

Il ruolo del fumo di tabacco nella cancerogenesi di campo delle neoplasie del distretto testa-collo

The role of tobacco smoking in field cancerization of head and neck cancer

Luca Giovanni Locatello, Sabrina Licata, Massimo Baraldo

Riassunto

Nel presente lavoro è stato studiato il concetto di "cancerogenesi di campo" nei tumori notoriamente associati al fumo di sigaretta quali le neoplasie del distretto testa-collo. È stata eseguita una revisione sistematica della letteratura per riassumere le attuali conoscenze in merito al ruolo che il tabacco avrebbe nel "condannare" la mucosa delle alte vie aereodigestive. Sono stati analizzati e riassunti i meccanismi molecolari di cancerogenesi, le teorie patogenetiche oggi ritenute valide e le loro implicazioni in termini clinici e di medicina preventiva. Infine, si vogliono sottolineare i vantaggi della cessazione del fumo proprio alla luce dell'origine di questi tumori.

■ **Parole chiave:** cancerogenesi di campo, tabagismo, neoplasie cervico-facciali, secondi tumori primitivi, recidiva.

Abstract

In the present work we investigated the concept of "field carcinogenesis" in the context of cancers known to be associated with cigarette smoking, such as head and neck carcinoma. We performed a systematic review of the literature to summarise the current knowledge about the role that tobacco would play in "condemning" the mucosa of the upper aerodigestive tract. We analysed and summarised the molecular mechanisms of carcinogenesis, the pathogenic theories held valid today and their implications for clinical and preventive medicine. Our aim is to underscore the benefits for patients who stop smoking in light of the origin of these tumors.

■ **Keywords:** field cancerization, smoking, head and neck cancer, second primary tumors, recurrence.

Introduzione

Il consumo di tabacco è considerato tuttora il principale fattore di rischio per lo sviluppo di neoplasie squamocellulari del distretto cervico-facciale (HNSCC, Head and Neck Squamous Cell Carcinoma) [1]. Uno studio caso-controllo ha riconfermato questo dato epidemiologico ormai noto da decenni: dopo aver controllato il confondimento legato all'alcool, è emerso che: 1) il rischio di sviluppare un cancro aumentava quanto maggiore era la frequenza e la dose di tabacco consumato; 2) la pericolosità delle sigarette con filtro era uguale a quella del tabacco masticato o del bidi fumato [2, 3]. Anche il fumo passivo aumenta il rischio di sviluppare HNSCC [1] che rappresenta la sesta neoplasia più frequente a livello mondiale [4]. Dati italiani del 2014 stimano una pre-

valenza di 84.498 maschi e 22.229 donne affette da neoplasie della testa-collo con circa 9.300 nuovi casi attesi ogni anno: nonostante i miglioramenti diagnostico-terapeutici solo il 57% dei pazienti è ancora vivo cinque anni dopo la diagnosi [5]. Questo dato è spiegabile alla luce del fatto che la maggioranza dei pazienti si presenta con lesioni in stadio avanzato e che esiste un rischio annuale del 3% di sviluppare un secondo tumore delle vie aereodigestive superiori dopo la rimozione del primo [6]; inoltre, il 90% delle seconde neoplasie (secondi primitivi o recidive) si manifesta entro i primi due anni dal trattamento iniziale [7]. In alcune casistiche, l'insorgenza di un secondo tumore è stata il fattore prognostico negativo più rilevante e la quantità di sigarette fumate è stata il parametro che meglio correlava con l'insorgenza della nuova lesione [8].

Luca Giovanni Locatello

✉ locatello.lucagiovanni@gmail.com
Scuola Superiore, Università degli Studi di Udine

Sabrina Licata

✉ sabrina.licata@uniud.it
Cultore della Materia, Dipartimento di Scienze Mediche Sperimentali e Cliniche, Cattedra di Farmacologia, Università degli Studi di Udine

Massimo Baraldo

✉ massimo.baraldo@uniud.it
Dipartimento di Scienze Mediche Sperimentali e Cliniche, Cattedra di Farmacologia, Università degli Studi di Udine

La riduzione della prevalenza dei fumatori nel mondo occidentale e dagli anni settanta a oggi non si è purtroppo associata a un equivalente calo nell'incidenza dei tumori di questa regione mostrando perfino un aumento delle lesioni maligne orofaringee. L'HNSCC oggi comprende almeno due grandi entità nosologiche [9]:

1. HNSCC "classico", oggetto del presente lavoro e correlato primariamente al consumo di tabacco e alcool. Vi sono alterazioni dei geni p53 e p16, come mostrato dalla perdita di eterozigotà sulle regioni cromosomiche 17p e 9p, e la prognosi è di solito infausta. Altri fattori di rischio sono il consumo di "betel quid" [10,11], aspetti genetici [12], dietetici [13] e - meno certi - il lichen planus orale [14] o il contestato trauma dentale cronico [15-17].
2. HNSCC correlato al papilloma virus umano, (specie il tipo 16), preferenzialmente in sede orofaringea e tipico di pazienti più giovani [18]. I fattori di rischio identificati sono le pratiche sessuali "a rischio" e, argomento dibattuto, il consumo di marijuana [19-21].

Per giustificare l'elevata incidenza di secondi tumori nelle vie aeree digestive superiori (VADS) in chi presenta HNSCC è stato introdotto il concetto di "cancerogenesi di campo" [22]. Furono Slaughter e colleghi a usare per primi, nel 1953, il termine "field cancerization" (FC). Questi autori effettuarono biopsie sui margini macroscopicamente "normali" di 783 pazienti con HNSCC: tutti i campioni mostrarono epitelio istologicamente anomalo a distanza dal cancro e 88 di essi (11,2%) presentarono due o più cancri, (*multiple primary tumors*); inoltre, in questi ultimi 88 pazienti, 43 presentavano lesioni in regioni anatomicamente contigue: da qui nacque l'idea che vi potesse essere un'area di epitelio "precondizionato" per fattori cancerogeni locali che avrebbero condannato la mucosa a divenire cancerosa in punti multipli ed in modo indipendente [23].

Successivamente altri autori dimostrarono, a livello ultrastrutturale e molecolare, che la "apparently normal mucosa" dei fumatori affetti da HNSCC presentava delle anomalie cellulari [24-27] e oggi la FC assume un significato molto più ampio per descrivere tutte quelle alterazioni istopatologiche ovvero solo molecolari associate ad un rischio elevato di sviluppare tumori multipli in un'area sottoposta ad agenti cancerogeni [28].

Metodologia della rassegna

Lo scopo di questa rassegna è stato indagare il ruolo che il fumo di tabacco gioca nel causare HNSCC e la cancerogenesi di campo la quale non sembrerebbe valere per le forme HPV-correlate [29-33].

È stata compiuta una ricerca bibliografica non limitata alla lingua anglosassone sulla relazione causale fra il fumo di tabacco e l'insorgenza di multiple lesioni carcinomatose cervico-facciali. Il motore di ricerca utilizzato è stato PUBMED della NLM - US National Library of Medicine. I termini ricercati sono stati:

- "tobacco AND field carcinogenesis";

- "field carcinogenesis AND smoke";
- "field cancerization AND tobacco";
- "field cancerization AND head and neck cancer";
- "field cancerization AND head and neck squamous cell carcinoma";
- "field carcinogenesis AND head and neck carcinoma"
- "field cancerization AND HNSCC".

Sono state sistematicamente vagliate tutte le voci bibliografiche presenti sino al 20 marzo 2015, per un totale di 448 lavori, di cui sono stati criticamente esaminati titolo, abstract e, nei casi dubbi, il testo integrale.

Sono stati poi selezionati solo gli articoli che affrontavano, primariamente o in forma marginale, il tema della FC a livello del distretto testa-collo e sono stati inclusi anche articoli inerenti ai modelli non umani di cancerogenesi fumo-correlata e gli studi condotti su colture cellulari per un totale di 137 lavori rilevanti per questa revisione della letteratura.

Sono stati esclusi studi riguardanti FC e neoplasie non-HNSCC (tumori di polmone ed esofago) ed alcuni studi che discutevano di chemioprevenzione e di terapia fotodinamica per le neoplasie del distretto testa-collo.

Le limitazioni riscontrate sono state le seguenti: per alcuni lavori scritti in lingua tedesca, giapponese e polacca non è stato possibile reperire la versione tradotta; per quanto esauriente possa essere, PUBMED non è l'unico database di letteratura biomedica esistente; le parole chiave ricercate non garantiscono che tutta la letteratura rilevante in merito all'argomento sia stata rinvenuta; non è stata, ad esempio, analizzata la c.d. "letteratura grigia" come articoli divulgativi o dati non pubblicati.

Il presente lavoro sintetizza quali siano le conoscenze attuali in merito alla cancerogenesi di campo nell'ambito di HNSCC e quale ruolo abbia il consumo di tabacco in questo processo.

Modelli di "field cancerization"

Esiste, in letteratura, un acceso dibattito sull'origine delle lesioni precancerose e cancerose multiple che costituiscono il "campo" [34]. Sono in questo momento discusse due teorie: i tumori derivano da eventi patogenetici indipendenti (teoria della policlonalità) oppure il campo deriva da una singola cellula "alterata" (teoria della monoclonalità) che potrebbe espandersi in vari modi, come ad esempio micrometastasi attraverso la saliva oppure diffusione intraepiteliale [35]. Sessant'anni dopo l'articolo di Slaughter e col., l'idea di FC venne ripresa da alcuni studiosi olandesi che, forti delle nuove acquisizioni biologiche e genetiche, la ridefinirono come "la presenza di una o più aree di epitelio geneticamente alterato. Una lesione di campo (un campo) è di origine monoclonale, non mostra crescita invasiva, non forma metastasi né possiede altre caratteristiche del cancro" [36]. Questi autori postulano che sia una cellula staminale a iniziare il processo multifasico che conduce al cancro [37]. Da essa deriverrebbero le cellule figlie (circa 200 cloni con p53 mutato per

un'area di diametro inferiore ai 2 mm) a formare un "patch" che costituisce la prima lesione precancerosa ancora morfologicamente inosservabile. In un momento successivo, grazie al vantaggio proliferativo o per altri meccanismi tra cui l'attrazione mediata da chemochine rilasciate dall'endotelio peritumorale [38], si formerebbe un "field" ad espansione orizzontale anche per diversi centimetri. Le cellule di questo campo hanno subito nuove modificazioni genetiche che, spesso, portano a modifiche istologiche costituendo quelle displasie che vide Slaughter e che, talvolta, sono descrivibili dai clinici come leucoplachia, eritroplachia o atrofia della mucosa [39,40].

Comprendere se un paziente con HNSCC presenti una lesione di campo oppure no e se essa sia di origine monoclonale ovvero policlonale è clinicamente importante per diverse ragioni [34]. In primo luogo, se è identificato un campo, il paziente deve essere sorvegliato molto attentamente, dal cavo orale fino all'esofago [41], dopo l'intervento "radicale" di escissione del carcinoma [24]. Se dovesse insorgere un vero secondo tumore primitivo, questo deve essere trattato come una malattia diversa dal primo carcinoma e con possibile differente radio- e chemiosensibilità; se, invece, si manifesta un "second field tumor" si può sapere in anticipo in base all'analisi del primo HNSCC e del campo stesso quali sono le alterazioni distintive di quella mucosa condannata e stabilire una diagnosi e una terapia più accurate [6, 42].

Sulla base della ricerca bibliografica effettuata, sono stati analizzati tutti gli articoli che sostengono la teoria policlonale [23, 27, 43-52] e quelli a favore della monoclonale [36, 47-49, 53-56]. La letteratura rimane tuttora discorde al riguardo e, in funzione delle metodiche di analisi impiegate, in diverse coorti di pazienti sono risultate valide entrambe le teorie proposte [47-49], in quanto due tumori originati indipendentemente possono per effetto del caso acquisire la stessa mutazione oppure, derivati dalla stessa cellula, possono acquisire diverse mutazioni durante la loro progressione [35].

Infine, sono stati individuati alcuni potenziali marcatori molecolari per meglio valutare il rischio di sviluppo di lesioni multiple nelle persone affette da HNSCC, ma il loro ruolo nella pratica clinica non è ancora ben chiaro [57-66].

Ruolo del consumo di tabacco nella cancerogenesi di campo

Il consumo di tabacco, nelle sue svariate forme, costituisce ad oggi il più importante innesco per la cancerogenesi di campo dei tumori maligni cervicofacciali e vi sono prove inconfutabili di tale nesso causale [67,68]. In **tabella 1** sono riportati i meccanismi attraverso cui le sostanze contenute nei prodotti con tabacco causano la trasformazione maligna della mucosa e creano il "campo" [4, 67, 69-74].

Il modello di cancerogenesi chimica oggi maggiormente accettato prevede fasi distinte per le quali alcune molecole sono in grado di iniziare (mutare) una cellula per poi promuoverne la replicazione e infine farla progredire ad un fenotipo maligno [75]. Che la mucosa orofaringea dei fumato-

ri e degli ex fumatori, con o senza HNSCC, mostri un tasso proliferativo epiteliale significativamente più elevato rispetto ai "never smokers" è un fatto dimostrato da molti anni [76]. Alle iniziali prove "generiche", si sono aggiunte dimostrazioni sempre più dettagliate: in un lavoro su cellule in coltura prelevate da una lesione displastica linguale ed esposte al fumo di tabacco "mainstream" è stata rilevata una maggiore capacità infiltrativa dipendente dall'attivazione della via di EGFR [70]; grazie alla diffusione laterale il clone mutato può formare il "patch" e poi il "field" per infine divenire invasivo [70].

La sostanza mutagena (iniziatrice) maggiormente implicata è il *benzo(a)pirene-diolepssido* che forma addotti sul DNA alterando, fra gli altri, il gene TP53 [67]. Nel tabacco da masticare sembrano invece più rilevanti altre molecole come la *N-nitrosornicotina* e, in generale, le *N-nitrosamine* sia specifiche del tabacco che quelle derivate dalla masticazione della noce di Areca nel "betel quid" [73]. Quindi, lo "smokeless tabacco" non condivide tutti i carcinogeni con la sigaretta tradizionale e da studi epidemiologici sembra che il rischio di avere lesioni cancerose multiple orali sia inferiore per il fumo rispetto alla masticazione del tabacco [11].

Ovviamente, non tutti i fumatori sviluppano il cancro sia per cofattori ancora poco noti sia grazie ad una certa predisposizione genetica: nel caso di HNSCC, per esempio, è stato dimostrato come persone con una variante del CYP1A1, citocromo responsabile dell'ossidazione e attivazione dei PAH, siano più a rischio [77]. Inoltre l'effetto tumorigenico delle numerosissime sostanze contenute nella sigaretta, è indubbiamente complesso e non si può limitare ai semplici composti mutageni: per esempio, alcuni idrocarburi policiclici aromatici quali *metilantracene* e *fenantrene* non hanno mostrato capacità di modificare il DNA eppure possono ugualmente essere considerati cancerogeni perché fungono da promotori della replicazione cellulare [78].

Infine deve essere preso in considerazione anche l'aspetto epigenetico: in un lavoro sul carcinoma laringeo, si è mostrato come il pattern di ipermetilazione (silenziamiento epigenetico) di diversi geni "critici" quali DAPK e RARBeta sia concorde fra il tessuto tumorale e la mucosa normale adiacente ed è assodato che il fumo di tabacco, insieme all'alcool, possa indurre questo tipo di modifiche [72].

Conclusioni

La prognosi di molti pazienti affetti da HNSCC è pesantemente gravata dall'elevato rischio di sviluppare una seconda neoplasia in un momento successivo. La teoria della FC, oggi ridefinita alla luce delle nuove acquisizioni molecolari, può spiegare questo dato così che la mucosa delle VADS di queste persone possa essere considerata una vera "time ticking bomb" [36]. Com'è emerso dall'analisi della letteratura presentata, non è stata ancora risolta in modo definitivo la diatriba sulla clonalità della lesione di campo ed è possibile che entrambe le teorie siano valide.

In ogni caso, l'esistenza di tale perverso meccanismo di cancerogenesi deve spingere con maggior forza tutta la co-

Tabella 1 Meccanismi mediante cui il tabacco causa le neoplasie del distretto testa-collo e la FC

Autori	Commento
Baumeister, 2011 [69]	Ruolo ambiguo del signalling di EGFR sull'entità della genotossicità indotta da <i>Benzo[a]pirene diol-epossido</i>
DeMarini, 2004 [67]	Gli idrocarburi policiclici aromatici causano direttamente mutazioni di TP53 nelle cellule epiteliali della mucosa orofaringea
Du et al., 2007 [70]	Il mainstream smoke è in grado di attivare l'attivatore del plasminogeno simil-urochinas tramite il signaling di EGFR
Hoffmann et al., 1994 [73]	La <i>N'-nitrososornicotina</i> e il <i>4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanone</i> sono i principali imputati nel tabacco da masticare
Jatsożyński et al., 2003 [71]	L'esposizione di tessuto laringeo alle specie reattive dell'ossigeno derivate dal fumo di tabacco ne aumenta l'instabilità genetica
van Oijen et al., 1998 [76]	La mucosa delle VADS dei fumatori presenta un indice proliferativo significativamente più elevato rispetto ai non fumatori
Weber et al., 2011 [74]	<i>4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanone</i> mediante la via della protein chinasi AKT è in grado di promuovere la genesi di HNSCC su modelli cellulari umani e murini

munità verso la prevenzione primaria e secondaria di HNSCC a partire dall'uso del tabacco. È noto che smettere di fumare riduce ma non annulla il rischio di sviluppare HNSCC [1] ed è stato stimato che, anche dopo dieci anni dalla cessazione del fumo, la probabilità di sviluppare un carcinoma orale si riduce solo del 50% [76]. Pertanto tutti i fumatori e gli ex-fumatori devono sempre essere tenuti sotto controllo partendo da una semplice ispezione del cavo orale e senza mai trascurare i sintomi più "banali" [52]. D'altra parte, i pazienti già affetti dalla neoplasia devono essere seguiti a vita con un lungo e costoso follow-up [24]; qualora tali soggetti continuassero a fumare dopo la diagnosi, presenterebbero un rischio fino a sei volte maggiore di avere un secondo tumore

aerodigestivo rispetto a coloro che smettono [16, 79, 80] e questo è spiegabile alla luce della cancerogenesi di campo.

In conclusione, molte e importanti informazioni sono state acquisite, negli ultimi anni, sulla biologia di HNSCC che potranno portare a diagnosi e terapie sempre più sofisticate [81]. Tuttavia, analogamente a quanto riportato da altri autori [24, 35], la strategia più potente e "cost-efficient" per ridurre morbosità e mortalità correlate a questa neoplasia risiede nella riduzione del consumo fino all'eliminazione dei prodotti derivati dal tabacco. ■

► *Disclosure: gli autori dichiarano l'assenza di conflitto d'interessi.*

BIBLIOGRAFIA

- Pai SI, Westra WH. Molecular pathology of head and neck cancer: implications for diagnosis, prognosis, and treatment. *Annu Rev Pathol* 2009;4:49-70.
- Mura M, Zagà V. Tabaccologia del Bidi. *Tabaccologia* 2004;1:17-18.
- Basu R, Mandal S, Ghosh A et al. Role of tobacco in the development of head and neck squamous cell carcinoma in an eastern Indian population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008;9:381-386.
- Stadler ME, Patel MR, Couch ME et al. Molecular biology of head and neck cancer: risks and pathways. *Hematol Oncol Clin North Am* 2008;22:1099-124, vii.
- AIOM, AIRTUM. I numeri del cancro in Italia - 2014. Intermedia Editore, Brescia, 2014.
- Braakhuis BJM, Brakenhoff RH, Leemans CR. Second field tumors: a new opportunity for cancer prevention? *Oncologist* 2005;10:493-500.
- Sugerman PB, Savage NW. Current concepts in oral cancer. *Aust Dent J* 1999;44:147-156.
- Narayana A, Vaughan AT, Fisher SG et al. Second primary tumors in laryngeal cancer: results of long-term follow-up. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1998;42:557-562.
- Rothenberg SM, Ellisen LW. The molecular pathogenesis of head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Invest* 2012;122:1951-1957.
- Liao CT, Wallace CG, Lee LY et al. Clinical evidence of field cancerization in patients with oral cavity cancer in a betel quid chewing area. *Oral Oncol* 2014;50:721-31.
- Thomas G, Hashibe M, Jacob BJ et al. Risk factors for multiple oral premalignant lesions. *Int J Cancer* 2003;107:285-291.
- Yokoyama A, Watanabe H, Fukuda H et al. Multiple cancers associated with esophageal and oropharyngolaryngeal squamous cell carcinoma and the aldehyde dehydrogenase-2 genotype in male Japanese drinkers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11:895-900.
- Gillenwater A, Zou CP, Zhong M et al. Effects of sodium butyrate on growth, differentiation, and apoptosis in head and neck squamous carcinoma cell lines. *Head Neck* 2000;22:247-256.
- Mignogna MD, Fedele S, Lo Russo L et al. Field cancerization in oral lichen planus. *Eur J Surg Oncol* 2007;33:383-389.
- Bektas-Kayhan K, Karagoz G, Kesimli MC et al. Carcinoma of the tongue: a case-control study on etiologic factors and dental trauma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:2225-2229.
- Kadmani D. Oral cancer. *Mayo Clin Proc* 2007;82:878-887.
- Pérez MA, Raimondi AR, Itoiz ME. An experimental model to demonstrate the carcinogenic action of oral chronic traumatic ulcer. *J Oral Pathol Med* 2005;34:17-22.
- Krüger M, Pabst AM, Walter C et al. The prevalence of human papilloma virus (HPV) infections in oral squamous cell carcinomas: A retrospective analysis of 88 patients and literature overview. *J Craniomaxillofac Surg* 2014;42:1506-14.
- Hashibe M, Ford DE, Zhang ZF. Marijuana smoking and head and neck cancer. *J Clin Pharmacol* 2002;42:1035-1075.
- Liang C, McClean MD, Marsit C et al. A population-based case-control study of marijuana use and head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Prev Res (Phila)* 2009;2:759-768.
- Marks MA, Chaturvedi AK, Kelsey K et al. Association of marijuana smoking with oropharyngeal and oral tongue cancers: pooled analysis from the INHANCE consortium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014;23:160-171.
- Ha PK, Califano JA. The molecular biology of mucosal field cancerization of the head and neck. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003;14:363-369.
- Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer* 1953;6:963-968.

24. Strong MS, Ince J e Vaughan CW. Field cancerization in the aerodigestive tract—its etiology, manifestation, and significance. *J Otolaryngol* 1984;13:1-6.
25. Voravud N, Shin DM, Ro JY et al. Increased polysomies of chromosomes 7 and 17 during head and neck multistage tumorigenesis. *Cancer Res* 1993;53:2874-2883.
26. Schaaij-Visser TBM, Brakenhoff RH, Jansen JWA et al. Comparative proteome analysis to explore p53 pathway disruption in head and neck carcinogenesis. *J Proteomics* 2009;72:803-814.
27. Van der Vorst S, Dekairelle AF, Weynand B et al. Assessment of p53 functional activity in tumor cells and histologically normal mucosa from patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck* 2012;34:1542-1550.
28. Braakhuis BJM, Tabor MP, Leemans CR et al. Second primary tumors and field cancerization in oral and oropharyngeal cancer: molecular techniques provide new insights and definitions. *Head Neck* 2002;24:198-206.
29. Jain KS, Sikora AG, Baxi SS et al. Synchronous cancers in patients with head and neck cancer: risks in the era of human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer. *Cancer* 2013;119:1832-1837.
30. Rietbergen MM, Braakhuis BJM, Moukhtari N et al. No evidence for active human papillomavirus (HPV) in fields surrounding HPV-positive oropharyngeal tumors. *J Oral Pathol Med* 2014;43:137-142.
31. Xu CC, Biron VL, Puttagunta L et al. HPV status and second primary tumours in oropharyngeal squamous cell carcinoma. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 2013;42:36.
32. McGovern SL, Williams MD, Weber RS et al. Three synchronous HPV-associated squamous cell carcinomas of Waldeyer's ring: case report and comparison with Slaughter's model of field cancerization. *Head Neck* 2010;32:1118-1124.
33. Joseph AW, Ogawa T, Bishop JA et al. Molecular etiology of second primary tumors in contralateral tonsils of human papillomavirus-associated index tonsillar carcinomas. *Oral Oncol* 2013;49:244-248.
34. Angadi PV, Savitha JK, Rao SS et al. Oral field cancerization: current evidence and future perspectives. *Oral Maxillofac Surg* 2012;16:171-180.
35. Jaiswal G, Jaiswal S, Kumar R et al. Field cancerization: concept and clinical implications in head and neck squamous cell carcinoma. *J Exp Ther Oncol* 2013;10:209-214.
36. Braakhuis BJM, Tabor MP, Kummer JA et al. A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications. *Cancer Res* 2003;63:1727-1730.
37. Braakhuis BJM, Leemans CR e Brakenhoff RH. Expanding fields of genetically altered cells in head and neck squamous carcinogenesis. *Semin Cancer Biol* 2005;15:113-120.
38. Warner KA, Miyazawa M, Cordeiro MMR et al. Endothelial cells enhance tumor cell invasion through a crosstalk mediated by CXc chemokine signaling. *Neoplasia* 2008;10:131-139.
39. Braakhuis BJM, Leemans CR e Brakenhoff RH. A genetic progression model of oral cancer: current evidence and clinical implications. *J Oral Pathol Med* 2004;33:317-322.
40. Cabanillas R, Llorente JL. The Stem Cell Network model: clinical implications in cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2009;266:161-170.
41. Martins AS. Multicentricity in pharyngoesophageal tumors: argument for total pharyngolaryngoesophagectomy and gastric transposition. *Head Neck* 2000;22:156-163.
42. Navone R, Pentenero M, Gandolfo S. Liquid-based cytology in oral cavity squamous cell cancer. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2011;19:77-81.
43. Ai H, Barrera JE, Pan Z et al. Identification of individuals at high risk for head and neck carcinogenesis using chromosome aneuploidy detected by fluorescence in situ hybridization. *Mutat Res* 1999;439:223-232.
44. Ai H, Barrera JE, Meyers AD et al. Chromosomal aneuploidy precedes morphological changes and supports multifocality in head and neck lesions. *Laryngoscope* 2001;111:1853-1858.
45. Chung KY, Mukhopadhyay T, Kim J et al. Discordant p53 gene mutations in primary head and neck cancers and corresponding second primary cancers of the upper aerodigestive tract. *Cancer Res* 1993;53:1676-1683.
46. Jang SJ, Chiba I, Hirai A et al. Multiple oral squamous epithelial lesions: are they genetically related? *Oncogene* 2001;20:2235-2242.
47. Lydiatt WM, Anderson PE, Bazzana T et al. Molecular support for field cancerization in the head and neck. *Cancer* 1998;82:1376-1380.
48. Giefing M, Rydzanicz M, Szukala K et al. Second primary tumors (SPT) of head and neck: distinguishing of true SPT from micrometastasis by LOH analysis of selected chromosome regions. *Neoplasia* 2005;52:374-380.
49. Scholes AG, Woolgar JA, Boyle MA et al. Synchronous oral carcinomas: independent or common clonal origin? *Cancer Res* 1998;58:2003-2006.
50. Shiga K, Ogawa T, Yoshida F et al. Multiple squamous cell carcinomas of the head and neck show different phenotypes of allelic loss patterns suggesting different clonal origin of carcinogenesis. *Anticancer Res* 2003;23:3911-3915.
51. van Oijen MG, Slootweg PJ. Oral field cancerization: carcinogen-induced independent events or micrometastatic deposits? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9:249-256.
52. Wolpoe ME, Goldenberg D, Koch WM. Squamous cell carcinoma of the sinonasal cavity arising as a second primary in individuals with head and neck cancer. *Laryngoscope* 2006;116:696-699.
53. 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;56:2488-2492.
54. Foschini MP, Morandi L, Marchetti C et al. Cancerization of cutaneous flap reconstruction for oral squamous cell carcinoma: report of three cases studied with the mtDNA D-loop sequence analysis. *Histopathology* 2011;58:361-367.
55. Lee N, Waber P, Ye Y et al. Clonality of head and neck-carcinoma and adjacent mucosa. *Oncol Rep* 1994;1:637-638.
56. Tabor MP, Brakenhoff RH, van Houten VM et al. Persistence of genetically altered fields in head and neck cancer patients: biological and clinical implications. *Clin Cancer Res* 2001;7:1523-1532.
57. Wolf C, Flechtenmacher C, Dietz A et al. p53-positive tumor-distant squamous epithelia of the head and neck reveal selective loss of chromosome 17. *Laryngoscope* 2004;114:698-704.
58. Pentenero M, Donadini A, Di Nallo E et al. Field effect in oral precancer as assessed by DNA flow cytometry and array-CGH. *J Oral Pathol Med* 2012;41:119-123.
59. Roesch-Ely M, Leipold A, Nees M et al. Proteomic analysis of field cancerization in pharynx and esophagus: a prospective pilot study. *J Pathol* 2010;221:462-470.
60. Giaretti W, Maffei M, Pentenero M et al. Genomic aberrations in normal appearing mucosa fields distal from oral potentially malignant lesions. *Cell Oncol (Dordr)* 2012;35:43-52.
61. Worsham MJ, Stephen JK, Chen KM et al. Delineating an epigenetic continuum in head and neck cancer. *Cancer Lett* 2014;342:178-184.
62. Giaretti W, Monteghirfo S, Pentenero M et al. Chromosomal instability, DNA index, dysplasia, and subsite in oral premalignancy as intermediate endpoints of risk of cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22:1133-1141.
63. Tanaka T, Ishigamori R. Understanding carcinogenesis for fighting oral cancer. *J Oncol* 2011;2011:603740.
64. Ogden GR, Chisholm DM, Morris AM et al. Overexpression of p53 in normal oral mucosa of oral cancer patients does not necessarily predict further malignant disease. *J Pathol* 1997;182:180-184.
65. Escher A, Pietet E, Waridel F et al. p53 Mutation in histologically normal mucosa of the aero-digestive tract is not a marker of increased risk for second primary carcinoma in head and neck cancer patients. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2009;266:547-551.
66. Homann N, Nees M, Conradt C et al. Overexpression of p53 in tumor-distant epithelia of head and neck cancer patients is associated with an increased incidence of second primary carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001;7:290-296.
67. DeMarini DM. Genotoxicity of tobacco smoke and tobacco smoke condensate: a review. *Mutat Res* 2004;567:447-474.
68. Ji X, Zhang W, Xie C et al. Nasopharyngeal carcinoma risk by histologic type in central China: impact of smoking, alcohol and family history. *Int J Cancer* 2011;129:724-732.
69. Baumeister P, Heinrich K, Märte M et al. The impact of EGFR stimulation and inhibition on BPDE induced DNA fragmentation in oral/oropharyngeal mucosa in vitro. *Oral Oncol* 2011;47:1141-1147.
70. Du B, Leung H, Khan KMF et al. Tobacco smoke induces urokinase-type plasminogen activator and cell invasiveness: evidence for an epidermal growth factor receptor dependent mechanism. *Cancer Res* 2007;67:8966-8972.
71. Jatoszński P, Jaruga P, Olinski R et al. Oxidative DNA base modifications and polycyclic aromatic hydrocarbon DNA adducts in squamous cell carcinoma of larynx. *Free Radic Res* 2003;37:231-240.
72. Paluszczak J, Misiak P, Wierzbicka M et al. Frequent hypermethylation of DAPK, RARbeta, MGMT, RASSF1A and FHIT in laryngeal squamous cell carcinomas and adjacent normal mucosa. *Oral Oncol* 2011;47:104-107.
73. Hoffmann D, Brunnemann KD, Prokopczyk B et al. Tobacco-specific N-nitrosamines and Areca-derived N-nitrosamines: chemistry, biochemistry, carcinogenicity, and relevance to humans. *J Toxicol Environ Health* 1994;41:1-52.
74. Weber SM, Bornstein S, Li Y et al. Tobacco-specific carcinogen nitrosamine 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone induces AKT activation in head and neck epithelia. *Int J Oncol* 2011;39:1193-1198.
75. Klaassen C. Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. Seventh Ed. McGraw-Hill, 2007:333-340.
76. van Oijen MG, Gilsing MM, Rijkse G et al. Increased number of proliferating cells in oral epithelium from smokers and ex-smokers. *Oral Oncol* 1998;34:297-303.
77. Wu X, Zhao H, Suk R et al. Genetic susceptibility to tobacco-related cancer. *Oncogene* 2004;23:6500-6523.
78. Trosko JE, Upham BL. The emperor wears no clothes in the field of carcinogen risk assessment: ignored concepts in cancer risk assessment. *Mutagenesis* 2005;20:81-92.
79. Rennemo E, Zätterström U, Evensen J et al. Reduced risk of head and neck second primary tumors after radiotherapy. *Radiother Oncol* 2009;93:559-562.
80. Khuri FR, Kim ES, Lee JJ et al. The impact of smoking status, disease stage, and index tumor site on second primary tumor incidence and tumor recurrence in the head and neck retinoid chemoprevention trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:823-829.
81. Braakhuis BJM, Brakenhoff RH, Leemans CR. Treatment choice for locally advanced head and neck cancers on the basis of risk factors: biological risk factors. *Ann Oncol* 2012;23 Suppl 10:x173-x177.