Krueger GR, p53 expression in the carcinogenesis in the oral mucosa, *J Cell Biochem*, 1994, 56(4):444-448.
13. Regezi JA, Zarbo RJ, Regev E, Pisanty S, Silverman S, Gazit D, p53 protein expression in sequential biopsies of oral dysplasias and in situ carcinomas, *J Oral Pathol Med*, 1995, 24(1):18-22.
14. Raju B, Mehrotra R, Oijordsbakken G, Al-Sharabi AK, Vasstrand EN, Ibrahim SO, Expression of p53, cyclin D1 and Ki-67 in pre-malignant and malignant oral lesions: association with clinicopathological parameters, *Anticancer Res*, 2005, 25(6C):4699-4706.
15. Motta Rda R, Zettler CG, Cambuzzi E, Jotz GP, Berni RB, Ki-67 and p53 correlation prognostic value in squamous cell carcinomas of the oral cavity and tongue, *Braz J Otorhinolaryngol*, 2009, 75(4):544-549.
16. L. P. Dragomir, Cristiana Simionescu, Cl. Mărgăritescu, A. Stepan, Iuliana Manuela Dragomir, M. R. Popescu, P53, p16 and Ki67 immunoeexpression in oral squamous carcinomas *Rom J Morphol Embryol* 2012, 53(1):89-93.

Conflict de interes
NEDECLARATE

Conflict of interest
NONE DECLARED

Adresa de corespondență: Prof univ. dr. Virgil Pătrașcu, Universitatea de Medicină și Farmacie din Craiova, Strada Petru Rares, Nr. 2-4, 200345, Craiova, România,

Correspondance address: Virgil Patrascu, MD, PhD, University of Medicine and Pharmacy from Craiova, Petru Rares Street, No2-4, 200345, Craiova, Romania
Phone: 004-0724273676, e-mail: vm.patrascu@gmail.com

Notă

Acest articol este rezultatul cercetărilor finanțate de Societatea Română de Dermatologie prin contractul de cercetare nr. 253/06.03.2014.

Acknowledgement

This article is a result of a grant offered by Romanian Society of Dermatology, contract number 253/06.03.2014.