

## Expresión de E-cadherina y factor de crecimiento epidérmico en leucoplasias orales.

### *Expression of E-cadherin and epidermal growth factor in oral leukoplakia.*

Pedro Luis Fortin,\* María Susana Briend,\*\* Sergio Daniel Morales,\*\*\* María Teresa Pombo,+ Liset Osnaghi<sup>++</sup>

#### RESUMEN

**Introducción:** Se define a las leucoplasias orales como una placa blanca que no puede desprenderse por raspado y que no puede clasificarse como ninguna otra lesión. Son lesiones con potencial maligno, relacionadas con la presencia de displasia epitelial. Estos cambios preneoplásicos pueden ser evidenciados histológicamente como también a través de técnicas que pongan en evidencia los diferentes cambios a nivel molecular. La E-cadherina es una glicoproteína membranosa que desempeña papeles importantes en el mantenimiento de la adhesión célula-célula, la preservación de la polaridad del tejido epitelial y la integridad estructural. Los factores de crecimiento epidérmico son un conjunto de moléculas de naturaleza proteica, biorreguladores, cuya funcionalidad fundamental radica en el control del ciclo celular. El objetivo del presente trabajo es identificar y comparar parámetros histológicos y moleculares predictores de riesgo de transformación maligna en leucoplasias orales. **Material y métodos:** El estudio corresponde a un diseño observacional descriptivo. Se seleccionaron muestras de 26 biopsias de leucoplasias orales, las cuales fueron evaluadas con técnica histológica de rutina y tinción con hematoxilina y eosina, luego sometidas a inmunomarcación con factor de crecimiento epidérmico y E-cadherina, donde se evaluó la intensidad de tinción y cambios en la expresión de cada marcador, así como la localización en los diferentes subtipos celulares. **Resultados:** De las 26 leucoplasias observadas, 16 mostraron histología con cambios hiperplásicos y 10 con cambios displásicos leves a moderados. La expresión de E-cadherina no mostró alteraciones significativas en leucoplasias sin displasia, sólo hubo pérdida de expresión en aquellas leucoplasias con cambios displásicos de alto grado, en concordancia a los hallazgos histológicos. En leucoplasias con displasia epitelial la expresión del receptor del factor de crecimiento epidérmico fue de leve a moderada a nivel del estrato basal y suprabasal. Para las leucoplasias no displásicas, la tinción mostró un patrón de marcación leve, principalmente en el estrato basal. **Conclusión:** Con los marcadores estudiados es posible evidenciar cambios moleculares tempranos que se corresponden a los observados en la histología presente, que demuestran cambios biológicos precoces, pero

#### ABSTRACT

**Introduction:** Oral leukoplakia is defined as a white plaque that cannot be removed by scraping and cannot be classified as any other disease entity. They are potentially malignant lesions related to the presence of epithelial dysplasia. These preneoplastic changes can be detected histologically, as well as through techniques that demonstrate different changes at the molecular level. E-cadherin is a membrane glycoprotein that plays a major role in maintaining cell-cell adhesion, preserving structural integrity and the polarity of epithelial tissue. Epidermal growth factors are a group of bio-regulatory proteins, whose primary function is to control the cell cycle. The aim of this study is to identify and compare the parameters for histological and molecular markers for malignant transformation in oral leukoplakia. **Material and methods:** The study was observational and descriptive in design. Samples were selected from 26 oral leukoplakia biopsies, which were routinely evaluated for histology and stained with hematoxylin and eosin, then subjected to immunostaining with epidermal growth factor and E-cadherin, with the intensity of staining and changes in the expression of each marker being evaluated. **Results:** Of the 26 leukoplakia examined, 16 showed hyperplastic changes and 10 mild to moderate dysplastic changes. The expression of E-cadherin showed no significant changes in non-dysplastic leukoplakia, while a loss of expression was found in only those leukoplakias with high-grade dysplastic changes, which was consistent with the histological findings. In leukoplakia with epithelial dysplasia, the EGF expression was mild to moderate at the basal and suprabasal strata level. In the case of non-dysplastic leukoplakia, mild staining was apparent, primarily in the basal stratum. **Conclusion:** The markers studied provided us with evidence of early-stage molecular changes that corresponded to those observed in the histology present, which display early biological changes. However, their usefulness as prognostic markers is questionable. A longitudinal study based on a larger sample is needed in order to be able to confirm this conclusion.

\* Odontólogo, Becario de Investigación de la Secretaría General de Ciencia y Técnica. Universidad Nacional del Nordeste-Argentina.

\*\* Médica Especialista en Anatomía Patológica, Profesora Titular de la Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Odontología, Universidad Nacional del Nordeste.

\*\*\* Magíster en Terapéutica Farmacológica y Auditoría de Medicamentos. Cátedra de Farmacología. Facultad de Odontología, Universidad Nacional del Nordeste.

+ Médica Especialista en Anatomía Patológica e Inmunohistoquímica.

<sup>++</sup> Odontóloga, Becaria de Postgrado de la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste-Argentina.

Recibido: Octubre 2016. Aceptado para publicación: Enero 2017.

su utilidad como marcadores pronósticos es cuestionable. Se requiere un estudio longitudinal con mayor número de muestras para confirmar esta conclusión.

**Palabras clave:** Inmunomarcación, displasia, lesiones blancas, premaligno.

**Key words:** Immunostaining, dysplasia, white lesions, premalignant.

## INTRODUCCIÓN

La OMS define a las leucoplasias orales, abordando un criterio clínico, como «placa blanca que no puede desprenderse por raspado y que no puede clasificarse como ninguna otra lesión»<sup>1</sup> y añade la aclaración de que no es una entidad histopatológica aislada, ya que en ellas puede observarse una gran variedad de alteraciones microscópicas que van desde una hiperqueratosis hasta una displasia epitelial.<sup>2</sup>

La OMS ratificó en su última reunión de consenso el seguir considerando dentro del precáncer oral a las lesiones precancerosas y a los estados precancerosos, y define a las mismas como aquel tejido con morfología alterada con mayor predisposición a la cancerización (superior al 5%), que el tejido equivalente de apariencia normal, independientemente de sus características clínicas o histológicas, es por ello que los términos lesión precancerosa, cancerizable o premaligna son sinónimos e involucran a aquellas entidades con posibilidades estadísticamente demostrables de transformarse en cáncer.<sup>3</sup>

Un mejor conocimiento de la biología molecular y del proceso de desarrollo del cáncer permitirá aumentar las posibilidades de predecir el potencial oncogénico de la leucoplasia. Recientemente, mediante estudios de biología molecular, se ha descrito un porcentaje variable de leucoplasias orales que presentan alteraciones moleculares en común con el carcinoma espinocelular oral, con potencial oncogénico independiente de la atipia histológica. De hecho, la aparición de estas alteraciones citogenéticas se ha descrito en leucoplasias sin atipias celulares.<sup>4</sup>

Este potencial de malignización está determinado por la presencia de displasia epitelial, y se define a la misma como un desorden en la histoarquitectura y maduración de las células,<sup>5</sup> estas alteraciones pueden encontrarse en las células antes de que la clínica, e incluso los métodos de diagnóstico histopatológicos, lo pongan en evidencia, por tal motivo, la inmunohistoquímica brinda herramientas eficaces para poner de manifiesto estas alteraciones en forma más temprana.

La E-cadherina es una glicoproteína membranosa dependiente de calcio que desempeña papeles importantes

en el mantenimiento de la adhesión célula-célula, la preservación de la polaridad del tejido epitelial y la integridad estructural. Su función principal es el mantenimiento de la polaridad y la arquitectura tisular. La expresión de estas moléculas es inversamente proporcional a la diferenciación tumoral.<sup>6</sup> La inactivación del sistema de adhesión celular E-cadherina por ambos mecanismos genéticos y epigenéticos juega un papel importante durante la carcinogénesis humana. Varios estudios demuestran que la reducción de la expresión de E-cadherina se produce en la displasia oral, tal reducción es proporcional al grado de displasia.<sup>7</sup>

Los factores de crecimiento epidérmico corresponden a un conjunto de moléculas de naturaleza proteica y/o péptidos biorreguladores cuya funcionalidad fundamental radica en el control del ciclo celular, regulando el desarrollo de las distintas etapas de éste, llevando finalmente a las células a enfrentar el mecanismo mitótico y de este modo generar la proliferación celular.<sup>8</sup>

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) se encuentra expresado en la membrana plasmática de las células epiteliales normales, aproximadamente entre 20,000 y 200,000 moléculas por célula, llegando a alcanzar en muchos tumores malignos dos millones de moléculas de receptor por célula.<sup>9</sup> Los tumores, como los carcinomas de pulmón, carcinomas colorrectales<sup>10</sup> o en particular los de cabeza y cuello tienen la particularidad de sobreexpresar a los receptores del factor de crecimiento epidérmico, lo cual le confiere la posibilidad de tener un rápido crecimiento y alto índice de metastatización, baja supervivencia, pobre respuesta a la quimioterapia y a la hormonoterapia y el desarrollo de resistencia a agentes citotóxicos.<sup>11</sup>

El objetivo del presente trabajo es identificar parámetros histopatológicos y moleculares predictores de riesgo de transformación maligna en leucoplasias orales.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio corresponde a un diseño observacional descriptivo. Se seleccionaron muestras de 26 biopsias de leucoplasias orales, remitidas al Servicio de Anatomía Patológica de la Cátedra de Anatomía Patológica de la

Facultad de Odontología de la Universidad Nacional del Nordeste, provenientes del Hospital Odontológico de la FOUNNE y de otros servicios asistenciales de la región. No se incluyeron en la muestra aquellas biopsias que no cumplieran con los parámetros de calidad y normas de bioética necesarios para el estudio.

Dichas muestras fueron sometidas al estudio histopatológico de rutina y tinción con hematoxilina y eosina, para su posterior observación al microscopio óptico y determinación de sus características histológicas, donde se observó en primera instancia las alteraciones en la histoarquitectura, así como también las alteraciones madurativas de la misma.

Para la técnica de inmunohistoquímica se utilizaron los anticuerpos E-cadherina y factor de crecimiento epidérmico (EGFR) (Laboratorio BioGenex®). Se realizó la recuperación antigénica con buffer citrato en horno de microondas, luego se procedió al bloqueo de la actividad de peroxidasa endógena con solución de peróxido de hidrógeno. Posteriormente se realizó la incubación con el anticuerpo monoclonal. Por último se efectuó el revelado con un reactivo de visualización, consistente en un polímero de dextrano conjugado con peroxidasa e inmunoglobulinas caprinas anti-ratón y diamino-bencidina

(DAB) como cromógeno (SS Multilink® Ant.Raton HRP DETKIT/DAB). Se utilizaron como control positivo para E-cadherina biopsias de piel normal y para EGFR biopsias de carcinoma espinocelular de alta expresión en cuestión y para el control negativo en ambos casos se utilizó la solución buffer reemplazando el anticuerpo primario.

La valoración de la técnica se realizó a través de un observador entrenado quien interpretó los siguientes aspectos de la inmunotinción: intensidad, localización y los subtipos celulares en los que estaban presentes, observando los estratos basales, parabasales y suprabasales. Se realizó la observación a 40x realizando el conteo consecutivo de 100 células y se valoró de la siguiente manera tanto para la pérdida de expresión como para la sobreexpresión: indetectable (o) baja intensidad (menos del 10%), media (del 10 al 50%) y alta (más del 50%).

## RESULTADOS

De las 26 leucoplasias orales evaluadas con técnica histológica de rutina y tinción de hematoxilina y eosina (Figura 1), se encontraron como hallazgos predominantes la presencia de hiperparaqueratosis acompañadas de

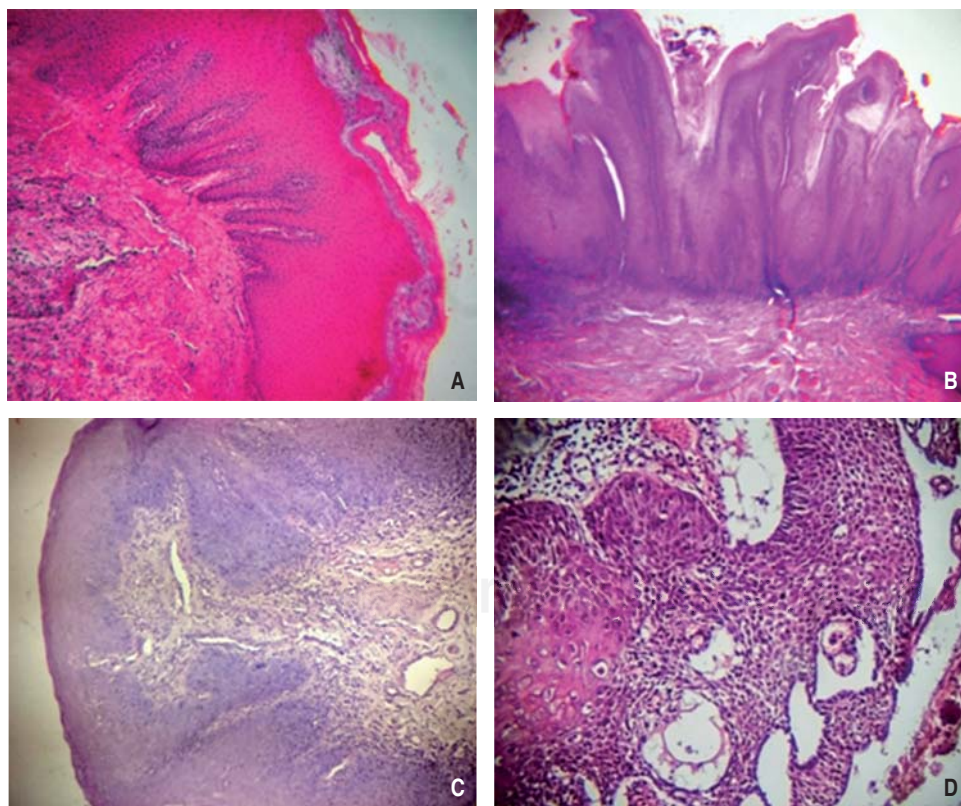


Figura 1.

Cortes histológicos de leucoplasias orales teñidos con hematoxilina-eosina. A. Leucoplasia oral sin displasia: hiperparaqueratosis, acantosis e hiperplasia basal. B. Leucoplasia verrugosa. C. Leucoplasia oral con alteraciones displásicas moderadas. D. Leucoplasia oral con displasia severa. H/E 10x.



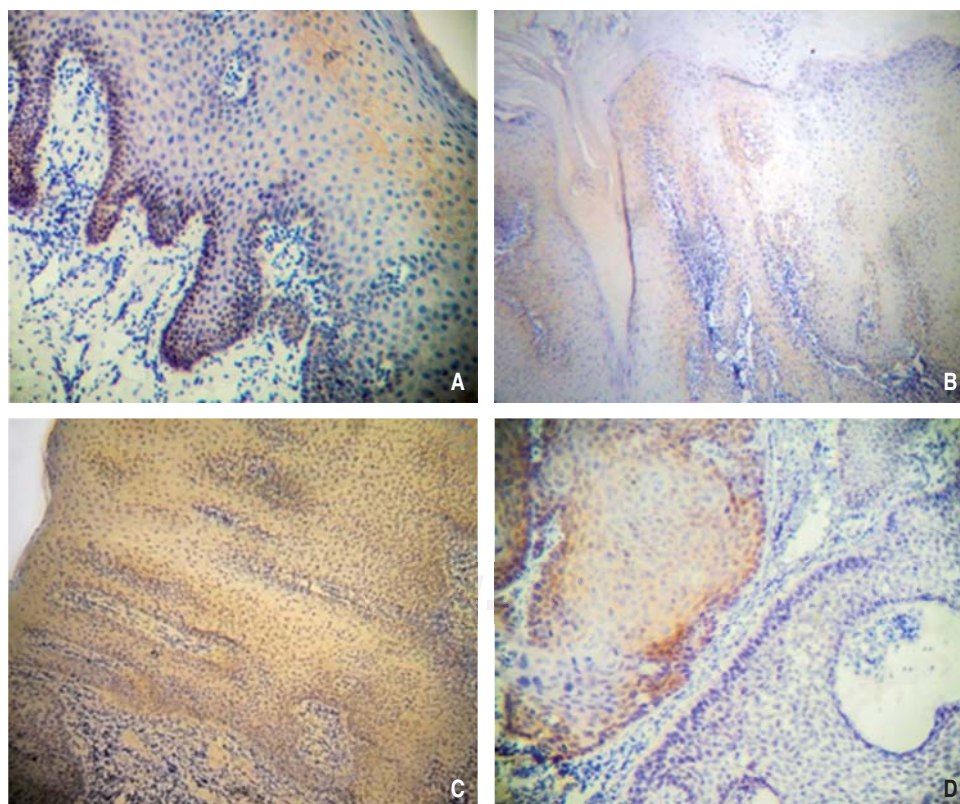
**Cuadro I. Alteraciones histoarquitecturales y madurativas observadas con técnica de rutina.**

Alteraciones en la histoarquitectura		
Hiperparaqueratosis		17
Hiperortoqueratosis		8
Hiperplasia epitelial		18
Hipergranulosis		7
Acantosis		19
Hiperplasia basal		19
Pérdida de polaridad		5
Alteraciones madurativas celulares		
Displasia	Leve	6
	Moderada	3
	Severa	1
Hipercromasia nuclear		9
Anisonucleosis		7
Aumento de proporción núcleo/citoplasma		4
Figuras mitóticas		7
Disqueratosis		6
Coilocitos		5

hiperplasia epitelial, con acantosis marcada del epitelio e hiperplasia del estrato basal. Los cambios displásicos fueron observados en 10 muestras, según los criterios establecidos por la OMS, se identificaron seis muestras con cambios displásicos leves, tres moderados y uno severo. Con estos hallazgos se establecieron dos grupos, uno correspondiente a leucoplasias sin displasia epitelial de 16 muestras (78.6%) y el otro de leucoplasias con displasia epitelial (38.4%) (Cuadro I).

La inmunomarcación con EGFR (Figura 2) mostró en el grupo de leucoplasias con displasia epitelial, variables niveles de intensidad, con predominio de tinciones leves a moderadas que abarcaba los estratos basal y suprabasal. Para las leucoplasias no displásicas la tinción mostró un patrón de marcación leve, principalmente en el estrato basal (Cuadro II).

La marcación con E-cadherina (Figura 3) en leucoplasias con displasia epitelial mostró una pérdida del patrón característico de malla o red, con una intensidad de tinción leve a nivel de la membrana celular. En las leucoplasias no displásicas, mostró un patrón de tinción predominantemente intenso, resaltando el característico patrón en malla o red a nivel de la membrana celular (Cuadro III).

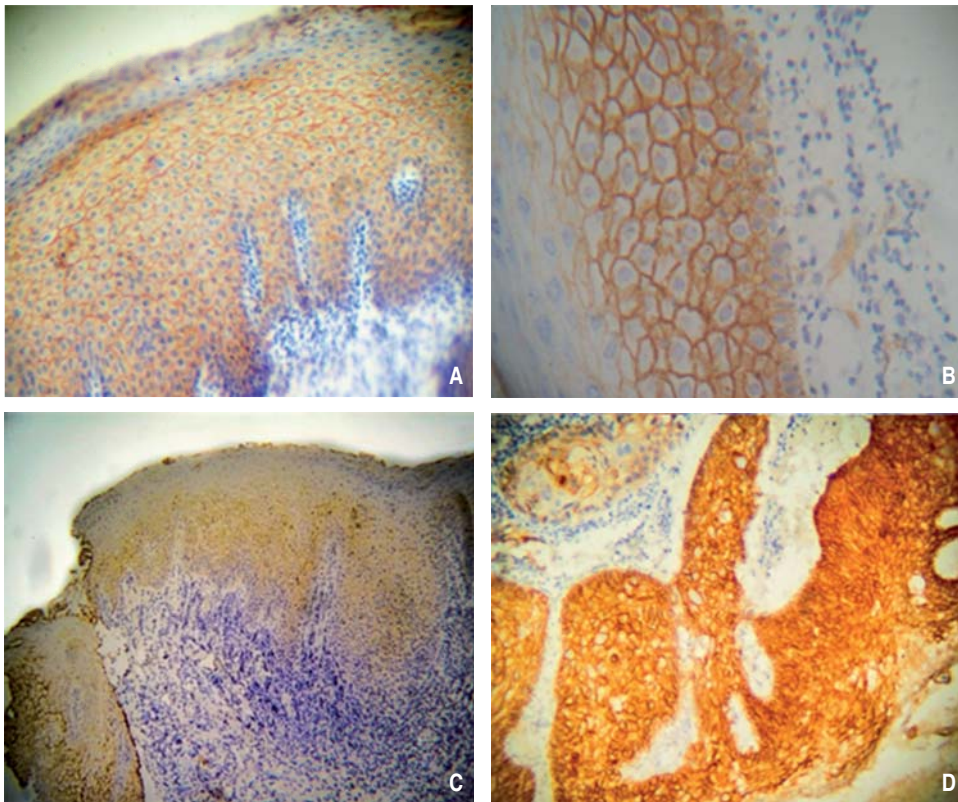


**Figura 2.**

Inmunomarcación con EGFR. **A.** Leucoplasia sin displasia epitelial, se observa tinción de leve intensidad sólo en el estrato basal. **B.** Leucoplasia verrugosa: muestra tinción leve en los estratos basales y parabasales. **C.** Leucoplasia con displasia epitelial presenta una intensidad moderada en todo el espesor del epitelio. **D.** Leucoplasia con displasia severa: muestra una intensidad leve en comparación con la sobreexpresión observada en la zona tumoral vecina. 40x.

**Cuadro II. Porcentaje de tinción con EGFR en leucoplasias orales.**

EGFR	Indetectable		Leve		Moderado		Intenso	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Leucoplasias con displasia	2	20	3	30	4	40	1	10
Leucoplasias sin displasia	3	18.75	10	62.5	3	18.75	0	0



**Figura 3.**

Tinción con E-cadherina. **A y B.** Leucoplasia sin displasia epitelial: se observa una marcación moderada a intensa con el característico patrón de membrana (en red) 10-40x. **C.** Leucoplasia con displasia moderada, pérdida en la intensidad de tinción leve a moderado y borramiento del patrón membranoso. **D.** Leucoplasia con displasia severa pérdida de intensidad de marcación en zonas focales.

**Cuadro III. Número y porcentaje de tinción con E-cadherina en leucoplasias orales.**

E-cadherina	Indetectable		Leve		Moderado		Intenso	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Leucoplasias con displasia	1	10	5	50	4	40	0	0
Leucoplasias sin displasia	1	6.25	2	12.5	6	37.5	8	50

## DISCUSIÓN

La E-cadherina es una proteína implicada en la integridad de las uniones intercelulares en el tejido epitelial, como así también está involucrada en la transducción de señales en el control de diversos eventos celulares, incluyendo la polaridad, la diferenciación, el crecimiento y la migración celular. En el epitelio normal, la E-cadherina se expresa con un patrón de tinción en malla o red principalmente en los estratos espinosos y basal, reduciendo su intensidad de tinción hacia las capas superficiales.<sup>12</sup> Su pérdida o disminución de expresión a nivel de las uniones intercelulares se correlaciona directamente con la progresión de células tumorales y la invasión de las mismas.<sup>13</sup> Esta inactivación puede ocurrir en forma temprana en algunas lesiones premalignas y la pérdida de expresión se cree que induce la señalización intracelular que promueve el desarrollo y progresión del tumor.<sup>14</sup>

Como reflejan los datos obtenidos, esa intensidad de tinción se pierde principalmente en las leucoplasias orales que muestran un grado variable de displasia epitelial, lo cual se pone de manifiesto como una pérdida del patrón en malla característico, o con una disminución en la intensidad de tinción principalmente en los casos de leucoplasias con displasias moderadas a severas, en las que es posible observar un gran desorden histoarquitectural y la presencia de atipias celulares. Sin embargo, en las leucoplasias orales no displásicas la tinción se muestra en niveles intensos, con su patrón característico.

En un estudio realizado por Chaw et al,<sup>15</sup> se expone que la reducción en la expresión de E-cadherina se correlaciona con un aumento en el grado de displasia de moderado a severo. Otros estudios sugieren que mientras mayor sea la pérdida de expresión de E-cadherina mayor es el número de atipias celulares que se pueden encontrar en el epitelio displásico, en correlación con estadios graves de displasia, sugerente de un cambio celular hacia un fenotipo con mayor capacidad de invadir.<sup>16</sup>

En un estudio realizado por Diniz-Freitas<sup>17</sup> sobre carcinomas de células escamosas, identificaron que la pérdida de expresión de E-cadherina está relacionada con la mayor capacidad de invasión del tumor, lo que demuestra un mayor comportamiento agresivo y con metástasis a ganglios linfáticos, por lo cual es un indicador de corto periodo libre de enfermedad y supervivencia más breve.

Esto sugiere que la E-cadherina es un marcador útil en casos de lesiones displásicas avanzadas y carcinomas epidermoides, mientras que en estadios iniciales de alteraciones epiteliales, su expresión se manifiesta con

leves modificaciones, que no difieren de lo observado morfológicamente con técnicas histológicas de rutina.

En nuestra serie de casos, las leucoplasias orales no asociadas a displasia epitelial mostraron patrones de inmunomarcación similares a epitelios normales o con leves pérdidas de expresión, que guardan correlación con los cambios observados con las técnicas histológicas de rutina, lo que sugiere que la pérdida de expresión de E-cadherina sería de relativa utilidad para detectar cambios precoces que antecedan a los observados en la histología.

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) pertenece a la familia de receptores tirosina quinasas ErbB. Las alteraciones en la función de EGFR se han relacionado con la transformación oncogénica, el crecimiento de células autónomas, la invasión, la angiogénesis y el desarrollo de metástasis en varios tipos de cáncer.<sup>18</sup>

Un estudio realizado por Srinivasan et al,<sup>19</sup> sugiere que EGFR en las células epiteliales de las lesiones precancerosas orales con características de displasia, presentan un incremento en la intensidad de la tinción en las células diferenciadas del estrato espinoso, principalmente en las displasias leves.

En su estudio sobre 10 leucoplasias orales y 10 fibrosis submucosas, Naga Jyothi Meka et al,<sup>18</sup> exponen que la expresión del EGFR se encuentra aumentada principalmente en los estratos basales y parabasales del epitelio y en las zonas de mucosa normal, mientras que en leucoplasias orales no se limita solamente a los estratos basales. Estos resultados son compartidos por otros autores como Kobayashi et al,<sup>20</sup> quienes además sostienen que la expresión del factor de crecimiento epidérmico en forma temprana es sugerente de malignidad y recomiendan realizar un seguimiento exhaustivo de los casos clínicos.

En nuestra serie de casos, la marcación con EGFR fue positiva en leucoplasias orales sin alteraciones displásicas, mostrando un predominio de tinción leve, ubicada en los estratos basales y parabasales, mientras que en los casos de leucoplasias con displasia epitelial, la marcación se muestra en forma leve en tres casos, moderado en cuatro casos y se registró solamente un caso con expresión intensa que correspondió histológicamente a una displasia severa, el sitio de tinción predominante fue citoplasmático, afectando principalmente a las células de los estratos basales y espinosos, acentuándose en zonas con desórdenes histoarquitecturales más avanzados.

En un estudio realizado por Ribeiro et al,<sup>21</sup> sobre biopsias de leucoplasias orales, se encontraron diferencias en la positividad de EGFR entre las leucoplasias biopsiadas en sitios de alto y bajo riesgo en la cavidad bucal, la expresión de EGFR fue más frecuente en las lesiones de



alto riesgo que en las zonas de bajo riesgo, lo que sugiere que en estos sitios se encuentran cambios moleculares más avanzados y en forma temprana.

Se propone que los niveles de expresión de EGFR en las lesiones premalignas, parecen ser un factor sensible para predecir el potencial neoplásico de tejidos displásicos. Histológicamente este proceso consiste en la transición a lo largo del tiempo, desde epitelio normal, hiperplasia, displasia hasta carcinoma de células escamosas. El proceso constaría de múltiples cambios moleculares y celulares, incluyendo cambios en la expresión de genes que codifican para receptores-factores de crecimiento. Durante las últimas décadas se ha empleado el término «carcinogénesis de campo» para describir la secuencia de anomalías histológicas (hiperplasia, displasia y carcinoma *in situ*), detectadas en la mayoría de los epitelios normales adyacentes a un carcinoma de células escamosas extirpado. Esta teoría sugiere que los cambios moleculares que predisponen a la progresión de carcinomas espinocelulares, a partir de lesiones precancerosas, pueden aparecer en forma temprana en epitelios clínicamente normales o incluso en mucosa sana alrededor de carcinomas ya instalados, es por eso que se propone al EGFR como un marcador biológico para identificar en forma temprana lesiones de alto riesgo de transformación maligna y guiar la terapia profiláctica.<sup>22</sup>

## CONCLUSIÓN

Las leucoplasias orales suponen un grupo de lesiones con un variable grado de transformación maligna, las cuales poseen alteraciones moleculares que la predisponen. Muchas veces, los signos clínicos que indican su transformación pasan desapercibidos, por lo cual identificarlos en forma temprana infiere en mejores posibilidades de abordar terapéuticas efectivas.

Estas alteraciones moleculares pueden ser evidenciadas por diferentes métodos, entre ellos, los inmunohistoquímicos. En el caso del factor de crecimiento epidérmico, ponen de manifiesto mecanismos de señalización tempranos en la regulación de la proliferación celular, por tal motivo, su sobreexpresión en lesiones precancerosas indican un alto porcentaje de posibilidades de transformación maligna.

Por otro lado, la E-cadherina es un marcador eficaz en lesiones en las cuales los cambios moleculares ya se encuentran en estados avanzados, ya que su pérdida de expresión es observada en lesiones con displasia epitelial ya instaurada o en carcinomas, evidenciando mayor probabilidad de diseminación, mientras que en leucoplasias

sin cambios displásicos, su expresión se muestra con el característico patrón de malla o red observable en mucosas orales normales, por este motivo podemos decir que no es un marcador útil para identificar alteraciones precoces en epitelios lesionados.

Sugerimos realizar estudios longitudinales con mayor número de muestras para validar los resultados obtenidos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. Pathology & Genetics. Head and neck tumours. World Health Organization Classification of Tumours. Lyon: IARC-press; 2005.
2. Vázquez-Álvarez R, Fernández-González F, Gándara-Vila P, Reboiras-López D, García-García A, Gándara-Rey JM. Correlation between clinical and pathologic diagnosis in oral leukoplakia in 54 patients. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010; 15 (6): e832-e838.
3. Martínez-Sahuquillo Márquez A, Gallardo-Castillo I, Cobos-Fuentes MJ, Caballero-Aguilar J, Bullón-Fernández P. La leucoplasia oral. Su implicación como lesión precancerosa. *Av Odontostomatol*. 2008; 24 (1): 33-44.
4. Martorell-Calatayud A, Botella-Estrada R, Bagán-Sebastián JV, Sanmartín-Jiménez O, Guillén-Barona C. La leucoplasia oral: definición de parámetros clínicos, histopatológicos y moleculares y actitud terapéutica. *Actas Dermosifiliogr*. 2009; 100 (8): 669-684.
5. Escribano-Bermejo M, Bascones-Martínez A. Leucoplasia oral: conceptos actuales. *Av Odontostomatol*. 2009; 25 (2): 83-97.
6. Schliephake H. Prognostic relevance of molecular markers of oral cancer-a review. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2003; 32 (3): 233-245.
7. Santos-García A, Abad-Hernández MM, Fonseca-Sánchez E, Julián-González R, Galindo-Villardón P, Cruz-Hernández JJ et al. Expresión de E-cadherina, laminina y colágeno IV en la evolución de displasia a carcinoma epidermoide oral. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2006; 11 (2): 100-105.
8. Cornejo-Urbe R. El factor de crecimiento epidérmico y la diferenciación celular del epitelio mamario. *Int J Morphol*. 2011; 29 (3): 821-824.
9. Díaz A, Lage A. Terapias con inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico: acercando el futuro. *Biología Aplicada*. 2007; 24 (1): 1-9.
10. Yarom N, Marginean C, Moyana T, Gorn-Hondermann I, Birnboim HC, Marginean H et al. EGFR expression variance in paired colorectal cancer primary and metastatic tumors. *Cancer Biol Ther*. 2010; 10 (5): 416-421.
11. Sarkis SA, Abdullah BH, Abdul Majeed BA, Talabani NG. Immunohistochemical expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) in oral squamous cell carcinoma in relation to proliferation, apoptosis, angiogenesis and lymphangiogenesis. *Head Neck Oncol*. 2010; 2: 13.
12. Sridevi U, Jain A, Nagalaxmi V, Kumar UV, Goyal S. Expression of E-cadherin in normal oral mucosa, in oral precancerous lesions and in oral carcinomas. *Eur J Dent*. 2015; 9 (3): 364-372.
13. Cruz MC, Pereira AL, Lopes FF, Nonaka CF, Silva RR, Freitas-Rde A et al. Immunohistochemical expression of E-cadherin and CD44v6 in squamous cell carcinomas of the lower lip and tongue. *Braz Dent J*. 2009; 20 (1): 64-69.
14. Mahomed F, Altini M, Meer S. Altered E-cadherin/b-catenin expression in oral squamous carcinoma with and without nodal metastasis. *Oral Dis*. 2007; 13 (4): 386-392.

15. Chaw SY, Majeed AA, Dalley AJ, Chan A, Stein S, Farah CS. Epithelial to mesenchymal transition (EMT) biomarkers--E-cadherin, beta-catenin, APC and Vimentin--in oral squamous cell carcinogenesis and transformation. *Oral Oncol.* 2012; 48 (10): 997-1006.
16. Yogesh T, Narayan T, Shreedhar B, Shashidara R, Leekymohanty. The expression of E-cadherin and cathepsin-D in normal oral mucosa, oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma: A comparative analysis between immunohistochemistry and routine histopathology. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2011; 15 (3): 288-294.
17. Diniz-Freitas M, García-Caballero T, Antúnez-López J, Gándara-Rey JM, García-García A. Reduced E-cadherin expression is an indicator of unfavourable prognosis in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2006; 42 (2): 190-200.
18. Jyothi Meka N, Ugrappa S, Velpula N, Kumar S, Naik-Maloth K, Kodangal S et al. Quantitative immunoexpression of EGFR in oral potentially malignant disorders: oral leukoplakia and oral submucous fibrosis. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 2015; 9 (3): 166-174.
19. Srinivasan M, Jewell SD. Quantitative analysis of PCNA, c-myc, EGFR and TGF- $\alpha$  in oral submucous fibrosis- an immunohistochemical study. *Oral Oncol.* 2001; 37 (5): 461-467.
20. Kobayashi H, Kumagai K, Gotoh A, Eguchi T, Yamada H, Hamada Y et al. Upregulation of epidermal growth factor receptor 4 in oral leukoplakia. *Int J Oral Sci.* 2013; 5 (1): 14-20.
21. Ribeiro DC, Gleber-Netto FO, Sousa SF, Bernardes VF, Guimaraes-Abreu MHN, Ferreira-Aguiar MC. Immunohistochemical expression of EGFR in oral leukoplakia: association with clinico-pathological features and cellular proliferation. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012; 17 (5): 739-744.
22. Díaz-Prado S, Gallego-Guadalupe A, López-Cedrún JL, Ferreras-Granado J, Antón-Aparicio L. La ciclooxigenasa-2 (COX-2) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) en lesiones epiteliales orales premalignas. *Rev Esp Cirug Oral y Maxilofac.* 2009; 31 (3): 170-181.

Correspondencia:

**Pedro Luis Fortin**

E-mail: pedrofortin@hotmail.com