

Avaliação da expressão da E-caderina em lesões potencialmente malignas de boca

Talitha de Souza Botelho, Maria de Fátima Nunes, Sandra Lúcia Ventorin von Zeidler, Aline Carvalho Batista

Faculdade de Odontologia

talithabotelho11@hotmail.com e ali.caba@uol.com.br

PALAVRAS-CHAVE: Leucoplasia, Carcinoma de células escamosas, E-caderina, molécula de adesão, imunistoquímica.

Revisado pelo orientador
Graduanda do curso de Odontologia da FO/UFG
Profª. Dra. do Departamento de Estomatologia da FO/UFG

1 INTRODUÇÃO

A E-caderina é uma proteína, expressa especialmente por queratinócitos, que pertence à família das caderinas conhecida pelo importante papel na regulação da adesão intercelular em tecidos epiteliais (BAGUTTI et al.,1998). Essa molécula de adesão está localizada na superfície lateral das células epiteliais em uma região de contato célula-célula conhecido como a junção aderente ou desmossomica (GUILFORD et al., 1999). Sua função de adesão juncional depende do cálcio e da associação com outras proteínas citoplasmáticas como as cateninas. Além de seu papel na manutenção da integridade dos tecidos, essas moléculas de adesão celular regulam o crescimento e diferenciação do tecido epitelial (BAGUTTI et al., 1998). No epitélio oral normal a E-caderina está expressa nas regiões inferiores da camada espinhosa e nas células da camada basal (DOWNER et al., 1993; BÁNKFALVI et al., 2002). A regulação da adesão intercelular mediada pela E-caderina tem sido associada com diferenciação de tumor, invasão, metástase e prognóstico em humanos (ZHONG et al., 2007; KAWANO et al., 2004)

Em vista das funções estruturais e de adesão das integrinas e caderinas em epitélio normal escamoso estratificado, tem havido um interesse considerável em estudar melhor a expressão dessas moléculas, bem como sua alteração em lesões potencialmente malignas e em carcinomas de células escamosas ou espinocelulares (CEC) (BAGUTTI et al., 1998).

As lesões potencialmente malignas são constituídas por epitélio de revestimento benigno que podem estar morfológica e funcionalmente alterados, cujo risco de transformação maligna é maior quando comparado a um tecido clinicamente saudável (NEVILLE et al., 2004). A leucoplasia (LE) é uma das principais lesões potencialmente maligna de boca, a qual é definida como uma “placa” branca que não pode ser caracterizada clinicamente ou microscopicamente como nenhuma outra entidade patológica (OMS, 2005; VAN DER WAAL, 2009). O risco de transformação maligna varia de acordo com o grau de displasia (CRUZ et al.,2002). A displasia epitelial é caracterizada pela alteração da arquitetura da célula acompanhada por atipias citológicas, podendo ser graduada em leve, moderada e severa (VAN DER WAAL et al .,2009). Alguns casos de LE regredem ou permanecem quiescentes, porém podem progredir e preceder alterações morfológicas de um CEC (CALDEIRA et al., 2011; NAPIER et al., 2008).

O carcinoma de células escamosas, também denominado de carcinoma espinocelular (CEC) ou carcinoma epidermóide, é a mais comum neoplasias malignas na cavidade oral, normalmente apresentam uma população celular heterogênea de alto índice de invasão local e altamente metastático (WANG et al., 2009). Em

muitos carcinomas a progressão da metástase é acompanhada pela perda da expressão da E-caderina (NITA-LAZAR et al., 2009; KUDO et al., 2004). Por exemplo, a adesão célula-receptor E-caderina é muitas vezes perdida durante estágios avançados de progressão do câncer epitelial (BIRCHMEIER & BEHRENS et al., 1994) e este é considerado um passo importante na invasão e metástase das células epiteliais tumorais (CAVALLARO & CRISTOFORI, 2004). Por isso o papel destas proteínas na invasão e metástase neoplásica tem atraído grande interesse devido à sua promessa como um possível marcador de prognóstico (LOPES et al., 2009). A reduzida adesão intercelular tem sido implicada na perda da diferenciação epitelial, acompanhado por maior mobilidade e capacidade de invasão das células epiteliais em diversos carcinomas humanos (BANKFALVI et al., 2002). A expressão da E-caderina tem grande importância para contribuir no diagnóstico e avaliação do prognóstico dessas lesões e também para uma melhor compreensão do comportamento biológico das mesmas.

Há relativamente poucos estudos que tenham avaliado o uso potencial da E-caderina como marcador de metástase nodais em CECs exclusivamente da cavidade bucal (WILLIAMS et al., 1998; CHOW et al., 2001; BANKFALVI et al., 2002; OKAMOTO et al., 2002; TANAKA et al., 2003; FREITAS et al., 2006). Além disso, as investigações sobre este assunto apresentaram resultados conflitantes (MAHOMED et al., 2007) e, a maioria dos estudos existentes priorizam apenas a perda ou redução da expressão da E-caderina sem preocuparem com o motivo de sua perda, o porque da invasão metastática ou a causa da alteração da função da E-caderina.

Tendo em vista o importante papel da E-caderina como marcador biológico de prognóstico e a existência de poucos estudos que avaliam sua expressão em lesões potencialmente malignas da boca, a avaliação da expressão dessa molécula de adesão nestas lesões pode contribuir para o melhor entendimento da patogênese e poderá representar um importante indicador de prognóstico.

2. OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi avaliar comparativamente a expressão da E-caderina em lesões potencialmente malignas de boca e sua relação com o grau de displasia epitelial.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostras Selecionadas

As amostras deste estudo retrospectivo consistiu de 31 amostras de lesões potencialmente malignas da cavidade oral com diagnóstico clínico de leucoplasia (LE), 12 amostras de carcinoma espinocelular (CEC) com metástase para linfonodo cervical e 9 amostras de mucosa de cavidade oral clinicamente saudável e com discreto infiltrado inflamatório (Controle) provenientes do Laboratório de Patologia Bucal do Centro Goiano de Doenças da Buca do Estado de Goiás da FO/UFG. Os dados clínicos (gênero, idade, grupo étnico, tabagismo, etilismo, localização, tamanho do tumor primário, informações de acompanhamento como sobrevida) foram obtidos a partir dos prontuários. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) Institucional em seres humanos, protocolado sob o número do processo 015/2010.

3.2 Técnicas Utilizadas

3.2.1 Técnica de Rotina (Hematoxilina e Eosina)

Todos os espécimes foram fixados em formol tamponado 10% (pH 7,4) e incluído em parafina, foram seccionado em micrótomo (Leica RM2165) obtendo-se de cada bloco cortes consecutivos de 5µm, que foram colocado sobre lâminas histológicas e corados pelo método de Hematoxilina e Eosina (H&E).

Para a classificação microscópica das LE utilizou-se o Sistema Binário proposto por KUJAN et al., 2006 que classifica as lesões em baixo e alto risco considerando os critérios morfológicos utilizados pela OMS. Os critérios estruturais considerados foram: estratificação epitelial irregular, perda da polaridade das células basais, cristas epiteliais bulbosas, aumento de figuras mitóticas, mitoses atípicas, ceratinização prematura de células individuais e pérolas de ceratina. Os criterios citológicos considerados foram: alteração no tamanho e forma do núcleo, alteração no tamanho e forma das células, aumento da proporção núcleo-citoplasma, aumento no tamanho do núcleo, figuras mitóticas atípicas, hipercromatismo, aumento do número e tamanho do nucleolos. De acordo com o Sistema Binário as lesões de baixo risco foram as que apresentaram menos que 4 mudanças estruturais

e menos que 5 citológicas e, as lesões de alto risco apresentaram mais de 4 mudanças estruturais e 5 citológicas (KUJAN et al., 2006). A classificação para o CEC oral foi de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS).

3.2.2 Técnica da Imunoistoquímica

A partir dos casos selecionados, emblocados em parafina, foram obtidos cortes seriados com aproximadamente 3 μ m de espessura, em micrótomo (Leica), montados em lâminas silanizadas e submetidos à técnica da imunoistoquímica para identificação da proteína E-caderina. Foi utilizado o método do polímero (Starr Trek Universal HRP Detection System- Biocare Medical). Inicialmente os cortes sobre as lâminas foram desparafinizados em xilol e hidratados em banhos crescentes de álcool etílico. Em seguida, as lâminas foram incubadas em Tampão Citrato (pH=6.0), aquecido à uma temperatura de 95°C, com auxílio de Banho Maria Digital (DeLeo), por 20 minutos, para exposição antigênica. Após lavagem com TBS, as lâminas foram mergulhadas em peróxido de hidrogênio a 3%, por aproximadamente 30 minutos. Posteriormente as lâminas foram lavadas com TBS e, em seguida, incubadas com solução para bloqueio das proteínas endógenas por 15 minutos. Depois, as lâminas foram incubadas com o anticorpo primário monoclonal de camundongo anti-ecaderina humano (SPM471, Spring Bioscience) a uma diluição de 1:200, durante 18 horas à 4^oC. Passado o tempo, lavagens consecutivas foram realizadas e, posteriormente, as lâminas foram incubadas com o Sistema Trek Universal Link por 20 minutos. Novamente as lâminas foram lavadas com TBS e incubadas com o Sistema Trek Avidin-HRP (Label) por 20 minutos. Em seguida, procedeu-se à revelação da reação utilizando o 3.3'-Diaminobenzidina (DAB) em uma solução cromogênica por 3 minutos à temperatura ambiente. A reação foi interrompida com água destilada e as lâminas contra-coradas com hematoxilina por 30 segundos à temperatura ambiente. Após serem lavadas com água corrente por 10 minutos as lâminas foram desidratadas com alcoóis, passadas em xilol e montadas com solução de resina não aquosa (Entellan-Mikroskopie-Merck).

3.3 Análise Qualitativa e Quantitativa dos Dados

A análise foi realizada por um examinador, o padrão de imunomarcção da molécula de adesão E-caderina foi descrito como expressão normal quando observado coloração marrom delimitando toda a membrana celular citoplasmática dos queratinócitos

desde a camada basal até a camada espinhosa e foi considerado coloração anormal quando essa coloração estava ausente ou descontínua. As camadas analisadas foram a basal, parabasal, espinhosa e paraqueratinizada. O score foi determinado com base na proporção de células coradas em uma escala de negativo a forte como se segue: negativo = 0% de células marcadas com score 0, fraco = 1 - 50% de células marcadas com score 1, moderado = 51 - 75% de células marcadas com score 2 e forte = mais de 76% de células marcadas com score 3.

3.4 Análise Estatística dos Dados

Estudo inferencial de comparação entre os grupos foram realizados utilizando o teste estatístico não-paramétrico One Way ANOVA. O nível de significância estatística foi aceito quando $P < 0,001$. O teste utilizado para correlacionar os grupos de variáveis ordinais, foi a correlação de Spearman. Os testes estatísticos foram aplicados utilizando-se o programa SPSS 17.0 for Windows.

4 RESULTADOS

A amostra dos 52 pacientes estudados (31 LE, 12 CEC e 9 amostras controles) apresentou o predomínio do gênero masculino (80%) nos pacientes com CEC, enquanto o gênero feminino predominou nos casos de LE (53%) e Controle (80%). A média de idade dos pacientes foram 50,9 anos (IC:31 -79), 56,4 (IC: 42 – 80) e 20,6 (IC: 17 – 27) para os pacientes com LE, CEC e Controle respectivamente. O grupo étnico predominante foi leucoderma e melanoderma para todos os casos. Todas as lesões foram associadas com exposição ao tabaco ou ao consumo de álcool; nos pacientes com LE apenas 19% não usavam tabaco mas eram etilistas e 22% consumiam álcool em associação com o fumo. Já no CEC todos os pacientes estavam expostos ao tabaco e destes 66% consumiam álcool. A localização da lesão também foi avaliada. A principal localização das LE foram mucosa jugal, dorso e borda lateral de língua e o CEC predominou borda lateral da língua e soalho, correspondendo 84% dos casos. O estadiamento do CEC foi T2 e T3 e todos os casos apresentaram metástase linfonodal confirmada microscopicamente.

Após a avaliação microscópica das amostras de LE utilizando o Sistema Binário, as lesões foram classificadas em baixo e alto risco de malignidade. Dessa maneira, um total de 23 casos foram classificados como baixo risco e correspondiam aos casos de LE sem

displasia ou com displasia epitelial leve e, 8 casos foram classificados como alto risco e correspondiam aos casos de LEs com displasia epitelial moderada e severa. Todos os casos de CEC eram moderadamente ou pobremente diferenciados (Grau II ou III/OMS).

A análise qualitativa dos espécimes imunomarcados revelou que a mucosa oral normal (controle) não apresentou marcação na camada basal, houve forte marcação na camada parabasal e nos 2 /3 inferiores da camada espinhosa, porém na camada superior espinhosa a marcação foi fraca e em alguns casos ausente. Não houve marcação na camada paraqueratinizada e nem no citoplasma. A análise quantitativa revelou que o score referente a proporção de células marcadas nas amostras controles foi igual a 3 (Fig. 1).



Figura 1. Fotomicroscopia ilustrando forte expressão da E-caderina na mucosa oral clinicamente saudável (controle) nas camadas parabasais e baixa camada espinhosa. Ausência de marcação nas camadas basais e paraqueratinizada (Score 3). Imunoistoquímica, aumento original de 10x.

No grupo de LEs de baixo risco (n=23) foi evidenciada uma leve perda de expressão da molécula de adesão; sendo estabelecido o score 3 (similar aquela estabelecida no grupo controle). No grupo de LEs de alto risco (n=8) foi observado uma perda mais evidente da E-caderina; sendo estabelecido o score 1 e 2 (Fig.2). No grupo de CEC (n=12) foi observada uma redução significativa na expressão da E-caderina na membrana citoplasmática das células neoplásicas, bem como se evidenciou coloração citoplasmática (Fig. 3). Ressalta-se que forte pigmentação das pérolas córneas foi constatada e não considerada como marcação positiva. A pontuação positiva da E-caderina para todos os grupos consta na tabela 1.

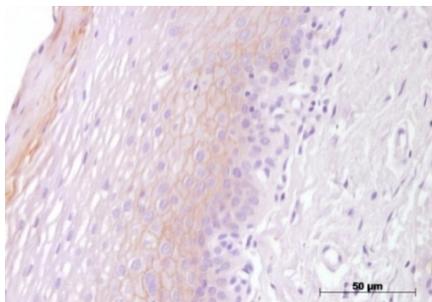


Figura 2. Fotomicroscopia demonstrando Leucoplasia classificada como de alto risco de malignidade (score 2) com perda da expressão da e-caderina principalmente na camada espinhosa. Imunoistoquímica, aumento original 10x.

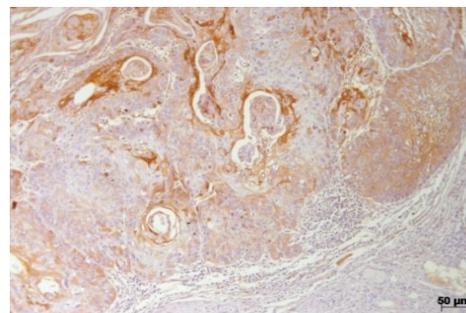


Figura 3. Fotomicroscopia ilustrando carcinoma espinocelular com presença de ilhas tumorais com redução da expressão da molécula E-caderina na membrana, mas com marcação citoplasmática e pigmentação das pérolas córneas (Score 1). Imunoistoquímica, aumento original 10x.

Tabela 1 – Expressão da E-caderina nos grupos de leucoplasia de baixo e alto risco, de carcinoma espinocelular metastático e de mucosa oral clinicamente saudável (controle)

GRUPOS EXPERIMENTAIS	Número de amostras	Score da E-Caderina (Sistema Binário KUJAN et al., 2006)			
		0	1	2	3
Controle	9	0	0	0	9
Baixo Risco	23	0	0	12	11
Alto Risco	8	0	1	7	0
CEC primário com metástase	12	4	8	0	0

A análise estatística demonstrou que houve diferenças significativas nos níveis de expressão da E-caderina entre os grupos estudados ($P < 0,001$). Nossos resultados demonstraram, ainda, significativa correlação entre o aumento da displasia epitelial das LE e a diminuição da porcentagem de queratinócitos imunomarcados para E-caderina (Teste de Correlação de Spearman, $r = -0,71$ e $P = 0,000$) (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição dos diferentes grupos estudados em relação ao número de amostras, média, desvio padrão e intervalo de confiança.

GRUPO	Número Amostras	Média	Desvio Padrão	Intervalo de Confiança 95%		Significância (P) <i>One Way Anova</i>	Coeficiente de correlação Spearman
				Limite Inferior	Limite Superior		
Controle	9	3,00	,000	3,00	3,00	,000	$r = -0,71$
Baixo Risco	23	2,43	,662	2,15	2,72		
Alto Risco	8	1,75	,463	1,36	2,14		
CEC	12	1,42	,793	,91	1,92		
Total	52	2,19	,817	1,96	2,42		

5 DISCUSSÃO

A redução da expressão de moléculas de adesão intercelular, em especial da E-caderina, tem refletido na perda da diferenciação epitelial e na maior mobilidade e capacidade de invasão dessas células em diversos carcinomas humanos (BANKFALVI et al., 2002, SHAH et al., 2009, TANAKA et al., 2003). Corroborando com esses dados, nossos resultados demonstraram uma perda ou descontinuidade da molécula de adesão E-caderina na membrana citoplasmática nos grupos de CEC e LEs com alto risco de malignidade quando estes foram comparados com os grupos de LEs com baixo risco de malignidade e de mucosa oral clinicamente saudável. Além disso, demonstramos uma correlação entre a perda da expressão da E-caderina e o aumento do grau de displasia epitelial das LEs.

Neste estudo consideramos a mucosa bucal clinicamente saudável como controle positivo e, de fato, forte expressão de E-caderina especialmente nas camadas parabasal e espinhosa foi evidenciada. Esses dados estão de acordo com a literatura científica que

demonstraram padrões semelhantes de imunomarcção desta proteína em amostras de epitélio normal (YAMADA et al., 1997; BANKFALVI et al., 2002; GARCÍA et al., 2005). Essas evidências sugerem o importante papel da E-caderina na histofisiologia e manutenção da estrutura de um tecido epitelial sem alterações (GARCÍA et al., 2005).

A expressão da E-caderina no grupo de LEs classificadas como de baixo risco (LEs sem displasia e displasia epitelial leve) foi similar aquela das amostras controles. Esse resultado está de acordo com o estudo de Williams et al. (1998) que também evidenciou muita semelhança na expressão da E-caderina entre lesões com displasia leve e epitélio clinicamente saudável. Todavia, nos grupo de LEs classificadas como de alto risco de malignidade (LEs com displasia moderada e severa) e de CEC uma redução significativa na expressão da E-caderina quando estes foram comparados aos grupos controle e LEs de baixo risco foi confirmada. Adicionalmente, uma significativa correlação entre a perda da expressão de E-caderina pelos queratinócitos e o aumento das alterações estruturais e citológicas foram constatadas. Assim, esses resultados, tomados em conjunto, indicam que à medida que as alterações morfofuncionais epiteliais aumentam ocorre uma redução ou perda da molécula de adesão E-caderina, sugerindo, assim, que essa proteína pode representar um importante marcador biológico da carcinogênese e prognóstico do CEC de boca. Resultados semelhantes foram também publicados ou ressaltados por outros pesquisadores (WILLIAMS et al. 1998; GARCÍA et al., 2005; BIRCHMEIER et al., 1993; PONTA et al.,1995; NGUYEN et al., 2011; KAUR et al., 2009; PYO et al., 2007). TAKES et al., 2002 e GARCIA et al., 2007 sugerem que a perda da expressão da E-caderina esta relacionada com o aumento na invasão e metástase em CEC de boca e ressaltam que a expressão dessa molécula reduz consideravelmente em células tumorais metastáticas presentes em linfonodos cervicais.

Embora a perda da expressão da E-caderina no CEC é uma alteração comum e tem sido associada à invasão, metástase e pior prognóstico, a perda dessa molécula não parece ser o único determinante desse processo (ANDREWS et al., 1997). Neste contexto, não podemos deixar de considerar que outros fatores clínico-microscópicos tais como tamanho do tumor, presença de metástase e grau de diferenciação são importantes indicadores de prognóstico (HIBBERT et al.,1993; JONES et al., 1993).

No presente estudo observamos que, em uma alta porcentagem das amostras de CEC de boca, a perda da expressão da E-caderina em membrana foi associada à expressão citoplasmática dessa proteína pelas células neoplásicas. Embora outros autores também demonstraram resultados semelhantes, a intensidade e frequência dessa expressão citoplasmática de E-caderina pelas células neoplásicas é conflitante (WILLIAMS et al. 1998;

AGUIAR JÚNIOR et al. 2007) e merece mais investigações. GAGLIARDI et al. em 1995 sugere que a molécula de adesão tem que estar presente na superfície da célula para mediar a adesão célula-célula e especula que a presença de E-caderina no citoplasma não é funcional (GAGLIARDI et al, 1995).

6. CONCLUSÃO

Nossos resultados indicam que à medida que as alterações displásicas epiteliais ou o fator de risco a malignização aumentam ocorre uma redução ou perda da E-caderina pelos queratinócitos; sugerindo, assim, que essa proteína pode representar, provavelmente em associação com outros fatores de prognóstico clínico-microscópico, um importante marcador biológico da carcinogênese e prognóstico das lesões potencialmente malignas de boca.

REFERÊNCIAS

- NEVILLE, B. W.; DAMM, D. D.; ALLEN, C. M.; BOUQUOT, J. E. **Patologia Oral e Maxilofacial**. 2º ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- SHAH, M. H.; SAINGER, R. N.; TELANG, S. D. et al. E-Cadherin truncation and Sialyl Lewis-X overexpression in oral squamous cell carcinoma and oral precancerous conditions. **Neoplasma**, v. 56, 2009.
- NITA-LAZAR, M.; NOONAN, V.; REBUSTINI, I. et al. Overexpression of DPAGT1 leads to aberrant N-glycosylation of E-cadherin and cellular discohesion in oral cancer. **Cancer Res**, v. 69. p. 5673-5680, 2009.
- ZHANG, W.; ALT-HOLLAND, A.; MARGULIS, A. et al. E-cadherin loss promotes the initiation of squamous cell carcinoma invasion through modulation of integrin-mediated adhesion. **Journal of Cell Science**, v. 119, p. 283-291, 2006.
- MAHOMED, F.; ALTINI, M.; MEER, S. Altered E-cadherin/b-catenin expression in oral squamous carcinoma with and without nodal metastasis. **Oral Diseases**, v. 13, p. 386-392, 2007.
- WANG, X.; ZHANG, J.; FAN, M. et al. The expression of E-cadherin at the invasive tumor front of oral squamous cell carcinoma: immunohistochemical and RTPCR analysis with clinicopathological correlation. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 107, p. 547-554, 2009.
- BAGUTTI, C.; SPEIGHT, P. M.; WATT, F.M. Comparison of integrin, cadherin, and catenin expression in squamous cell carcinomas of the oral cavity. **Journal of pathology**, v. 186, p. 8-16, 1998.
- GUILFORD, P. E-cadherin downregulation in cancer: fuel on the fire?. **Molecular medicine today**, v.5 , 1999.

LOPES, F.F.; MIGUEL, M.C.C.; PEREIRA, A. L. A. et al. Changes in immunoexpression of E-cadherin and β -catenin in oral squamous cell carcinoma with and without nodal metastasis. **Annals of Diagnostic Pathology**, v. 13, p. 22-29, 2009.

KUDO, Y.; KITAJUMA, S.; OGAWA, I. et al. Invasion and Metastasis of Oral Cancer Cells Require Methylation of E-Cadherin and/or Degradation of Membranous Catenin. **Clinical Cancer Research**, v. 10, p. 5455- 5463, 2004.

KUJAN, O.; OLIVER, R.J.; KHATTAB, A. et al. Evaluation of a new binary system of grading oral epithelial dysplasia for prediction of malignant transformation. **Oral Oncology**, v. 42, p. 987-993, 2006.

KAWANO, T.; NAKAMURA, Y.; YANOMA, S. et al. Expression of E-cadherin, and CD44s and CD44v6 and its association with prognosis in head and neck cancer. **Auris Nasus Larynx**, v. 31, p. 35-41, 2004.

ZHONG, L.P.; ZHANG, C.P.; ZHU, H. G. et al. Expression of E-cadherin in cervical lymph nodes from primary oral squamous cell carcinoma patients. **Archives Oral Biology**, v. 52, p. 740-747, 2007.

CALDEIRA, P.C.; ABREU, M. H.; N.G.; BATISTA, A.C. et al. hMLH immunoexpression is related to the degree of epithelial dysplasia in oral leukoplakia. **J Oral Pathology & Medicine**, v. 40, p. 153-159, 2011.

SHINOHARA, M.; HIRAKI, A.; IKEBE, T. et al. Immunohistochemical study of desmosomes in oral squamous cell carcinoma: Correlation with cytokeratin and E-cadherin staining, and with tumour Behaviour. **Journal of pathology**, v. 184, p. 369–381, 1998.

GARCÍA, A.C.; HERNÁNDEZ, M.M.A.; SÁNCHEZ, E.F. et al. E-cadherin, laminin and collagen IV expression in the evolution from dysplasia to oral squamous cell carcinoma. **Oral Medicine and Pathology**, v. 11, p. 100-105, 2006.

TAKES, R.P.; BAATENBURG, DE JONG, R.J.; ALLES, M.J. et al. Markers for nodal metastasis in head and neck squamous cell cancer. **Arch Otolaryngol Head Neck Surg**, v. 128, p. 512-518, 2002.

KAUR, G.; CARNELIO, S.; RAO, N. et al. Expression of E-cadherin in primary oral squamous cell carcinoma and metastatic lymph nodes: an immunohistochemical study. **Indian J Dent Res**, v.20, p. 71-76, 2009.

PYO, S. W.; HASHIMOTO, M.; KIM, Y.S. et al. Expression of E-cadherin, P-cadherin and N-cadherin in oral squamous cell carcinoma: Correlation with the clinicopathologic features and patient outcome. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, v. 35, p. 1-9, 2007.

CRUZ, M.C.F.N.; PERERIA, A.L.A.; LOPES, F.F. et al. Immunohistochemical Expression of E-cadherin and CD44v6 in Squamous Cell Carcinomas of the Lower Lip and Tongue. **Braz Dent J**, v. 20, p. 64-69, 2009.

ANDREWS, N.A.; JONES, A.S.; HELLIWELL, T.R. et al. Expression of the E-cadherin-catenin cell adhesion complex in primary squamous cell carcinomas of the head and neck and their nodal metastases. **British Journal of Cancer**, v. 75, p.1474-1480, 1997.

- BEAVON, I.R.G. The E-cadherin-catenin complex in tumour metastasis: structure, function and regulation. **European Journal of Cancer**, V.36, P. 1607-1620, 2000.
- HIROHASHI, S. Inactivation of the E-Cadherin-Mediated Cell Adhesion System in Human Cancers. **American Journal of Pathology**, v. 153, 1998.
- TANAKA, N.; ODAJIMA, T.; OGI, K. et al. Expression of E-cadherin, a-catenin, and b-catenin in the process of lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. **British Journal of Cancer**, v. 89, p. 557-563, 2003.
- YAMADA, K.; JORDAN, R. et al. The relationship between E-cadherin expression, clinical stage and tumour differentiation in oral squamous cell carcinoma. **Oral Diseases**, v. 3, p. 82-85, 1997.
- BÁNKFALVI, A.; KRABORT, M.; VÉGH, A. et al. Deranged expression of the E-cadherin/b-catenin complex and the epidermal growth factor receptor in the clinical evolution and progression of oral squamous cell carcinomas. **J Oral Pathol Med**, v. 31, p. 450-457, 2002.
- NGUYEN, P.T.; KUDO, Y.; YOSHIDA, M. et al. N-cadherin expression is correlated with metastasis of spindle cell carcinoma of head and neck region. **J Oral Pathol Med**, v. 40, p. 77-82, 2011.
- WILLIAMS, H.K.; SANDERS, D.S.A.; JANKOWSKI, J.A.Z. et al. Expression of cadherins and catenins in oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma. **J Oral Pathol Med**, v. 27, p. 308-317, 1998.
- NAPIER, S.S.; SPEIGHT, P.M. Natural history of potentially malignant oral lesions and condition: an overview of the literature. **J Oral Pathol Med**, v. 37, p. 1-10, 2008.
- VAN DER WALL I. Potentially malignant disorders of the oral and oropharyngeal mucosa; terminology, classification and present concepts of management. **Oral Oncol**, v. 45, p. 317-323, 2009.
- CAVALLARO, U.; CHRISTOFORI, G. Cell adhesion and signaling by cadherins and Ig-CAMs in cancer. **Nat Rev Cancer**, v.4, p. 118-32, 2004.
- OKAMOTO, M.; NISHIMINE, M.; KISHI, M. et al. Prediction of delayed neck metastases in patients with stage I/II squamous cell carcinoma of the tongue. **J Oral Pathol Med**, v.31, p.227-233, 2002.
- PONTA, H.; HOFFMAN, M.; HERRLICH, P. Recent advances in the genetics of metastasis. **Eur J Cancer**, v.13, p.1995-2001, 1994.
- HIBBERT, J.; MARKS M.J.; WINTER P.J. Prognostic factors in oral squamous carcinomas and relation to clinical staging. **Clin Otolaryngol**, v.8, p. 197-203, 1993.
- CHOW, V.; YUEN, A.P.; LAM, K.Y. et al. A comparative study of the clinicopathological significance of E-cadherin and catenins (alpha, beta, gamma) expression in the surgical management of oral tongue carcinoma. **J Cancer Res Clin Oncol**, v. 127, p. 59-63, 2001.
- AGUIAR JÚNIOR, F.C.A.; KOWALSKI L, P.; ALMEIDA, O.P. Clinicopathological and immunohistochemical evaluation of oral squamous cell carcinoma in patients with early local recurrence. **Oral Oncol**, v. 43, p. 593-60, 2007.

DINIZ-FREITAS, M.; GARCÍA-CABALLERO, T.; ANTÚNEZ-LÓPEZ, J. et al. Reduced E-cadherin expression is an indicator of unfavourable prognosis in oral squamous cell carcinoma. **Oral Oncol**, v. 42, p.190-200, 2006.

GAGLIARDI, G.; KANDEMIR, P.; LIU, D. et al. Changes in E-cadherin immunoreactivity in the adenoma-carcinoma sequence of the large bowel. **Virchows Arch**, v. 426, p.149-54, 1995.

DOWNER, C.S.; SPEIGHT, P.M. E-cadherin expression in normal, hyperplastic and malignant oral epithelium. **Eur J Cancer B Oral Oncol**, v.29, p.303-5, 1993.

JONES, J.; SUGIYAMA, M.; WATT F.M. et al. Integrin expression in normal, hyperplastic, dysplastic and malignant oral epithelium. **J Pathol**, v. 169, p. 235-43, 1993.

BIRCHMEIER, W.; BEHERENS, J. Cadherin expression in carcinomas: role in the formation of cell junctions and the prevention of invasiveness. **Biochim Biophys Acta**, 1994.