150

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

INMUNOEXPRESIÓN DE CITOQUERATINAS EN CARCINOMA EPIDERMOIDE Y BASOCELULAR

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
C I R U J A N O D E N T I S T A
P R E S E N T A :

JUAN CARLOS GUZMÁN RAMÍREZ

TUTORA: Vo Bo

DRA. ELBA ROSA LEYVA HUERTA

MEXICO, CIUDAD UNIVERSITARIA 2002.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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.

AGRADECIMIENTOS

Con gran admiración, respeto y cariño; agradezco a la Dra. Elba Rosa Leyva Huerta, por qué ha sido un sensor muy importante en mi formación, por ser un excelente académico y tutor, por todo el conocimiento desmedido que me ha aportado, por incluirme en sus proyectos, por su ilimitada paciencia, por tener siempre la palabra precisa para el momento adecuado; pero sobre todo por haber creído en mi desde siempre.

Al Instituto Nacional de Cancerología por las facilidades prestadas para llevar a cabo el presente estudio.

Al Químico Celedonio Goméz por la aportación del anticuerpo y la técnica para desarrollar el presente estudio.

A Teo, por su incondicional ayuda.

A todos aquellos que de alguna manera intervinieron en la realización de el presente estudio.

GRACIAS.

DEDICATORIAS

A mi Patria,

A mi Pueblo,

A mi Universidad Nacional Autónoma de México, tan golpeada, tan lastimada... " Alma Mater quieren matarte con flechas ende obscuridad. De nosotros depende que un silencio obscuro recubra tus libros. De nosotros depende que se mueran los niños en los vientres sin parto. Pero te salvaremos. A pesar de tus enemigos los de afuera y los de adentro. Pero te salvarás". **Por el orgullo que me provoca llamarme Universitario, por qué estaré ahí cuando sea necesario levantar la voz y gritar su nombre nuevamente.**

A mi Facultad de Odontología, por qué nadie la conoce como yo, por hacer de mi el Profesionista que soy ahora, por ser un testigo silencioso del dolor y la impotencia, por qué sabe que nunca la dejé ni en los momentos más difíciles.

A mi Madre, por ser una mujer extraordinaria, por asumir su papel de una manera ejemplar y por todo el amor que ilimitadamente despilfarra cuando se trata de sus hijos.

A Enrique, por qué ha sabido ser un gran Hermano, pero sobre todo por qué ha sido un excelente Padre y mi mayor ejemplo a seguir.

A Alejandro, por compartir conmigo nuestra infancia, por cuidar siempre de mi y por ser el mejor compañero de juguetes que pude haber tenido.

A Judith (canica), por toda la magia que representa cuando ilumina todo lo que toca, por esa facilidad tan grande que tiene para adentrarse en uno, y por estar cerca en el momento preciso cuando más se le necesita.

A Mauricio Peña Parraga, por ser un dedo que afortunadamente se cuenta en mi mano; si mi amigo, así es el laso que nos une, tan tangible como invisible, se percibe, no se siente, se motiva, no se arrastra, y por todo eso y lo que hemos vivido y vamos a vivir.

Al Movimiento Estudiantil de 1999, al Consejo General de Huelga y a mis hermanos de lucha que reivindicaron mi ideal y mi perspectiva de vida.

A Jorge Alberto Martínez Valero, por la amistad surgida de las circunstancias más adversas que puede vivir el ser humano.

Al Heroico Comité de Huelga de la Facultad de Odontología, por la fortuna de coincidir y adoptarnos para siempre como hermanos... "A instancias de mis amigos cuerdos y cautelosos que ya no saben si diagnosticarme prematuro candor o simple chifladura; abro el expediente de mi optimismo y uno por uno repaso los datos. Sobre un lecho de odios duermen sin pesadillas muchachos y muchachas que arribaron juntos a la tortura y a la madurez, pero hay que aclarar que otras y otros los sueñan noche a noche en las casas obscuras.
Está es la absurda foja de mi duro optimismo, prematuro candor o simple chifladura; lo cierto es que debajo de estas calamidades descubro una sencilla descomunal ausencia cuando tratas de congregar la obediente asamblea y el Pueblo no hace quórum. Por eso, porque falta sin aviso a la convocatoria de los viejos blasfemos, porque toma partido por la Historia y no tiene vergüenza de sus odios, por eso aprendo y dicto mi lección de optimismo y ocupo mi lugar en la esperanza..." **Uno a uno los convoco y los guardo por siempre : Barrón, Maomy, Quika, Carranca, Carlos M, Raquel, Lupe, Odeth, Malleli, Artemisa, Doña Lupita, Morena, Ramón, Margara, Mirna, Mariana, Chió, Kriki, Mario, Chava, Alejandro, Sandra, Ché, Dario, Don Victor, Don Gonzálo, Paco y Angélica tamales, Chabelambres, Roger entre otros.**

A los trabajadores administrativos de la Facultad de Odontología que mantuvieron su solidaridad hasta el final y en los momentos más dramáticos; muy en especial a la Enfermera Cristi.

A cada uno de los Alumnos y Académicos de la Facultad de Odontología que siempre creyeron en mi, muy en especial al Dr. Martín Arriaga, Dra. Paty Alquicira, Dra. Gloria Hirose, Dr. José Sepulveda, Dra. Violeta Zurita.

A Silvia Ruíz, Claudia Cisneros, Gualys, Lizeth E y Sandrita Villanueva; por ser tan diferentes entre ellas, pero coincide que son mis grandes amigas.

A todos los grandes amigos de la Habana Cuba por distinguirme como Miembro Activo de la Juventud Comunista de America Latina, a Rafha, Adita, Felito y a todos los de la Escuela Latinoamericana de Ciencias Médicas de la Habana.

ÍNDICE

	PAGINA
RESUMEN	**1**
INTRODUCCIÓN	**2**
ANTECEDENTES	**3**
Citoplasma	**3**
Citoesqueleto	**4**
Microfilamentos	**5**
Microtúbulos	**6**
Filamentos intermedios	**6**
Clasificación de filamentos intermedios	7
CITOQUERATINAS	**9**
Como marcador tumoral	11
Citoqueratinas en cáncer de cabeza y cuello	13
DISPLASIA EPITELIAL	**17**
TUMOR	**18**
CARCINOMA EPIDERMOIDE	**20**
Etiología	20
Características clínicas	21
Sistema TNM	22
Características histológicas	22
Clasificación de Jackobsson	24
Diagnóstico diferencial	26
CARCINOMA BASOCELULAR	**26**
Etiología	27
Características clínicas	27
Características histológicas	28
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	**30**
JUSTIFICACIÓN	**31**
HÍPOTESIS	**31**
OBJETIVO GENERAL	**32**
OBJETIVOS ESPECIFICOS	**32**
UNIVERSO DE ESTUDIO	**33**
MATERIAL Y MÉTODOS	**34**
METODOLOGÍA	**36**
Técnica inmunohistoquímica	36
RESULTADOS	**38**
DISCUSIÓN	**47**
CONCLUSIONES	**49**
BIBLIOGRAFÍA	**50**

ÍNDICE DE TABLAS

PAGINA

TABLA 1.
Gradificación histológica de carcinoma epidermoide **38**

TABLA 2.
No. de casos y porcentaje de carcinoma epidermoide **40**

TABLA 3.
Gradificación histológica de carcinoma basocelular **41**

TABLA 4.
No. de casos y porcentaje de carcinoma basocelular **43**

ÍNDICE DE GRÁFICAS

PAGINA

GRÁFICA 1.
Expresión en carcinoma epidermoide 45

GRÁFICA 2.
Expresión en carcinoma basocelular 46

ÍNDICE DE FIGURAS

PAGINA

FIGURA 1. 43
a,b,c,d.- Muestran las imágenes de piel y mucosa normal teñidas con H&E y citoqueratinas

FIGURA 2. 44
a,b.- Carcinoma epidermoide teñido con H&E y con el anticuerpo administrado
c,d.- Carcinoma basocelular teñido con H&E y con las citoqueratinas

FIGURA 3. 44
a,b,c,d.- Tres casos de carcinoma epidermoide con diferentes grados de malignidad, donde existe variación en la expresión de las citoqueratinas

FIGURA 4. 45
a,b,c.- Dos casos de carcinoma basocelular, donde la inmunoexpresión es muy relativa

RESUMEN

Las lesiones benignas o malignas de la mucosa bucal pueden presentar cambios en la composición de las citoqueratinas, por lo que anticuerpos para citoqueratinas pueden ser útiles para revelar cualquier cambio en el tejido con alteraciones premalignas o malignas.

El objetivo de este trabajo fue determinar la inmunoexpresión de citoqueratinas monoclonales conjugadas de alto y bajo peso molecular en carcinoma epidermoide y carcinoma basocelular; utilizando los anticuerpos monoclonales Citokeratin, High Molecular Weight (Basic), Monoclonal, Mouse IgG [AE3], AM133-5M. y Citokeratin, Low Molecular Weight (Acidic), Monoclonal, Mouse IgG1 [AE1],AM075-5M.

Los resultados fueron : En el carcinoma epidermoide la expresión de citoqueratinas fue en 4 casos expresión leve (+), 4 casos expresión moderada (++) y 4 casos de expresión severa (+++) utilizando anticuerpos monoclonales de peso molecular conjugado y en carcinoma basocelular fue 4 casos expresión leve (+) , 2 de expresión moderada (++) y 3 de expresión severa (+++). **En base a estos resultados se puede concluir que los anticuerpos para citoqueratinas de peso molecular conjugado deben considerarse dentro de los marcadores tumorales que pueden ser útiles para detectar alteraciones del tejido epitelial.**

INTRODUCCIÓN

Los marcadores tumorales se utilizan con frecuencia para identificar sustancias o productos que pueden estar presentes en la célula, ya sea en el núcleo, citoplasma, membrana plasmática o en la matriz extracelular. Las técnicas inmunohistoquímicas utilizan las reacciones antígeno anticuerpo específicas para un tejido; los anticuerpos utilizados se desarrollan para identificar algún péptido, proteína o componente nuclear de un tumor, en caso de identificar el antígeno para el que se aplicaron los anticuerpos , la reacción antígeno anticuerpo se evidencia con un colorante visible mediante microscopía de luz., lo que indica positividad en la búsqueda de un antígeno en particular.

La existencia de anticuerpos monoclonales capaces de reaccionar selectivamente con determinados epitopes y la posibilidad de marcar estos anticuerpos con diferentes sustancias han facilitado el diagnóstico anatomopatológico de los tumores y el mejor conocimiento de su histogénesis.

Por lo general, las citoqueratinas prevalecen durante la transformación maligna, mientras que todos los demás criterios de identificación del origen de la célula se pierden; es por eso que hoy se ha reconocido que las citoqueratinas son marcadores precisos de la diferenciación celular del epitelio y han sido utilizadas para determinar el origen y tipo celular de las neoplasias.

ANTECEDENTES

La célula se considera la unidad básica y fundamental de todos los seres vivos y se compone de varios elementos que la conforman y organizan. Son muy complejas y poseen su propio centro de control, sistema de transporte interno e interactuan con el medio extracelular por medio de la membrana plasmática.[1,2,3]

El núcleo es el organelo más prominente de la célula y es donde se encuentra toda la información genética , puede ser esférico u oval, contiene al nucléolo y a los cromosomas; se encuentra cubierto por una membrana doble nuclear porosa y se considera el centro regulador de la célula.

El nucléolo es un cuerpo granular en el núcleo y se considera el sitio de síntesis del RNA ribosómico y de ensamble de los ribosomas. Los cromosomas contienen a los genes , que son las unidades de información hereditaria que rigen la estructura y actividades celulares.[1,2,3]

Citoplasma

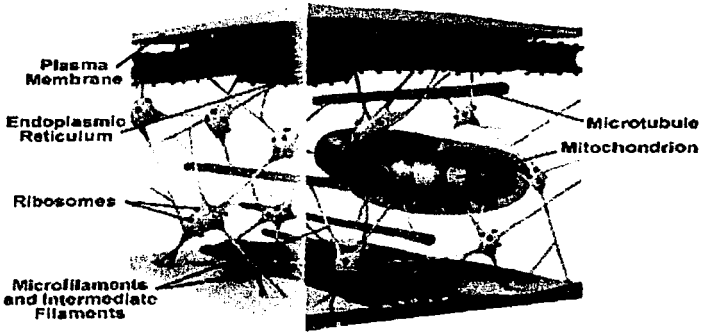
En el se encuentran los filamentos que en conjunto forman lo que es el **citoesqueleto**, el cual tiene 2 funciones muy importantes: dar un marco de soporte a la célula y su contenido, y proporcionar la maquinaria mediante la cual pueden realizarse los movimientos de las células y sus organelos. Además tiene un papel muy importante en la organización del contenido celular.[1,2,3,4]

Los elementos del citoesqueleto son los candidatos viables para proporcionar la citoarquitectura y el orden espacial tan característico de la célula viva.[2,4,6]

Citoesqueleto

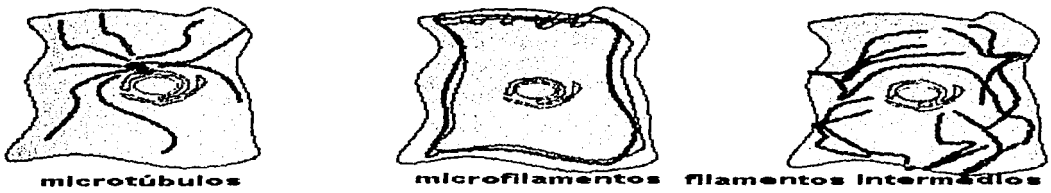
Se compone de 3 partes fibrosas bien definidas, los microfilamentos, los filamentos intermedios y los microtúbulos. Cada una de estas estructuras es un polímero lineal no ramificado de subunidades de proteína que pueden extenderse muchas micras a través del citoplasma. Además, existe un sistema mucho menos definido de elementos fibrosos citoplásmicos; las microtrabéculas, las cuales al parecer se encuentran asociadas con el citoesqueleto y pueden servir para integrar todo el complejo de sustancias en una unidad funcional cooperativa.[2,4,5,6]

Se debe tener en cuenta que, a pesar de que los elementos del citoesqueleto parecen ser estructuras fijas inmutables en las micrografías, en realidad son un grupo dinámico de organelos capaces de una rápida y drástica reorganización.[2,4,5,6]

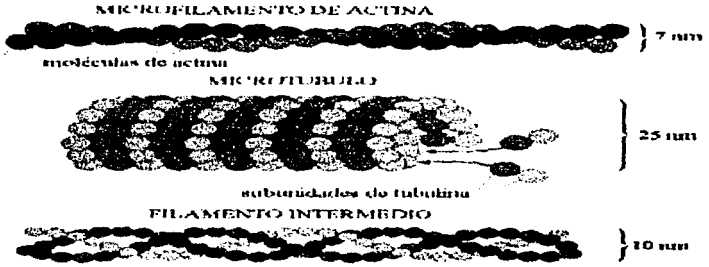


http://www.terravista.pt/bilen.../citoes13.htm

Los filamentos son de 3 tipos: Microfilamentos, microtúbulos y los filamentos intermedios.



http://www.arrakis.es/-lluengo/citosol.html



http://www.arrakis.es/_lluengo/citosol.html

Microfilamentos

Se distribuyen en redes tridimensionales a través de toda la célula. En las células musculares, hay 2 tipos de microfilamentos (miofilamentos): los microfilamentos de 6 a 8 nm (denominados filamentos finos) de actina y los microfilamentos de 15nm (denominados filamentos gruesos) de miosina. La contracción de estos microfilamentos es esencial en el flujo de material citoplasmático, es decir la formación de corrientes protoplasmáticas que se observan dentro de las células en cultivo. [6,7,8,9]

Los microfilamentos también participan en el mantenimiento de la superficie apical "plana" de las células epiteliales; es decir, la red terminal apical de filamentos de actina actúan como cables de tensión bajo la superficie celular.

También se considera que otras redes entrecruzadas de microfilamentos son un componente importante del citoesqueleto constituyendo la organización tridimensional subyacente de la matriz citoplasmática.[6,7]

Microtúbulos

Son estructuras pequeñas, huecas y cilíndricas presentes en todas las células eucariotes, compuestas por 13 subunidades de proteína alfa tubulina y beta tubulina formando la pared del microtúbulo. A la unión de 2 moléculas de alfa tubulina y beta tubulina se le denomina protofilamento.

Un microtúbulo se compone de un 80 a 90% de tubulinas, mientras que el 10% restante son proteínas asociadas con los microtúbulos (MAPs), que intervienen en el ensamble y desensamble del microtúbulo. Forman parte importante en la composición del citoesqueleto, como plataforma capaz de proporcionar un soporte estructural, además de proporcionar cierto movimiento a la célula. La labilidad de los microtúbulos refleja que son polímeros que se originan por asociaciones no covalentes de subúnidades monoméricas.[6,7,8,9]

Filamentos Intermedios

Son un grupo heterogéneo de elementos del citoesqueleto, de 8 a 10nm, que se encuentran en distintos tipos celulares.[6,7,8,9]

Por muchos años, se ha mostrado en una amplia variedad de células la presencia de filamentos largos sin ramificaciones y con un diámetro de 100 A, intermedios entre los filamentos de los microtúbulos y los microfilamentos.[6,7,8,9]

Se sabe muy poco sobre su bioquímica y función celular, y dado que poseen un aspecto microscópico muy semejante, se agruparon con el nombre de filamentos intermedios.[6,7,8,9]

Son un grupo químicamente heterogéneo de estructuras cuya subunidades proteicas pueden dividirse en cinco clases principales, con base en criterios bioquímicos e inmunohistoquímicos. La propiedad más distintiva de los filamentos intermedios como grupo es su relativa insolubilidad y resistencia a la desnaturalización cuando se les compara con otros componentes celulares.[6,7,8,9,10]

Tienen una función de sostén o estructural. Casi todas consisten de subunidades con un peso molecular de 50,000. Ciertas evidencias sugieren que muchas de las proteínas estructurales estables de los filamentos intermedios derivaron por evolución debido a modificaciones genéticas menores de enzimas muy conservadas.[10,11]

Clasificación de filamentos intermedios

Se han clasificado en cinco clases principales en base a su composición proteica y su distribución celular.[9]

-Citoqueratina(prequeratina).
-Vimentina.
-Desmina.
-Neurofilamentos.
-Proteína gliofibrilar ácida.[9]

Si bien las distintas clases de filamentos intermedios tienen diferentes secuencias de aminoácidos y muestran cierta variación en su peso molecular, comparten una región homóloga importante para el autoensamblaje del filamento. Además, contienen una región de longitud variable disponible para el contacto molecular con otras estructuras intracelulares, que les permite participar de muchas funciones dentro de la célula y entre células.

Algunos de los filamentos intermedios de las células musculares y epidérmicas conectan organelos o estructuras internas a proteínas transmembrana que están unidas a proteínas transmembranales similares de células vecinas o a filamentos de la matriz extracelular.[6,8,10]

Los filamentos intermedios, al igual que los microtúbulos y los microfilamentos; no desaparecen y se vuelven a formar de manera continua.[8,10]

Por estas razones se cree que los filamentos intermedios desempeñan un papel estructural esencial dentro de la célula y que constituyen el enlace citoplasmático de una unidad filamentosa textural que incluye los filamentos citoplasmáticos, nucleares y extracelulares.[6,7,8,10]

Se han empleado técnicas de inmunomarcado para determinar la distribución de estos cinco tipos de filamentos intermedios; ya que se ha observado que son de gran utilidad como marcadores tumorales.

También han sido útiles en medicina clínica como anticuerpos específicos para distintos tipos de filamentos, para facilitar el Dx de tumores. Por ejemplo, se emplean los anticuerpos antiqueratina para detectar tonofilamentos en tumores epiteliales (en especial cutáneos) y los anticuerpos antivimentina para identificar células tumorales de origen mesenquimático.[9]

Los filamentos intermedios también sirven de inmunomarcadores.[9,10,11], tienden a ser específicos para el tipo celular y, después de la transformación neoplásica, conservan especificidad relativa. Así, los anticuerpos contra los filamentos intermedios permiten realizar una discriminación confiable entre neoplasias de estirpe epitelial, mesenquimátosa o nerviosa poco diferenciadas.[9,10]

Otros componentes del citoesqueleto son las estructuras de anclaje a la membrana, que incluyen desmosomas, hemidesmosomas y vesículas intracelulares unidas a los desmosomas. Unidos a los desmosomas se han descubierto una serie de polipéptidos, como desmoplaquinas, polipéptidos glicosilados y polipéptidos no glicosilados, cuyos anticuerpos se han utilizado como marcadores de células epiteliales.[8,9]

Existe una buena correlación de estos polipéptidos con presencia de citoqueratina.[6,7,8,9]

CITOQUERATINAS

Los filamentos intermedios se dividen en cinco clases distintas que ya mencionamos anteriormente y de los cuales se destaca la importancia de las **citoqueratinas** que son una familia multigénica de proteínas que comprenden por lo menos 19 polipéptidos distintos y son características de células epiteliales y carcinomas, los cuales se clasifican por su pH (5.2 a 7.8), inmunoreactividad, peso molecular, carga eléctrica y punto isoeléctrico. Las citoqueratinas ácidas son muy pequeñas y las citoqueratinas básicas o neutras son más grandes.[6,8,10,11]

El análisis de la citoqueratina mediante electroforesis bidimensional ha demostrado que existen 19 subtipos que difieren en peso molecular y punto isoeléctrico. Epitelios de distinta localización muestran diferentes tipos de citoqueratina.[9,10,11] Los filamentos intermedios compuestos por queratinas, son particularmente importantes en ciertas células epidérmicas de vertebrados, y forman mallas entrecruzadas covalentemente que se mantienen incluso después de producirse la muerte de la célula.[9,10]

La infraestructura de citoqueratinas consiste en un sistema citoplásmico abundante, cuya función no se conoce completamente. XuXc y cols, mediante un estudio se descubrió que la introducción de un sistema de citoqueratinas dentro de células eucarióticas, da como resultado un fenotipo resistente a ciertas drogas.[12]

Existe gran controversia respecto a la clasificación de las citoqueratinas. Las principales clasificaciones que se han realizado son las siguientes:

Shearer[13] y Gartner[14] establecen dos grupos en base a sus secuencias primarias. En humanos, el grupo I está compuesto por 15 citoqueratinas ácidas (44-60 Kda) y el grupo II consiste en 15 citoqueratinas neutras o básicas(50-70Kda).[13,14]

García y cols.[15] Abe y cols.[16] y Maeda y cols.[17] proponen 19 variedades, clasificándolas en tipo I (ácidas), de bajo peso molecular (subtipos de 10 al 19), y tipo II (básicas), de alto peso molecular (subtipos de 1 a 9).[15,16,17]

Los epitelios simples expresan las variedades de tipo I, el estratificado las de tipo II y una combinación de ambos tipos aparecen en el epitelio transicional de vejiga y pseudoestratificado pulmonar. La mayor parte de los anticuerpos policlonales ponen de manifiesto citoqueratinas del epitelio escamoso, dándole escasa o nula reacción en otros epitelios. Así pues, para la utilización diagnóstica de estos anticuerpos deberán utilizarse mezclas de anticuerpos monoclonales que contengan una gama amplia de citoqueratinas (AE1 y AE3 que reconocen las citoqueratinas ácidas y básicas, respectivamente).[15]

Li y cols.[18] también mencionan la existencia de 20 subtipos, aunque manejan una clasificación distinta, siendo las citoqueratinas tipo I (ácidas, CK9 –CK20) y las del tipo II (básicas CK1 – CK8).[18]

Al parecer, la siguiente y última clasificación es la que presenta mayor aceptación en la literatura:

Hamakawa y cols.[19], Heyden y cols[20], Ogden y cols.[21], Luomanen y cols.[22], Hiruyuki y cols.[23] y Ogden y cols.[24] las dividen de acuerdo a su peso molecular y a su punto isoeléctrico por electroforesis bidimensional en 20 puntos en el rango de peso molecular de 40 a 67 Kda y en un rango de pH de 4.9 a 7.8. Además , se han clasificado de acuerdo a la reactividad al anticuerpo monoclonal y su secuencia de aminoácidos en citoqueratinas tipo I (ácidas, CK1- CK8) y citoqueratinas tipo II (neutras o básicas, CK9- CK20).[19,20,21,22,23,24,25,26,27]

La expresión de estos polipéptidos depende del tipo de epitelio.[17,18,19,20,21,22,23,24,25] Aunque la mayoría de citoqueratinas están presentes en una célula epitelial en particular, las citoqueratinas ácidas y básicas están presentes en cantidad equimolar. En el epitelio normal, los pares de queratinas se expresan de manera constante y su clasificación numérica esta implicada en la definición de su distribución tisular.[18] De esta manera, las células del epitelio escamoso expresan CK1-CK6 y CK9-CK17, mientras que las células del epitelio simple columnar expresan CK7,CK8,CK18-CK20.[19,23]

Citoqueratinas como marcador tumoral

Las lesiones benignas o malignas de la mucosa bucal pueden presentar un incremento o disminución en el grado de queratinización. Luomanen y cols.[22] Reportan estudios que muestran cambios en la composición de las citoqueratinas de las lesiones premalignas y malignas, por lo que los anticuerpos para citoqueratinas pueden ser útiles para revelar cualquier cambio en el tejido con alteraciones preneoplásicas o neoplásicas.[22]

Por lo general, las citoqueratinas prevalecen durante la transformación maligna, mientras que todos los demás criterios de identificación del origen de la célula se pierden; es por eso que hoy se ha reconocido que las citoqueratinas son marcadores muy precisos de la diferenciación celular de epitelio y han sido utilizadas para determinar el origen y tipo celular de las neoplasias.[22,28,33]

El diagnóstico del cáncer se basa en el estudio anatomopatológico con técnicas histológicas básicas. Sin embargo, la información que se desprende del diagnóstico microscópico básico es insuficiente para el plantemamiento terapéutico.[22,28,33]

Actualmente, además del diagnóstico histológico completo, es necesaria la aplicación de técnicas inmunohistoquímicas para la demostración de diversas proteínas que permitan asegurar la histogénesis y la presencia de indicadores de pronóstico del tumor, en algunos casos, la aplicación de técnicas de biología molecular están indicadas para la demostración de genes o mutaciones de genes con valor pronóstico.[9,15,28,34,37] La existencia de anticuerpos monoclonales capaces de reaccionar selectivamente con determinados epitopes y la posibilidad de marcar estos anticuerpos con diferentes sustancias han facilitado el diagnóstico anatomopatológico de los tumores y el mejor conocimiento de su histogénesis.[15,28,33]

Según Osborn y Weber, los tumores primarios o sus metástasis conservan, independientemente del grado de diferenciación, el patrón de filamentos intermedios propio de la célula histogenética precursora.[37,38,39]

La determinación por métodos inmunohistoquímicos de los filamentos intermedios permite determinar la filiación de las metástasis de origen desconocido, establecer el diagnóstico diferencial histopatológico: timoma/linfoma, carcinoma/melanoma, carcinoma/linfoma, ayudar al diagnóstico de tumores poco diferenciados, detección temprana de micrometástasis e invasión vascular y linfática y ampliar los métodos de investigación de las neoplasias: histogénesis, grado de diferenciación, síntesis de antígenos oncofetales.[37,38,39]

Citoqueratinas en cancer de cabeza y cuello

El patrón de citoqueratinas en la mucosa bucal normal muestra variaciones regionales de acuerdo con el patrón de cornificación.[17,20,22,25,27] Generalmente, cada citoqueratina tipo I se encuentra asociada con una citoqueratina tipo II en particular. La composición de estas parejas de proteínas varía dependiendo del tipo celular y estado de diferenciación, que puede verse influenciado por enfermedades y el ambiente en que crece la célula. [17,18,20,21,22,24,27,56]

La cavidad bucal expresa un amplio espectro de citoqueratinas. Principalmente, las células basales ya que expresan CK14 y CK15; las áreas que no queratinizan (piso de boca) expresan CK19. La mayoría de los estratos suprabasales expresan CK4 y CK13. Adicionalmente, en las áreas queratinizantes (paladar duro) se observa expresión suprabasal de CK! Y CK10. CK6 y CK16 también se encuentran en muchas regiones de forma suprabasal. Generalmente, CK8, CK18 y CK19 no se expresan en grandes cantidades en mucosa bucal normal pero han sido asociadas con la presencia de muchos tumores.[24,40]

El uso de anticuerpos para citoqueratinas como marcadores en cáncer bucal requiere de la identificación de la distribución y la localización de citoqueratinas en el tejido tumoral. [18,19,20,21,23,25,27]

En un estudio reciente se detectó expresión suprabasal limitada de CK1/10 en mucosa bucal normal, lo que indica que el epitelio bucal normal está preparándose para la queratinización; en ese mismo estudio, la expresión de este par de citoqueratinas se incrementó de manera importante en lesiones ortoqueratósicas.[26]

En otro estudio se detectó expresión uniforme de CK4 y CK13 en el estrato espinoso de las lesiones paraqueratósicas estudiadas, mostrando incluso, expresión ocasional en células basales. En contraste, las áreas ortoqueratinizadas, mostraron una expresión de CK4 y CK13 que variaba de homogénea a discreta en las capas suprabasales.[40]

Aunque no hay citoqueratinas específicas de la cavidad bucal, el conocimiento de los cambios en el tejido que sufre transformación maligna, puede ser valioso en el diagnóstico temprano de cáncer[21,25]; de hecho, los cambios en la expresión de citoqueratinas, tanto a nivel de transcripción como a nivel proteínico, puede informarnos del papel específico que juega la diferenciación de las citoqueratinas en lesiones no displásicas como son las queratosis bucales, que están asociadas a un patrón alterado de diferenciación, de un epitelio no queratinizado a uno para u ortoqueratinizado.[40]

Actualmente, los estudios inmunohistoquímicos de la expresión de citoqueratinas proporcionan datos útiles sobre la diferenciación epitelial y la actividad de proliferación en algunas lesiones bucales, ya que ayudan a dilucidar los cambios moleculares involucrados en dichas lesiones.[18,21,25,27,56]

Las lesiones de la mucosa bucal, tanto benignas como displásicas, frecuentemente se caracterizan por un aumento o disminución del grado de cornificación. Es bien sabido que las citoqueratinas expresadas por las células epiteliales reflejan el estado de diferenciación celular. En estudios recientes se han demostrado cambios en la composición de citoqueratinas en lesiones premalignas y malignas de la cavidad bucal. Es de esta manera como los anticuerpos para citoqueratinas pueden ser de utilidad para revelar cualquier cambio en el perfil de tejidos con alteraciones preneoplásicas o neoplásicas, ya que se ha especulado que los cambios en la expresión de citoqueratinas pueden aparecer antes que las alteraciones histológicas.[22,24]

El uso de las citoqueratinas como marcadores proteicos proporciona grandes ventajas, ya que son abundantes, estables y altamente antigénicas. Es por esto que los anticuerpos para los distintos grupos de citoqueratinas se utilizan ampliamente como marcadores celulares de varios tipos de epitelio y sus respectivas neoplasias. De hecho, estudios actuales sugieren que los anticuerpos monoespecíficos para queratinas aplicados inmunohistoquímicamente, pueden ser un auxiliar para definir el grado de diferenciación en displasias bucales[20]

Así como también pueden servir como marcadores precoces indicativos de alteraciones en lesiones premalignas.[17,20,22,24]

La transformación maligna, a menudo se asocia con alteraciones en la expresión de marcadores normales de diferenciación, que pueden servir como puntos terminales intermedios en la carcinogénesis y en la prevención del cáncer. Para identificar cambios tempranos en los marcadores de diferenciación durante el desarrollo de cáncer de cabeza y cuello, han examinado la expresión de CKs 1, 8, 13 y 19 por medio de métodos inmunohistoquímicos. Observando que la expresión de CK19 se incrementa en las lesiones hiperplásicas y continua expresándose en lesiones displásicas y malignas, mientras que la expresión de CK8 es baja en tejidos normales e hiperplásicos, pero aumenta en tejidos displásicos y malignos.[12] De esta forma, CK8 y 19 podrían ser marcadores de cambios premalignos secuenciales en carcinogénesis de cabeza y cuello.[12,22,24]

Se sabe que la antigenicidad de las citoqueratinas se reduce con los fijadores y con un tiempo prolongado de fijación. Por esta razón, se prefieren muestras frescas congeladas para técnicas inmunohistoquímicas. Sin embargo, se ha visto que la antigenicidad en los cortes histológicos de bloques de cera puede restaurarse con un tratamiento previo en microondas (dos veces, por 5 minutos cada vez). Por consecuencia, la intensidad de tinción y los rangos de tinción positivos mejoran notablemente en comparación con los especímenes que no tuvieron tratamiento en microondas.[23]

El carcinoma epidermoide se diagnostica mediante criterios histológicos en una biopsia representativa del tejido neoplásico.[38,39,42,43] Es común a todas las lesiones malignas la presencia de invasión hacia el tejido conjuntivo subyacente y la posibilidad de que las células malignas infiltren los vasos linfáticos y sanguíneos, haciendo posible su transporte a distancia (metástasis).

Aunque todos los carcinomas tienen la posibilidad de metastatizar, hay una gran diversidad en el potencial metastático de los diversos carcinomas de células escamosas o epidermoides. Este potencial está correlacionado con la gradificación histológica en que se encuentra el carcinoma epidermoide bucal.[38,39,42,43]

El tipo histológico se relaciona con el grado de diferenciación que presentan las células tumorales y la similitud entre la arquitectura del tejido y el epitelio normal.[36,38,42,43]

Los tumores que producen cantidades importantes de queratina y presentan algunos rasgos de maduración desde las células basales a queratina se consideran bien diferenciados.[36,47]

Los tumores que producen escasa o nula queratina, pero en los cuales el epitelio todavía es reconocible como plano estratificado, a pesar de su importante desviación de la normalidad, se consideran como moderadamente diferenciados.[36,47] Los tumores que no producen queratina, tienen poco parecido con el epitelio plano estratificado, muestran una significativa falta de patrón estructural normal y de cohesión de las células y presentan alteraciones celulares extensas se designan como poco diferenciados.[36,47]

El carcinoma de células basales se diagnostica por medio de criterios histopatológicos del tejido neoplásico, el cual aparece como nidos y cordones de células basaloides que se originan en la zona de células basales del epitelio. Los núcleos poseen morfología tintorial uniforme; las células neoplásicas en la periferia de los nidos y cordones son pálidas y con frecuencia con distribución columnar.[36,42,43,47]

Una variante poco frecuente es el carcinoma de células basales queratinizante, donde se observa un patrón de queratinización que simula cabellos. Por lo tanto, la utilización de las citoqueratinas como marcadores citologicos en la identificación de carcinoma de células basales.[36,42,43,47]

DISPLASIA EPITELIAL

En el desarrollo del tejido normal pueden existir alteraciones, lo que originaría una displasia, que significa alteración del desarrollo; sin embargo este termino se usa aplicado a células epiteliales que han experimentado proliferación y alteraciones citológicas atípicas, que afectan al tamaño, forma y organización celular.[43,50,55]

Hoy en día el grado de displasia es usado como base para la diferenciación histológica en la medicina clínica mientras el término atipía se refiere a las características celulares anormales.

La displasia epitelial representa pérdida de la orientación normal de las células.[43,50,55]

El epitelio estratificado escamoso displásico está engrosado por hiperplasia de las células basales lo que se acompaña de maduración desordenada de las células a medida que se aproximan a las capas superficiales.[36,38,43,50,51,54]

Para determinar la existencia de displasia se consideran varios parámetros : [50,51]

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.
Hipercromatismo celular.
Nucleolos prominentes.
Pérdida de la cohesión celular.
Queratinización de células individuales, o en grupos de células del estrato espinoso.
Procesos epiteliales en forma de gota.

No todos estos cambios se observan necesariamente; en base a esto la displasia epitelial se divide en : leve, moderada y severa de acuerdo con la presencia y grado de los rasgos atípicos.[43,]

TUMOR

Se puede describir como un tejido anormal en crecimiento activo, compuesto por células derivadas de otras que han sufrido una alteración irreversible en la diferenciación de crecimiento progresivo, que sobrepasa al de los tejidos normales y no está coordinado con éstos.[51]

El cáncer se considera una enfermedad que se origina en una región localizada y que después se disemina al resto del organismo, al que gradualmente destruye. El problema se debe a que tiene un largo período de latencia, originándose en una célula y multiplicándose periódicamente, avanza en forma silenciosa durante años hasta que alcanza un número aproximado de células, hasta entonces puede ser diagnosticado clínicamente, pero la neoplasia maligna ha alcanzado tal dimensión que lo más probable es que ya se encuentre en proceso de diseminación.[36,37,38,46,47,48,51,55]

El carácter definitivo de la proliferación neoplásica es su autonomía o incoordinación respecto a la estructura y función del organismo, así como su progresión continua. Por esos hechos difiere fundamentalmente de la proliferación durante la reparación, del crecimiento hiperplásico y de las malformaciones en las que la multiplicación celular está limitada en cantidad y duración, de acuerdo con factores más o menos conocidos.[37,42,43,46,47,48,55]

El desarrollo de un tumor maligno es el resultado de un proceso biológico mediante el cual se producen mutaciones sucesivas, que provocan proliferación celular continua; una vez que se efectua este cambio, ocurre multiplicación celular progresiva, con invasión subsecuente de los tejidos vecinos sobre una zona cada vez más amplia. Las células tumorales están dotadas de movimientos y se adhieren menos firmemente entre sí que las células normales, facilitando la infiltración local y sistemica.[36,37,38,42,43,49]

Existe un paralelismo definitivo entre los caracteres celulares de los tumores y su grado de malignidad, basado principalmente en el ritmo de multiplicación y la diferenciación de las células tumorales.[37,38,46]

Los tumores malignos crecen por infiltración, invasión y destrucción progresiva del tejido que los rodea, suelen estar mal delimitados con respecto al tejido adyacente normal faltando un plano de separación bien definido.[46]

Una característica que define claramente que una lesión es maligna es la metástasis que son implantes tumorales a distancia que no guardan continuidad con el tumor primario. [37,38,42,43,44,45,46]

Tumor y neoplasia son sinónimos. La palabra cáncer se refiere a tumor maligno, derivado del latín cancrum, que significa cangrejo, expresa el modo pertinaz de adherirse e invadir que lo caracteriza.[51]

CARCINOMA EPIDERMOIDE

También se conoce como carcinoma de células escamosas y carcinoma espinocelular; Se caracteriza por ser una neoplasia maligna del epitelio plano estratificado que puede producir proliferación destructiva local y metastasis a distancia. [36,38,42,43,46]

Suele ser la etapa final de la proliferación del epitelio plano estratificado, iniciándose como una displasia y evolucionando hasta que las células epiteliales displásicas rompen la membrana basal e invaden el tejido conjuntivo.

El carcinoma epidermoide es la neoplasia maligna más frecuente de la cavidad bucal, representando alrededor del 90% del total de los tumores malignos de boca. Aunque se presenta en diversas localizaciones es más frecuente en el labio inferior, en los bordes laterales de la lengua y en el piso de la boca. La incidencia aumenta con la edad; la mayoría de los casos se presentan después de los 40 años.[42,43]

Etiología

Existen varios factores que predisponen la aparición del carcinoma epidermoide; entre ellos se encuentran el consumo de tabaco y alcohol como los de mayor importancia; además de los virus, radiación actínica, inmunosupresión, deficiencias nutricionales, enfermedades preexistentes e irritación crónica.[42,43,46,47,48,51]

Tabaco.- Existen estudios epidemiológicos que demuestran dicha asociación, al observar que un porcentaje muy elevado de los pacientes con carcinoma de la cavidad bucal corresponde a grandes fumadores.

El riesgo aumenta, cuanto mayor es la cantidad de tabaco consumida; además, la forma o el modo en el que se consume el tabaco parece condicionar una mayor o menor probabilidad de aparición del carcinoma.[38,42]

Todas las formas de inhalación del humo del tabaco, así como el consumo del tabaco masticado, se relaciona con esta enfermedad, los fumadores de pipa y puro tienen mayor riesgo de presentar este padecimiento que los fumadores de cigarrillos normales.[38,42]

Alcohol.- Un elevado porcentaje de los pacientes con carcinoma epidermoide son grandes bebedores y el riesgo aumenta conforme incrementa el consumo de bebidas alcohólicas; se piensa que el alcohol es el 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. Por otra parte, se piensa que la deficiencia en la higiene bucal puede tener un efecto carcinogénico.[38,42,46]

Características clínicas

Tiene una serie de presentaciones clínicas. Las presentaciones tempranas más comunes son la leucoplasia y las eritroplasia .

Puede aparecer en las áreas expuestas al sol como el labio inferior o desarrollarse en tejido normal, en una queratosis actínica preexistente o también puede iniciar como una pápula o placa roja con superficie escamosa o costrosa; puede ser nodular, en ocasiones con superficie verrucosa, que ulcera e invade el tejido subyacente. Un tercio de las lesiones linguales o mucosas han dado metástasis antes de ser diagnosticadas.[38,42,46,51]

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

Tipo exofítico.- Presenta crecimiento de forma vegetante, hacia fuera, y se observa una tumoración de superficie irregular y dura a la palpación.

Tipo endofítico.- 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.

Tipo Mixto .- Aparecen asociadas las dos formas anteriores. [42]

El sistema TNM se utiliza para describir de modo objetivo la extensión anatómica de la enfermedad y se apoya en 3 criterios :[42,43,55]

T : extensión del tumor primario.
N : estado de los ganglios linfáticos en relación con el tumor primario.
M : Presencia de metástasis.

Cada una de estas divisiones tiene a su vez varias subdivisiones en relación con la extensión de la enfermedad, tanto a nivel local como a distancia.

Características histológicas

Al disminuir el nivel de diferenciación hay incremento en el número de células anaplasicas, las características citológicas incluyen aumento en la proporción núcleocitoplasma, hipercromatismo nuclear, queratinización de células individuales, figuras mitóticas atípicas así como aumento en la velocidad mitótica. [42,43,51]

El carcinoma epidermoide deriva del epitelio escamoso estratificado de la cavidad bucal, es decir, de los queratinocitos. Desde el punto de vista morfológico se les ha clasificado según diferentes criterios. El criterio de diferenciación es el más sencillo y está basado en el análisis del patrón histológico del tumor, en comparación con las características del epitelio estratificado malpigiano del cual deriva.

Según la semejanza o, por el contrario, la ausencia de parecido, se clasifican en tres grados : bien diferenciado, moderadamente diferenciado y poco diferenciado.[36,38,42,43,46]

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.[36,38,42,43,46]

Moderadamente diferenciado.- Posee una menor semejanza con las células escamosas, tanto en la forma como en la disposición de sus células. La presencia de queratina es menor y en ocasiones se producen fenómenos de queratinización individual de una célula, 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.[36,38,42,43,46]

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.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En ocasiones es necesario realizar el diagnóstico diferencial con sarcomas debido al aspecto seudosarcomatoso de las células.[36,38,42,43,46]

Clasificación de Jackobsson

Se basa en dos factores para el desarrollo de un tumor de origen epitelial que son los factores intrínsecos de la neoplasia y factores del huésped-tumor. A continuación se describen cada uno:[42,48,53]

Factores intrínsecos a la neoplasia:

Grado de queratinización : Formación de perlas córneas o zonas individuales queratinizadas.[42]

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

Grado II Moderadamente queratinizantes (20 a 50% de las células malignas presentan queratinización).

Grado III Mínima queratinización (5 a 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.[42]

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

Grado II Moderado polimorfismo nuclear (50 a 70% de células maduras).

Grado III Abundante polimorfismo nuclear (25 a 50% de células maduras).

Grado IV Extremo polimorfismo (0 a 25% de células maduras).

Número de mitosis : Se deben de ver numerosos campos a una resolución de 40X. [42]

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 :

Patrón de invasión : Se observan las características infiltrativas.[42]

Grado I : Compuesta de áreas sólidas de las 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 neoplásia.[42]

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.[42]

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.

Diagnóstico diferencial

El carcinoma epidermoide cuando se presenta en la forma clínica 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 ulceras del cáncer bucal.[36,38,42,43]

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.[36,38,42,43]

CARCINOMA BASOCELULAR

También se conoce con el nombre de carcinoma de células basales o epitelioma basocelular. Es una lesión maligna frecuente de la piel, localmente destructiva, no metastatizante, constituida por agrupaciones medulares de células basales.[36,37,42,43,51]

El carcinoma de células basales es un tumor maligno de las áreas pilosas de la piel. Aunque no se origina en las membranas mucosas puede afectarlas mediante propagación directa desde la piel adyacente.[36,37,42,43,51]

Etiología

Se desarrolla principalmente en la piel expuesta al sol de la parte superior de la cara, incluidos la frente y las orejas, en individuos de tez blanca. Las personas de piel oscura rara vez se ven afectadas. La exposición ocupacional o recreativa a la luz solar directa (actínica) es un factor etiológico conocido de este tumor. Se presenta más frecuentemente el los hombres que en las mujeres.[42,43]

La incidencia es mayor en regiones con altas temperaturas y baja humedad. Puede desarrollarse con mayor frecuencia en personas que se encuentran en la cuarta década de la vida en adelante.[42,43,51]

Características clínicas

Es el más frecuente de cabeza y cuello; la región media de la cara es el área donde se encuentra la mayor parte de los carcinomas de células basales, es de forma noduloulcerativa, indurado, suave con un aspecto aperlado y con vasos telangiectásicos que cursan sobre su superficie. Con el tiempo, el centro de la lesión se ulcera y forma costra y al expanderse la lesión las estructuras vitales adyacentes se erosionan con lentitud.[36,42,43,47]

Se inicia como una pápula ligeramente elevada que aumenta lentamente de tamaño y finalmente desarrolla una úlcera central costrosa con borde elevado liso arrollado. Si no se trata, el tumor aumenta de tamaño e invade los tejidos y las estructuras adyacentes por extensión directa, pero rara vez metastatiza. Aunque la mayoría de los carcinomas de células basales son tumores solitarios, los que se presentan en el Síndrome de Gorlin-Gotz son multiples.[36,42,43,47]

En ocasiones es posible observar otras formas clínicas; la forma pigmentada del carcinoma de células basales se presenta de manera similar al del tipo noduloulcerativo con la diferencia de que además hay pigmentación melanica en la periferia del tumor.

La forma superficial se presenta como una lesión descamada, eritematosa que surge en la superficie de la piel; en ocasiones aparece como un proceso atrófico semejante a una escama.

La forma fibrosa del carcinoma basocelular se presenta como una placa indurada amarillenta que puede deprimirse en forma ligera o aplanarse, lo que parece una escama lenta o insidiosa en su crecimiento en ausencia de traumatismo.

La variante pápula fibrosa o fibroma perifolicular de este carcinoma surge como una lesión firme que casi siempre se localiza en el tronco inferior o en el área lumbosacra.[36,42,43,47]

Características histológicas

Aparecen con patrones circunscritos o difusos; en el primero, surgen células cuboidales de la región de las células basales epidermicas. Los núcleos presentan una morfología relativamente uniforme y calidad tintorial.

Las células neoplásicas alrededor de la periferia de los nidos invasores y cordones casi siempre están en empalizada y a menudo en forma columnar.[36,42,43,47]

La queratinización parece a la del cabello que se observa en la variante no frecuente, el carcinoma de células basales queratósico.

El termino adenoide se utiliza como modificador histológico para describir los carcinomas de células basales que sugieren diferenciación glandular. Otros tipos se describen como sólidos o quísticos.[42,43]

En el patrón histopatológico difuso de este carcinoma, el tipo más importante es aquel en el que se encuentran nidos infiltrativos pequeños en un estroma fibroblástico (carcinoma de células basales infiltrativo) este se describe con un patrón de crecimiento continuo que puede pronosticar un curso clínico más agresivo.

Otros tipos difusos microscópicos se designan como superficial y micronodular.[42,43,49]

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los tumores malignos pueden ser tan indiferenciados microscópicamente que es imposible distinguir entre un tumor de origen epitelial y un mesenquimatoso. Los marcadores tumorales se basan en la preservación de características de la célula progenitora o en la síntesis de proteínas especializadas por la célula neoplásica, para hacer esta distinción.

Los filamentos intermedios sirven de inmunomarcadores. Ellos tienden a ser específicos para el tipo celular y después de la transformación neoplásica, conservan esta especificidad relativa; además de que son fáciles de realizar.

Así, los anticuerpos contra los filamentos intermedios permiten realizar una discriminación confiable entre neoplásias de estirpe epitelial, mesenquimatosa y nerviosa poco diferenciadas.

Las citoqueratinas y sus respectivos anticuerpos pueden ser de gran importancia en la diferenciación epitelial; por lo que sí consideramos que el carcinoma epidermoide y el carcinoma de células basales son neoplasias con alteraciones del tejido epitelial; también existirá expresión de citoqueratinas del tejido alterado.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los tumores malignos pueden ser tan indiferenciados microscópicamente que es imposible distinguir entre un tumor de origen epitelial y un mesenquimatoso. Los marcadores tumorales se basan en la preservación de características de la célula progenitora o en la síntesis de proteínas especializadas por la célula neoplásica, para hacer esta distinción.

Los filamentos intermedios sirven de inmunomarcadores. Ellos tienden a ser específicos para el tipo celular y después de la transformación neoplásica, conservan esta especificidad relativa; además de que son fáciles de realizar.

Así, los anticuerpos contra los filamentos intermedios permiten realizar una discriminación confiable entre neoplásias de estirpe epitelial, mesenquimatosa y nerviosa poco diferenciadas.

Las citoqueratinas y sus respectivos anticuerpos pueden ser de gran importancia en la diferenciación epitelial; por lo que sí consideramos que el carcinoma epidermoide y el carcinoma de células basales son neoplasias con alteraciones del tejido epitelial; también existirá expresión de citoqueratinas del tejido alterado.

JUSTIFICACIÓN

Generalmente, las neoplasias y sus metástasis conservan, independientemente del grado de diferenciación, el patrón de filamentos intermedios propio de la célula citogenética precursora.

Esto quiere decir que las citoqueratinas se conservan en el citoesqueleto de la célula durante la transformación maligna; de ahí que actualmente se considera como un marcador muy preciso de la diferenciación celular del epitelio y han sido utilizadas para determinar el origen y tipo celular de los tumores.

Existen diferentes tipos de citoqueratinas que se aplican como marcadores tumorales; pero en el presente estudio solo se emplearon 2 de ellas, una de alta y una de baja densidad de manera conjugada para determinar su expresión en carcinoma epidermoide y carcinoma de células basales.

HIPÓTESIS

1.- No existen diferencias en la inmunoexpresión de citoqueratinas de baja y alta densidad conjugadas en las lesiones identificadas como Ca epidermoide y Ca de células basales.

2.- Las citoqueratinas si se expresan tanto en el Ca epidermoide como en el Ca basocelular.

OBJETIVO GENERAL

*Determinar si existe inmunoexpresión y expresión de citoqueratinas monoclonales de alto y bajo peso molecular conjugadas en el Ca epidermoide y Ca basocelular.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

*Evaluar la totalidad de los casos diagnosticados histopatológicamente como Ca epidermoide y Ca de células basales; cuantos de ellos presentan cambios displásicos de acuerdo a los criterios establecidos internacionalmente.

*Demostrar la inmunoexpresión de las citoqueratinas monoclonales de alto y bajo peso molecular en el carcinoma epidermoide y carcinoma basocelular.

UNIVERSO DE ESTUDIO

Tipo de estudio:

Retrospectivo.

Descriptivo.

Transversal.

Población de estudio:

Todos los casos diagnosticados como Ca epidermoide y Ca de células basales del archivo del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la DEPeI de la Facultad de Odontología de la UNAM.

Criterios de inclusión:

Todos los casos diagnosticados como Ca epidermoide y Ca de células basales.

Criterios de exclusión:

Los casos que histológicamente no correspondan al diagnóstico y en los cuales ya no exista tejido para su estudio.

Variables Independientes:

- Citoqueratinas de baja densidad.
- Citoqueratinas de alta densidad.

Variables Dependientes:

- Carcinoma Epidermoide.
- Carcinoma de células basales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Equipo:

-Potenciómetro Beckman.
-Horno de microondas 500-1000w.
-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:
10ml.
100ml.
200ml.
1000ml.
-Puntas amarillas y azules.
-Portaobjetos.
-Cubreobjetos.
-Agua desionizada.

Reactivos:

-Tri-sodio citrato 2-hidrato para análisis Merck.
-Peróxido de Hidrógeno al 30%.
-K2 HPO4.
-K HPO4.

-NaCl.

-Hematoxilina Meyers o Harris.

-Medio de montaje Entellan.

-Poli-l-lisina marca Sigma. (100ml).

-Pap- pon (marcador hidrofóbico) DAKO.

-Hidróxido de ámonio.

-Xilol.

-Alcohol 100%.

-Alcohol 96%.

-Hematoxilina.

-Solución Scott.

-Eosina.

-Alcohol Xilol.

Anticuerpos:

-Citikeratin, High Molecular Weight (Basic), Monoclonal, Mouse IgG [AE3], AM133-5M.

-Citokeratin, Low Molecular Weight (Acidic), Monoclonal, Mouse IgG1 [AE1],AM075-5M.

-ABC (Elite, PK-6102), Mouse IgG VECTOR.

-Cromógeno Peroxidase substrate Kit DAB. SK 4100 VECTOR.

METODOLOGÍA

Para llevar a cabo éste estudio se seleccionaron 21 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 y del Hospital Gea González.

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

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

Uno de ellos se tiñó de manera convencional con H&E para la observación morfológica.

Técnica inmunohistoquimica

Se desparafinaron en xilol las laminillas, 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 0.1 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% incubándolas de 3 a 5 minutos a temperatura ambiente. Nuevamente se lavaron con 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 preparo usando 10ml 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 minutos (en cámara húmeda). Decantandolo y colocando el anticuerpo primario así como el control negativo. Posteriormente se preparo el anticuerpo secundario con 10 ml de PBS, 3 gotas del suero bloqueador y una gota del ácido biotilinado; para preparar el ABC se colocaron 5 ml de PBS y se agregaron 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 ácido secundario dejándose incubar durante 20 o 30 minutos a temperatura ambiente.

Después se enjuagaron con PBS dejándose 5 minutos. Se colocaron 2 o 3 gotas del ABC y se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se lavaron nuevamente con PBS y se preparo el cromógeno.

Se agitó el cromógeno y se agregaron 2 gotas a cada coverplate incubándolos durante 5 minutos.

Se observó la reacción al microscopio y se le coloco 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 filtro la Hematoxilina y se vacío 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.

Posteriormente, para obtener los resultados; las laminillas fueron observadas en un microscopio de campo claro a 10 y 40X, se evaluó la expresión de las citoqueratinas en leve (+), moderada (++) y severa (+++). Posteriormente se anotaron los resultados en hojas de recolección de datos y después se obtuvieron porcentajes, rangos, promedio y desviación estándar.

Se bloquearon sitios inespecíficos o cargados con suero normal durante 10 a 20 minutos el cual se preparo usando 10ml 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 minutos (en cámara húmeda). Decantandolo y colocando el anticuerpo primario así como el control negativo. Posteriormente se preparo el anticuerpo secundario con 10 ml de PBS, 3 gotas del suero bloqueador y una gota del ácido biotilinado; para preparar el ABC se colocaron 5 ml de PBS y se agregaron 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 ácido secundario dejándose incubar durante 20 o 30 minutos a temperatura ambiente.

Después se enjuagaron con PBS dejándose 5 minutos. Se colocaron 2 o 3 gotas del ABC y se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se lavaron nuevamente con PBS y se preparo el cromógeno.

Se agitó el cromógeno y se agregaron 2 gotas a cada coverplate incubándolos durante 5 minutos.

Se observó la reacción al microscopio y se le coloco 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 filtro la Hematoxilina y se vacío 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.

Posteriormente, para obtener los resultados; las laminillas fueron observadas en un microscopio de campo claro a 10 y 40X, se evaluó la expresión de las citoqueratinas en leve (+), moderada (++) y severa (+++). Posteriormente se anotaron los resultados en hojas de recolección de datos y después se obtuvieron porcentajes, rangos, promedio y desviación estándar.

RESULTADOS

De acuerdo a los criterios de Jackobsson

El total de los casos que conforman este trabajo fueron 21, de ellos 12 carcinomas epidermoides y 9 basocelulares con diagnóstico histopatológico confirmado.

De acuerdo a los criterios de Jackobsson, en el caso de carcinoma epidermoide se diagnosticaron, 8 de grado bajo con un 66.67%, 4 de grado intermedio con un 33.33%; cabe señalar que no se reporto ningun caso de alto grado de acuerdo a estos criterios. En la **tabla 1** se describen los resultados obtenidos en cada uno de los casos, así como su puntaje y el grado obtenido.

Tabla 1. Gradificación histológica de carcinoma epidermoide

FQI-21498

Queratinización	**III**
Polimorfismo nuclear	**III**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**II**
Estado de invasión tumoral	**III**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje : 15	*Grado : INTERMEDIO*

FQI-21698

Queratinización	**II**
Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**II**
Estado de invasión tumoral	**III**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje : 13	*Grado : BAJO*

FQI-21798

Queratinización	**II**
Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**I**
Estado de invasión tumoral	**III**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje : 12	*Grado : BAJO*

FOI-21898

Queratinización	**IV**
Polimorfismo nuclear	**I**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**IV**
Estado de invasión tumoral	**III**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje : 16	*Grado : INTERMEDIO*

FOI-21998

Queratinización	**III**
Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**II**
Patrón de invasión	**III**
Estado de invasión tumoral	**II**
Infiltrado linfoplasmocitario	**II**
Puntaje : 14	*Grado : INTERMEDIO*

FOI-22098

Queratinización	**III**
Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**II**
Estado de invasión tumoral	**II**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje : 13	*Grado : BAJO*

FOI-22198

Queratinización	**II**
Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**II**
Estado de invasión tumoral	**II**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje : 12	*Grado : BAJO*

FOI-22298

Queratinización	**I**
Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**IV**
Estado de invasión tumoral	**III**
Infiltrado linfoplasmocitario	**I**
Puntaje : 12	*Grado : BAJO*

FOI-22398

Queratinización	**II**
Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**I**
Estado de invasión tumoral	**II**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje : 11	*Grado : BAJO*

FOI-22498

Queratinización	**IV**
Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**II**
Patrón de invasión	**IV**
Estado de invasión tumoral	**II**
Infiltrado linfoplasmocitario	**I**
Puntaje : 15	*Grado : INTERMEDIO*

FOI-22598

Queratinización	**I**
Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**II**
Estado de invasión tumoral	**II**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje : 11	*Grado : BAJO*

FOI-22698

Queratinización	**I**
Polimorfismo nuclear	**III**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**II**
Estado de invasión tumoral	**III**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje : 13	*Grado : BAJO*

Una vez realizada la observación microscópica y haberle dado el puntaje de acuerdo a lo establecido previamente se procedió a obtener el porcentaje de acuerdo al grado de malignidad, como se muestra en la tabla 2 Por otra parte, se procedió a realizar el análisis de los resultados donde obtuvimos un promedio de 4, desviación estándar 4, varianza =16 y un rango de 8.

Tabla 2. Número de casos y porcentaje de carcinoma epidermoide.

Grado	No. Caso	Porcentaje
Bajo	8	66.67%
Intermedio	4	33.33%
Alto	0	0.00%
Total	12	100.00%

Únicamente para fines de este trabajo se procedió a hacer la gradificación de Jackobsson en el carcinoma basocelular, donde se omitió el grado de queratinización del tejido; por lo que solo se contemplaron 5 de los 6 criterios. El resultado obtenido fue, que de los 9 casos estudiados, todos fueron de grado bajo.

En la **tabla 3** se muestran los resultados obtenidos de la gradificación de cada uno de los casos.

Tabla 3. Gradificación histológica de carcinoma basocelular.

FQI-10899

Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**I**
Estado de invasión tumoral	**II**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje : 9	*Grado : BAJO*

FQI-10999

Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**I**
Estado de invasión tumoral	**II**
Infiltrado linfoplasmocitario	**IV**
Puntaje : 10	*Grado : BAJO*

FQI-11099

Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**I**
Estado de invasión tumoral	**III**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje : 10	*Grado : BAJO*

FQI-11199

Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**III**
Estado de invasión tumoral	**II**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje : 11	*Grado : BAJO*

FOI-11299

Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**I**
Estado de invasión tumoral	**II**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje: 9	*Grado : BAJO*

FOI-11399

Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**I**
Estado de invasión tumoral	**III**
Infiltrado linfoplasmocitario	**IV**
Puntaje : 11	*Grado : BAJO*

FOI-11499

Polimorfismo nuclear	**I**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**I**
Estado de invasión tumoral	**III**
Infiltrado linfoplasmocitario	***III***
Puntaje : 9	*Grado : BAJO*

FOI-11599

Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**I**
Estado de invasión tumoral	**II**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje : 9	*Grado : BAJO*

FOI-22798

Polimorfismo nuclear	**II**
Número de mitosis	**I**
Patrón de invasión	**I**
Estado de invasión tumoral	**II**
Infiltrado linfoplasmocitario	**III**
Puntaje : 9	*Grado : BAJO*

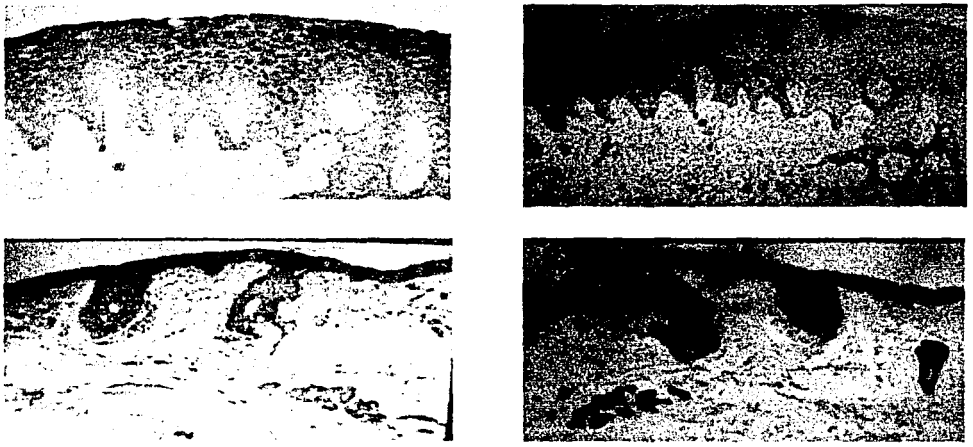
Como se mencionó anteriormente todos casos fueron de bajo grado, en la Tabla 4 mostramos los resultados y el porcentaje En el análisis de los resultados obtuvimos un promedio de 3 casos. desviación estándar 5, varianza = 27 y rango de 9

Tabla 4. Número de casos y porcentajes de carcinoma basocelular

Grado	No. Caso	Porcentaje
Bajo	9	100.00%
Intermedio	0	0.00%
Alto	0	0.00%
Total	9	100.00%

Resultados de la expresión de citoqueratinas

En las **Figuras 1 a, b c y d** se muestran las imágenes de piel y mucosa normal teñidas con H&E y citoqueratinas

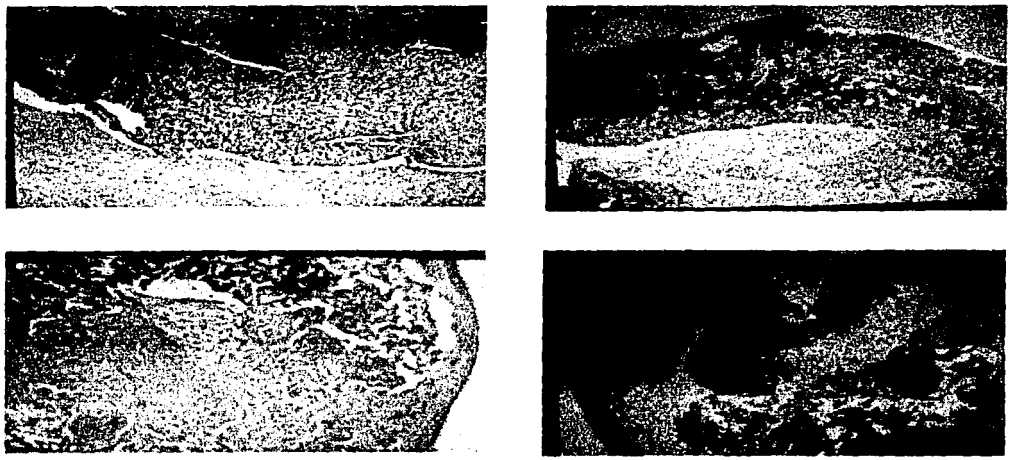


Los resultados obtenidos en el caso de carcinoma epidermoide a la expresión de citoqueratinas fueron 4 casos con expresión leve (+), 4 casos de expresión moderada (++) y 4 casos de expresión severa (+++) utilizando anticuerpos monoclonales de peso molecular conjugado;.

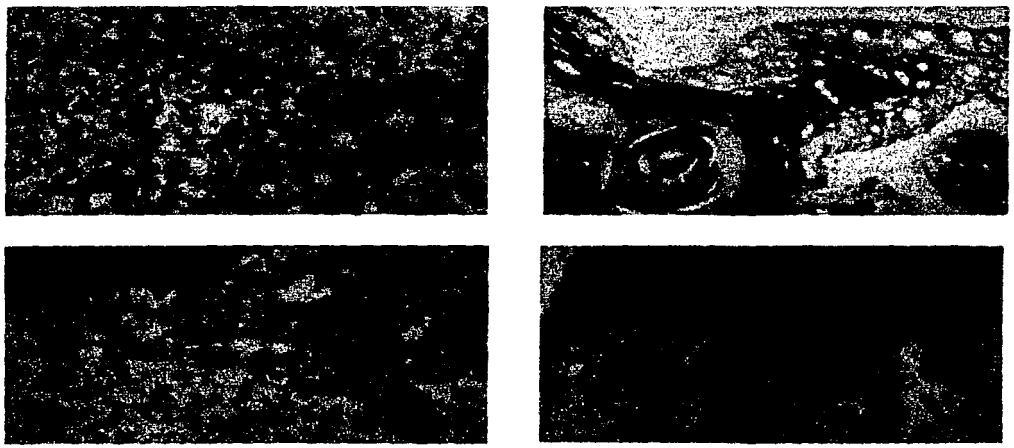
En la **Gráfica 1** se muestran los porcentajes de la expresión en el total de los casos. En la **figuras 2 a y b** se observa uno de los casos de carcinoma epidermoide teñido con H&E y el mismo caso en el mismo sitio de la lesión pero con el anticuerpo administrado.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

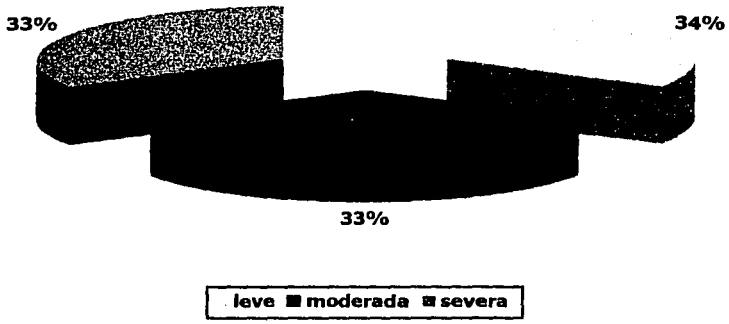
En las **figuras 2 c y d** presentamos un caso de carcinoma basocelular donde se pueden observar las islas de epitelio neoplásico teñidos con H&E y con las citoqueratinas.



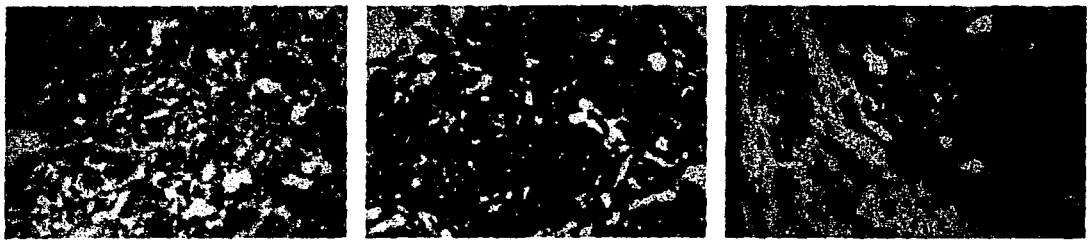
En las **Figuras 3 a, b, c y d** Se muestran 3 casos de carcinoma epidermoide de diferentes grados de malignidad en donde se puede observar las variaciones en la expresión de las citoqueratinas así como el pleomorfismo celular evidente y mitosis.



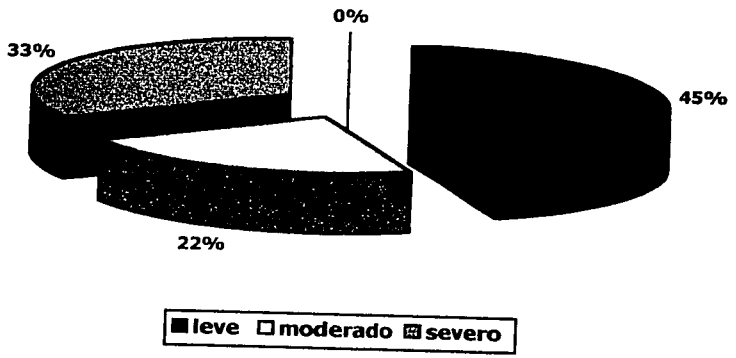
Gráfica 1. Expresión en carcinoma epidermoide



La inmunoexpresión de citoqueratinas en carcinoma basocelular fue en 4 casos expresión leve (+) , 2 casos expresión moderada (++) y 3 de expresión severa (+++).; En **las figuras 4 a,b y c** mostramos dos de los casos de carcinoma basocelular, donde la inmunoexpresión vario levemente, pero se conserva el aspecto uniforme de las células que caracterizan a esta neoplasia; en la **gráfica 2.** se observa los porcentajes de la expresión obtenidos del carcinoma basocelular.



Grafica 2. Expresión en carcinoma basocelular



DISCUSIÓN

Actualmente el diagnóstico en Oncología no se basa únicamente en la estirpe celular de los tumores; sino que se usan marcadores con las cuales es posible detectar por métodos inmunohistoquímicos su afinidad y especificidad con células tumorales. La aplicación de los marcadores tumorales cada vez es mas extensa, las moléculas propuestas como marcadores deben ser primero evaluadas en cuanto a frecuencia en pacientes con y sin cáncer para determinar su sensibilidad y especificidad.

Los marcadores pueden proporcionar información sobre el estadio tumoral y permitir la detección de metástasis tempranas, así mismo sirven para monitorear la actividad tumoral.

Dentro de los marcadores tumorales, las citoqueratinas que son proteínas del grupo de los filamentos intermedios que conforman al citoesqueleto el cual le confiere soporte y estabilidad a la célula. Son características de tejido epitelial y carcinomas; por lo que se consideran de suma utilidad para determinar si tumores pobremente diferenciados o indiferenciados son de estirpe epitelial o provienen de tejido conectivo; por ejemplo Luomanen y cols consideran a las citoqueratinas como un marcador tumoral muy preciso ya que estas prevalecen durante la transformación maligna mientras que todos los demás criterios de identificación del origen de la célula se pierden; en base a la información recolectada, uno de los objetivos fue determinar el tipo de expresión en dos tumores malignos de origen epitelial con comportamiento clínico diferente.

Osborn y Weber definen que los tumores primarios o sus metástasis conservan el patrón de filamentos intermedios de la célula precursora.; de ahí que describen a las citoqueratinas como un buen marcador tumoral. En este trabajo se pudó observar al administrar anticuerpos monoclonales contra citoqueratinas que estas se expresan siempre de manera leve, moderada y severa en el carcinoma epidermoide, y en el carcinoma basocelular sucede lo mismo pero la expresión la mayor parte de las veces es leve.

En cuanto a ambas lesiones, se pudó observar que las citoqueratinas utilizando la mezcla de anticuerpos de alto y bajo peso molecular son más aplicables en lesiones de origen epitelial como es el carcinoma epidermoide; no así en el carcinoma basocelular ya que la expresión de citoqueratinas no es muy marcada.

Se considera que si bien las citoqueratinas si se expresan como marcador de tejido epitelial , las que las hace obvias, al ser observadas las lesiones al microscopio, como lo muestran las imágenes que en los resultados, no son muy recomendable cuando se requiere hacer un conteo de células expresadas para elaborar un análisis estadístico que le de validez y confiabilidad al estudio debido a que la totalidad de las células tienen una expresión menor o mayor pero existe. de ahí que es importante mencionar que en los resultados obtenidos, no fue posible hacer el recuento de células positivas, debido a que las citoqueratinas se expresan considerablemente.

Por otra parte, este estudio se considera de tipo cualitativo en su totalidad ya que únicamente se contempló el tipo de expresión y no la cantidad de células positivas Por lo que solo se obtuvó el porcentaje, el promedio, la desviación estándar, la varianza y el rango de cada una de tumores malignos que se estudiaron.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los criterios de Jackobsson, en carcinoma epidermoide y en carcinoma basocelular, de un total de 21 casos estudiados; 17 fueron de bajo grado. Tomando en cuenta que en el caso de carcinoma basocelular todos fueron de bajo grado.

Las citoqueratinas en términos generales han demostrado ser un buen marcador tumoral. En el estudio que se realizó y por los datos obtenidos en los resultados, trasciende la importancia que definen la aplicación de citoqueratinas como marcador epitelial.

En cuanto a la expresión de citoqueratinas monoclonales de peso molecular conjugado ,fue mayor en el carcinoma epidermoide que en el basocelular.

Por los resultados que se obtuvieron en el presente estudio, se puede concluir que los anticuerpos para citoqueratinas de peso molecular conjugado deben considerarse dentro de los marcadores tumorales que pueden ser útiles para revelar cualquier cambio preneoplásico o neoplásico en el tejido.

Por último, se considera que la aplicación de anticuerpos para citoqueratinas siempre debe ir precedida de un diagnóstico histopatológico y se debe tomar en consideración que la implementación de un análisis estadístico en estudios de este tipo no es muy recomendable debido a la expresión celular que caracteriza a las citoqueratinas y que dificulta el conteo celular.

BIBLIOGRAFÍA

1.- Ham, A. W. Tratado de Histología. Ed. Interamericana, 8ª. edición,1984,p.p 39-119-209.

2.- Ville C, Martín WD, Berg RL, Solomon PE. Biología de Villee, Ed. Interamericana-MacGraw-Hill, 3ª. edición, México 1996, p.p I-11,I-12, 78, 94-97.

3.- Karp, G. Biología Celular; University of Florida, Ed. McGraw-Hill, 2ª. edición, 1987, Cap 15, p.p 683-704.

4.-Junqueira, L.C Biología Celular, Ed. La Prensa Medica Mexicana, 1ª. edición, 1986,p.p 6-11.

5.- Peinado HMA, Pedroza RJA, Martínez MM, Aranda HF, Ríos GA. Biología Celular. Editoriales Gráficas La Paz, , Universidad de Jaén, Colección Textos, 1ª. edición 1994,p.p 287-311.

6.- Robertis, EDP. Biología celular, Ed. Ateneo, 9ª. edición, Argentina 1977, p.p 147-51.

7.- Curtis, H, Biología, Ed.Panamericana, 6ª. edición, España 2000,p.p 136-37-145-46.

8.- Lehninger, A.L Principios de Bioquímica, 2ª. edición, Ediciones Omega,1993, Barcelona España, Cap. II, p.p 41,42,43.

9.- Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI, Histología texto y átlas a color, Ed. Médica Panamericana, México 1997, p.p 37-41.

10.- Barwick, K.W, Intermediate Filaments and Ketarin , Wolfe Medical Publications LTD, Year Book. Medical Publisher Inc, Chicago, 1998; p.p 58-62.

11.- citosol y citoesqueleto.file://A:/proto2.htm

12.- Xu XC, Lee XS, Lippman SM, Ro JY, Hong WK, Lotan R. Increased Expression of Cytokeratins CK8 and CK19 is Associated with Head and Neck Carcinogenesis. Department of Tumor Biology and Epidemiology, University of Texas M.D, Anderson Cancer Center, Houston 77030, USA.

13.- Shearer BH, Jenkinson HF, McMillan MD. Changes in Cytokeratins Following Treatment of Hamster Cheek Pouch Epithelia with Hiperplastic or Neoplastic Agents. Journal of Oral Pathology Medicine 1994; 23: 149-155.

14.- Gartner LP, Hiatt JL. Histología. Texto y Atlas. Ed. McGraw-Hill Interamericana. 1997. P.p.10-77

15.- García R. Laboratorio de Anatomía Patológica. Ed. Interamericana- McGraw-Hill. México 1993. pp 18-20, 37-44.

16.- Abe Y, Hara Y, Saku T, Kato I. Immunohistological Study of Cytokeratin 19 Expression in Regenerated Junctional Epithelium of Rats. Journal of Periodontal Research 1994; 29: 418- 419.

17.- Maeda H, Reibel J, Holmstrup P. Keratin Staining Pattern in Clinically Normal and Diseased Oral Mucosa of Lichen Planus Patients. Scandinavian Journal of Dental Research 1994; 102: 210-215.

18.- Li C, Okamoto Y, Ohmura H, Ogawa K, Shrestha P, Mori M. Expression of Cytokeratins in Warthin´s Tumour (Adenolymphoma) of Parotid Glands: Specific Detection of Individual Cytokeratin Types by Monoclonal Antibodies. Oral Oncology, European Journal of Cancer 1996; 32B No 5: 352-358.

19.- Hamakawa H, Bao Y, Tacarada M, Fukuzumi M, Tanioka H. Cytokeratin Expression in Squamous Cell Carcinoma of the Lung and Oral Cavity. Oral Surgery Oral Pathology Oral Radiology Endodontics. 1998; 85: 438-43.

20.- Heyden A, Huitfeldt HS, Koppang HS, Thrane PS, Bryne M, Brandtzaeg P. Cytokeratins as Epithelial Differentiation Markers in Premalignant and Malignant Oral Lesions. Journal of Oral Pathology Medicine 1992; 21: 7-11.

21.- Ogden GR, Chisholm DM, Adi M, Lane EB. Cytokeratin Expression in Oral Cancer and its Relationship to Tumor Differentiation. Journal of Oral Pathology Medicine 1993; 22: 82-86.

22.- Luomanen M, Tiitta O, Heikinheimo K, Heinaro I, Happonen RP. Effect of Snuff on Cytokeratin Expression in Oral Vestibular Sulcus Epithelium. Journal of Oral Pathology Medicine 1997; 26: 110-116.

23.- Hiroyuki H, Bao Y, Takarada M, Fukuzumi M, Tanioka H. Cytokeratin Expression in Squamous Cell Carcinoma of the Lung and Oral Cavity: An Immunohistochemical Study with Possible Clinical Relevance. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology Oral radiology Endodontics 1998; 85: 438-43.

24.- Ogden GR, Chisholm DM, Lane EB. The Utility of Cytokeratin Profiles for Detecting Oral Cancer Using Exfoliative Cytology. British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 1996; 34: 461-466

25.- Vaidya MM, Borges AM, Pradhan SA, Bhisey AN. Cytokeratin Expression in Squamous Cell Carcinomas of the Tongue and Alveolar Mucosa. Oral Oncology, European Journal of Cancer 1996; 32B, No 5: 333-336.

26.- Chaiyarit P, Kafrawy AH, Miles DA, Zunt SL, Van Dis ML, Gregory RL. Oral Lichen Planus: an Immunohistochemical Study of Heat Shock Proteins (HSPs) and Cytokeratins (CKs) and a Unifying Hypothesis of Pathogenesis. Journal of Oral Pathology Medicine 1999; 28: 210-215.

27.- Baert JH, Veys RJ, Ampe K. The Effect of Sodium Lauryl Sulfate on the Expression of Cytokeratin mRNA in Hamster Cheek Pouch Epithelium. Journal of Oral Pathology Medicine 1996; 25: 497-501.

28.- Nagle, R.B. Intermediate Filaments Efficacy in Surgical Pathologic Diagnosis. Am J Clin Pathol. 1989-91 (suppl).

29.- Boisnic, S; Ouhayoun, J. P; Branchet, M. C; Frances, C; Béranger J. Y; Le Charpentier, Y; and Szpirglas, H.: Alternation of Cytokeratin Expression in Oral Lichen Planus: Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Oral Endod: 79:p.p 207-15;1995.

30.- Leimola-Virtanen, R; Syrjänen, S; Happonen, R-P; Virtanen, I; Luomanen, M.: Lack of Effect of Hormonal Treatment and Smoking on Cytokeratin Expression in Bucal Mucosa: J Oral Pathol Med: 24:p.p 251-254; 1995.

31.- Clausen, H; Moe, D; Buschard, K; Dabelsteen, E.: Keratin Proteins in Human Oral Mucosa: J Oral Pathol: 15: p.p 36-42; 1986.

32.- Tibor, Tot. Adenocarcinomas Metastatic to the Liver. The Value of Cytokeratins 20 and 7 in the Search for Unknown Primary Tumors. Department of Pathology and Clinical Cytology, Central Hospital, Falul, Sweden. March 11, American Cancer Society 1999, p.p 171-77.

33.- Traweek. Keratin Gene Expressión in Non-Epithelial Tissues. Detection with Polymerase Chain Reactión. Am. J. Pathol 1993; 142: p.p 1111-8.

34.- Bernard, H.J, Dx y Tx Clínicos por el Laboratorio. Ed. Massón, Barcelona España, 1993, p.p 302-03.

35.- Peña M.J. Ciencia y Técnica : Inmunología Bases Moleculares Celulares. Ed. Piramide, Madrid 1994.

36.- Echeverría, G. J. J. El Manual de Odontología. Ed. Masson-Salvat, España 1994, Cap. Patología Oral,p.p 81-238

37.- Wagener, C; Newman, S. Molecular Diagnostics of Cancer. Springer Verlay Berlin Heidelberg, Alemania, 1993, p.p 27-39.

38.- Auclair, P.L. Oral Squamous Cell Carcinoma. Department of Oral Pathology. Armed Forces Institutes of Pathology, Washington, p.p 1-22.

39.- Kusukawa, J, Yuichi S, Fujinori Ryu, Ryo Noguchi, Osamu Iwamoto, Tadamitsu Kameyama. Dissemination of Cancer Cells into Circulation Occurs by Incisional Biopsy of Oral Squamous Cell Carcinoma. J.Oral Pathol Med. 2000. 29: p.p 303-7.

40.- Bloor BK, Seddon SV, Morgan PR. Gene Expression of Differentiation-Specific Keratins (K4, K13, K1 and K10) in Oral Non-Dysplasic Keratoses and Lichen Planus. Journal of Oral Pathology Medicine 2000; 29: 376-84.

41. Semba I, Kitano M, Mimura T, Sonoda S, Miyawaki A. Glandular Odontogenic Cyst: Analysis of Cytokeratin Expression and Clinicopathological Features. Journal of Oral Pathology Medicine 1994; 23: 377-382.

42.- Sapp PJ, Eversole RL, Wysock PG. Patología Oral y Maxilofacial Contemporánea. 1ª. ed. Editorial Harcourt Brace. 1998. P.p. 166.

43.- Regezi JA, Sciubba JJ. Patología Bucal. 3ª ed. Ed, Interamericana McGraw-Hill. 2000.P.p:86-100,104-109.

44.- Pindborg, J.J. Cáncer y Precáncer Bucal, Ed. Panamericana, Buenos Aires Argentina 1981,p.p 29-30-152

45.- Pusztai, L; Lewis C.E; Yap E. Cell Proliferation in Cancer (regulatory mechanism of neoplastic cell growth) Oxford University. Press, E.U.A, 1995; p.p 62-67

46.- Benítez B.L, Quiñones S.G, El Cáncer. ¿Un Problema de Salud en México?. Rev. Med IMSS. (Méx) 1991, 29: p.p 195-214.

47.- Berkow, R. El Manual Merck de Dx y Tx. Ed. Interamericana. 9ª. Ed, México 1991,p.p 1892-1909-1912

48.- Bagan S. JV . Medicina Oral, Cap. 18. Ed. Masson, España, 1995,p.p 186-194

49.- Shafer, W.G. Tratado de Patología Bucal. Ed. Interamericana. 3ª. Ed, México 1984,p.p 82-85

50.- Robbins, S.L. Patología Estructural y Funcional. Ed. Interamericana- McGraw-Hill 4ª. Ed. Vol. 1.,p.p 289-305

51.- Velázquez, T. Anatomía Patológica Dental y Bucal, Ed. La Prensa Médica Mexicana, 1983,p.p 191-199

52.- Pardo, M. F.J, Anatomía Patológica. Ed. Mosby, España 1997, p.p 395-98.

53.- Jones, S.A. Prognosis in Mouth Cancer: Tumour Factors. Oral Oncol, Eur J Cancer, 1994; 30B (1): p.p 8,15.Japan.

54.- 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; p.p 9-11.

55.- Devita VT. Cáncer: Principios y Práctica de Oncología. 2ª Edición. Ed. Salvat Editores, S.A. 1988.

56.- JM Anderson, LM Heildl, PA Bauman, CW Ludi, WS Dalton and AE Cress.: Cytoqueratin Expression Result in a Drug Resistant Phenotype to Six Different in a Chemotherapeutic Agents. Departments of Radiation Oncology, Pharmacology and Toxicology, Medicine; and Surgery, University of Arizona Cancer Center, Tucson, Arizona 85724, USA.