



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ANÁLISIS DEL INFILTRADO INFLAMATORIO
EN CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS
ESCAMOSAS CON VPH POSITIVO.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

ESTEFANI LIZET GUILLÉN RAMÍREZ

TUTOR: Mtro. DAVID ALONSO TREJO REMIGIO
ASESOR: Dr. LUIS FERNANDO JACINTO ALEMÁN

CIUDAD DE MÉXICO

2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



ANÁLISIS DEL INFILTRADO INFLAMATORIO EN CARCINOMA ORAL DE CÉLULAS ESCAMOSAS
CON VPH POSITIVO.



Quiero agradecer a Dios por ser mi esperanza y el haberme permitido llegar hasta aquí.

A mi madre por todo su amor y su apoyo incondicional en este trayecto, gracias por ser mi pilar, sin tí no hubiera sido posible, mamá te amo.

A mi padre por su apoyo, confianza y cariño.

A mi hermana por todo su amor incondicional, mana gracias por ser mi compañera de vida.

A mi abuelito por sus consejos y su gran compañía.

A mi tío Toño por su cariño y palabras de aliento en esas noches de desvelo.

A mis amigos: A Valeria y Aimeé por crecer conmigo y poder contar con ustedes cuando más las he necesitado. A Arnold por hacer este carrera más divertida y porque siempre puedo contar contigo manito.

A mis profesores: A Mtro. David Trejo Remigio por toda su guía y compromiso, al Dr. Luis Fernando Jacinto por su paciencia y conocimiento, por participar en mi formación han sido parte fundamental para alcanzar esta meta.

A la universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de odontología por abrirme las puertas y haberme dado la oportunidad de pertenecer a la máxima casa de estudios.

Por mi raza hablará el espíritu.



*"Solo hay dos errores que se cometen en el camino a la
verdad: No empezar, y no llegar hasta el final."
Buda Gautama, Sakiamuni*



ÍNDICE	
INTRODUCCIÓN	5
I. ANTECEDENTES	6
II. MARCO TEÓRICO	7
2.1 Etiología	7
2.2 Epidemiología	12
2.3 Características clínicas	13
2.4 Características imagenológicas	16
2.5 Métodos de diagnóstico	17
2.6 Diagnósticos diferenciales	22
2.7 Tratamiento	25
III. INVESTIGACIÓN BÁSICA Y ACTUAL	27
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	30
V. JUSTIFICACIÓN	31
VI. OBJETIVO GENERAL	32
VII. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
VIII. POBLACIÓN	33
IX. METODOLOGÍA	34
X RESULTADOS	36
XI. DISCUSIÓN	40
XII. CONCLUSIONES	42
XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43



INTRODUCCIÓN

El Carcinoma Oral de Células Escamosas (COCE), es una neoplasia maligna de origen epitelial muy común en cavidad oral que ha aumentado su incidencia.

La etiología ha sido multifactorial pero con más prevalencia al tabaco y al alcohol cuya incidencia se ha homogenizado entre hombres y mujeres.

Sin embargo desde la década de los 60's se sospechó una asociación con el Virus del Papiloma Humano (VPH) que fue confirmada hasta 1983.

Se ha tratado de determinar la relación entre el grado de infiltrado inflamatorio y la malignidad y/o pronóstico del COCE, sin embargo, esta asociación es un tema controversial y aún no ha sido esclarecida totalmente.

La presencia del tipo celular en el infiltrado inflamatorio y su relación con el grado de diferenciación tumoral en las lesiones de COCE es un tema pobremente abordado en México a pesar de la importancia de esta neoplasia desde el punto de vista epidemiológico. El determinar si existe alguna asociación respecto al grado de diferenciación histológica, la presencia de VPH y el tipo celular de infiltrado inflamatorio podría aportar información útil en el entendimiento de esta neoplasia.



I. ANTECEDENTES

En las últimas décadas, la incidencia de carcinoma oral de células escamosas (COCE) ha aumentado. El COCE se ha asociado al VPH aunque es una enfermedad distinta. Clínicamente los pacientes con tumores VPH positivo tienden a ser más jóvenes y de estado ganglionar avanzado; sin embargo, responden más favorablemente al tratamiento convencional.¹

La sospecha de la asociación entre el VPH y el COCE inicio en 1960 cuando se obtuvieron informes de la conversión de papilomas laríngeos recalcitrantes a formas malignas después de la radioterapia. El papel del VPH en la patogénesis de COCE fue confirmado en 1983 cuando las características histopatológicas y propiedades inmunohistoquímicas consistentes con infección cervical por VPH se identificaron en biopsias de COCE. Una asociación entre VPH tipo 16 y cáncer cervicouterino y anogenital fue reconocido por la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer en 1995, sin embargo, el papel del VPH 16 como un factor de riesgo para carcinoma orofaríngeo de células escamosas fue reconocido hasta 2007.¹



II. MARCO TEÓRICO

2.1 Etiología

La etiología de COCE es multifactorial, siendo los factores de riesgo más importantes el tabaco y el alcohol.²

Tabaco

El consumo de tabaco continúa prevaleciendo como una medida importante de riesgo en cáncer incluyendo cáncer de pulmón, cavidad oral, faringe, laringe, esófago, vejiga urinaria, renal, pelvis y páncreas. La relación entre fumar y el cáncer oral ha sido establecido firmemente por estudios epidemiológicos.²

Los carcinógenos más importantes en el humo del tabaco son el hidrocarburo aromático benzopireno y las nitrosaminas específicas del tabaco (TSN) 4-(nitrosometilamino)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK) y N'-nitrosornicotina (NNN).²

Los estudios han demostrado que NNK y NNN en los productos de tabaco causan tumores de la cavidad oral, pulmón, esófago y páncreas. NNK, NNN y sus metabolitos se unen covalentemente con el ADN de las células madre de queratinocitos formando aductos (*addition products*) de ADN. Estos aductos son responsables de mutaciones críticas implicadas en la replicación del ADN.²

El metabolismo de estos carcinógenos involucra oxigenación por enzimas P450 en citocromos y conjugación por glutatión-S-transferasa (GST). Se sospecha que estas enzimas juegan un papel clave en la predisposición genética de cáncer en cabeza y cuello.²



Ciertas clases de enzimas están involucradas en la activación o degradación de carcinógenos y procarcinógenos. Las enzimas xenobióticas metabolizadoras (EXM) se encuentra principalmente en el hígado y también en la mucosa del tracto aerodigestivo superior. Muchos de los genes de EXM son polimórficos e influyen fuertemente en las respuestas biológicas del individuo a carcinógenos por formación de aductos de ADN. Por lo tanto, ciertos genotipos de EXM pueden aumentar la susceptibilidad individual a cáncer a través del metabolismo erróneo carcinógeno lo que lleva a una mayor exposición al carcinógeno. También se ha encontrado que la capacidad de reparar el ADN inducido por carcinógenos, se reduce en la cabeza y pacientes con cáncer de cuello. ²

Alcohol

El alcohol tiene una importante implicación en el desarrollo de cáncer oral. El consumo de alcohol ha demostrado actuar de forma sinérgica con el tabaco en el mayor riesgo de desarrollo de cáncer oral. ²

Dieta y nutrición

La relación entre dieta y nutrición con el riesgo de cáncer ha sido establecida por varios organismos y estudios de laboratorio. El grupo de trabajo de Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha afirmado que la baja ingesta de frutas y verduras predispone a un mayor riesgo del desarrollo del cáncer. El consumo de fruta más frecuente y vegetales, particularmente de zanahorias, tomates frescos y pimientos verdes se asocian a una reducción de riesgo de cáncer. Los alimentos que no sean frutas y verduras crudas que tienen un efecto protector son pescado, vegetales aceite, aceite de oliva, pan, cereales, legumbres, proteínas, grasa, carne fresca, pollo, hígado, camarones, langosta y fibra. ²



Por el contrario, se ha demostrado que ciertos grupos de alimentos están asociados con mayor riesgo de cáncer oral como las carnes procesadas, alimentos altos en azúcar (pasteles y postres) y/o grasas, carnes rojas, carnes saladas y ahumadas, entre otros.²

Existen reportes sobre la bebida denominada maté, que es una bebida similar al té que se consume en el sur América y en partes de Europa se ha demostrado ser una causa independiente para el desarrollo de cáncer orofaríngeo. La patogenia exacta aún se desconoce. Muchas razones que han propuesto para la carcinogenicidad del mate es una lesión térmica, solvente para otros carcinógenos químicos y presencia de taninos y N-nitroso compuestos.(1) Otro factor de riesgo reportado en el sudeste de Asia es el consumo de betel quid o pan, el cual al masticarlo conduce a la fibrosis submucosa. Una proporción considerable de investigación se ha centrado en el potencial carcinogénico, mutagénico y genotóxico de los ingredientes betel quid, especialmente tabaco y nuez de areca.²

Infecciones virales

Los virus han estado fuertemente implicados en el desarrollo de tumores malignos del epitelio escamoso incluyendo el epitelio escamoso oral. Las infecciones virales de naturaleza latente o crónica son generalmente responsables de inducir transformación maligna.

Ciertos genes virales son proto-oncogenes que se convierten en oncogenes cuando se insertan en el ADN del huésped y en última instancia resulta una transformación maligna. Los virus prototípicos implicados en la administración oral el desarrollo del cáncer son virus del herpes humano principalmente Epstein-Virus Barr (VEB) y herpes virus simplex.²

Los virus del papiloma humano (VPH) son virus de ADN, epiteliotrópicos, especialmente para el epitelio escamoso. Causan lesiones benignas proliferativas



como papilomas, condiloma acuminatum, verruga vulgaris y epitelio focal hiperplasia (enfermedad de Heck). Se han identificado más de 200 genotipos de VPH; ciertos tipos han sido clasificados como virus de "alto riesgo oncogénico" por estar asociados con COCE y lesiones orales premalignas siendo estos los genotipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 y 59.²

La principal evidencia del papel del VPH en el desarrollo del cáncer es que sus genes y productos genéticos son capaces de perturbar el ciclo celular. El VPH se conforma por una molécula circular de ADN de doble cadena que está dividida en tres regiones: una región reguladora no codificante, que abarca cerca del 10 % del genoma y se denomina región larga de control (LCR; long control region); la región de genes de expresión temprana (E; early), denominados así porque codifican las proteínas no estructurales E1, E2, E4, E5, E6 y E7, que se expresan al inicio de la infección y están involucradas en la regulación de la replicación viral y en la oncogénesis, dos oncoproteínas principales son E6 y E7. Se ha demostrado que las proteínas E6 y E7 tienen influencia sobre los genes supresores de tumores p53 y Rb, respectivamente. La proteína E6 se une a p53 e induce su degradación y la proteína E7 se une a Rb generando el factor de transcripción E2 se libere e induzca la activación del ciclo celular y la proliferación desreguladora de las células.^{2,3}

VPH 16, que es el tipo más común encontrado en los cánceres genitales también ha sido detectado en cánceres orales, displasias y otras lesiones neoplásicas benignas orales.^{2,3}

Anaya-Saavedra y colaboradores en el 2010 revelaron que el VPH de alto riesgo (VPH16 y VPH18) está fuertemente asociado con cáncer oral, en su estudio de factores de riesgo de cáncer oral en pacientes mexicanos.⁴

El papel del VPH en la patogénesis de HNSCC es un área de gran interés de investigación debido a su comportamiento clínico distinto en términos de factores de riesgo y tratamiento (Ajila et al., 2015). Se ha observado que los sujetos con



HNSCC asociado al VPH tienden a ser más jóvenes, no fumadores y con antecedentes de múltiples parejas sexuales. También en términos de tratamiento, se observa una mejor respuesta a la radioterapia y la quimioterapia y un mejor pronóstico entre el COCE positivo al VPH en comparación con los tumores negativos al VPH.⁵



2.2 Epidemiología

En México, para 1989, las neoplasias de la cavidad oral representaron el lugar número 15 para varones y el 19 para mujeres, de los cuales su incidencia predominó en el sexo masculino en un 63.5%, a diferencia del sexo femenino con un 36.5%; la edad promedio de aparición correspondió a 60 años; la lengua móvil fue el sitio más frecuente (75%), seguida de la base de la lengua (6%).⁶

La frecuencia de cáncer oral en la población mexicana ha aumentado en las últimas décadas, y representa entre el 1% y el 5% total de las neoplasias malignas. Su elevada incidencia está ligada a diferentes factores como el hábito de fumar, el consumo de alcohol, el tipo de alimentación, la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y por el virus del papiloma humano (HPV). La Secretaría de Salud comunicó la incidencia de 774 casos de cáncer oral en 2001, sin embargo, en 2008 Globocan10 informó que existen 127 000 casos nuevos de cáncer, de los cuales 2 300 corresponden a cáncer oral, con 608 muertes asociadas; estos informes nos muestran el aumento en la incidencia de este tipo de cáncer.^{6,7}



2.3 Características clínicas

Sintomatología

En estadio temprano suele ser asintomático, se puede presentar el cambio de voz, dolor de oído y/o disfagia. Las lesiones grandes que se presentan en zonas anatómicas como la lengua y piso de boca pueden generar incomodidad y dificultad de movimiento y deglución. En la mayoría de los casos puede haber presencia de linfadenopatía cervical. En estadios avanzados los pacientes pueden desarrollar fistulas cutáneas, hemorragias, anemias severas y caquexia.⁸

Ubicación

El COCE puede aparecer en cualquier ubicación, aunque hay ciertas áreas en las que se encuentra con mayor frecuencia. Los lugares más comunes son la lengua y el piso de la boca principalmente en los países occidentales donde ocurre en más del 50% de los casos. Otras áreas son la mucosa bucal, la zona retromolar, encía, paladar blando y con menos frecuencia la parte posterior de la lengua y el paladar duro.⁸

Presentación clínica

La presentación clínica de COCE es tan característica en etapas avanzadas que generalmente hay una clara sospecha de malignidad. En contraste, en las primeras etapas se puede hacer un diagnóstico equivocado. En estas etapas iniciales es posible observar lesiones precancerosas tales como leucoplasias, eritropiasias o leucoeritropiasias. Estas consisten en áreas rojas o rojas y blancas con una ligera rugosidad y está bien demarcada. La elasticidad del tejido blando cambia a una



sensación más dura a la palpación. A menudo no hay dolor, pero puede haber alguna molestia. ^{8,9}

Las lesiones de COCE tienen un tamaño variable y pueden oscilar entre unos pocos milímetros y varios centímetros en los casos más avanzados. Mashberg y colaboradores informaron una serie de 102 lesiones asintomáticas en los que el 17% de las lesiones eran menores de 2 cm. ^{10,11}

La ulceración es la característica más común de COCE. La ulceración tiene un piso y márgenes irregulares, es elevada y dura a la palpación (induración). Cuando la lesión es grande, el paciente a menudo tiene un dolor intenso, que irradia desde la lesión al oído ipsilateral. Figura 1 ⁸

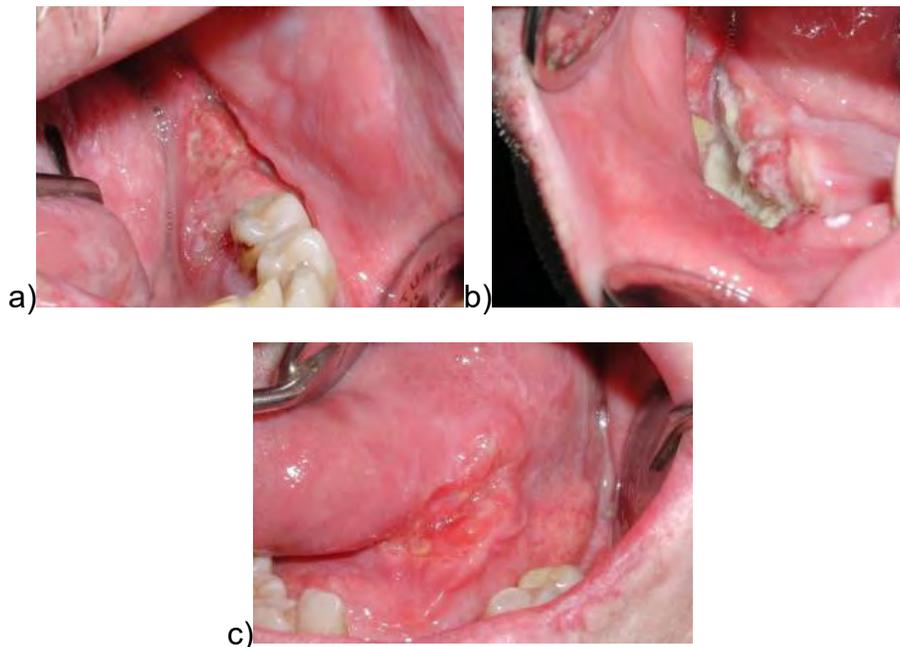


Figura 1 a) Carcinoma de células escamosas oral en la encía.

b) Carcinoma de células escamosas oral en la cresta alveolar.

c) Tumor ulcerado en el borde lateral de la lengua.



En estas etapas avanzadas, se pueden observar tumores exofíticos con superficies verrugosas, límites mal definidos y difíciles de palpar. Figura 2 ⁸



Figura 2 Tumor en el piso de la boca.



2.4 Características imagenológicas.

La evaluación imagenológica se utiliza para fines de ensayo diagnóstico y prequirúrgico. La tomografía panorámica u ortopantomografía, la tomografía computarizada y la resonancia magnética se utilizan con frecuencia para complementar la evaluación clínica y la estadificación del tumor primario y los ganglios linfáticos regionales.¹² Figura 3

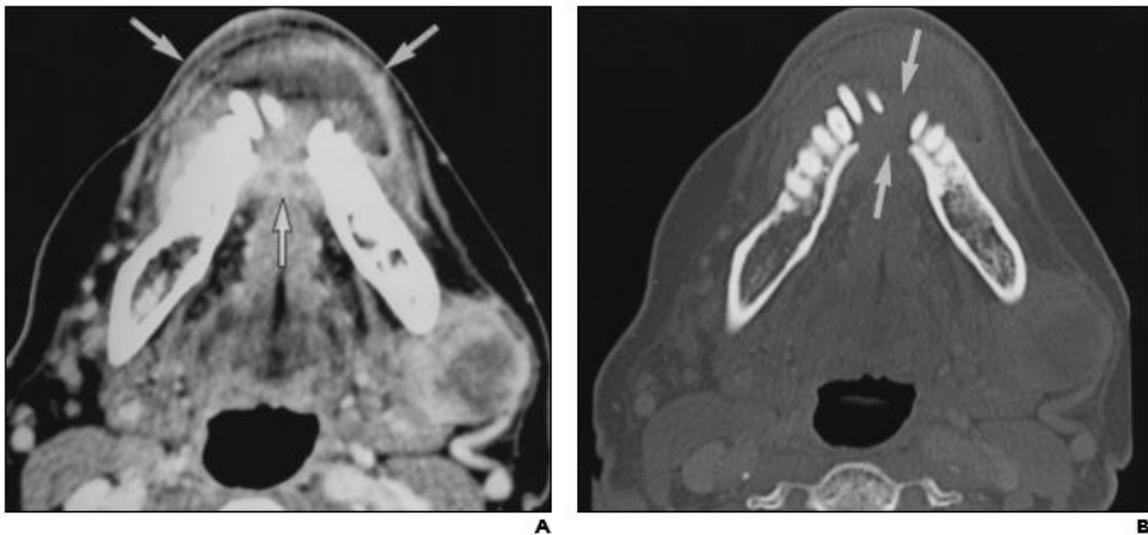


Figura 3 A) La TC axial reconstruida con algoritmo de tejido blando muestra una masa de tejido blando (flechas) en la cresta alveolar anterior. La masa se extiende posteriormente al suelo de la boca.

B) La tomografía computarizada reconstruida con algoritmo óseo muestra la erosión de la corteza lingual y bucal de la mandíbula (flechas). La tomografía computarizada se interpretó como una invasión mandibular. Los hallazgos fueron confirmados histológicamente.¹³



2.5 Métodos de diagnóstico

El diagnóstico precoz del cáncer oral es un objetivo prioritario de salud pública, en el que los profesionales de la salud bucodental deben desempeñar un papel de liderazgo. La detección temprana del cáncer debería disminuir los daños de los tratamientos contra el cáncer y tener un mejor pronóstico.¹⁴

Con el fin de prevenir la transformación maligna de estas lesiones precursoras, se han desarrollado múltiples técnicas de detección para abordar este problema. La detección temprana del cáncer es de importancia crítica porque las tasas de supervivencia mejoran notablemente cuando la lesión oral se identifica en una etapa temprana. El examen clínico periódico de la cavidad oral es la clave para la detección temprana del cáncer oral.¹²

Azul de toluidina (AT)

El uso de azul de toluidina al 1% (cloruro de tolonio) como ayuda de diagnóstico para la detección del cáncer oral se ha evaluado en una gran cantidad de estudios durante muchas décadas. También se ha sugerido que la AT puede proporcionar información sobre los márgenes de la lesión, acelerar la decisión de realizar una biopsia y guiar la selección del sitio de la biopsia y el tratamiento de lesiones potencialmente malignas. Recientemente se ha sugerido que en general, la sensibilidad de la tinción de AT para la detección de cáncer oral varía entre 78% y 100%, con una especificidad entre el 31% y 100%. El análisis de la evidencia actual sugiere que la sensibilidad a la AT es significativamente más alta en la detección de carcinomas que en la detección de displasia. Figura 4¹²



Figura 4. Tinción con azul de toluidina positiva en el carcinoma oral de células escamosas.

Citología exfoliativa

La citología oral exfoliativa es el estudio y la interpretación de las características de las células que se desprenden, natural o artificialmente, de la mucosa oral. La citología oral es útil para monitorear varios sitios en busca de una lesión grande.

Figura 5 ¹²

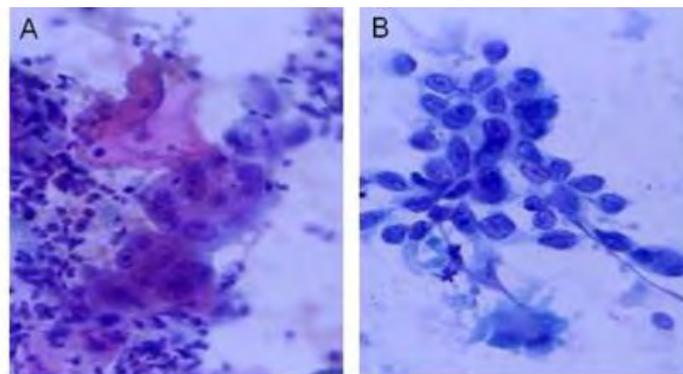


Figura 5 Citología oral exfoliativa (tinción H & E 40 ×): displasia epitelial en un fondo inflamatorio (A). Displasia escamosa y carcinoma .



Biopsia e histopatología

Definición de biopsia

La palabra biopsia se deriva de la palabra griega 'bios' y 'opsis' que significa vida y visión respectivamente. Un tejido tomado de un organismo vivo con el propósito de realizar un examen microscópico se conoce como biopsia. Es un procedimiento quirúrgico en el cual se obtiene una muestra de tejido vivo para realizar el diagnóstico.⁹

Esta técnica nos ayuda a obtener las características de las lesiones sospechosas, su diferenciación, extensión o diseminación.

El estándar de oro para COCE es la biopsia incisional (única o múltiple), ya que hay un gran riesgo de propagación del carcinoma inducido por la biopsia.^{9,10}



Al diagnosticar COCE se clasifica en (figura 6).¹¹

Bien Diferenciado (BD)	Moderadamente Diferenciado (MD)	Poco Diferenciado (PD)
<ul style="list-style-type: none">• Se aprecia una buena definición de los nidos y cordones celulares, y las células aparecen adheridas, presentando un infiltrado inflamatorio crónico bordeando la tumoración.• Las mitosis son moderadas y hay escasas atipias celulares.	<ul style="list-style-type: none">• El número de mitosis aumenta.• La queratinización celular va disminuyendo, dejando de formar globos córneos y queratinizándose células de forma aislada. El infiltrado tumoral va disminuyendo.	<ul style="list-style-type: none">• Desaparece la actividad queratoblástica• Los clones celulares pierden su semejanza con las células de las que derivan y se rompe la adhesión intercelular facilitando las metástasis• Hay una infiltración inflamatoria periférica

Figura 6 Características histológica del COCE BD, MD Y PD.

Sangre

Se han buscado alteraciones inmunológicas y bioquímicas en el suero para ayudar en el diagnóstico precoz del cáncer oral. Por ejemplo, se han detectado complejos inmunes circulantes en el 75% de los pacientes con carcinoma de cabeza y cuello. En pacientes con COCE, se han encontrado niveles significativamente más bajos de hierro y selenio que en controles sanos. Por el contrario, los niveles séricos de cobre fueron más altos en pacientes con lesiones precancerosas que en controles sanos. Los marcadores tumorales séricos para COCE han mostrado solo grados moderados de sensibilidad para el diagnóstico. Se ha demostrado que las elevadas concentraciones séricas de antígeno carcinoembrionario (CEA), antígeno asociado al carcinoma de células escamosas, inhibidor de la apoptosis (IAP) y fragmentos de citoqueratina (CYFRA) tienen una sensibilidad del 81% para la



detección temprana y de recidiva y seguimiento de COCE. La anexina A1 (ANXA1) se identificó recientemente en sangre periférica mediante PCR en tiempo real y se ha propuesto como un potencial biomarcador de diagnóstico para COCE. ¹²

Saliva

El análisis de saliva podría en el futuro demostrar ser una herramienta eficiente, no invasiva y amigable para el paciente para el diagnóstico temprano de COCE. La capacidad de diagnóstico se basa en el contacto permanente e íntimo entre la saliva y la mucosa donde evoluciona este cáncer. Los pacientes con COCE tienen una alteración global de la composición salival. Los niveles salivales de glicoconjugados, ácido siálico unido a proteínas, ácido siálico libre, sodio, calcio, inmunoglobulina G, albúmina y lactato deshidrogenasa se elevan significativamente en comparación con los controles con mucosa sana. También se detectaron aumentos significativos en las concentraciones salivales de citoquinas específicas relacionadas con el cáncer, factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) y metaloproteinasas de la matriz (MMP-2 y MMP-9). Además, se ha encontrado que los pacientes con COCE tienen alteraciones significativas de los marcadores tumorales epiteliales CYFRA 21-1, antígeno específico del polipéptido tisular (TPS), diversos parámetros salivales relacionados con el estrés oxidativo y transcritos de ARN de interleucina (IL) 8, IL-1B, fosfatasa de doble especificidad (DUSP1) (regulador de la proliferación celular), HA3 (oncogén), OAZ1 (regulador de la síntesis de poliaminas), S100P (proteína de unión al calcio) y la espermidina N1-acetiltransferasa. El análisis de hipermetilación del promotor de DNA salival también se ha encontrado como una herramienta eficaz para el diagnóstico precoz del cáncer oral. Por último, micro-ARN salival (miRNA) se puede utilizar para la detección de cáncer oral; dos miRNAs (miR-125a y miR-200a) pueden discriminar pacientes con cáncer oral de sujetos de control. ¹²



2.6 Diagnósticos diferenciales

La siguiente información adicional puede ayudar a subdividir una lesión oral en un diagnóstico diferencial clínico. Figura 7 ¹⁴



Figura 7. Preguntas realizadas para ayudar a obtener un diagnóstico diferencial.

Dentro de las lesiones que con más frecuencia pueden representar un diagnóstico diferencial de COCE se encuentra el liquen plano, pénfigo vulgar, penfigoide de las membranas mucosas, eritema multiforme, tuberculosis, sífilis y en algunos casos estomatitis aftosa recurrente. Figura 8-10 ^{15,16}



Figura 8 a) Lesiones orales de PMM en la encía bucal del sextante derecho, maxilar. Tenga en cuenta que la jeringa de aire y agua apunta a una ampolla rota que se indujo frotando la lesión que representa un signo positivo de Nikolsky .

b) EM involucrando el labio inferior un hombre caucásico en su sexta década de la vida.

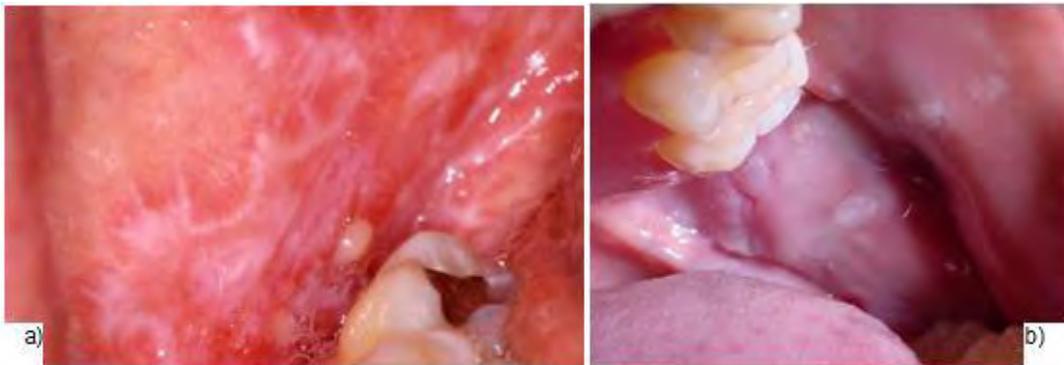


Figura 9 a) La forma reticular de LPO en la mucosa bucal de un hombre caucásico.

b) Lesiones de PV intercaladas dentro de la mucosa bucal. .



Figura 10 a) Una úlcera aftosa menor en la esquina de los labios.

b) EAR de la variedad herpetiforme en la lengua ventral de un hombre afroamericano joven y adulto.



2.9 Tratamiento

Las opciones de tratamiento son muy variadas y depende de varios factores que incluyen el tamaño, la localización del tumor, si este se extendió a ganglios linfáticos regionales o de otros sitios y sobre todo la capacidad del paciente de tolerar el tratamiento ¹²

Las opciones de tratamiento incluyen cirugía, radiación y quimioterapia, siendo la cirugía el tratamiento estándar. Una microcirugía transoral con láser no conduce a ninguna pérdida primaria de funciones y puede usarse eficazmente para el carcinoma de células escamosas bucal resecable. La cirugía puede realizarse para diversos fines como cirugía preventiva o profiláctica, la cirugía de diagnóstico, la estadificación, curativa, de reducción de volumen o citorrreductora, paliativa, de apoyo, restaurador o cirugía reconstructiva. El dolor del cáncer oral puede controlarse mediante la administración epidural de morfina . ¹²

La radioterapia implica la utilización de radiación ionizante . Se sabe que transfiere energía y destruye las células en el área objetivo del tratamiento al alterar el ADN (material genético) en las células, deteniendo su crecimiento y eventualmente su multiplicación. La radiación se puede hacer sola o en amalgamación con cirugía o quimioterapia. ¹²

La quimioterapia implica la utilización de productos químicos para derribar las células cancerosas al afectar su capacidad de crecimiento. Un beneficio principal de la quimioterapia es que puede usarse para tratar el cáncer metastásico a diferencia de otros enfoques que tratan el cáncer en un área confinada. ¹²



Seguimiento posterior al tratamiento

Los pacientes que ya han enfrentado el tratamiento del cáncer oral pueden desarrollar riesgo de recurrencia de cáncer oral loco-regional y otras enfermedades malignas. Por lo tanto, el seguimiento periódico por parte de los pacientes dentro de un período es esencial para la detección de cualquier síntoma y signo de cáncer oral. Los pacientes deben ser motivados, apoyados y alentados a dejar de fumar, beber y fumar para disminuir las posibilidades de recurrencia.¹²



III. Investigación básica y actual

El COCE es una neoplasia de amplia investigación y su correlación con el VPH es un tema de gran interés. Se ha tratado de determinar la relación entre el grado de infiltrado inflamatorio y la malignidad y/o pronóstico del COCE, sin embargo, esta asociación sigue siendo un tema controversial. El papel del sistema inmunológico en la progresión del cáncer es un tema que aún sigue en discusión, temas con el papel de la inmunosupresión, la presentación de antígenos, la activación de linfocitos entre otros son constantemente investigados.

El ensayo de inmunohistoquímica (IHC) es un proceso en el que se usan anticuerpos para detectar antígenos en un corte o tejido biológico. Utilizando el método antígeno-anticuerpo, es posible localizar y visualizar dichos anticuerpos en los cortes histológicos gracias a anticuerpos específicos marcados con enzimas.

La detección de marcadores moleculares por medio de la técnica de inmunohistoquímica puede ayudar a comprender el comportamiento de estas lesiones, su relación con el VPH y leucocitos específicos que infiltran la neoplasia.

3.1 CD20

Es una fosfoproteína superficial no glicosilada, se encuentra en las células B (un tipo de glóbulo blanco), con peso molecular de 35 kDa, se expresa en células B maduras y más malignas, en una subpoblación de linfocitos T y células dendríticas foliculares. La expresión de CD20 en células B es sincrónica con la expresión de IgM superficial y regula la conductancia de calcio transmembrana, la progresión del ciclo celular y la proliferación de células B. CD20 también está asociado con las balsas lipídicas, pero la intensidad de esta asociación depende de la activación extracelular, que emplea cambio conformacional de CD20 y / o agregación de BCR



(receptor de antígeno de célula B). Después de la ligación del receptor, BCR y CD20 se localizan y luego se disocian rápidamente antes de la endocitosis de BCR, mientras que CD20 permanece en la superficie de la célula.

En estudios enfatizan que la presencia de células B CD20 positivas superiores en el microentorno del tumor se relaciona con un pronóstico favorable y una tasa de supervivencia mayor. También suele haber una tendencia decreciente para la infiltración de células CD20 positivas en COCE menos diferenciado. Se indica que un mayor número de células B CD20 positivas en la etapa temprana del carcinoma de células escamosas se asoció con un mejor control locorregional. En tumores avanzados, la infiltración de células B CD20 positivas fue un factor pronóstico negativo. Sugirieron que las células B CD20 positivas desempeñan un importante papel antitumoral en la etapa temprana de la tumorigénesis por la presentación de antígenos y la producción de anticuerpos.¹⁷

3.2 CD68

Es una glicoproteína de membrana integral de 110 kDa que se expresa predominantemente en el citoplasma y frecuentemente relacionada con los lisosomas intracelulares de monocitos y macrófagos y, en menor medida, por células dendríticas y granulocitos de sangre periférica. Además, CD68 podría desempeñar un papel en las actividades fagocíticas de los macrófagos tisulares, tanto en el metabolismo lisosómico intracelular como en las interacciones extracelulares célula-célula y célula-patógeno. CD68 se expresa en las células retículo interdigitantes en amígdalas, linfoma histiocítico, leucemia mieloide aguda y sarcoma granulocítico.

Las concentraciones más altas de CD68 se asociaron con peor supervivencia, los macrófagos son importantes para el pronóstico de los pacientes con COCE; sin



embargo, es necesario abordar en qué región del tumor se encuentra la presencia de macrófagos. ^{17,18}

La inflamación como respuesta inmunológica a los tumores, podría usarse como factor pronóstico. Se ha observado una correlación entre el grado de malignidad y una intensidad inflamatoria alta, lo que sugiere una asociación positiva entre la intensidad de la respuesta inflamatoria y el grado de diferenciación del tumor. ¹⁹



IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se ha estudiado la relación entre el COCE y el VPH desde hace varios años. Los resultados muestran una estrecha relación entre en carcinoma orofaríngeo, pero aún su relación con COCE sigue en discusión. La presencia del infiltrado inflamatorio y su relación con el grado de diferenciación tumoral, de igual forma es un tema de investigación a nivel internacional, sin embargo, en México estos temas son pobremente abordados a pesar de la importancia del COCE desde el punto de vista epidemiológico. El determinar si existe alguna tendencia o asociación respecto al grado de diferenciación histológica, la presencia de VPH y el infiltrado leucocitario específico podría aportar información útil en el entendimiento de esta neoplasia.



V. JUSTIFICACIÓN

La conducta biológica del COCE es un tema muy amplio, factores clínicos, histológicos, celulares y moleculares han sido contemplados para poder explicar por qué una neoplasia progresa de una forma específica. La infección por VPH ha demostrado ser un factor que puede brindar certeza respecto al pronóstico del COCE ante la terapéutica convencional. La presencia de leucocitos CD68 y/o CD20 positivos y su relación con el grado histológico e infección con VPH es un tema que aún no ha sido determinado en la oncología oral. El desarrollo de nuevas estrategias de relación entre variables comunes del COCE puede ayudar a comprender el comportamiento de las lesiones malignas, ayudando a establecer parámetros para su tratamiento y la supervivencia del paciente. Con estudio inmunohistoquímico podríamos observar el tipo de células (CD20, CD68) que se infiltran en COCE con VPH positivo y cuales se infiltran en COCE con VPH negativo, podría ser clave para establecer parámetros validos en el pronóstico y comportamiento de este tipo de lesiones.



VI. OBJETIVO GENERAL

Determinar el tipo celular específico en el infiltrado inflamatorio a través de la inmunexpresión de células CD68 y CD20 positivas en COCE positivos y negativos a VPH.

VII. OBJETIVOS ESPECIFICOS

Comparar la inmunexpresión de los marcadores CD20 y CD68 en muestras de COCE positivas y negativas a VPH.

Determinar la relación de inmunexpresión de los marcadores CD20 y CD68 con el grado de diferenciación histológico del COCE.



VIII. Población

Se obtuvieron muestras provenientes de 3 pacientes con un diagnóstico histológico de carcinoma oral de células escamosas, de los archivos del servicio de diagnóstico histopatológico del Departamento de Patología y Medicina Bucal, DEPeI, Facultad de Odontología, UNAM. Tabla 1

Grado de diferenciación	Sexo	Edad	Localización
Bien diferenciado	Femenino	64	Piso de la boca línea media
Moderadamente diferenciado	Femenino	85	Cuerpo de la mandíbula izquierda
Poco diferenciado	Masculino	64	Piso de la boca



IX. METODOLOGÍA

Análisis histopatológico

De los 3 casos seleccionados se realizó el análisis histopatológico y gradificación de su diferenciación considerando los criterios de la OMS, con apoyo de un especialista en patología bucal.

Análisis inmunohistoquímico

Se obtuvieron 2 laminillas presilanizadas con cortes a 4µm de cada caso seleccionado y analizado. Se realizó el desparafinado y rehidratado de manera convencional por inmersiones en xilol y alcohol, se realizó la recuperación de antígenos mediante buffer de citratos 0.01M a ebullición en microondas, dejándolo enfriar a temperatura ambiente. Se realizaron 3 lavados con PBS durante 3 minutos cada uno, se delimitó con lápiz hidrofóbico alrededor de la muestra para la posterior colocación del bloqueador de la peroxidasa endógena durante 10 minutos (BioSB-003, Santa Barbara, CA). Se realizó nuevamente lavado con PBS, para realizar incubación con los anticuerpos primarios (anti-CD20, SC-58985 y anti CD68 SC-20060, Santacruz biotechnology, CA) durante toda la noche en refrigeración a 4° C. Se realizaron 3 lavados en solución TBS durante 3 minutos cada uno, se colocó el Super Enhancer por 20 min a temperatura ambiente seguido de lavados con TBS como se mencionó e incubación con polímero HRP por 30 minutos (SS polymer-HRP kits, Biogenex Fremont, CA). Se realizó el revelado con diaminobencidina por 5 minutos, lavando con TBS y contratinción con hematoxilina de Mayers durante 5 minutos y se lavó el mismo tiempo con agua corriente. Posteriormente se deshidrato y aclaro en grados ascendentes de etanol y xilol. Finalmente, se colocó resina hidrofóbica para montaje del cubreobjetos. La interpretación de la inmunoexpresión



fue semicuantitativa. Se obtuvieron fotomicrografías a 100 y 400 aumentos con ayuda del microscopio LEICA DM750 y cámara ICC50 HD auxiliados con el software LAS EZ (Leica, Suiza).

Las fotografías fueron analizadas con el programa de procesamiento digital ImageJ versión 1.50i. Se contaron las células positivas a los marcadores CD20 y CD68, se obtuvo un porcentaje multiplicando el número de células positivas y dividiéndolo entre el número de células totales (400) multiplicándolo por 100, para obtener el porcentaje final.



X. RESULTADOS

Tabla 2. Resultados					
MUESTRA NÚMERO	GRADO DE DIFERENCIACIÓN	INFILTRADO INFLAMATORIO	VPH	CD20	CD68
1	Bien diferenciado	Moderado	Positivo	6%	2%
2	Moderadamente diferenciado	Leve	Negativo	2%	16%
3	Poco diferenciado	Severo	Positivo	24%	51%

En el carcinoma bien diferenciado se observó múltiples queratinizaciones individuales, en este grado el infiltrado inflamatorio es moderado con una positividad neoplásica a VPH, una expresión del 6% de CD20 y una expresión de CD68 del 2%. Se observó positividad focal escasa en citoplasma y membrana en los macrófagos asociados al tumor. Figura 11

El carcinoma moderadamente diferenciado se observó escasas perlas de queratina invadiendo el tejido óseo, en este grado observamos un infiltrado inflamatorio leve con una negatividad neoplásica a VPH, una expresión del CD20 del 2% y una expresión del CD68 del 16%. Se observó una positividad citoplasmática moderada para CD68 en macrófagos. Figura 12

El carcinoma poco diferenciado se observó pérdida de las características morfológicas del epitelio, en este grado observamos un infiltrado inflamatorio severo con una positividad neoplásica a VPH, con expresión para CD20 del 24% y una expresión del CD68 del 51%. Se observó positividad citoplasmática y membrana intensa en los macrófagos asociados al tumor. Figura 13



Bien diferenciado

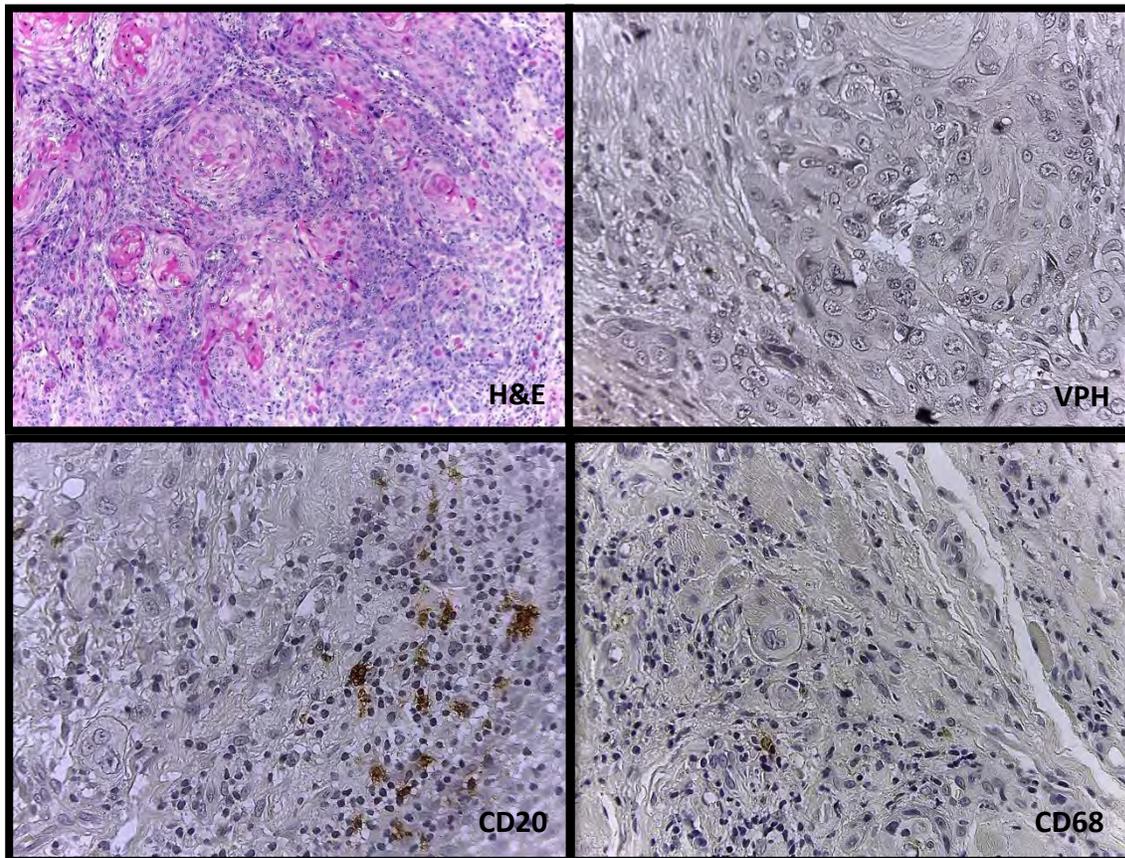


Figura 11 Fotomicrográficas carcinoma bien diferenciado 400x. a) Neoplasia bien diferenciada con múltiples queratinizaciones individuales b) Negatividad para VPH. c) Positividad leve y focal en el citoplasma de linfocitos B asociados d) Se observa positividad focal escasa en citoplasma y membrana en los macrófagos asociados al tumor FD.



Moderadamente diferenciado

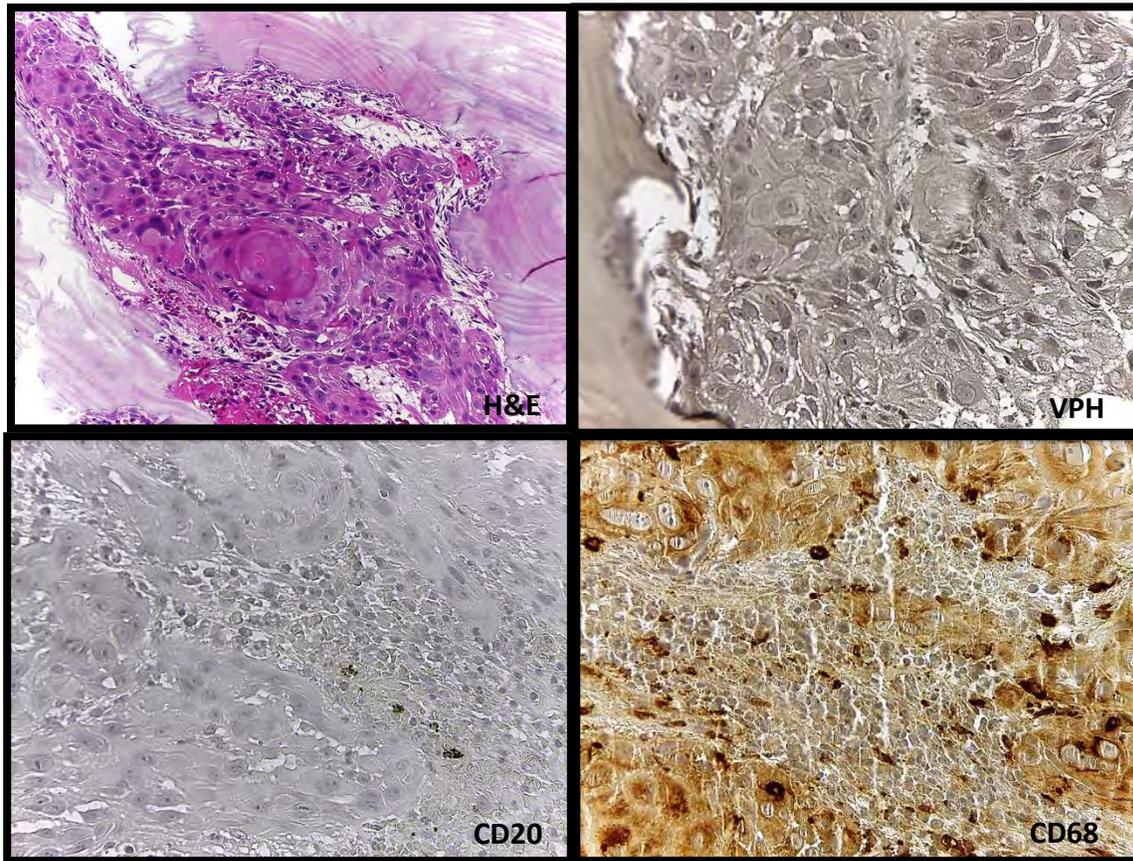


Figura 12 Fotomicrográficas carcinoma moderadamente diferenciado 400x. a) Neoplasia que presenta escasas perlas de queratina invadiendo el tejido óseo b) Negatividad en las células neoplásicas para VPH c) Positividad leve y focal para CD20 en los linfocitos asociados) Positividad citoplasmática moderada para CD68 en macrófagos. FD.



Poco diferenciado

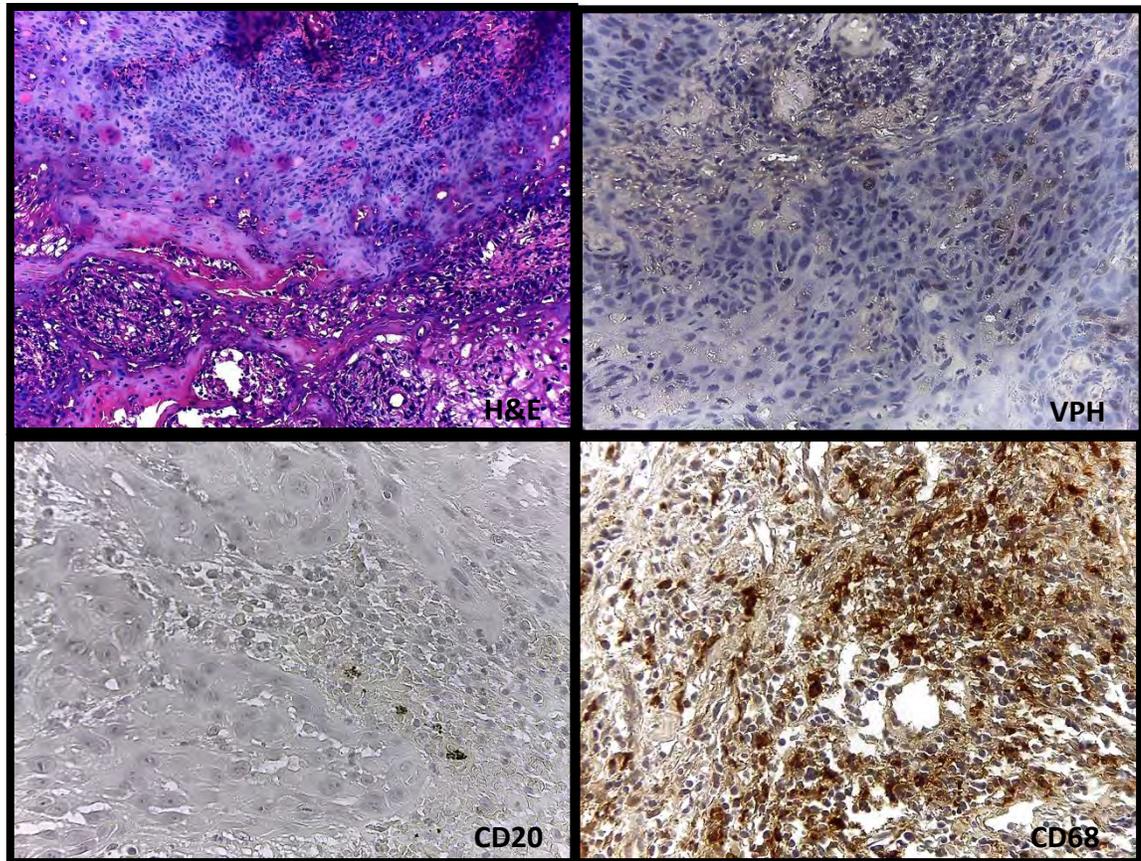


Figura 13 Fotomicrografías carcinoma indiferenciado 400x. a) Neoplasia poco diferenciada que ha perdido las características morfológicas del epitelio b) Positividad nuclear en las células neoplásicas. c) Positividad nuclear en los linfocitos B asociados d) Se observa positividad citoplasmática y membranar intensa en los macrófagos asociados al tumor FD.



XI. DISCUSIÓN

El grado de diferenciación histológica en el COCE ha sido un parámetro empleado para buscar asociaciones con la metástasis, pronóstico e incluso supervivencia. Sus resultados han sido controversiales, ya que algunos COCE bien diferenciados podrían tener una conducta clínica agresiva u por contrario algún COCE pobremente diferenciado presentar un curso menos agresivo. Este tipo de conducta nos muestra la heterogeneidad del COCE respecto a su grado de diferenciación, razón por la cual la búsqueda de otros factores es importante. Los virus oncogénicos, tal como el VPH han sido considerados. Reportes indican la relación entre el virus de VPH y el desarrollo de COCE, con incrementado en los últimos años aunque sigue considerándose relativamente controversial.²⁰

El VPH es un virus oncogénico epiteliotrópico, de transmisión sexual, asociado con el desarrollo de neoplasias intraepiteliales del carcinoma cervicouterino. Existen más de 200 genotipos, los cuales se clasifican en de alto o bajo riesgo oncogénico. El VPH 16 ha sido relacionado con el desarrollo y pronóstico del carcinoma orofaríngeo y también con el oral o COCE, sin embargo, para este último su papel como se mencionó antes sigue siendo controversial. Su presencia ha sido relacionada con parámetros de inmunovigilancia, es decir, que tipo de respuesta podría dar el sistema inmunológico ante la presencia del virus. Existen reportes donde se sugiere que cuando una COCE es infiltrado abundantemente por células inflamatorias su pronóstico será mejor, sin embargo, este parámetro debe ser considerado con mayor especificidad, lo cual significaría el saber qué tipo de célula leucocitaria que infiltra.

La expresión de CD20 (células B) y CD68 (macrófagos) ha sido estudiada en orden de poder establecer una posible correlación con el grado de diferenciación tumoral.²¹



La alta presencia de células B CD20+ en COCE se ha relacionado con un pronóstico favorable y una mayor tasa de supervivencia. Nuestros resultados indican una tendencia de mayor infiltración de células B CD20+ en COCE PD. Las células B CD20+ desempeñan un importante papel antitumoral en la etapa temprana de la tumorigénesis por la presentación de antígeno y la producción de anticuerpos. Se ha propuesto que en otros tipos de lesiones cancerosas el infiltrado de células B CD20+ tiene un papel crítico en la modulación de la respuesta tumoral. Siendo CD20 capaz de impedir el crecimiento del tumor en una serie de modelos de tumores sólidos.²¹ Se ha reportado en la literatura que los pacientes con un gran número de CD20 positivo mostraron resultados favorables, sin embargo, en nuestro estudio un mayor número de muestras y datos del seguimiento del paciente serían necesarios para poder estimar este pronóstico.²²

Las células B son células presentadoras de antígenos, al igual que los macrófagos. La molécula más expresada por estas células es CD68, seguida de CD45, CD20 y CD3.²¹ En este trabajo se evaluaron muestras de COCE positivas y negativas a VPH, con distinto grado de diferenciación, observando una tendencia creciente en relación a la pérdida de diferenciación. Estos nos sugeriría que el tipo de infiltrado es mayoritariamente mononuclear, con la posible activación de respuestas adaptivas inmunitarias. Sin embargo, un dato importante reportado es que los COCE con mayor infiltrado de macrófagos CD68+ se han asociado a pronósticos pobres.¹⁸ En nuestro estudio se podría asociar con el grado de diferenciación, ya que la muestra con mayor presencia de CD68+ fue el poco diferenciado.



XII. CONCLUSIONES

Aunque sigue siendo controversial medir la cantidad de infiltrado inflamatorio en lesiones de COCE en diferentes grados de diferenciación para el pronóstico de la lesión esto puede ser favorable en el manejo del paciente y el control de la lesión.

Aún no se ha demostrado una relación exacta entre el COCE y el infiltrado inflamatorio ocasionado por VPH, esto podría ser utilizado como factor de diagnóstico.

Finalmente, la inmunohistoquímica podría usarse en combinación con otros biomarcadores, tanto en el diagnóstico preoperatorio como en ayudar a elucidar el potencial maligno oculto de algunas lesiones, dependiendo de su grado de diferenciación.



XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Shah A, Malik A, Garg A, Mair M, Nair S, Chaturvedi P. Oral sex and human papilloma virus-related head and neck squamous cell cancer: A review of the literature. *Postgrad Med J*. 2017;93(1105):704–9.
2. Kumar M, Nanavati R, Modi T, Dobariya C. Oral cancer: Etiology and risk factors: A review. *J Cancer Res Ther* [Internet]. 2016;12(2):458. Available from: <http://www.cancerjournal.net/text.asp?2016/12/2/458/186696>
3. Vallejo-Ruiz V, Velázquez-Márquez N, Sánchez-Alonso P, Santos-López G, Reyes-Leyva J, Cáncer P. Temas de actualidad La oncoproteína E7 del virus de papiloma humano y su papel en la transformación celular Human papillomavirus E7 oncoprotein and its role in the cell transformation Proteínas E7 de papillomavirus. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2015;53(2):172–7.
4. D'souza S, Addepalli V. Preventive measures in oral cancer: An overview. *Biomed Pharmacother*. 2018;107(July):72–80.
5. Bandhary SK, Shetty V, Saldanha M, Gatti P, Devegowda D, R PS, et al. Detection of Human Papilloma Virus and Risk Factors among Patients with Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Attending a Tertiary Referral Centre in South India. *Asian Pac J Cancer Prev* [Internet]. 2018;19(5):1325–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29802694><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC6031850>
6. Rivera JC, Nacif ES, Romero MGG, Flores MRR. Cáncer oral en México . Revisión bibliográfica y presentación de caso clínico. *Asoc Mex Cirugía Bucal Yy Maxilofacial, Col Mexicano Cirugía bucal y Maxilofac* [Internet]. 2011;7(3):104–8. Available from: <http://www.medigraphic.com/cirugiabucal>
7. De J, Hernández F, Ángeles MDL, Trujillo R. Aumento de la incidencia de



- carcinoma oral de células escamosas Increased incidence of oral squamous cell carcinoma. *Adicciones*. 2014;20(i):636–42.
8. Bagan J, Sarrion G, Jimenez Y. Oral cancer: Clinical features. *Oral Oncol* [Internet]. 2010;46(6):414–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2010.03.009>
 9. Carreras-Torras C, Gay-Escoda C. Techniques for early diagnosis of oral squamous cell carcinoma: Systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2015;20(3):e305–15.
 10. Frydrych AM, Parsons R, Threlfall T, Austin N, Davies GR, Booth D, et al. Oral cavity squamous cell carcinoma survival by biopsy type: A cancer registry study. *Aust Dent J*. 2010;55(4):378–84.
 11. Mart B. Cáncer oral : Puesta al día Update in oral cancer. :239–48.
 12. Seoane Lestón J, Diz Dios P. Diagnostic clinical aids in oral cancer. *Oral Oncol* [Internet]. 2010;46(6):418–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.oraloncology.2010.03.006>
 13. Mukherji SK, Isaacs DL, Creager A, Shockley W, Weissler M, Armao D. CT detection of mandibular invasion by squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Am J Roentgenol*. 2001;177(1):237–43.
 14. Riaz A, Shreedhar B, Kamboj M, Natarajan S. Methylene blue as an early diagnostic marker for oral precancer and cancer. *Springerplus*. 2013;2(1):1–
 15. Hargitai IA. Painful Oral Lesions. *Dent Clin North Am* [Internet]. 2018;62(4):597–609. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cden.2018.06.002>
 16. Parashar P. Oral lichen planus. *Otolaryngol Clin North Am* [Internet]. 2011;44(1):89–107. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.otc.2010.09.004>
 17. Viac J, Chardonnet Y, Chignol MC, Schmitt D. Papilloma viruses, warts, carcinoma and Langerhans cells. *In Vivo*. 1993;7(3):207-12.



18. Alves AM, Diel LF, Lamers ML. Macrophages and prognosis of oral squamous cell carcinoma: A systematic review. 2018
19. Affonso VR, Montoro JR, Freitas LC, Saggiaro FP, Souza Ld, Mamede RC. Peritumoral infiltrate in the prognosis of epidermoid carcinoma of the oral cavity. Braz J Otorhinolaryngol. 2015 Jul-Aug;81(4):416-21.
20. Shan J, Yong D. Human papillomavirus and oral squamous cell carcinoma: A review of HPV-positive oral squamous cell carcinoma and possible strategies for future. 2017
21. Lo Muzio L, Santoro A, Pieramici T, Bufo P, Di Alberti L, Mazzotta P, Mazzotta A, Carinci F, Rubini C, Lo Russo. Immunohistochemical expression of CD3, CD20, CD45, CD68 and bcl-2 in oral squamous cell carcinoma, 2010
22. Pretscher D, Distel L V., Grabenbauer GG, Wittlinger M, Buettner M, Niedobitek G. Distribution of immune cells in head and neck cancer: CD8+T-cells and CD20+B-cells in metastatic lymph nodes are associated with favourable outcome in patients with oro- and hypopharyngeal carcinoma. BMC Cancer. 2009;9:292.