



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---



**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**INMUNOEXPRESIÓN DEL RECEPTOR DEL FACTOR DE  
CRECIMIENTO EPIDERMAL EN CARCINOMA  
EPIDERMOIDE DE BOCA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**C I R U J A N A D E N T I S T A**

P R E S E N T A:

**CLAUDIA BERENICE TORRES CASTRO**

**TUTORA: DRA. ELBA ROSA LEYVA HUERTA**

**ASESOR: C.D. CÉSAR ESQUIVEL CHIRINO**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradezco a mis padres por el amor incondicional que me han brindado, porque sin ellos esto no se habría logrado, a mi tutora de tesis, la Dra. Elba Rosa Leyva Huerta por su confianza y apoyo en este proyecto, y a mi asesor C.D. César Esquivel Chirino por el valioso tiempo que dedicó en este trabajo.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	1
<b>INTRODUCCIÓN</b>	2
<b>ANTECEDENTES</b>	3
<b>ANTECEDENTES</b>	3
<b>CARCINOMA EPIDERMOIDE</b>	3
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	3
LOCALIZACIÓN Y FRECUENCIA	5
<i>Carcinoma de labio</i>	6
<i>Carcinoma de lengua</i>	6
<i>Carcinoma de piso de boca</i>	7
<i>Carcinoma de paladar blando</i>	7
<i>Carcinoma de encía y reborde alveolar</i>	7
<i>Carcinoma de mucosa bucal</i>	8
CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS	9
<i>Displasia epitelial</i>	9
<i>Clasificación según el grado de diferenciación</i>	11
<i>Clasificación de Broders</i>	12
<i>Clasificación de Jackobbson</i>	12
<i>Clasificación de Anneroth</i>	14
FACTORES CARCINOGENÉTICOS	17
<i>Tabaco</i>	17
<i>Alcohol</i>	17
<i>Virus</i>	18
<i>Irritación crónica</i>	18
<i>Luz Ultravioleta</i>	19
<i>Deficiencias nutricionales</i>	19
<b>FACTORES DE CRECIMIENTO</b>	20
FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL (EGF)	22
RECEPTOR DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL (EGF-R)	24
<b>RECEPTOR DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL Y CARCINOMA EPIDERMOIDE DE BOCA</b>	26
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	27

<b>JUSTIFICACIÓN</b>	27
<b>OBJETIVO GENERAL</b>	27
OBJETIVOS ESPECIFICOS	27
<b>TIPO DE ESTUDIO</b>	27
<b>UNIVERSO DE ESTUDIO</b>	28
CRITERIOS DE INCLUSIÓN	28
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	28
VARIABLE INDEPENDIENTE	28
VARIABLE DEPENDIENTE	28
<b>MATERIALY MÉTODOS</b>	29
<b>RESULTADOS</b>	33
<b>DISCUSIÓN</b>	63
<b>CONCLUSIONES</b>	65
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	66

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Localización y frecuencia del carcinoma epidermoide bucal.	5
Tabla 2. Criterios de gradificación de la displasia.	10
Tabla 3. Algunos factores de crecimiento y sus funciones.	21
Tabla 4. Sitios de localización de los 53 casos de carcinoma epidermoide.	56
Tabla 5. Inmunorespuesta de los 53 casos de carcinoma epidermoide.	59
Tabla 6. Concentrado del total de los casos del estudio.	60

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Género de los pacientes de los casos del estudio.	55
Gráfica2. Promedio de edad de los pacientes de los casos del estudio.	55
Gráfica 3. Porcentaje de casos por región anatómica en todos los grupos.	56
Gráfica 4. Porcentaje de casos por región anatómica en el grupo femenino.	57
Gráfica 5. Porcentaje de casos por región anatómica en el grupo masculino.	57
Gráfica 6. Grado de diferenciación de los 53 casos de carcinoma epidermoide.	58
Gráfica 7. Inmunorespuesta de los 53 casos de carcinoma epidermoide.	59

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del Factor de Crecimiento Epidermal.	22
Figura 2. Estructura del Receptor del Factor de Crecimiento Epidermal.	24
Figura 3. Activación del EGF-R por el EGF.	25
Figura 4. Imagen histológica de un carcinoma epidermoide bien diferenciado.	53
Figura 5. Imagen histológica de un carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado.	54
Figura 6. Imagen histológica de un carcinoma epidermoide pobremente diferenciado.	54
Figura 7. Imagen histológica en donde se muestra una inmunorespuesta nula.	61
Figura 8. Imagen histológica en donde se muestra una inmunorespuesta leve.	61
Figura 9. Imagen histológica en donde se muestra una inmunorespuesta moderada.	62
Figura 10. Imagen histológica en donde se muestra una inmunorespuesta severa.	62



## RESUMEN

El carcinoma epidermoide es la neoplasia maligna más frecuente de la cavidad bucal, en donde el factor de crecimiento epidermal EGF y su receptor EGF-R pueden estar relacionados con su proliferación y grado de diferenciación.

El objetivo de esta investigación fue clasificar el carcinoma epidermoide de acuerdo al grado de diferenciación e identificar inmunohistoquímicamente el EGF-R relacionando su presencia con la localización y el grado de diferenciación del carcinoma. Se acudió al archivo del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental para buscar todos los casos existentes a partir de 1994 al 2005 diagnosticados como carcinoma epidermoide, se recopilaron los cubos de parafina. Se realizaron cortes histológicos de los cubos incluidos en parafina y se realizó la tinción con Hematoxilina y Eosina y la técnica de inmunohistoquímica

En nuestro estudio encontramos que el carcinoma epidermoide fue más frecuente en mujeres y la localización más habitual del carcinoma en nuestra población fue la encía. En las mujeres la región anatómica más afectada fue la encía y en los hombres lengua y piso de boca. La mayoría de los casos fueron carcinomas epidermoides bien diferenciados con un porcentaje del 47.5%, los carcinomas moderadamente diferenciados se presentaron en un 41.5 % y los pobremente diferenciados en un 14.3%. Al examinar la expresión de EGF-R se pudo observar que algunos carcinomas no lo expresaron, sin embargo la mayoría de ellos tuvieron una expresión severa. Al analizar cualitativamente el EGF-R observamos que se expresó en el 43.4% de forma severa, 26.4% moderadamente, 26.4% levemente y fue nula en el 3.8%

EGFR se expresó en mayor medida en carcinomas epidermoides bien diferenciados y en menor frecuencia en carcinomas pobremente diferenciados.

Sin embargo en los carcinomas moderadamente diferenciados EGF-R también se expresó, la diferencia en la frecuencia de expresión en carcinomas bien diferenciados y moderadamente diferenciados fue de un caso

No encontramos correlación entre la expresión de EGF-R y el grado de diferenciación celular de los carcinomas epidermoides.

## INTRODUCCIÓN

El carcinoma epidermoide consiste en un crecimiento celular desordenado con la diseminación de células anormales en el organismo, que invaden tejidos y órganos; todo ello determinado por una mutación inicial seguida de la acumulación de mutaciones sucesivas. A diferencia de las células normales que están reguladas por los mismos mecanismos de control que las hacen dividirse cuando es necesario e impiden que crezcan y se dividan en momentos inapropiados. Las células cancerosas han escapado a tales controles y pueden dividirse de manera continua.

Las células normales proliferan en respuesta a señales, como son los factores de crecimiento, interacciones con otras células o con la matriz extracelular las cuales estimulan su ciclo celular. Las células cancerosas necesitan un menor número o concentraciones más reducidas de factores de crecimiento, o incluso son totalmente independientes de ellos o de unión a sustratos u otras células. Esto les confiere una ventaja para proliferar respecto a las células normales.

Un factor de crecimiento involucrado en el desarrollo del carcinoma epidermoide es el factor de crecimiento epidermal (EGF) y su receptor EGF-R.

El EGF está implicado en la proliferación, diferenciación y supervivencia de células malignas; la presencia de este factor en carcinoma epidermoide se correlaciona con metástasis a nódulos linfáticos, mayor grado de invasión y con una menor sobrevida.

EGF-R regula el crecimiento celular en respuesta a la unión con su ligando el EGF, estimulando la proliferación y diferenciación así mismo favoreciendo la adhesión de células normales y malignas. Se encuentra sobreexpresado en el carcinoma epidermoide de cabeza y cuello, la expresión incrementada se correlaciona con progresión tumoral, estadio tumoral avanzado, grado de diferenciación celular, metástasis a nódulos linfáticos y un pronóstico reservado.

## **ANTECEDENTES**

### **CARCINOMA EPIDERMOIDE**

También se le denomina carcinoma de células escamosas y carcinoma espinocelular, es la neoplasia maligna más frecuente de cavidad bucal, representando alrededor del 90% del total del cáncer en boca, mientras que el 10% restante son melanomas, sarcomas, carcinomas de glándulas salivales menores y carcinomas metastáticos; se desarrolla en el epitelio plano estratificado, provoca la proliferación, invasión y metástasis; aunque se presenta en diversas localizaciones intraoralmente, es más frecuente en el labio inferior, en los bordes laterales de la lengua y en el piso de la boca.

Esta neoplasia suele aparecer a partir de los 50 y 60 años y raramente se presenta antes de los 30, es más frecuente en hombres que en mujeres, pero el aumento del uso del tabaco y alcohol por parte de las mujeres, hace que haya aumentado la incidencia en ellas.<sup>1-5.</sup>

Una serie de factores etiológicos están implicados en el desarrollo del carcinoma epidermoide tales como: el consumo del tabaco en sus diversas formas, ya sea en cigarrillos, tabaco en pipa, rapé y tabaco de mascar, también el alcohol, virus, radiación actínica en caso del carcinoma de labio, inmunosupresión, deficiencias nutricionales, enfermedades preexistentes e irritación crónica.<sup>1-5, 6.</sup>

### **CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS**

El carcinoma epidermoide en etapa temprana es por lo general asintomático, clínicamente se puede manifestar como: ulceración o erosión, leucoplasia, eritroplasia, induración y linfadenopatía.<sup>7,8.</sup>

La lesión precancerosa bucal más común es la leucoplasia, la cual representa más del 75% de estas lesiones, esta puede ser homogénea y no homogénea; la última presenta mayor riesgo de transformación maligna.

Las leucoplasias homogéneas son más frecuentes y se presentan como una placa predominantemente blanca, plana o poco elevada; a veces manifiesta una disposición corrugada o forma un mosaico. La coloración puede ser en ocasiones amarillenta o grisácea.

La leucoplasia bucal no homogénea es una lesión mixta: blanca y roja, de aspecto irregular y con diferentes configuraciones: nodular, eritoplásica y verrugosa.

- En el tipo nodular se observan áreas blancas nodulares sobre una base eritematosa, interpuestas con otras rojas atróficas erosivas.
- El tipo eritoplásico se caracteriza por la aparición de manchas blancas irregulares en forma de parches sobre una superficie eritematosa.
- El tipo verrugoso presenta lesiones blancas con proyecciones dactiliformes con un mayor relieve; puede tener un carácter proliferativo y múltiple.

El carcinoma epidermoide en estadio avanzado puede presentarse bajo tres formas clínicas:

- Tipo exofítico
- Tipo endofítico
- Tipo mixto

La tumoración exofítica es de crecimiento hacia fuera de forma vegetante, observándose una tumoración de superficie irregular y dura a la palpación.

La endofítica que corresponde a la úlcera neoplásica, la cual se caracteriza por tener una forma irregular, con bordes evertidos y fondo sucio; en la palpación se percibe dureza y sensación de infiltración en los tejidos profundos. En el de crecimiento mixto se unen las características de las dos anteriores.

El carcinoma epidermoide que ha infiltrado profundamente en el tejido conjuntivo puede tener pocos cambios superficiales, pero aparece como un área indurada firme con pérdida de la movilidad del tejido. En el piso de boca esta lesión produce habitualmente fijación de la lengua e imposibilidad de abrir la boca totalmente. El carcinoma que invade la encía hasta el maxilar o la mandíbula subyacentes puede llevar a movilidad o pérdida de los dientes, mientras que los que penetran

profundamente en la mandíbula con afectación del nervio dentario inferior pueden causar parestesia de los dientes y del labio inferior.<sup>4, 7-9.</sup>

## LOCALIZACIÓN Y FRECUENCIA

El labio inferior es el sitio más propenso. En el interior de la cavidad bucal, las caras lateral y ventral de la lengua y el piso de la boca son los sitios más comunes, seguidos por la parte posterior del paladar blando, especialmente en las áreas adyacentes a los pilares amigdalinos. Con menor frecuencia, el sitio de origen es el área del surco gingivoalveolar. Son relativamente raros los carcinomas originados en el paladar duro y en el dorso de la lengua. La mucosa bucal, se ve afectada raras veces.<sup>4.</sup> La tabla 1 muestra el orden de frecuencia de la localización del carcinoma epidermoide bucal.

**Tabla 1. Localización y frecuencia del carcinoma epidermoide bucal.**

<b>LOCALIZACIÓN</b>	<b>FRECUENCIA</b>
<b>Carcinoma de labio</b>	40%
<b>Carcinoma de lengua</b>	25%
<b>Carcinoma del piso de la boca</b>	20%
<b>Carcinoma de encía</b>	6%
<b>Carcinoma de paladar duro y blando (incluyendo la úvula)</b>	Del 5 al 6%
<b>Carcinoma de amígdala</b>	2%
<b>Carcinoma de mucosa bucal:</b>	2%

*Tomado de Flores G. Patología Oncológica. 1997.*

A continuación describiremos brevemente a cada uno de los carcinomas de acuerdo a su localización.

#### *Carcinoma de labio*

- El carcinoma de labio inferior es mucho más frecuente que el del superior.
- Más frecuente en hombres que en mujeres
- La mayoría de las lesiones aparecen en los bordes derecho o izquierdo del bermellón de los labios y rara vez en la línea media.
- Con frecuencia las lesiones van precedidas por períodos prolongados de queilitis actínica, seguidos por un intervalo de ulceración y formación de costras recidivantes.
- El carcinoma incipiente puede aparecer como una úlcera crónica que no cicatriza.
- En lesiones más avanzadas pueden presentar un aumento de volumen indurado y ulcerado con queratina.
- Las lesiones presentes durante largos períodos suelen metastizar primero a los ganglios linfáticos submentonianos regionales y después a los ganglios digástricos y cervicales.
- Son bien diferenciados y tardan en producir metástasis, cuando no han producido metástasis las lesiones son curables casi al 100 %.<sup>4, 8, 10.</sup>

#### *Carcinoma de lengua*

- Casi el 60 % de las lesiones se originan en los dos tercios anteriores de la lengua y el resto proviene de la base
- Las lesiones aparecen inicialmente como áreas de leucoplasia que se ulceran y desarrollan bordes elevados. Otras lesiones pueden empezar como áreas focales de eritema o zonas nodulares.
- Las lesiones avanzadas se ulceran y producen induración extensa del tejido circundante, llevando frecuentemente a inmovilidad de la lengua y alteración del habla.<sup>4, 8, 11.</sup>

### *Carcinoma de piso de boca*

- Generalmente el carcinoma localizado en el piso de boca se inicia en la zona anterior de las carúnculas.
- Las lesiones tempranas inician por lo general como un área de leucoplasia o eritroplasia que evoluciona gradualmente a una ulceración central de forma irregular.
- Cuando las lesiones avanzan, el área se convierte en nodular e indurada e invade los tejidos más profundos.
- Invade la parte ventral de la lengua (fijándola al piso de boca) y la encía.
- Son moderadamente diferenciados y metastatizan relativamente pronto al triángulo submandibular y a los ganglios linfáticos de la cadena yugular superior.<sup>4, 8, 10.</sup>

### *Carcinoma de paladar blando*

- Se presenta con mayor frecuencia en las regiones posterolaterales adyacentes a los pilares anteriores del istmo de las fauces.
- Las lesiones son eritroplásicas o incluyen una mezcla de áreas que semejan a placas rojas y blancas.
- La invasión suele producirse antes de ser visible la ulceración de su superficie.
- La mayoría de las lesiones son moderada o pobremente diferenciadas
- Metastatizan a los ganglios linfáticos cervicales y yugulares antes de que existan grandes lesiones ulcerativas o nodulares.<sup>4, 8, 10.</sup>

### *Carcinoma de encía y reborde alveolar*

- Se presenta como una leucoplasia verrucosa o como úlcera indurada
- Más frecuente en mandíbula, que en el maxilar superior, se presenta por lo general en el área premolar y molar
- Invaden el hueso subyacente a través de la membrana periodontal cuando existen dientes. Provocando movilidad dentaria y pérdida de dientes, en ausencia de enfermedad periodontal avanzada y alvéolos que ya no cicatrizan después de la extracción.

- Las lesiones suelen ser bien diferenciadas
- En la mandíbula la metástasis suele afectar a los ganglios linfáticos submandibulares y cervical. <sup>4, 8, 10.</sup>

#### *Carcinoma de mucosa bucal*

- Las lesiones suelen presentarse en forma de úlceras situadas a lo largo de la línea oclusal.
- La mayoría de las lesiones metastatizan a los ganglios linfáticos submandibulares.
- Son moderadamente diferenciados. <sup>4, 8, 10..</sup>



## CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS

El desarrollo de un proceso maligno en el epitelio plano estratificado tiene lugar espontáneamente o bien como un proceso gradual en el cual múltiples alteraciones individuales de células y tejidos terminan en un proceso de malignidad. La combinación de los cambios tisulares observados en la transición gradual hacia la malignidad (pre malignidad) se denomina displasia epitelial.<sup>4, 8.</sup>

### *Displasia epitelial*

En la displasia epitelial se encuentran las siguientes alteraciones individuales de las células y tejidos.

- Hiperplasia basal o basilar
- Estratificación irregular del epitelio
- Incremento de figuras mitóticas.
- Presencia de figuras mitóticas en la mitad superficial del epitelio
- Queratinización de células individuales o de grupos de células en la capa espinosa
- Pleomorfismo celular
- Hiper cromatismo nuclear
- Alteración de la relación núcleo-citoplasma
- Nucléolos agrandados
- Pérdida de la polaridad de las células basales
- Formación de crestas epiteliales bulbosas
- Pérdida o reducción de la adherencia intercelular

La severidad de la displasia epitelial basada en su aspecto microscópico se expresa mediante la asignación de un grado que se conoce como: leve, moderada y severa o carcinoma in situ. El grado de la displasia epitelial puede aumentar con el tiempo. Cuando se suprime el factor inductor, algunas formas leves o incipientes regresaran y el epitelio volverá a la normalidad.

En otras formas de displasia, incluso con control de algún factor responsable, la reversión puede no ser posible, aunque la velocidad de evolución a una forma más grave suele ser lenta. Parece ser que las formas moderada y severa de la displasia epitelial no puedan regresar a la normalidad con la eliminación de su causa. En algunos casos, la regresión de las formas moderada y grave puede no ser posible porque la membrana basal epitelial puede estar ya invadida focalmente, cuando el tejido conjuntivo adyacente está invadido por epitelio displásico, se considera carcinoma epidermoide. . 4, 5, 8.

En la tabla 2 se muestran los criterios de gradificación de la displasia.

**Tabla 2. Criterios de gradificación de la displasia.**

<b>GRADO</b>	<b>CARACTERÍSTICAS</b>
<b>BAJO</b>	Hiperplasia de las células basales Pérdida de la polaridad de las células basales
<b>MEDIO</b>	Hiperplasia de las células basales Pérdida de la polaridad de las células basales Moderado polimorfismo celular Incremento en el rango de mitosis Disqueratosis ocasionalmente
<b>ALTO</b>	Hiperplasia de las células basales Pérdida de la polaridad de las células basales Marcado polomorfismo celular Incremento en el rango de mitosis Disquertosis incrementada Epitelio estratificado anormal
<b>CARCINOMA IN SITU</b>	Alto grado de displasia Pérdida de epitelio estratificado Estroma no invadido o intacto

*Tomado de Oral cancer y Diseases of the Oral Mucosa. 1994.*

Se utilizan diferentes clasificaciones histológicas para la gradificación de los tumores como: el grado de diferenciación, la clasificación de Broders, Jakobsson, Anneroth y de Glanz.

#### *Clasificación según el grado de diferenciación*

El criterio de diferenciación está basado en el análisis del patrón histológico del tumor en comparación con las características del epitelio plano estratificado del cual deriva. Según la semejanza o la ausencia de parecido se clasifican en tres grado: bien, moderadamente y poco o pobremente diferenciado.<sup>5,7.</sup>

**Bien diferenciado.** Presenta un aspecto histológico similar al del epitelio plano estratificado y las células constituyentes tienden a madurar en su estrato corneo, es decir que se forma queratina, en forma de perlas. Estas neoplasias están constituidas por elementos epiteliales dispuestos en nidos, cordones o masas sólidas con límites bien definidos. Las mitosis no suelen ser muy abundantes y existen escasas mitosis atípicas. Es frecuente encontrar un intenso infiltrado peritumoral.

**Moderadamente diferenciados.** Posee una menor semejanza con las células escamosas, tanto en la forma como en la disposición de sus células. La presencia de queratina es menor, y en ocasiones se producen fenómenos de queratinización individual de una célula. El número de mitosis suele ser elevado y el infiltrado peritumoral menor.

**Pobremente diferenciados.** El parecido de los elementos celulares neoplásicos con el epitelio escamoso es muy escaso, existiendo en ocasiones dificultad para reconocer la naturaleza epitelial del tumor debido al gran polimorfismo celular, al escaso grado de maduración y al elevado número de mitosis. Las células no mantienen una cohesión entre ellas, de forma que la arquitectura tumoral tiene un aspecto muy disperso.<sup>5,7.</sup>

### *Clasificación de Broders*

En relación con la diferenciación tumoral existe otra clasificación, que considera cuatro grados.

**Grado I.** Más del 75% de su superficie esta constituido por células bien diferenciadas, siendo el número de perlas córneas considerable. Con frecuencia se observa la porción central del tumor completamente queratinizada. Suelen presentar reacción inflamatoria peritumoral marcada.

**Grado II.** Más de un 50% de su superficie esta constituida por células diferenciadas, la queratinización es menos evidente, con menos perlas córneas y más células atípicas.

**Gado III.** Cuando más del 25 % de las células están bien diferenciadas, la queratinización es mínima y no hay perlas córneas. La queratinización suele producirse en pequeños grupos celulares o en células individualizadas. La mayoría de las células son atípicas, mitosis abundantes y a menudo atípicas.

**Grado IV.** Ausencia casi total de queratinización y el porcentaje de células diferenciadas es inferior al 25%, La mayoría de sus células son atípicas.<sup>5, 7.</sup>

### *Clasificación de Jakobsson*

En 1973 Jakobsson desarrolla un sistema multifactorial de gradificación con el propósito fundamental de obtener una evaluación morfológica más precisa. Se basa en dos factores que evalúan el desarrollo de un tumor de origen epitelial que son los factores intrínsecos de la neoplasia y factores del huésped-tumor.<sup>4, 9, 12.</sup>

### **Factores intrínsecos de la neoplasia:**

**Grado de queratinización:** Formación de perlas córneas o zonas individuales queratinizadas.

- I. Neoplasia con queratinización mayor de 50%.
- II. Neoplasia moderadamente diferenciada con queratinización que oscila entre un 20% a un 50%.
- III. Mínima queratinización, de 5% a 10%.

IV. Mínima o nula queratinización individual.

**Polimorfismo nuclear:** Observación del número, tamaño y forma de los núcleos de las células tumorales.

- I. Más del 75% de las células son maduras.
- II. Moderado polimorfismo, del 50% al 75% son células maduras
- III. Abundante polimorfismo nuclear, del 25% al 50% son células maduras
- IV. Polimorfismo nuclear extremo, del 0% al 25% son células maduras.

**Numero de mitosis:** Se deben valorar numerosos campos a una resolución de 40x.

- I. De 0-1mitosis
- II. De 2-3 mitosis
- III. De 4-5 mitosis
- IV. Más de 6 mitosis por campo

**Factores relacionados entre tumor y huésped.**

**Patrón de invasión:** Se observan las características infiltrativas.

- I. Áreas o mantos sólidos de células con bordes definidos o de tipo empujante.
- II. Neoplasia con infiltración en cordones sólidos, bandas o listones.
- III. Grupos pequeños o cordones delgados no mayores de 15 células.
- IV. Marcada invasión estrómicca individual o en grupos menores de 15 células.

**Estado de invasión tumoral:** Define la profundidad de invasión de la neoplasia.

- I. In situ o invasión cuestionable.
- II. Invasión hasta la lámina propia.
- III. Invasión por debajo de la lámina propia, en áreas adyacentes al músculo, glándulas salivales y periostio.
- IV. Invasión a través del hueso o invasión profunda a planos musculares.

**Infiltrado linfoplasmocitario:** Reflejo del estado inmunológico del huésped frente a la neoplasia, de preferencia se debe hacer en los límites de las áreas de invasión tumoral.

- I. Infiltrado abundante de linfocitos o de células plasmáticas en estrecha relación con las células tumorales.
- II. Infiltrado moderado.
- III. Infiltrado ligero.
- IV. Infiltrado nulo. <sup>4, 12.</sup>

#### *Clasificación de Anneroth*

##### **Grado de queratinización**

Grado 1. Se trata de neoplasias altamente queratinizadas, donde más del 50 % de células neoplásicas muestran queratinización.

Grado 2. Neoplasias moderadamente diferenciadas, de las cuales 20 a 50% de sus células muestran queratinización.

Grado 3. Mínima queratinización, donde 5 a 20% de células neoplásicas presentan queratinización.

Grado 4. Mínima a nula queratinización. La población celular neoplásica muestra poca o nula queratinización individual.

##### **Pleomorfismo nuclear**

Grado 1. Representa a las células con poco pleomorfismo nuclear, en una población relativamente homogénea. Más de 75% de las células neoplásicas registran maduración.

Grado 2. Las células neoplásicas muestran moderado pleomorfismo nuclear. Entre 50 y 75% de las células malignas indican maduración.

Grado 3. Corresponde a una población de células con abundante pleomorfismo nuclear. Entre 25 a 50% de la población de células neoplásicas denotan maduración.

Grado 4. Hay notorio pleomorfismo nuclear. Sólo hay entre menos de 25% de células maduras.

### **Numero de mitosis**

Grado 1. De 0 a 1 mitosis por campo.

Grado 2. De 2 a 3 mitosis.

Grado 3. De 4 a 5 mitosis.

Grado 4. Más de 6 mitosis.

### **Relación tumor-hospedero**

#### **Patrón de invasión**

Grado 1. Neoplasia compuesta de áreas sólidas o “mantos” de células neoplásicas con bordes definidos o de tipo “empujante”.

Grado 2. Neoplasia con infiltración en cordones sólidos, bandas o “listones”.

Grado 3. Grupos pequeños de células o cordones delgados, que infiltran el estroma. El número de células en cada grupo no debe ser menor de 15.

Grado 4. Neoplasia con marcada invasión, con células que infiltran de manera individual, o en grupos menores de 15 células.

#### **Estado de invasión tumoral**

Grado 1. Neoplasia confinada al epitelio, carcinoma in situ o cuestionable invasión.

Grado 2. Invasión que afecta claramente la lamina propia.

Grado 3. Invasión por debajo de la lámina propia. Células neoplásicas adyacentes a músculo, tejidos de glándulas salivales y periostio.

Grado 4. Invasión a través del hueso o invasión profunda de planos musculares.

#### **Infiltrado linfoplasmocitario:**

Grado 1. Infiltrado intenso de linfocitos y/o células plasmáticas, en estrecha relación con células neoplásicas

Grado 2. Infiltrado moderado

Grado 3. Infiltrado ligero

Grado 4. Nulo.

### *Clasificación de Glanz.*

En 1984 Glanz y cols., empleando secciones del tumor o del órgano completo, lograron una valoración de los cambios histológicos. Estos autores proponen un sistema de clasificación que abarca cuatro parámetros para establecer el índice de malignidad: diferenciación y polimorfismo, estructura y borde del tumor, invasión vascular y perineural, así como respuesta celular del hospedero.<sup>9</sup>

### **I Diferenciación y polimorfismo tumoral**

1 Queratinización marcada con o sin polimorfismo

2 Queratinización moderada con o sin polimorfismo

3 Queratinización escasa con o sin polimorfismo

### **II Estructura y bordes tumorales**

1 Formación celular sólida o compacta con bordes expansivos evidentes

2 Pequeños cordones celulares e hileras con borde infiltrante poco definido

3 Disociación del grupo celular

### **III Invasión vascular y perineural**

0 Invasión no demostrada

1 Invasión posible

2 Invasión probada

### **IV Respuesta celular del huésped**

0 Marcada

1 Moderada

2 Deficiente o nula

**Puntuación máxima total: 10**



## FACTORES CARCINÓGENOS.

### *Tabaco*

Todas las formas de tabaquismo, incluido el consumo de tabaco no fumado, se han implicado en el origen del cáncer bucal, el riesgo de padecer cáncer bucal en un fumador es 6 veces superior al de un no fumador.

Fumar puros y pipa se acompaña de mayor riesgo de desarrollar cáncer de boca en comparación con el hábito de fumar cigarrillos, salvo en el caso de fumar al revés; esto aumenta de manera excesiva el riesgo debido a la intensidad del calor junto a los tejidos del paladar y la lengua.

El consumo de tabaco no fumado en forma de rapé (tabaco machacado y finamente picado) o masticado (hojas sueltas) aumenta el riesgo de cáncer, en especial de la mucosa bucal y la encía.

Estudios epidemiológicos demuestran que de todas las personas con cáncer bucal, más de la mitad fuma. La relación entre tiempo y dosis de los carcinógenos del humo del tabaco y del propio tabaco tienen importancia primordial en el factor etiológico del cáncer bucal. Por ejemplo la nitrosamina, el carcinógeno más abundante presente en el tabaco, daña el ADN celular causando mutaciones que desregulan la actividad de los genes supresores y favorecen las alteraciones neoplásicas a nivel celular. El riesgo se incrementa en proporción al tiempo y la cantidad de tabaco fumado.<sup>11, 13-15.</sup>

### *Alcohol*

La ingestión de alcohol aumenta el riesgo de desarrollar cáncer bucal, pero es difícil delimitar el alcohol como factor carcinógeno porque casi todos los pacientes con esta enfermedad también fuman.

Los efectos combinados del tabaco y el alcohol tienen acción sinérgica en el desarrollo del cáncer de la boca. Este efecto se debe a la capacidad del alcohol de irritar la mucosa y de actuar como solvente de carcinógenos, en especial los del tabaco, pero también los contaminantes carcinógenos de las bebidas alcohólicas pueden tener alguna función en la producción del cáncer. El abuso combinado de alcohol y tabaco ejerce un efecto multiplicador del riesgo a

desarrollar cáncer de cavidad oral. Este riesgo es aproximadamente 15 veces superior en el consumidor de alcohol y tabaco que el de una persona que no tiene ninguno de estos hábitos.<sup>8, 11, 16-19.</sup>

### *Virus*

En la actualidad existen investigaciones que han identificado la posible relación de 2 virus en la patogénesis del carcinoma epidermoide, el virus del herpes simples 1 (VHS-1) y el virus del papiloma humano (VPH-16 y VPH-18).<sup>20-22.</sup>

La posibilidad de que el virus del herpes desempeñe un papel importante en la etiología se basa en la detección de anticuerpos frente a este virus en un porcentaje importante de los pacientes con esta enfermedad. Además, la presencia del ácido nucleico de este virus en ausencia de cualquier infección detectable de herpes sugiere que su genoma está presente en el tumor.

Otros estudios demuestran la presencia del virus del papiloma humano (VPH) (subtipos 16, 18, 33, y 35) en los carcinomas epidermoides bucales. El subtipo 16 parece ser el más frecuente en el 80% de los virus encontrados en estos carcinomas, en el 75% a 100% de los carcinomas epidermoides infiltrantes se encuentran secuencias de ADN de los tipos 16 y 18 del VPH.<sup>20-22.</sup>

### *Irritación crónica*

Es raro que el traumatismo por dentaduras mal adaptadas, obturaciones dentales rotas y otros roces por fricción induzcan cáncer bucal. Sin embargo, sí un cáncer se inicia por otra causa, probablemente estos factores aceleren el proceso.

Para algunos autores no existe relación entre la irritación provocada por dientes rotos o con bordes afilados o bien prótesis mal adaptadas y en el caso de que existiera, sería por coincidencia. Sin embargo, otros trabajos encuentran en un elevado porcentaje de casos una relación entre ambos.<sup>8, 11.</sup>

### *Luz Ultravioleta*

Estudios epidemiológicos han demostrado que los rayos UV procedentes del sol dan lugar a una mayor frecuencia de carcinoma epidermoide de labio.<sup>9</sup> El grado de riesgo depende de la intensidad de la exposición y de la cantidad de capa protectora absorbente de luz formada por la melanina cutánea. La carcinogénesis de los rayos UV se atribuye a la formación de dímeros de timina en el ADN. Si no se reparan estos dímeros producen errores de transcripción mayores, y en algunos casos cáncer. Las radiaciones de longitud de onda de 2 900 a 3 200 Å (UVB) son más carcinógenas que la luz de 3 200 a 3 400 Å (UVA).<sup>8, 23.</sup>

### *Deficiencias nutricionales*

La deficiencia de hierro que acompaña al síndrome de Plumeer-Vinson se asocia con un riesgo elevado de carcinoma epidermoide de esófago, orofaringe y zona posterior de la cavidad bucal; este síndrome afecta a mujeres de mediana edad y consiste en atrofia de la mucosa, lengua roja dolorosa, disfagia y predisposición al carcinoma epidermoide bucal.<sup>7, 8, 24.</sup>

## **FACTORES DE CRECIMIENTO**

Los factores de crecimiento son moléculas polipeptídicas que participan en diferentes vías de señalización para el crecimiento, proliferación y diferenciación celular. Desempeñan un papel importante en la regulación de la embriogénesis, el desarrollo y la supervivencia celular; así como en la hematopoyesis, reparación de los tejidos y la proliferación neoplásica. Regulan también la transcripción de genes que participan en la proliferación celular, entre los que se encuentran protooncogenes y genes supresores de tumores.<sup>23, 25, 26.</sup>

Los factores de crecimiento ejercen sus funciones de distintas maneras; entre ellos se encuentran EGF, FGF, PDGF, IFG y TGF. En la tabla 3 se describen las funciones de algunos factores de crecimiento. En determinados casos son secretados por diferentes tipos celulares y algunos se encuentran en la circulación sanguínea, pueden actuar por distintos mecanismos de comunicación celular como el sistema endocrino, paracrino y autocrino.

Actúan mediante su unión reversible de alta afinidad a moléculas específicas denominadas receptores que se encuentran en la membrana celular. Como consecuencia de la formación de estos complejos se inducen una serie de procesos bioquímicos conocidos como transducción de señales mitogénicas por lo que la información llega al núcleo, donde se produce la estimulación del ciclo celular.<sup>23, 25.</sup>

Poseen un importante papel en la carcinogénesis, un oncogén puede codificar factores de crecimiento y los mismos factores pueden, permitir la expresión de un segundo oncogén.<sup>27, 28.</sup>

Las células normales proliferan en respuesta a señales que son factores de crecimiento o interacciones con otras células o con la matriz extracelular las cuales estimulan su ciclo celular. Las células cancerosas necesitan un menor número o concentraciones más reducidas de factores de crecimiento, o incluso

son totalmente independientes de ellos o de unión a los sustratos y a otras células. Esto les confiere una ventaja para proliferar respecto a las células normales.<sup>23, 25.</sup> En 1962 Stanley Cohen descubrió el factor de crecimiento epidermal (EGF) mientras realizaba experimentos con el factor de crecimiento nervioso. Encontró que si eran inyectados extractos de la glándula submaxilar de ratones adultos a ratones recién nacidos, se inducía la apertura prematura de sus párpados y la erupción precoz de sus dientes, estos efectos inesperados indicaban la existencia de un nuevo factor de crecimiento. Este factor de crecimiento y su receptor se encuentran involucrados en el desarrollo del carcinoma epidermoide.<sup>29, 30.</sup>

**Tabla 3. Algunos factores de crecimiento y sus funciones**

<b>FACTOR</b>	<b>SIGLAS</b>	<b>RECEPTORES</b>	<b>FUNCIÓN</b>
<b>Factor de crecimiento epidermal</b>	EGF	Receptor de EGF	Estimula la proliferación de derivados ectodérmicos y endodérmicos, así como de fibroblastos, condrocitos y osteoblastos
<b>Factor de crecimiento fibroblástico</b>	FGF	Receptores de FGF	Estimula la proliferación de fibroblastos, células endoteliales, células musculares lisas, glándula suprarrenal y próstata.
<b>Factor de crecimiento derivado de plaquetas</b>	PDGF	Receptores de PDGF ( $\alpha$ y $\beta$ )	Estimula la proliferación de fibroblastos, células musculares lisas, condrocitos, osteoblastos y células gliales. Participa en la angiogénesis.
<b>Factores de crecimiento de tipo insulina I y II.</b>	IGF-I IGF-II	Receptor de IGF-I	Estimulan la proliferación de células de origen mesodérmico en general, incluyendo tejido conjuntivo y adiposo, cartílago, hueso y músculo.
<b>Factor de crecimiento transformante <math>\alpha</math></b>	TGF- $\alpha$	Receptor de TGF- $\alpha$	Estimula la proliferación de varios tipos celulares.
<b>Factor de crecimiento transformante <math>\beta</math></b>	TGF- $\beta$	Receptor de TGF- $\beta$	Inhibe el desarrollo de células epiteliales y neuroectodérmicas. Estimula la diferenciación y la síntesis de colágeno, fibronectinas y proteoglicanos en cultivos celulares.

Tomado de Biología Molecular de la célula. 2004 y Biología celular. 2003.

## FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL (EGF)

La familia de los factores de crecimiento epidermal están constituidas por el factor de crecimiento epidermal (EGF), el factor de crecimiento transformante  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ), epiregulina, amfiregulina (AR), betracelulina (BTC), neurogulina 1, neurogulina 2 y neurogulina 3. Estructuralmente está compuesto por una cadena polipeptídica de 53 aminoácidos con tres puentes disulfuro intermoleculares y dos distintos dominios, desprovisto de alanina, fenilalanina y lisina, posee un pH de 4.6, su peso molecular es de 6.2 kDa y es sintetizado a partir de un gen localizado en el cromosoma 4.<sup>27, 31, 32.</sup> En la figura 1 se muestra la estructura del EGF.

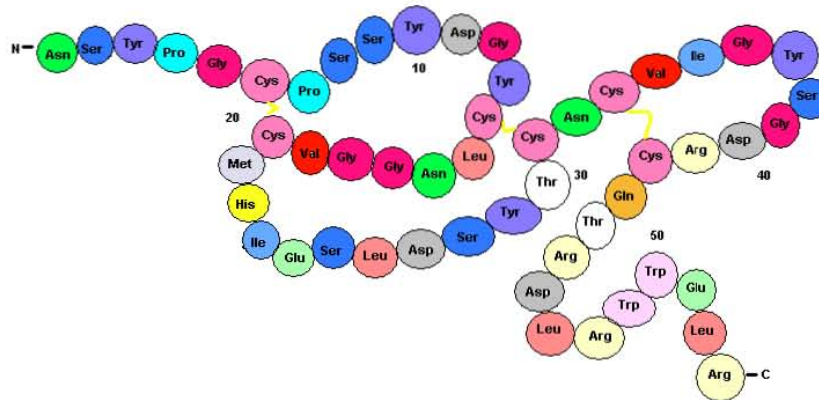


Fig. 1 La estructura del Factor de Crecimiento Epidermal está compuesta por una cadena polipeptídica de 53 aminoácidos. *Modificado de Graham Carpenter and Stanley Cohen. Epidermal growth factor. Ann Rev Biochem. 1979.*

La síntesis del EGF se lleva a cabo por una región de una proteína de la membrana plasmática, se puede fijar a una célula adyacente y actuar como señal por contacto directo; la escisión por acción de una proteasa libera al EGF y esto le permite actuar como señal endocrina sobre células distantes de forma paracrina<sup>33.</sup>

Este factor de crecimiento es secretado por las glándulas parotida, submandibular, sublingual, tiroidea, paratiroidea, adrenal y pituitaria.

Está presente en muchas secreciones y líquidos tisulares, como el jugo gástrico, orina, sudor, saliva, bilis, fluido prostático y leche materna. Además se encuentra en el revestimiento mucoso del tracto digestivo, duodeno e intestino delgado y en la médula renal.<sup>34-39.</sup>

El EGF induce la proliferación celular en tejidos de origen endodérmico, mesodérmico y ectodérmico, promoviendo la diferenciación epitelial y mesenquimatosa, modula la organogénesis, interviene en la neurogénesis temprana, estimula la síntesis de ADN, promueve la angiogénesis, protege la mucosa gástrica duodenal, inhibe la secreción de ácido gástrico, acelera la cicatrización de heridas, estimula la proliferación de células embrionarias, aumenta la liberación de calcio del hueso y promueve la reabsorción ósea.<sup>31, 35, 40, 42, 43.</sup> Promueve la mitogénesis de queratinocitos y fibroblastos, así como la migración de queratinocitos y granulocitos.<sup>34.</sup>

*In vitro* produce la mitosis de poblaciones epiteliales tales como hepatocitos fibroblastos y células de los túbulos renales. Estudios reportan que la administración de EGF a ratones incrementó la proliferación de epitelio de las criptas intestinales así como esófago, hígado, páncreas y riñón.<sup>23, 44.</sup>

Se considera que el EGF desempeña un papel sobre la regulación del crecimiento de las células cancerosas *in vivo* ya que produce efectos mitógenos de ellas *in vitro*. El EGF se encuentra implicado en la proliferación, diferenciación y supervivencia de células malignas; la presencia de este factor en el carcinoma epidermoide se correlaciona con metástasis a nódulos linfáticos, mayor grado de invasión y con una menor sobrevida.<sup>45, 46.</sup>

## RECEPTOR DEL FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDERMAL (EGF-R)

La familia del receptor del Factor de Crecimiento Epidermal humano esta constituido por cuatro receptores transmembranales con actividad tirosina cinasa: EGFR (*erbB1*), HER2/neu (*erbB2*), HER3 (*erbB3*), HER4 (*erbB4*).<sup>47-50</sup>.

Este receptor se caracteriza por ser una glucoproteína transmembranal compuesta por una cadena polipeptídica de 1186 aminoácidos, su peso molecular es de 170 kD, sintetizado a partir de un gen localizado en el cromosoma 7 en la región p13-q22; presenta actividad intrínseca de tirosina cinasa, por lo que regula el crecimiento celular en respuesta a la unión con su ligando el EGF, estimulando la proliferación y diferenciación así mismo favoreciendo la adhesión de células normales y malignas.<sup>27, 29, 45</sup>.

Estructuralmente presenta un dominio extracelular que se caracteriza por contener el sitio de unión para el EGF, este segmento tiene dos dominios ricos en cisteína, un dominio citoplásmico de proteína tirosina cinasa y un dominio transmembranal. En la figura 2 se muestra la estructura del EGF-R.

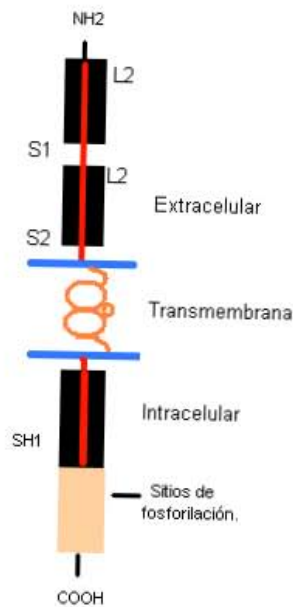


Fig. 2 La estructura del Receptor del Factor de Crecimiento Epidermal esta constituida por un dominio extracelular que contiene dos dominios ricos en cisteína L2, unidos por puentes disulfuro S1 y un dominio citoplásmico SH1. Modificado de Bazley L A, Gullick W J. The epidermal growth factor receptor family. Endocrine-Related Cancer. 2005.



La unión del EGF al EGF-R provoca la dimerización de este, la formación del dímero pone en contacto los dominios intracelulares con actividad cinasa de los receptores. Esto activa las cinasas, de modo que cada receptor fosforila al otro y a varias tirosinas de las cadenas laterales. Cada tirosina fosforilada actúa como lugar específico para la unión de una proteína de señalización intracelular diferente, que transmite la señal a otras proteínas que, a su vez, fosforilan a otras en cadena hasta el núcleo, donde controlan proteínas de regulación génica. Provocando así diversos efectos que afectan el desarrollo tumoral como son: crecimiento, migración celular, maduración, diferenciación, metástasis, angiogenesis e inhibición de la apoptosis.<sup>7, 26, 30, 51-54</sup> En la figura 3 se observa la activación del EGF-R por el EGF.

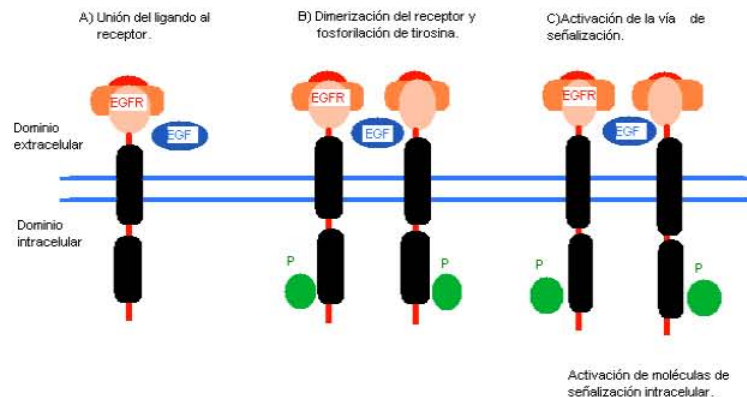


Fig.3 La activación del EGF-R se inicia a partir de la unión de EGF al receptor (A), esto conlleva a la dimerización del receptor y la fosforilación de tirosina (B), activando así la vía de señalización (C). *Modificado de Signal Transduction and Human Disease. 2003.*

El EGF-R es codificado por el protooncogén c-erb-B2 y se localiza en la superficie celular de células normales y malignas, el oncogén c-erb-B2 codifica para un receptor truncado del EGF, este producto del oncogén contiene la parte citoplásmica y la transmembranal del receptor; por medio de la activación del oncogén se produce una expresión incrementada en algunos carcinomas como

son: carcinoma de mama, ovario, cervix, endometrio, próstata, estomago, colón, vejiga urinaria, esófago, pulmón, páncreas y carcinoma epidermoide de cabeza y cuello.

Este receptor se encuentra sobrepresado en el carcinoma epidermoide de cabeza y cuello, la expresión incrementada es correlacionada con la progresión tumoral, estadio tumoral avanzado, grado de diferenciación celular, metástasis a nódulos linfáticos y un pronóstico reservado.<sup>51, 55, 56, 57-64.</sup>

En el año de 1991 Leonard y cols., reportaron que el gen del EGFR estaba relacionado con un grado de diferenciación celular bajo.<sup>63.</sup> En el mismo año Hendler y cols., hallaron que la sobreexpresión de EGFR esta correlacionada con el grado de diferenciación; la expresión elevada de EGFR ocurría en un grado mayor en carcinomas epidermoides pobremente diferenciados.<sup>64.</sup>

En el año de 1992 Yamada y cols., encontraron que la expresión incrementada del EGFR en carcinoma epidermoide bucal estaba relacionado con un carcinoma bien diferenciado y que en un carcinoma pobremente diferenciado el receptor se expresaba en menor grado.<sup>65.</sup> En el mismo año Christensen y cols., confirmaron que los carcinomas pobremente diferenciados presentaron una expresión mayor de EGFR.<sup>66.</sup>

En el año 2003 Ulanovsky y cols., encontraron que la sobreexpresión de EGFR estaba correlacionada con un grado de diferenciación bajo.<sup>67.</sup> En el mismo año Chen y cols., al evaluar la inmunoexpresión de EGFR con el grado de diferenciación reportaron que de los 59 casos de carcinoma epidemoide de boca que utilizaron para su estudio, el 59% fueron moderadamente diferenciados y estos tuvieron una mayor expresión de EGFR.<sup>68.</sup>

En el año 2004 Altuna y cols., no encontraron relación entre la expresión de EGFR y el grado de diferenciación.<sup>69.</sup>

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El carcinoma epidermoide es la neoplasia maligna más frecuente de la cavidad bucal, en donde el factor de crecimiento epidermal EGF y su receptor EGF-R pueden estar relacionados con su proliferación y grado de diferenciación

## **JUSTIFICACIÓN**

La sobreexpresión del factor de crecimiento epidermal y su receptor contribuyen al crecimiento y grado de diferenciación neoplásica en esta enfermedad por lo que la expresión del receptor en el carcinoma epidermoide puede ser un marcador molecular en el desarrollo de este tipo de cáncer.

## **OBJETIVO GENERAL**

- Identificar la expresión de EGF-R en carcinoma epidermoide de la cavidad bucal de diferentes localizaciones.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Clasificar el carcinoma epidermoide de acuerdo al grado de diferenciación.
- Identificar inmunohistoquímicamente el EGF-R.
- Relacionar la presencia de EGF-R con la localización y el grado de diferenciación del carcinoma.

## **TIPO DE ESTUDIO**

Observacional

Descriptivo

Comparativo

## UNIVERSO DE ESTUDIO

Los casos diagnosticados como carcinoma epidermoide del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM del año 1994 al 2005.

## CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Todos los casos diagnosticados como carcinoma epidermoide durante el periodo comprendido, enero de 1994 a diciembre del 2005 que cuenten con bloques de parafina.

## CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- a) Aquellos casos que no fueron diagnosticados como carcinoma epidermoide.
- b) Muestra insuficiente, en deterioro o mal estado de conservación para realizar la técnica de inmunohistoquímica.

## VARIABLE INDEPENDIENTE

Carcinoma epidermoide

## VARIABLE DEPENDIENTE

Receptor del Factor de Crecimiento Epidermal

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **MATERIAL**

#### **Reactivos y Soluciones**

- Xileno al 2%
- Acetona
- Alcohol al 100%
- Alcohol 96%
- Alcohol 70%
- Xilol
- Alcohol-Xilol
- Buffer de fosfatos salinos pH 7.4 (PBS).
- Buffer de citrato de sodio 10mM (6.0)
- Agua destilada
- Agua desionizada
- Peróxido de Hidrógeno ( $H_2O_2$ )
- Anticuerpo primario EGF-R sc-03-1005 (Santa Cruz Ca)
- Anticuerpo secundario Anticonejo (DAKO-Ca)
- 3,3 diaminobencidina (DAB)
- Hematoxilina

#### **EQUIPO**

- Potenciómetro
- Micrótopo
- Agitador Magnético
- Laminillas
- Cubreobjetos
- Horno

- Tren de Tinción
- Cámara húmeda
- Micropipetas 2-20 $\mu$ L, 20-200 $\mu$ L, 100-100 $\mu$ L
- Vaso de Coplin
- Microscopio de campo claro

## **METODOLOGÍA**

Se acudió al archivo del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental para buscar todos los casos existentes a partir de 1994 al 2005 diagnosticados como carcinoma epidermoide, se recopilaron los cubos de parafina. Se realizaron cortes histológicos de los cubos incluidos en parafina a 5.0  $\mu$ m, se realizó la tinción con hematoxilina y eosina, para ser observadas al microscopio y clasificar las neoplasias de acuerdo a Broders.

## **TECNICA INMUNOHISTOQUIMICA**

### **PROCEDIMIENTO**

Para llevar a cabo este procedimiento se realizaron cortes histológicos de 5.0  $\mu$ m y se colocaron en laminillas previamente xilanizadas.

Las laminillas utilizadas para la inmunohistoquímica se desparafinaron en horno a 50°C durante 50 minutos y se hidrataron de la siguiente manera:

- Xilol durante 2 minutos
- Xilol durante 2 minutos
- Xilol/Alcohol 96% durante 5 minutos
- Alcohol 100% durante 3 minutos
- Alcohol 96% durante 3 minutos
- Alcohol 70% durante 3 minutos
- Agua destilada 3 minutos

Posteriormente se enjuagaron con buffer de fosfatos salinos pH 7.4 (PBS). Para realizar la recuperación y exposición antigénica se colocaron las laminillas con buffer de citrato de sodio 10 mM pH 6.0 en baño maría durante 30 minutos a 37°C y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Se enjuagaron 2 veces con PBS durante 3 minutos y se secaron las laminillas, especialmente alrededor del corte, para bloquear la actividad de peroxidasa se colocó la solución de bloqueo (agua destilada-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por cada corte cubriendo la muestra hasta los bordes internos durante 30 minutos en la cámara húmeda cerrada.

Se enjuagaron 2 veces con PBS durante 3 minutos.

Se llevo acabo la incubación del anticuerpo primario EGF-R diluido (1: 250 en PBS), se secaron las laminillas, especialmente alrededor del corte, se colocó el anticuerpo primario por cada corte y se colocaron en una cámara húmeda cerrada durante 3 horas a una temperatura de 4°C.

Se enjuagaron 2 veces con PBS durante 3 minutos para eliminar los excesos del anticuerpo primario, se colocó el anticuerpo secundario y se colocaron las laminillas en la cámara húmeda cerrada durante 30 minutos. Se enjuagaron 2 veces con PBS durante 3 minutos y la reacción se revelo con DAB, como paso final se realizó la contratinción con hematoxilina.

Se colocaron las laminillas en hematoxilina de Gills 7 minutos, posteriormente se lavaron en agua corriente por 10 segundos y se sumergieron en solución de Scott por 1 minuto. Se lavaron en agua corriente durante 10 segundos, se deshidrataron y aclararon en alcohol y xilol para después ser montadas.

El análisis microscópico se realizó a doble ciego por dos patólogos y por la tesista, los resultados del estudio inmunohistoquímico se evaluaron cualitativamente en nulo, leve +, moderado ++ y severo +++.

Se capturaron los datos obtenidos de las solicitudes de estudio histopatológico, los cuales fueron edad, género y localización de la lesión. Los resultados de la gradificación histológica que fueron carcinoma epidermoide bien, moderado y pobremente diferenciado y los resultados inmunohistoquímicos en una base de excel para su análisis estadístico, el cual fue descriptivo.



## **RESULTADOS**

En primer lugar presentaré la descripción microscópica y el diagnóstico histopatológico del total de los casos incluidos en el estudio.

### **Caso 240-94**

El espécimen examinado está conformado por islas de epitelio neoplásico dispuesto en un estroma de tejido conectivo con escaso infiltrado inflamatorio. Las islas de epitelio neoplásico involucran tejido adiposo y hueso; las células neoplásicas son pleomórficas, hipercromáticas con queratinización individual y formación de perlas de queratina; las células presentan más de dos nucleolos y las mitosis son menos de 3 por campo.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado.

### **Caso 347-94 A, B, C**

El espécimen consiste en epitelio escamoso estratificado proliferativo que invade al tejido conectivo, las células se encuentran pleomórficas, con nucleolos prominentes, pérdida de la relación núcleo citoplasma, algunas son binucleadas con queratinización individual, formando perlas de queratina, y se observa intensa queratinización.

Las mitosis son escasas, en algunas zonas el epitelio proliferativo crece en forma de cordones que penetran al tejido conectivo, en otras zonas se conserva el estrato basal con hiperplasia basilar, en otras zonas el crecimiento es en forma de nidos o islas con más de 5 células; el tejido adyacente está bien vascularizado.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado.

### **Caso 370-94**

El tejido esta formado por una pequeña porción de epitelio superficial normal e islas grandes de epitelio neoplásico. Las células son de tipo escamoso dispuestas en forma concéntrica, las células presentan pleomorfismo, hipercromatismo, nucléolos prominentes, pérdida de la relación núcleo citoplasma, queratinización individual, formación de perlas de queratina y escasas mitosis. Las islas de epitelio neoplásico están rodeadas por un infiltrado inflamatorio predominantemente plasmocitario

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado.

### **Caso 324-95 A, B**

El espécimen consiste en epitelio escamoso estratificado proliferativo que invade al tejido conectivo, la invasión es en forma de islas en el centro del tejido conectivo las células se encuentran agrupadas en un número menor de 5 y están rodeadas por un infiltrado inflamatorio crónico. Las células presentan abundante pleomorfismo, algunas con núcleos hipercromáticos, otras con nucleolos prominentes variando de tamaño y forma, las células muestran tendencia a la queratinización individual, otras presentan 2 o más nucleolos, se observa queratinización abundante. Existe pérdida de la adhesividad y cohesión de las células.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado.

### **Caso 406-95 B**

El espécimen consiste en epitelio neoplásico formando islas, presenta prolongaciones bulbosas, las células neoplásicas son células espinosas, están hipercromáticas, pleomórficas, con escasa queratinización, hay mitosis severas, anormales, más de 5 por campo.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado.

### **Caso 049-96**

El tejido está constituido casi en su totalidad por islas y cordones de células neoplásicas produciendo queratinización severa. Las células son pleomórficas, hipercromáticas, existen nucleolos prominentes con mitosis aproximadamente de 3 por campo. El estroma de tejido conectivo es escaso, la queratinización es abundante. Adyacente al tumor hay un fragmento de epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado con hiperplasia basilar, adyacente a él hay un infiltrado inflamatorio crónico linfoplasmocitario.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado.

### **Caso 060-96**

El espécimen está constituido por islas y cordones grandes y pequeños de células neoplásicas pleomórficas, hipercromáticas, con pérdida de la relación núcleo citoplasma, nucleolos prominentes y presencia de 2 nucleolos con escasas mitosis. Las células presentan queratinización individual y formación de perlas de queratina, sin tejido normal.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado.

### **Caso 001-97 F**

El espécimen examinado está constituido por epitelio escamoso estratificado proliferativo y neoplásico. Las células neoplásicas son pleomórficas, con pérdida de la relación núcleo-citoplasma, nucleolos prominentes, presenta escasa queratinización y abundantes mitosis, aproximadamente 15 mitosis por campo. Adyacente a los cordones neoplásicos existe un infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 055-97**

El espécimen consiste en un epitelio escamoso estratificado, queratinizado, proliferante que invade tejido conectivo, músculo y glándulas salivales. El epitelio neoplásico está dispuesto en forma de cordones e islas. Presenta escasa queratinización, las células neoplásicas son pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes, con hiperplasia basilar, con más de 5 mitosis anormales por campo. La lesión presenta un infiltrado inflamatorio mixto por la presencia de úlcera.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado.

### **Caso 205-97**

El espécimen examinado está formado por islas de epitelio neoplásico sin tejido normal. Las células neoplásicas están formadas por células de tipo escamoso, por más de dos nucleolos prominentes, células pleomórficas, hipercromáticas, aproximadamente 5 mitosis por campo. Las células presentan queratinización individual mínima pero numerosas perlas de queratina, adyacente a las islas neoplásicas se observa un infiltrado mixto.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado.

### **Caso 339-97**

El espécimen examinado esta constituido por epitelio neoplásico tipo escamoso, dispuesto de manera irregular en islas, cordones y grupos de células menores a 5. Las células son pleomórficas, hipercromáticas, presentan más de 2 nucleolos, involucran el tejido muscular, hay más de 5 mitosis por campo, las mitosis son anormales, escasa queratinización y presencia de células gigantes multinucleadas. Adyacente al tumor hay un infiltrado inflamatorio crónico linfocitoplasmico.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide pobremente diferenciado.

### **Caso 346-97 A, B.**

El espécimen examinado esta constituido por una neoplasia maligna de epitelio escamoso, en el que las células neoplásicas se encuentran agrupadas en forma de cordones, islas y nidos que invaden tejido adiposo y hueso. Las células malignas están pleomórficas, con núcleos hipercromáticos, nucleolos prominentes, queratinización individual, células grandes y formación de perlas de queratina abundante. Las mitosis son menos de 3 por campo, adyacente a las islas neoplásicas existe infiltrado inflamatorio crónico linfoplasmocitario

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### **Caso 598-97 A, B, C, D.**

El espécimen examinado esta constituido por epitelio escamoso estratificado proliferativo y neoplásico. Las células neoplásicas son pleomórficas, con pérdida de la relación núcleo-citoplasma, nucleolos prominentes, presenta escasa queratinización y abundantes mitosis, aproximadamente 15 mitosis por campo. Adyacente a los cordones neoplásicos existe un infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

**Caso 621-97 A1 B1**

El espécimen esta constituido por epitelio superficial escamoso estratificado paraqueratinizado y numerosas islas de células neoplásicas malignas pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes, con escasa queratinización y sin formación de perlas de queratina, más de 10 mitosis anormales por campo, el infiltrado inflamatorio es crónico abundante.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

**Caso 624-98**

El espécimen consta de una porción de epitelio estratificado queratinizado con hiperplasia basilar, el resto del tejido consiste en una neoplasia maligna de células tipo escamoso, en una porción las células presentan queratinización individual y formación de perlas de queratina, en el resto del tejido examinado las células son extremadamente pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominente, con más de 10 mitosis anormales por campo. El infiltrado inflamatorio es escaso

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

**Caso 686-98**

El espécimen examinado esta constituido por un epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado en cuyos extremos del tejido muestra hiperplasia basilar, en el centro se observa pérdida de la estratificación, pérdida de la adhesividad e invasión de células neoplásicas en forma de gota al tejido conectivo adyacente. Las células son pleomórficas, presentan leve queratinización individual y formación de perlas de queratina. Adyacente a la lesión se observa un infiltrado inflamatorio crónico, úlcera con fibrina y neutrofilos.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### **Caso 861-98**

El espécimen esta constituido por epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado acantósico e hiperplasia basilar y una zona amplia de epitelio neoplásico proliferativo que invade el tejido adyacente formando cordones e islas y numerosas células neoplásicas aisladas dentro del tejido conectivo. Las células neoplásicas son pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes, se observan menos de 3 mitosis por campo, menos del 25% del tumor con queratinización. Adyacente a las células neoplásicas existe un infiltrado inflamatorio mixto con numerosos eosinófilos

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 098-99 1 2**

El espécimen examinado esta constituido por epitelio neoplásico tipo escamoso, dispuesto de manera irregular en islas, cordones y grupos de células menores a 5. Las células son pleomórficas, hipercromáticas, presentan más de 2 nucleolos, involucran el tejido muscular, hay más de 5 mitosis por campo, las mitosis son anormales, escasa queratinización y presencia de células gigantes multinucleadas. Adyacente al tumor hay un infiltrado inflamatorio crónico linfocitoplasmico.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide pobremente diferenciado.

### **Caso 299-00**

El espécimen examinado esta constituido por un epitelio estratificado paraqueratinizado con una lesión neoplásica que prolifera invadiendo el tejido conectivo subyacente formando nidos y proyecciones bulosas, en algunas zonas el epitelio, forma hiperplasia basilar.

Las células neoplásicas son pleomórficas, con pérdida de la adhesividad y cohesión, pérdida de la estratificación del epitelio, núcleos hipercromáticos, más de 2 nucleolos prominentes, las células presentan queratinización individual y formación de perlas de queratina.

Las islas del epitelio neoplásico se extienden a la profundidad del tejido conectivo, la glándula adyacente no muestra invasión neoplásica, la lesión esta rodeada por un infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### **Caso 524-00**

El espécimen examinado esta constituido por un epitelio estratificado, queratinizado, acantósico, con una zona de pérdida de la estratificación, de la adhesividad y cohesión de las células epiteliales con formación de nidos y cordones de células neoplásicas en el interior del tejido conectivo adyacente. Las células son pleomórficas, con nucleolos prominentes, queratinización individual y formación de perlas de queratina, mitosis escasas, el infiltrado inflamatorio es linfoplasmocitario

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### **Caso 175-01**

El espécimen esta constituido por islas de epitelio neoplásico, con células epiteliales de tipo escamoso, pleomórficas, con nucleolos prominentes, algunas con núcleos hiper cromáticos, con queratinización individual, formación de perlas de queratina, escasas mitosis, menos de 3 mitosis por campo y un infiltrado inflamatorio crónico linfoplasmocitario. Se observan algunas células apoptósicas.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### **Caso 201-01**

El espécimen esta constituido por un epitelio escamoso estratificada queratinizado, con acantosis e hiperplasia basilar en los extremos; en el centro existe un epitelio neoplásico formado por islas de epitelio maligno, células pleomórficas, nucleolos prominentes, queratinización individual , formación de



perlas de queratina que penetran hacia el tejido conectivo, el número de mitosis es escaso menos de 3 por campo. Las células neoplásicas invaden músculo.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### **Caso 212-01**

El espécimen no muestra tejido sano y esta formado por un epitelio neoplásico que invade tejido conectivo en forma de nidos, islas y cordones. Las células neoplásicas son pleomórficas, binucleadas, con nucleolos prominentes, queratinización individual, formación de perlas de queratina, las mitosis son escasas, el infiltrado y estroma es escaso.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### **Caso 241-01**

La lesión muestra tejido normal; epitelio escamoso estratificado queratinizado, tejido conectivo de aspecto normal, epitelio acantósico con hiperplasia basilar y epitelio acantósico maligno.

El epitelio maligno presenta cordones gruesos que penetran al tejido adyacente, el cual esta formado por células pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes, más de 5 mitosis por campo, queratinización individual y formación de perlas de queratina. El infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario es severo.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### **Caso 253-01**

El espécimen esta constituido por un epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado con hiperplasia basilar, adyacente a él se observan islas pequeñas de células neoplásicas malignas tipo escamoso que invaden el tejido conectivo, las células son pleomórficas, con nucleolos prominentes, hipercromáticas, no presentan queratinización individual, no se observan mitosis

están rodeadas por un infiltrado inflamatorio crónico. La glándula adyacente no presenta invasión.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 121-02**

El espécimen esta constituido por un epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado con hiperplasia basilar y un epitelio displásico que invade al tejido conectivo formando grandes islas. Las células neoplásicas son pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes, pérdida de la estratificación, adhesividad y cohesión; en algunas zonas presenta queratinización individual y formación de perlas de queratina en otras escasa formación de queratina. Las figuras mitóticas son escasas menos de 3 por campo, el infiltrado inflamatorio es linfoplasmocitario.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 266-02**

El espécimen esta constituido por islas, nidos y cordones de células neoplásicas malignas epiteliales en un escaso estroma de tejido conectivo. Las células neoplásicas son pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes, existe pérdida de la adhesividad y cohesión en los extremos de la lesión, queratinización individual y formación de perlas de queratina menos del 50%, existen células neoplásicas de manera aislada más de 5 mitosis por campo, algunas mitosis son anormales. Adyacente a las zonas de queratinización hay un infiltrado inflamatorio de neutrofilos.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 329-02 1, 2, 3, 4, 5,6.**

El espécimen esta constituido por epitelio escamoso estratificado con zonas de acantosis e hiperplasia basilar, la zona central esta constituida por islas de epitelio neoplásico de aspecto pleomórfico, con nucleolos prominentes, núcleos hipercromáticos sobre todo en la periferia. El crecimiento tumoral esta formado por grupos menores de 5 células y células aisladas las cuales se encuentran muy cercanas a los vasos, se observan más de 5 mitosis anormales por campo, existe queratinización individual y formación de perlas de queratina menos del 25 % de queratina. El infiltrado inflamatorio adyacente es moderado, el músculo no esta invadido.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 338-02 A, B.**

El espécimen esta constituido por epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado acantósico con pérdida de la estratificación y de la adhesividad, una zona con franca invasión neoplásica en donde se observa formación de papilas bulosas, células pleomórficas, hipercromáticas, queratinización individual de manera leve y perlas de queratina. En el resto de la lesión las células neoplásicas se encuentran dispuestas en el tejido conectivo de manera aislada y en grupos menores de 5 células indiferenciadas, se observan más de 3 mitosis anormales por campo.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide pobremente diferenciado

### **Caso 417-02**

El espécimen esta constituido por epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado acantósico e hiperplasia basilar y una zona amplia de epitelio neoplásico proliferativo que invade el tejido adyacente formando cordones e islas y numerosas células neoplásicas aisladas dentro del tejido conectivo. Las células

neoplásicas son pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes, se observan menos de 3 mitosis por campo, menos del 25% del tumor con queratinización. Adyacente a las células neoplásicas existe un infiltrado inflamatorio mixto con numerosos eosinofilos

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 820-02**

El espécimen esta constituido por epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado con displasia epitelial severa, el cual invade la profundidad del tejido conectivo en prolongaciones bulbosas, hay hipercromatismo nuclear, nucleolos prominentes, presencia de más de 2 nucleolos, pérdida de la cohesión, adhesión y relación núcleo-citoplasma, escasas mitosis menos de 3, en algunas zonas hay ruptura de la membrana basal, las células presentan escasa queratinización individual y solo una zona de perlas de queratina menos del 25 % de queratina

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### **Caso 855-02**

El espécimen esta constituido por un epitelio proliferativo y neoplásico que invade al tejido conectivo en forma de cordones e islas. Las células neoplásicas están altamente pleomórficas, con núcleos intensamente hipercromáticos, más de 2 nucleolos, existen más de 10 mitosis anormales por campo, las células presentan escasa queratinización menos del 25% con algunas zonas de perlas de queratina. Las células neoplásicas están invadiendo al tejido glandular adyacente; existe un infiltrado inflamatorio crónico plasmocitario severo.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide pobremente diferenciado

### **Caso 866-02**

El espécimen esta constituido en el extremo de la lesión por un epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado con hiperplasia basilar rodeado por un extenso infiltrado inflamatorio crónico. El resto del tejido consiste en una neoplasia maligna formada por islas de células epiteliales neoplásicas que presentan pleomorfismo, hipercromatismo, nucleolos prominentes, algunas de ellas están queratinizando, existe formación de perlas de queratina, menos del 50% de queratinización, se cuentan más de 5 mitosis por campo.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 918-02**

El espécimen esta constituido por una neoplasia maligna de tejido epitelial altamente queratinizante, más del 75% de las células neoplásicas se están queratinizando de manera individual y existe formación de perlas de queratina. Las células son pleomórficas, con nucleolos prominentes, existen más de 5 mitosis por campo. Adyacente a las islas neoplásicas se encuentra un infiltrado inflamatorio crónico.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### **Caso 1005-02**

El espécimen esta constituido en un extremo por epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado con hiperplasia basilar y acantosis; en el centro se observa epitelio neoplásico infiltrante e invasivo formando islas grandes con numerosas perlas de queratina, las islas están invadiendo el tejido muscular adyacente, las células son pleomórficas, con nucleolos prominentes, menos de 10 mitosis por campo. Adyacente a la lesión hay un infiltrado inflamatorio crónico severo, se observa tejido glandular salival el cual no esta infiltrado por las células neoplásicas.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

**Caso 294-03 B**

El espécimen esta constituido por numerosas islas grandes de células epiteliales neoplásicas malignas, pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes, queratinización individual mayor del 50 % y formación de perlas de queratina, se observan mitosis escasas menos de 3 por campo. Adyacente a la lesión existe un infiltrado inflamatorio crónico, las células neoplásicas están invadiendo el tejido muscular, el tejido glandular salival es integro.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

**Caso 368-03 A, A2, A3, B2.**

El espécimen esta constituido en un extremo por epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado acantósico, adyacente a el se observan un tumor maligno conformado por células malignas altamente indiferenciadas, pleomórficas, agrupadas en pequeñas islas, con núcleos intensamente hipercromáticos. Las células neoplásicas en forma aislada penetran a través de la profundidad del tejido conectivo, la queratinización es nula, las células invaden tejido adiposo, las mitosis son menos de 5 por campo.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide pobremente diferenciado.

**Caso 390-03**

El espécimen esta constituido en un extremo por epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado acantósico con hiperplasia basilar y una neoplasia maligna de origen epitelial constituido por células neoplásicas, pleomórficas, hipercromáticas, y nucleolos prominentes las cuales se presentan en forma de islas y cordones, las células neoplásicas se encuentran invadiendo al tejido glandular adyacente de manera severa. Las células neoplásicas presentan queratinización individual y

formación de perlas de queratina en menos del 50% de la lesión. Las mitosis son escasas menos de 3 por campo

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 397-03**

El espécimen esta constituido por epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado con hiperplasia basilar, numerosas islas y cordones de células neoplásicas malignas que invaden tejido conectivo y músculo, las células presentan queratinización individual menos del 50% y formación de perlas de queratina, están infiltrando de manera aislada, se observan pleomórficas, hiper cromáticas, con nucleolos prominentes. Se aprecian más de 5 mitosis por campo, adyacente a las islas existe infiltrado inflamatorio mixto por la presencia de úlcera y fibrina.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 413-03 1, 2.**

El espécimen esta constituido por epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado con acantosis e hiperplasia basilar, en el centro de la lesión el epitelio esta displasico con células levemente hiper cromáticas y pleomórficas, se observa ruptura de la membrana basal con microinvación de células neoplásicas agrupadas en forma de islas. No existe queratinización individual y no se observan mitosis, adyacente a la lesión existe infiltrado inflamatorio crónico.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide microinvasor bien diferenciado

### **Caso 433-03 A, B.**

El espécimen esta constituido por numerosas islas, cordones y nidos de células epiteliales neoplásicas malignas. Las células presentan hipercromatismo, nucleolos prominentes, no presenta quertinización individual y presentan más de 5 mitosis por campo. Adyacentemente se observa infiltrado inflamatorio escaso, aparentemente es una lesión intraósea.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 687-03 A, B.**

El espécimen consiste en una neoplasia maligna de origen epitelial constituido por islas, cordones y nidos de células neoplásicas que invaden tejido conectivo y hueso, las células son pleomórficas, nucleolos prominentes, escasa quertinización individual con algunas perlas de queratina, se observan más de mitosis por campo, algunas de ellas anormales, la lesión esta altamente vascularizada y el infiltrado inflamatorio es crónico y severo

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado que involucra hueso.

### **Caso 701-03**

El espécimen esta constituido por células neoplásicas malignas de origen epitelial con queratinización y perlas de queratina más del 50% de la lesión, más de 10 mitosis por campo algunas anormales. Las células neoplásicas son pleomórficas, con más de 3 nucleolos, hipercromáticas, algunas zonas son binucleadas, involucran hueso, el infiltrado inflamatorio es crónico

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado



### **Caso 836-03**

La lesión esta constituido por grandes islas de células epiteliales neoplásicas malignas que invaden la totalidad del espécimen, las células presentan escasa queratinización individual con formación de perlas de queratina, menos del 50%, se observan pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes, menos de 5 mitosis por campo, el infiltrado inflamatorio es crónico leve.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 995-03**

El espécimen esta constituido por epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado con hiperplasia basilar e islas de epitelio neoplásico maligno que presentan queratinización individual con algunas perlas de queratina, las células se observan pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes, no se observan mitosis. Adyacente a las islas se aprecia infiltrado inflamatorio crónico severo, el músculo adyacente no esta invadido.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### **Caso 268-04**

El espécimen esta constituido por epitelio superficial escamoso estratificado paraqueratinizado y numerosas islas de células neoplásicas malignas pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes, con escasa queratinización y sin formación de perlas de queratina, más de 10 mitosis anormales por campo, el infiltrado inflamatorio es crónico abundante.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 376-04 A, B.**

El espécimen esta constituido por epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado hiperplasia basilar, acantosis y displasia basilar. El epitelio neoplásico esta formado por numerosas islas de células epiteliales neoplásicas con pleomorfismo celular con escasa queratinización individual y escasa formación de perlas de queratina más de 10 mitosis por campo, mitosis anormales, el infiltrado inflamatorio adyacente es moderado.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 429-04**

El espécimen esta constituido por numerosas islas y cordones de células epiteliales neoplásicas malignas que presentan queratinización individual y formación de perlas en más del 50% del tejido, las células presentan pleomorfismo, hipercromatismo, nucleolos prominentes, más de 3 mitosis por campo, mitosis anormales. Adyacente a las islas el infiltrado inflamatorio es crónico.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### **Caso 645-04**

El espécimen esta constituido por un epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado, acantósico y por islas y cordones de células neoplásicas malignas de origen epitelial las cuales son hipercromáticas, pleomórficas, con nucleolos prominentes, presenta queratinización individual y formación de perlas de queratina en el 50 % del tumor, se observan menos de 3 mitosis por campo, el infiltrado inflamatorio es crónico leve.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

#### **Caso 693-04**

El espécimen esta constituido por islas y cordones de células neoplásicas malignas de origen epitelial abarcando la totalidad del espécimen, las células presentan queratinización individual y formación de perlas de queratina en más del 50 % del tumor, son pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes, se observan menos de 3 mitosis por campo, el infiltrado inflamatorio es crónico severo.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

#### **Caso 856-04**

El espécimen esta formado en su totalidad por células neoplásicas malignas de origen epitelial, no presenta queratinización individual, ni formación de perlas de queratina. Las células neoplásicas son altamente pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes se presentan de forma aislada y en nidos. Se observan menos de 3 mitosis por campo, el infiltrado inflamatorio es crónico leve.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide pobremente diferenciado

#### **Caso 126-05**

El espécimen esta constituido por epitelio neoplásico en forma de cordones e islas, en algunas zonas presenta queratinización individual y formación de perlas de queratina menos del 50% de la neoplasia. Las células son pleomórficas, hipercromáticas con más de 10 mitosis anormales por campo, el infiltrado inflamatorio es crónico y las células epiteliales invaden el tejido muscular.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado

### **Caso 132-05**

El espécimen esta constituido por epitelio espinoso estratificado paraqueratinizado acantoso con hiperplasia basilar y una neoplasia maligna de origen epitelial dispuesta en forma de islas que invade tejido conectivo adyacente, las células presentan queratinización individual y formación de perlas de queratina menos del 50 %, son pleomórficas, hipercromáticas, nucleolos prominentes, el infiltrado inflamatorio es crónico moderado.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### **Caso 136-05**

La lesión muestra tejido normal; epitelio escamoso estratificado queratinizado, tejido conectivo de aspecto normal, epitelio acantoso con hiperplasia basilar y epitelio acantoso maligno.

El epitelio maligno presenta cordones gruesos que penetran al tejido adyacente, el cual esta formado por células pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes, más de 5 mitosis por campo, queratinización individual y formación de perlas de queratina. El infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario es severo.

Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### **Caso 392-05**

El espécimen esta constituido por epitelio espinoso estratificado paraqueratinizado en un extremo y en el centro de la lesión una neoplasia maligna de origen epitelial bien diferenciada en forma de islas que penetran en el tejido conectivo sin invadir músculo, las células neoplásicas presentan queratinización individual y formación de perlas de queratina, son pleomórficas, hipercromáticas, con nucleolos prominentes, menos de 5 mitosis por campo, asociado a las islas el infiltrado inflamatorio es crónico severo.

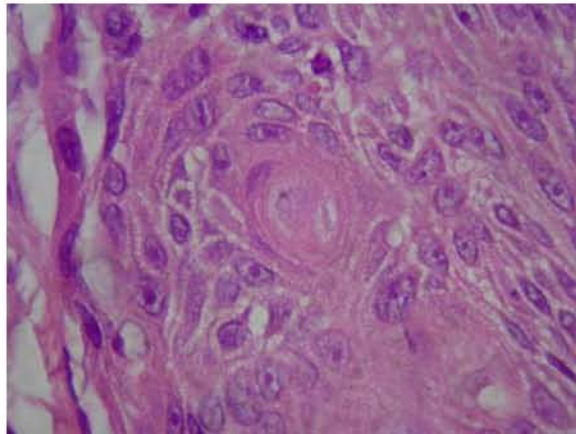
Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

### Caso 699-05

El espécimen esta constituido por una neoplasia maligna bien diferenciada que forma cordones e islas de epitelio neoplásico maligno, las células neoplásicas presentan queratinización individual y formación de perlas de queratina más de 50%, las células son pleomórficas, hipercromáticas, binucleadas, nucleolos prominentes. Se observan más de 5 mitosis por campo, las células neoplásicas invaden el tejido adiposo y muscular, asociado a la lesión el infiltrado inflamatorio es severo.

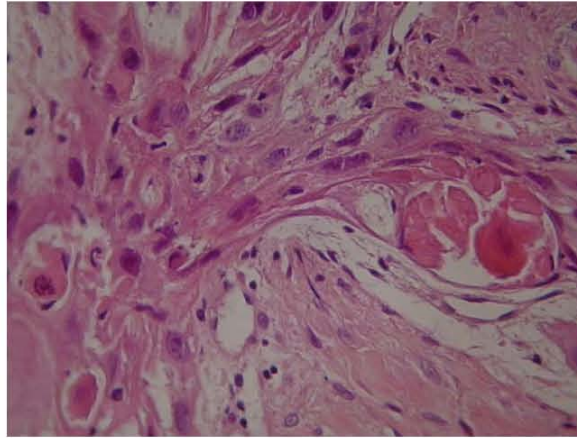
Diagnóstico histopatológico: Carcinoma epidermoide bien diferenciado

En la **figura 4, 5 y 6** se muestran imágenes histológicas de los grados de diferenciación de los carcinomas epidermoides de este estudio.



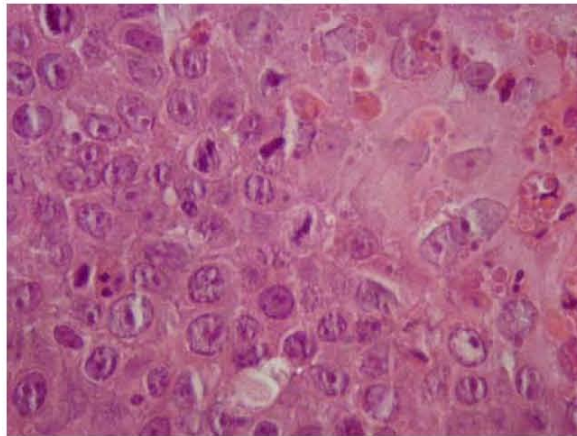
H y E 100 x

**Figura 4. Imagen histológica de un carcinoma epidermoide bien diferenciado**



H y E 100 x

**Figura 5. Imagen histológica de un carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado**

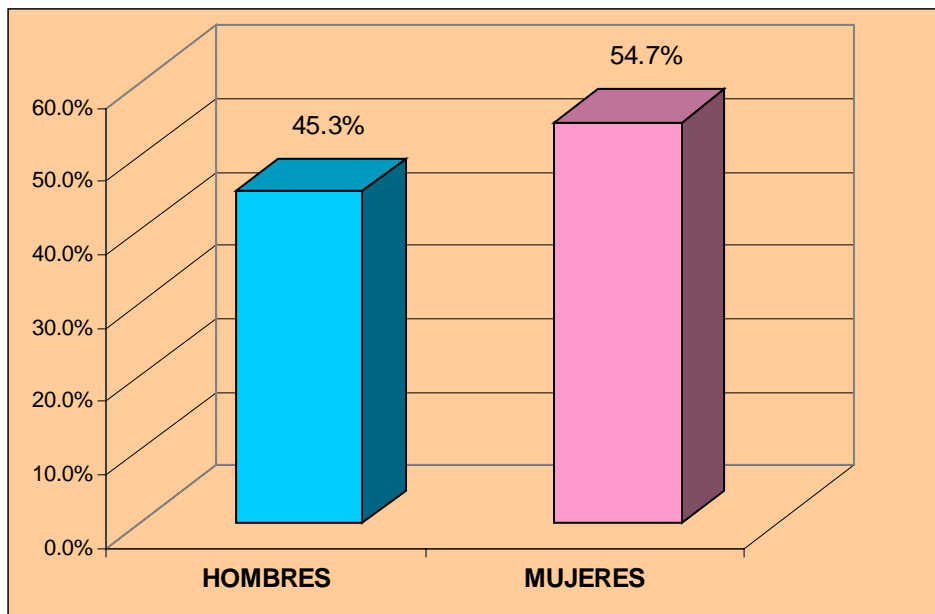


H y E 100 x

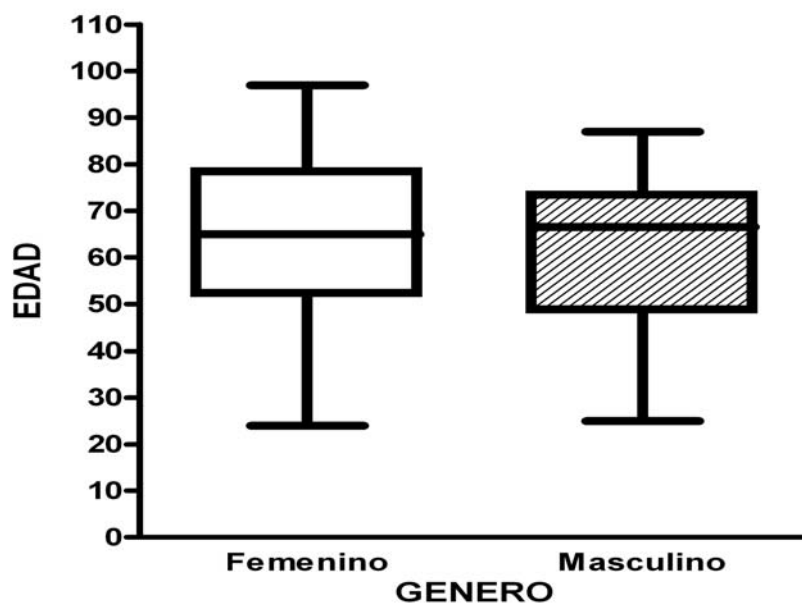
**Figura 6. Imagen histológica de un carcinoma epidermoide pobremente diferenciado**

El total de los casos fueron 53, 24 (45.3%) del sexo masculino y 29 (54.7%) femeninos, la relación se muestra en la **gráfica 1**. El rango de edad fue de 24 a 97 años, el promedio de edad del sexo masculino fue de  $60.63 \pm 3.57$  y en el sexo femenino fue de  $63.86 \pm 3.59$ , como se muestra en la **gráfica 2**.

**Gráfica 1.**



**Gráfica 2.**

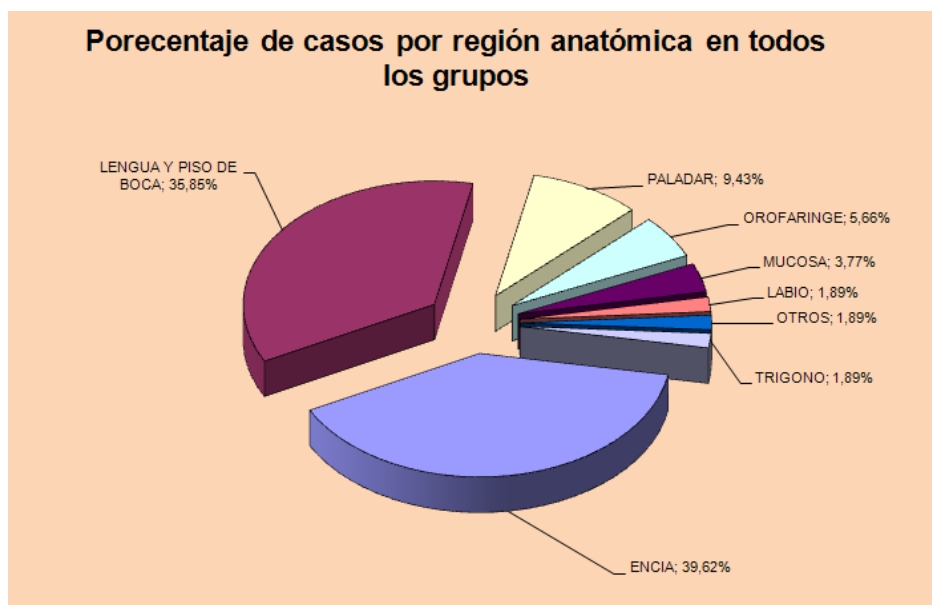


La región anatómica donde se localizó más frecuente el carcinoma epidermoide en nuestra población fue la encía con 21 casos (39.62%) y el sitio menos frecuente fue el trígono retromolar y el labio con 1 caso cada uno (1.89%). En la **tabla 4 y gráfica 3** se muestra la distribución de las neoplasias de acuerdo a la región anatómica.

**Tabla 4. Sitios de localización de los 53 casos del estudio.**

REGIÓN ANATÓMICA	NO. DE CASOS	PORCENTAJE
Encía	21	39.62%
Lengua y piso de boca	19	35.85%
Paladar	5	9.43%
Orofaringe	3	5.66%
Mucosa	2	3.77%
Labio	1	1.89%
Otros	1	1.89%
Trígono retromolar	1	1.89%
Total de casos	53	100.00%

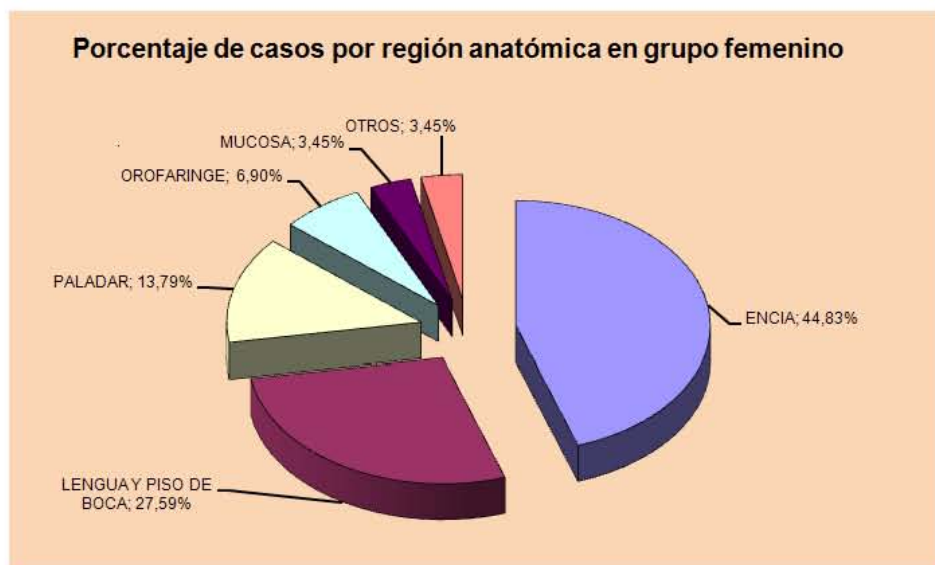
**Grafica. 3**



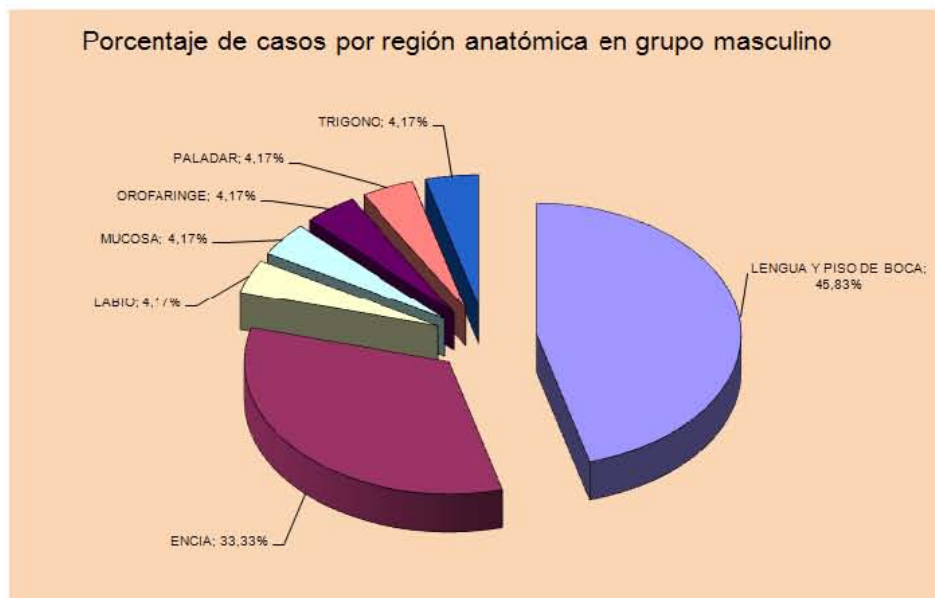


En las mujeres la región anatómica más afectada fue la encía y en los hombres lengua y piso de boca, como se muestra en las **gráficas 4 y 5**.

**Gráfica 4.**

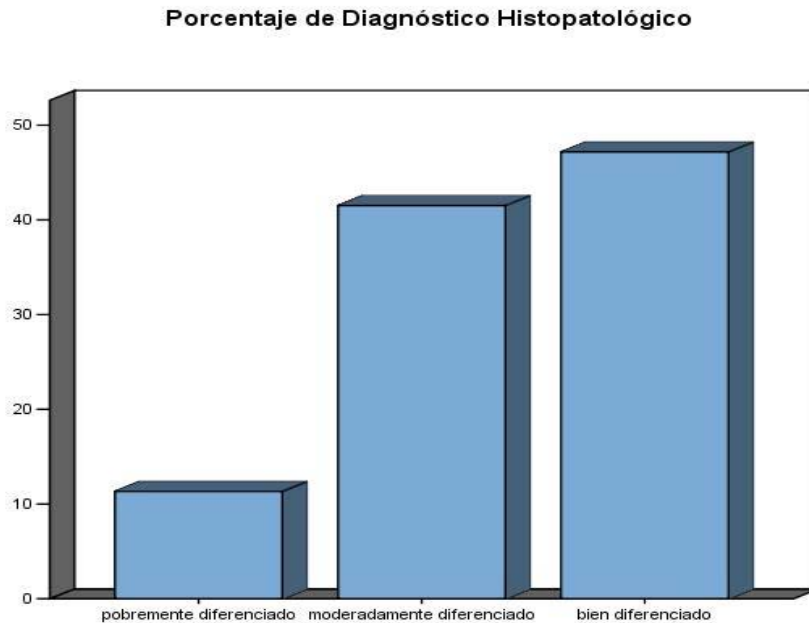


**Gráfica 5.**



En la **gráfica 6** se agrupan los porcentajes de acuerdo al grado de diferenciación de las neoplasias. El 47.5% de los casos fueron carcinomas epidermoides bien diferenciados, 41.5% moderadamente y 14.3% pobremente diferenciados.

**Gráfica 6.**

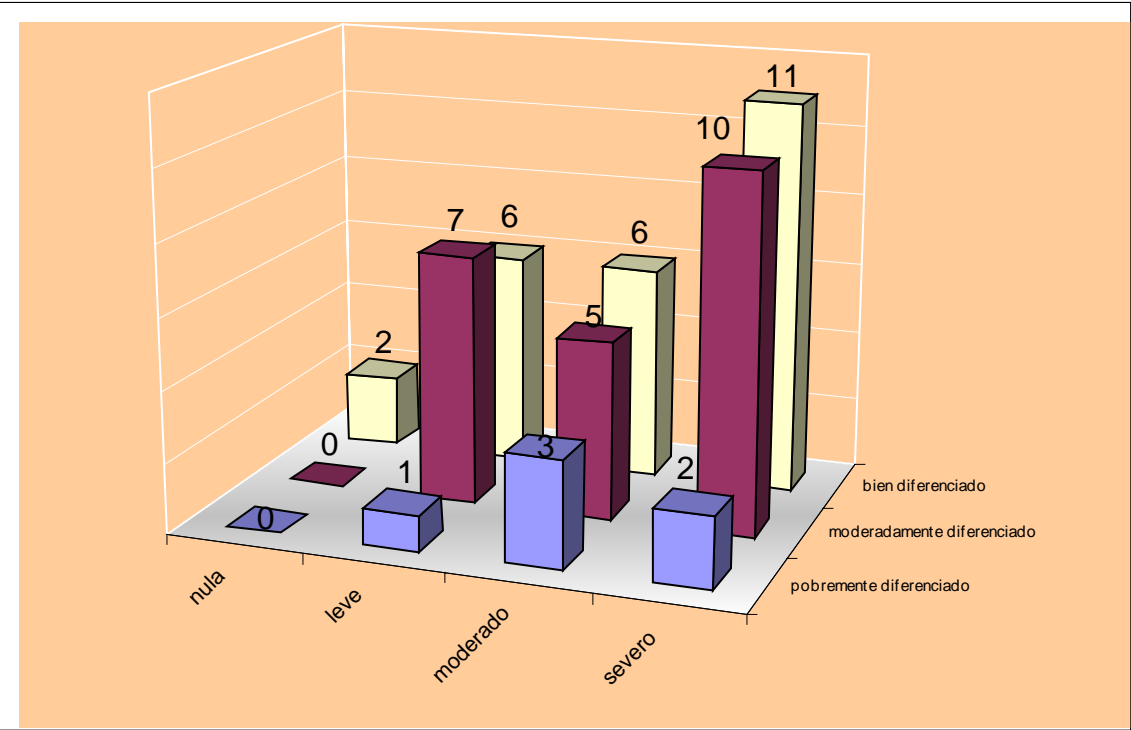


El EGF-R es un marcador molecular transmembranal y citoplasmático, donde se pudo observar que algunos carcinomas no tuvieron expresión al anticuerpo, sin embargo la mayoría de ellos tuvieron una reacción severa al marcador. Al analizar cualitativamente el EGF-R observamos que se expresó en el 43.4% de forma severa, 26.4% moderadamente, 26.4% levemente y fue nula en el 3.8%, tal como se muestra en la **tabla 5 y gráfica 7**

**Tabla 5. Inmunoexpresión de acuerdo al grado de diferenciación.**

	NULA	LEVE	MODERADO	SEVERO	TOTAL DE CASOS
<b>POBREMENTE DIFERENCIADO</b>	0	1	3	2	6
<b>MODERADAMENTE DIFERENCIADO</b>	0	7	5	10	22
<b>BIEN DIFERENCIADO</b>	2	6	6	11	25
<b>TOTAL</b>	2	14	14	23	

**Gráfica 7. Inmunoexpresión de acuerdo al grado de diferenciación.**

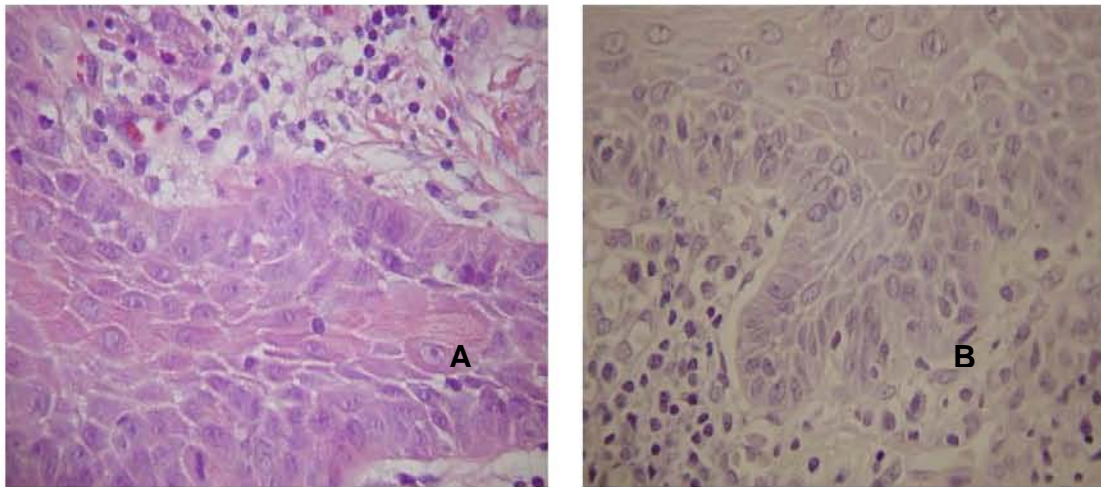


En la **tabla 6** se presenta el concentrado del total de los casos del estudio, así como los resultados.

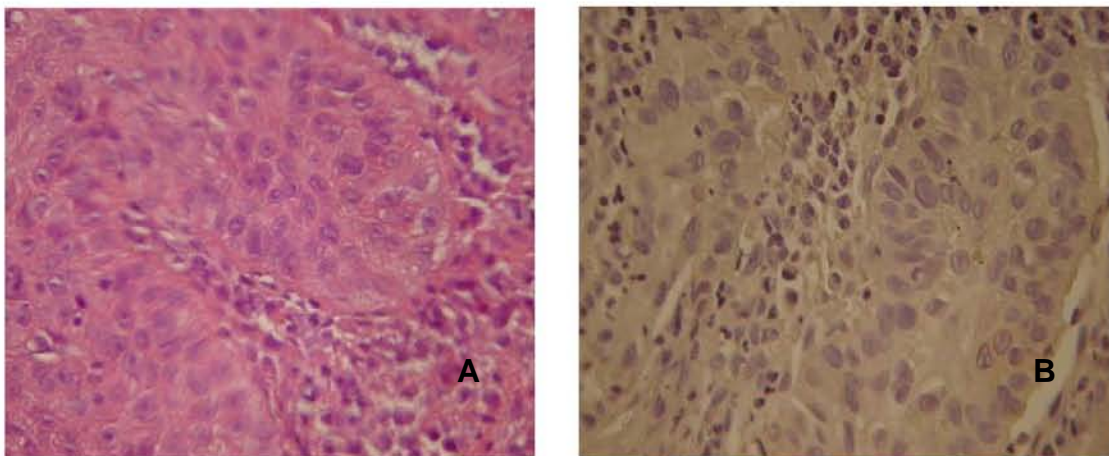
**Tabla 6. Carcinomas epidermoide con grado histológico y marcaje al EGFR.**

EDAD	GENERO	REGIÓN ANATÓMICA	DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	INMUNORESPUESTA
85	F	ENCIA	bien diferenciado	leve
74	M	ENCIA	bien diferenciado	leve
36	M	ENCIA	bien diferenciado	leve
	F	ENCIA	bien diferenciado	leve
53	M	ENCIA	bien diferenciado	leve
52	F	ENCIA	bien diferenciado	leve
87	M	ENCIA	moderadamente diferenciado	leve
78	F	ENCIA	moderadamente diferenciado	leve
78	M	ENCIA	moderadamente diferenciado	leve
78	M	ENCIA	moderadamente diferenciado	leve
73	M	ENCIA	moderadamente diferenciado	leve
79	M	ENCIA	moderadamente diferenciado	leve
71	M	ENCIA	moderadamente diferenciado	leve
70	M	ENCIA	pobrementemente diferenciado	leve
75	F	ENCIA	bien diferenciado	moderada
70	F	ENCIA	bien diferenciado	moderada
91	F	ENCIA	bien diferenciado	moderada
40	F	ENCIA	bien diferenciado	moderada
71	M	ENCIA	bien diferenciado	moderada
62	F	ENCIA	bien diferenciado	moderada
60	F	ENCIA	moderadamente diferenciado	moderada
44	F	LABIO	moderadamente diferenciado	moderada
64	F	LENGUA Y PISO DE BOCA	moderadamente diferenciado	moderada
63	M	LENGUA Y PISO DE BOCA	moderadamente diferenciado	moderada
41	M	LENGUA Y PISO DE BOCA	moderadamente diferenciado	moderada
42	F	LENGUA Y PISO DE BOCA	pobrementemente diferenciado	moderada
59	M	LENGUA Y PISO DE BOCA	pobrementemente diferenciado	Moderada
82	M	LENGUA Y PISO DE BOCA	pobrementemente diferenciado	Moderada
44	F	LENGUA Y PISO DE BOCA	bien diferenciado	Nula
58	F	LENGUA Y PISO DE BOCA	bien diferenciado	Nula
52	F	LENGUA Y PISO DE BOCA	bien diferenciado	Severa
67	F	LENGUA Y PISO DE BOCA	bien diferenciado	Severa
53	F	LENGUA Y PISO DE BOCA	bien diferenciado	Severa
50	M	LENGUA Y PISO DE BOCA	bien diferenciado	Severa
32	M	LENGUA Y PISO DE BOCA	bien diferenciado	Severa
73	M	LENGUA Y PISO DE BOCA	bien diferenciado	Severa
51	M	LENGUA Y PISO DE BOCA	bien diferenciado	Severa
51	M	LENGUA Y PISO DE BOCA	bien diferenciado	Severa
80	F	LENGUA Y PISO DE BOCA	bien diferenciado	Severa
28	F	LENGUA Y PISO DE BOCA	bien diferenciado	Severa
79	F	LENGUA Y PISO DE BOCA	bien diferenciado	Severa
66	F	MUCOSA	moderadamente diferenciado	Severa
72	F	MUCOSA	moderadamente diferenciado	Severa
24	F	Orofaringe	moderadamente diferenciado	Severa
83	F	Orofaringe	moderadamente diferenciado	Severa
25	M	Orofaringe	moderadamente diferenciado	Severa
71	M	OTROS	moderadamente diferenciado	Severa
93	F	PALADAR	moderadamente diferenciado	Severa
97	F	PALADAR	moderadamente diferenciado	Severa
74	F	PALADAR	moderadamente diferenciado	Severa
47	M	PALADAR	moderadamente diferenciado	Severa
55	F	PALADAR	pobrementemente diferenciado	Severa
40	M	TRIGONO	pobrementemente diferenciado	Severa

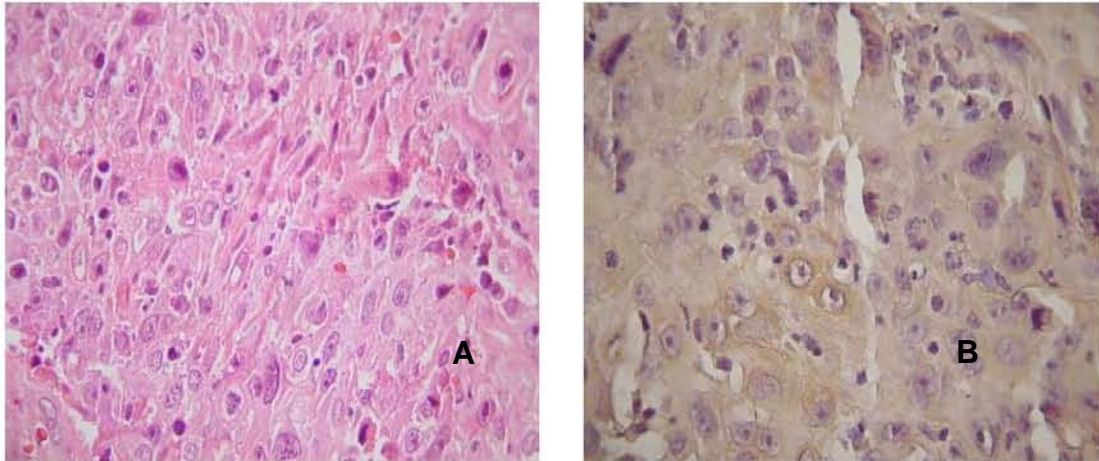
En la **figura 7, 8, 9 y 10** se muestran imágenes histológicas de algunos de los carcinomas epidermoides utilizados en este estudio, con la tinción de hematoxilina y eosina y la inmunorrespuesta que presentaron.



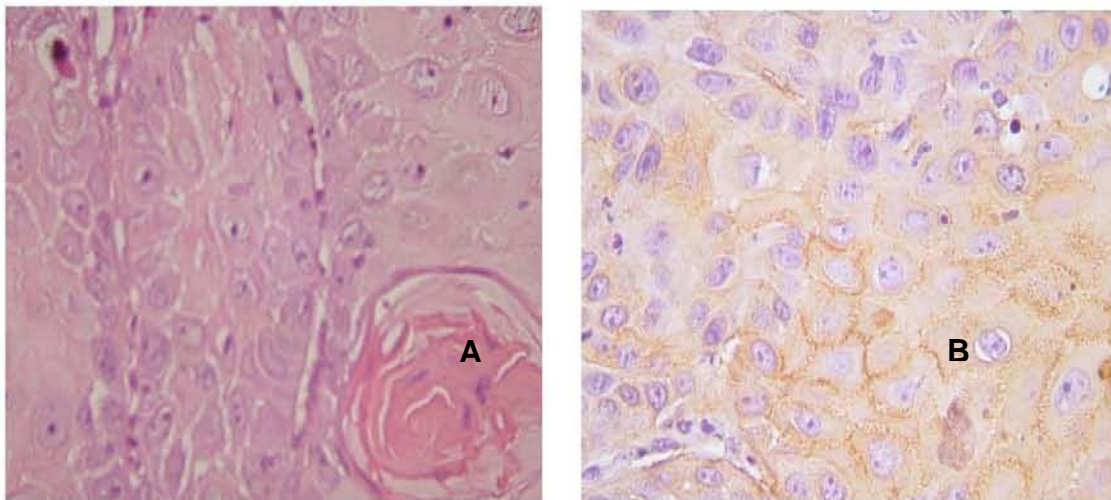
En la **figura 7 A)** Carcinoma epidermoide bien diferenciado **B)** la inmunoexpresión de EGFR fue nula.



En la **figura 8 A)** Carcinoma epidermoide bien diferenciado **B)** la inmunoexpresión de EGFR fue leve.



En la **figura 9 A)** Carcinoma epidermoide pobremente diferenciado **B)** la inmunexpresión de EGFR fue moderada.



En la **figura 10 A)** Carcinoma epidermoide moderadamente diferenciado **B)** la inmunexpresión de EGFR fue severa.

## DISCUSIÓN

De acuerdo a la literatura el carcinoma epidermoide es más frecuente en hombres en una relación 2:1,<sup>5,8.</sup> sin embargo nosotros encontramos que fue más frecuente en mujeres con un porcentaje del 54%, esto puede ser debido a que la mayor parte de la población que asiste a la Facultad de Odontología tanto en licenciatura como en posgrado, son mujeres. Con respecto a la región anatómica más propensa donde se desarrolla el carcinoma epidermoide por lo general siempre se reporta que es el labio inferior, los bordes laterales de la lengua y el piso de boca;<sup>1-5.</sup> sin embargo nosotros encontramos que la localización más frecuente del carcinoma en nuestra población fue la encía presentándose en un porcentaje del 39.6%.

En la revisión bibliográfica que realizamos no encontramos que se hiciera una comparación de los sitios de localización del carcinoma epidermoide entre hombres y mujeres, nosotros consideramos importante mencionarlo en esta discusión. Al comparar la localización de los carcinomas entre hombres y mujeres, encontramos que en las mujeres la región anatómica más afectada fue la encía con un porcentaje del 44.8%, seguida de la lengua y piso de boca con un 27.5%; en los hombres la región más afectada fue la lengua y piso de boca con un 45.8%, seguida de la encía con un 33.3%

En nuestro estudio la mayoría de los casos fueron carcinomas epidermoides bien diferenciados con un porcentaje del 47.5%, los carcinomas moderadamente diferenciados se presentaron en un 41.5 % y los pobremente diferenciados en un 14.3%.

Al examinar la expresión de EGFR se pudo observar que algunos carcinomas no lo expresaron, sin embargo la mayoría de ellos tuvieron una expresión severa. Al analizar cualitativamente el EGFR observamos que se expresó en el 43.4% de forma severa, 26.4% moderadamente, 26.4% levemente y fue nula en el 3.8%

Leonard, Hendler, Christensen, Ulanovsky y cols., reportaron que la expresión incrementada de EGFR estaba correlacionada con el grado de diferenciación; la expresión severa de EGFR ocurría en un grado mayor en carcinomas epidermoides pobremente diferenciados. Por el contrario nosotros encontramos que el EGFR se expresó en menor medida en los carcinomas epidermoides pobremente diferenciados.

Yamada y cols., encontraron que la expresión incrementada del EGFR en carcinoma epidermoide bucal estaba relacionado con un carcinoma bien diferenciado y que en un carcinoma pobremente diferenciado el receptor se expresaba en menor grado. Al igual que Yamada y cols nosotros encontramos que EGFR se expreso en mayor medida en carcinomas epidermoides bien diferenciados y en menor frecuencia en carcinomas pobremente diferenciados. Sin embargo en los carcinomas moderadamente diferenciados EGFR también se expreso frecuentemente, la diferencia en la frecuencia de expresión en carcinomas bien diferenciados y moderadamente diferenciados fue de un caso

Chen y cols., al evaluar la inmunoexpresión de EGFR con el grado de diferenciación reportaron que de los 59 casos de carcinoma epidemoide de boca que utilizaron para su estudio, el 59% fueron moderadamente diferenciados y estos tuvieron una mayor expresión de EGFR. Por el contrario en nuestro estudio del los 53 casos utilizados, el 47.5% fueron carcinomas epidermoides bien diferenciados y estos expresaron en mayor medida EGFR.

Altuna y cols., no encontraron relación entre la expresión de EGFR y el grado de diferenciación. Al igual que Altuna y cols., nosotros no encontramos relación con el grado de diferenciación y la expresión de EGFR.

Nosotros encontramos que los carcinomas epidermoides bien diferenciados presentaron una expresión severa de EGFR en un 47.8%, moderada 42.8% y leve 42.8%; los carcinomas moderadamente diferenciados se expresaron severamente en un 43.4%, moderadamente en un 35.7% y levemente en el 50%; los pobremente diferenciados se expresaron severamente en un 8.6%, moderadamente 21.4% y levemente 7.1%.



## **CONCLUSIONES**

En nuestro estudio encontramos que el carcinoma epidermoide fue más frecuente en mujeres y el sitio de localización más habitual de nuestra población fue la encía. En las mujeres la región anatómica más afectada fue la encía y en los hombres lengua y piso de boca.

Al analizar la expresión de EGFR se pudo observar que la mayoría de los casos presentaron una expresión severa.

EGFR se expreso en mayor medida en carcinomas epidermoides bien diferenciados y en menor frecuencia en carcinomas pobremente diferenciados. Sin embargo en los carcinomas moderadamente diferenciados EGFR también se expreso, la diferencia en la frecuencia de expresión en carcinomas bien diferenciados y moderadamente diferenciados fue de un caso.

No encontramos correlación entre la expresión de EGFR y el grado de diferenciación celular que presentaron los carcinomas epidermoides.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Barash A, Krutchkoff DJ, Eisenberg E. Sking, gender and age as risk factors for site specific intraoral squamous cell carcinoma. *Cancer*. 1994; 73(3):509-513.
2. Johnson NW. Oral cancer. FDI Word Dental Press Ltd. London 1999.
3. Frías MM, Zeicher GI, Súchil BK, Ochoa CFJ. Epidemiología descriptiva del cáncer de cavidad bucal en el Instituto Nacional de Cancerología (1985-1992). *Revista del Instituto Nacional de Cancerología*. 1997; 43(2):80-85.
4. Sapp JP, Eversole LR, Wysocki GP. Patología oral y maxilofacial contemporánea. Madrid, España. Editorial Harcourt. 1998.
5. Bagan Sebastián, José Vicente. Medicina oral. España. Editorial Masson. 1995.
6. Ongkeko W M, Altuna J, Weisman R A, Wang-Rodriguez J. Expresión of protein tyrosine kinases in head and neck squamous cell carcinomas. *American Journal Clinical Pathology*. 2005; 124:71-76.
7. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. Oral and maxillofacial pathology. United States of America. W.B. Saunders Company. 2002
8. Regezi, Joseph. Patología bucal. Ed Mc Graw- Hill Interamericana, México, 1999.
9. Meneses GA, Mosqueda TA, Ruíz – Godoy RL. Patología quirúrgica de cabeza y cuello. Ed. Trillas, México, 2006.
10. Giunta, John. Patología bucal. Ed Mc Graw-Hill Interamericana, México, 1991.
11. Lynch, Malcolm. Medicina bucal de Burket. Ed. Mc Graw Hill- Interamericana, 9 ed, México 1996.
12. Flores G. Patología Oncológica. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana. 1997
13. Manjari M, Popli R, Paul S, Gupta VP, Kaholon SK. Prevalence of oral cavity, pharynx, larynx and nasal cavity malignancies in Amritsar, Punjab. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;48:191-5.
14. International Agency for Research on Cancer (IARC). Tobacco smoking. IARC Monograph on the evaluation of carcinogenic risks, of chemicals to humans. IARC: Lyon, France; 1986. p. 1-421.

15. Kawajiri K, Fujii-Kuriyama Y. P450 and human cancer. *Jpn J Cancer Res* 1991;82:1325-35
16. Luque J, Herraéz A. *Biología molecular e ingeniería genética*. España. Ed Harcourt. 2001
17. International Agency for Research on Cancer (IARC). Alcohol drinking. IARC Monograph on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans. IARC: Lyon, France; 1989. p. 1-416.
18. Blot WJ. Alcohol and cancer. *Cancer Res* 1992;52:2119s-23s.
19. Harty LC, Caporaso NE, Hayes RB, Winn DM, Bravo-Otero E, Blot WJ, *et al*. Alcohol dehydrogenase 3 genotype and risk of oral cavity and pharyngeal cancers. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:1698-70
20. Al –Bakkal G, Focarra G, McNeill K, *et al*. Human papilloma virus type 16 E6 gene expresión in oral exophitic epithelial lesions as detected by in situ rtPCR. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 1999; 87:197-208.
21. D Costa J, Saranath D, Dedhia P, *et al*. Detection of hpv-16 genome in human oral cancers and potentially malignant lesios from India. *Oral Oncol* 1998; 34:413-20.
22. Flaitz CM, Hicks MJ. Molecular piracy: the viral ink to carcinogenesis. *Oral Oncol* 1998; 34:448-53.
23. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *Patología humana*. Madrid, España. Editorial Elsevier. 2004.
24. Negri E, Franceschi S, Bosetti C, Levi F, Conti E, Parpinel M, *et al*. Selected micronutrients and oral and pharyngeal cancer. *Int J Cancer* 2000;86:122-7.
25. Mendelson, John. *The molecular basis of cancer*. EUA. Editorial. W.B. Saunders Company. 1995.
26. Paniagua, Ricardo. *Biología celular*. Ed. Mc Graw- Hill Interamericana, España, 1999.
27. Boonstra, J; Rijken, P; Humbel, B; Cremers, F; Verkleij, Henegouwen, P. The epidermal growth factor. *Cell Biology International*. 1995; 19: 413-430.
28. Devita V T, Hellman S, Rosenverg S. *Cáncer: Principios y práctica de oncología*. España. Editorial Salvat. 1988.

29. Graham Carpenter and Stanley Cohen. Epidermal growth factor. *The Journal Biological Chemistry*. 1990; 265(14): 7709-7709
30. Stryer, Lubert. *Bioquímica*. Ed. Reverte, España, 1999.
31. Graham Carpenter and Stanley Cohen. Epidermal growth factor. *Ann Rev Biochem*. 1979; 48:194-216.
32. Meyers, Robert A. *Encyclopedia of molecular biology and molecular medicine*. EUA. UCH.1999.
33. Lodish H, Berk A, Zipursky S L, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. *Biología celular y molecular*. España. Editorial Panamericana. 2003.
34. A M Tunio, M Hobsley. Epidermal growth factor in saliva and gastric juice: response histamine. *An International Journal of Gastroenterology and Hepatology*.1995; 37(3): 333-339.
35. J. Sarosiek, J. Bilski, V.L.N. Murty, A. Slomiany, and B.L. Slomiany. Role of salivary epidermal growth factor in the maintenance of physicochemical characteristics of oral and gastric mucosal mucus coat. *Biochemical and biophysical research communicationas*. 1988; 152(3): 1421-1427.
36. Gregory E. Oxford, Roland Jonsson, Jan Olofsson, Tivavadar Zelles and Miichael G. Humphrey-Beber. Elevated levels of human salivary epidermal growth factor after oral and Juxtaoral Surgery. *Jour Oral Maxillofac Surg*, 1999; 57: 157-158.
37. Leah S. Royce and Bruce J. Baum. Physiologic levels of salivary epidermal growth factor stimulate migration o fan oral epithelial cell line. *Biophysica Acta*. 1991; 1092( 1991): 401-403.
38. I. Thesleff, L. Viinikka, L. Saxén, E. Lehtonen and J. Perheentupa. The parotid gland is the main source of human salivary epidermal growth factor. 1988; 43(1):13-18.
39. M. McGurk, L. Hanford, S. Justice and R.A. Metcalfe .The secretory characteristics of epidermal growth factor in human saliva. *Archs Oral Biol*.1990; 35(8): 653-659.
40. S.S Whitcomb, L.R. Eversole and R.A. Lindemann. Inmunohistochemical mapping of epidermal growth-factor receptors in normal human oral soft tissue. *Archs Oral Biol*. 1993; 38(9): 823-826.

41. Yukio Hirata and David N. Orth. Epidermal growth factor in human fluids: size heterogeneity. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1979; 48(4): 673-679.
42. T. Zelles, K.R. Purushotham, S.P. Macauley, G.E. Oxford, and M.G. Humphreys-Beher. Saliva and growth factors: The fountain of youth resides in us all. *J Dent Res*. 1995; 74(12): 1826-1832.
43. Puztai L, Lewis CE, Yap E. Cell proliferation in cancer regulatory mechanisms of neoplastic cell growth. United States. Oxford University Press, 1996.
44. Ohshima M, Sato M, Ishikawa M, Maeno M, Otsuka K. Physiologic levels of epidermal growth factor in saliva stimulate cell migration of an oral epithelial cell line, NO-I-N-I. *Eur J Oral Sci*. 2002; 110: 130-136.
45. Tokunaga A, Onda M, Okuda T, Teramoto T, Fujita I, Mizutani T, Kiyama T, Yoshiyuki T, Nishi K, Matsukura N. Clinical significance of epidermal growth factor (EGF), EGF receptor, and c-erbB-2 in human gastric cancer. *Cancer supplement*. 1995; 75(6): 1418-1425.
46. Christensen ME, Hansen HS, Poulsen SS, Bretlau P. Immunohistochemical and quantitative changes in salivary EGF, amylase and haptocorrin following radiotherapy for oral cancer. *Acta otolaryngol*. 1996; 116:137-143.
47. Bianco R, Melisi D, Ciardello F, Tortura G. Key cancer cell signal transduction pathways as therapeutic targets. *European Journal of Cancer*. 2006; 42: 290-294.
48. Ramson M. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *British Journal of Cancer*. 2004; 90: 2250-2255
49. Bazley L A, Gullick W J. The epidermal growth factor receptor family. *Endocrine-Related Cancer*. 2005; 12: S17-S27.
50. Lee C M, Shrieve D C, Zempolich K A, Jeffrey Lee R, Hammond E, Handrahan D L, Gaffney D K. Correlation between human epidermal growth factor receptor family (EGFR, HER2, HER3, HER4), phosphorylated Akt (P-Akt), and clinical outcomes after radiation therapy in carcinoma of the cervix. *Gynecologic Oncology*. 2005; 99(2) 415-421.

51. Mrhalova M, Plzak J, Betka J, Kodet R. Epidermal growth factor receptor – its expression and copy numbers of EGFR squamous cell carcinomas. *Neoplasma*. 2005; 4:
52. Bettendorf O, Piffko J, Bankfalvi A. Prognostic and predictive factors in oral squamous cell cancer: important tools for planning individual therapy? *Oral Oncol*, 2004; 40:110-9.
53. Scully C, Field JK, Tanzawa H. Genetic aberrations in oral or head and neck squamous cell carcinoma: 1. Carcinogen metabolism, DNA repair and cell cycle control. *Oral Oncol*. 2003; 36: 311-27.
54. Alberts, Bruce. *Biología molecular de la célula*. Ediciones Omega, España, 2004.
55. Hitt R, Ciruelos E, Amador M L, Amparo B, Sanchez J J, Ballestin C, Cortes-Funes H. Prognostic value of the epidermal growth factor receptor (EGFR) and p53 in advanced head and neck squamous cell carcinoma patients treated with induction chemotherapy. *European Journal of Cancer*. 2005; 41: 453-460.
56. Crijnsen H V, Giaccone G, Hoekman K. Epidermal growth factor receptor and angiogenesis for combined anticancer strategies. *Int J. Cancer*. 2006;118:883-888.
57. Ciardello F, Tortora G. Epidermal growth factor receptor (EGFR) as a target in cancer therapy: understanding the role of receptor expression and other molecular determinants that could influence the response to anti-EGFR drugs. *European Journal of Cancer*. 2003; 39: 1348-1354.
58. Ulanovski D, Stern Y, Roizman P, Shpitzer T, Popovtzer A, Feinmesser R. Expression of EGFR and Cerb-B2 as prognostic factors in cancer of the tongue. *Oral Oncology*. 2004; 40: 532-537.
59. Ritter CA, Arteaga CL. The epidermal growth factor receptor tyrosine kinase: a promising therapeutic target in solid tumors. *Semin Oncol*. 2003; 30:3-11.
60. Rhee JC, Khuri FR, Shin DM. Advances in chemoprevention of head and neck cancer. *Oncologist* 2004; 9: 302-11.
61. Grunwald V, Hidalgo M. Developing inhibitors of the epidermal growth factor receptor for cancer treatment. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 851-67.

62. Signal Transduction and Human Disease, Edited by Taren Finkel and J Silvio Gutkind. 2003.
63. Leonard JH, Kearsley JH, Chenevix-Trench G, et al. Analysis of gene amplification in head-and-neck squamous-cell carcinoma. *Int J Cancer* 1991 ; 48(4) :511-5.
64. Hendler FJ, Shum-Sui A, Oelschill M, Nanu L, Richards CS, Ozanne BW. Increased EGF-R1 binding predicts a poor survival in squamous tumours. *Cancer Cells* 1991 ; 3 ; 347-351.
65. Yamada T, Takagi M, Shioda S. Evaluation of epidermal growth factor receptor in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 73(1): 67-70.
66. Christensen ME. The EGF receptor system in head and neck carcinomas and normal tissues. Immunohistochemical and quantitative studies. *Dan Med Bull* 1998 Apr; 45(2): 121-34.
67. Ulanovski D, Stern Y, Roizman P, Shpitzer, Popovtzer A, Feinmesser R. Expression of EGFR and Cerb-B2 as prognostic factors in cancer of the tongue. *Oral Oncology* 2004; 40: 532-537.
68. Chen IH, Chang JT, Liao CT, Wang HM, Hsieh LL, Cheng AJ. Prognostic significance of EGFR and Her-2 in oral cavity cancer in betel quid prevalent area. *British Journal of Cancer* 2003; 89: 681-686.
69. Altuna X, Algaba J, Wang J, Weisman R, Ongkeko W. Estudio por inmunohistoquímica de la expresión de EGFR en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello. *Acta Otorrinolaringol Esp* 2005; 55: 143-146.
70. Burkhard, Arne. Oral cancer. Color Atlas. Wolfe Medical Publications. Chicago, pp.33. 1995.
71. Strassburg, M. Diseases of the oral mucosa. Color Atlas, Segunda edición. Editorial. Quintessence Publishing, Illinois, 1994.pp.364.