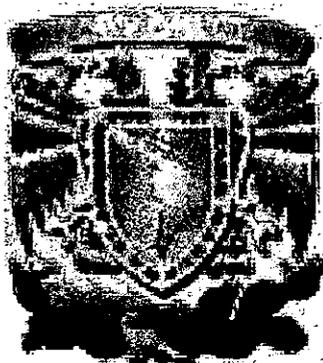


137
2 ej.



UNAM

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

**INMUNOEXPRESION DE p53 Y bcl-2 EN
PAPILOMA, VERRUGA VULGAR, QUERATOSIS,
DISPLASIA EPITELIAL Y CARCINOMA
EPIDERMOIDE DE CAVIDAD BUCAL.**

TESIS DE LICENCIATURA PARA OBTENER EL TITULO DE:

CIRUJANO DENTISTA

*UoBO
[Signature]*

ALUMNA: Angélica Sentíes Sanz Cerrada.

TUTORA: Dra. Elba Rosa Leyva Huerta.

274292

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1999



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 el apoyo para la realización de ésta tesis a:

La Dra. Claudia de Leon

La Dra. Beatriz C. Aldape Barrios

A mi tutora y amiga

Al químico Celedonio

A Teo

A mis amigas Marcela, Ivonne, Arith, Ale y Arisbeth

Se la dedico a la memoria de mi Madre que la quiero mucho, a mi padre un hombre maravilloso, a mis hermanos y cuñados, a mis tíos favoritos y a dos seres que adoro Pamela y Karina

INMUNOEXPRESIÓN DE p53 Y bcl-2 EN PAPILOMA, VERRUGA VULGAR, QUERATOSIS, DISPLASIA EPITELIAL Y CARCINOMA EPIDERMOIDE DE CAVIDAD BUCAL

INDICE	PAGINA
* Resumen	1
* Introducción	2
* Antecedentes	3
Mucosa bucal	3
Estructura histológica de la mucosa	4
- Submucosa	4
- Lámina propia	4
- Epitelio	5
Subdivisiones de la mucosa bucal	8
- Areas queratinizadas	8
Mucosa masticatoria	8
- Areas no queratinizadas	9
Mucosa de revestimiento	9
Mucosa especializada	10
Lesiones benignas de epitelio	11
Papiloma y verruga vulgar bucal	12
- Etiología	12
- Características clínicas	13
- Características histológicas	13
- Diagnóstico diferencial	14
Lesiones premalignas de epitelio	14
Leucoplasia	14
- Etiología	15
- Características clínicas	15
- Características histológicas	16
- Parámetros de displasia	16
- Diagnóstico diferencial	17
Lesiones malignas de epitelio	17
Carcinoma epidermoide	17
- Factores asociados y etiología	17
- Características clínicas	18
- Características histológicas	19
- Clasificación de Jakobsson	20
- Diagnóstico diferencial	21

	PAGINA
Carcinogénesis y Patogenia del cáncer	22
Ciclo celular	26
Oncogenes y antioncogenes	29
- Clasificación de oncogenes celulares	30
p53 estructura y función	33
p53 en lesiones benignas, premalignas y malignas de epitelio	36
bcl-2 estructura y función	38
bcl-2 en lesiones benignas, premalignas y malignas de epitelio	40
* Planteamiento del problema	43
* Justificación	43
* Hipótesis	43
* Objetivos	44
* Universo de estudio	44
- Diseño de estudio	44
- Material y métodos	45
- Metodología	46
- Técnica inmunohistoquímica	47
* Resultados	48
* Discusión	77
* Conclusión	80
* Bibliografía	81

INDICE DE TABLAS

PAGINA

Tabla 1. Gradificación histológica de acuerdo a los criterios de Jackobsson.	50
Tabla 2. Inmunoexpresión de p53 en lesiones benignas por caso.	54
Tabla 3. Inmunoexpresión de p53 en papiloma, verruga vulgar y queratosis.	55
Tabla 4. Inmunoexpresión de p53 en lesiones premalignas por caso.	55
Tabla 5. Inmunoexpresión de p53 en displasia leve, moderada y severa.	56
Tabla 6. Inmunoexpresión de p53 en lesiones malignas por caso.	57
Tabla 7. Inmunoexpresión de p53 en carcinoma epidermoide de bajo, intermedio y alto grado de malignidad.	58
Tabla 8. Inmunoexpresión de bcl-2 en lesiones benignas por caso.	59
Tabla 9. Inmunoexpresión de bcl-2 en papiloma, verruga y queratosis.	60
Tabla 10. Inmunoexpresión de bcl-2 en lesiones premalignas por caso.	61
Tabla 11. Inmunoexpresión de bcl-2 en carcinoma epidermoide de bajo, intermedio y alto grado de malignidad.	62
Tabla 12. Inmunoexpresión de p53 y bcl-2.	62
Tabla 13. Coeficiente de correlación de Spearman aplicado a p53 y Jackobsson.	73
Tabla 14. Coeficiente de correlación de Spearman aplicado a bcl-2 y Jackobsson.	74
Tabla 15. Coeficiente de correlación de Spearman aplicado a p53 y bcl-2.	75

INDICE DE FIGURAS	PAGINA
Figura 1. Carcinogénesis y patogenia del cáncer.	25
Figura 2. Ciclo celular.	28
Figura 3. Inestabilidad genética por daño celular.	32
Figura 4. Expresión de p53 y bcl-2 en carcinoma epidermoide a microscopio de luz, 40X.	48
Figura 5. Papiloma 40X, histológica.	63
Figura 6. Verruga vulgar 20X, histológica.	64
Figura 7. Queratosis 20X, histológica.	65
Figura 8. Displasia leve 40X, histológica.	67
Figura 9. Displasia severa 40X, histológica.	68
Figura 10. Carcinoma epidermoide 40X, histológica.	70
Figura 11. Carcinoma epidermoide 40X, histológica.	71

INDICE DE GRAFICAS

PAGINAS

Gráfica 1. Expresión de p53 y bcl-2 en lesiones benignas	66
Gráfica 2. Expresión de p53 y bcl-2 en lesiones premalignas	69
Gráfica 3. Expresión de p53 y bcl-2 en lesiones malignas	72

RESUMEN

p53 es un regulador del crecimiento y proliferación celular normal, el cual cuando es alterado por una mutación favorece la proliferación celular anormal y altera el mecanismo de apoptosis; bcl-2 que se encuentra en los tejidos en condiciones normales, favorece el mecanismo apoptótico, el cual disminuye en las lesiones malignas, considerándose que existe un factor antiapoptótico en los tumores malignos que favorece la falta de muerte celular. El objetivo fue evaluar la inmunexpresión de p53 y bcl-2 en papiloma, verruga vulgar, queratosis y carcinoma epidermoide de cavidad bucal. Utilizando los anticuerpos p53 proteína (DO) monoclonal (NCL-p53-DO7) y bcl-2 monoclonal (NCL-bcl-2) los que se administraron a 34 casos del archivo del laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la DEPeI de la FO UNAM.

Los resultados obtenidos en la expresión de p53 fueron en promedio: En el papiloma 0.08 células positivas, $sd \pm .09$, en la verruga .35, $sd \pm .38$, en la queratosis 4.06, $sd \pm .93$, en las displasias, la leve 4.8, $sd \pm 5.28$, la moderada fue negativa y la severa 3.3, $sd \pm 3.3$; en el carcinoma epidermoide los de bajo grado 59.4, $sd \pm 55.74$, los de grado intermedio 51.3, $sd \pm 32.4$ y los de alto grado 30.20, $sd \pm 10.48$. Con bcl-2 obtuvimos en el papiloma 5.76 células positivas, $sd \pm 5.76$, en la verruga 2.46, $sd \pm 2.46$, en la queratosis 2.08, $sd \pm 1.18$, en las 5 displasias no hubo expresión; en el carcinoma epidermoide de bajo grado .5, $sd \pm .49$, en los de grado intermedio 5.69, $sd \pm 5.22$ y en los de alto grado no hubo expresión. De acuerdo a los resultados obtenidos concluimos que: cuando la expresión de p53 aumenta la de bcl-2 disminuye o está ausente en las lesiones premalignas y malignas; pero en las lesiones benignas hubo más expresión de bcl-2 que de p53 en la mayoría de los casos.

En base al análisis estadístico obtuvimos que: de acuerdo al coeficiente de correlación aplicado a p53 y Jakobsson no existe correlación entre ambos datos. El resultado del coeficiente de correlación entre bcl-2 y Jakobsson indica que existe una correlación entre la proteína y los criterios de malignidad. En cuanto al coeficiente de correlación entre p53 y bcl-2 resultó que sí se correlacionan. Con un nivel de confiabilidad de $p = 0.05$.

INTRODUCCION

El cáncer es una enfermedad determinada genéticamente en donde se ven afectados los mecanismos en la proliferación, diferenciación y muerte celular programada o apoptosis; aspectos poco entendidos de la biología celular.

Las mutaciones ocurridas a p53 y bcl-2 están comúnmente relacionadas con las alteraciones que se presentan en el epitelio. Describiéndose en la literatura que mutaciones del gen p53 se presentan con mayor frecuencia en las lesiones malignas y premalignas que en las benignas a diferencia del gen bcl-2 que no se presenta en las malignas ya que en éstas no hay muerte celular y que si se llega a expresar, está afectada por una mutación y por lo tanto no regula adecuadamente la apoptosis.

La relación inversamente proporcional entre p53 y bcl-2 se ha documentado en base a diferentes estudios que demuestran que p53 se encuentra en la mayoría de los tumores en el ser humano y que la mutación de bcl-2 puede ser causante de la falta de muerte celular, la cual en condiciones normales sería un regulador positivo para que las células neoplásicas murieran y no hubiera desarrollo de tumores. Una forma de evaluar la presencia de ambas proteínas es por medio de la aplicación de anticuerpos a los tejidos que presentan éstas lesiones y a su evaluación por medio de microscopía de luz.

El presente trabajo se realizó con el fin de evaluar la inmunoexpresión de p53 y bcl-2 tanto en lesiones benignas como premalignas y malignas de la cavidad bucal con la finalidad de poder demostrar bajo nuestras condiciones si existe expresión de éstas dos proteínas y si guardaban relación con el crecimiento, proliferación y diferenciación de células normales. Las lesiones benignas en este estudio fueron: Papilomas, verrugas y queratosis, dentro de las premalignas tomamos las displasias y como malignas el carcinoma epidermoide. El motivo por el cual las seleccionamos fue debido a que el carcinoma epidermoide es el tumor maligno más frecuente en la cavidad bucal y que las displasias tienden a progresar a malignas con el tiempo.

Nuestro interés al realizar el estudio fue, aparte de lo mencionado, la importancia de capacitarnos en un aspecto de la odontología que en ocasiones pasa desapercibido tanto para estudiantes como para cirujanos dentistas que es el estudio de las lesiones de la mucosa bucal.

ANTECEDENTES

MUCOSA BUCAL

La cavidad bucal es una cavidad compleja e irregular limitada por seis paredes revestidas por mucosa cuyas características particulares están adaptadas a las funciones de masticación, deglución, y degustación. Las paredes son: hacia delante los labios, hacia atrás el velo del paladar, lateralmente los carrillos, hacia abajo el piso de la boca y hacia arriba el paladar ^{1,2}.

En general las cavidades orgánicas, como la cavidad bucal, que se comunican con el exterior están tapizadas por membranas mucosas, que se hallan cubiertas por secreciones serosas y mucosas. La superficie de la cavidad bucal es una membrana mucosa y se divide en tres tipos principales ^{1,2}:

- 1.- Mucosa masticatoria (encía y bóveda palatina).
- 2.- Mucosa de revestimiento o de reflexión (labios, carrillos, fórnix vestibular, mucosa alveolar, piso de boca y velo del paladar).
- 3.- Mucosa especializada(dorso de la lengua y botones o yemas gustativos).

La mucosa masticatoria suele ser fija al hueso y no experimenta estiramiento. Soporta las fuerzas generadas cuando se mastica alimento. La mucosa de revestimiento no está expuesta a dichas fuerzas, sin embargo, cubre la musculatura y es distensible, adaptándose a la contracción y relajación de los carrillos, labios y lengua y a los movimientos del maxilar inferior producidos por los músculos de la masticación. La mucosa especializada (sensitiva) recibe este nombre porque aloja a los botones gustativos, que tienen función sensitiva ^{1,2}.

ESTRUCTURA HISTOLOGICA DE LA MUCOSA BUCAL

La mucosa bucal está formada por dos capas: epitelio y tejido conectivo; conocido también como lámina propia, entre éstas dos capas se encuentra la submucosa ^{1,2}.

SUBMUCOSA

Está constituida por tejido conjuntivo de espesor y densidad variable. Adhiere la membrana mucosa a las estructuras subyacentes. Esta inserción es laxa o firme según el carácter de la submucosa. En ésta capa se encuentran glándulas, vasos sanguíneos, nervios, así como tejido adiposo. En la submucosa es donde las grandes arterias se dividen en ramas pequeñas, que penetran en la lámina propia y vuelven a dividirse para formar una red capilar subepitelial. Las venas que se originan en la red capilar vuelven siguiendo el recorrido de las arterias. Los vasos sanguíneos están acompañados por una red de vasos linfáticos. Los nervios sensitivos de la membrana mucosa suelen más numerosos hacia la parte anterior de la boca ^{1,2}.

Algunas de las fibras penetran en el epitelio, donde terminan entre las células epiteliales como terminaciones nerviosas libres. Los vasos sanguíneos están acompañados por fibras nerviosas autónomas amielínicas que inervan al músculo liso. Otras fibras del mismo tipo van a inervar a las glándulas ^{1,2}.

Considerada la submucosa como una capa aparte, separada y bien definida, ésta puede existir o no. La laxitud o densidad de su estructura determina que la membrana esté adherida con movilidad o no a las capas más profundas. Se puede observar la presencia o falta del tejido adiposo o glándulas en ella según su localización ^{1,2}.

LAMINA PROPIA

Tejido conectivo de espesor variable que confiere sostén y nutrición al epitelio. Está dividida en dos partes: una papilar y una reticular. La porción papilar se denomina así por las papilas coriales que posee, la reticular debe su nombre a la fibras reticulares. Dado que existen considerables variaciones de longitud y ancho de la papilas en diferentes regiones, la porción papilar también tiene una profundidad variable. Una parte de la lámina propia subyacente a la membrana basal puede ser diferenciada del tejido conectivo porque tiene la propiedad de captar más intensamente la coloración argéntica ^{1,2}.

Esta porción al igual que la papilar, contiene fibras reticulares. Las dos porciones forman un continuo y se utilizan para describir ésta región de diferentes maneras. La zona reticular siempre existe, mientras que la papilar puede faltar en algunas áreas tales como la mucosa alveolar, cuando las hay son muy cortas o no existen en lo absoluto. La disposición entrelazada de las papilas del tejido conectivo y las crestas epiteliales, aún las ondulaciones y proyecciones más finas que se encuentran en la base de la célula epitelial, aumentan el área de contacto entre la lámina propia y epitelio. Este facilita el intercambio de materiales entre el epitelio y los vasos sanguíneos del tejido conectivo. La lámina propia puede adherirse al periostio del hueso alveolar, o recubrir la submucosa ^{1,2}.

EPITELIO

El epitelio de la mucosa bucal es de tipo pavimentoso estratificado, puede ser queratinizado, paraqueratinizado o no queratinizado, según su localización. En el humano el epitelio de la encía y de la bóveda palatina (mucosa masticatoria) es queratinizado. El epitelio de los carrillos, el istmo de las fauces y área sublingual son normalmente no queratinizados ^{1,2}.

El epitelio bucal tiene 4 capas o estratos celulares: basal, espinoso, granuloso y córneo. La capa basal está formada por células que sintetizan ADN y experimentan mitosis, proporcionando así nuevas células. La mayoría de las células nuevas son generadas en la capa basal por lo que se denomina también capa germinativa. Estas células forman una capa única de células cúbicas o cúbicas altas, con prolongaciones protoplasmáticas que se proyectan desde su superficie basal hacia el tejido conectivo. En la superficie basal se encuentran estructuras especializadas, denominadas hemidesmosomas, que terminan en la lámina basal. Están formadas por una única placa de inserción, la membrana plasmática adyacente y una estructura extracelular asociada que parece adherir el epitelio al tejido conectivo. La lámina basal está compuesta por una zona clara (lámina lúcida) justamente debajo de las células epiteliales y una zona oscura (lámina densa) más allá de la lámina lúcida y adyacente al tejido conectivo ^{1,2}.

Los bordes laterales de la células basales adyacentes están en íntima aposición y conectadas por desmosomas, los cuales contienen tonofilamentos, que corren hacia las placas de inserción y están unidos a ellas, existen otros tipos de uniones celulares como las uniones estrechas, próximas y de espacio ^{1,2}.

La capa o estrato espinoso está constituido por células de forma poliédrica irregular y más grandes que las células basales denominadas células espinosas, están unidas por puentes intercelulares que contienen desmosomas y las tonofibrillas que son haces de tonofilamentos. La red de tonofilamentos y los desmosomas forman un sistema de sostén tensil para el epitelio. Esta capa es la más activa en la síntesis de proteínas ^{1,2}.

La capa que sigue es el estrato granular que contiene células planas y más anchas, tienen mayor tamaño que las células espinosas. Se le denomina estrato granuloso por la presencia de gránulos de queratohialina basófilos. Los núcleos de sus células muestran signos de picnosis (condensación del material genético) y degeneración, todavía se sintetizan algunas proteínas. Los tonofilamentos son más densos en cantidad y se ven asociados con gránulos de queratohialina. Un papel del gránulo de queratohialina es suministrar un precursor de una matriz estabilizante y orientadora de los filamentos de las queratinas epidérmicas. Las superficies celulares se tornan más regulares y están unidas más íntimamente a las superficies celulares adyacentes. La unidad interna de la membrana celular aumenta de grosor. La membrana engrosada contiene proteínas ricas en azufre, estabilizadas por enlaces transversales covalentes formando así una estructura muy resistente ^{1,2}.

El estrato córneo está formado por escamas queratinizadas, sus células son más planas que las granulosas. Aquí los núcleos y otros organoides como los ribosomas y mitocondrias han desaparecido. La capa es acidófila y amorfa desde el punto de vista histológico. Los gránulos de queratohialina han desaparecido. Las células de la capa córnea están compuestas por filamentos agrupados en forma compacta que se forman a partir de tonofilamentos, alterados y recubiertos por la proteína básica del gránulo de queratohialina. Los gránulos contienen dos tipos de proteína, una es rica en azufre y puede desempeñar algún papel en el engrosamiento de la unidad interna de la membrana celular. La otra es rica en el aminoácido histidina ^{1,2}.

Los cuerpos de Odland, que también se denominan queratinosomas o gránulos de revestimiento de membrana, son pequeños organoides que se encuentran en las células granulosas más profundas, vuelcan su contenido en el espacio intercelular, lo que contribuye a la barrera de permeabilidad.

Estos gránulos desaparecen a medida que la célula se desplaza en sentido ascendente hacia el estrato córneo. La unidad interna de la membrana se hace más gruesa al mismo tiempo y se encuentra en el espacio intercelular una estructura laminar semejante a la del gránulo, recubierto de membrana, estas estructuras son la causa del engrosamiento de la membrana que tiene lugar durante la queratinización. Estos fenómenos pueden atribuirse a los cuerpos de Odland. En el epitelio oral no queratinizante se forma un organoide parecido. Las células epiteliales que queratinizan se denominan queratocitos o queratinocitos. Los queratinocitos aumentan el volumen en cada capa sucesiva, desde la basal a la granulosa. Los epitelios no queratinizantes se diferencian de los epitelios queratinizantes fundamentalmente porque no producen la capa córnea ^{1,2}.

Las células basales de ambos tipos son similares. Las células del estrato intermedio son más grandes que las del estrato espinoso. El espacio intercelular no es obvio ni está distendido y por eso las células no tienen aspecto espinoso. Estas están adheridas por desmosomas y otras uniones, y sus superficies celulares se hallan adosadas más íntimamente que las células espinosas. No existe estrato granuloso ni córneo. En la superficie se encuentran células nucleadas que se descaman. Los tres tipos de capas superficiales epiteliales de la mucosa bucal que resultan de las diferentes queratinizaciones son ^{1,2} :

- 1.- Queratinización: En la cual las células superficiales forman escamas de queratina y pierden sus núcleos. Existe un estrato granuloso.
- 2.- Paraqueratinización: Las células superficiales retienen sus núcleos picnóticos y muestran algunos signos de queratinización; sin embargo falta en general el estrato granuloso.
- 3.- No queratinizado: En la cual las células superficiales son nucleadas y no muestran signos de queratinización.

En la ortoqueratinización se forman escamas queratinizadas, tal como se describió. En la paraqueratinización las células conservan sus núcleos picnóticos y condensados y otros organoides celulares parcialmente lisados hasta que se descaman. El epitelio bucal además contiene melanocitos, células de Langerhans, células de Meckel y diversos leucocitos ^{1,2}.

SUBDIVISIONES DE LA MUCOSA BUCAL ^{1,2}

AREAS QUERATINIZADAS

Mucosa masticatoria (encía y bóveda palatina)

- * Bóveda palatina
- * Encía
- * Borde rojo o libre del labio

AREAS NO QUERATINIZADAS

Mucosa de revestimiento

- * Labio y mejilla
- * Fórnix vestibular y mucosa alveolar
- * Cara ventral de la lengua, piso de la cavidad
- * Velo del paladar

Mucosa especializada

- * Mucosa dorsal lingual
- * Botones gustativos

AREAS QUERATINIZADAS

MUCOSA MASTICATORIA

La membrana mucosa de la bóveda palatina está fija firmemente al periostio subyacente, no tiene movilidad, tiene un color rosado. El epitelio es uniforme con una superficie bastante queratinizada. La lámina propia es más gruesa en las partes anteriores del paladar que en las posteriores y presenta numerosas papilas coriales largas. Diversas regiones de la bóveda palatina son diferentes, tiene una capa de submucosa bien definida, pero debajo del rafé palatino no hay. La lámina propia se fusiona con el periostio. La membrana mucosa está adherida en forma inmóvil al periostio de los huesos maxilares y palatinos. Esta inserción está formada por densas bandas y trabéculas de tejido conectivo fibroso que unen la lámina propia de la membrana mucosa al periostio. El espacio submucoso está ocupado por tejido adiposo en la parte anterior y por glándulas en la parte posterior ^{1,2}.

En la unión de la apófisis alveolar y la tabla horizontal del paladar duro corren los vasos y nervios palatinos anteriores, rodeados por tejido conectivo laxo. Esta región en forma de cuña es amplia en la parte posterior del paladar y más pequeña en la parte anterior ^{1,2}.

La encía se extiende desde el límite dentogingival hasta la mucosa alveolar, está sujeta a fricción y presión durante el proceso de masticación, compuesta por un epitelio pavimentoso estratificado queratinizado o no, con frecuencia es paraqueratinizado. El epitelio cubre una lámina propia compacta, está limitada por la unión mucogingival, que la separa de la mucosa alveolar. Es de color rojo y contiene numerosos vasos sanguíneos de pequeño calibre, próximos a la superficie. ^{1,2} .

La lámina propia de la encía está compuesta por un tejido conectivo compacto que no contiene vasos de gran calibre. Un pequeño número de linfocitos, células plasmáticas y macrófagos se encuentran en el tejido conectivo de la encía normal subyacente al surco e intervienen en su defensa y reparación. Las papilas del tejido conectivo son largas, delgadas, y numerosas. La presencia de éstas papilas altas facilita la diferenciación histológica de la encía y la mucosa alveolar, en la cual las papilas son muy bajas ^{1,2} .

El color de la encía depende de la superficie queratinizada, del espesor del epitelio y a la pigmentación. La melanina puede dar un tono negrozco, es almacenada por las células basales en forma de melanosomas y elaborada por los melanocitos de la capa basal, se les denomina células claras o dendríticas. La encía es paraqueratinizada en un 75%, queratinizada en un 15% y no queratinizada en un 10% ^{1,2} .

AREAS NO QUERATINIZADAS

MUCOSA DE REVESTIMIENTO

Esta mucosa se encuentra en el labio, carrillo, fórnix vestibular y mucosa alveolar. Se caracterizan por un epitelio no queratinizado relativamente grueso y una lámina propia delgada. Las diferentes zonas de la mucosa de revestimiento varían entre sí por la estructura de su submucosa. Donde la mucosa de revestimiento hace reflexión en los labios, carrillos y lengua hacia el hueso alveolar, la submucosa tiene una contextura laxa. La mucosa de reflexión que se encuentra en el fórnix vestibular y en el surco sublingual en el piso de la cavidad bucal tiene una submucosa laxa y de considerable volumen. Está adherida con movilidad a las estructuras profundas y no limita el movimiento de los labios, mejillas y lengua. Donde la mucosa cubre al músculo, como en los labios, mejillas y piso de boca, está fija al epimisio o aponeurósis, en éstas regiones la mucosa es muy depresible ^{1,2} .

MUCOSA ESPECIALIZADA

La mucosa lingual dorsal es áspera e irregular. Una línea en forma de V la divide en una parte anterior, o cuerpo y una parte posterior o base. La primera comprende aproximadamente dos tercios de la longitud del órgano, y la última forma el tercio posterior. El cuerpo y la base de la lengua difieren considerablemente en cuanto a la estructura de la membrana mucosa. Podemos denominar porción papilar a la parte anterior y porción linfática a la posterior de la mucosa dorsolingual ^{1,2}.

En la parte anterior se encuentran numerosas papilas en forma de cono, agudas, que le dan un aspecto aterciopelado. Estas proyecciones llamadas papilas filiformes, son estructuras epiteliales que contienen un centro de tejido conectivo del cual sobresalen hacia el epitelio las papilas secundarias. El epitelio que las recubre es queratinizado y forma penachos en el ápice de la papila dérmica. Las papilas filiformes no contienen botones gustativos.

Entremezcladas entre las papilas filiformes se encuentran las papilas fungiformes que son prominencias redondas y rojizas, contienen de uno a tres botones gustativos ^{1,2}.

Por delante de surco terminal divisorio en forma de V, entre el cuerpo y la raíz de la lengua, se encuentran de 8 a 10 papilas caliciformes o circunvaladas. No sobresalen de la superficie de la lengua, sino que están limitadas por un profundo surco circular de manera que su única conexión con el cuerpo de la lengua está en su base angosta. Su superficie libre muestra numerosas papilas secundarias cubiertas por un epitelio delgado y liso. En la superficie lateral de las papilas circunvaladas, el epitelio contiene numerosos botones gustativos. Los conductos de pequeñas glándulas serosas denominadas de Von Ebner desembocan en el orificio. En el borde lateral de las partes posteriores de la lengua, pueden observarse a menudo surcos paralelos de longitud variable formados por pliegues de la mucosa lingual y en los que se encuentran papilas foliadas rudimentarias con botones gustativos ^{1,2}.

Los botones gustativos son pequeños órganos epiteliales de forma ovoide o de tonel. Se extienden desde la lámina basal hasta la superficie del epitelio. Su superficie externa está cubierta casi por completo por unas pocas células epiteliales planas, que rodean a un pequeño orificio, el poro gustativo. Las células de sostén externas están dispuestas como las maderas en un tonel.

Las internas y más cortas tienen forma de huso y entre ellas se encuentran de 10 a 12 células neuroepiteliales que son receptores de los estímulos gustativos. Un rico plexo nervioso se encuentra debajo de los botones gustativos ^{1,2}.

Al ser el epitelio la mayor constituyente de los tejidos de la cavidad bucal, las lesiones que se presentan más comúnmente son las epiteliales las cuáles incluyen lesiones benignas, premalignas y malignas, por lo cual la mucosa bucal debe ser evaluada para detectar este tipo de lesiones; ya que estas pueden ser diagnosticadas tempranamente por medio de la inspección y palpación. La evaluación de sí los cambios representativos en el epitelio son hiperplasias, respuestas inflamatorias, condiciones precancerosas o estadios tempranos de un carcinoma, siempre deben de corroborarse con un estudio histológico del tejido obtenido a través de biopsias ¹³.

LESIONES BENIGNAS DE EPITELIO

Neoplasia significa, literalmente *"nuevo crecimiento"*. Uno de los principales problemas de la práctica de la Patología consiste en diferenciar los tumores benignos de los malignos, con las consiguientes implicaciones que ello conlleva sobre su probable comportamiento clínico. El eminente oncólogo británico Sir Rupert Willis menciona que *"una neoplasia es una masa anormal de tejido, con un crecimiento que sobrepasa al de los tejidos normales y no se halla coordinado con él y que persiste con el mismo carácter excesivo una vez concluido el estímulo que provocó el cambio"* ³.

Todos los tumores tanto benignos como malignos tienen dos componentes característicos *un parénquima* constituido por las células neoplásicas proliferantes y *un estroma* de sostén, constituido por tejido conectivo y vasos sanguíneos. El sufijo *"oma"* se aplica a las neoplasias benignas y las de origen epitelial se clasifican de varias formas, de acuerdo a la célula de origen, a su arquitectura microscópica y a sus patrones de crecimiento. Las que crecen micro o macroscópicamente en forma de estructuras semejantes a dedos de guante que protruyen hacia la superficie, son denominadas *exofíticas* y los términos utilizados para describir éste tipo de lesiones son: *papilomatosas, verrucosas, papulares, nodulares, en forma de domo, poliploide y boselada*. Como regla general las lesiones con forma papilomatosa o verrucosa se originan en la superficie epitelial ⁸.

En general los tumores benignos están bien diferenciados y sus células se parecen a aquellas de las que se han originado, crecen de forma lenta, en ocasiones autolimitantes, formando masas cohesivas y expansivas que permanecen localizadas en su lugar de origen y que no tienen la capacidad de infiltrar o metastatizar a lugares lejanos como lo lleva a cabo el tumor maligno debido a que no son lesiones encapsuladas ³.

PAPILOMA Y VERRUGA VULGAR BUCAL

Este tipo de lesiones representan un crecimiento epitelial y el término "*papiloma escamoso bucal*" se utiliza de modo genérico para denominar *crecimientos papilares y verrucosos benignos*, compuestos de epitelio y pequeñas cantidades de tejido conectivo. El papiloma es el más frecuente de las lesiones de la mucosa bucal correspondiéndole un 2.5% de todas las lesiones bucales. Los papilomas se relacionan de modo etiológico con la verruga vulgar ya que se asocian con el mismo subtipo de virus del papiloma humano (VPH). La verruga vulgar es una lesión frecuente de piel, análogo al papiloma bucal, se ha encontrado en la piel, bermellón del labio, y menos frecuentemente en la mucosa labial o bucal y en la lengua ³⁻¹¹.

ETIOLOGÍA

El agente causal de los papilomas y las verrugas es un miembro de la familia de los papovirus que se denomina papilomavirus humano que es un virus ADN que contiene una sola molécula con doble hélice. Las diferentes especies o subtipos sobre todo la 16 y 18 se relacionan con las alteraciones neoplásicas del epitelio escamoso, también se ha encontrado que los subtipos, 2,4,6,7,11,13,30,32,40 y 57 relacionadas con lesiones del epitelio escamoso bucal. Las fases de infección se inician al unirse el virus a la membrana plasmática para luego penetrar al citoplasma mediante pinocitosis o fusión con dicha membrana, luego el virus se libera en el citoplasma y pierde su cubierta, después de lo cual se produce la síntesis o replicación del VPH en el núcleo de la célula epitelial por estimulación de la síntesis de ADN celular. El genoma viral se manifiesta tanto en etapas tempranas como en las tardías de la infección, con la incorporación de histonas del huésped en el virión ³⁻¹¹.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Los papilomas escamosos de la boca pueden localizarse en la región cutánea de los labios o en cualquier sitio de la mucosa intrabucal, con predilección por paladar duro, blando y la úvula. En estos sitios se localiza alrededor de 33% de las lesiones y de ellos el paladar blando es el que se afecta con mayor frecuencia. El sitio más común en donde se presenta la verruga vulgar es en la piel y en algunas ocasiones dentro de la cavidad bucal. Las lesiones miden menos de 1 cm y se presentan como alteraciones superficiales exofíticas compuestas de numerosas proyecciones dactiliformes pequeñas que producen una lesión cuya superficie es rugosa, verrucosa o en forma de coliflor; suelen ser únicas aunque en ocasiones se detectan lesiones múltiples y por lo general asintomáticas³⁻¹¹.

CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS

Los papilomas bucales representan un crecimiento exagerado del epitelio escamoso normal. Se encuentran prolongaciones del epitelio superficial con un estroma del tejido conectivo bien vascularizado. Presentan ramificaciones secundarias y terciarias cubiertas por ortoqueratina, paraqueratina o ambas, éste hallazgo, puede ser secundario a la localización de las lesiones y a la presencia de traumatismo o irritación por fricción. En ocasiones se observa coilocitosis, definiéndose como una vacuolización perinuclear de las células epiteliales superficiales, existe una secuencia distinta de maduración desde la capa basal hacia las más superficiales. Pueden descubrirse cantidades variables de células inflamatorias en la lámina propia. La verruga vulgar, muy parecida histológicamente al papiloma, presenta proyecciones dactiliformes que se extienden sobre la superficie de la mucosa, cada una está compuesta por una capa continua de epitelio escamoso estratificado y contiene un núcleo central más delgado de tejido conectivo del que se observa en el papiloma, que sostienen a los vasos sanguíneos nutritivos, existe hiperqueratosis dependiendo de la cantidad de fricción o traumatismo que sufra la lesión. Muchas de éstas lesiones demuestran una atipia celular ligera, en especial aquellos que afectan el paladar blando y áreas más posteriores de la cavidad bucal, esta atipia representa una expresión de un cambio celular rápido³⁻¹¹.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL CLINICO

Se debe hacer el diagnostico diferencial con el xantoma verruciforme, el disqueratoma verrucoso y el condiloma acuminado ³⁻¹¹ .

LESIONES PREMALIGNAS DE EPITELIO

En 1992 en la reunión sobre precáncer de la OMS se definió al estado precanceroso como *"un estado generalizado que se asocia con un riesgo significativamente mayor de cáncer"*. Son ejemplos de esto la sífilis, disfgia sideropénica y fibrósis submucosa bucal. Pindborg en el mismo año mencionó en el informe de la reunión de Investigadores sobre la definición histológica de las lesiones precancerosas siendo ésta *"un tejido de morfología alterada, más propenso a cancerizarse que el tejido equivalente de apariencia normal"*. En la cavidad bucal existen dos tipos de lesiones precancerosas: *la leucoplasia y la eritroplasia* ¹² .

LEUCOPLASIA

A esta lesión se le define según el Centro de Referencia Colaborativo para lesiones Precancerosas Bucales (OMS) como una placa blanca que no se puede caracterizar clínica ni patológicamente como ninguna otra enfermedad.

Leucoplasia es un término clínico que significa parche o placa blanca de la mucosa bucal que no se desprende al frotar y no posee características de alguna otra enfermedad. Desde el punto de vista clínico las leucoplasias presentan patrones similares, pero poseen un grado considerable de heterogeneidad microscópica, debido a que las leucoplasias varían desde una hiperqueratosis hasta un carcinoma epidermoide invasor, es obligatoria una biopsia para establecer un diagnóstico definitivo ³⁻¹² .

La leucoplasia y el cáncer bucal tienen factores de riesgo que aumentan la posibilidad de que se desarrolle alguna de éstas enfermedades, éstos factores pueden ser: Una mala higiene, hábitos de fumar o masticar tabaco. La definición de leucoplasia se usa como una referencia diagnóstica puramente clínica relacionado a los cambios biológicos significativos incluyendo los parámetros premalignos del cáncer bucal, gracias al trabajo de Pindborg y su equipo en Dinamarca ¹³ .

ETIOLOGÍA

Existen factores predisponentes extrínsecos como el tabaco, alcohol, irritación crónica, sífilis y radiaciones actínicas y factores intrínsecos como son la deficiencia vitamínica, problemas endócrinos y predisposición genética, que se relacionan con el desarrollo de leucoplasias, en ocasiones pueden remitir las lesiones cuando se suspende la causa; cuando esto no sucede la leucoplasia es considerada una lesión premaligna porque el 5% de los pacientes afectados pueden eventualmente presentar el desarrollo de un carcinoma ya que la transformación maligna representan un promedio de 4 a 5% del total de las lesiones que se presentan en cavidad bucal³⁻¹². La apariencia clínica de la lesión no es un indicador pronóstico confiable¹⁴.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Se asocia con una población de edad mediana a avanzada aproximadamente de 40 años en adelante³⁻¹²; Auclair¹⁴ reporta en un estudio que realizó de 3256 casos de leucoplasia que se presenta en personas entre los 50 y 70 años de edad, más común en hombres que en mujeres, microscópicamente un 80% de ellas fueron hiperqueratosis y acantosis, un 12% displasia moderada, un 4% displasia severa o carcinoma in situ y un 3% carcinoma de células escamosas invasivo¹⁴.

El sitio más frecuente de localización es la mucosa bucal, después sigue la lengua, paladar, reborde alveolar y labio inferior, que se afectan con menor frecuencia, casi de manera comparativa con el piso de boca y la zona retromolar³⁻¹²; el mismo Auclair reporta que los lugares con mayor riesgo y que presentaron leucoplasia fueron: piso de boca (43% en donde el 55% fue en hombres), lengua 24% y labios 24%.¹⁴

Al examen visual las leucoplasias varían de una simple lesión incipiente y blanquecina sobre una base de tejido de apariencia normal, un área traslúcida no palpable o gruesa, fisurada, papilomatosa e indurada, hasta una placa blanca con aspecto de cuero verrugoso. El color varía desde blanco, gris, blanco-amarillento, blanca-parduzca o zonas rojas. A la palpación el área puede ser suave, lisa, de textura granular fina; o rugosa, nodular o indurada. Auclair¹⁴ la divide en dos tipos: Nodular (moteada) y Homogénea³⁻¹³.

La leucoplasia es una lesión que tiene una histología inespecífica con un comportamiento variable y una tendencia imprevisible, pero estadísticamente identificable a la malignización.

Fasske y colaboradores (1958) basándose en las características histopatológicas, la clasificaron en 4 grupos: grupo I (hiperplasia epitelial), grupo II (queratosis superficial), grupo III (combinación de hiperplasia y queratosis) y grupo IV (displasia epitelial). En 1977 se realizaron varias clasificaciones; la de Banoczy que adoptó un enfoque clínico dividiendo a las lesiones en leucoplasia simple, verrugosa, erosiva (idéntica al tipo moteado), la clasificación de Burkhardt y Seifert consiste en 3 tipos histológicos: Plana, papilar-endofítica y papilomatosa-exofítica y la clasificación de Hornstein en base a consideraciones etiológicas sugiere se basa en 2 grupos: a) leucoplasias en sentido amplio (hereditarias y endógenas, irritativas) y b) leucoplasia en sentido estrecho (exógenas, irritativas y precancerosas). La OMS las clasifica en leucoplasias homogéneas, nodulares y moteadas, siendo éstas últimas las más peligrosas ¹².

CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS

Los aspectos histológicos de las leucoplasias van desde una hiperqueratosis, acantosis, displasia, carcinoma in situ y carcinoma de células escamosas de tipo invasivo. El término de displasia se refiere al crecimiento desordenado, es útil en la diferenciación de los cambios precancerosos, dispone una medida del grado de la degeneración de la célula y el tejido, describiendo varios grados de ella (leve, moderada o severa). Hoy día el grado de displasia es usado como base para la diferenciación terapéutica en la medicina clínica mientras el término atipia se refiere a las características celulares anormales¹³. **LA DISPLASIA INCLUYE LOS SIGUIENTES PARÁMETROS** ³⁻¹² :

- * Pérdida de la polaridad de las células basales.
- * Presencia de más de una capa de células con apariencia basaloide.
- * Pérdida de la relación núcleo citoplasma.
- * Pérdida de la polaridad o estratificación celular.
- * Aumento en el número de mitosis, normales o atípicas.
- * Presencia de mitosis en la mitad superficial del epitelio.
- * Pleomorfismo celular.
- * Hiperchromatismo nuclear.
- * Agrandamiento nucleolar.
- * Pérdida de la cohesión celular.
- * Queratinización de células individuales, o en grupos de células del estrato espinoso.
- * Procesos del epitelio en forma de gota.

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL CLINICO

Se debe de realizar con la queratosis friccional, queratosis galvánica, hiperplasia verrucosa, carcinoma verrucoso, liquen plano, lupus eritematoso discoide (LED), nevo esponjoso blanco, leucoedema y quemaduras por sustancias químicas³⁻¹².

LESIONES MALIGNAS DE EPITELIO

Cáncer es la palabra más comúnmente utilizada para designar a todos los tumores malignos. Las neoplasias malignas de origen epitelial, derivadas de cualquiera de las tres capas germinales del embrión, se denominan *carcinomas*, los que producen células escamosas identificables, procedentes de cualquiera de los epitelios escamosos estratificados del organismo se llaman "*escamosos*" o "*epidermoides*". Las neoplasias malignas varían desde bien diferenciados hasta totalmente indiferenciados, estando sus células bien o pobremente diferenciadas. Siempre existe cierto grado de pérdida de la diferenciación, su crecimiento es rápido, a veces con un ritmo incontrolado que acaba por lo regular con la diseminación ocasionando la invasión y la carcinomatosis³.

En resumen las lesiones malignas crecen por infiltración, invasión y destrucción progresiva del tejido que las rodea, suelen estar mal delimitadas con respecto al tejido adyacente normal faltando un plano de separación bien definido. Una característica que define claramente que una lesión es maligna es la metastasis que son implantes tumorales a distancia que no guardan continuidad con el tumor primario³.

CARCINOMA EPIDERMOIDE,

SINONIMOS: CARCINOMA DE CELULAS ESCAMOSAS Y CARCINOMA ESPINOCELULAR

FACTORES ASOCIADOS Y ETIOLOGÍA

El tabaco es el factor más importante que contribuye en la etiología del cáncer bucal. Todas las formas de inhalación de humo de tabaco, así como el consumo de tabaco masticado, se relaciona con esta enfermedad, los fumadores de pipas y puro tienen mayor riesgo de presentar este padecimiento que los fumadores de cigarrillos normales^{4,12}.

Lo que aumenta en gran medida el riesgo de contraer la enfermedad por la intensidad de la combustión del tabaco en los tejidos adyacentes del paladar y la lengua; en cualquier caso se relaciona con el tiempo y la dosis de los carcinogénicos del humo del tabaco. El consumo del alcohol al parecer aumenta el riesgo de presentar la enfermedad, se piensa que el alcohol es promotor y no iniciador de la enfermedad y este efecto se debe a la capacidad de irritación de la mucosa y de actuar como solvente de los agentes carcinogénicos. También se considera que una higiene bucal deficiente puede tener un efecto carcinogénico ^{4,12}.

CARACTERISTICAS CLINICAS

El carcinoma epidermoide de la cavidad bucal puede iniciarse como una mácula o placa eritematosa, de superficie lisa, aterciopelada, ligeramente elevada, que presenta un tamaño muy pequeño, observándose en ocasiones asociado a lesiones blanquecinas así como úlceras crónicas que no cicatrizan o lesiones exofíticas en ocasiones de naturaleza verrugosa y placas blancas o rojas denominadas clínicamente como leucoplasia o eritroplasia, por lo cual debe realizarse un diagnóstico precoz con su observación a pesar de que la mayoría son asintomáticas ^{3-12,14}. El hallazgo más frecuente es el de una tumoración indurada y ulcerada, o una úlcera dolorosa o no; acompañada a menudo de adenopatías cervicales ^{4,12}.

El carcinoma epidermoide en estadio avanzado puede presentarse bajo tres formas clínicas ^{15,16,17}.

1.- TIPO EXOFÍTICO: Con crecimiento en forma vegetante, hacia afuera, observándose una tumoración de superficie irregular y dura a la palpación.

2.- TIPO ENDOFÍTICO: Que corresponde a la típica úlcera neoplásica, la cual se caracteriza por tener una forma irregular, con bordes evertidos y fondo sucio. A la palpación se percibe dureza y sensación de infiltración en los tejidos profundos.³

3.- TIPO MIXTO: Aparecen asociadas las dos formas anteriores.

ASPECTOS HISTOLÓGICOS

El carcinoma epidermoide se desarrolla del epitelio de la cavidad bucal, específicamente de los queratinocitos. Desde el punto de vista morfológico se ha clasificado según varios criterios: Uno de los más sencillos está basado en el análisis del patrón histológico del tumor en comparación con las características histológicas del epitelio estratificado del que deriva, el cual corresponde a la clasificación de Broders que en 1926 dividió a los carcinomas en cuatro grados dependiendo la proporción de células anaplásicas y Thomson en 1939 usó un sistema más sencillo dividiendo al tumor en 3 estadios: bien, moderado y pobremente diferenciado ^{15,18}.

1.- BIEN DIFERENCIADO. Presentan un aspecto histológico muy similar a la de un epitelio plano escamoso queratinizado y las células constituyentes tienden a madurar en su estrato córneo, es decir que se forma queratina. Estos tumores están constituidos 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 infiltrado inflamatorio peritumoral ^{15,18}.

2.- MODERAMENTE DIFERENCIADO. Poseen 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, a esto se le conoce con el nombre de disqueratosis. El número de mitosis suele ser más elevado y el infiltrado inflamatorio peritumoral es menor ^{15,18}.

3.- POCO DIFERENCIADO. También denominados mal diferenciados o indiferenciados. El parecido de los elementos celulares neoplásicos con el epitelio escamoso es muy escaso, existiendo en ocasiones verdadera dificultad para reconocer el origen epitelial del tumor debido al gran pleomorfismo 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 disperso. En ocasiones es necesario realizar el diagnóstico diferencial con ciertos sarcomas debido al aspecto pseudosarcomatoso de las células ^{15,18}.

Este sistema el cual es ampliamente utilizado en la actualidad, es un método muy subjetivo para clasificar un tumor, sin embargo una combinación de éstos factores se estableció en la clasificación pronóstica de Jackobsson ^{15,18,19}.

Otra forma de gradificar los tumores es de acuerdo a la clasificación de Jacobson quien se basa en dos factores para el desarrollo de un tumor de origen epitelial que son *factores intrínsecos de la neoplasia* y *factores del huésped-tumor*. A continuación se describen cada uno ^{15,18,19}.

CLASIFICACION DE JACKOBSSON

FACTORES INTRÍNSECOS A LA NEOPLASIA:

GRADO DE QUERATINIZACIÓN: Formación de perlas córneas o zonas individuales queratinizadas ^{15,19}.

GRADO I: Altamente queratinizantes (50% de las células malignas presentan queratinización).

GRADO II: Moderadamente diferenciadas (20 - 50% de las células malignas presentan queratinización).

GRADO III: Mínima queratinización (5 - 20% de células Malignas presentan queratinización.)

GRADO IV: Mínima o nula queratinización.

POLIMORFISMO NUCLEAR: Observación del número tamaño y forma de los núcleos de las células tumorales ^{15,19}.

GRADO I ; Poco polimorfismo, población relativamente homogénea(75% células maduras).

GRADO II: Moderado polimorfismo nuclear (50 - 70% de células maduras).

GRADO III: Abundante polimorfismo nuclear (25 - 50 % de células maduras.)

GRADO IV: Extremo polimorfismo (0 - 25% de células maduras.)

NÚMERO DE MITÓSIS: Se deben de ver numerosos campos a una resolución de 40X ^{15,19}.

GRADO I: 0 a 1 mitosis.

GRADO II: 2 a 3 mitosis.

GRADO III: 4 a 5 mitosis.

GRADO IV: más de 6 mitosis.

FACTORES RELACIONADOS ENTRE TUMOR Y HUESPED

PATRON DE INVASIÓN: Se observan las características infiltrativas ^{15.19}

GRADO I : *Compuesta de áreas sólidas de células con bordes definidos o de tipo empujante.*

GRADO II: *Con infiltrado en cordones sólidos, bandas o listones.*

GRADO III: *Grupos pequeños de células o cordones delgados infiltrando el estroma. El número de células en cada grupo no es mayor de 15.*

GRADO IV: *Marcada invasión con células infiltrando de manera individual o en grupos menores a 15 células por grupo.*

ESTADO DE INVASIÓN TUMORAL: Define a la profundidad de la invasión de la neoplasia ^{15.19} .

GRADO I : *Confinada al epitelio. In situ o cuestionable invasión.*

GRADO II : *Invasión afectando claramente la lámina propia.*

GRADO III : *Invasión por debajo de la lámina propia, en partes adyacentes al músculo.*

GRADO IV : *Invasión a través del hueso o profunda a planos musculares.*

INFILTRADO LINFOPLASMOCITARIO: Reflejo del estado inmunológico del huésped frente a la neoplasia (no se debe evaluar en zonas ulceradas), de preferencia se debe hacer en las fronteras de las áreas de invasión tumoral ^{15.19} .

GRADO I : *Abundante infiltrado de linfocitos o células plasmáticas, en estrecha relación con las células tumorales.*

GRADO II : *Moderado infiltrado.*

GRADO III : *Ligero infiltrado.*

GRADO IV : *Nulo.*

DX DIFERENCIAL

El carcinoma epidermoide cuando se presenta en la forma clínica atípica de úlceras crónicas que no cicatrizan, puede diagnosticarse como lesión infecciosa hasta que se compruebe lo contrario mediante la biopsia, ya que a veces en la clínica es imposible diferenciar entre tuberculosis, sífilis o infecciones micóticas profundas de las lesiones ulceradas de cáncer bucal. Por otro lado debe descartarse de un traumatismo crónico incluyendo también a las lesiones superficiales; por lo que la historia clínica debe ser cuidadosa y el diagnóstico puede confirmarse con una biopsia.

Cuando se trata de carcinomas del paladar y de los tejidos vecinos debe considerarse la posibilidad de un granuloma de la línea media o de sialometaplasia necrosante, así como tumores de glándulas salivales, granuloma piógeno, carcinoma verrucoso, tumores malignos periféricos de células mesenquimatosas, tumores metastásicos y melanoma amelanótico ^{3-12,14}

CARCINOGENESIS Y PATOGENIA DEL CANCER

El fenómeno biológico, el cuál es la base de todo crecimiento, es la división de una célula en dos, este periodo comúnmente es denominado ciclo celular. La mayoría de las células de los mamíferos requieren entre 15 a 72 horas para completar su ciclo divisional; el tiempo promedio de la división es de 24 horas. Algunos factores influyen en el potencial de crecimiento de las células tumorales individuales, siendo el tiempo de duplicación muy variable en éstas y menor a unas cuantas semanas. La discrepancia entre el tiempo de duplicación de una masa tumoral y el tiempo de duplicación a nivel celular es debido a tres factores ²⁰ :

- 1.- Un factor de crecimiento menor que una unidad celular.
- 2.- Pérdida de células neoplásicas dentro del tumor.
- 3.- Una considerable proporción del tumor comprende células no neoplásicas, incluyendo células parenquimatosas normales, células de soporte y células infiltrativas. El término factor de crecimiento se creó para describir cuando una célula tumoral está dividiéndose activamente, por otra parte el término fase de descanso se utiliza para definir aquellas células que no proliferan. En la mayoría de los tumores que se presentan en los seres humanos no hay evidencias de la existencia de la fase de descanso, pero de cualquier forma sólo es una minoría de células las ocupadas en la proliferación. Una larga proporción de células proliferativas se pierden dentro del tumor. Esto implica que el índice de crecimiento total, puede ser lento en comparación con el índice al cual la proliferación se lleva a cabo, ocasionado esto por la pérdida celular ²⁰ .

Se necesitan mecanismos para que exista pérdida de células neoplásicas como la pérdida de nutrientes, ya que las células tumorales requieren un nutriente regular de su medio ambiente; por otra parte la habilidad de las células neoplásicas a inducir coordinadamente la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) parece ser un rasgo de la progresión, invasión y fenotipo metastásico en etapas tardías.

La pérdida de ésta habilidad puede ser una barrera efectiva hacia un nuevo crecimiento y la causa de necrosis de las células localizadas en el centro del tumor ²⁰.

Por otra parte los tumores sólidos contienen un número considerable de infiltrado de linfocitos T, células natural killer y macrófagos; este infiltrado puede aumentar la respuesta efectiva del huésped contra la población de las células neoplásicas pudiendo ser capaz de destruirlas. Un mecanismo como éste puede controlar el crecimiento tumoral aunque exista una alta actividad proliferativa. La respuesta inmunológica citotóxica contribuye a la lenta progresión de algunos tumores humanos, especialmente en las etapas tempranas de su desarrollo ²⁰.

La muerte celular programada o apoptosis, juega un papel importante en el desarrollo temprano y crecimiento de tejidos adultos, un aumento en la actividad de éste factor dentro de un tumor podría crear un equilibrio en el índice de crecimiento y proliferación de células neoplásicas, siendo éste un mecanismo realmente importante y que no se presenta. La diferenciación parcial y heterogeneidad de las células tumorales dentro de un mismo tumor han sido observadas por histopatólogos y el diagnóstico de cáncer depende en el reconocimiento y cuantificación de la proporción de éstas células parcialmente diferenciadas ²⁰.

Ciertas células pueden ser inducidas a una diferenciación parcial por medio de factores ambientales o mutaciones. En muchos tumores existen células diferenciadas, parecidas a las células del tejido normal. La diferenciación parcial puede reducir constantemente la proliferación de las células neoplásicas ²⁰.

Existen evidencias que sugieren que la proliferación excesiva de células, contribuye más al desarrollo del cáncer que el potencial de expansión de crecimiento.

La carcinogénesis se distingue por tres etapas ^{3,20,21}.

INICIACION: En ésta etapa existen cambios reversibles e irreversibles en el genoma de células previamente normales, las cuales se vuelven más susceptibles a una transformación maligna. Los agentes físicos, químicos y biológicos pueden inducir la etapa de iniciación. La eficiencia de ésta etapa se relaciona con el estado de replicación de las células expuestas al agente de iniciación. Las células más susceptibles a los cambios mutagénicos y genotóxicos son las activas que están sintetizando ADN, dando como consecuencia la iniciación. La división celular es un factor que se requiere para la fijación de cualquier cambio genético ²⁰.

PROMOCION: Se dá por los efectos ambientales de las células iniciadas y se manifiesta por la adquisición de los cambios fenotípicos malignos incluyendo una forma celular atípica y un crecimiento progresivo. Este tipo de células son también el resultado de una expansión clonal y tienen un riesgo mayor de formar cáncer. Diversos grupos de moléculas, químicos, y los factores de crecimiento pueden inducir a las células iniciadas a pasar a la fase de promoción. Muchos promotores de tumor son mutagénicos, otros previenen la muerte celular programada. Las lesiones proliferativas atípicas focales retroceden cuando el efecto promotor es retirado y reaparecen cuando se vuelve a administrar, este factor de diferenciación y retroceso es común también en lesiones premalignas precursoras de neoplasias en el ser humano ²⁰.

PROGRESION: Se caracteriza ésta etapa por la adquisición de cambios fenotípicos malignos incluyendo invasión, metastasis, tendencia a un crecimiento autónomo y a un aumento de un cariotipo inestable. Los rasgos malignos son probablemente consecutivos e independientes. Los factores de la progresión avanzada no han sido bien definidos y puede que no sean diferentes a aquellos involucrados en la iniciación y promoción ²⁰.

La carcinogénesis de acuerdo a éste modelo es considerada como una acumulación progresiva de errores genéticos y anormalidades fenotípicas.

El nivel específico de los cambios genéticos no ha sido detectado y parece ser que el total de los cambios acumulados más que su orden son los responsables para determinar las propiedades biológicas de los tumores. Los avances en la biología molecular han logrado un gran progreso en como las alteraciones en la estructura, expresión de los factores de crecimiento, receptores de crecimiento, factores transcripcionales, moléculas de adhesión de la células, genes y oncogenes, y genes supresores de tumor contribuyen al desarrollo de una neoplasia²⁰. Los factores ambientales adquiridos como los productos químicos, las radiaciones y los virus así como las factores genéticos crean cambios en el genoma de las células somáticas pudiendo adquirir un crecimiento autónomo por medio de dos mecanismos generales, por la activación de los oncogenes provocadores del crecimiento o la inactivación de los genes supresores del cáncer, dándose una expresión de los productos de los genes alterados o en caso contrario una pérdida de los productos de los genes reguladores, ocasionando una expansión clonal, mutaciones adicionales, heterogeneidad o diferenciación; dando como resultado una neoplasia maligna^{3,21}. En la *figura 1* se muestra el mecanismo biológico del cáncer.

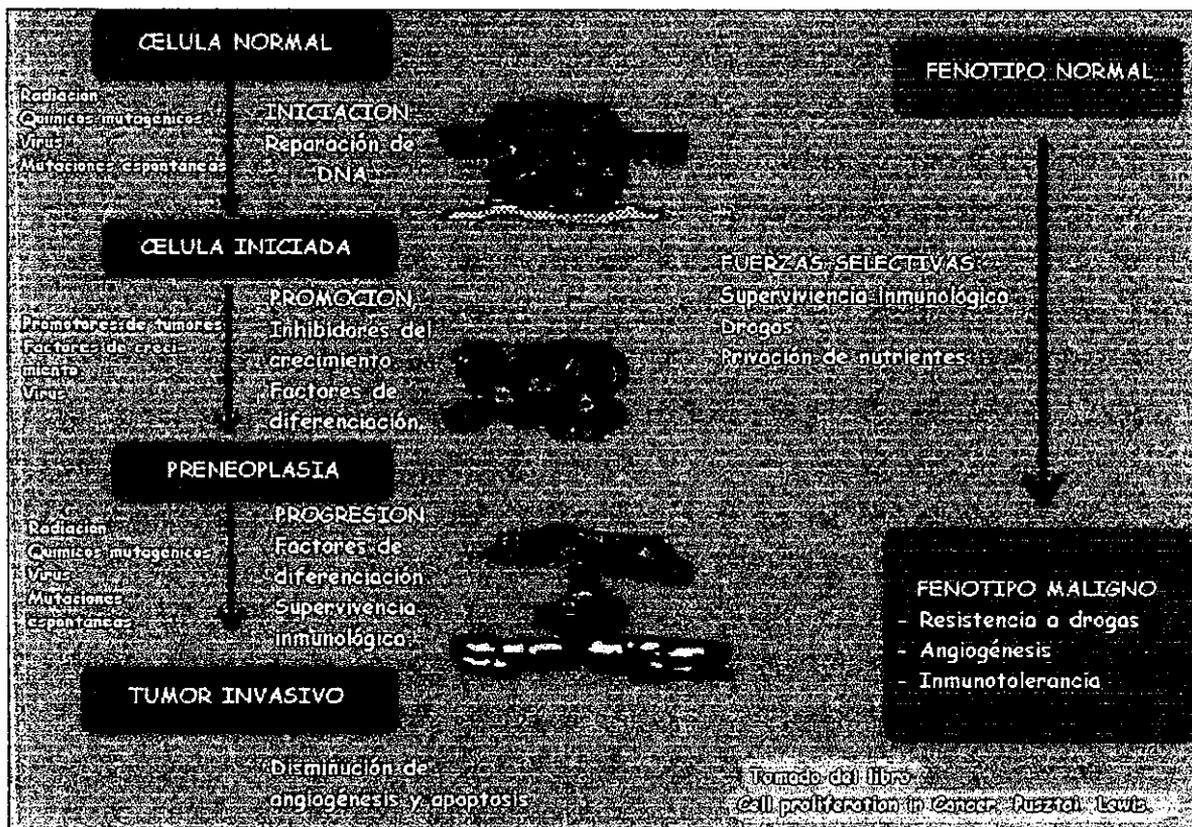


FIGURA 1. CARCINOGENESIS Y PATOGENIA DEL CANCER

CICLO CELULAR

El ciclo celular es una serie ordenada de procesos que permite a las células crecer, duplicar su material genético, segregarlo en dos juegos, este material duplicado y dividirse para dar origen a dos células hijas²², el ciclo celular está dividido en cuatro fases: G₁, S, G₂ y M y una fase G₀^{15,22}. Consiste en un intervalo de biosíntesis y crecimiento activos durante el cual la célula duplica su masa y contenido, seguido por una división nuclear que hace que el citoplasma se divida y forme una frontera o límite que separe los núcleos y el citoplasma de las células hijas nuevas. La división nuclear se le denomina mitosis y la división celular se le llama citocinesis. Una de las características de las células es la autoduplicación que transcurre a lo largo de dos etapas definidas como²³⁻²⁸:

- 1) Interfase: durante la cual tiene lugar la duplicación de los materiales que integran la célula progenitora.
- 2) La división: En la que dichos materiales son repartidos equitativamente entre las dos células hijas.

La interfase es el periodo más largo del ciclo celular representando un 80% del total del mismo, y la división sólo ocupa el 20% del total. Durante la interfase las células realizan las funciones propias de su estirpe, pero apenas sufren cambios morfológicos, a diferencia de la división.

El intervalo entre cada división celular es conocido como ciclo celular, cada uno consta de 4 fases ordenadas, estrictas y reguladas que son: G₁, S, G₂ y M. La replicación del ADN ocurre durante la fase S, la separación cromosomal o cariocinesis y la división o citocinesis ocurren en la fase M y G₁ y G₂ son fases de crecimiento. Existen una serie de hechos que conducen a la división celular como: el índice nucleoplasmático que indica cuando una célula tiene que dividirse para restaurar su valor primitivo; otro es el período central de interfase durante el cual se replica el ADN, así la inhibición del proceso detiene el ciclo celular, que puede ser inhibido por la falta de síntesis de proteínas. Las células de los organismos pluricelulares que han perdido la capacidad de división se detienen en un punto del ciclo inmediatamente anterior al comienzo de la fase S. Este punto denominado G₀ conduce a la célula desde G₁, a un estado que indica a esa célula salir del ciclo celular²³⁻²⁸.

Como ya se mencionó anteriormente dentro de las fases de que consta la interfase existe la fase G1 o inicial la cual da lugar a una serie de acontecimientos como el incremento de ARN que conllevan a su vez a la síntesis de proteínas para que inicie la duplicación de todo el material que no es ADN. También se sintetizan precursores para la replicación de ADN dando lugar a la detección de genes responsables de complejos multienzimáticos iniciadores de los procesos replicativos del ADN, que tendrá lugar en la siguiente etapa de la interfase, esta fase tiene la capacidad de alargar o detener el ciclo celular antes de que pase a la fase S que replica el ADN, esto lo logra gracias a la disminución de nutrientes, privando a la célula de ciertos factores proteicos esenciales, adicionando inhibidores de la síntesis de proteínas o permitiendo que las células lleguen a ser demasiado numerosas deteniéndose el ciclo por un mecanismo denominado inhibición por contacto. Por cualquiera de las vías mencionadas, el ciclo se detiene en G1, pudiendo alcanzar el punto de retorno denominado R abocado completamente a la división e implicado en el inicio de un nuevo ciclo celular. Durante G1 las células se tornan más sensibles a los estímulos activando o bloqueando la proliferación celular determinando si la célula se divide o no. Una vez que la célula ha sido estimulada pasa a la fase G1 tardía denominada punto de restricción o W en células de mamífero. Una vez que este punto ha sido sobrepasado, el ciclo no puede detenerse y la célula entra a la fase S duplicando así su material genético. La fase S es la más estable dura aproximadamente 6 a 8 horas, es en donde se lleva a cabo la replicación del ADN ²³⁻²⁸.

Terminada la duplicación del genoma, se inicia la fase G2 durante la cual la célula aumenta de tamaño y multiplica sus organelos en preparación para la división celular propiamente dicha, La fase G2 conduce la división y es el de menor duración aquí cesa en el mismo la síntesis de ADN pero no la de proteínas que se mantiene constante durante todo el ciclo, así conforme va avanzando desde G1 a G2 su volumen se va incrementado y va aumentando su capacidad sintetizadora. El mecanismo por el cual ésta fase dispara la división es através de la fosforilación proteica provocando que cerca del final de ésta fase inicie la mitosis. Al final de ésta fase la célula entra en división para que todos los materiales de la célula madre se repartan a las dos células hijas; entrando finalmente la fase M en donde se condensan dos juegos de cromosomas; cada complemento cromosómico formado se segrega a cada una de las células hijas.

En la mitosis se consideran dos procesos esenciales que ocurren simultáneamente que son la división del núcleo o cariocinesis la cual consta de la fases llamadas: Profase, Metafase Anafase y Telofase, y la división del citoplasma o citocinesis ²³⁻²⁸.

Cuando no hay estímulos mitogénicos o se presenta un bloqueo como la inhibición por contacto, se entra en una fase denominada G₀. En el ciclo celular el punto de regulación crucial es aquel que define si una célula se divide o no y este punto se encuentra entre el paso G₁ a S ²²⁻²⁸. En la *figura 2* se muestran la serie de eventos del ciclo celular.

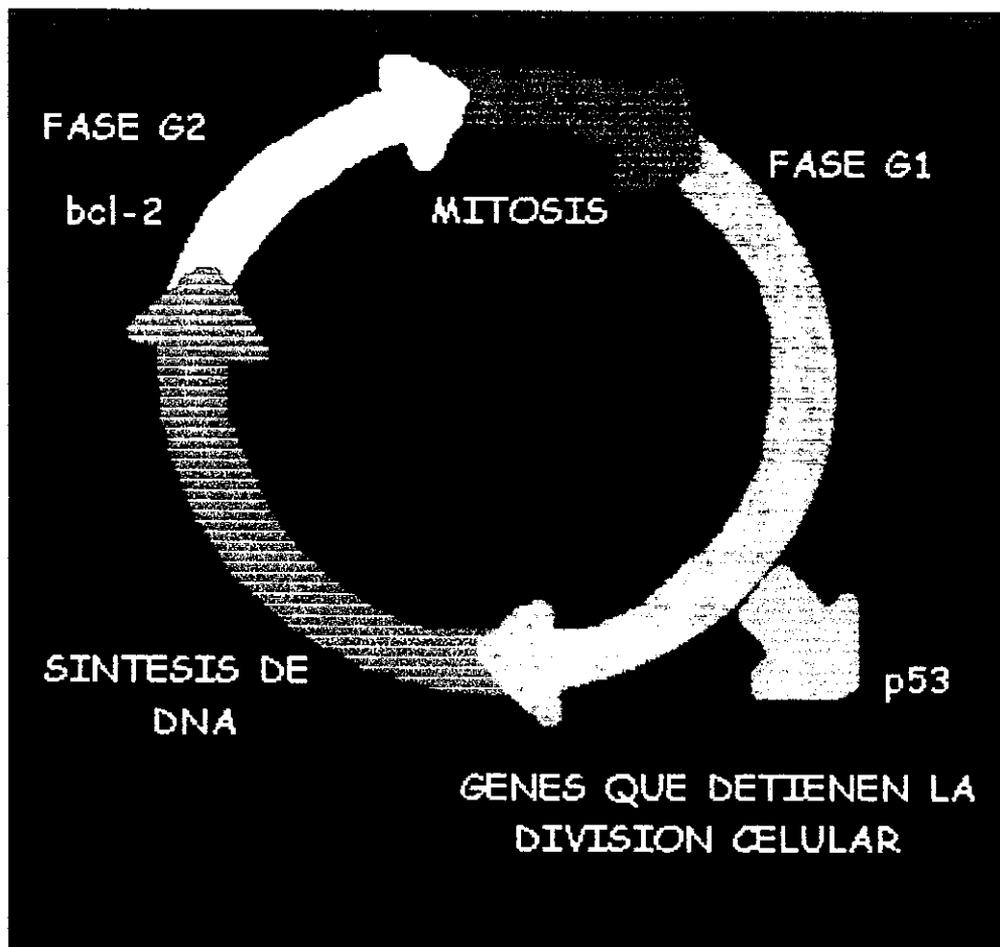


FIGURA 2. CICLO CELULAR

ONCOGENES Y ANTIONCOGENES

El cáncer es una enfermedad que involucra material genético dañado, particularmente al que regula y repara el ADN así como el crecimiento celular en condiciones normales y son denominados oncogenes y antioncogenes ²⁹. El proceso de transformación neoplásica conduce a muchos eventos contrarios a lo normal. El comienzo de transformación comienza debido a uno o más factores indicadores, seguidos de pasos promocionales que incrementan el crecimiento celular y provocan un descenso en los reguladores del control celular. ^{3,4,7,19-21,23-28,30}

La progresión clínica y biológica de cualquier tumor está directamente relacionada a la alteración genética específica o a alteraciones presentes pero generalmente es aceptado que la alteración de un solo oncogen celular no es suficiente para inducir a una transformación neoplásica. La activación de un oncogen celular, que muchas veces puede ser respuesta de una anomalía genética específica, puede ser utilizado como marcador del fenotipo de una clona celular maligna. Esta activación puede ayudar a establecer la terapéutica, el progreso de la enfermedad, pronóstico y otros importantes parámetros clínicos ^{3,4,7,19-21,23-28,30}.

Existen dos tipos de oncogenes, los oncovirus o v-oncs tanto de ARN como de ADN que se consideran posibles factores etiológicos del cáncer en varias especies animales, incluyendo al ser humano; existen virus endógenos y exógenos; los exógenos asociados a transformaciones malignas son llamados retrovirus, los cuales se caracterizan por la presencia de un gen codificando a un ARN dependiente ADN polimerasa, llamada transcriptasa reversa, los cuales se clasifican en dos grupos; los de transformación rápida y los de transformación lenta; los endógenos son llamados provirus y se encuentran en la mayoría de los genomas de especies animales; tienen también una posible asociación con el desarrollo y origen de neoplasias y los oncogenes celulares o c-oncs los cuáles se pueden dividir en las siguientes familias ^{3,7,31}:

- * Relacionados al factor de crecimiento
- * Relacionados a receptores de membrana
- * Transducotres de señales
- * Oncogenes celulares nucleares
- * Genes supresores de tumor
- * Reguladores de muerte celular

CLASIFICACIÓN DE ONCOGENES CELULARES ⁷ :

- Relacionados a factor de crecimiento

SIS

Hst/int-2

- Relacionados a receptores de membrana

ErbB-1 (EGFR)	Ros	ros	Trk
---------------	-----	-----	-----

ErbB-2 (HER-2/nev)		bign	Kit
--------------------	--	------	-----

ErbB-3		Ems (CSF-1)	Sea
--------	--	-------------	-----

- Transductores de señales

Ras	Ha-ras	raf
-----	--------	-----

N-ras	src	abl
-------	-----	-----

Ki-ras	fes	yes
--------	-----	-----

fgr	lyn	
-----	-----	--

lck	gsp	
-----	-----	--

hck	gip	
-----	-----	--

- Oncogenes celulares nucleares

myc	fas
-----	-----

myb	jun
-----	-----

- Genes supresores de tumor

Rb	NF1	PRAD-1
----	-----	--------

p53	FAP	
-----	-----	--

WT	Dcc	
----	-----	--

- Reguladores de muerte celular

bcl-2

Los oncogenes o genes causantes del cáncer, derivan de los protooncogenes, los cuales son genes celulares que promueven el crecimiento y la diferenciación celular normal. Los oncogenes producen proteínas denominadas oncoproteínas, que se parecen a los productos normales de los protooncogenes, con la excepción de que las oncoproteínas carecen de importantes elementos reguladores y que su producción por las células transformadoras no depende de factores de crecimiento u otras señales externas.

Varios de estos factores se deben a que los polipéptidos estimulan la proliferación celular normal, sospechándose que pueden desempeñar un papel en la tumorigénesis ^{3,15,21,22,29-31}.

Se han encontrado en tumores, alteraciones estructurales como expresión excesiva de receptores de factores de crecimiento causadas por mutaciones, por lo que se puede decir que los oncogenes se forman cuando los protooncogenes se mutan y éstas mutaciones se pueden dar gracias a una puntuación, traslocación, amplificación genética, los cuales son cambios en la estructura del gen; que determinan la síntesis de un producto anormal de función aberrante también existen cambios en la regulación de la expresión del gen; que determina la producción facilitada o inapropiada de una proteína promotora del crecimiento estructuralmente normal ^{3,15,21,22,29-31}.

En los cromosomas humanos estos genes cuando no son activos se comportan como transformantes, recibiendo así el nombre de antioncogenes o genes supresores del tumor, ejerciendo un efecto oncogénico cuando los dos alelos cromosómicos se alteran por las causas mencionadas en el párrafo anterior. Desde el punto de vista de su expresión se comportan como genes recesivos ^{3,15,21,22,29-31}.

En la *figura 3* se observan los factores que propician la falta de estabilidad genética.

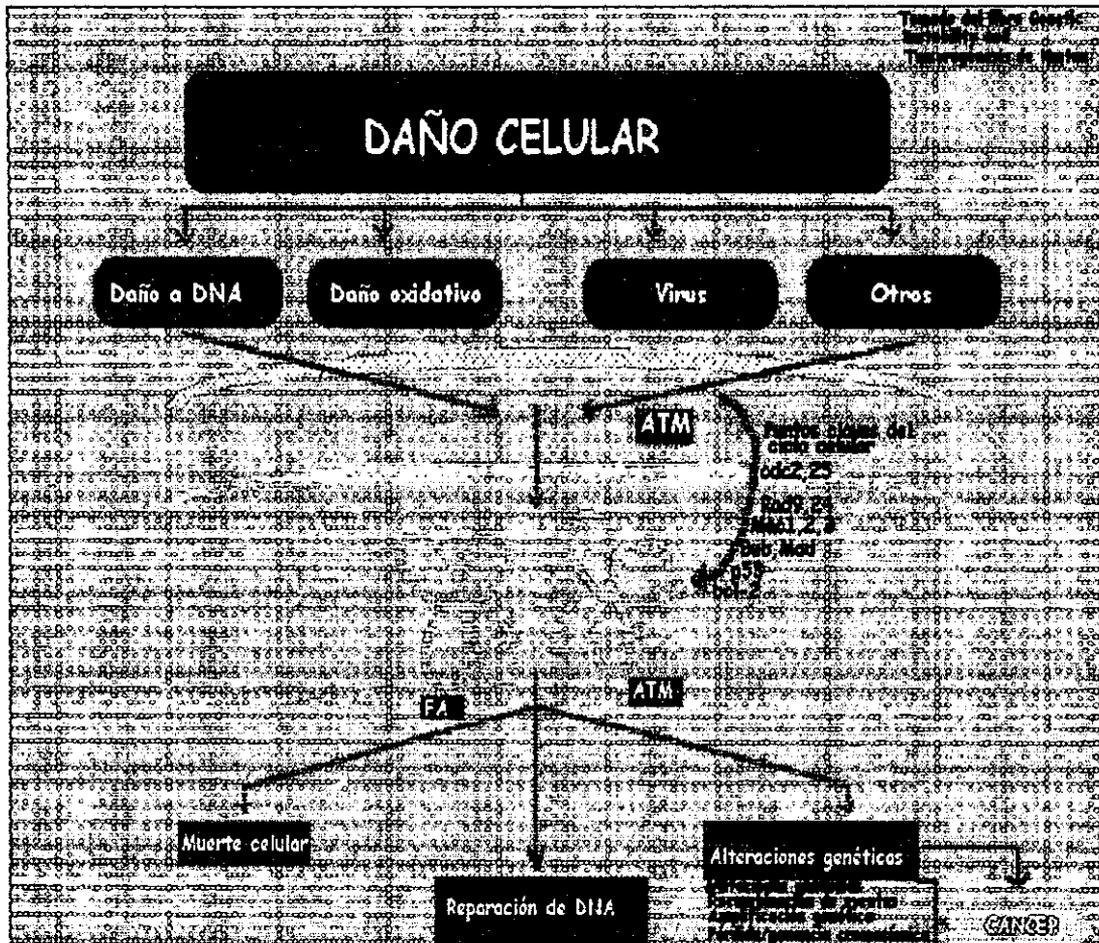


FIG. 3 INESTABILIDAD GENÉTICA POR DAÑO CELULAR

Los genes supresores del tumor participan en condiciones normales en la proliferación celular y sus productos aplican frenos al crecimiento de las células por lo que se dice que su función fisiológica es regular este crecimiento y no prevenir la formación de tumores ^{3,15,21,22,29-32}.

Dentro de los genes supresores se encuentra la proteína p53 cuya función es conocida; ésta aparece en la fase G1 tardía del ciclo celular, cuando el gen sufre una mutación este control falla, iniciándose una proliferación inadecuada y en desorden ^{15,21,22,29,30,32}.

p53 ESTRUCTURA Y FUNCIÓN

Como se mencionó en párrafos anteriores uno de los antioncogenes que participan en la regulación celular es p53 siendo considerado que la mutación de éste gen es una de las causas más frecuentes o comunes del cambio genético en el cáncer humano ^{6,15,21,22,26,29,30,32,33}.

El gen p53 humano consta de 20 kilobases (Kb) del ADN localizado en el cromosoma 17p 13.1, está compuesto por 11 exones que produce 2.2 a 2.5 Kb de ARNm que se expresa en casi todas las células o tipos de tejidos del cuerpo. Está compuesta por 393 aminoácidos y es una fosfoproteína nuclear de 53 Kda, de ahí el nombre de p53 ^{6,26}.

Poco se sabe de la regulación transcripcional de éste gen, pero los niveles más altos de p53 ARNm son detectados en el timo y bazo; los niveles más bajos se encuentran en todos los demás tejidos ^{6,20,25,26}.

Este gen puede comportarse cómo un oncogen capaz de cooperar con un gen activado, provocando transformaciones celulares. También puede actuar como supresor tumoral, inhibiendo la transformación celular, impidiendo así la formación del tumor ya que regula la replicación del ADN, la proliferación y la muerte celular programada o apoptosis ^{6,15,20,25,26,32}.

Existen dos formas de p53 una como tipo salvaje o silvestre y la otra como una proteína mutante. La función bioquímica del tipo salvaje es la regulación de la transcripción o duplicación del ADN, bloquear la replicación del genoma cuando éste sufre algún daño y detener el ciclo celular hasta que el daño sea reparado ^{20,25,26}.

Aunque no se conocen muy bien los mecanismos precisos por los cuáles p53 actúa como gen supresor de tumor existen algunos conocimientos de que el tipo salvaje de p53 actúa como un policía molecular que impide la propagación de células dañadas genéticamente, variando su localización de acuerdo a la fase que se esté llevando a cabo en el ciclo celular. En la fase G1 la proteína se localiza en el citoplasma y al inicio de la fase S ya se encuentra a nivel del núcleo. En condiciones fisiológicas ésta proteína tiene una vida corta, de minutos y no existen datos de que esta proteína sea necesaria para una división celular normal, ya que en células normales existen bajos niveles de la proteína.

Cuando se presenta una lesión del material genético existen cambios muy notorios en p53, incrementándose sus niveles de producción. A través de modificaciones posteriores en la trasducción, p53 se estabiliza y se acumula en el núcleo. El tipo salvaje acumulada se liga al ADN y hace que las células se detengan en la fase G1 del ciclo celular, y concede tiempo a las células para reparar el daño causado por el agente mutágeno, antes de la fase de síntesis de ADN. Si por alguna razón los mecanismos de reparación fracasan, p53 detecta de alguna manera el riesgo de que la célula mutante se divida, y entonces ocasiona la muerte celular o apoptosis ^{6,20,21,25,26,30}.

Las células con mutación del gen p53 no experimentan el proceso de detención del ciclo celular en la fase G1, transmitiendo la alteración cromosómica a su descendencia con el consiguiente aumento de la probabilidad de originar un tumor ^{6,15,20,21,25,26,30}.

Aunque ninguna mutación aislada es capaz de transformar las células, la pérdida de p53 predispone a las células a mutaciones adicionales y al final a la transformación maligna. La forma más frecuente de inactivación de p53 es por mutaciones sin sentido ^{21,30}.

p53 en células normales es estabilizada por una gran variedad de agentes mutagénicos como: La radiación UV, o rayos gamma. Existen varios mecanismos que pueden inactivar a p53 como son ^{6,7,20,21,25,26,30}:

- 1.- Por mutaciones.(puntuales o alélico - dependientes)
- 2.- Por virus como el VPH-16 o 18.
- 3.- Por delección.
- 4.- p53 en el citoplasma no funciona como gen supresor, el mecanismo por el cual se encuentra en el citoplasma todavía no está aclarado.

La inactivación de la proteína permite a las células continuar con su división sin la corrección de las alteraciones que se puedan presentar en el ADN, resultando como consecuencia una inestabilidad genética y por lo tanto un mayor riesgo a mutaciones tumorogénicas de la célula. Las mutaciones y alelos perdidos en p53 han sido descritos en muchos tumores del ser humano incluyendo: Pulmón, mama, tracto gastrointestinal, ovario, cerebro, sarcomas, linfomas, leucemias, vejiga, hígado, ano, colon, esófago, estómago y próstata, existiendo muy pocos estudios de casos de cáncer en cavidad bucal. ^{7,20,26}.

Las mutaciones de p53 en tumores humanos tienen ciertas características principales ^{7,25,26} :

- La mayoría son mutaciones puntuales desarrollando una proteína alterada, esto implica que al ser alterada ha sido utilizada durante el desarrollo del tumor perdiéndose un alelo de la célula.
- Las mutaciones no están dispersas al azar, si no agrupadas en ciertas áreas de la proteína, principalmente entre el 130 y 290 aminoácidos confinados a la región 2 de las 5 regiones o campos que contiene la proteína.
- El hecho de que las mutaciones se encuentren agrupadas en sitios específicos sugiere la eliminación o cambio funcional dominante de p53, alterando por lo tanto sus funciones.
- Existen por lo menos 3 mutaciones afectando los codones 175,248 y 273 y la distribución de este tipo de mutaciones son diferentes de acuerdo a los diferentes tipos de cáncer.

Todos los tipos de mutaciones parecen dar una propiedad común a este gen: el de perder su función supresora. siendo ésta la responsable del desarrollo tumoral o neoplásico, no solamente causan este problema si no que puede activarse como oncogen con actividad transformadora a través de un efecto que se ha denominado dominante negativo; o conducir al tipo salvaje a convertirse en mutante también, queriendo decir con esto que adoptó una conformación de crecimiento tolerante en vez de su función supresora del crecimiento, también ocasionan que p53 pierda habilidad para unir las secuencias específicas de ADN ^{6,20,25,26} .

La mutación no es la única forma de modificar la conformación de p53, ya que puede ser también inducida por una estimulación del crecimiento celular, de aquí que la expresión inmunohistoquímica de la proteína detectada en tumores no necesariamente se relaciona con mutaciones del gen ^{6,20,25,26} .

p53 EN LESIONES BENIGNAS, PREMALIGNAS Y MALIGNAS DE EPITELIO

Moo-Min y Linden^{35,36} en 1994, Regezi y Kuttan^{34,37} en 1995 y Araujo³⁸ en 1997 mencionan que la sobreexpresión de p53 como resultado de una mutación es encontrada en el cáncer de cabeza y cuello en relación con un alto grado de malignidad y su detección inmunohistoquímica sirve como marcador pronóstico. Al contrario de los estudios realizados en 1993 por Ranasinghe³² y en 1994 por Sloopweg³⁹ que mencionan que p53 se presenta en las primeras etapas de la carcinogénesis, existiendo proliferación celular sin detección de ésta proteína.^{32,34-39}

Hirano, Tsutsumi, Tsuchida³³ y Riva⁴⁰ en 1995 analizaron cuando p53 sufre una mutación demostrando que éste gen es el más reconocido en las alteraciones genéticas del carcinoma epidermoide, aclarando que ésta mutación no es el único factor desencadenante de la enfermedad^{33,40}.

Las alteraciones genéticas de p53 en tumores bucales se encuentran principalmente en el carcinoma epidermoide, ya que la proteína mutante siempre está presente. La expresión elevada de p53 ha sido atribuída a alteraciones inducidas por tabaco siendo éste un factor de riesgo bien conocido del carcinoma epidermoide de cabeza y cuello, como se encontró en los estudios realizados por Brennan y Koch en 1995⁶, mencionando que el fumar incrementa la frecuencia de mutaciones del gen en lesiones premalignas y tumores de cabeza y cuello. En personas que no fuman el tipo de mutaciones del gen son espontáneas; lo que no ocurre en personas fumadores en donde las mutaciones están bien distribuidas^{6,7,17,33,34,39,41}.

El tabaquismo y alcoholismo son factores promotores de cáncer^{17,41}; la baja expresión de p53 en tumores malignos de humanos ha sido demostrada en un estudio realizado en 38 pacientes de Sri Lanka que histológicamente presentaban un tumor maligno de células escamosas.

Estos pacientes tenían edad promedio de 59 años y su hábito más común era el cigarro, del 100% de los casos sólo un 11% presentaron una baja expresión de p53, ellos opinan que esto se puede deber a una mutación en ambos alelos o por una expresión truncada ocasionando que los sitios de reconocimiento del gen hacia el anticuerpo se vieran afectados.

Sin embargo en otro estudio realizado en el Sureste de la India demostraron que pacientes que también son fumadores y que consumen alcohol tuvieron un porcentaje más alto de p53 (52%) en los tumores. Se piensa que el tabaco y alcohol tienen influencia en la alta o baja expresión de p53 en las neoplasias malignas de cavidad bucal. En este estudio analizaron la expresión del gen inmunohistoquímicamente en 23 casos de carcinoma epidermoide en humanos, los resultados obtenidos correlacionan la presencia de p53 con la cantidad de tabaco inhalado soportando la hipótesis de que el tabaco podría ser la causa de la mutación de p53 y que ambos están relacionados con la evolución del cáncer ^{34,39}.

Es conocido que el carcinoma epidermoide puede preceder de cambios premalignos de la mucosa. La determinación de los cambios reguladores de p53 durante el proceso de progresión del epitelio normal a través de la displasia a un carcinoma invasivo puede ser útil para el entendimiento de las alteraciones genéticas que aumentan el riesgo de la formación de lesiones premalignas y que influye en su progresión. Los cambios observados en p53 en el desarrollo de el carcinoma epidermoide ha sido investigado mediante análisis inmunohistoquímicos en displasias encontradas adyacentes a carcinomas invasivos o sin componentes invasivos de epitelio, su inmunoexpresión es mayor en lesiones con moderada, severa displasia en comparación con las leves ^{6,7}.

La angiogénesis juega un papel importante en el crecimiento tumoral, progresión y metastasis. La alteración de p53 es un evento temprano en la carcinogénesis oral, tiene que ver con el desarrollo de los cambios premalignos de la mucosa y en condiciones normales inhibe la angiogénesis; por lo tanto cuando el gen está mutado o dañado juega un papel decisivo no solamente para la iniciación del tumor; si no también en la progresión, desarrollo e invasión metastásicas ^{6,7}.

Existen dos características de p53 que pueden estar asociadas con un pronóstico pobre, siendo éstas la pérdida de la función y la detección de niveles altos ocasionando incremento en la proliferación. La determinación de una sobreexpresión de p53 y de mutaciones del gen pueden ser de ayuda en la predicción del comportamiento del tumor. Lowe en 1994 demostró que los defectos en la función de p53 pueden ser un impedimento significativo en el éxito de la terapia para tratar el cáncer ⁷.

Bcl-2 ESTRUCTURA Y FUNCIÓN

La salud de todos los organismos pluricelulares, depende no sólo de que el cuerpo sea capaz de producir nuevas células, sino también de que sus células puedan autodestruirse cuando pierdan su función o sufran una alteración. La capacidad que tienen las células para autodestruirse se llama apoptosis o muerte celular programada. La apoptosis se define como una autodestrucción activa de células que se presenta en fenómenos físicos y en muchos procesos patológicos, este sistema es necesario durante la embriogénesis, en la metamorfosis en algunas especies; en la maduración del sistema inmune, en el mantenimiento funcional de los tejidos como el hematopoyético ⁴, en la involución de múltiples tejidos, en el recambio normal de los tejidos ¹⁶, en la atrofia hormonodependiente, en la metaplasia, en la necrosis tisular de origen tóxico, así como en la respuesta inmune celular. Otra definición conocida de apoptosis es un mecanismo de eliminación celular que permite la renovación tisular, manteniendo el balance homeostático de los tejidos. La homeostasis representa un balance de fuerzas, de crecimiento y de proliferación contra células muertas. Alteraciones en cualquiera de las dos fuerzas sin un cambio compensatorio en la fuerza opuesta que no se alteró, puede resultar en un crecimiento celular incontrolado, formación de tumores y transformaciones malignas ^{7,16,17,20,25,41}.

La muerte celular presenta una serie de cambios característicos en donde la célula comienza por encogerse y desprenderse de sus vecinas, aparecen luego como una especie de vacuolas, la cromatina (complejo de ADN nuclear y proteínas) se condensa en los extremos del núcleo. Al poco tiempo, el núcleo y después la célula, estallan; los fragmentos celulares son rápidamente fagocitados por las células vecinas, puede ponerse en marcha de diferentes maneras ²⁵:

- 1.- Cuando la célula deja de percibir las señales químicas que le permiten comunicarse con otras células y reafirmarse en la importancia del papel que desempeña.
- 2.- Cuando la célula recibe mensajes internos o externos que anulan las señales anteriores.
- 3.- Cuando la célula recibe órdenes contradictorias de si debe dividirse o no.

La mayoría de las células fabrican una serie de proteínas o enzimas que utilizan como armas destructivas, mientras la célula es útil para el cuerpo, las proteínas se mantienen latentes, pero sí la célula se ve afectada, infectada, se torna maligna o amenaza la salud del organismo se liberan las proteínas ²⁵.

A pesar de que todas las células tienen las mismas proteínas, las señales que llevan a la apoptosis son diferentes, así como también varía la facilidad y rapidez con que se activa el programa y el estado del desarrollo de cada una de ellas. La nueva categoría de los c-oncogenes denominados "*reguladores de la muerte celular*" (Korsemeier) es representada por el gen bcl-2. Se encuentra de dos formas ^{7,20,25}:

1.- Localizado en el ADN mitocondrial.

2.- Bloqueado la muerte celular programada (apoptosis) independiente de la proliferación afectada.

Bcl-2 (B- Linfoma células/leucemia 2) es un oncogen que fué localizado en la traslocación cromosomal t(14;18)(q32,q21) característica del linfoma maligno humano. El 85% de los casos de éste tumor de células malignas contienen ésta traslocación. Esta asociada a la membrana, la envoltura nuclear, el retículo endoplásmico y la membrana mitocondrial ^{7,20,26}.

La introducción de bcl-2 en líneas celulares o hematopoyéticas promueven y/o previenen la muerte celular programada sin afectar el índice de proliferación celular normal ²⁰. Bcl-2 se encarga de ayudar a inhibir el mecanismo de muerte celular en problemas ocasionados por necrosis, ocasionada por sustancias tóxicas que tienen contacto con las células, por hipertermia, hipoxia, isquemia, ataque al sistema del complemento y por trauma celular directo. Osborne Barbara ⁴² en su artículo llamado "Genes Esenciales que regulan la Apoptosis" nos habla acerca de que bcl-2 funciona evitando la muerte celular causada por atrofia ⁴²⁻⁴⁵.

No se detecta en los centroblastos proliferativos y los centrocitos que sufren apoptosis, sin embargo existe una alta expresión en la zona del manto, lo que sugiere que tal vez puede intervenir en la generación y mantenimiento de la memoria de células B.

La manera de actuar de bcl-2, regulando el índice de muerte celular, puede ser eficaz en el linfoma folicular humano en donde el cúmulo de células B eleva el índice de división celular. La capacidad de inmortalizar a los linfocitos B por medio del virus Epstein-Barr, puede ser mediada por inducción de bcl-2. En el timo, los timocitos medulares son positivos a la proteína, mientras que las células de la cortical son negativas, lo que sugiere que bcl-2 está involucrada en la selección positiva de la maduración de células T ^{7,20}.

Bcl-2 ha sido caracterizado por anticuerpos monoclonales producidos para el, los cuáles son de mucha utilidad para el diagnóstico de linfoma. Un anticuerpo monoclonal es capaz de detectar la proteína en la mayoría de las células T y B normales, con excepción del centro germinal de células B y timocitos. El antígeno fue expresado en casi todos los linfomas que se han analizado de células B y T de un bajo grado de malignidad, pero no en los de alto grado de malignidad ⁷.

El gen es inactivo en el centro germinal de células B que tiene un gran índice de muerte celular, pero es activo en casi toda la vida de las células T, B y linfomas de células B. El T(14;18) que resulta de la inactivación del gen bcl-2 aparentemente protege al centro folicular de células en apoptosis, lo cual promueve el desarrollo tumoral ⁷.

Bcl-2 EN LESIONES BENIGNAS, PREMALIGNAS Y MALIGNAS DE EPITELIO

Núñez y Clarke ⁴³ en 1994, Birchall ⁴⁷ en 1995 y Duke ⁴⁶ en 1997 mencionan el factor de crecimiento apoptótico aumenta en el epitelio normal y carcinoma in situ; disminuyendo en el epidermoide, comprobando con esto que el factor antiapoptótico de los tumores malignos favorece la falta de muerte célula. ^{43,46,47}.

Kaiser y cols. en 1996 ⁴⁸ mencionan que la expresión de bcl-2 refleja un constante fenotipo normal en tejido sano y lesiones benignas, que se pierde en las lesiones malignas conforme existe mayor diferenciación celular. Al estar bcl-2 presente en una neoplasia, puede lograr que se dé una transformación menos agresiva ^{48,49}.

Lai Fa y cols. en 1997 ⁴⁹ en su estudio realizado en el análisis de la proteína bcl-2 en epitelio nasofaríngeo normal, displásico y neoplásico, mencionan que el 80% de sus casos mostraron incremento en la expresión de bcl-2, sugiriendo que al aumentar esta expresión provoca inhibición de apoptosis ocasionando un crecimiento del tumor más rápido al bajar el índice de muerte celular normal por la presencia excesiva de la proteína. Esta inhibición de apoptosis parece ocurrir en las primeras etapas de la carcinogénesis y juega un papel muy importante en el desarrollo de tumores de origen epitelial. Dentro de sus resultados observaron que en el carcinoma nasofaríngeo bcl-2 se expresa en las células tumorales primarias, pero esto no se relacionó con la actividad metastásica de las células tumorales, lo que sugiere que el incremento de la expresión del gen puede estar asociada con la transición del epitelio normal al displásico y neoplásico, pero no está involucrada directamente a la progresión del tumor, por lo que concluyeron que los mecanismos no oncogénicos de la proteína ocasionan inhibición de apoptosis y no un aumento de la progresión del ciclo celular ^{49,52,53}.

El mecanismo para la transformación maligna requiere de un efecto sinérgico entre el aumento de la expresión de bcl-2 y una alteración en el gen p53 sugiriendo que la sobre-expresión de bcl-2 no solamente se debe a una traslocación en los cromosomas (T14; T18); si no también por mutación de p53. Desde que la inactivación de p53 ocurre en por lo menos la mitad de las neoplasias en el ser humano, la pérdida de ésta proteína media la represión de la cantidad de expresión de bcl-2, por la frecuencia de anomalías en la producción de la proteína ya que altos niveles de ésta han sido encontradas en una gran variedad de tumores humanos como el de mama, pulmón, tiroides, piel, cavidad bucal, próstata, cerebro, recto, colon y ovarios ^{49,50}.

También existen otros estudios como los de Jordan ⁵¹, en 1996, que menciona que existen evidencias recientes las cuales sugieren que la proteína bcl-2 es regulada por medio de una proteína llamada bax la cual contrarresta sus efectos y promueve la apoptosis.

Las alteraciones en estos dos genes pueden jugar un papel muy importante en la diferenciación celular y desarrollo del carcinoma de células escamosas de cavidad bucal. Los resultados obtenidos por Jordan fueron que la sobreexpresión de bcl-2 fue más común en el grupo de carcinomas epidermoides pobremente diferenciados que en los bien diferenciados siendo totalmente inverso en la expresión de bax, presentándose mayor expresión en los bien diferenciados que en los pobremente diferenciados. Además la fuerte expresión de bcl-2 en lesiones displásicas adyacentes al lugar en donde se encontraban los tumores invasivos, eleva la posibilidad de que la desregularización de bcl-2 es un evento temprano importante en la carcinogénesis del epitelio de la mucosa bucal ⁵¹ .

Las alteraciones de la apoptosis conducen a dos tipos de padecimientos: Aquellos que la expresan en exceso como en el SIDA y las que la mantienen inhibida como el cáncer ⁴¹ .

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El avance en el tratamiento y detección del cáncer ha aumentado, sin embargo la tasa de mortalidad aún es muy alta, por lo cual es importante conocer la biología molecular, ya que es la base para determinar el comportamiento biológico de las neoplasias malignas en el ser humano, para así realizar estudios que nos indiquen la posibilidad del inicio de una neoplasia con la finalidad de una detección temprana del carcinoma epidermoide de boca

JUSTIFICACIÓN

El carcinoma epidermoide de cavidad bucal y de orofaringe representan un 4% del total de cáncer en el hombre y el 2% en la mujer. La tasa de mortalidad representa el 2% en el hombre y el 1% en la mujer. Existen en la actualidad muchos avances en el tratamiento del cáncer, siempre y cuando éste sea detectado a tiempo. La detección temprana aún no se ha logrado llevar adecuadamente, ya que la sobrevida del cáncer en cavidad bucal sigue siendo baja. Es importante la detección temprana, ya que haciéndolo así se tiene la posibilidad de establecer un mejor pronóstico, logrando así aumentar el número de pacientes que tiene mayor probabilidad de sobrevivir a su enfermedad. Nosotros como Cirujanos Dentistas, conociendo las características propias de la enfermedad, lograremos aumentar el porcentaje de sobrevida. A través del examen de la cavidad bucal, toma de biopsias y diagnóstico temprano podemos hacer del control de la enfermedad un objetivo real y factible.

HIPOTESIS DE TRABAJO

La expresión de p53 es mayor en el carcinoma epidermoide y la displasia epitelial que en el papiloma, verruga vulgar y queratosis y la de bcl-2 es mayor en el papiloma, verruga vulgar y queratosis que en la displasia epitelial y el carcinoma epidermoide.

HIPOTESIS ALTERNA

La expresión de p53 y bcl-2 puede o no presentarse en papiloma, verruga vulgar, queratosis, displasia epitelial y carcinoma epidermoide.

HIPOTESIS NULA

La expresión de p53 y bcl-2 no se presenta en ninguna de las lesiones en estudio.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El avance en el tratamiento y detección del cáncer ha aumentado, sin embargo la tasa de mortalidad aún es muy alta, por lo cual es importante conocer la biología molecular, ya que es la base para determinar el comportamiento biológico de las neoplasias malignas en el ser humano, para así realizar estudios que nos indiquen la posibilidad del inicio de una neoplasia con la finalidad de una detección temprana del carcinoma epidermoide de boca

JUSTIFICACIÓN

El carcinoma epidermoide de cavidad bucal y de orofaringe representan un 4% del total de cáncer en el hombre y el 2% en la mujer. La tasa de mortalidad representa el 2% en el hombre y el 1% en la mujer. Existen en la actualidad muchos avances en el tratamiento del cáncer, siempre y cuando éste sea detectado a tiempo. La detección temprana aún no se ha logrado llevar adecuadamente, ya que la sobrevida del cáncer en cavidad bucal sigue siendo baja. Es importante la detección temprana, ya que haciéndolo así se tiene la posibilidad de establecer un mejor pronóstico, logrando así aumentar el número de pacientes que tiene mayor probabilidad de sobrevivir a su enfermedad. Nosotros como Cirujanos Dentistas, conociendo las características propias de la enfermedad, lograremos aumentar el porcentaje de sobrevida. A través del examen de la cavidad bucal, toma de biopsias y diagnóstico temprano podemos hacer del control de la enfermedad un objetivo real y factible.

HIPOTESIS DE TRABAJO

La expresión de p53 es mayor en el carcinoma epidermoide y la displasia epitelial que en el papiloma, verruga vulgar y queratosis y la de bcl-2 es mayor en el papiloma, verruga vulgar y queratosis que en la displasia epitelial y el carcinoma epidermoide.

HIPOTESIS ALTERNA

La expresión de p53 y bcl-2 puede o no presentarse en papiloma, verruga vulgar, queratosis, displasia epitelial y carcinoma epidermoide.

HIPOTESIS NULA

La expresión de p53 y bcl-2 no se presenta en ninguna de las lesiones en estudio.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El avance en el tratamiento y detección del cáncer ha aumentado, sin embargo la tasa de mortalidad aún es muy alta, por lo cual es importante conocer la biología molecular, ya que es la base para determinar el comportamiento biológico de las neoplasias malignas en el ser humano, para así realizar estudios que nos indiquen la posibilidad del inicio de una neoplasia con la finalidad de una detección temprana del carcinoma epidermoide de boca

JUSTIFICACIÓN

El carcinoma epidermoide de cavidad bucal y de orofaringe representan un 4% del total de cáncer en el hombre y el 2% en la mujer. La tasa de mortalidad representa el 2% en el hombre y el 1% en la mujer. Existen en la actualidad muchos avances en el tratamiento del cáncer, siempre y cuando éste sea detectado a tiempo. La detección temprana aún no se ha logrado llevar adecuadamente, ya que la sobrevida del cáncer en cavidad bucal sigue siendo baja. Es importante la detección temprana, ya que haciéndolo así se tiene la posibilidad de establecer un mejor pronóstico, logrando así aumentar el número de pacientes que tiene mayor probabilidad de sobrevivir a su enfermedad. Nosotros como Cirujanos Dentistas, conociendo las características propias de la enfermedad, lograremos aumentar el porcentaje de sobrevida. A través del examen de la cavidad bucal, toma de biopsias y diagnóstico temprano podemos hacer del control de la enfermedad un objetivo real y factible.

HIPOTESIS DE TRABAJO

La expresión de p53 es mayor en el carcinoma epidermoide y la displasia epitelial que en el papiloma, verruga vulgar y queratosis y la de bcl-2 es mayor en el papiloma, verruga vulgar y queratosis que en la displasia epitelial y el carcinoma epidermoide.

HIPOTESIS ALTERNA

La expresión de p53 y bcl-2 puede o no presentarse en papiloma, verruga vulgar, queratosis, displasia epitelial y carcinoma epidermoide.

HIPOTESIS NULA

La expresión de p53 y bcl-2 no se presenta en ninguna de las lesiones en estudio.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El avance en el tratamiento y detección del cáncer ha aumentado, sin embargo la tasa de mortalidad aún es muy alta, por lo cual es importante conocer la biología molecular, ya que es la base para determinar el comportamiento biológico de las neoplasias malignas en el ser humano, para así realizar estudios que nos indiquen la posibilidad del inicio de una neoplasia con la finalidad de una detección temprana del carcinoma epidermoide de boca

JUSTIFICACIÓN

El carcinoma epidermoide de cavidad bucal y de orofaringe representan un 4% del total de cáncer en el hombre y el 2% en la mujer. La tasa de mortalidad representa el 2% en el hombre y el 1% en la mujer. Existen en la actualidad muchos avances en el tratamiento del cáncer, siempre y cuando éste sea detectado a tiempo. La detección temprana aún no se ha logrado llevar adecuadamente, ya que la sobrevida del cáncer en cavidad bucal sigue siendo baja. Es importante la detección temprana, ya que haciéndolo así se tiene la posibilidad de establecer un mejor pronóstico, logrando así aumentar el número de pacientes que tiene mayor probabilidad de sobrevivir a su enfermedad. Nosotros como Cirujanos Dentistas, conociendo las características propias de la enfermedad, lograremos aumentar el porcentaje de sobrevida. A través del examen de la cavidad bucal, toma de biopsias y diagnóstico temprano podemos hacer del control de la enfermedad un objetivo real y factible.

HIPOTESIS DE TRABAJO

La expresión de p53 es mayor en el carcinoma epidermoide y la displasia epitelial que en el papiloma, verruga vulgar y queratosis y la de bcl-2 es mayor en el papiloma, verruga vulgar y queratosis que en la displasia epitelial y el carcinoma epidermoide.

HIPOTESIS ALTERNA

La expresión de p53 y bcl-2 puede o no presentarse en papiloma, verruga vulgar, queratosis, displasia epitelial y carcinoma epidermoide.

HIPOTESIS NULA

La expresión de p53 y bcl-2 no se presenta en ninguna de las lesiones en estudio.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El avance en el tratamiento y detección del cáncer ha aumentado, sin embargo la tasa de mortalidad aún es muy alta, por lo cual es importante conocer la biología molecular, ya que es la base para determinar el comportamiento biológico de las neoplasias malignas en el ser humano, para así realizar estudios que nos indiquen la posibilidad del inicio de una neoplasia con la finalidad de una detección temprana del carcinoma epidermoide de boca

JUSTIFICACIÓN

El carcinoma epidermoide de cavidad bucal y de orofaringe representan un 4% del total de cáncer en el hombre y el 2% en la mujer. La tasa de mortalidad representa el 2% en el hombre y el 1% en la mujer. Existen en la actualidad muchos avances en el tratamiento del cáncer, siempre y cuando éste sea detectado a tiempo. La detección temprana aún no se ha logrado llevar adecuadamente, ya que la sobrevida del cáncer en cavidad bucal sigue siendo baja. Es importante la detección temprana, ya que haciéndolo así se tiene la posibilidad de establecer un mejor pronóstico, logrando así aumentar el número de pacientes que tiene mayor probabilidad de sobrevivir a su enfermedad. Nosotros como Cirujanos Dentistas, conociendo las características propias de la enfermedad, lograremos aumentar el porcentaje de sobrevida. A través del examen de la cavidad bucal, toma de biopsias y diagnóstico temprano podemos hacer del control de la enfermedad un objetivo real y factible.

HIPOTESIS DE TRABAJO

La expresión de p53 es mayor en el carcinoma epidermoide y la displasia epitelial que en el papiloma, verruga vulgar y queratosis y la de bcl-2 es mayor en el papiloma, verruga vulgar y queratosis que en la displasia epitelial y el carcinoma epidermoide.

HIPOTESIS ALTERNA

La expresión de p53 y bcl-2 puede o no presentarse en papiloma, verruga vulgar, queratosis, displasia epitelial y carcinoma epidermoide.

HIPOTESIS NULA

La expresión de p53 y bcl-2 no se presenta en ninguna de las lesiones en estudio.

OBJETIVO GENERAL

* Evaluar la inmunexpresion y expresi3n de p53 y Bcl-2 en papiloma, verruga vulgar, queratosis, displasia epitelial y carcinoma epidermoide.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- * Detectar la expresi3n p53 en epitelio de lesiones benignas y premalignas de cavidad bucal en estudio.
- * Detectar la presencia o ausencia de 3ste gen supresor en carcinoma epidermoide de la cavidad bucal.
- * Comparar los resultados obtenidos en los tres tipos de lesiones en estudio.
- * Valorar la expresi3n de Bcl-2 en lesiones consideradas benignas, premalignas y malignas de epitelio.
- * Correlacionar la inmunexpresion de p53 y Bcl-2 en las tres lesiones en estudio.
- * Comparar los resultados de la inmunexpresi3n de p53 y Bcl-2 con la gradificaci3n histol3gica del carcinoma epidermoide.

UNIVERSO DE ESTUDIO

CRITERIOS DE INCLUSI3N

Todos aquellos tejidos que microsc3picamente presenten las caracteristicas de papiloma, verruga vulgar, queratosis, displasia epitelial y carcinoma epidermoide.

CRITERIOS DE EXCLUSI3N

Aquellos tejidos que no presenten las lesiones en estudio.

VARIABLES DEPENDIENTES

La respuesta del tejido a la administraci3n de los anticuerpos.

VARIABLES INDEPENDIENTES

La administraci3n de los anticuerpos anti- p53 y anti Bcl-2.

DISEÑO DE ESTUDIO

Retrospectivo

Transversal

Descriptivo

Comparativo

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL:

EQUIPO

- Potenciómetro Beckman.
- Horno de microondas 500- 1000 w.
- Cámara húmeda Shandon.
- Estufa de temperatura ambiente 100°C.
- Rack para tinción para 10 laminillas Shandon.
- Coverplates Shandon Cat.No. 7211013 .
- Vasos de Coplin de plástico.
- Vasos de Coplin de vidrio.
- Micropipetas:
 - 10 ml.
 - 100 ml.
 - 200 ml.
 - 1000 ml.
- Puntas amarillas y azules .
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Agua desionizada.

REACTIVOS:

- * Tri- sodio citrato 2- hidrato para análisis Merck.
- * Peróxido de Hidrógeno al 30%.
- * $K_2 HPO_4$.
- * $K HPO_4$.
- * NaCl.
- * Hematoxilina Meyers o Harris.
- * Medio de montaje Entellan.
- * Poli- l - lisina marca Sigma. (100ml)
- * Pap - pon (marcador hidrofóbico) DAKO.
- * Hidróxido de amonio.
- * Xilol.
- * Alcohol 100%.
- * Alcohol 96%.
- * Hematoxilina.
- * Solución Scott.
- * Eosina.
- * Alcohol Xilol.

ANTICUERPOS

- * P53 protein(DO-7) Monoclonal (NCL-p53-DO7) clone DO-7
- * Bcl-2 Monoclonal (NCL-Bcl-2) clone bcl/100D5
- * ABC (Elite, PK-6102 Mouse IgG VECTOR
- * Cromógeno Peroxidase substrate Kit DAB. SK 4100 VECTOR

METODOLOGÍA

Para llevar a cabo éste estudio se seleccionaron 34 casos del archivo del laboratorio de Patología Clínica y experimental de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM .

De los 34 casos seleccionados fueron 15 lesiones benignas dentro de las cuales fueron 3 papilomas, 3 verrugas vulgares y 9 queratosis; 5 lesiones premalignas dentro de las cuales fueron 2 displasias leves, una moderada y dos severas y 14 lesiones malignas dentro de las cuales hubo 4 de bajo grado, 6 de grado intermedio y 4 de alto grado de malignidad.

Se seleccionaron los bloques y las laminillas. Las laminillas teñidas con H y E fueron revisadas para corroborar la presencia o ausencia de lesión histológicamente, las laminillas sin evidencia de tumor fueron descartadas del estudio.

Los bloques de parafina de las laminillas seleccionadas se usaron para obtener secciones de 4 micras de espesor, que fueron montadas en portaobjetos previamente tratados con silano se realizaron 6 cortes histológicos de cada uno de los casos.

Uno de ellos se tiñeron de manera convencional con H y E para la observación morfológica y la gradificación de los tumores malignos.

TECNICA INMUNOHISTOQUIMICA

Se desparafinaron en xilol las laminillas a tratar, se pasaron por alcoholes a diferentes concentraciones para hidratar y se lavaron con agua destilada desionizada.

Posteriormente se colocaron en Buffer de citrato con pH=6 a una modalidad de .1 y se llevaron al horno de microondas de alto poder durante 5 a 10 minutos para recuperación antigénica.

Se lavaron con PBS por 5 minutos y se procedió al bloqueo de peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno al 3% incubándolos de 3 a 5 minutos a temperatura ambiente. Nuevamente se lavaron con PBS y colocaron en PBS limpio en un vaso de Coplin con PBS.

Se bloquearon sitios inespecíficos o cargados con suero normal durante 10 a 20 minutos el cual se preparó usando 10 ml de PBS x 3 gotas de suero normal de caballo, se agitó y se usó.

Se incubaron los tejidos con el anticuerpo primario durante 40 min.(en cámara húmeda).Decantandolo y colocando el anticuerpo primario así como el control negativo.

Se preparó el anticuerpo secundario con 10 ml. de PBS, 3 gotas del suero bloqueador y 1 gota del ácido biotilnado ;para preparar el ABC se ponen 5 ml de PBS y se agregan 2 gotas del reactivo A y 2 gotas del reactivo B mezclándose fuertemente.

Una vez concluidos los 40 minutos de incubación con el anticuerpo primario se lavaron las laminillas con PBS y se montaron en Coverplates con PBS. Se colocaron en Racks y se le agregaron 2 o 3 gotas del Ac secundario dejándose incubar durante 20 a 30 minutos a temperatura ambiente. Se enjuagaron con PBS dejándose 5 minutos a que baje este. Se colocaron 2 o 3 gotas del ABC y se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente.

Se lavaron nuevamente con PBS y se preparó el cromógeno. Se agitó el cromógeno y se agregaron 2 gotas a cada coverplate incubándolos durante 5 minutos. Se checó la reacción al microscopio y se le colocó más cromógeno.

Una vez realizados estos pasos se lavaron y se colocaron en un vaso de Coplin con agua. Se procedió a realizar la contratinción, se filtró la Hematoxilina y se vació en el vaso de Coplin con las laminillas, se bañaron y se dejaron en agua caliente. Por último se deshidrataron las laminillas en alcohol y se montaron. Los especímenes fueron evaluados semicuantitativamente para la inmunexpresión de p53 y Bcl-2 en un microscopio de campo claro se revisaron microscópicamente en aumento de 10X para acercamiento y 40X para observación y cuantificación; todo esto en 20 campos. Como control se realizó el mismo procedimiento pero la incubación se llevó a cabo sustituyendo el primer anticuerpo por PBS pH = 7.4

OBTENCIÓN DE RESULTADOS

La inmunexpresión de p53 y Bcl-2 fue evaluada de acuerdo a una ordinal semicuantitativa donde, 0= nula, + = leve, ++ = moderada y +++ = severa .

La evaluación fue realizada por 2 examinadores previa la estandarización de criterios. La cuantificación de las células positivas se realizó a 40X contando en 20 campos. En la *figura 4* demostramos la forma como se cuantificaron las proteínas expresadas para obtener nuestros resultados.

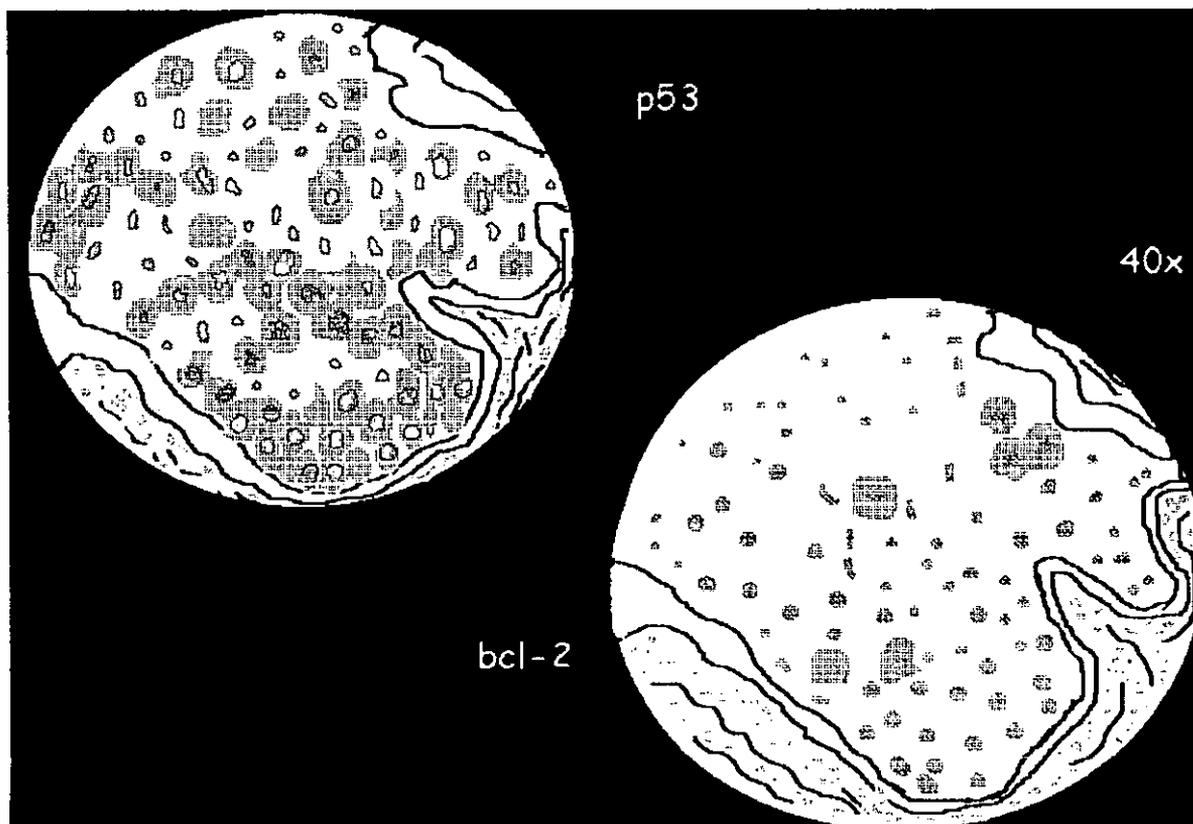


FIGURA 4. EXPRESION DE p53 Y bcl-2 EN CARCINOMA

Una vez realizados estos pasos se lavaron y se colocaron en un vaso de Coplin con agua. Se procedió a realizar la contratinción, se filtró la Hematoxilina y se vació en el vaso de Coplin con las laminillas, se bañaron y se dejaron en agua caliente. Por último se deshidrataron las laminillas en alcohol y se montaron. Los especímenes fueron evaluados semicuantitativamente para la inmunexpresión de p53 y Bcl-2 en un microscopio de campo claro se revisaron microscópicamente en aumento de 10X para acercamiento y 40X para observación y cuantificación; todo esto en 20 campos. Como control se realizó el mismo procedimiento pero la incubación se llevó a cabo sustituyendo el primer anticuerpo por PBS pH = 7.4

OBTENCIÓN DE RESULTADOS

La inmunexpresión de p53 y Bcl-2 fue evaluada de acuerdo a una ordinal semicuantitativa donde, 0= nula, + = leve, ++ = moderada y +++ = severa .

La evaluación fue realizada por 2 examinadores previa la estandarización de criterios. La cuantificación de las células positivas se realizó a 40X contando en 20 campos. En la *figura 4* demostramos la forma como se cuantificaron las proteínas expresadas para obtener nuestros resultados.

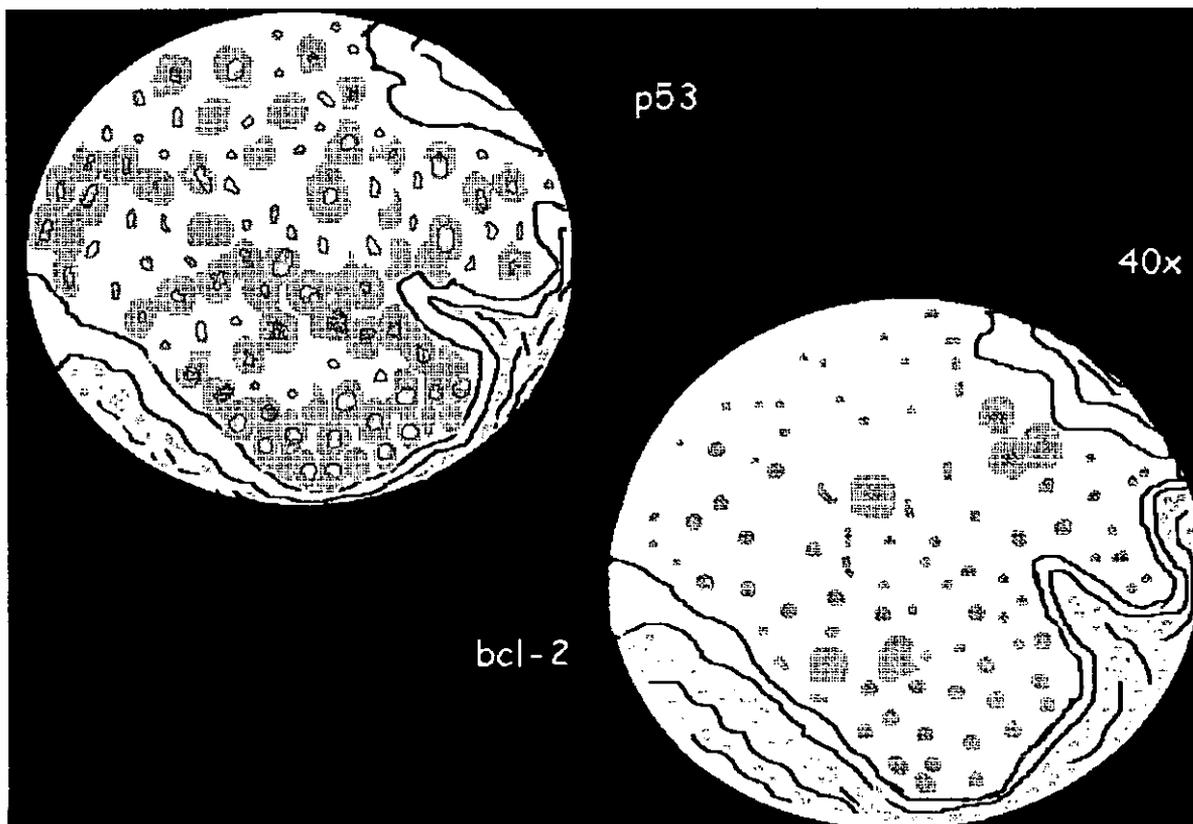


FIGURA 4. EXPRESION DE p53 Y bcl-2 EN CARCINOMA

ANALISIS ESTADISTICO:

A cada lesión en estudio se le obtuvo el número total de células positivas, el número promedio por campo, la desviación estándar, el rango mínimo, el rango máximo, el promedio, el sesgo; tanto global como individual. Se aplicó el coeficiente de correlación de Spearman a p53 con bcl-2, p53 con criterios de Jakobsson y a bcl-2 y criterios de Jakobsson.

RESULTADOS

Del total de los casos en estudio, al revisar las solicitudes de estudio histopatológico encontramos que: la edad promedio en los papilomas fue de 29 años, sin predilección por el sexo; en la verruga vulgar la edad promedio fue de 41 años, sin predilección por el sexo; las queratosis se presentaron en pacientes con edad promedio de 47 años y el 42% de ellas correspondieron al sexo masculino y el 58 % al sexo femenino.

De las displasias en estudio en la leve la edad promedio fue de 47 años, sin predilección por el sexo; en la moderada la edad fue también de 47 años, pero todos los casos fueron de sexo femenino y en la displasia epitelial severa la edad promedio fue de 58 años, sin predilección por el sexo.

En el carcinoma epidermoide la edad promedio fue de 40 años y el 71% se presentó en hombres y el 29% en mujeres.

RESULTADOS OBTENIDOS CON H y E

Del total de las muestras teñidas con H y E obtuvimos 3 casos de verruga vulgar, 3 casos de papiloma, 9 casos de queratosis, 5 casos de displasia de los cuales fueron dos leves, una moderada y dos severas; y 14 casos de carcinoma epidermoide; de acuerdo el criterio de Jakobson los carcinomas se clasificaron como 4 de bajo grado, 6 de grado intermedio y 4 de alto grado de malignidad, como se muestra en la *tabla 1*.

**TABLA 1, GRADIFICACION HISTOLOGICA DE ACUERDO A
LOS CRITERIOS DE JACKOBSON:**

6-13 BAJO, 14-16 INTERMEDIO, 17-24 ALTO

FOI-20898

Queratinización	II
Polimorfismo nuclear	III
Número de mitosis	III
Patron de invasión	II
Infiltrado linfoplasmocitario	I
Estado de invasión tumoral	II

Puntaje: 13 Grado: BAJO

FOI-20998

Queratinización	II
Polimorfismo nuclear	III
Número de mitosis	II
Patrón de invasión	III
Infiltrado linfoplasmocitario	I
Estado de invasión tumoral	II

Puntaje: 11 Grado: BAJO

FOI-21098

Queratinización	III
Polimorfismo nuclear	IV
Número de mitosis	III
Patrón de invasión	IV
Infiltrado linfoplasmocitario	II
Estado de invasión tumoral	II

Puntaje: 18 Grado: ALTO

FOI-21198

Queratinización	III
Polimorfismo nuclear	III
Número de mitosis	IV
Patrón de invasión	I
Infiltrado linfoplasmocitario	I
Estado de invasión tumoral	III

Puntaje: 15***Grado: INTERMEDIO*****FOI-21298 y 21698**

Queratinización	I
Polimorfismo nuclear	IV
Número de mitosis	I
Patrón de invasión	IV
Infiltrado linfoplasmocitario	II
Estado de invasión tumoral	II

Puntaje: 14***Grado: INTERMEDIO*****FOI-21398**

Queratinización	II
Polimorfismo nuclear	IV
Número de mitosis	I
Patrón de invasión	IV
Infiltrado linfoplasmocitario	I
Estado de invasión tumoral	II

Puntaje: 14***Grado: INTERMEDIO*****FOI-21498**

Queratinización	II
Polimorfismo nuclear	IV
Número de mitosis	I
Patrón de invasión	IV
Infiltrado linfoplasmocitario	II
Estado de invasión tumoral	II

Puntaje: 15***Grado: INTERMEDIO***

FOI-21598, 21798 y 22698

Queratinización	IV
Polimorfismo nuclear	IV
Número de mitosis	I
Patrón de invasión	IV
Infiltrado linfoplasmocitario	IV
Estado de invasión tumoral	IV

Puntaje: 21 Grado: ALTO

FOI-21898

Queratinización	IV
Polimorfismo nuclear	IV
Número de mitosis	II
Patrón de invasión	IV
Infiltrado linfoplasmocitario	I
Estado de invasión tumoral	II

Puntaje: 17 Grado: ALTO

FOI-21998, 22098 y 22198

Queratinización	III
Polimorfismo nuclear	III
Número de mitosis	II
Patrón de invasión	II
Infiltrado linfoplasmocitario	I
Estado de invasión tumoral	II

Puntaje: 13 Grado: BAJO

FOI-22298

Queratinización	II
Polimorfismo nuclear	III
Número de mitosis	II
Patrón de invasión	I
Infiltrado linfoplasmocitario	I
Estado de invasión tumoral	III

Puntaje: 12 Grado: BAJO

FOI-22398

Queratinización	IV
Polimorfismo nuclear	III
Número de mitosis	II
Patrón de invasión	III
Infiltrado linfoplasmocitario	II
Estado de invasión tumoral	II

Puntaje: 16***Grado: INTERMEDIO*****FOI-22498**

Queratinización	IV
Polimorfismo nuclear	II
Número de mitosis	II
Patrón de invasión	III
Infiltrado linfoplasmocitario	I
Estado de invasión tumoral	II

Puntaje: 14***Grado: INTERMEDIO*****FOI-22598**

Queratinización	I
Polimorfismo nuclear	IV
Número de mitosis	II
Patrón de invasión	IV
Infiltrado linfoplasmocitario	II
Estado de invasión tumoral	IV

Puntaje: 17***Grado: ALTO*****RESULTADOS DE LA INMUNOEXPRESION DE p53**

Al analizar la expresión de p53 tomamos en cuenta el tipo de expresión y el número de células que se expresaron; la inmunexpresión fue nula en 7 casos y leve en 8 casos; del total de los 15 casos de lesiones benignas.

De la cuantificación sobre el número de células positivas en p53 se obtuvieron los siguientes resultados que se muestran en la **tabla 2:**

TABLA 2 INMUNOEXPRESION DE p53 EN LESIONES BENIGNAS POR CASO

PAPILOMA

Caso	Número total de células positivas por caso	Promedio de células positivas por campo
1	0	0
2	5	.25
3	0	0

$$\Sigma = 5$$

$$M = .08$$

VERRUGA

4	0	0
5	21	1.05
6	0	0

$$\Sigma = 21$$

$$M = .35$$

QUERATOSIS

7	0	0
8	0	0
9	88	24.4
10	12	.6
11	18	.9
12	99	4.95
13	11	.55
14	104	5.2
15	0	0

$$\Sigma = 332$$

$$M = 4.06$$

El papiloma tuvo un un rango mínimo de 0 y máximo de 5 células positivas, con una media de .08, una sd $\pm .09$ con un sesgo de .25.

Lo verruga vulgar tuvo un rango mínimo de 0 y máximo de 21 células positivas, con una media de .35, una sd $\pm .38$ con un sesgo de 1.05.

La queratosis tuvo un número total de 332 células positivas, un rango mínimo de 11 y máximo de 104, con una media de 4.06, una sd $\pm .93$. con un sesgo de 24.4.

El resultado global de las lesiones benignas se muestra en la *tabla 3*.

TABLA 3 INMUNOEXPRESION DE p53 EN PAPILOMA, VERRUGA Y QUERATOSIS

LESIÓN	No. total de células	Rango mínimo	Rango máximo	Media	Sd ±	Sesgo
Papiloma	5	0	5	.08	.09	.25
Verruga	21	0	21	.35	.38	1.05
Queratosis	332	11	104	4.06	.93	24.4

De acuerdo a nuestros resultados que se mostraron en la tabla 2 y 3, en las lesiones benignas el total de células expresadas fue de 358 en 8 casos que se expresaron, con una media de 2.52, sd ± 1.62 y un sesgo de 24.4.

La lesiones premalignas fueron un total de 5 casos y al analizar la expresión de p53 tomando en cuenta el tipo de expresión y el número de células que se expresaron; la inmunexpresión fue nula en 2 casos y leve en 3 casos. De la cuantificación sobre el número de células positivas en p53 se obtuvieron los siguientes resultados que se muestran en la *tabla 4*.

TABLA 4 INMUNOEXPRESION DE p53 EN LESIONES PREMALIGNAS POR CASO

DISPLASIA LEVE

Casos	Número total de células positivas por caso	Promedio de células positivas por campo
1	160	8
2	32	1.6
	$\Sigma = 192$	$M = 4.8$

DISPLASIA MODERADA

3	0	0
	$\Sigma = 0$	$M = 0$

DISPLASIA SEVERA

4	132	6.6
5	0	0
	$\Sigma = 132$	$M = 3.3$

La displasia leve tuvo un número total de células positivas de 192 con un rango mínimo de 32 y máximo 160, con una media de 4.8, sd \pm 5.28 y un sesgo de 7.4.

En las displasia moderada no se obtuvo ningún dato porque no hubo inmunoexpresión de la proteína.

La displasia severa tuvo un rango mínimo de 0 y máximo de 132 células positivas, con una media de 3.3, sd \pm 3.3 y un sesgo de 6.6. El resultado global de las lesiones premalignas se muestra en la *tabla 5*.

TABLA 5 INMUNOEXPRESION DE p53 EN DISPLASIA LEVE, MODERADA Y SEVERA

DISPLASIAS	Total de células positivas	Rango mínimo	Rango máximo	Media	Sd \pm	Sesgo
Leve	192	32	160	4.8	5.28	7.4
Moderada	0	0	0	0	0	0
Severa	132	0	132	3.3	3.3	6.6

De acuerdo a nuestros resultados que se mostraron en la tabla 4 y 5, en las lesiones diagnosticadas como displasias el total de número de células fue de 324 de 3 casos que se expresaron con una media de 3.24, sd \pm 1.69 , con un sesgo de 8.

Las lesiones malignas revisadas en este trabajo fueron 4 casos de bajo grado, 6 de grado intermedio y 4 de alto grado, teniendo un total de 14 casos. Al analizar la expresión de p53 en el carcinoma epidermoide con sus diferentes gradificaciones tomamos en cuenta el tipo de expresión y el número de células que se expresaron; la inmunoexpresión fue nula en 6 casos, leve en 4 casos, moderada en 2 casos y severa en 2 casos.

De la cuantificación sobre el número de células positivas A p53 se obtuvieron los siguientes resultados que se muestran en la *tabla 6*:

TABLA 6 INMUNOEXPREISION DE p53 EN LESIONES MALIGNAS POR CASO

BAJO GRADO

Casos	Número total de células positivas por caso	Promedio de células positivas por campo
1	4528	226.4
2	0	0
3	224	11.2
4	0	0
$\Sigma = 4752$		$M = 59.4$

GRADO INTERMEDIO

5	4330	216.5
6	915	45.75
7	0	0
8	0	0
9	915	45.75
10	0	0
$\Sigma = 6160$		$M = 51.3$

ALTO GRADO

11	484	24.2
12	1653	82.65
13	0	0
14	279	13.95
$\Sigma = 2416$		$M = 30.20$

En los 4 casos de bajo grado de malignidad el total de número de células positivas fue de 4752, un rango mínimo de 224 y máximo de 4528, una media de 59.4 y sd ± 55.74 , con un sesgo de 226.4.

En los 6 casos de grado intermedio de malignidad el total de número de células positivas fue de 6160, un rango mínimo de 915 y máximo de 4330, con una media de 51.3, una sd ± 32.4 y un sesgo de 216.5.

En los 4 casos de alto grado de malignidad el número total de células positivas fue de 2416, un rango mínimo de 279 y máximo de 1653, con una media de 30.20, sd ± 10.48 y un sesgo de 82.65.

El resultado global del carcinoma epidermoide se muestra en *tabla 7*.

TABLA 7 INMUNOEXPRESION DE p53 EN CARCINOMA EPIDERMOIDE DE BAJO, INTERMEDIO Y ALTO GRADO DE MALIGNIDAD

CARCINOMA EPIDERMOIDE	Total de células positivas	Rango mínimo	Rango máximo	Media	Sd \pm	Sesgo
Bajo grado	4752	224	4528	59.4	55.74	226.4
Grado intermedio	6160	915	4330	51.3	32.40	216.5
Alto grado	2416	279	1653	30.20	10.48	82.65

De acuerdo a los resultados que se mostraron en la tabla 6 y 7, en el carcinoma epidermoide independientemente de su gradificación histológica; su número total de células positivas fue de 13,328 en 8 casos que se expresaron, con una media de 47.6, sd ± 20.7 con un sesgo de 226.4.

RESULTADOS DE LA INMUNOEXPRESION DE bcl-2

Al analizar la expresión de bcl-2 en las lesiones benignas tomamos en cuenta el tipo de expresión y el número de células que se expresaron; la inmunexpresión fue nula en 9 casos, leve en 5 casos y moderada en 1 caso, del total de los 15 casos. De la cuantificación sobre el número de células positivas en bcl-2 se obtuvieron los siguientes resultados que se muestran en la *tabla 8*:

TABLA 8 INMUNOEXPRESION DE bcl-2 EN LESIONES BENIGNAS POR CASO

PAPILOMA

Caso	Número total de células positivas por caso	Promedio de células positivas por campo
1	52	17.3
2	0	0
3	0	0
$\Sigma = 52$		$M = 5.76$

VERRUGA

4	0	0
5	148	7.4
6	0	0
$\Sigma = 148$		$M = 2.46$

QUERATOSIS

7	0	0
8	2	2
9	5	1.6
10	0	0
11	28	4.6
12	149	10.6
13	0	0
14	0	0
15	0	0
$\Sigma = 184$		$M = 2.08$

El papiloma tuvo un rango mínimo de 0 y máximo de 52 células positivas, con una media de 5.76, una sd ± 5.76 y un sesgo de 17.3.

Lo verruga vulgar tuvo un rango mínimo de 0 y máximo de 148 células positivas, con una media de 2.46, una sd ± 2.46 y un sesgo de 7.4.

La queratosis tuvo un número total de células de 184, un rango mínimo de 2 y máximo de 149, con una media de 2.08, una sd ± 1.18 y un sesgo de 9.

El resultado global de las lesiones benignas se muestra en la *tabla 9*.

TABLA 9 INMUNOEXPRESION DE bcl-2 EN PAPILOMA, VERRUGA Y QUERATOSIS

LESIÓN	No. total de células	Rango mínimo	Rango máximo	Media	Sd \pm	Sesgo
Papiloma	52	0	52	5.76	5.76	17.3
Verruga	148	0	148	2.46	2.46	7.4
Queratosis	184	2	149	2.08	1.18	9

De acuerdo a los resultados que se mostraron en la tabla 8 y 9, en las lesiones benignas el total de células expresadas fue de 384 en 6 casos que se expresaron, una media de 2.9, sd ± 1.3 y un sesgo de 17.3.

Al analizar la expresión de bcl-2 en lesiones premalignas tomamos en cuenta el tipo de expresión y el número de células que se expresaron; la inmunexpresión fue nula en los 5 casos, no se obtuvo cuantificación porque no hubo expresión de la proteína y en el carcinoma epidermoide con sus diferentes gradificaciones; la inmunexpresión fue nula en 11 casos, leve en 2 casos, moderada en 1 caso, no expresándose la forma severa. De la cuantificación sobre el número de células positivas en bcl-2 se obtuvieron los siguientes resultados que se muestran en la *tabla 10*:

TABLA 10 INMUNOEXPRESION DE bcl-2 EN LESIONES MALIGNAS POR CASO

BAJO GRADO

<i>Caso</i>	<i>Número total de células positivas por caso</i>	<i>Promedio de células positivas por campo</i>
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	2	2
	$\Sigma = 2$	$M = .5$

GRADO INTERMEDIO

5	0	0
6	22	2.4
7	635	31.75
8	0	0
9	0	0
10	0	0
	$\Sigma = 657$	$M = 5.69$

ALTO GRADO

11	0	0
12	0	0
13	0	0
14	0	0
	$\Sigma = 0$	$M = 0$

En los 4 casos de bajo grado de malignidad tuvimos un rango mínimo de 0 y máximo de 2 células positivas, una media de .5 y sd \pm .49, con un sesgo de 2. En los 6 casos de grado intermedio el total de número de células fue de 657, un rango mínimo de 22 y máximo de 635, con una media de 5.69, una sd \pm 5.22 y un sesgo de 29.35. En los 4 casos de alto grado no se expresó la proteína.

El resultado global de las lesiones malignas se muestran en *tabla 11*.

TABLA 11 INMUNOEXPRESION DE bcl-2 EN CARCINOMA EPIDERMOIDE DE BAJO, INTERMEDIO Y ALTO GRADO DE MALIGNIDAD

CARCINOMA EPIDERMOIDE	No. total de células	Rango mínimo	Rango máximo	Media	Sd ±	Sesgo
Bajo grado	2	0	2	5	4.9	2
Grado intermedio	657	0	635	5.69	5.22	29.35
Alto grado	0	0	0	0	0	0

De acuerdo a nuestros resultados que se mostraron en la tabla 6 y 7, en el carcinoma epidermoide independientemente de su gradificación histológica; su número total de células fue de 659 de 4 casos que se expresaron, con una media de 2.58 , sd \pm 2.25 y un sesgo de 31.75 .

COMPARACION DE RESULTADOS ENTRE p53 Y bcl-2

Al comparar los resultados entre p53 y bcl-2 se obtuvo lo siguiente: Se encontraron 15 casos nulos para p53 mientras que en bcl-2 fueron 25, 15 leves en p53 y 7 en bcl-2, 2 moderadas para p53 y 2 para bcl-2, en las severas hubo 2 casos de p53 expresados mientras que en bcl-2 no hubo ninguna, como se muestra en la *tabla 12*.

TABLA 12 COMPARACION DE LA INMUNOEXPRESION DE p53 Y bcl-2 EN EL TOTAL DE LOS CASOS

PROTEINA	NULA=0	LEVE	MODERADA	SEVERA
P53	15	15	2	2
Bcl-2	25	7	2	0

La comparación de los resultados por caso en las lesiones benignas, se muestran de acuerdo a cada lesión en las *figuras 5, 6 y 7* y en la *gráfica 1* :

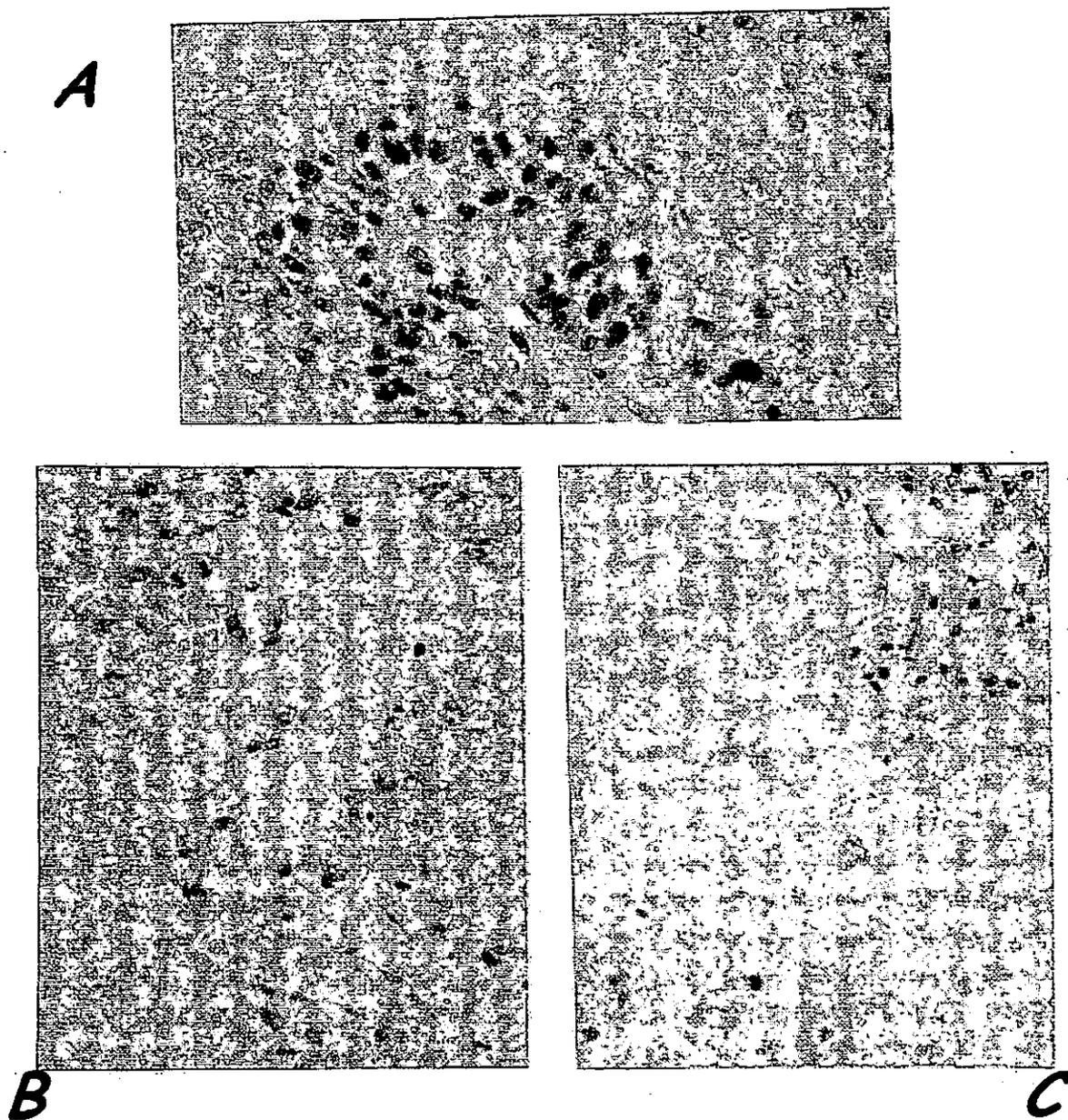


FIGURA 5. PAPILOMA, 40X. A) TINCION DE H y E, B) p53 Y C) bcl-2. Obsérvese que no hubo reacción a ninguna de las dos proteínas.

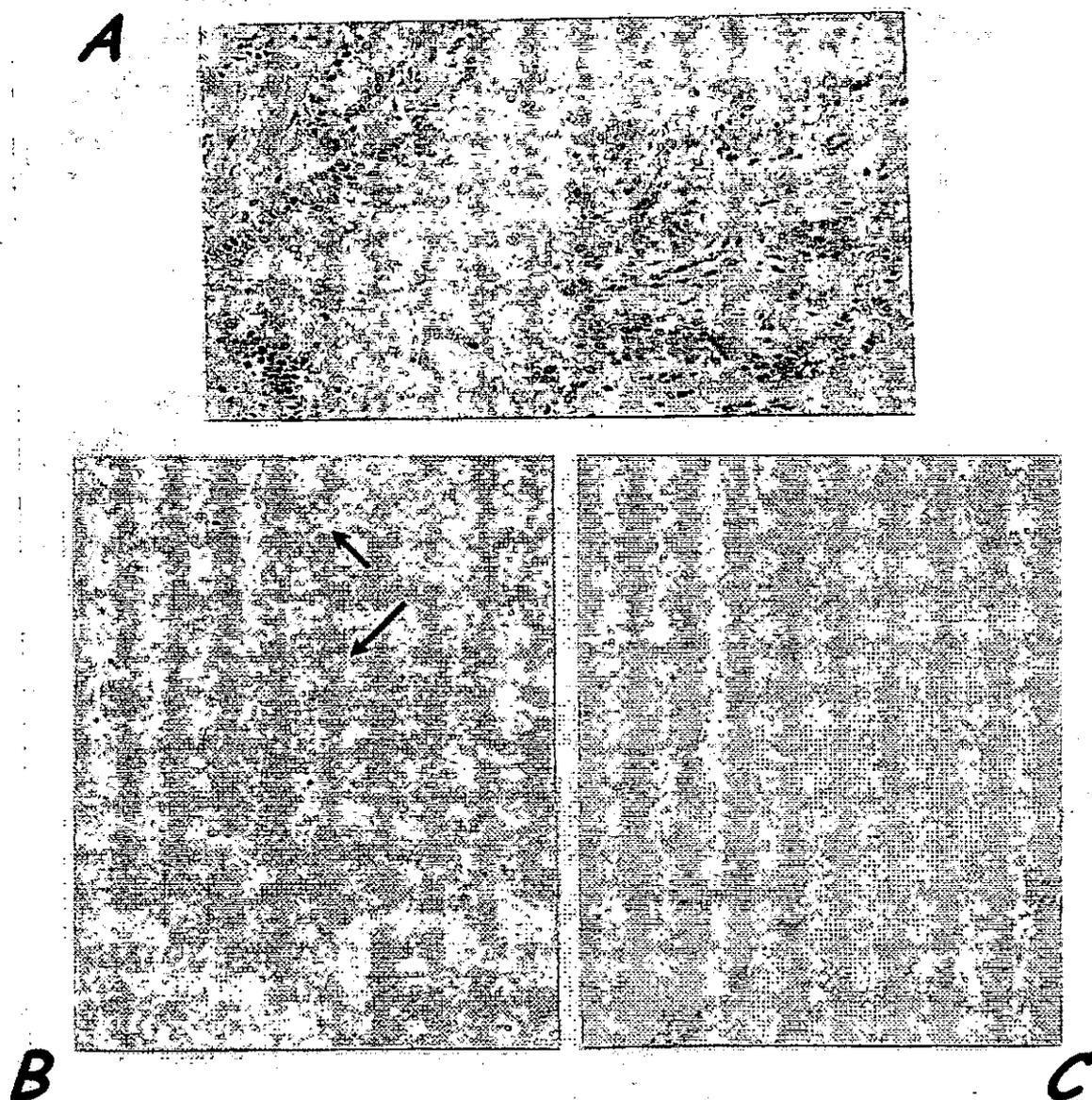


FIGURA 6. VERRUGA VULGAR 20x. A) H y E, B) p53, las flechas indican las células que resultaron positivas, c) No existió expresión de bcl-2.

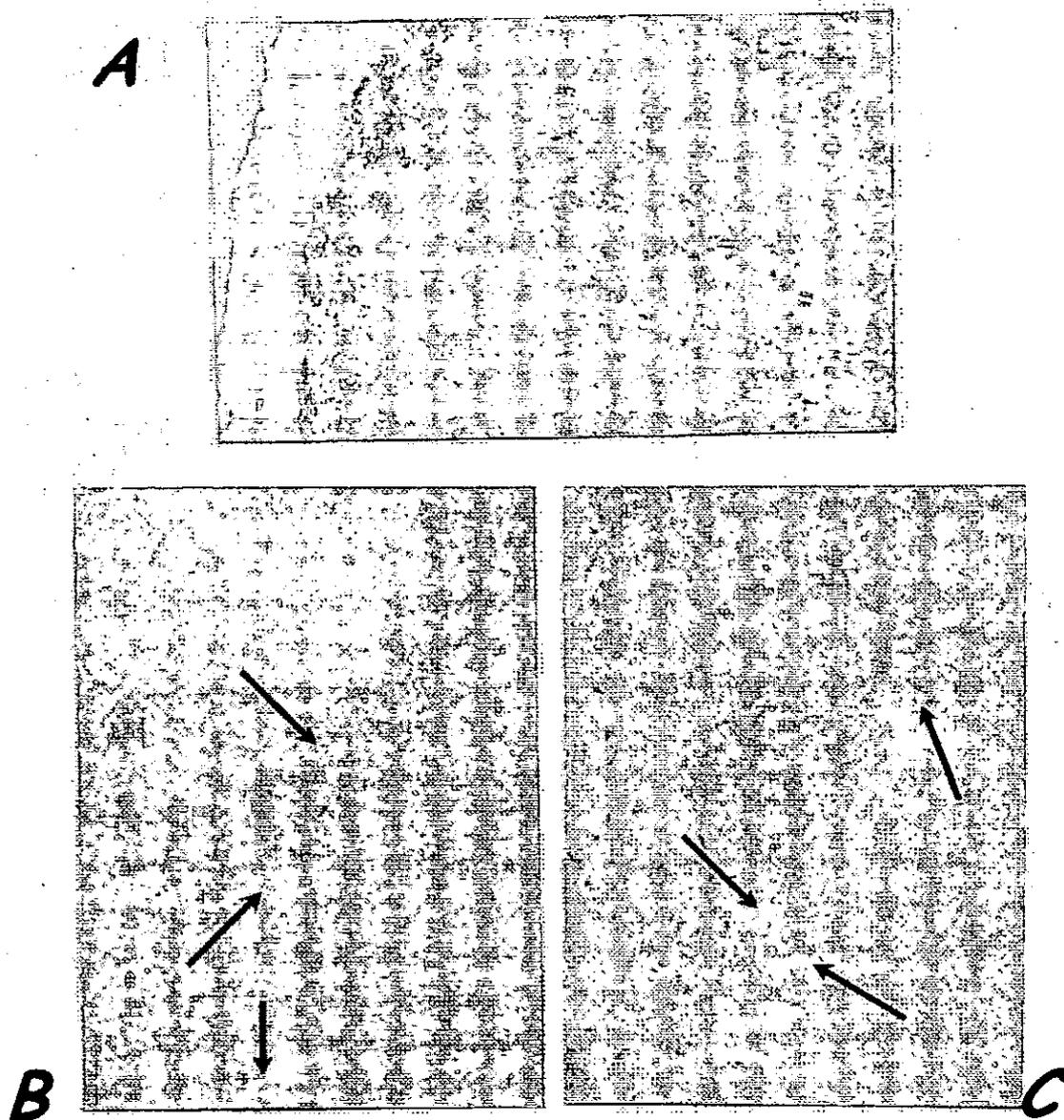
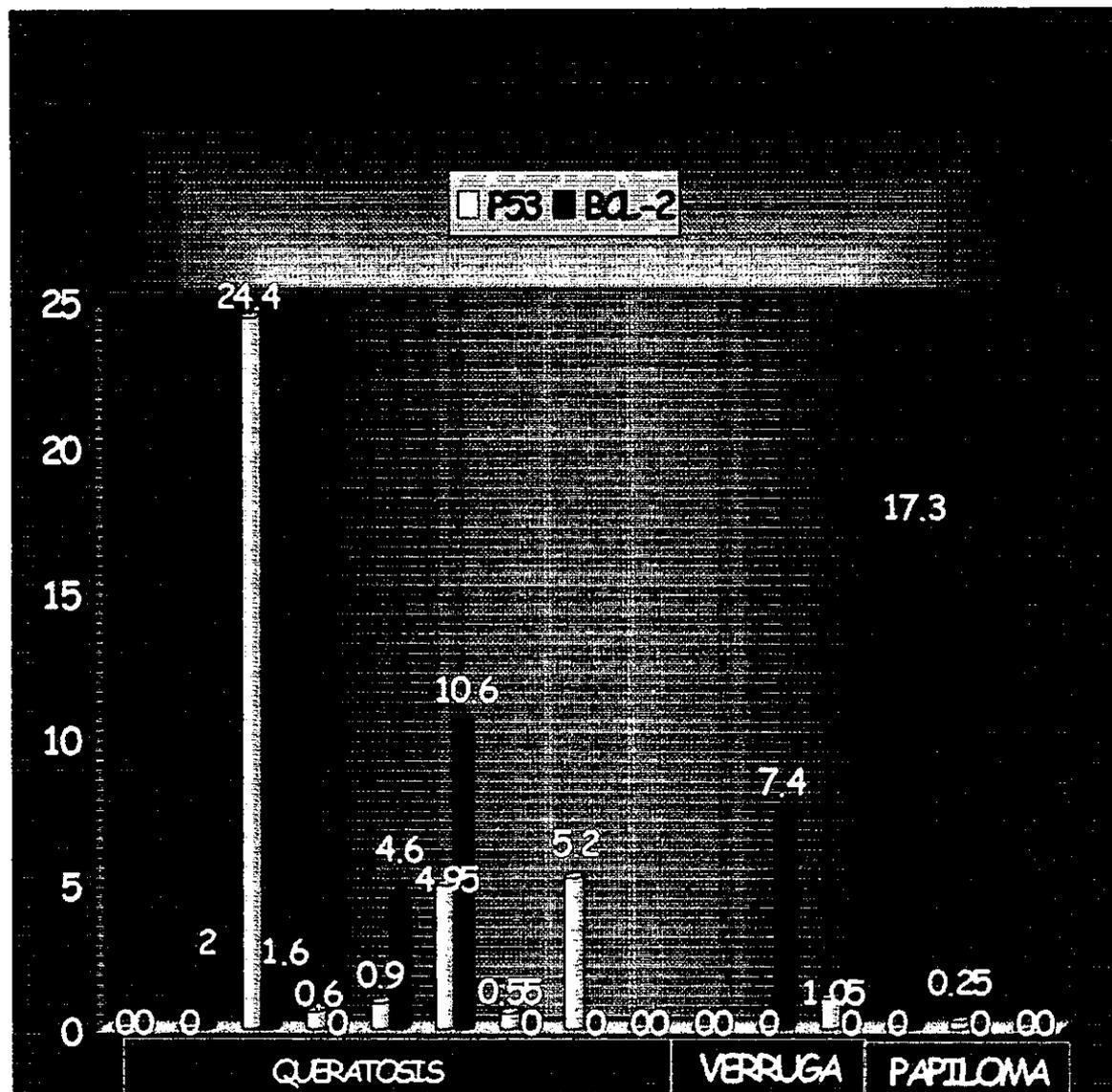


FIGURA 7. QUERATOSIS 20X. A) H y E, B) Las flechas indican la inmunexpresión de p53, C) Existió expresión de bcl-2 indicada por las flechas.

GRÁFICA 1 EXPRESION DE p53 Y bcl-2 EN LESIONES BENIGNAS



La comparación de los resultados por caso en las lesiones premalignas, se muestran de acuerdo a cada lesión en las *figuras 8, 9 y en la gráfica 2:*

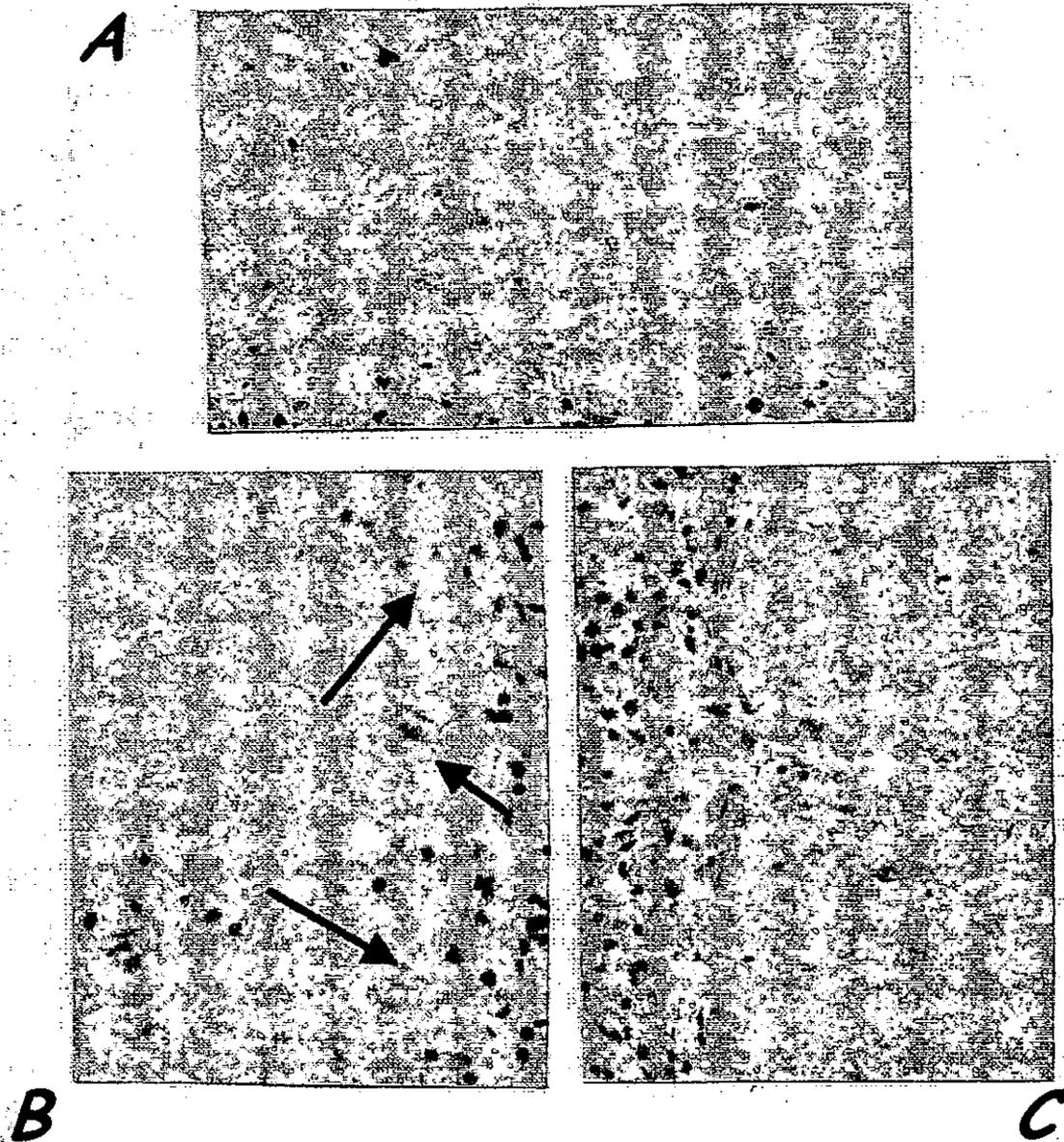


FIGURA 8. DISPLASIA LEVE 40X. A) H Y E, B) Nótese la

inmunoexpresión de p53 en ésta lesión, C) No existió expresión de bcl-2.

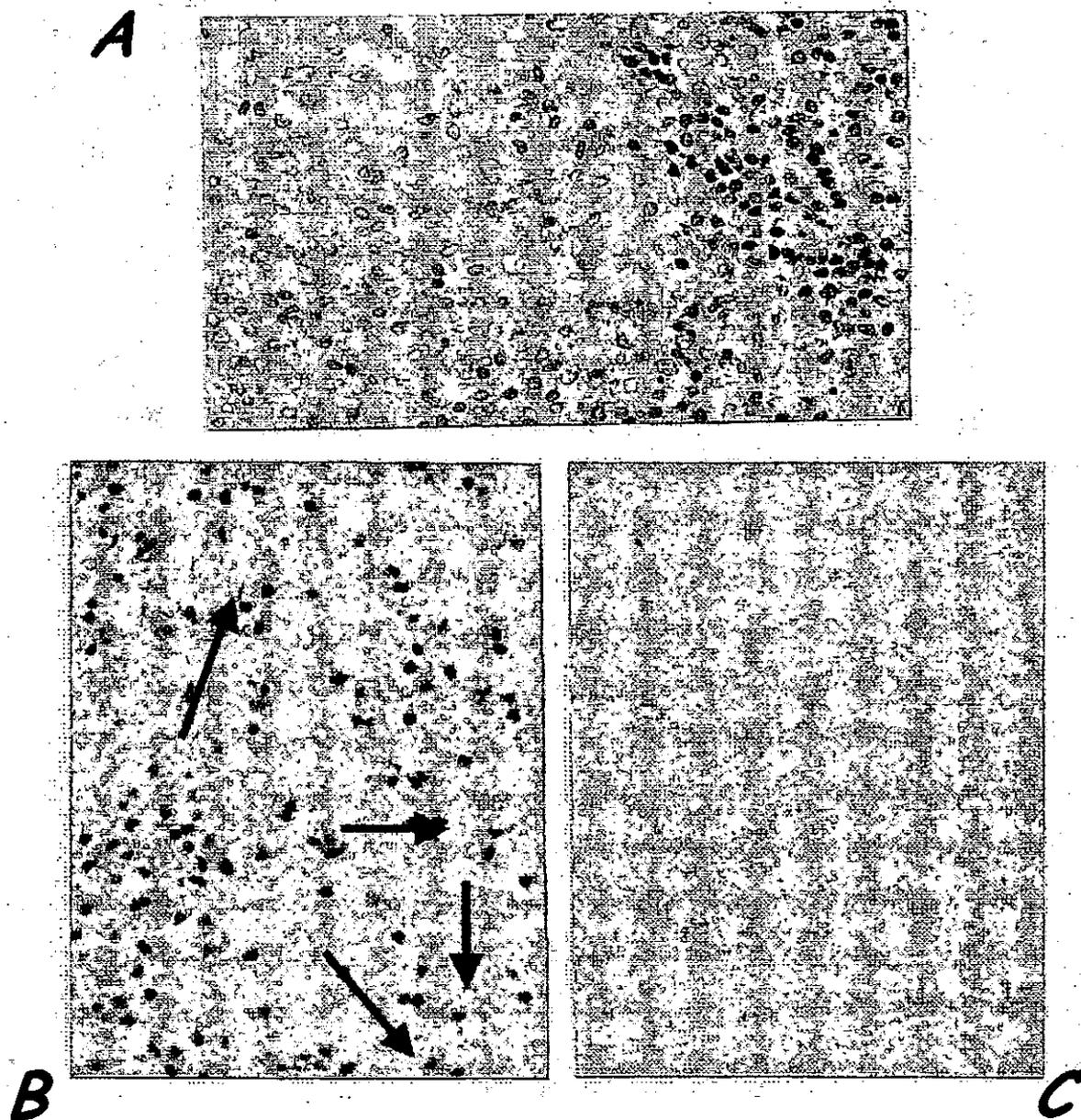
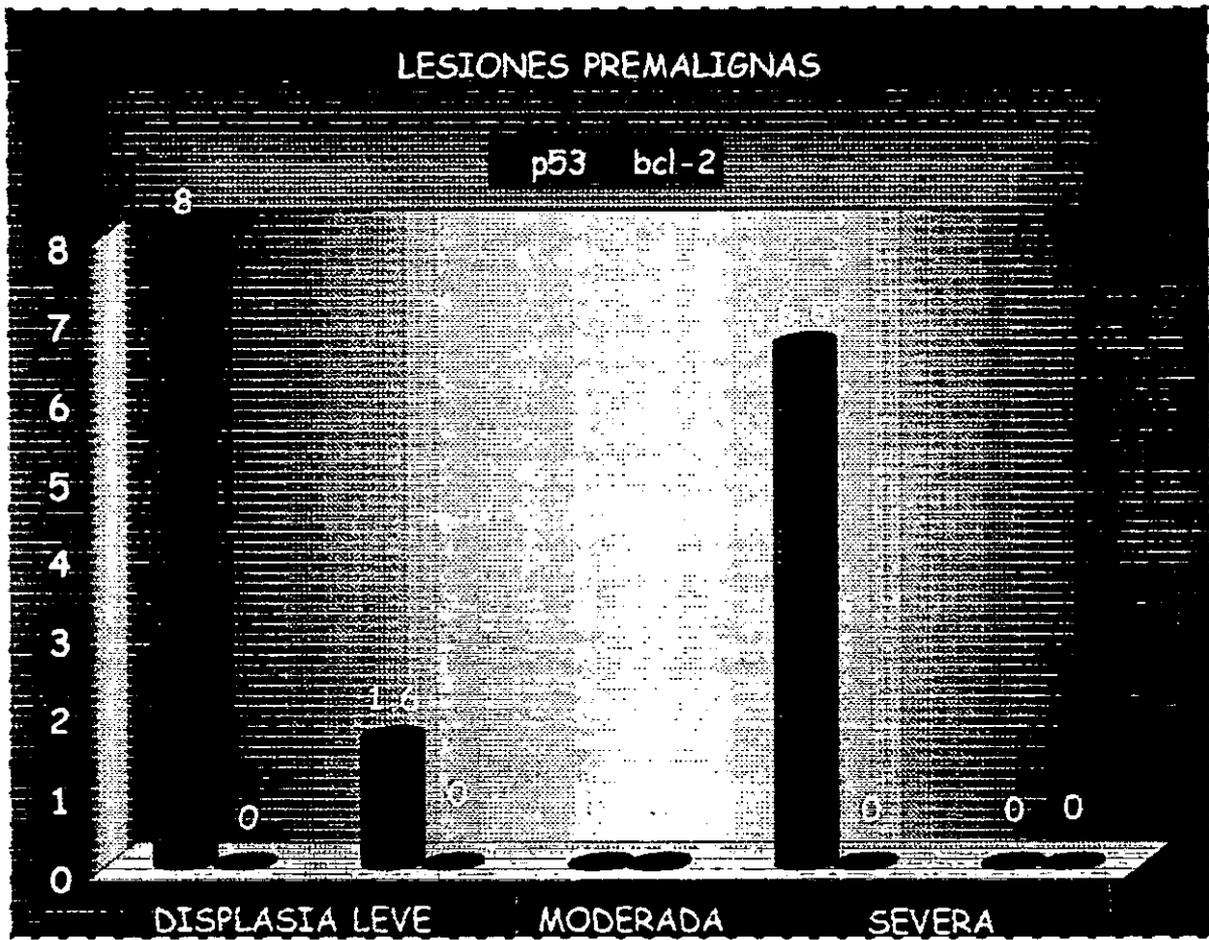


FIGURA 9. DISPLASIA SEVERA, 40X. A) H y E, B) Se observó inmunoexpresión de p53, C) No existió expresión de bcl-2.

GRAFICA 2 EXPRESION DE p53 Y bcl-2 EN LESIONES PREMALIGNAS



La comparación de los resultados por caso en las lesiones malignas, se muestran de acuerdo a cada lesión en las *figuras 10, 11 y en la gráfica 3:*

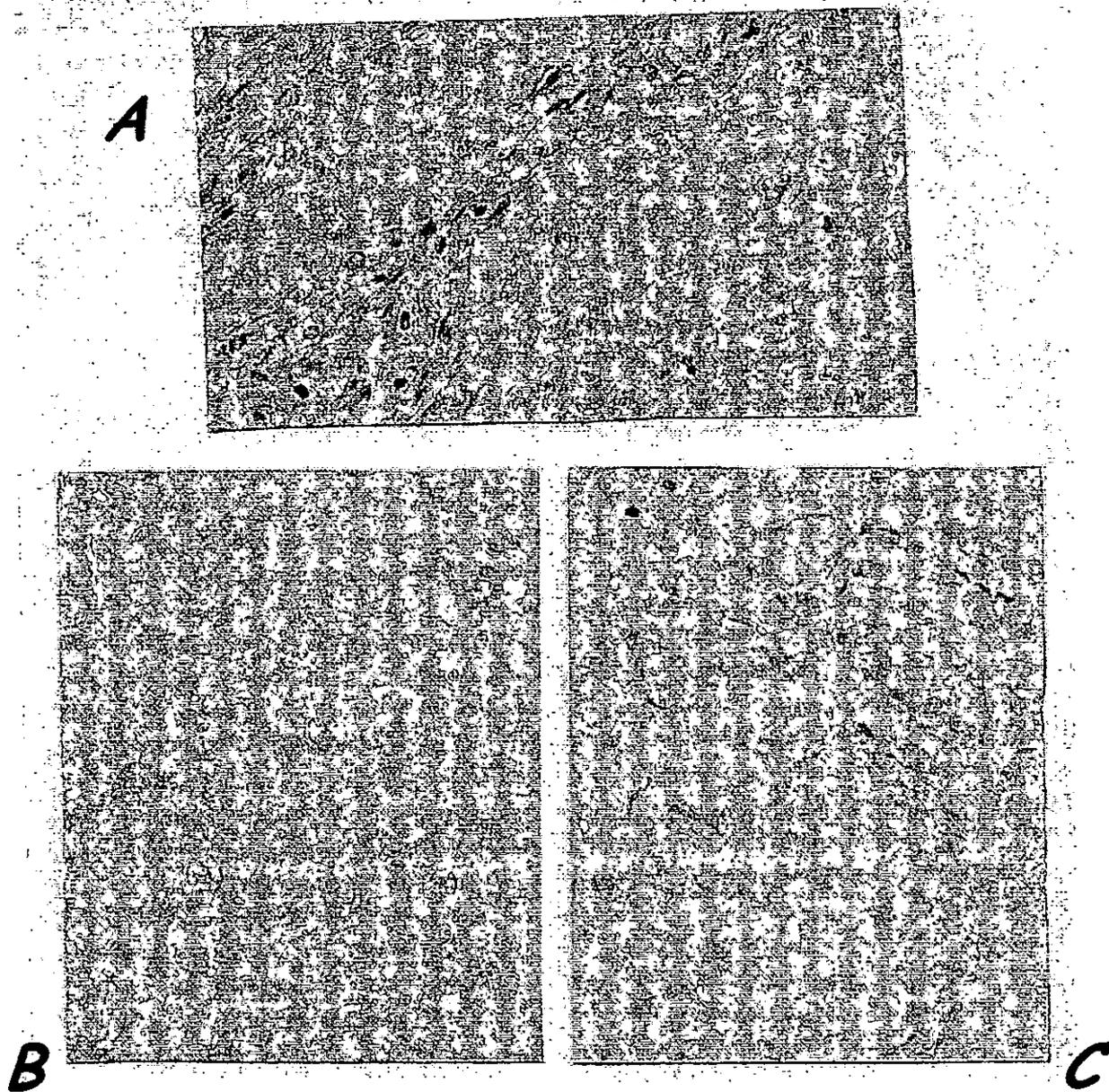


FIGURA 10. CARCINOMA EPIDERMÓIDE 40X. A) H y E. B) Nótese la inmunexpresión moderada de p53. C) La expresión de bcl-2 fue nula.

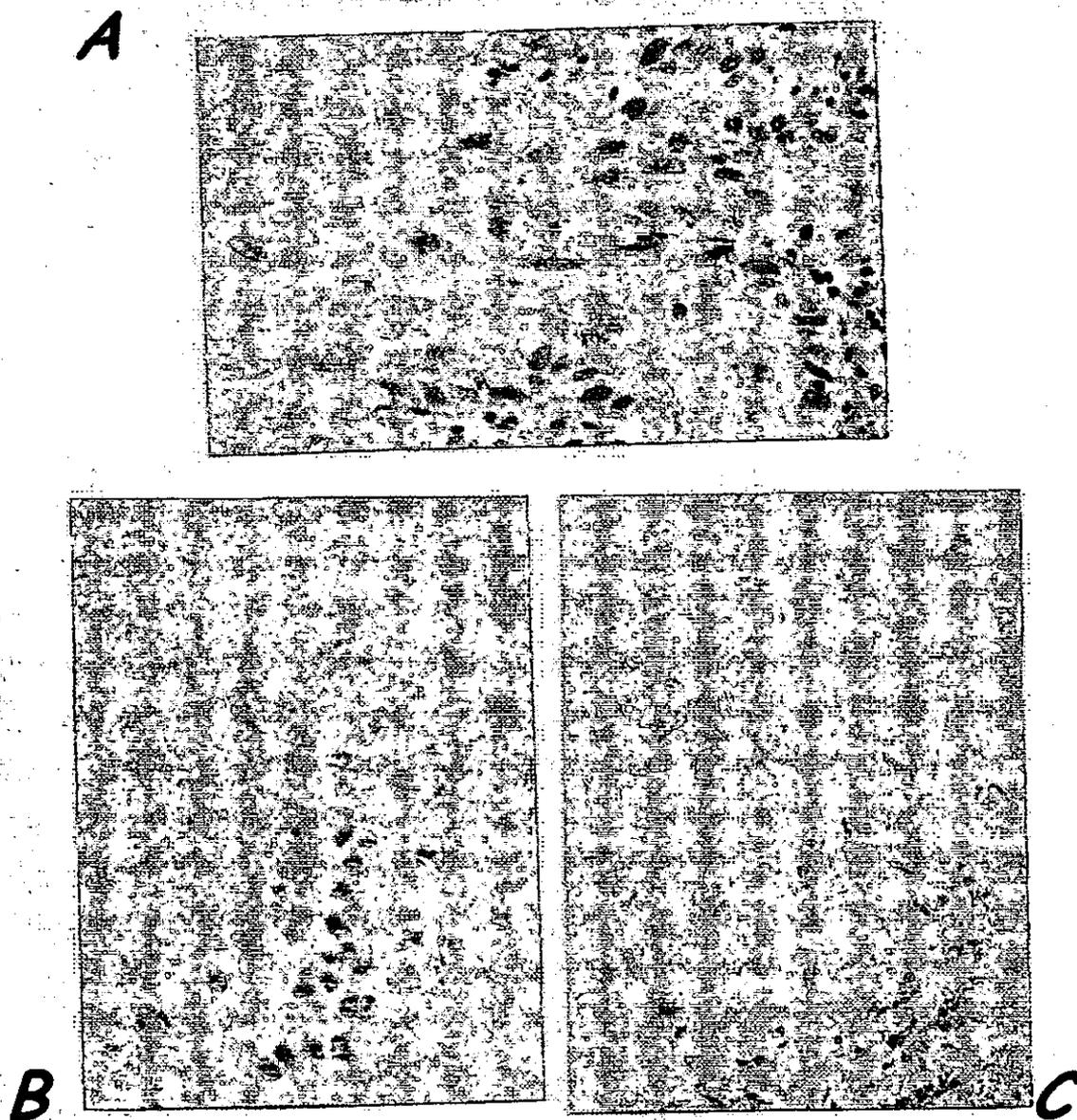
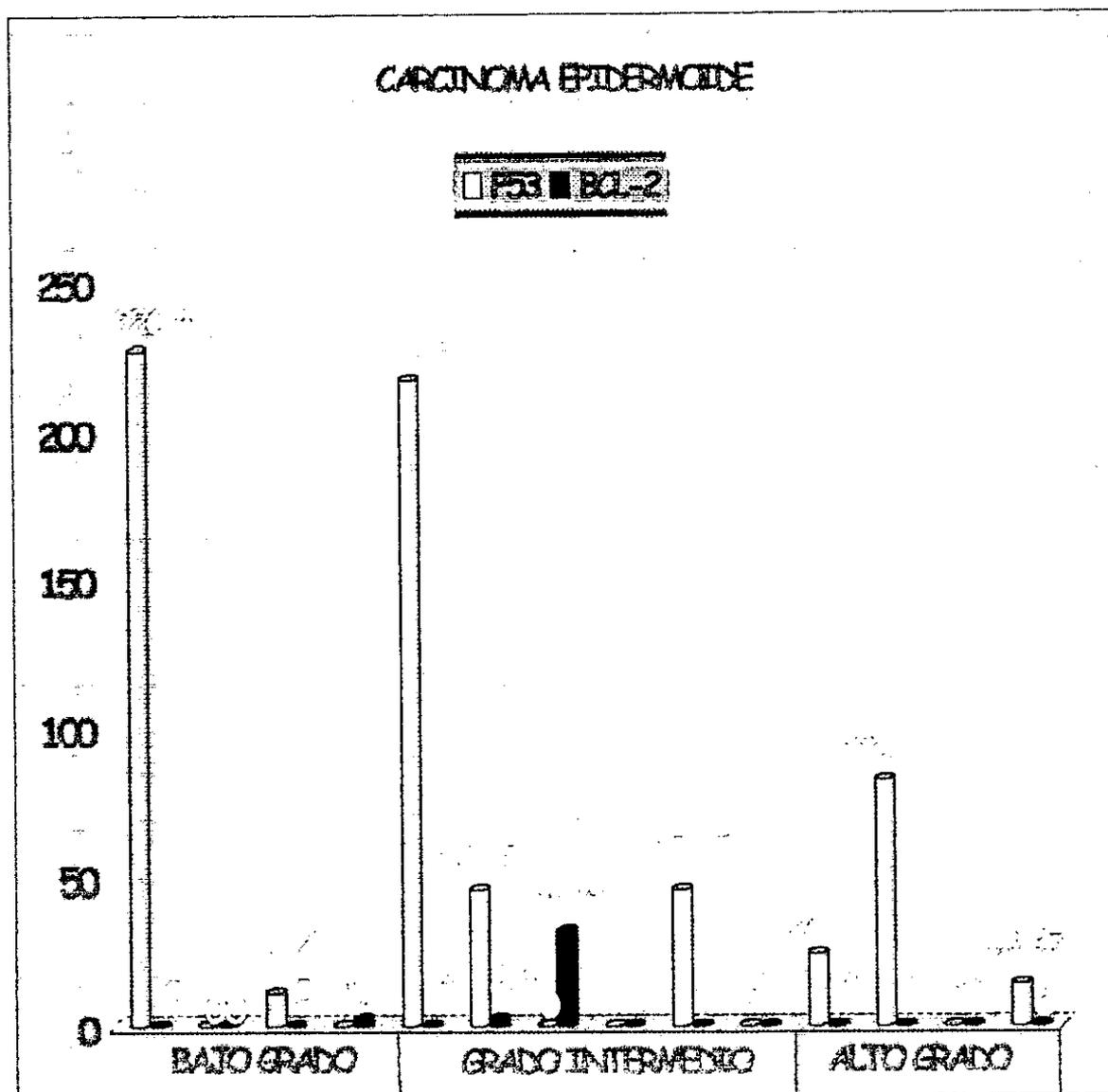


FIGURA 11. CARCINOMA EPIDERMÓIDE 40X. A) H y E, B) Obsérvese la inmunexpresión severa de p53, C) bcl-2 nula.

GRAFICA 3 EXPRESION DE p53 Y bcl-2 EN LESIONES MALIGNAS



RESULTADOS DEL COEFICIENTE DE CORRELACION DE SPEARMAN

El coeficiente de correlación de Spearman se obtuvo de tres formas distintas: p53 y criterios de Jakobsson, bcl-2 y criterios de Jakobsson, sólo en lesiones malignas. p53 y bcl-2 a lesiones benignas, premalignas y malignas. Como se muestra en las *tablas 13, 14 y 15*.

$$r_s = 1 - \frac{6(\sum D^2)}{n(n^2 - 1)}$$

TABLA 13 COEFICIENTE DE CORRELACION DE SPEARMAN APLICADO A p53 Y CRITERIOS DE JACKOBSON

Casos	X= p53	Y=Jakobson	D	D ²
1	226.4= 1	2857= 6	-5	25
2	0= 11.5	0= 11.5	0	0
3	24.2= 6	2857= 6	0	0
4	216.5= 2	4285= 2	0	0
5	45.75= 4.5	4285= 2	2.5	6.25
6	0= 11.5	0= 11.5	0	0
7	0= 11.5	0= 11.5	0	0
8	82.65= 3	2857= 6	3	9
9	0= 11.5	0= 11.5	0	0
10	11.2= 8	2857= 6	2	4
11	0= 11.5	0= 11.5	0	0
12	45.75= 4.5	4285= 2	2.5	6.25
13	0= 11.5	0= 11.5	0	0
14	13.95= 7	2857= 6	1	1

$r_s = .1128$ ns
 ns= diferencia estadísticamente no significativa
 $p = 0.05$

$$r_s = \frac{1 - 6(51.5)}{148(195)} = .1128$$

**TABLA 14 COEFICIENTE DE CORRELACION DE SPEARMAN APLICADO
A bcl-2 Y JACKOBSON**

Casos	X= bcl-2	Y= Jackobson	D	D ²
1	0= 9	2857= 6	3	9
2	0= 9	0= 11.5	-2.5	6.25
3	0= 9	2857= 6	3	9
4	0= 9	4285= 2	7	49
5	2.4= 2.4	4285= 2	0	0
6	31.75= 1	0= 11.5	-10.5	110.25
7	0= 9	0= 11.5	-2.5	6.25
8	0= 9	2857= 6	3	9
9	0= 9	0= 9	-2.5	6.25
10	0= 9	2857= 6	3	9
11	2= 3	0= 9	-8.5	72.25
12	0= 9	4285= 2	7	49
13	0= 9	0= 9	-2.5	6.25
14	0= 9	2857= 6	3	9
$r_s = .7699 *$				
* = diferencia estadísticamente significativa. p=0.05				

$$r_s = \frac{1 - 6(350.5)}{14(195)} = .7699$$

TABLA 15 COEFICIENTE DE CORRELACIÓN APLICADO A p53 Y bcl-2

Casos	X= p53	Y= bcl-2	D	D ²
1	226.4= 1	0= 22	-21	441
2	0= 27	0= 22	5	25
3	24.2= 7	0= 22	-15	225
4	216.5= 2	0= 22	-20	400
5	45.75= 4.5	2.4= 6	-1.5	2.25
6	0= 27	31.75= 1	26	676
7	0= 27	0= 22	5	25
8	82.65= 3	0= 22	-19	361
9	0= 27	0= 22	5	25
10	11.2= 9	0= 22	-13	169
11	0= 27	2= 7.5	19.5	380.25
12	45.75= 4.5	0= 22	-17.5	306.25
13	0= 27	0= 22	7	49
14	13.95= 8	0= 22	-14	196
15	0= 27	0= 22	5	25
16	0= 27	2= 7.5	19.5	380.25
17	24.4= 6	1.6= 9	-3	9
18	.6= 17	0= 22	-5	25
19	.9= 16	4.6= 5	11	121
20	4.95= 13	10.6= 3	10	100
21	.55= 18	0= 22	-4	16
22	5.2= 12	0= 22	-10	100
23	0= 27	0= 22	5	25
24	0= 27	0= 22	5	25
25	0= 27	7.4= 4	23	529
26	1.05= 15	0= 22	7	49
27	0= 27	17.3= 2	25	625
28	.25= 19	0= 22	3	9
29	0= 27	0= 22	5	25
30	8= 10	0= 22	12	144
31	1.6= 14	0= 22	8	62
32	6.6= 11	0= 22	11	121
33	0= 27	0= 22	5	25
34	0= 27	0= 22	5	25

$r_s = .8743 *$

* = diferencia estadísticamente significativo
p= 0.05

$$r_s = \frac{1 - 6(5723)}{34(1155)} = .8743824$$

DISCUSION

Uno de los criterios sugeridos para gradificar los tumores malignos es de acuerdo a la clasificación de Jakobsson quien se basa en dos factores para el desarrollo de un tumor que son los factores intrínsecos de la neoplasia y los factores del huésped-tumor, ésta clasificación es utilizada actualmente para gradificar el carcinoma epidermoide de laringe y de boca, nosotros en este estudio gradificamos los tumores en base a ésta clasificación^{15,18,19}. Por otra parte considerando que la progresión clínica y biológica de cualquier tumor está directamente relacionada a la alteración genética específica o a varias alteraciones presentes, es generalmente aceptado que la alteración de un solo oncogen no es suficiente para inducir a una transformación neoplásica. La activación de un oncogen celular, que muchas veces puede ser respuesta de una anomalía genética específica, puede ser utilizado como marcador del fenotipo de una clona celular maligna. Esta activación puede ayudar a establecer la terapéutica, el progreso de la enfermedad, pronóstico y otros parámetros clínicos^{3,4,7,19,20,21,23,24,25,26,27,28,30}. Como se mencionó en los antecedentes dentro de los oncogenes relacionados con el desarrollo del cáncer se encuentran p53 y bcl-2.

Moo-Min y Linden^{35,36} en 1994, Regezi y Kuttan^{34,37} en 1995 y Araujo³⁸ en 1997 mencionan que la sobreexpresión de p53 como resultado de una mutación es encontrada en el cáncer de cabeza y cuello en relación con un alto grado de malignidad y su detección inmunohistoquímica sirve como marcador pronóstico. Al contrario de los estudios realizados en 1993 por Ranasinghe³² y en 1994 por Slootweg³⁹ que mencionan que p53 se presenta en las primeras etapas de la carcinogénesis, existiendo proliferación celular sin detección de ésta proteína.^{32,34,35,36,37,38,39}. De acuerdo a nuestros resultados con respecto a la expresión de p53 encontramos que la expresión fue mayor en los tumores de bajo grado de malignidad que en los de alto grado contrario a lo establecido por Moo-Min y Linden^{35,36} en 1994, Regezi y Kuttan^{34,37} en 1995 y Araujo³⁸ en 1997 pero quizá cercano a la teoría de Ranasinghe y Slootweg en la cual mencionan que p53 se presenta en las primeras etapas de la carcinogénesis.

En este estudio encontramos que las lesiones benignas, como la queratosis, p53 se expresó en 6 casos y cuando la expresión de éstas fue mayor la expresión de bcl-2 fue leve o nula, en la verruga vulgar un caso se expresó para bcl-2 y uno para p53 y en el papiloma un caso se expresó para

bcl-2 y no se expresó para p53.

De los 15 casos 6 expresaron bcl-2 y 8 casos expresaron p53 y un caso no se expresó para ninguno de las dos proteínas, lo que nos indica que cuando p53 se expresa bcl-2 no lo hace y viceversa. Sin embargo Hirano, Tsutsumi y Tsuchida ³³ y Riva ⁴⁰ en 1995 analizaron que cuando p53 sufre una mutación éste gen es el más reconocido en las alteraciones genéticas del carcinoma epidermoide, pero ellos no mencionan que sucede con la proteína cuando se estudia en las lesiones benignas, al mismo tiempo ellos aclaran que la mutación de ella no es el único factor desencadenante del cáncer, nosotros no podemos discutir éste aspecto pero si podemos aseverar en base a nuestros resultados que p53 no se expresa únicamente en los tumores malignos sino también en los benignos ^{33,40}.

Nuestros resultados demostraron que en el carcinoma epidermoide la expresión de p53 fue mayor en los tumores de bajo grado que en los de alto grado, pero la expresión de bcl-2 fue mínima en el total de los tumores, concordando con lo reportado por Nuñez y Clarke ⁴³ en 1994, Birchall ⁴⁷ en 1995 y Duke ⁴⁶ en 1997 donde mencionan que el factor de crecimiento apoptósico aumenta en el epitelio normal y carcinoma in situ; disminuyendo en el epidermoide, comprobando con esto que el factor antiapoptótico de los tumores malignos favorece la falta de muerte celular. ^{43,46,47}.

Las alteraciones genéticas de p53 en tumores bucales se encuentran principalmente en el carcinoma epidermoide, ya que la proteína mutante siempre está presente.

Los cambios observados en p53 en el desarrollo del carcinoma epidermoide ha sido investigado inmunohistoquímicamente en displasias encontradas adyacentes a carcinomas invasivos o sin componentes invasivos de epitelio, siendo su inmunoexpresión mayor en displasias moderada y severas en comparación con las leves descritas por Colvin y cols. en 1995 y Seifert en 1996 ^{6,7} siendo lo contrario a nuestros resultados ya que en los 5 casos de lesiones premalignas la expresión de p53 fue mayor en las displasias leves y severas, no observándose en la moderada, mientras la expresión de bcl-2 fue nula en todos los casos.

Contrario a lo que esperábamos, la expresión de p53 fue mayor en las displasias leves que en las moderadas reportadas por ellos.

Kaiser y colaboradores en 1996 ⁴⁸ mencionan que la expresión de bcl-2 refleja un constante fenotipo normal en tejido sano y lesiones benignas, que se pierde en las lesiones malignas conforme existe mayor indiferenciación celular.

Al estar bcl-2 presente en una neoplasia, puede lograr que se de una transformación menos agresiva ^{48,49}. En este estudio encontramos que la expresión de bcl-2 fue leve y solo se observó en 6 casos de las 15 lesiones benignas y en los carcinomas solo 3 casos de los 14 se expresaron en forma leve lo que sugiere que estos casos pueden tener un menor grado de agresividad, de acuerdo a lo reportado en la literatura, sin poderlo asegurar.

En este momento no podemos explicar el porque del comportamiento de p53, pero sí podemos, de acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo demostrar que, cuando la expresión de p53 aumenta, la de bcl-2 disminuye o está ausente. Al comparar los resultados de la expresión de p53 con el grado histológico de cada tumor encontramos que la mayor expresión de p53 fue en los de bajo grado con una expresión promedio de 59.4 células positivas, decreciendo ésta expresión en los de grado intermedio y presentando un promedio de células positivas de 30.20 en los tumores de alto grado, la expresión de bcl-2 fue mayor en el carcinoma epidermoide de grado intermedio encontrándose prácticamente nula la expresión en los de bajo y alto grado.

CONCLUSIONES

- * En las lesiones benignas 6 casos expresaron bcl-2 y 8 expresaron p53, solamente 3 casos tuvieron la expresión de ambas proteínas, por lo tanto cuando p53 se expresa bcl-2 no.
- * En las lesiones premalignas la expresión de p53 fue mayor en las leves y severas y bcl-2 no se expresó
- * En el carcinoma epidermoide la expresión de p53 fue mayor en los de bajo grado, pero en la de bcl-2 fue mínima o nula en todos los casos.
- * Cuando la expresión de p53 aumenta la de bcl-2 está ausente o es mínima
- De acuerdo al análisis estadístico concluimos que:
 - * De acuerdo al coeficiente de correlación de Spearman aplicado a p53 y Jakobsson no existe correlación entre ambos datos.
 - * El resultado del coeficiente de correlación entre bcl-2 y Jakobsson indica que existe una correlación entre la proteína y los criterios de malignidad.
 - * En cuanto al coeficiente de correlación entre p53 y bcl-2 resultó que sí se correlacionan.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Ten Cate A.R. Histología Oral. Editorial Panamericana. Edición segunda Buenos Aires, Argentina 1986; pp:400-448.
- 2.- Orban H.F.. Histología Oral, Orban. Editorial la Prensa Médica Mexicana, México 1981; pp: 209-260.
- 3.- Robbins K.C. Patología estructural y funcional, vol. I y II. Editorial, Interamericana Mc Graw Hill. Edición cuarta. Madrid España, 1990; pp: 298, 299, 300, 301, 302, 864, 865,1191.
- 4.- Regezi J.A , Sciubba J. Patología Bucal. Editorial Interamericana, Mc Graw Hill. Edición segunda, México 1995; pp: 83-85, 186 - 189.
- 5.- Cawson R.A. Oral Pathology and diagnosis, color atlas with integrated text. Gower Medical, London, New york, 1992; pp: 12.21,13.2,13.5 -13.10
- 6.- Seifert G. Oral Pathology. Current topics in pathology. Actual diagnostic and prognostic aspects. Springer, Alemania 1996; pp: 179-195, 232, 233.
- 7.- Colvin R.B., Bhan A.K., McCluskey R.T. Diagnostic Immunopathology. Raven Press. Second edition, Singapore , 1995; pp: 512,669-684.
- 8.- Wood-Goaz. Differential diagnosis of oral lesions. Mosby Year Book. Fourth edition, E.U.A, 1991; pp: 112-157.
- 9.- Strassburg M., Knolle G. Disease of the Oral Mucosa, a color atlas. Quintessence Publishing Co Inc. Second edition, E.U.A, 1994; pp: 217,233,261,363-367,439,448,471, 472.
- 10.- Bengel, Veltman, Loevy, Taschini. Differential diagnosis of diseases of the oral mucosa. Quintessence publishing Co. Inc. E.U.A 1989; pp: 76-79, 320-322.
- 11.- Shafer W.G., Tratado de Patología Bucal. Editorial Interamericana. Edición tercera,México 1984; pp: 82-85.

- 12.- Pindborg.J.J. *Cáncer y Precáncer bucal*, Editorial Panamericana, Buenos Aires, Argentina, 1981; pp: 29,30,152
- 13.- Burkhardt A. *A color atlas of oral cancer. The diagnosis and classification of Leukoplakias, precancerous conditions and carcinomas.* Wolfe Medical Publications LTD. Year Book. Medical Publisher Inc, Chicago, 1981; pp: 9-11.
- 14.- Auclair P.L. *Oral Squamous Cell Carcinoma.* Department of oral Pathology. Armed Forces Institutes of Pathology, Washington, pp: 1-22.
- 15.- Bagan S. JV, Ceballos S. A, Aguirre U. J.M, Aguirre U.J., Peñarrocha D. M. *Medicina Oral. Capitulo 18.* Editorial Masson S.A. España., 1995; pp. 186- 194.
- 16.- Pardo M. *Anatomía Patológica General.* Editorial: Doyma; Barcelona, España 1991; pp: 61 - 62, 318.
- 17.- Fariña J. *Anatomía Patológica.* Editorial Salvat, Barcelona España 1990; pp: 38.
- 18.-Jones S.A. *Prognosis in Mouth Cancer: Tumour Factors.* Oral Oncol, Eur J Cancer, 1994; 30B (1): 8-15.
- 19.- Flores G. *Patología Oncológica.* Editorial Mc Graw Hill Interamericana, México 1997; pp:3,4,6 - 8, 28 - 30.
- 20.- Pusztai L., Lewis C.E., Yap E. *Cell proliferation in cancer (regulatory mechanism of neoplastic cell growth).* Oxford University. Press, E.U.A, 1995; pp: 62-67.
- 21.- Robbins K.C. *Patología estructural y funcional, Capítulo 7 (Neoplasia), La base Molecular del Cáncer.* Editorial Interamericana Mc Graw Hill. Edición Quinta, Madrid España, pp: 289 - 305.
- 22.- Zentella D. A., López R M., Gómez G. E., Paredes G.R., Ibarra S M. *El Ciclo Celular y su Regulación, la interacción entre las proteínas cinasas CDKs y la familia de las cilcinas.* Bol Educ Bioq. México.1996; XV(1): 4- 12.

- 23.- Peinado M.A. *Biología Celular*, Jaèn Universidad. Editorial Servicios de Publicaciones e Intercambio Científico, la Paz, México, 1994; pp: 315-330.
- 24.- Avers J.C. *Biología Celular*. Editorial Grupo Iberoamericano. Edición segunda, México 1991; pp: 577 - 619.
- 25.- Wagener C., Newman S. *Molecular Diagnostics of cancer*. Springer - Verlag Berlin Heidelberg, Alemania, 1993; pp: 27-39.
- 26.- Liotta M.H.I. *The molecular basis of cancer*. W.B. Saunders company, E.U.A, 1995; pp: 22, 24, 70, 71, 94-101.
- 27.- Karp G. *Biología Celular*. Editorial Mc Graw Hill Edición segunda, México 1987; pp: 843 - 851.
- 28.- Wolfe S.L. *Biología de la célula*. Ediciones Omega, Barcelona, 1977; pp: 300-339.
- 29.- Scully C. *Oncogenes, tumour suppressors and viruses in Oral Squamous Carcinoma*, *Journal Pathology and Medicine*. 1993; 22: 337- 47.
- 30.- Fenoglio M.C., Willman L.C. *Molecular Diagnostics in Pathology*, Editorial Williams and Wilkings, Estados Unidos y Canadá, 1991; pp: 81-110.
- 31.- Pimentel E., *Oncogenes*. Libray of congress cataloging in publication data, United States, Florida, 1986; pp: 39-71.
- 32.- Sloodweg P.J. , Koole R. , Hordijk G.J. *The Presence of p53 Protein in Relation to Ki- 67 as Cellular Proliferation Marker in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma and Adjacent Dysplastic Mucosa*. *Oral oncol*, *Eur J. Cancer*, 1994; 30B(2): 138- 141.
- 33.- Hirano Y. , Tsutsumi - Ishii Y. , Tsuchida N. *Roles of p53 Mutation in Cell Line Establishment and Identification of the Minimum Transactivation and Transform Suppresion Domains*. *Oral Oncol Eur J. Cancer*, 1995; 31B(2): 129 - 135.

- 34.- Kuttan N.A.A. , Rosin M.P. , Ambika K. , Priddy R.W. , Bhaktham , Zhang L. High Prevalence of Expression of p53 Oncoprotein in oral Carcinoma from India Associated with Betel and Tobacco Chewing, *Oral Oncol Eur J. Cancer*, 1995; 31B(3): 169 - 173.
- 35.- Moo-Ming B., Baek J.H., Shin K.H., Gujuluva CH.N., Cherrick M.H., Park N.H. Inactivation of the p53 gene by either mutation or HPV infection is extremely frequent in human oral squamous cell carcinoma cell lines. *Oral oncol, Eur J. Cancer*, 1994; 30B(5): 338-345.
- 36.- Linden D.M., Nathason D., Zarbo J.R. Evaluation of Anti-p53 antibody staining, quality control and technical considerations. *Applied immunohistochemistry*, 1994; 2(3):218-224.
- 37.- Regezi J.A., Zarbo R.J., Regev E., Pisanty S., Silverman S., Gazit D. P53 expression in sequential biopsies of oral dysplasias and in situ carcinomas. *Journal oral pathology and medicine*, 1995; 24: 18-22.
- 38.- De Araujo V.C., Loyola A.M. Santos Pinto D.D., Borra R.C., De Arauja N.S. p53 biopses or oral squamous cell carcinoma. A comparative study with a malignancy grading system. *Oral oncology*, 1997; 33(1): 5 - 9.
- 39.- Ranasinghe A.W. , Warnakulasuriya K.A.A.S., Johnson N.W. Low Prevalence of Expression of p53 Oncoprotein in Oral Carcinoma from Sri-Lanka associated with Betel and Tobacco Chewing. *Oral Oncol Eur J. Cancer*, 1993; 29B(2):147 - 150.
- 40.- Riva C., Layieille J.P., Reyt E., Brambilla E., Lunardi J., Brambilla C. Differential c-myc, c-jun, c-raf and p53 expression in squamous cell carcinoma of the y head and neck: Implication in drug and radioresistance. *Oral oncol, Eur J Cancer*, 1995; 31B(6): 384-391.
- 41.- Benitez B. L. Imágenes de la Apoptosis, *Gac Med, México*, 132(6): 641.
- 42.- Osborne A.B., Schwarts L.M. Essential Genes that Regulates Apoptosis. *Trends in cell Biology*,(4), 1994: 394 - 398.

- 43.- Núñez G., Clarke F. The BCL-2 Family of Proteins:Regulators of Cell Death and Survival. Trends in cell Biology,1994; (4): 399 - 403.
- 44.- Schwartzman A.R., Cidlowski A.J. Apoptosis: The Biochemistry and Molecular Biology of Programmed Cell Death. Endocrine Reviews,1993; 14(2): 133 - 151.
- 45.- Hockenberry M.D., Oltvai N.Z. , Ying X.Y., Milliman C.L., Korsmeyer S.J. BCL-2 Functions in an Antioxidant Pathway to Prevent Apoptosis. Cell press,1993; (75): 241 - 251.
- 46.- Duke C.R., Ojcius M.D., Young D.E.J. Suicidio celular, en la salud y la enfermedad. Investigación y Ciencia, febrero 1997: 44- 52.
- 47.- Birchall M.A., Winterford C.M.,Allan D.J., Harmon B.V. Apoptosis in normal epithelium, premalignant and malignant lesions of the oropharynx and oral cavity: a preliminary study. Oral oncol. Eur J. Cancer, 1995; 31B(6):380-383.
- 48.- Kaiser U., Schilli M., Haag V., Neuman K., Reipe H.K. Expression of bcl-2 protein in small cell lung cancer. Elsevier Science Ireland, Lung Cancer, 1996; (15): 31-40.
- 49.- Sheu L.F., MD, DHD, ANN, CHEN; MD, EHD, CHING - LIAN, MENG, MD, KUO - CHIEH, HO, PHD, FU - GONG, LIN, AND, WEI - H, WA - LEE. Analysis of bcl-2 in normal, inflamed, dysplastic nasopharyngeal epithelia and nasopharyngeal carcinoma, association with p53 expression, 1997; 28 (5): 556-562.
- 50.- Harn H.J., Ho L.I., Liu C.A., Liu G.C., Lin S.G., Lin J.J., Chang J.I., lee W.H. Down regulation of bcl-2 by p53 in nasopharyngeal carcinoma and lack of detection of its specific t(14:18), chromosomal translocatiuon in fixxed tissues, histopathology. Blackwell Science Limited. 1996; (28): 317-323.
- 51.- Jordan R.C.K., Catzavelos G.C., Barrett A.W., Speight P.M. Differential expression of bcl-2 and bax in Squamous cell carcinoma of the oral cavity. Oral Oncol, 1996; 32B(6): 394-400.

52.- Sugerman P.B. The role of oncogenes, tumour supressor genes and growth factors in oral squamous cell carcinoma, a case of versus proliferation. *Oral-Disease*, 1995; sept(3): 172-188.

53.- Furuya Y. Apoptosis II. The molecular basis of apoptosis in disease. *Cold Spring Harbor*, 1994: 231-249.

- Imágenes para figuras creadas por Ivonne Díaz Sierra.
- Asesoramiento para análisis estadístico del Dr. Rubén López Pérez.