

Expresión de Podoplanina en Mucosa Oral Normal, Displasia Epitelial Oral y Carcinoma Oral de Células Escamosas

Immunoexpression of Podoplanin in Normal Oral Mucosa, Epithelial Displasia and Oral Squamous Cell Carcinoma

Constanza Marín M.¹; René Martínez F.²; Wilfredo González A.³; Alejandra Fernández M.² & Maureen Marshall B.²

MARÍN, M. C. ; MARTÍNEZ, F. R. ; GONZÁLEZ, A. W.; FERNÁNDEZ, M. A. & MARSHALL, B. M. Expresión de podoplanina en mucosa oral Normal, displasia epitelial oral y carcinoma oral de células escamosas. *Int. J. Odontostomat.*, 11(3):311-317, 2017.

RESUMEN: Evaluar la inmunoexpresión de podoplanina (PDPN) en el epitelio y vasos linfáticos en muestras de mucosa oral normal (MON), displasia epitelial oral (DEO) y carcinoma espinocelular oral (CECO). Estudio descriptivo de serie de casos. La muestra estuvo constituida por 19 casos de MON, 18 de DEO y 19 de CECO. Se consideraron positivas aquellas células con tinción de membrana y/o citoplasmático. Para la evaluación de PDPN epitelial se realizó un análisis semicuantitativo a través del producto entre la intensidad y porcentaje de células teñidas (immunoreactive score- IRS), mientras que para la evaluación de los vasos linfáticos, se determinó la densidad media vascular (DMV) a partir del promedio de la densidad linfática en tres campos ópticos por muestra. El mayor valor de IRS se observó en el grupo de CECO, seguido por DEO y el menor valor fue en el grupo de MON, con diferencias estadísticamente significativas al comparar CECO/DEO ($p= 0,0200$) y CECO/MON ($p= 0,0078$). Al comparar los valores de DMV según diagnóstico, se obtuvo que estos fueron bastante similares y no presentaron diferencias significativas entre sí ($p= 0,4273$). Finalmente, se analizó la relación entre los valores de IRS de podoplanina epitelial y la densidad media vascular de los linfáticos, a través del test de independencia de Spearman, el cual determinó que no hay un grado de asociación entre ambas variables ($p= 0,2056$). Conclusión: el IRS epitelial aumenta su valor al comparar muestras de MON, DEO y CECO. No existen diferencias significativas, en las muestras estudiadas, entre los valores de DMV linfática. No existe relación entre la expresión de PDPN epitelial y DMV linfática en muestras de DEO y CECO.

PALABRAS CLAVE: podoplanina, displasia, carcinoma espinocelular, transformación maligna, vasos linfáticos.

INTRODUCCIÓN

El carcinoma espinocelular oral (CECO) es una neoplasia maligna desarrollada a partir del epitelio plano estratificado de la mucosa oral que se caracteriza por su agresividad local, capacidad de invasión y tendencia a desarrollar metástasis linfáticas de manera temprana (Barnes *et al.*, 2005). En la última década se ha tornado un serio problema de salud pública a nivel global, constituyendo el octavo lugar de incidencia en hombres y decimocuarto en mujeres, representando el 3 % de todos los cánceres en el mundo (Siegel *et al.*, 2016). En Chile la incidencia es de 1,6 % del total de cánceres, con una tasa de mortalidad cercana al 1 % (Riera &

Martínez, 2005). Su diagnóstico prematuro se asocia con aumentos en las tasas de supervivencia (Barnes *et al.*), por lo que resulta imperativo su detección y tratamiento oportuno poniendo especial énfasis en la displasia epitelial, lesión que se clasifica dentro de los desórdenes potencialmente malignos, los cuales presentan inherentemente una mayor probabilidad de progresar a carcinoma espinocelular.

El sistema linfático es un sistema paralelo al circulatorio sanguíneo cuya función principal es la de mantener la homeostasis de fluidos en los tejidos, recogien-

¹ Facultad de Odontología, Universidad Andres Bello, Viña del Mar, Chile.

² Facultad de Odontología, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile.
Proyecto Fondecyt 11140507 (WG)

do el líquido y proteínas filtradas que se acumula en los espacios intersticiales, devolviéndolos a la circulación sanguínea (Jurisic *et al.*, 2009).

La podoplanina (PDPN) corresponde a una glicoproteína transmembrana expresada por una variedad de tejidos en modelos de animales adultos como el cerebro, corazón, riñón entre otros, sin embargo, su función exacta a nivel fisiológico aún no está del todo dilucidada (Astarita *et al.*, 2012). Hoy en día, se considera el principal marcador de endotelio linfático (Longatto-Filho *et al.*, 2007; Kawaguchi *et al.*, 2008). El dominio citoplasmático de la PDPN es esencial en la función de esta proteína ya que tiene un sitio funcional que actúa como una proteína quinasa dependiente de cAMP, un sitio de fosforilación de una proteína quinasa C y un racimo de aminoácidos altamente conservados que sirven como sitio de reclutamiento para la familia de proteínas ezrina, radixina y moesina (ERM) (Swain *et al.*, 2014). La función principal de ERM es servir como conectores entre las proteínas de membrana y la actina citoesquelética contribuyendo a una movilidad aumentada en la célula (Inoue *et al.*, 2012).

El objetivo de este estudio fue evaluar la inmunexpresión de PDPN en el epitelio y vasos linfáticos de muestras de mucosa oral normal (MON), displasia epitelial oral (DEO) y carcinoma espinocelular oral (CECO).

MATERIAL Y MÉTODO

El diseño del estudio fue descriptivo transversal de serie de casos. Este estudio fue aprobado por el comité de bioética de la Universidad Andrés Bello, Viña del Mar (Folio No 24). El tipo de muestreo fue no probabilístico por conveniencia. La población de estudio fue categorizada de acuerdo a lo siguiente: 19 casos de mucosa oral normal, 18 de displasia epitelial oral y 19 de CECO. Las biopsias de mucosa oral normal se obtuvieron de los márgenes sanos de muestras de lesiones reaccionales como fibromas irritativos y papilomas orales pertenecientes a la casuística del Servicio de Histopatología oral de la Universidad Andrés Bello. Para las muestras de CECO y displasia epitelial oral, se obtuvo la autorización y acceso a los registros de las biopsias orales en los Laboratorios de histopatología de la Facultades de Odontología de la Universidad Mayor (Santiago), Andrés Bello (Viña del Mar) y la Universidad de Talca entre los años 2004 al 2012. Se incluyeron muestras embebidas en parafina

con suficiente tejido para obtener dos cortes de tejido, de 3 micrómetros de espesor cada uno, diagnosticados histológicamente como MON, DEO y CECO, con datos clínicos de ubicación de la lesión, género y edad del paciente. Se excluyeron las muestras de CECO secundarias a metástasis, muestras con datos incompletos y/o con artefactos de técnica. Para confirmar el diagnóstico de MON; DEO y CECO de las muestras seleccionadas, dos patólogos previamente calibrados (concordancia de 0,97) examinaron las láminas teñidas con hematoxilina-eosina (HE) en un microscopio de luz Olympus® CX-31 (Olympus Corporation, Japan). Para realizar los diagnósticos, se basaron en los criterios propuestos por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Técnica de inmunohistoquímica para Podoplanina.

De las muestras previamente embebidas en parafina, se obtuvieron los cortes que fueron montados en portaobjetos silanizados, desparafinados e hidratados a través de sucesivos baños de alcohol en concentraciones decrecientes hasta llegar al agua destilada. Luego, se realizó el proceso de recuperación antigénica durante 72 minutos CC1 (Ph 8). Los cortes de tejido fueron incubados con el anticuerpo monoclonal anti-podoplanina D2-40 (Dako) durante 50 minutos a 37 °C en una dilución 1:200 y el sistema de detección utilizado será Optiview Ventana (©2015 Ventana Medical Systems, Inc). Todo el protocolo fue utilizando el equipo automatizado Benchmark GX (©2014 Productos Roche). Finalmente, los cortes fueron montados con cubreobjetos usando entellán como medio de montaje. Cada muestra se comparó con un control positivo y negativo inserto en cada una de las placas histológicas. El control inmunopositivo correspondió a una muestra de tejido amigdalino (patrón de citoplasma y membrana en células epiteliales basales y linfocitos del centro germinal) mientras que el negativo fue la misma muestra sin el anticuerpo primario.

Evaluación de la inmunexpresión de Podoplanina en epitelio y en vasos linfáticos.

Las muestras fueron analizadas por dos examinadores calibrados (RM y CM). Se consideraron células inmunopositivas para PDPN aquellas que mostraron un patrón de inmunotinción citoplasmático y/o de membrana. En relación a la evaluación de la intensidad de la inmunotinción de PDPN epitelial, esta se clasificó en una escala estratificada entre el 0 al 3, siendo 0= negativo; 1= tinción débil; 2= tinción moderada; y 3= tinción intensa. Para la evaluación de la extensión de inmunotinción de PDPN epitelial en las muestras en estudio, se otorgaron porcentajes a las láminas teñidas, asignándoles cinco categorías, a saber: 0= células sin teñir; 1= 0 <10 %; 2= 10-50 %; 3=

51-80 %; 4= >80 %. Los datos resultantes fueron convertidos a la Puntuación de inmunoreactividad (Inmunoreactive Score- IRS-) multiplicando los puntajes de extensión e intensidad. los puntajes pueden fluctuar entre 0 al 12. Cada investigador categorizó los casos como una expresión fuertemente positiva (con un IRS entre 9-12), moderadamente positiva (IRS entre 4-8), débilmente positivo (IRS entre 2-3) o negativo (IRS entre 0-1) (Kaemmerer *et al.* 2012). Con respecto al análisis de la inmunotinción de PDPN en los vasos linfáticos, se definió un microvaso como una célula endotelial aislada o como un nido de células endoteliales positivas para PDPN , con o sin lumen y claramente separadas de los tejidos adyacente. Luego se observó la totalidad de la muestra bajo una magnificación de 40X (10x del lente ocular y 4x del lente objetivo) , en donde se identificó el campo con la mayor densidad de vasos linfáticos (hot spot) por cada muestra (Weidner *et al.*, 1991). Por cada hot spot se fotografiaron los 3 campos ópticos (CO) utilizando una cámara digital Micrometrics® modelo 518 CU de 5,1 megapíxeles incorporada al microscopio óptico, con una magnificación de 400x. Finalmente se realizó el conteo individual de los vasos linfáticos (área de examinación de 0.1885 mm²). La densidad media microvascular (DMV) de cada lámina teñida se determinó mediante el promedio de la cantidad de vasos de 3 campos ópticos como indica la siguiente fórmula, y se definió como el número de vasos por mm², DMV= (número de vasos en CO1+ número de vasos en CO2 + número de vasos en CO3)/ 3 (Oliveira-Neto *et al.*, 2012). Los análisis estadísticos y los gráficos fueron desarrollados en el software estadístico Stata 11.2. Se

aplicó el test de Shapiro-Wilk para determinar la distribución de los datos a estudiar. Si los datos presentaban una distribución normal, se aplicó test de ANOVA y cuando no presentaron distribución normal, se utilizaron los test de Mann-Whitney y Kruskal Wallis para comparar entre dos o más grupos, respectivamente. Las diferencias en las frecuencias serán comparadas utilizando chí-cuadrado. Los valores de P < 0,05 fueron considerados significativos.

RESULTADOS

Los datos demográficos de la muestra en estudio se resumen en la Tabla I. Con respecto al análisis de la expresión de inmunohistoquímica de PDPN epitelial de las muestras en estudio, la Tabla II muestra la puntuación de inmunoreactividad (IRS) destacando que las muestras de mucosa oral normal y displasia epitelial oral sólo mostraron un IRS de baja puntuación, a diferencia de lo que ocurrió con las muestras de CECO en donde aproximadamente un 60 % de estas se graduaron con un IRS de moderada a fuerte expresión. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas al comparar el grupo de CECO/MON (p= 0,0078) y CECO/DEO (p= 0, 0200), no así al comparar el grupo de DEO/MON (p= 0,6186) (Fig. 1). Con respecto a la densidad media vascular (DMV), se observó que los valores según diagnóstico estudiado, no presentaron diferencias significativas entre sí (p= 0,4273) (Fig. 2). Los resultados según diagnóstico se observan en la Tabla III. Finalmente, para

relacionar los valores de IRS de PDPN a nivel epitelial y la DMV de las muestras en estudio, se aplicó el test de Independencia de Spearman el cual determinó que no hay un grado de asociación entre ambas (p= 0,2056), por lo tanto, se puede concluir que las variables estudiadas son independientes entre ellas.

Tabla I. Datos demográficos.

Variable p	Diagnóstico		CECO	Total
	Mucosa oral normal	Displasia Epitelial		
Género				
0,321				
Masculino	14 (73,6 %)	09 (50 %)	11 (57,9 %)	34
Femenino	05 (26,3 %)	09 (50 %)	08 (42,1 %)	22
Edad				
0, 001				
<40	19 (100 %)	01 (5,5 %)	0 (0 %)	20
40-60	0 (0 %)	10 (55,5)	02 (10,5 %)	12
>60	0 (0 %)	07 (38,9 %)	17 (89,5)	24
Localización				
0,414				
Bajo riesgo	19 (100 %)	11 (61,1 %)	4 (73,7 %)	44
Alto riesgo	0 (0 %)	07 (38,9 %)	05 (26,3 %)	12
TOTAL	19 (100 %)	18 (100%)	19 (100%)	56

CECO: Carcinoma espinocelular oral.

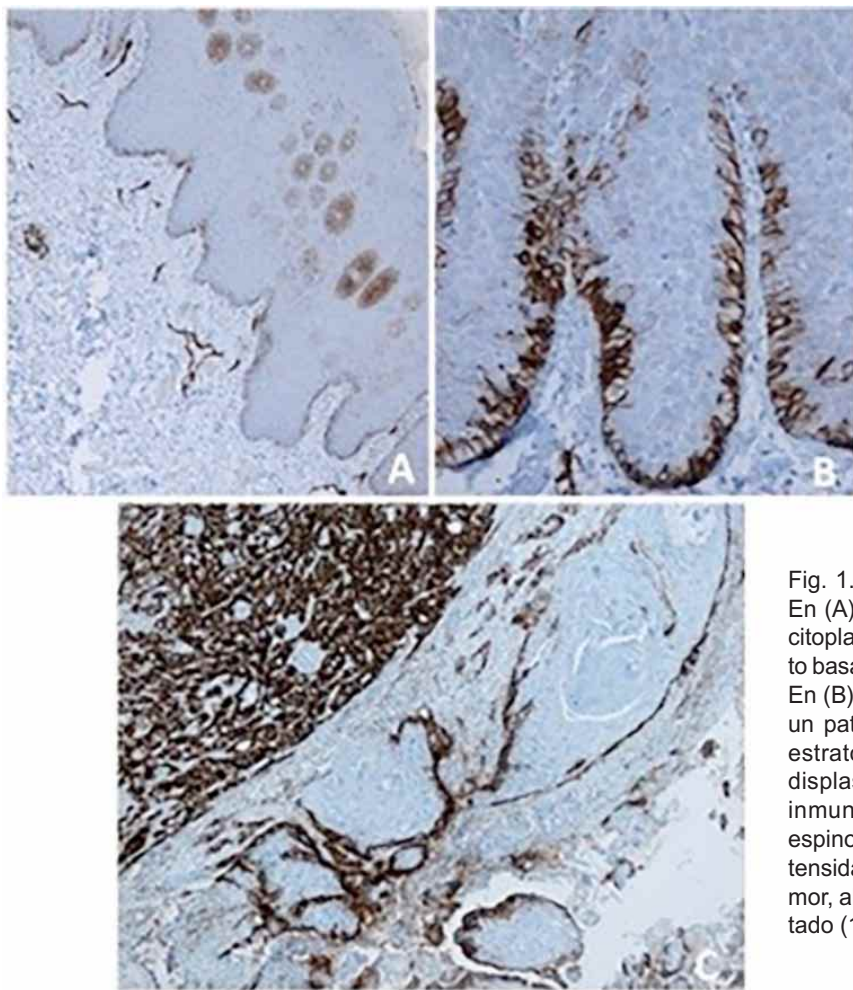


Fig. 1. Inmunotinción para Podoplanina epitelial. En (A) se observa un patrón mixto (membrana y citoplasmático) de inmunotinción a nivel del estrato basal del epitelio de mucosa oral normal (100X). En (B) se observa una inmunotinción intensa, con un patrón de membrana, la cual sólo abarca el estrato basal y parabasal en una muestra de displasia severa (400x). En (C) se observa la inmunotinción en una muestra de carcinoma espinocelular. El patrón de tinción es mixto, de intensidad severa y, en el frente de invasión del tumor, abarca casi todo el espesor del epitelio afectado (100X).

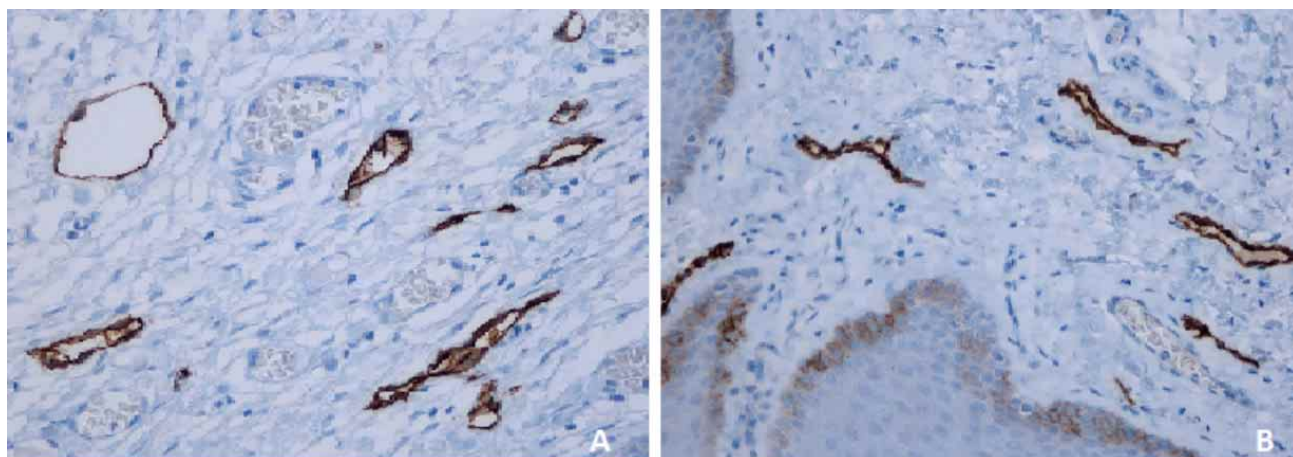


Fig. 2. (A): Inmunotinción para podoplanina en los vasos linfáticos del corión. En (A) se observa la inmunotinción en una muestra de displasia epitelial leve. Nótese que el marcador sólo es positivo en los vasos linfáticos y no en los vasos sanguíneos contiguos (400X). En (B) se observa la inmunotinción de patrón mixto (membrana y citoplasmático) a nivel del estrato basal del epitelio de mucosa oral normal y en los vasos linfáticos (400X).

Tabla II. Valores de IRS en muestras de mucosa oral normal, displasia epitelial y carcinoma espinocelular oral.

IRS	MON	DEO	CECO	Total
Negativo	09 (47,4 %)	06 (33,3 %)	01 (5,2 %)	16 (28,6 %)
Débilmente positivo	10 (52,6 %)	12 (66,6 %)	06 (31,5 %)	28 (50 %)
Moderadamente positivo	0 (0 %)	0 (0 %)	10 (52,6 %)	10 (17,9 %)
Fuertemente positivo	0 (0 %)	0 (0 %)	02 (10,5 %)	02 (3,6 %)
Total	19 (100%)	18 (100%)	19 (100%)	56

Expresión fuertemente positiva (con un IRS entre 9-12), moderadamente positiva (IRS entre 4-8), débilmente positivo (IRS entre 2-3) o negativo (IRS entre 0- 1) (Kaemmerer *et al.* 2012). MON (mucosa oral normal), DEO (displasia epitelial oral), CECO (carcinoma espinocelular oral).

Tabla III. Descripción de la densidad vascular linfática promedio, desviación estándar y mediana según diagnóstico.

Diagnóstico	DMV Promedio	Desviación estándar	Mediana
Mucosa oral normal (MON)	4,48	1,37	4,33
Displasia epitelial (DE)	4,11	1,83	3,83
Carcinoma espinocelular (CECO)	3,70	1,87	3,83

DISCUSIÓN

En el presente estudio se observó que la inmunotinción para PDPN en las células epiteliales fue positiva, en un patrón mixto (tinción membrana y citoplasmática), e independiente del diagnóstico, lo cual se puede deber a que la podoplanina es una proteína transmembrana (Inoue *et al.*; Preuss *et al.*, 2014; Martín-Villar *et al.*, 2015) o bien porque esta podría sufrir un proceso de translocación proteica, situación que ha sido descrita en otras moléculas que participan en el cáncer, como lo son el EGFR y PD-L1. Tanto la extensión como la intensidad de inmunoexpresión de PDPN epitelial fueron aumentando desde las muestras de MON a CECO, pasando por las de DEO. La expresión de PDPN en epitelios de mucosa oral ha sido descrita en los márgenes de lesiones potencialmente malignas así como también en los márgenes libres de tumor en relación a CECO (Margaritescu *et al.*, 2010). Atsumi *et al.* (2008) lo atribuyen a la presencia en este nivel de células epiteliales de reserva o células madre por lo que se propone que la PDPN es un marcador de células tumorales iniciadas con propiedades de células madre. En relación a la expresión de PDPN en displasias y CECO, nuestros hallazgos coinciden con la mayoría de los estudios reportados ya que como postularon Inoue *et al.*, Kawaguchi *et al.* y Feng *et al.* (2012), existe una relación positiva entre la expresión de PDPN epitelial y la presencia y

severidad de la displasia. Al evaluar la expresión epitelial de PDPN se obtuvo un valor de IRS menor en las muestras de MON, seguido por las muestras de displasias, mientras que los valores más altos los presentaron las muestras de CECO. Estas diferencias fueron significativas al comparar las muestras de CECO con MON y DEO, lo que nos permite suponer que esta proteína tendría un rol en la transformación maligna en etapas tardías de la carcinogénesis, y no tempranamente como lo han sugerido otros autores (Kawaguchi *et al.*; de Vicente *et al.*, 2013). No observamos diferencias en cuanto a estructura, distribución, aspecto y regularidad de los vasos linfáticos en el presente estudio. Esta observación difiere con lo observado por Longatto Filho *et al.* y Zhao *et al.* (2008) quienes caracterizaron los vasos linfáticos intratumorales de CECO como vasos de estructura desorganizada, lúmenes tortuosos, colapsados y de menor diámetro que los linfáticos peritumorales. Con respecto a la densidad media vascular (DMV) observamos que la mayor densidad se presentó en el grupo de MON, seguido por el de DEO y CECO. Nuestros resultados difieren de los de Margaritescu *et al.*, quienes observaron mediante un análisis morfométrico, que las áreas vasculares linfáticas aumentaban progresivamente desde el tejido mucoso oral normal hacia el tejido tumoral, pasando por estadios intermedios de lesio-

nes precancerosas. Nuestros hallazgos son inesperados si consideramos que a la luz del conocimiento actual, las neoplasias malignas como CECO requieren del desarrollo de una microvasculatura para poder crecer y metastatizar, migrando a sitios distantes al foco primario tumoral a través de nuevos vasos sanguíneos y linfáticos provenientes de vasos pre-existentes, los que aparecen en el tejido gracias a factores proangiogénicos liberados por las mismas células transformadas (Gomes *et al.*, 2013). Atribuimos estos resultados a factores asociados a los tipos de muestras con las que trabajamos (incisionales). En este trabajo quisimos conocer la relación entre la expresión de PDPN a nivel epitelial y a nivel de vasos linfáticos, para la cual se aplicó el test de asociación de Spearman, obteniendo que estas variables son independientes entre ellas, lo que quiere decir que la transición epitelial-mesenquimal, asociada a la mayor expresión de PDPN en las células neoplásicas epiteliales, es un fenómeno que ocurriría de manera independiente a la proliferación de vasos linfáticos. Sin embargo, no podemos dejar de reconocer que ambos fenómenos son necesarios para la progresión y metástasis tumoral.

MARÍN, M. C. ; MARTÍNEZ, F. R. ; GONZÁLEZ, A. W.; FERNÁNDEZ, M. A. & MARSHALL, B. M. Immunoexpression of podoplanin in normal oral mucosa, epithelial displasia and oral squamous cell carcinoma. *Int. J. Odontostomat.*, 11(3):311-317, 2017.

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the expression of Podoplanin (PDPN) in epithelium and lymphatic vessels in normal oral mucosa (NOM), oral epithelial displasia (OED) and oral squamous cell carcinoma (OSCC). A descriptive case study was carried out. Nineteen histological samples diagnosed with NOM, 18 diagnosed with OED and 19 with OSCC. Immunopositive cells for PDPN were those that presented membrane and/or cytoplasmic staining. A semi-quantitative analysis of the stained sections was made according to the immunoreactive score (IRS) for the extension and intensity of epithelial cells, while the evaluation of lymphangiogenesis was made through the calculation of the mean vascular density (MVD). The results indicated the higher IRS value was in OSCC followed by OED and lowest in NOM, with significant differences between OSCC/OED ($p= 0.0200$) and OSCC/NOM ($p= 0.0078$). No differences in MVD were found between the studied samples ($p= 0.4273$). Finally, the correlation between the value of epithelial IRS and MVD was analyzed through Spearman Independence test, which determined there was no statistically significant relationship between the studied variables ($p= 0.2056$). In conclusion, epithelial IRS value is greater in OSCC samples than OED and NOM. There was

no statistically significant difference in lymphatic MVD in the studied samples. There is no correlation between the epithelial PDPN expression and lymphatic MVD in OSCC and OED samples.

KEY WORDS: podoplanin, dysplasia, oral squamous carcinoma, malignant transformation, lymphatic vessels.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Astarita, J. L.; Acton, S. E. & Turley, S. J. Podoplanin: emerging functions in development, the immune system, and cancer. *Front. Immunol.*, 3:283, 2012.
- Atsumi, N.; Ishii, G.; Kojima, M.; Sanada, M.; Fujii, S. & Ochiai, A. Podoplanin, a novel marker of tumor-initiating cells in human squamous cell carcinoma A431. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 373(1):36-41, 2008.
- Barnes, L.; Eveson, J. W.; Reichart, P. & Sidransky, D. *Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours*. Lyon, World Health Organization Classification of Tumour, IARC Press, 2005. pp.163-75.
- de Vicente, J. C.; Rodrigo, J. P.; Rodriguez-Santamarta, T.; Lequerica-Fernández, P.; Allonca, E. & García-Pedrero, J. M. Podoplanin expression in oral leukoplakia: tumorigenic role. *Oral Oncol.*, 49(6):598-603, 2013.
- Feng, J. Q.; Mi, J. G.; Wu, L.; Ma, L. W.; Shi, L. J.; Yang, X.; Liu, W.; Zhang, C. P. & Zhou, Z. T. Expression of podoplanin and ABCG2 in oral erythroplakia correlate with oral cancer development. *Oral Oncol.*, 48(9):848-52, 2012.
- Gomes, F. G.; Nedel, F.; Alves, A. M.; Nör, J. E. & Tarquinio, S. B. Tumor angiogenesis and lymphangiogenesis: tumor/endothelial crosstalk and cellular/microenvironmental signaling mechanisms. *Life Sci.*, 92(2):101-7, 2013.
- Inoue, H.; Miyazaki, Y.; Kikuchi, K.; Yoshida, N.; Ide, F.; Ohmori, Y.; Tomomura, A.; Sakashita, H. & Kusama, K. Podoplanin expression during dysplasia-carcinoma sequence in the oral cavity. *Tumour Biol.*, 33(1):183-94, 2012.
- Juriscic, G. & Detmar, M. Lymphatic endothelium in health and disease. *Cell Tissue Res.*, 335(1):97-108, 2009.
- Kaemmerer, D.; Peter, L.; Lupp, A.; Schulz, S.; Sängler, J.; Baum, R. P.; Prasad, V. & Hommann, M. Comparing of IRS and Her2 as immunohistochemical scoring schemes in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, 5(3):187-94, 2012.
- Kawaguchi, H. ; El-Naggar, A. K.; Papadimitrakopoulou, V.; Ren, H.; Fan, Y. H.; Feng, L.; Lee, J. J.; Kim, E.; Hong, W. K.; Lippman, S. M. & Mao, L. Podoplanin: a novel marker for oral cancer risk in patients with oral premalignancy. *J. Clin. Oncol.*, 26(3):354-60, 2008.
- Longatto Filho, A.; Oliveira, T. G.; Pinheiro, C.; de Carvalho, M. B.; Curioni, O. A.; Mercante, A. M.; Schmitt, F. C. & Gattás, G. J. How useful is the assessment of lymphatic vascular density in oral carcinoma prognosis? *World J. Surg. Oncol.*, 5:140, 2007.
- Margaritescu, C.; Raica, M.; Pirici, D.; Simionescu, C.; Mogoanta, L.; Stinga, A. C.; Stinga, A. S. & Ribatti, D. Podoplanin expression in tumor-free resection margins of oral squamous cell carcinomas: an immunohistochemical and fractal analysis study. *Histol. Histopathol.*, 25(6):701-11, 2010.
- Martin-Villar, E.; Borda-d'Agua, B.; Carrasco-Ramirez, P.; Renart, J.; Parsons, M.; Quintanilla, M. & Jones, G. E. Podoplanin

- mediates ECM degradation by squamous carcinoma cells through control of invadopodia stability. *Oncogene*, 34(34):4531-44, 2015.
- Oliveira-Neto, H. H.; Gleber-Netto, F. O.; de Sousa, S. F.; França, C. M.; Aguiar, M. C.; Silva, T. A. & Batista, A. C. A comparative study of microvessel density in squamous cell carcinoma of the oral cavity and lip. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.*, 113(3):391-8, 2012.
- Preuss, S. F.; Anagiotos, A.; Seuthe, I. M.; Drebber, U.; Wedemeyer, I.; Kreppel, M.; Semrau, R.; Eslick, G. D.; Klussmann, J. P. & Huebbers, C. U. Expression of podoplanin and prognosis in oropharyngeal cancer. *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.*, 272(7):1749-54, 2014.
- Riera, S. P. & Martínez, R. B. Morbidity and mortality for oral and pharyngeal cancer in Chile. *Rev. Med. Chile*, 133(5):555-63, 2005.
- Siegel, R. L.; Miller, K. D. & Jemal, A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J. Clin.*, 66(1):7-30, 2016.
- Swain, N.; Kumar, S. V.; Routray, S.; Pathak, J. & Patel, S. Podoplanin--a novel marker in oral carcinogenesis. *Tumour Biol.*, 35(9):8407-13, 2014.
- Weidner, N.; Semple, J. P.; Welch, W. R. & Folkman, J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *N. Engl. J. Med.*, 324(1):1-8, 1991.
- Zhao, D.; Pan, J.; Li, X. Q.; Wang, X. Y.; Tang, C. & Xuan, M. Intratumoral lymphangiogenesis in oral squamous cell carcinoma and its clinicopathological significance. *J. Oral Pathol. Med.*, 37(10):616-25, 2008.

Dirección de correspondencia:

Constanza Marín M, DDS
Departamento de Patología y Medicina Oral, Facultad de Odontología.
Universidad Andres Bello
Avenida Valparaíso 1560
Viña del Mar
CHILE

E-mail: conymmharrison@gmail.com

Recibido : 10-05-2017

Aceptado: 09-06-2017