

64



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

INMUNOEXPRESION DE CITOQUERATINAS EN QUERATOSIS FRICCIONAL EN BOCA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A :

CINTHYA COBOS ORTEGA

TUTORA: DRA. ROSA ELBA LEYVA HUERTA

J. B. Leyva Huerta



MEXICO, D.F.

2002

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



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.

AGRADECIMIENTOS

Mamá y Papá les agradezco el haberme apoyado a todo momento en el desempeño de esta carrera así como el haber formado de mi una mejor persona día con día, siempre han sido para mi la mejor guía y solo puedo corresponderles a todos sus esfuerzos con la satisfacción de sentirse orgullosos de su hija que vivirá agradecida por siempre, esto es solo el logro de una meta más de muchas que faltan por realizar, los amo.

Mamá, gracias por seguir siendo mi mejor maestra y compartir conmigo tu experiencia y sabiduría porque sé que aún me falta mucho por aprender.

Papá, gracias por todas esas palabras y consejos que me alentaron a seguir y levantarme cuando lo necesité.

A mis hermanos gracias por compartir este momento conmigo, por recordarme mis errores a cada momento y por aplaudir mis virtudes, todo eso hizo posible lo que soy hasta ahora y espero seguir superándome.

Dra. Elba, gracias por brindarme sus conocimientos, tiempo, dedicación y lo más importante por haber confiado en mí durante la carrera y en la realización de esta tesis, gracias por esto y muchas cosas más.

A mis amigas (os):Marilana, Verónica, Chabela, Eli, Abelardo, Laura, Ana Cynthia, los del "1" y a todos los estuvieron apoyándome durante la carrera demostrándome así su confianza, amistad y cariño, gracias por escuchar mis sueños y hoy demostrarles uno hecho realidad, saben la amistad es un tesoro muy difícil de encontrar y soy muy afortunada al contar con ella.

Soraya, gracias por estar conmigo en las buenas y en las malas, por escucharme, por apoyarme y por estar a mi lado durante la carrera

Al amor, Sergio gracias por estar a mi lado compartiendo una meta más de mi vida y por ayudarme hacerla posible, gracias por todo el apoyo moral y sentimental que me brindaste para realizar un sueño tan importante, por todos esos consejos que me han ayudado a valorar y ser mejor tanto personal y profesionalmente.

Gracias a ti y tu familia que me ayudó durante la carrera, depositando su confianza en mi, al arriesgarse a ser mis pacientes, espero haberlos ayudado en su momento.

Gracias a la Universidad y a todos mis maestros por compartir sus conocimientos y tips para así lograr ser una buena Cirujano Dentista.

Gracias a Dios por darme vida y salud.

EN MI AGRADECIMIENTO A TODOS, LES DEDICO ESTA TESIS.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
ANTECEDENTES	4
CELULA	4
Núcleo	5
Citoplasma	6
Citoesqueleto	8
-Microtúbulos	10
-Filamentos	12
-Microfilamentos	12
-Filamentos intermedios	14
CITOQUERATINAS	18
Citoqueratinas en cavidad bucal	21
EPITELIO	25
Epitelio escamoso estratificado	28
-Membrana basal	29
-Lámina propia	31
QUERATOSIS FRICCIONAL	33
DIAGNOSTICO DIFERENCIAL	36
Leucoedema	36
Nevo blanco esponjoso	37
Leucoplasia vellosa	39
DISPLASIA	41
MARCADORES TUMORALES	45
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	50
JUSTIFICACION	50
HIPOTESIS	51
De investigación	51
Nula	51
OBJETIVOS	51
Objetivo general	51
Objetivos específicos	51
MATERIAL Y METODOS	52
Tipo de estudio	52
Población de estudio	52
Criterios de inclusión	52
Criterios de exclusión	52
Variables	52
MATERIAL	53
Equipo	53
Reactivos	53
Anticuerpos	54

METODOLOGIA	54
Técnica inmunohistoquímica	55
RESULTADOS	57
Descripción de laminillas	57
DISCUSIÓN	73
CONCLUSIONES	75
BIBLIOGRAFIA	76

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Célula	7
Figura 2. Citoesqueleto	9
Figura 3. Citoqueratina	24
Figura 4. Hiperqueratosis	35
Figura 5. Parámetros de displasia	43
Figura 6. Grados de displasia	44
Figura 7. A) Hiperortoqueratosis teñida con H&E y B) con Cks	67
Figura 8. A) Hiperparaqueratosis con H&E y B) con Cks	68
Figura 9. A) Displasia moderada teñida con H&E y B) con Cks	69
Figura 10. A) Liqueo plano teñido H&E y B) con Cks	70
Figura 11. A) Lesión viral teñida con H&E y B) con Cks	71
Figura 12. A) Leucoedema teñida con H&E y B) con Cks	72

INDICE DE GRAFICAS

Gráfica 1. Porcentajes de diagnósticos diferenciales	65
Gráfica 2. Número de mitosis	66
Gráfica 3. Promedios de displasias	66
Gráfica 4. Tipo de expresión de citoqueratinas	67

RESUMEN

Las citoqueratinas (CK) son marcadores de diferenciación epitelial y su expresión en la mucosa bucal muestra variaciones regionales de acuerdo al patrón de cornificación. Las lesiones de la mucosa bucal, ya sean benignas o displásicas se caracterizan por el aumento o disminución en el grado de cornificación. Se ha descrito que las lesiones premalignas y malignas muestran cambios en la composición de citoqueratinas, por lo que los anticuerpos para las citoqueratinas pueden ser útiles para revelar cualquier cambio en el tejido con alteraciones preneoplásicas o neoplásicas.

Se han descrito 20 variedades de citoqueratinas, y la cavidad bucal expresa un amplio espectro de ellas, principalmente en las células basales, 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 CK1 y CK10. No obstante, 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.

Este estudio fue realizado con un coctel (de 20CKs), para evaluar su expresión, en los diferentes tejidos de la cavidad bucal. Se seleccionaron 30 casos de queratosis friccional del departamento de Patología de la División de Estudios de Posgrado e Investigación en la UNAM.

Dentro de los 30 casos estudiados, la expresión fue leve en 9 casos (30%), moderada en 15 casos (50%) y severa en 6 casos (20%).

En general, en la mayoría de los casos obtuvimos que la expresión del anticuerpo Citokeratin, High Molecular Weight (Basic, Monoclonal, Mouse IgG (AM3), AM133-5M) fue moderada.

INTRODUCCION

El citoesqueleto celular es una estructura formada por una intrincada red tridimensional de fibras proteínicas que dan forma y capacidad de movimiento a la célula. Las células en casi todos los vertebrados poseen tres tipos de componentes citoesqueléticos: microfilamentos, microtúbulos y filamentos intermedios, siendo éstos últimos el componente más estable del citoesqueleto.

Los filamentos intermedios se denominan así, porque su diámetro es intermedio entre los microtúbulos y los filamentos de actina y miosina. Se han clasificado en 5 clases principales en base a su composición proteica y distribución celular en: vimentina, desmina, proteína ácida gliofibrilar, lamina y citoqueratina.

Las citoqueratinas forman el componente principal del citoesqueleto de las células epiteliales en mamíferos. Son codificadas por una familia multigénica y su variación tisular específica se debe a la expresión diferencial de ARNm; de esta manera, las células epiteliales sintetizan una secuencia de diferentes citoqueratinas de manera característica, expresándose en patrones únicos en los distintos tipos de epitelios.

La expresión de citoqueratinas es altamente característica del epitelio y puede verse alterada por la presencia de enfermedad. Estas son un excelente marcador de diferenciación epitelial (endodérmico, neurodérmico y germinal) y pueden reflejar diferentes patrones de queratinización, así como también pueden expresarse en los carcinomas y en algunos sarcomas.

El patrón de citoqueratinas en la mucosa bucal muestra variaciones regionales de acuerdo con el patrón de cornificación. La cavidad bucal expresa un amplio espectro de citoqueratinas. Son expresadas por células epiteliales que 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. De esta manera es 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 ellas pueden aparecer antes que las alteraciones histológicas.

Aunque no hay citoqueratinas específicas en la cavidad bucal, el conocimiento de los cambios en el tejido que sufre transformación maligna, puede ser valioso en el diagnóstico temprano de cáncer; de hecho, los cambios en la expresión de ellas, tanto a nivel de transcripción como a nivel proteínico, puede informarnos el 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 o uno paraqueratinizado u ortoqueratinizado.

La queratosis friccional es una lesión blanca que se produce cuando se fricciona la superficie de la mucosa bucal de manera crónica, debido a un traumatismo de poca intensidad que se mantiene durante periodos prolongados. La importancia de la fricción crónica de la mucosa bucal en la etiología de lesiones precancerosas y carcinomas es por el momento controvertida. En tal sentido, se ha señalado que los hallazgos parecen ser más coincidentes que causantes.

ANTECEDENTES

CELULA

Las células son las unidades estructurales y funcionales básicas de todos los organismos multicelulares. Los procesos normalmente asociados a las actividades diarias de los organismos, tales como la protección, la ingestión, la absorción de metabolitos, la eliminación de desechos, la reproducción e incluso la muerte, reflejan procesos similares que ocurren dentro de cada una de los billones de células que constituyen el cuerpo humano ¹⁻³. Aunque en el ser humano hay más de 200 tipos diferentes de células, cada tipo con una función diferente, todas las células poseen ciertas características que las unifican, por lo que se pueden describir en términos generales. Cada célula está rodeada por una membrana plasmática bilipídica ³, posee orgánitos que le permiten descargar sus productos, sintetizan macromoléculas para su propio empleo o para exportación, produce energía, es capaz de comunicarse con otras células ¹⁻³, utilizando las mismas clases de moléculas para producir la contracción y duplican su material genético de la misma manera ^{1,2}.

Algunas células desarrollan una o más de estas funciones hasta un grado tal de especialización, que se identifican con la función y con las estructuras celulares asociadas. La actividad o función especializada de una célula se refleja no solo por la presencia de mayor cantidad del componente estructural específico que desarrolla la actividad, sino también por la forma de la célula ^{1,2}.

Las células se dividen en dos compartimentos similares, en citoplasma y el núcleo. El término protoplasma se aplica a ambos componentes. El citoplasma y el núcleo tienen funciones bien diferenciadas, pero actúan en conjunto para mantener la viabilidad celular de todo el organismo ¹⁻³.

NUCLEO

El núcleo es un cuerpo grande, frecuentemente esférico y, por lo común, es la estructura más voluminosa dentro de la célula, se encuentra fijo a dos membranas lipídicas ^{2,3}. Es un compartimiento limitado por membrana que contiene casi todo el DNA que posee la célula ^{1,2}, lo mismo que los mecanismos para la síntesis de RNA, y es la localización para el ensamblaje de las subunidades ribosómicas ³. Básicamente, desempeña dos funciones fundamentales para la célula. Primero, lleva la información genética que determinará el tipo particular de célula en que se diferenciará, semejándose éste al progenitor de este organismo único particular. Segundo, el núcleo ejerce una influencia continua sobre las actividades de la célula, asegurando que las moléculas complejas que requiere se sinteticen en la cantidad y el tipo que requiera ².

En algunas ocasiones, el núcleo puede ser fusiforme o de forma oblonga, torcido, lobulado o incluso en forma de disco. Aunque por lo general, cada célula contiene un solo núcleo, algunas poseen varios o los han expulsado. Generalmente, el tamaño, configuración y forma del núcleo son constantes para cada tipo de célula en particular, lo cual es de utilidad diagnóstica sobre el grado de malignidad de ciertas células malignas ³.

El núcleo de una célula que no está en proceso de división, denominada célula en interfase, contiene los siguientes componentes ¹⁻³:

- Cromatina: material genético de la célula organizado como eucromatina y heterocromatina.
- Nucléolo (o nucléolos): centro para la síntesis de RNA.
- Envoltura nuclear membranosa: ayuda a controlar el paso de macromoléculas entre el núcleo y el citoplasma.
- Citoesqueleto nuclear,

- Nucleoplasma: contiene macromoléculas y partículas nucleares que participan en la conservación de la célula ¹⁻³.

CITOPLASMA

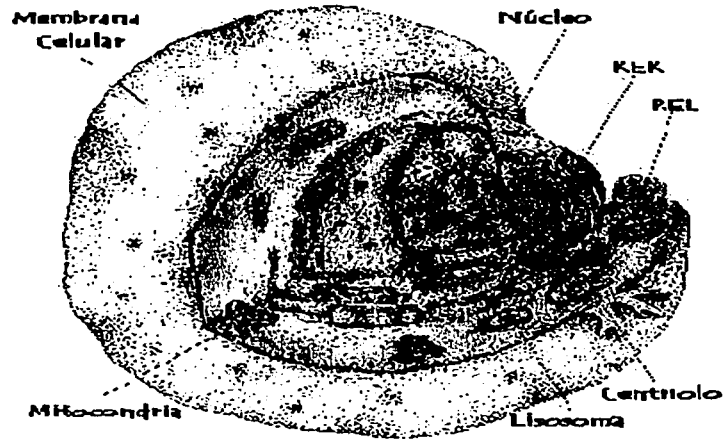
La mayor parte del citoplasma es agua, en la que están disueltas y suspendidas sustancias químicas y orgánicas. Este componente líquido de la célula se conoce como citosol o hialoplasma y carece de estructura. Contiene organitos, que son estructuras metabólicamente activas que efectúan funciones definidas ^{3,4}. Por añadidura, las formas de las células, su capacidad para moverse y las vías intracelulares de su interior se conservan en actividad por un sistema de túbulos y filamentos que se conocen como citoesqueleto ³.

El citoplasma contiene organelos e inclusiones en la matriz citoplásmica. Los organelos incluyen los sistemas de membrana de la célula y los compartimentos limitados por membranas, responsables de las funciones celulares metabólicas, sintéticas, que requieren energía; además de los componentes estructurales no limitados por membrana ^{1,2}.

Las inclusiones son componentes celulares no indispensables que pueden ser captados del medio y que a menudo sólo permanecen en la célula por tiempo limitado estos pueden o no ser rodeados por una membrana. Comprenden materiales tan distintos como gránulos de secreción, cristales inertes, pigmentos, grasa neutra, glucógeno y productos de desecho metabólico almacenados ^{1-3,5}.

Muchos de los organelos e inclusiones son limitados por membrana. Las membranas pueden adoptar una forma vesicular, tubular y de otros tipos que pueden ser contorneadas o plegadas, lo cual permite un gran aumento de la superficie intracelular. Esto es importante porque muchas reacciones fisiológicas y bioquímicas esenciales ocurren sobre las membranas. Además,

los espacios delimitados por las membranas constituyen microcompartimentos intracelulares en los cuales se concentran o se segregan sustratos, productos u otras sustancias ^{1,2}.



<http://www.biologia.arizona.edu/cell/tutor/cyto/page1.html>

Figura 1. Esquema tridimensional de la célula

Estos organelos se dividen en dos categorías según estén o no limitados por membranas ¹:

Los organelos limitados por membrana incluyen:

- Membrana plasmática.
- Retículo endoplásmico rugoso.
- Retículo endoplásmico liso.
- Aparato de Golgi.
- Mitocondrias.
- Lisosomas y sus derivados.
- Endosomas.
- Peroxisomas.

Los organelos no limitados por membrana son:

- Microtúbulos.
- Filamentos de distintos tipos.
- Centriolos y sus derivados.
- Ribosomas.

Los microtúbulos y los filamentos forman elementos del citoesqueleto, que es una estructura reticular semipermanente de la matriz citoplásmica ^{1,2}.

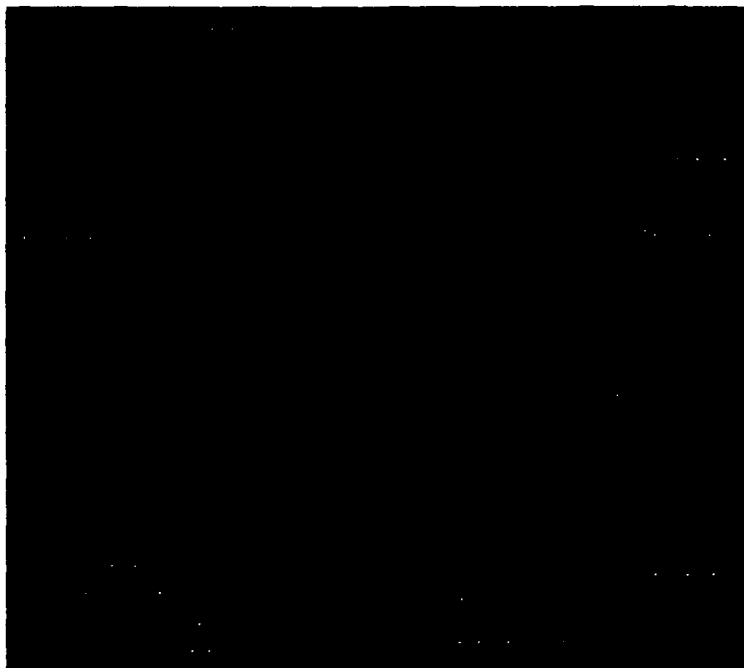
CITOESQUELETO

Mediante microscopía óptica se demostró la presencia de estructuras filiformes dentro del citosol aparentemente desestructurado. La microscopía electrónica demostró que dichas fibrillas están compuestas por haces de estructuras aún más delgadas, denominadas filamentos, que individualmente son demasiado delgadas para poder ser detectadas mediante microscopio óptico. Gradualmente se llegó a la conclusión de que todas las células eucariotas contienen un reticulado de delgados hilos que atraviesan el citoplasma para formar el denominado citoesqueleto ⁵.

El citoesqueleto es una estructura en continuo cambio que consiste en una red tridimensional intrincada de fibras proteínicas que dan forma a la célula, y capacidad de movimiento, al mismo tiempo que conecta distintas partes celulares, como si se tratara de vías de comunicación celulares ²⁻⁸.

Sus funciones son: formar un esqueleto celular interno que confiere rigidez y organiza el interior de las células, contribuir al desplazamiento de los componentes intracelulares, controlar la distribución de los organelos internos de la célula, mantener algunas proteínas de la membrana celular en posiciones estables y permitir que algunas células tengan movimiento ^{3,5,8}.

Las células en casi todos los vertebrados tienen tres tipos de componentes citoesqueletales: microfilamentos, microtúbulos y filamentos intermedios ^{2-7,9}, siendo éstos últimos el componente más estable del citoesqueleto ^{5,8}.



Tomado de: Ville, 1996.

Figura 2. Representación gráfica del citoesqueleto.

En el citoesqueleto también hay proteínas accesorias, que unen los componentes y tienen fundamental importancia en sus funciones. Es una estructura muy dinámica que constantemente sufre modificaciones relacionadas con dichas funciones, que en ocasiones pueden estar relacionadas con uno solo de los componentes, y en otros casos, depender de una interrelación entre varios de los componentes ⁵.

MICROTUBULOS

Los microtúbulos son cilindros huecos y rígidos no ramificados de 20 a 25 nm de diámetro ^{1,3,5,7,8,10}, generalmente rectos o ligeramente curvos ^{3,5}. La pared del microtúbulo mide 5 nm de espesor y se compone de 13 subunidades proteicas globulares distribuidas en forma circular, denominadas protofilamentos. La periodicidad axial observada a lo largo de los protofilamentos corresponde a la longitud de las moléculas díméricas de tubulina. Estas son subunidades básicas de los protofilamentos. El diámetro de tubulina tiene un peso molecular de 110,000 y se forma a partir de dos moléculas de tubulina y cada una de ellas en un peso molecular de 55,000. Los dímeros se polimerizan de extremo a extremo por uniones cabeza a cola, donde la molécula de un dímero se une a la molécula del siguiente dímero de manera repetida, para formar protofilamentos ^{1,3,5,7,10}.

En el citoplasma existe un pool de dímeros de tubulina en equilibrio con la tubulina polimerizada en los microtúbulos. Este equilibrio se puede desviar en dirección del dímero no polimerizado, por exposición de las células o de los microtúbulos aislados a bajas temperaturas o a presiones elevadas ^{1,2,4,5,7,10}. De este modo, se modifican constantemente la cantidad y la longitud de los microtúbulos, formando nuevos patrones de acuerdo a la necesidad de la célula ^{3,5}.

Además de los heterodímeros de tubulina, los microtúbulos poseen componentes denominados proteínas asociadas a microtúbulos, que en la mayoría de los casos contribuyen a estabilizar el microtúbulo al disminuir la tendencia a la despolimerización. La polimerización de los microtúbulos también se ve afectada en grado importante por la concentración de iones de calcio en la célula, por lo que el aumento tiene efecto inhibitor de la polimerización ^{3,5}.

Son los componentes más importantes del citoesqueleto y se encuentran en 1,2,4,7,10:

- El axonema de las cilias y de los flagelos.
- Los cuerpos basales de las cilias.
- Las fibras del huso cromático de la mitosis.
- Los centriolos, de los cuales parten como rayos las fibras del huso.
- Los procesos de elongación celulares, tales como los axones del crecimiento.
- Todo el citoplasma 1,4,5,10.

Existen dos tipos de microtúbulos: lábiles y estables. Los primeros se encuentran dispersos en el hialoplasma, los segundos forman parte de estructuras más complejas, tales como los centriolos, cilios y flagelos 2,7,10.

Los microtúbulos intervienen en numerosas actividades celulares esenciales relacionadas con las funciones del citoesqueleto. Estas actividades incluyen:

- La elongación y el movimiento (migración) celular.
- El transporte intracelular de los gránulos de secreción.
- El movimiento de los cromosomas durante la mitosis y la meiosis.
- El mantenimiento de la forma de la célula, en particular de las formas asimétricas.
- Desplazamiento de organelos y otros componentes intracelulares hacia destinos determinados.
- Establecen los compartimentos intracelulares.
- El movimiento de cilios y flagelos 1-5,7,8,10.

A menudo, los microtúbulos desaparecen con la fijación de la muestra. Sin embargo, mediante los nuevos métodos inmunohistoquímicos que utilizan anticuerpos contra tubulina es posible demostrar la presencia de microtúbulos con la microscopía óptica ⁵.

FILAMENTOS

Los microfilamentos son delicadas fibras proteicas sólidas compuestas de una proteína llamada actina y otras afines ^{2,5,7}. Dentro de las células se observan dos tipos básicos de filamentos: microfilamentos y filamentos intermedios ^{1,4,10}.

MICROFILAMENTOS

Los microfilamentos se encuentran dispersos por todo el citoplasma; pero se concentran fundamentalmente por debajo de la membrana plasmática ^{1,2,4,7}. Estos se sitúan principalmente en la periferia celular, debajo de la membrana ^{1,2,4,7} y están formados por hebras de actina trenzadas en hélice ^{1,2,4,7,8}, cuya estabilidad se debe a la presencia de ATP e iones de calcio; asociados a los filamentos de miosina, son los responsables de la contracción muscular ^{1,2,4,7}. Se ha aislado una de estas proteínas, llamada cinesina la cual es responsable del movimiento unidireccional de las vesículas ^{2,7}. Estas vesículas son transportadas desde el cuerpo de la célula nerviosa, a lo largo de una prolongación llamada axón, hasta su extremo. La cinesina unida a las vesículas y a los microtúbulos funciona como una ATPasa, es decir, hidroliza ATP, lo que permite el movimiento de las vesículas. Así como la cinesina provoca el movimiento hacia el extremo del axón, hay otro complejo proteico denominado dineína citoplasmática que, de manera

similar, es responsable del movimiento de las vesículas en la dirección contraria ².

Los microfilamentos de actina y miosina de 5 y 15 nm de espesor, respectivamente son los componentes principales de los complejos conjuntos contráctiles que se encuentran en las células musculares de los vertebrados y en muchos otros animales ^{1-3,5,10,11}. Esta organización especializada de la actina y la miosina hace posibles los movimientos rápidos y coordinados ². Se encuentran en casi todas las células eucariotas ^{1,2,5,10,11} y antes se denominaban microfilamentos; ahora se llaman filamentos de actina, dado que sólo se pueden detectar por inmunohistoquímica, mediante la utilización de anticuerpos contra la proteína actina ⁵.

La actina es una proteína filamentosa relacionada con los procesos de motilidad celular y puede constituir hasta el 15% del total de proteínas de algunas células no musculares ^{1,3,5,10}. A menudo los microfilamentos de actina están agrupados en haces cerca de la membrana plasmática. Las funciones de estos microfilamentos asociados a la membrana son ^{1,5,7}:

- El anclaje y los movimientos de las proteínas de membrana.
- Los movimientos de la membrana plasmática (como ocurre en la endocitosis, la exocitosis y citocinesis).
- La formación del núcleo estructural de las microvellosidades de las células absorptivas.
- La extensión de las prolongaciones celulares.
- Los movimientos de la célula ^{1,2,5}.

Los microfilamentos se distribuyen en redes tridimensionales a través de toda la célula. La contracción de estos microfilamentos es esencial en el flujo de material citoplasmático, actuando en la formación de corrientes protoplasmáticas que se observan dentro de las células en cultivo. 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 actúa como cables de tensión bajo la superficie celular. También se piensa que otras redes entrecruzadas de microfilamentos son un componente importante del citoesqueleto, la organización tridimensional subyacente de la matriz citoplasmática ^{1,7,10}.

En todas las células, la contracción requiere la interacción de la actina y la miosina. En las células no musculares, las moléculas contráctiles diferentes de la actina no están organizadas en filamentos bien definidos. Sin embargo, por lo general se pueden identificar pequeños filamentos difusos de miosina por medio de técnicas inmunohistoquímicas ^{1,7,10}.

En apariencia, algunos movimientos relativos se deben a "motores moleculares". Es probable que la miosina no filamentosa actúe de esta manera. Otros mecanismos posibles de movimiento en los que participan los microfilamentos son la fuerza ejercida por la polimerización en el extremo de crecimiento y la sinéresis (la contracción de un gel, como un coágulo sanguíneo, al exprimir el medio de dispersión) ¹.

FILAMENTOS INTERMEDIOS

Los filamentos intermedios tienen un espesor de 10 nm y se les denomina así porque el diámetro del filamento es intermedio entre los microtúbulos y los filamentos de actina y miosina ^{2,3,5,7} en las células musculares, que es donde se demostraron por primera vez. Más tarde se estableció su presencia en casi todos los tipos celulares, como componente del citoesqueleto; son especialmente numerosos en las células expuestas a gran acción mecánica, dado que su función principal es conferir fuerza mecánica. En consecuencia, los filamentos intermedios son más fuertes que los microfilamentos y los microtúbulos, dado que están formados por

proteínas fibrosas alargadas en lugar de proteínas globulares, protegiendo así a las células contra presiones y tensiones ^{3,5}.

Los filamentos intermedios se extienden por todo el citoplasma y se anclan a la membrana plasmática proporcionando resistencia mecánica a las células, proporcionando así una función de sostén o estructural general ^{1,4,7,8,10}. La función de los filamentos intermedios no está del todo clara; pero se considera que pueden estar involucrados en el movimiento de los organelos, coordinación mecánica del citoesqueleto y centración nuclear ^{6,9}. Casi todos consisten de subunidades con un peso molecular de 50,000. Se ha sugerido que muchas de las proteínas estructurales estables de los filamentos intermedios derivaron durante la evolución debido a modificaciones genéticas menores de enzimas muy conservadas ¹.

Están formados por diversos tipos de proteínas. Son polímeros muy estables y resistentes. Especialmente abundantes en el citoplasma de las células sometidas a fuertes tensiones mecánicas (queratina, desmina) y a las que tienen capacidad de adhesión a otras células (se anclan sobre uniones adherens), ya que su función consiste en repartir las tensiones que de otro modo podrían romper la célula ^{2,4,7,10}.

A pesar de su aspecto uniforme observado con el microscopio electrónico, los filamentos intermedios representan un grupo bioquímico irregular, ya que se ha demostrado que esta compuesto por distintas proteínas en los diversos tipos celulares, e incluso en el mismo tipo celular en distinto grado de diferenciación. No obstante, las proteínas están relacionadas entre sí y la conformación básica es uniforme. Cada proteína está formada por dos polipéptidos que forman una hélice alfa y que además se enrollan entre sí para formar el denominado "coiled coil" (resorte enrollado). Se crea así un dímero, con una porción central alargada con forma de bastón, y dos porciones de colas terminales de longitud variable. Dos dímeros se ubican uno junto al otro y ligeramente desplazado hacia

delante para formar un tetrámero, que se polimeriza extremo a extremo con otros y da lugar a la formación de un protofilamento. Ocho de estas estructuras se unen lado a lado y se arrollan para crear una estructura cilíndrica que da origen al filamento intermedio definitivo. Se cree que las dos porciones de colas terminales sobresalen de la superficie de los filamentos intermedios y contribuyen así a su fijación en haces o a otras estructuras celulares. Dado a que durante la formación de los tetrámeros los dímeros se ubican en disposición antiparalela (es decir, los terminales C y N tienen orientación opuesta en dos dímeros vecinos) el filamento intermedio formado no está polarizado (no tiene extremos positivos y negativos) ⁵.

Los filamentos intermedios son un grupo heterogéneo de elementos del citoesqueleto, de 8 a 11 nm con una ultraestructura común filamentosa no ramificada, que se encuentran en distintos tipos celulares ^{1,6,11,12}. Se han clasificado en 5 clases principales en base a su composición proteica y su distribución celular ^{1,3,5,6,9,11,12}:

- Citoqueratina (o prequeratina): se encuentra en las células epiteliales, en el pelo y las uñas donde la función mecánica es muy notable. Así, son especialmente numerosos en las células de la epidermis, donde atraviesan el citoplasma como un tejido, a menudo formando haces que con el microscopio óptico se distinguen bajo la forma de las denominadas tonofibrillas. Apoyan el ensamblaje celular al brindar resistencia ténsil al citoesqueleto. A menudo los filamentos de queratina terminan en desmosomas, por lo que las células del estrato quedan unidas por medios mecánicos ^{3,5}.
- Vimentina: se encuentran en células del embrión en otros tipos celulares de origen mesenquimático (fibroblastos, leucocitos, células endoteliales); rodean a la cubierta nuclear y se relaciona con la superficie citoplásmica

del complejo del poro nuclear; al igual que los filamentos de queratina confieren apoyo mecánico a estas células ^{3,5}.

- Desmina: se encuentran en los tres tipos de células musculares (esquelético, cardíaco y liso). En las fibras del músculo esquelético tienen por función relacionar los discos Z de las miofibrillas vecinas y fijar los discos Z de las miofibrillas periféricas al sarcolema. Se encuentran en mayor cantidad en las células musculares lisas, donde se unen las condensaciones citoplasmáticas entre sí y con las placas de adhesión del interior del plasmalema. En este caso distribuyen las fuerzas de tracción dentro de la célula en forma equilibrada durante la contracción celular ^{3,5}.
- Proteína ácida gliofibrilar: es el principal componente de los filamentos gliales, que se observan en las células de Schwann, oligodendroglia y los astrocitos, un tipo de células de sostén del sistema nervioso central, y tiene la misma función de conferir rigidez, ya que apoya la estructura de las células gliales ^{3,5}.
- Lamina: forma parte de los filamentos intermedios y crea un reticulado sobre la cara interna del nucleolema, la denominada lámina nuclear. Su fosforilación causa la despolimerización de la lamina nuclear, lo cual tiene lugar al comienzo de la mitosis e induce la degradación de la membrana nuclear. Hacia el fin de la mitosis disminuye la fosforilación de las laminas, se genera la lamina nuclear y se vuelve a formar la membrana nuclear. Este mecanismo de regulación de la formación de los filamentos intermedios mediante la fosforilación de las proteínas que intervienen no es exclusivo de las laminas, sino que afecta también a otros tipos de filamentos intermedios, en especial, en tipos celulares inmaduros. Participan en el control y ensamblaje de la cubierta nuclear y en la organización de la cromatina perinuclear ^{3,5}.

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 y disponible para el contacto molecular con otras estructuras intracelulares, que les permite participar de muchas funciones dentro de la célula y entre células ¹.

Algunos de los filamentos 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. Los filamentos intermedios por lo general tampoco desaparecen y se vuelven a formar de la manera continua característica en que lo hace la mayoría de los microtúbulos y microfilamentos. Por estas razones se cree que los filamentos intermedios desempeñan un papel estructural muy importante dentro de la célula y que constituyen el enlace citoplasmático de la unidad filamentosa textural que incluye los filamentos citoplasmáticos, nucleares y extracelulares ¹.

CITOQUERATINAS

Las citoqueratinas son miembros de la familia de los filamentos intermedios y forman el componente principal del citoesqueleto de las células epiteliales en mamíferos ^{3,13-21}. Su compleja estructura filamentosa en red se encuentra a través de todo el citoplasma celular extendiéndose del compartimento perinuclear a las uniones desmosómicas ^{3,13,15,21}, proporcionando soporte mecánico a las células y a sus núcleos ^{3,14,15,18}. Las citoqueratinas son codificadas por una familia multigénica y su variación tisular específica se debe a la expresión diferencial de ARNm ^{13,14,16}; es así, que las células epiteliales sintetizan una secuencia de diferentes

citoqueratinas de manera característica ^{18,19}, expresándose en patrones únicos en los distintos tipos de epitelios ^{17,19,21}.

Dichos patrones de expresión también se encuentran relacionados al estado celular de maduración, así como a la localización en la cavidad bucal ¹⁸⁻²¹, y pueden verse influenciados por estados de enfermedad y el ambiente de crecimiento celular ²¹.

Las citoqueratinas se ensamblan como heteropolímeros que requieren al menos, una cadena del tipo I y una del tipo II. La expresión de citoqueratinas es altamente característica del epitelio y puede verse alterada por la presencia de la enfermedad ^{13,17-23}.

La citoqueratina es un excelente marcador de diferenciación epitelial (endodérmico, ectodérmico para la diferenciación de las lesiones mesenquimatosas), y puede reflejar diferentes patrones de queratinización ^{11,24}, así como también puede expresarse en los carcinomas y en algunos sarcomas ¹¹. Las citoqueratinas se expresan en la gran mayoría, si no es que en todos los sarcomas tipo epitelial como sarcoma epitelioide y sinovial, en muchos tumores rabdoideos y en mesoteliomas. Las citoqueratinas, particularmente la 8 y 18 se expresan transitoriamente en muchas células mesenquimatosas; este fenómeno se hace más aparente en cortes histológicos congelados y se demuestra a nivel de RNAm. Aún no está claro si esto representa una regresión a la etapa embrionaria, o resulta de la proliferación celular, o por alguna otra razón ²⁵.

La infraestructura de citoqueratinas consiste en un sistema citoplásmico abundante, cuya función no se conoce completamente. Xu y cols, demostraron que la introducción de un sistema de citoqueratinas dentro de células eucarióticas, da como resultado un fenotipo resistente a ciertas drogas ²³.

Existe gran controversia respecto a la clasificación de las citoqueratinas. Las principales clasificaciones que se han realizado son las siguientes 6,9,11-15,18,20,26:

- Shearer ¹³ y Gartner ³ 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) ^{3,13}.
- García y cols. ¹¹, Abe y cols. ¹², Muro-Cacho ²⁵ y Maeda y cols. ²⁶ 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) ^{11,12,25,26}.

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) ¹¹.

- Li y cols.²⁰ 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) ²⁰.

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

- Hamakawa y cols. ⁶, Hiruyuki y cols. ⁹ Heyden y cols. ¹⁴, Ogden y cols. ¹⁵, Luomanen y cols. ¹⁸ y Ogden y cols. ²¹ 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) ^{6,9,14,15,18,21}.

La expresión de estos polipéptidos depende del tipo de epitelio ^{6,9,14-21,26}. 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 ²⁰. 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 ^{6,9}.

CITOQUERATINAS EN CAVIDAD BUCAL

El patrón de citoqueratinas en la mucosa bucal normal muestra variaciones regionales de acuerdo con el patrón de cornificación ^{14,16,17,18,19,26}. 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 ^{14-16,18,20,21,26}.

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 CK1 y CK10. No obstante, 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 ^{21,24}.

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 ^{6,9,14-16,19,20,26}.

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 ortoqueratóticas ¹⁷.

En otro estudio se detectó expresión uniforme de CK4 y CK13 en el estrato espinoso de las lesiones paraqueratóticas 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 ²⁴.

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 ^{15,19}; 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 ²⁴.

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 ^{15,16,19,20,27}.

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 ^{18,21}.

El uso de las citoqueratinas como marcadores proteicos proporciona grandes ventajas, ya que son abundantes, estables y altamente antigénicas. Es por ello 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, actualmente se ha sugerido que los anticuerpos monoespecíficos para queratinas aplicados inmunohistoquímicamente, pueden ser un auxiliar para definir el grado de diferenciación en displasias bucales ¹⁴; así como también pueden servir como marcadores precoces indicativos de alteraciones en lesiones premalignas ^{14,18,21,26}.

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 ²³. De esta forma, CK8 y 19 podrían ser marcadores de cambios premalignos secuenciales en carcinogénesis de cabeza y cuello ^{18,21,23}.

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 parafina 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 ⁹.



<http://www.molab.gla.ac.uk/dictionary>

Figura 3. Fotografía de citoqueratina en fluorescencia

EPITELIO

El epitelio es un tejido compuesto por células adyacentes sin sustancias intercelulares que las separen ^{1,5}, distribuidas en una única capa o en capas múltiples. Generalmente, presentan uniones especializadas, que crean una barrera entre la superficie libre y el tejido contiguo. El espacio intercelular entre las células epiteliales es muy escaso y carece de estructuras, excepto en los sitios en que se encuentran nexos ^{1,3}.

La superficie libre de un epitelio se define como aquella a la cual no se adhieren células o elementos extracelulares ¹. Estas superficies incluyen todas las membranas compuestas por células que recubren el exterior del organismo y las superficies internas. El epitelio es avascular, pero todos los epitelios crecen sobre un tejido conectivo subyacente que proporciona, por medio de sus lechos capilares, nutrición y oxígeno mediante difusión a través de la membrana basal ^{1,3,5}, que es una capa extracelular de sostén que separa al epitelio del tejido conectivo. A menudo el tejido conectivo subyacente forma pequeñas evaginaciones muy vascularizadas, denominadas papilas ⁵.

Las células que integran los epitelios presentan tres características principales ¹:

- Están dispuestas muy cerca unas de otras y se adhieren por medio de uniones especiales ¹.
- Exhiben dominios de superficie funcionalmente diferenciados, es decir, una superficie libre o apical, una superficie lateral y una superficie basal. Las propiedades de cada una de ellas están determinadas por la presencia de proteínas de membrana específicas ¹.

- La membrana basal está fija a una membrana basal subyacente, una capa acelular, rica en proteínas y polisacáridos, demostrables con el microscopio óptico mediante el uso de medios histoquímicos ¹.

En la superficie del organismo, el epitelio constituye la epidermis, que se continúa directamente con la capa epitelial que recubre el tubo digestivo, las vías respiratorias y las vías urogenitales. Así mismo, también recubre grandes cavidades internas del organismo como las cavidades pulmonares, cavidad cardíaca y el abdomen, donde se denomina mesotelio. Además de toda la superficie libre interna de todos los vasos sanguíneos y linfáticos, donde se denomina endotelio. Algunas superficies internas no están recubiertas por epitelio como las cavidades articulares, las vainas tendinosas y los sacos mucosos. Durante el desarrollo embrionario, los epitelios que recubren las superficies pueden generar evaginaciones en el tejido conectivo subyacente y formar glándulas. En consecuencia, el epitelio se puede clasificar en epitelio de revestimiento, de superficie y epitelio glandular ^{1,5}.

El epitelio tiene muchas funciones. Sobre la superficie libre, protege contra el daño mecánico, la entrada de microorganismos y la pérdida de agua por evaporación, además de tener importancia por el sentido del tacto, puesto que posee terminaciones nerviosas sensitivas. En las superficies internas, en la mayoría de los casos su función es de absorción o secreción, así como el transporte transcelular, pero en algunos sitios solo actúa como barrera ^{3,5}.

Los epitelios de revestimiento forman una lámina celular continua que separa el tejido conectivo subyacente o adyacente del medio externo y del medio de las cavidades internas, tanto en las cerradas como en las que abren al exterior del organismo. Este revestimiento epitelial actúa, entre otras funciones, como barrera selectiva capaz de facilitar o inhibir el intercambio

de sustancias entre el exterior y el compartimento de tejido conectivo subyacente ¹.

En dos sitios generales del organismo, el epitelio de revestimiento y su tejido conectivo subyacente forman una unidad funcional llamada membrana, ésta puede ser mucosa o serosa. El término membrana, no se debe confundir con las membranas biológicas, ni las designaciones mucosa y serosa con la naturaleza de la secreción. La membrana mucosa también llamada mucosa, reviste las cavidades que comunican con el exterior. Está compuesta de un epitelio de superficie (con glándulas o sin ellas), un tejido conectivo de sostén (denominado lámina propia), una lámina basal, que separa el epitelio del tejido conectivo y, a veces, una capa de músculo liso, como estrato más profundo ¹.

Los epitelios varían mucho en su conformación, de acuerdo a las diversas funciones que deben cumplir. Su clasificación se basa en la combinación de capas celulares y la morfología de células superficiales. En consecuencia, el epitelio se describe como ^{1.3.5}:

- Simple: formado por una sola capa de células ^{1.3.5}.
- Estratificado: cuando tiene dos o más capas ^{1.3.5}.

Las células que componen el epitelio se describen como ^{1.3.5}:

- Planas o escamosas: cuando el ancho de la célula es mayor que su altura ^{1.3.5}.
- Cúbica o cuboide: cuando el ancho, largo y altura de la célula son casi iguales ^{1.3.5}.
- Cilíndrica o columnar: Cuando la altura de la célula excede en mucho al ancho ^{1.3.5}.

En un epitelio estratificado, la forma y altura de las células suelen variar de una capa a otra, pero solo se utiliza la forma del estrato celular más superficial para clasificar al epitelio. En consecuencia, cuando un epitelio se designa como plano estratificado, se afirma que se compone de más de una capa de células y que la capa más superficial está formada por células planas ¹.

Epitelio escamoso estratificado

Es el epitelio protector más importante del organismo. Forma la epidermis y recubre también la cavidad bucal y el esófago ^{3,5}. El número de los estratos celulares es muy variado, pero por lo general la capa del epitelio es gruesa. La capa más cercana a la membrana basal se compone de células cúbicas altas o cilíndricas ordenadas en una hilera definida. Después siguen varias capas de células poliédricas irregulares. A medida que las células se acercan a la superficie libre se achatan paralelamente a ésta, hasta hacerse escamosas. Estas células planas externas confieren el nombre al epitelio plano estratificado ^{3,5}.

En la superficie externa expuesta las células exteriores pierden los núcleos. Además, el citoplasma es reemplazado por queratina, por lo que las células se secan y se transforman en escamosas. En consecuencia, el epitelio se denomina epitelio plano estratificado córneo o queratinizado. En las mucosas, como la cavidad bucal (en lagunas zonas) y la vagina, las células superficiales no pierden los núcleos y la capa de epitelio se describe como epitelio plano estratificado no queratinizado. No obstante, la queratina se encuentra en ambos tipos de epitelio, pero solo forma la verdadera capa córnea en la superficie de la piel ^{3,5}.

Los epitelios superficiales están expuestos en forma constante a acciones traumáticas, especialmente en la mucosa bucal normal; existe una pérdida constante de células del epitelio ^{1,5}. Esta pérdida fisiológica de células epiteliales es reemplazada por medio de regeneración fisiológica equivalente, por medio de divisiones mitóticas de células epiteliales indiferenciadas ⁵. A medida que estas células se diferencian, son empujadas hacia la superficie por las células de renovación formadas después en la capa basal. Por último las células se queratinizan y descaman, manteniendo un estado estable relacionado con la cantidad de células en el epitelio, donde las células nuevas, normalmente reemplazan a las células que descaman con índices similares ¹.

Membrana basal

El epitelio está unido al tejido conectivo por medio de la membrana basal, su nombre es dado originalmente a una capa de espesor variable que se encuentra en la superficie basal de los epitelios. Aunque en ocasiones la membrana basal es gruesa siendo posible distinguirla en cortes teñidos con H&E como un engrosamiento eosinófilo que limita el epitelio del tejido conectivo, requiere una tinción especial para poder ser demostrada en el microscopio óptico. Esto se debe, en gran parte, a su escaso espesor y a su afinidad por la eosina que impide distinguirla del tejido conectivo ^{1,5}.

Mediante microscopía electrónica se observa que la membrana basal contiene varios componentes estructurales. Con mayor frecuencia se observa un engrosamiento compuesto por un reticulado de finos filamentos, denominado lámina densa y sigue exactamente la membrana basal celular de las células epiteliales. Entre la lámina densa y la membrana se distingue una capa poco electrodensa, denominada lámina lúcida. En conjunto, la

lámina densa y la lámina lúcida se denominan lámina basal ¹⁻⁵, la cual posee diversas funciones ¹:

- Estructura de fijación: actúa como estructura intermediaria en la fijación de las células al tejido conectivo subyacente ¹.
- Compartimentación: separa o aísla el tejido conectivo de los epitelios, los nervios y los tejidos musculares. Se puede considerar al tejido conectivo, con todos sus tejidos especializados, como único compartimento continuo; el tejido adiposo constituye una excepción a esta regla, dado que sus células poseen lámina basal. En contraste, los epitelios, los músculos y los nervios están separados del tejido conectivo adyacente por una lámina basal interpuesta. Cualquier elemento que quiera pasar de un tejido a otro debe atravesar la lámina basal ¹.
- Filtración: en parte, el movimiento de sustancias desde y hacia el tejido conectivo está regulado por la lámina basal, sobre todo en función de cargas iónicas y espacios integrales ¹.
- Inducción de la polaridad: las células epiteliales exhiben propiedades de membrana diferenciadas, desde el punto de vista funcional, como consecuencia de la superficie expuesta. Algunas propiedades específicas que se atribuyen a la superficie de la membrana basal, diferentes de la superficie apical y lateral, se deben a la presencia de la lámina basal ¹.
- Almacén o guía: la lámina basal actúa como almacén o guía durante la regeneración. Las células recién formadas o las prolongaciones en crecimiento de las células utilizan la lámina basal que queda después de la pérdida celular para mantener la arquitectura tisular original ¹.

Lámina propia

El tejido conectivo en el que se apoya el epitelio bucal se recibe el nombre de lámina propia ²⁸.

La lámina propia consta de células, vasos sanguíneos, elementos nerviosos y fibras inmersos en un material amorfo. Los diferentes tipos celulares presentes son ²⁸:

- **Fibroblastos:** Célula principal de la lámina propia. Es responsable de la elaboración y recambio de los precursores de las fibras y la sustancia fundamental. Juega un papel clave en la integridad tisular. Es una célula fusiforme o estrellada con largas prolongaciones que tiende a disponerse paralelamente a los haces de fibras colágenas. Su núcleo contiene dos o más nucléolos. Tiene una velocidad baja de proliferación en la mucosa bucal adulta, excepto durante la cicatrización, cuando el número de fibroblastos aumenta como resultado de la división de fibroblastos de los tejidos adyacentes no dañados. Pueden contraerse y participar en la contracción de heridas ²⁸.
- **Macrófagos:** Los macrófagos tisulares o histiocitos son células estrelladas o fusiformes y a menos que se encuentren en estado de fagocitosis activa, se les distingue con dificultad de un fibroblasto; al microscopio electrónico, la distinción entre las dos células se basa en que el macrófago tiene un núcleo más pequeño y más denso, un retículo endoplásmico menos granular y el citoplasma contiene lisosomas. La función del macrófago es la de ingerir tejido dañado o material extraño con sus vacuolas fagocíticas que se fusionan intracitoplásmicamente, con los lisosomas para iniciar la degradación. El procesamiento del material ingerido por parte del histiocito puede ser importante para aumentar su antigenicidad antes de

- que sea presentado a las células de la serie linfóide para el establecimiento de la respuesta inmunológica posterior ²⁸.
- Células cebadas: Es una célula mononucleada, esférica o elíptica grande, el núcleo es relativamente pequeño con respecto al tamaño de la célula. En las preparaciones histológicas, frecuentemente se encuentra enmascarado por el gran número de gránulos intensamente teñidos que ocupan el citoplasma; En los seres humanos, el contenido principal de los gránulos es histamina y heparina. Estas células se encuentran frecuentemente asociadas con vasos sanguíneos pequeños. Se ha sugerido que participan en el mantenimiento de la estabilidad tisular normal y la homeostasis vascular ²⁸.
 - Células inflamatorias: Histológicamente pueden observarse linfocitos y células plasmáticas en pequeño número dispersos en la lámina propia, aparte de tales regiones especializadas como la amígdala lingual, en números significativos otras células inflamatorias se encuentran en el tejido conectivo sólo como parte de una respuesta a un proceso patológico o un acto quirúrgico. En procesos agudos, el leucocito polimorfonuclear es una célula dominante, mientras que en condiciones crónicas, se asocian con linfocitos, células plasmáticas, monocitos y macrófagos ²⁸.
 - Fibras y sustancia fundamental: La matriz intercelular de la lámina propia consta de fibras colágenas y elásticas inmersas en una sustancia fundamental compuesta de proteoglucanos, ácido hialurónico y proteínas derivadas del suero, las cuales se hallan altamente hidratadas ²⁸.
 - Colágeno: El colágeno de la lámina propia es principalmente del tipo I, mientras que el de la lámina basal es del tipo IV; las fibras elásticas están formadas por dos proteínas, la proteína principal de la fibra madura es la elastina, que es la responsable de las propiedades elásticas de la fibra y el segundo componente es una glucoproteína con su morfología microfibrilar. También contiene las fibras de oxitalán, que

ultraestructuralmente se parecen a las fibras elásticas inmaduras. Tienen fibrillas de 15 a 16 nm de espesor rodeando sólo una pequeña cantidad de material amorfo. Estas fibras han sido observadas en el ligamento periodontal y por debajo de la epidermis de la piel ²⁸.

- Sustancia fundamental: En la lámina propia de la mucosa bucal está representada por: proteoglucanos, que consta de una cadena larga polipeptídica a la cual se adosan numerosos residuos de hexosa y ácido hialurónico, siendo estos responsables de la capacidad fijadora de agua en el tejido conectivo y glucoproteínas, que tienen una cadena polipeptídica ramificada a la cual se adosan pocas hexosas ²⁸.

QUERATOSIS FRICCIONAL

La queratosis focal (friccional) es una lesión blanca que se clasifica bajo el término general "leucoplasia". Cuando se fricciona la superficie de la mucosa bucal de manera crónica, se produce una lesión hiperqueratósica de color blanca debida a un traumatismo de poca intensidad que se mantiene durante periodos prolongados ^{29.-33}.

Frecuentemente, queratosis causadas por fricción ocurren en zona que con frecuencia reciben traumas, como labios, bordes laterales de la lengua, mucosa bucal a lo largo de la línea oclusal y los rebordes edéntulos ^{29,30,32}, por la fricción de la masticación; también puede observarse en los bordes laterales de la lengua cuando se ejerce presión excesiva contra los dientes ³², incluso se ha observado en músicos de instrumentos de viento ³³.

En etapas tempranas, se observa como un parche pálido y traslúcido; posteriormente se vuelve blanco y denso, en ocasiones con superficie rugosa ^{32,33}. La anamnesis cuidadosa y el examen clínico indican la naturaleza de la lesión; si el odontólogo juzga clínicamente una causa traumática y una respuesta queratósica, no se requiere biopsia (sólo en caso dudoso); se

recomienda al paciente evitar el estímulo causal. La lesión tiene que resolver o por lo menos reducir en intensidad con el tiempo según el diagnóstico clínico. La resolución de la lesión también permite desenmascarar cualquier otra lesión subyacente que no se relacione con el traumatismo ^{29,32}.

El tratamiento de la queratosis friccional es la observación. El control del hábito causante de la lesión produce una mejoría clínica ^{29,30,32,33}.

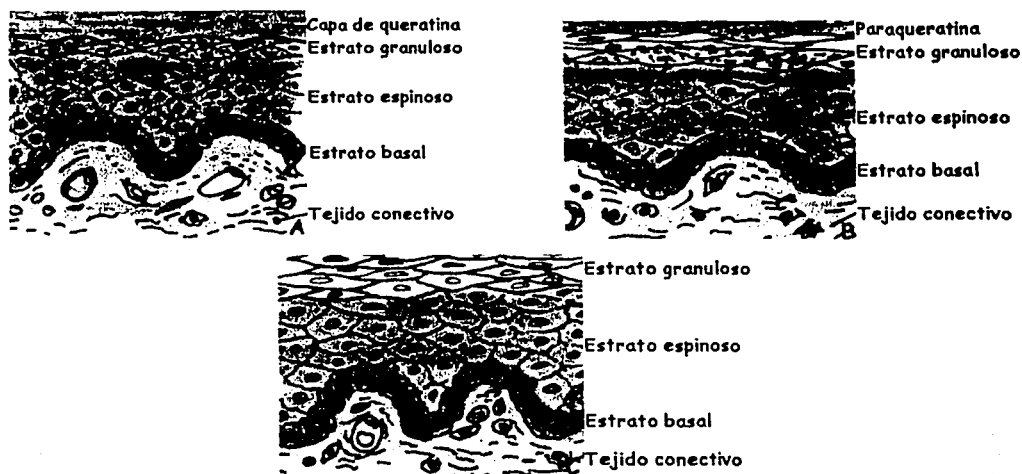
En las lesiones bucales queratósicas, tales como la queratosis friccional, se han descrito un cambio en el patrón de tinción de queratinas; así como también se han reportado cambios en la expresión de queratinas en displasias epiteliales de la cavidad bucal ^{24,26}.

En los aspectos histológicos, como su nombre lo indica, el cambio microscópico primario es la queratosis ²⁹, a menudo con engrosamiento del estrato espinoso y variables grados de acantosis ³³; puede observarse un infiltrado inflamatorio crónico en el tejido conectivo subyacente ^{29,33}. No se encuentran cambios epiteliales displásicos en la lesión de queratosis friccional simple ²⁹.

Existen ciertos términos microscópicos de esta lesión ^{30,34,35}:

- 1) Hiperortoqueratosis: Una cantidad moderada de ortoqueratina se encuentra en la superficie del epitelio bucal normal, que varía ligeramente dependiendo del área en la cavidad bucal y de la irritación friccional como la que produce el cepillo dental y la masticación. La hiperqueratosis es el aumento anormal del grosor de la capa de ortoqueratina o estrato córneo en un sitio específico. Aunque una capa de ortoqueratina del cierto grosor puede ser normal para esa área, para otra, una capa del mismo grosor puede ser definitivamente anormal ^{30,34,35}.
- 2) Hiperparaqueratosis: La paraqueratina se diferencia de la ortoqueratina en la persistencia de núcleos o de remanente nucleares dentro de la

capa de queratina. Esto también es normal en ciertas áreas de la cavidad bucal. A la paraqueratina en áreas donde habitualmente no se encuentra o, específicamente, a la capa de paraqueratina, se le denomina hiperparaqueratosis. De hecho no es raro observar áreas de ortoqueratina e hiperqueratósicas dentro de la misma sección ^{30,34,35}.



Histología y embriología bucodental, 2000.

Figura 4. Diferentes tipos de epitelio escamoso estratificado. A) Queratinizado, B) Paraqueratinizado, C) No queratinizado.

A menudo se le da mucha importancia a la diferencia entre la hiperortoqueratosis y la hiperparaqueratosis en la patología dermatológica con respecto al diagnóstico. Se ha señalado que la presencia de una capa granular o estrato granuloso, sólo en el epitelio bucal ortoqueratinizado. Con frecuencia la capa granular está engrosada y extremadamente prominente en los casos de hiperortoqueratosis ³⁴.

La importancia de la fricción crónica de la mucosa bucal en la etiología de lesiones precancerosas y carcinomas de la mucosa bucal es, por el momento controvertida. En tal sentido, se ha señalado que los

hallazgos parecen más coincidentes que causantes. No obstante, algunos autores consideran que la asociación de fricción crónica y consumo de tabaco y alcohol, podría actuar como promotora de cáncer oral. La importancia de este agente etiológico es tan debatida que, como se ha expuesto, las lesiones friccionales no son actualmente consideradas como leucoplasias y en consecuencia no deben ser catalogadas como lesiones precancerosas ³⁶.

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

Las lesiones en general son de color blanco en la boca por una de varias razones (asumiendo que las alteraciones no desaparecen al frotarlas). Una capa superficial engrosada de queratinas, un epitelio acantósico (incremento del espesor de la capa de células espinosas) y las células epiteliales edematosas pueden todas provocar lesiones clínicamente blancas. Los exudados y residuos adheridos a la superficie también pueden aparecer blancos. Con experiencia, casi siempre se puede determinar la razón de la aparición de una lesión blanca, pero el diagnóstico definitivo se basa en el examen microscópico ²⁹.

- **Leucoedema:** El leucoedema es una opacificación generalizada de la mucosa bucal que puede considerarse como una variante de la normal. Se observa en la mayoría de la población. Se desconoce la causa, los intentos para implicar factores como el tabaquismo, ingestión de alcohol, infección bacteriana, enfermedades salivales e interacción electroquímica no han tenido éxito. Sin embargo, algunos estudios indican una posible relación con falta de higiene bucal y patrones de masticación anormal ²⁹.

Es asintomático, de distribución simétrica y aparece sobre la mucosa de la boca, Presenta aspecto de una superficie membranosa, blanca grisácea, o lechosa, y difusa. Al estirar la mucosa bucal, se disipa el color opaco, excepto en los casos mas avanzados. Con mayor frecuencia se observa en personas que no son de raza blanca, especialmente afroamericanos ²⁹.

No se requiere tratamiento alguno debido a que los cambios son inofensivos. La lesión no tiene potencial maligno y no muestra predisposición a desarrollar leucoplasia. Es importante identificar este proceso y evitar intervenciones innecesarias ²⁹.

- **Nevo blanco esponjoso:** Es una enfermedad autosómica dominante causada al parecer por mutaciones en los puntos 4 o 13, o ambos de la queratina. Daña la mucosa bucal de ambos lados y no requiere tratamiento. Se presenta como una lesión asintomática, intensamente plegada, de color blanco o gris que puede afectar varios sitios de la mucosa, estas lesiones tienden a ser gruesas y poseen consistencia esponjosa. En boca suele identificarse como una lesión bilateral y simétrica y por lo general aparece desde los primeros años de vida, casi siempre antes de la pubertad. Esta lesión se observa mejor en la mucosa bucal, aunque otras áreas como la lengua, en especial a lo largo de sus bordes laterales, y la mucosa vestibular también pueden estar afectadas ^{29,35}.
- **Leucoplasia idiopática:** Es un termino clínico para indicar un parche o placa blanca de la mucosa bucal que no se desprende por raspado ni posee signos clínicos de alguna afección conocida y que no puede ser caracterizada clínica o histopatológicamente como ninguna otra enfermedad ^{29,35,36}. En el examen microscópico revelan un grado considerable de heterogenicidad ²⁹.

Muchos casos de leucoplasia guardan relación etiológica con el consumo del tabaco, fumado o utilizado de otra manera y pueden involucionar cuando se interrumpe dicho consumo, otros factores son el abuso de alcohol, traumatismo e infección por *Candida albicans*, pueden desempeñar un papel en la aparición de la leucoplasia ^{29,35,36}. También se atribuye a factores nutricionales, en especial los relacionados con la anemia por deficiencia de hierro y desarrollo de disfagia sideropénica, conocido como síndrome de Plummer-Vinson ²⁹. Otros factores cuya implicación etiológica en algunas leucoplasias se ha demostrado son: infección por Virus de Epstein Barr en pacientes con VIH- positivos como es el caso de la leucoplasia vellosa, irritación crónica causada por dentaduras protésicas mal ajustada, liquen plano crónico y algunos trastornos genéticos ³⁵.

Algunas leucoplasias evolucionan hacia carcinoma bucal de células escamosas. Las tasas de transformación varían de manera considerable de un estudio a otro, tal vez por los hábitos culturales vinculados con el consumo del tabaco, al menos en parte ^{29,36}.

La leucoplasia es un padecimiento que afecta a poblaciones de edad mediana y avanzada; casi todos los casos se presentan después de los 40 años de edad. Los sitios donde predomina la lesión se han modificado a través de los años. La lengua fue en un tiempo el sitio más común de leucoplasia, pero esta región ha cedido su lugar a la mucosa mandibular y bucal, que en la actualidad explican casi la mitad de las leucoplasias ^{29,35,36}.

El riesgo de transformación neoplásica varía de una región a otra. Aunque el piso de la boca explica un porcentaje algo pequeño (10%) de la leucoplasias, un gran porcentaje está representado por carcinomas displásicos in situ o lesiones invasivas, según el examen microscópico. La leucoplasia de labios y lengua también muestra un porcentaje alto de

transformación displásica o neoplásica. En ausencia de anomalías epiteliales displásicas o atípicas, lo apropiado es efectuar exámenes periódicos de nuevas áreas sospechosas. Si la displasia es leve, se debe atender al paciente con cierto juicio clínico. Es necesario considerar posibles factores etiológicos. Cuando la displasia es de moderada a grave, la extirpación se vuelve obligatoria ²⁹.

- **Leucoplasia vellosa:** En 1981 se descubrió por primera vez una rara lesión blanca a lo largo de los bordes laterales de la lengua, de manera predominante en hombres homosexuales. Este tipo de leucoplasia, representa una infección oportunista relacionada con la presencia del virus de Epstein-Barr (EBV) que se encuentra casi de manera exclusiva en individuos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV). Su prevalencia en esta población es de aproximadamente 20% y puede incrementarse hasta 80% en personas con SIDA ^{29,35}. En un pequeño porcentaje de casos se han confirmado el diagnóstico de leucoplasia pilosa en individuos con otras formas de inmunosupresión, en particular las relacionadas con trasplante de órganos ^{29,35}.

Se presenta como una lesión blanca bien delimitada con estructura variable, desde una lesión plana similar a una placa hasta prolongaciones papilares o filiformes como cabellos. Puede ser unilateral o bilateral. Su localización es a lo largo de los bordes laterales de la lengua, con extensión ocasional a la superficie dorsal de la lengua. En general no hay síntomas relacionados, pero una infección con *C. albicans* puede llamar la atención sobre la presencia de esta afección. En casos más graves cuando todo el dorso de la lengua está afectado por el proceso, el propio paciente puede identificar la lesión y solicitar atención dental ^{29,35}.

- **Liquen plano:** Es una afección mucocutánea crónica relativamente común y de causa desconocida. La importancia de esta enfermedad se

debe a su frecuencia relativa, similitud eventual con otros trastornos de las mucosas, capacidad ocasional de provocar dolor y posible relación con malignidad, se le considera un proceso mediado por vía inmunológica que en el examen microscópico hace pensar en una reacción de hipersensibilidad. Se ignora el factor iniciador del liquen plano, es evidente que un requisito para el proceso es el agrupamiento y retención de linfocitos ^{29,35}.

Se caracteriza por infiltrado intenso de células T (CD4+ y en especial CD8+) localizado en la interfase de los tejidos epitelial y conectivo. Otras células reguladoras de la inmunidad (macrófagos, dendrocitos XI- Ila+, células de Langerhans), se observan en número cada vez mayor en tejidos del liquen plano ²⁹.

El liquen plano es una enfermedad de la edad mediana que afecta a hombres y mujeres en proporción casi igual. Los niños raras veces son atacados. La gravedad de la enfermedad suele ser paralela al grado de estrés del individuo. La mucosa bucal es el sitio afectado con mayor frecuencia ^{29,35,36}. Según la clasificación de Andreasen se distinguen formas clínicas de liquen plano oral (reticular, atrófico, erosivo, ampollar, papular y en placas) ^{35,36}. Aunque las estrías adoptan un patrón simétrico típico en la mucosa bucal, también se pueden observar sobre la lengua y, menos a menudo, sobre encías y labio ^{29,35}. Casi cualquier tejido mucoso puede experimentar manifestaciones de liquen plano. Esta forma de la enfermedad aparece con síntomas clínicos mínimos y se descubre por lo regular de manera incidental ²⁹.

El aspecto clínico de la forma en placa de liquen plano se asemeja a la leucoplasia, pero evidencia una distribución multifocal. Estas placas varían desde algo elevadas hasta planas y lisas. Los sitios primarios de esta variante son el dorso de la lengua y la mucosa bucal. En ocasiones los pacientes se quejan de ardor, hiperestesia y malestar generalizado ²⁹.

Las lesiones casi siempre aparecen sobre la mucosa bucal, particularmente en las regiones posterior e inferior adyacentes a los molares segundo y tercero. Las anomalías son menores sobre la lengua, encía y borde interno de los labios. En esta variante del liquen plano deben identificarse regiones reticulares o estrías queratósicas ²⁹.

Aunque el liquen plano no tiene curación, algunos fármacos suministran control satisfactorio. Los corticoesteroides son el grupo aislado más útil de medicamentos en el tratamiento de pacientes con liquen plano. Su empleo se justifica por su capacidad para modular las reacciones inflamatoria e inmunológica. Se ha utilizado con éxito la aplicación tópica e inyección local de esteroides para controlar, aunque no curar, esta afección, cuando los síntomas son graves se puede usar esteroides sistémicos para al atención inicial. Añadir medidas terapéuticas contra hongos a un régimen de corticoesteroides suele mejorar el resultado clínico ^{29,35}.

Existe controversia acerca del potencial maligno del liquen plano bucal, ya que la tasa del carcinoma epidermoide de cavidad bucal es aparentemente más alta en pacientes afectados por liquen plano, si se compara con la población en general. Puesto que el liquen plano es una enfermedad crónica, es necesario observar al individuo periódicamente y brindarle información acerca del curso clínica, justificación de la terapéutica y riesgo de transformación maligna. Esto tiene particular importancia para quienes padecen las formas erosiva o atrófica del trastorno y aquellos con antecedentes de abuso de tabaco y alcohol ²⁹.

DISPLASIA

El término displasia se refiere al crecimiento desordenado, en tanto que atipia se utiliza para describir las células con características anormales ²⁹.

El desarrollo de un proceso maligno en el epitelio plano estratificado tiene lugar espontáneamente o bien, como un proceso gradual en el cual múltiples alteraciones menores, individuales de células y tejidos culminan finalmente en clara malignidad. La combinación de los cambios tisulares observados en la transición gradual hacia la malignidad (premalignidad) se denomina displasia epitelial ³⁵.

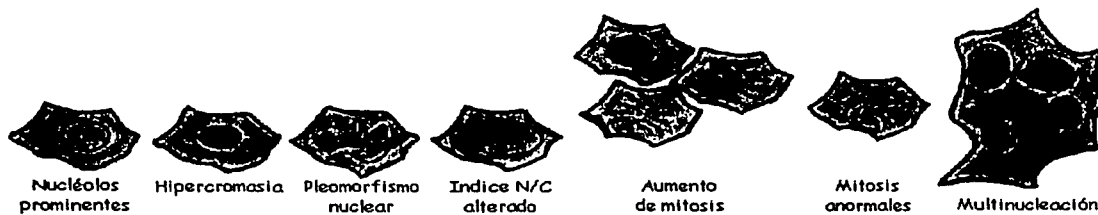
Existen diferentes grados de displasia en los que el patrón epitelial muestra cambios leves, moderados o severas ^{29,35}. Esto se determina de manera subjetiva, indicando que los cambios no parecen lo bastante anormales para calificarlos como neoplásicos ²⁹. Las particularidades microscópicas de la displasia incluyen ^{29,35}:

- a) Rebordes epiteliales en forma de canal.
- b) Hiperplasia de la capa basal.
- c) Estratificación irregular.
- d) Incremento de figuras mitóticas anormales.
- e) Queratinización de células individuales o de grupo de células (formación de perlas epiteliales) en la capa espinosa.
- f) Pleomorfismo celular.
- g) Hiper Cromatismo nuclear.
- h) Alteración de la relación núcleo-citoplasma.
- i) Nucleolos aumentados de volumen.
- j) Pérdida de la polaridad de las células basales y "corrientes" en la capa de células espinosas.
- k) Pérdida o reducción de la adherencia intercelular.

Si todo el espesor del epitelio muestra estos cambios por un efecto llamado de arriba abajo, se puede utilizar el término carcinoma in situ, también se puede considerar un carcinoma in situ cuando la atipia celular

posee particular severidad, aunque a veces los cambios no son evidentes desde la membrana basal hacia la superficie ²⁹.

No se ha comprobado de manera definitiva la evolución de displasia a carcinoma. No obstante, regularmente se acepta que cuando más graves son los cambios, es más probable que la lesión evolucione a cáncer ^{29,35}. Además algunas alteraciones pueden persistir por un período indefinido sin cambios microscópicos y otras, aparentemente, retornan a la normalidad. El carcinoma in situ no se considera una lesión reversible, aunque puede tomar muchos años para que la invasión tenga lugar ^{29,35}. Se ha demostrado que la mayor parte de los carcinomas de células escamosas del conducto aerodigestivo alto, incluida la cavidad bucal, es precedida por displasia severa ²⁹.



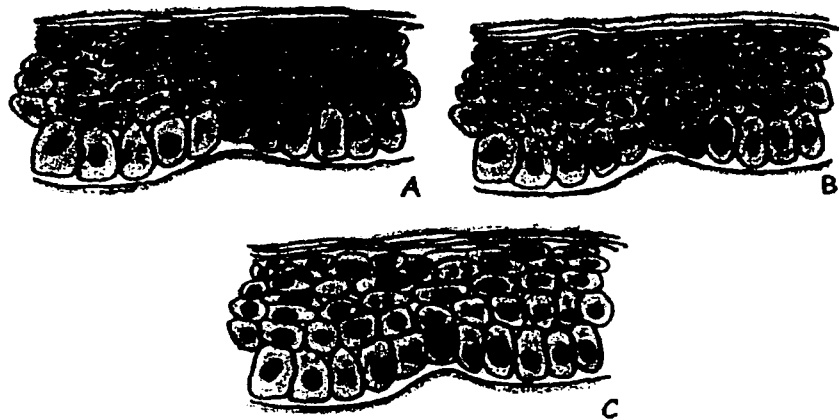
Patología oral y maxilofacial contemporánea, 1998.

Figura 5. Esquema de las alteraciones individuales que se encuentran en la displasia epitelial. El grado de intensidad de una displasia epitelial viene determinado, en parte, por la frecuencia y la combinación de estas alteraciones.

En un fumador de cigarrillos, la displasia epitelial del piso de la boca o del borde lateral de la lengua aumentará su grado, de leve a severa, con el tiempo y la continuación del hábito. El factor tiempo variará ampliamente entre individuos, desde meses a años. Igualmente importante es que, cuando se suprime un factor inductor, algunas formas leves e incipientes de displasia epitelial se revertirán y el epitelio volverá a la normalidad. En otras formas de displasia epitelial, incluso con control de

algún factor responsable, la regresión puede no ser posible, aunque la velocidad de evolución a una forma más severa suele ser más lenta ³⁵.

Las áreas de displasia epitelial presentan a menudo un infiltrado leucocitario crónico en el tejido conjuntivo adyacente y los linfocitos se extienden hacia arriba, penetrando en las capas más profundas del epitelio displásico. Una displasia epitelial asociada a un infiltrado de linfocitos denso tiene un sorprendente parecido con el trastorno dermatológico-mucoso denominado liquen plano. Cuando una displasia epitelial comparte múltiples rasgos histológicos con el liquen plano, se denomina "displasia liquenoide". Dado a que se han documentado muchos casos en los cuales un carcinoma epidermoide intraoral ha aparecido en la misma localización que lesiones que habían sido repetidamente diagnosticadas como liquen plano, se mantiene la cuestión que si la lesión inicial era, de hecho, una displasia liquenoide y no un liquen plano ³⁵.



Patología oral y maxilofacial contemporánea, 1998.

Figura 6. Grados de displasia. A) Esquema de una displasia epitelial leve; B) Esquema de una displasia epitelial moderada; C) Esquema de una displasia epitelial grave o severa.

Cerca del 5% de las leucoplasias corresponde al carcinoma invasivo de células escamosas y la transformación maligna total de las leucoplasias benignas explica casi otro 5% de las alteraciones ²⁹.

MARCADORES TUMORALES

Para establecer la terapéutica adecuada es fundamental tener un diagnóstico preciso. En ocasiones, el diagnóstico diferencial entre tumores secundarios y enfermedades no neoplásicas se vuelve difícil. El estudio citopatológico es una prueba sencilla y precisa, tiene alta especificidad, pero su sensibilidad es de 50%. Por lo que para mejorar la precisión del diagnóstico, se recomienda valorar marcadores tumorales que puedan hacer más preciso el diagnóstico ^{37,38}. Solamente una minoría de pacientes tiene enfermedades en las que se pueda valorar la respuesta al tratamiento por medio de un examen físico, y rara vez, se puede detectar lesiones menores de 1 cm³ ³⁹. El proceso de transformación de las células tumorales puede estar acompañado del aumento en la síntesis y liberación de productos dentro de la circulación que pueden ser utilizados como marcadores de la enfermedad residual ^{39,40}. Su presencia en el suero puede deberse a la actividad tumoral o a la reacción del huésped, pero en cualquier caso se encuentra relacionado al cáncer ⁴⁰.

El término marcador tumoral designa aquellas sustancias detectables en líquidos orgánicos, especialmente en sangre periférica, que denotan la existencia y el desarrollo de un tumor. El marcador ideal debe ser producido exclusivamente por células tumorales y de fácil determinación, así como correlacionarse con la masa tumoral ⁴¹. Su utilidad radica tanto en el diagnóstico de un tumor (incluso en personas asintomáticas), como en la ayuda en el diagnóstico diferencial, la comprobación de algunas de

sus características y el control de su evolución (pronóstico, valoración de la respuesta y detección precoz de las recidivas) ^{41,42}.

Los primeros marcadores tumorales descubiertos fueron nombrados "antígenos carcinoembrionarios" debido a la mayor expresión en los tejidos fetales. Algunos de estos han demostrado ser precisos en el diagnóstico y terapia, aunque no tanto en la selectividad tumoral. Pocos antígenos son específicos por completo y generalmente, algunos tejidos normales también los expresan ³⁹.

Desde que se descubrió que los anticuerpos monoclonales dirigidos contra cualquier antígeno deseado podían ser producidos a gran escala, han sido utilizados con muchos propósitos en medicina ^{40,43}. Actualmente representan un importante papel en la caracterización histológica y en la valoración de parámetros químicos clínicos. Se han realizado numerosas investigaciones acerca de sus posibilidades en el diagnóstico y tratamiento del cáncer ⁴³.

Un marcador tumoral es un indicador bioquímico de la presencia de una proliferación neoplásica. En su utilización clínica, se refiere a una molécula que puede ser detectada en el suero, el plasma y en otros líquidos orgánicos. Para que su utilidad sea óptima, a menudo se requieren sensibles métodos de medida como el radioinmunoanálisis (RIA) o el ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA). No hay ningún marcador tumoral que sea específico y casi todos ellos se encuentran en bajas concentraciones en condiciones fisiológicas normales o en enfermedades no neoplásicas, además de que un mismo marcador puede aparecer asociado a distintos tumores. Los marcadores tumorales pueden dividirse en dos amplios grupos: los fragmentos derivados del tumor y los marcadores asociados al tumor (o respuesta del huésped). Los marcadores asociados al tumor (respuesta del huésped) se utilizan, sobre todo, junto a los marcadores derivados del tumor ^{39,42}.

Cuando los tejidos sufren alteraciones, como ocurre en los tumores indiferenciados, es posible que no se pueda reconocer la naturaleza del tejido en el examen histológico de rutina ¹. Uno de los aspectos más importantes de los marcadores tumorales, compromete a las moléculas que muestran sobreexpresión en la superficie celular del tumor en comparación con las células normales ³⁹. Sin embargo a medida que comprenda la naturaleza de componentes celulares específicos de los tejidos, como los distintos tipos de filamentos intermedios, se comenzará a aplicar ese conocimiento en los procedimientos sofisticados de tinción de anticuerpos específicos para identificar los orígenes de los tejidos anormales. Es así, como los anticuerpos contra filamentos intermedios específicos de tejido se emplean para determinar si ciertos tumores poco diferenciados tienen su origen en tejido epitelial o conectivo. Esto permite tomar decisiones terapéuticas y diagnósticos más confiables ¹.

Las aplicaciones de los marcadores tumorales van siendo cada vez más extensas. 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 ^{40,41,44}. La sensibilidad de una prueba mide la proporción de pacientes con cáncer que presentan la prueba positiva o anormal, mientras que la especificidad define la proporción de pacientes sin cáncer que muestran la prueba negativa o normal ^{40,44}. Ningún marcador tumoral ofrece la especificidad y sensibilidad adecuadas para ser útil en la detección sistemática de las neoplasias malignas en la población general ⁴².

Un objetivo al utilizar los marcadores tumorales como monitores es encontrar marcadores que se asocien a condiciones que predispongan a la aparición de un cáncer, tales como anomalías genéticas o exposición a agentes mutágenos. La posibilidad de identificar a los individuos que presenten alto riesgo de desarrollar un tipo concreto de

neoplasia permitiría desarrollar estudios prospectivos de terapéutica precoz o preventivos y también proporcionaría una mejor idea de los estadios y desarrollo del cáncer en el ser humano ^{40,41,44}. Gracias al mayor conocimiento sobre la oncología molecular, se ha logrado tener un mayor conocimiento de los factores que pueden causar que los tumores se vuelvan más agresivos ⁴⁵. Los marcadores tumorales pueden proporcionar información sobre el estadio tumoral y permitir la detección de metástasis microscópicas ⁴⁴. No permiten por sí mismos establecer el origen de un tumor determinado y deben asociarse a otros métodos, pero pueden apoyar un diagnóstico, especialmente en el caso de tumores indiferenciados de origen desconocido ⁴¹.

Los marcadores pueden ayudar a tener un seguimiento más cercano y proporcionar mayor información sobre la biología del cáncer, ya que las alteraciones metabólicas y bioquímicas pueden correlacionarse con la transformación tumoral y la progresión del cáncer ⁴⁰, proporcionando así, información pronóstica. Por ejemplo, indicando un tipo determinado de terapéutica y las perspectivas de respuesta, así como estimar el tiempo de supervivencia basado en la presencia de metástasis ⁴⁴.

El marcador puede dar una idea muy precisa de la efectividad de un tratamiento. El poder detectar la recidiva de algunos tumores permite iniciar la terapéutica, incluso con cirugía exploratoria y resección, semanas e incluso meses antes de que haya pruebas clínicas de aquella ^{41,44}.

Otra aplicación de los marcadores tumorales es utilizarlos como diana para los agentes citotóxicos unidos a anticuerpos o como objetivo de las células del sistema inmune del propio paciente, en un intento de ser más selectivo para destruir células tumorales y afectar mínimamente las células normales ⁴⁴. Actualmente, se han demostrado antígenos capaces de discriminar la respuesta inmune del huésped en estudios experimentales,

en los que se ha visto su capacidad de proteger a los animales singénicos de una nueva exposición a las células malignas. Sin embargo, este alcance directo no es factible en humanos ³⁹.

El éxito del tratamiento sistémico depende de una terapia efectiva y de la identificación de los pacientes con riesgo a desarrollar metástasis. Por lo tanto, la predicción de la agresividad del tumor es importante y la demanda de marcadores pronósticos y predictores se ha incrementado ⁴⁵.

Los marcadores se clasifican en:

- 1) Marcadores genéticos (oncogenes y sus productos).
- 2) Marcadores metabólicos (muy heterogéneos: enzimas o isoenzimas, hormonas y subunidades hormonales, antígenos oncofetales y productos liberados en la duplicación celular).
- 3) Marcadores de superficie (glucoproteínas) ⁴¹.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existe controversia entre los autores con respecto al amplio espectro de citoqueratinas en la cavidad bucal, sin embargo la mayoría de las investigaciones convergen en las siguientes aseveraciones: las células basales 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 CK1 y CK10. No obstante, 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 tumores epiteliales.

JUSTIFICACIÓN

Existen 20 tipos diferentes de citoqueratinas (10 básicas o neutras y 10 ácidas) lo cual dificulta, hablando de costo, el tratarlas de forma individual para este estudio, por lo cual se tomó la decisión de realizar un "coctel" incluyendo todas las citoqueratinas a fin de obtener el grado de expresión de las 30 lesiones que conforman el marco de estudio de la presente investigación.

HIPOTESIS DE INVESTIGACION:

Sí existe inmunoexpresión con el coctel de citoqueratinas en queratosis friccional con y sin cambios displásicos.

HIPOTESIS NULA:

No se expresan las citoqueratinas en la queratosis friccional, liquen plano, leucoedema y lesión viral.

OBJETIVO GENERAL

Determinar si existe expresión de citoqueratinas en la queratosis friccional con y sin cambios displásicos, liquen plano, leucoedema y lesión viral, utilizando el coctel de Cks.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar histológicamente las características de las queratosis friccionales.
- Separar las queratosis friccionales de acuerdo a los hallazgos histológicos.
- Demostrar el grado de inmunoexpresión.

MATERIAL Y METODOS

Tipo de estudio:

Retrospectivo

Transversal

Observacional

Descriptivo

Población de estudio

Los casos diagnosticados como: queratosis friccional, liquen plano, leucoedema y lesión viral.

Criterios de inclusión

Todos los casos diagnosticados histopatológicamente como queratosis friccional, liquen plano, leucoedema y lesión viral.

Criterios de exclusión

Todos los casos que no sean diagnosticados histopatológicamente como queratosis friccional, liquen plano, leucoedema y lesión viral.

Variables Independientes:

Citoqueratinas (básicas y ácidas)

Variables Dependientes:

Queratosis friccional (hiperqueratosis, hiperparaqueratosis, hiperortoqueratosis y displasias)

Líquen plano

Leucoedema

Lesión viral

MATERIAL

Equipo:

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

Reactivos:

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

- Alcohol 100%.
- Alcohol 96%.
- Hematoxilina.
- Solución Scott.
- Eosina.
- Alcohol Xilol.

Anticuerpos:

- Citokeratin, High Molecular Weight, Monoclonal, Mouse IgG [AE3], AM133-5M
- ABC (Elite, PK-6102), Mouse IgG VECTOR
- Cromógeno Peroxidase substrate Kit DAB. SK 4100 VECTOR

METODOLOGÍA

Para llevar a cabo este estudio, se seleccionaron 30 casos diagnosticados 26 como queratosis (10 hiperparaqueratosis, 8 hiperortoqueratosis, 5 displasias, 2 paraqueratosis y 1 hiperqueratosis), 2 leucoedemas, 1 líquen plano y 1 lesión viral del archivo del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la División de Estudios de Postgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM.

Se seleccionaron los casos en base a las laminillas del archivo, con las que se corroboró la presencia o ausencia de lesión histológicamente, y para gradificar las neoplasias malignas; las laminillas sin evidencia de neoplasia fueron descartadas del estudio.

Los bloques de parafina de las laminillas seleccionadas se usaron para obtener secciones de 4 micras de espesor, montadas en portaobjetos previamente tratados con silano.

TECNICA INMUNOHISTOQUIMICA

Las laminillas a tratar se desparafinaron en xilol, 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, M 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% incubándolos de 3 a 5 minutos a temperatura ambiente. Nuevamente se lavaron con PBS y colocaron en PBS limpio en un vaso de Coplin con PBS.

Se bloquearon sitios inespecíficos o cargados con suero normal durante 10 a 20 minutos, el cual se prepara agitando 10 ml de PBS x 3 gotas de suero normal de caballo. Se incubaron los tejidos con el anticuerpo primario durante 40 min (en cámara húmeda). Decantándolo y colocando el anticuerpo primario así como el control negativo.

El anticuerpo secundario se preparó con 10 ml de PBS, 3 gotas del suero bloqueador y 1 gota del ácido biotilado; 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 y se les agregó 2 o 3 gotas del anticuerpo secundario dejándose incubar durante 20 a 30 minutos a temperatura ambiente. Se enjuagaron con PBS y se colocaron 2 o 3 gotas del ABC, incubándolas durante 15 minutos a temperatura ambiente.

Se lavaron nuevamente con PBS y se agregaron 2 gotas de cromógeno a cada coverplate incubándolos durante 5 minutos, observando la

reacción al microscopio, para colocar más cromógeno en caso de que fuera necesario.

Una vez realizados estos pasos se lavaron y se colocaron en un vaso de Coplin con agua. Se realizó la contratinción, se filtró la hematoxilina y se dejaron en agua caliente. Finalmente, las laminillas se deshidrataron en alcohol y se montaron.

Para obtener los resultados las laminillas se observaron en un microscopio de campo claro a 10 y 40x, evaluando la expresión de las citoqueratinas en leve, moderada y severa, registrando los resultados en hojas de recolección de datos. Se obtuvieron porcentajes, rangos y promedios.

RESULTADOS

DESCRIPCIÓN DE LAMINILLAS EN H & E.

FOI 262 98.

Se observa un epitelio escamoso estratificado hiperortoqueratinizado con algunas zonas de hiperparaqueratinización. Hay hiperplasia basilar. Algunas zonas del epitelio muestran acantosis severa y otras zonas muestran acantosis moderada. El edema intracelular es muy notorio. Los gránulos de queratohialina, en gran cantidad, se convierten gradualmente en ortoqueratina a medida que se acercan al estrato superficial. Hay edema intracelular. Presenta una mitosis por campo. Diagnóstico: *hiperortoqueratosis*.

FOI 263 98.

El corte muestra un epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado. Hay hiperplasia basilar. La presencia de acantosis es leve. Existe edema intracelular. El infiltrado de células inflamatorias que se observa es crónico linfoplásmocitario. En algunas áreas, el epitelio se encuentra disrupcionado y con hemorragia. Hay menos de una mitosis por campo. Diagnóstico: *paraqueratosis*.

FOI 264 98.

Se observa un epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado. Presenta hiperplasia basilar. La acantosis es severa. Existe edema intracelular. La capa superficial del epitelio tiene una gran cantidad de células nucleares, esto indica una paraqueratinización; a este nivel, observamos una zona con leucoedema, probablemente por el anestésico utilizado para tomar la muestra. El infiltrado inflamatorio es difuso.

Observamos menos de una mitosis por campo. Diagnóstico: *paraqueratosis*.

FOI 265 98.

El epitelio es plano estratificado hiperqueratinizado con algunas zonas de hiperparaqueratinización. La acantosis es severa en algunas zonas y moderada en otras. El edema intracelular es notorio. En el corte podemos observar clavos epiteliales, papilas e islas de tejido conectivo. Se observa menos de una mitosis por campo. Diagnóstico: *hiperparaqueratosis*.

FOI 266 98.

Observamos epitelio escamoso estratificado hiperparaqueratinizado. Presenta hiperplasia basal; hay zonas localizadas de acantosis severa y acantosis moderada. Observamos edema intracelular. Presenta una mitosis por campo. Diagnóstico: *hiperparaqueratosis*.

FOI 267 98.

En el corte se observa un epitelio escamoso estratificado hiperortoqueratinizado. El epitelio presenta hiperplasia basilar; hay hiperchromatismo y la acantosis es leve; también se observa queratinización individual; el estrato que contiene los gránulos de queratohialina presenta un gran espesor; el edema intracelular es localizado, hay degeneración hidrópica. Observamos pérdida de la interfase entre el epitelio y el tejido conjuntivo, también se puede observar que hay desprendimiento del epitelio. Presenta infiltrado de células inflamatorias linfocitario en banda. El epitelio muestra más de una mitosis por campo. Diagnóstico: *liquen plano*.

FOI 268 98.

El epitelio que se muestra es escamoso estratificado hiperorto queratinizado con zonas de paraqueratinización. Hay hiperplasia basilar. Presenta acantosis severa. Los gránulos de queratohialina en el estrato granular son muy notorios. El edema intracelular es acentuado. Podemos observar la presencia de melanina en diferentes partes del corte. Además, el tejido muestra numerosas islas de tejido conectivo. Hay menos de una mitosis por campo 40X. Diagnóstico: *hiperortoqueratosis*.

FOI 269 98.

El corte se observa un epitelio plano estratificado hiperortoqueratinizado con zonas de hiperqueratinización. El infiltrado de células inflamatorias es difuso. La presencia de acantosis es moderada en algunas zonas y leve en otras. Los gránulos de queratohialina se encuentran bien marcados en la capa granular. La capa córnea presenta células aplanadas, libres de organelas celulares. El corte también muestra clavos epiteliales largos y delgados e islas de tejido conectivo. Las mitosis son menos de una por campo. Diagnóstico: *hiperortoqueratosis*.

FOI 270 98.

El corte histológico muestra un epitelio escamoso estratificado hiperortoqueratinizado. En él, se observa hiperplasia basal, la hiper Cromasia nuclear está presente; la existencia de hiper celularidad es notoria. La acantosis presente es severa. Hay formación de papilas bulbosas; presenta edema intracelular y el infiltrado de células inflamatorias es denso con algunas zonas localizadas difusas. Los gránulos de queratohialina se encuentran bien marcados. Se observan más de tres mitosis por campo. Diagnóstico: *displasia moderada*.

FOI 271 98.

Se observa un epitelio plano estratificado paraqueratinizado con algunas zonas de queratinización. Presenta hiperplasia basilar. Muestra acantosis leve. Hay edema intracelular y un infiltrado focal crónico localizado de células inflamatorias. El tejido muestra menos de una mitosis por campo 40X. Diagnóstico: *paraqueratosis*.

FOI 272 98.

El epitelio es plano estratificado hiperortoqueratinizado con zonas de paraqueratinización. Presenta hiperplasia basal, hiper Cromatismo nuclear y la acantosis es severa; existe edema intracelular. El infiltrado de células inflamatorias es prácticamente nulo. En el corte se observa hiper celularidad así como formación de papilas bulbosas en forma localizada. El estrato granular contiene gránulos de queratohialina de forma muy marcada. Hay más de dos mitosis por campo. Diagnóstico: *displasia leve localizada*.

FOI 273 98.

Observamos un epitelio escamoso estratificado hiperqueratinizado. Presenta hiperplasia basal, hiper Cromasia nuclear. La acantosis es leve; así mismo, muestra hiper celularidad. Hay edema intracelular, el infiltrado de células inflamatorias es difuso leve. Los gránulos de queratohialina no son tan marcados. Presenta menos de una mitosis por campo. Diagnóstico: *displasia leve*.

FOI 274 98.

En la imagen observamos un epitelio escamoso estratificado hiperparaqueratinizado que presenta hiperplasia basilar y acantosis leve. El estrato más superficial muestra gran cantidad de células aplanadas y

nucleadas. Hay menos de una mitosis por campo. Diagnóstico: *hiperparaqueratosis*.

FOI 275 98.

Presenta un epitelio plano estratificado hiperparaqueratinizado. Hay hiperplasia basilar, hiper cromasia nuclear, acantosis severa, así como hiper celularidad. El edema intracelular es acentuado. Las mitosis son menos de una por campo. Diagnóstico: *displasia leve*.

FOI 276 98.

Se observa un epitelio escamoso estratificado hiperparaqueratinizado con zonas de paraqueratinización. Presenta hiperplasia basilar, hiper cromatismo nuclear y acantosis severa. Hay edema intracelular y el infiltrado de células inflamatorias es denso localizado. Se observa menos de una mitosis por campo. Diagnóstico: *leucoedema*.

FOI 277 98.

El corte histológico muestra un epitelio escamoso estratificado hiperparaqueratinizado con zonas de hiperqueratinización. Presenta hiperplasia basilar, hiper cromatismo nuclear, y acantosis severa. Hay hiper celularidad, edema intracelular localizado, así como infiltrado de células inflamatorias localizado. Se observa una zona focal de necrosis. Presenta menos de una mitosis por campo. Diagnóstico: *displasia leve localizada cercana al área de necrosis*.

FOI 278 98.

Se observa un epitelio plano estratificado hiperparaqueratinizado. Presenta hiperplasia basal, acantosis moderada, así como queratinización individual. Hay clavos epiteliales gruesos y profundos. Presenta menos de

una mitosis por campo. Diagnóstico: *hiperparaqueratosis*.

FOI 279 98.

Se observa un epitelio escamoso estratificado hiperparaqueratinizado. Hay hiperplasia basal y acantosis moderada. El edema intracelular que se observa se debe al anestésico infiltrado. El corte histológico muestra hipervascularización. Se observa menos de una mitosis por campo. Diagnóstico: *hiperparaqueratosis*.

FOI 280 98.

Presenta un epitelio escamoso estratificado hiperortoqueratinizado con zonas de paraqueratinización. En el epitelio se observa hiperplasia basilar e hiper cromatismo nuclear. Presenta zonas localizadas de acantosis severa así como zonas localizadas leves. La capa granular que contiene los característicos gránulos de queratohialina se encuentra bien definida. Se observa una mitosis por campo. Diagnóstico: *hiperortoqueratosis*.

FOI 281 98.

Presenta un epitelio escamoso estratificado no queratinizado. El tejido presenta acantosis moderada, el edema intracelular es acentuado y el infiltrado de células inflamatorias es leve. Observamos menos de una mitosis por campo. Diagnóstico: *leucoedema*.

FOI 282 98.

El epitelio que se observa es escamoso estratificado hiperqueratinizado. Presenta hiperplasia basilar y acantosis leve. El edema localizado que se observa es debido al anestésico infiltrado. El tejido presenta clavos epiteliales delgados y profundos. Los gránulos de queratohialina no se encuentran tan marcados. Hay una mitosis por campo. Diagnóstico:

hiperqueratosis.

FOI 283 98.

Observamos un epitelio escamoso estratificado hiperortoqueratinizado. Hay hiperplasia basilar, la acantosis es severa y el edema intracelular está localizado. Los gránulos de queratohialina están bien delimitados en el estrato granular. Se observa más de una mitosis por campo. Diagnóstico: *hiperortoqueratosis.*

FOI 284 98.

El corte histológico presenta un epitelio escamoso estratificado no queratinizado. Se observa hiperplasia basilar, acantosis severa, edema intracelular, y el infiltrado de células inflamatorias es localizado difuso. Presenta clavos epiteliales gruesos. Hay una mitosis por campo. Diagnóstico: *lesión viral.*

FOI 285 98

El epitelio es escamoso estratificado hiperortoqueratinizado. Presenta hiperplasia basal, hiper Cromatismo nuclear, acantosis leve. Existe edema intracelular localizado. Los gránulos de queratohialina se encuentran en un estrato de gran grosor. El tejido muestra clavos epiteliales gruesos. Se observa una mitosis por campo. Diagnóstico: *hiperortoqueratosis.*

FOI 286 98.

Observamos un epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado. El epitelio muestra hiperplasia basal con acantosis severa. El edema intracelular se puede apreciar. Presenta menos de una mitosis por campo. Diagnóstico: *leucoedema.*

FOI 287 98.

El epitelio es escamoso estratificado hiperparaqueratinizado. Presenta hiper Cromasia nuclear y la acantosis es severa. Hay una leve queratinización individual. El epitelio muestra congestión vascular. Las mitosis son menos de una por campo. Diagnóstico: *hiperparaqueratosis*.

FOI 288 98.

Se observa un epitelio escamoso estratificado hiperortoqueratinizado con zonas de hiperqueratinización. Se puede observar hiperplasia basal e hiper Cromasia nuclear. Presenta áreas con acantosis severa y otras con acantosis moderada. Hay queratinización individual. Presenta edema intracelular localizado. Los gránulos de queratohialina se encuentran bien definidos. En el epitelio se observa más de una mitosis por campo. Diagnóstico: *hiperortoqueratosis*.

FOI 289 98.

Presenta un epitelio escamoso estratificado hiperparaqueratinizado con zonas de hiperqueratinización. En el epitelio observamos hiperplasia basal, hiper Cromasia nuclear, acantosis moderada y edema intracelular. Presenta una mitosis por campo. Diagnóstico: *hiperparaqueratosis*.

FOI 290 98.

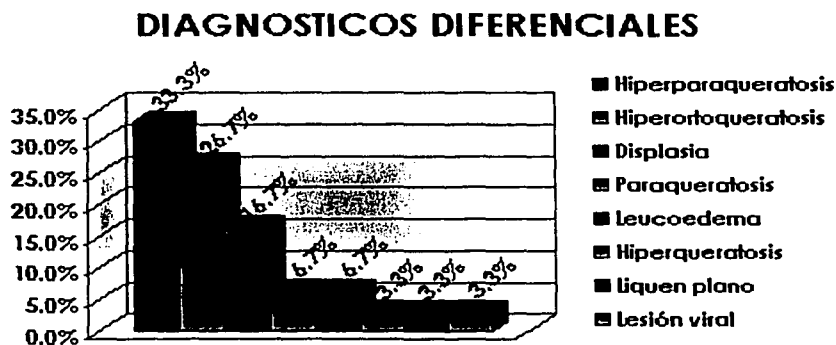
El epitelio es escamoso estratificado hiperortoqueratinizado con zonas de hiperqueratinización y no queratinización; la zona de hiperortoqueratinización se encuentra dañada. Presenta hiperplasia basilar, hiper Cromasia nuclear, acantosis moderada y edema intracelular. No existe infiltrado de células inflamatorias. Los gránulos de queratohialina se encuentran bien marcados. Se presentan áreas con leucoedema. Hay una mitosis por campo. Diagnóstico: *hiperortoqueratosis*, con áreas de

leucoedema.

FOI 291 98

Observamos un epitelio escamoso estratificado hiperparaqueratinizado. En el epitelio se observa hiperplasia basilar y acantosis severa. Se presenta una mitosis por campo. Diagnóstico: hiperqueratosis.

Los resultados que se obtuvieron de la observación al microscopio óptico fue que de los treinta casos utilizados para este estudio: 10 casos (33.3%) se diagnosticaron como hiperparaqueratosis, 8 casos (26.7%) hiperortoqueratosis, 5 casos (16.7%) displasias, 2 casos (6.7%) paraqueratosis, 2 casos (6.7%) leucoedema, 1 caso (3.3%) hiperqueratosis, 1 caso (3.3%) liquen plano y 1 caso (3.3%) lesión viral, como se muestra en la **gráfica No. 1**.



Gráfica 1. Porcentajes de diagnósticos diferenciales.

De los 30 casos estudiados, al realizar la observación al microscopio obtuvimos un promedio de mitosis por campo; encontrando que en 16 casos se observó menos de una mitosis, en 9 casos una mitosis por

campo, en 3 casos más de una mitosis y en 2 casos más de dos mitosis por campo, como se muestra en la **gráfica No. 2**.

NUMERO DE MITOSIS POR CAMPO (40X)



Gráfica 2. Número de mitosis.

De los 5 casos (100%) de los casos diagnosticados como displasias, observamos que en 4 casos (80%) resultó ser leve y en 1 caso (20%) fue moderado, tal como se muestra en la **gráfica No. 3**.

DISPLASIAS

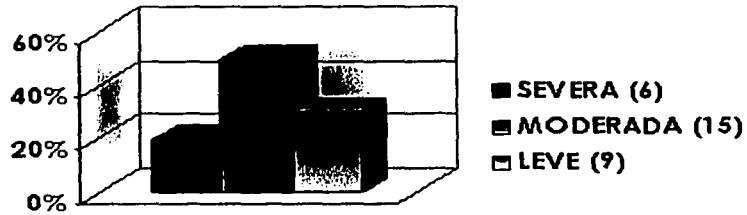


Gráfica 3. Promedio de displasias.

Los 30 casos que usamos en el estudio, lo realizamos utilizando citoqueratinas y observando así la expresión que se obtuvo en cada uno de ellos, obteniendo que en 15 casos resultaron con expresión moderada, 9 casos resultó leve y 6 casos la expresión fue severa. En la ortoqueratosis la expresión con Cks se presentó moderada en el 80% y leve el 20% de los casos, en las hiperparaqueratosis la expresión fue moderada en el 80% y severa en el 20% de los casos, en las displasias la expresión fue leve, en el liquen plano la expresión fue moderado, en el leucoedema la expresión

fue moderada y en la lesión viral se presentó moderada, como se muestra en la **gráfica No. 4**.

TIPO DE EXPRESION DE CITOQUERATINAS



Gráfica 4. Tipo de expresión con citoqueratinas.



Figura 7 A) y B), Hiperortoqueratosis.

En la **figura 7 A)** se observa uno de los casos de hiperortoqueratosis (H&E 40X) y en la **B)** podemos observar el mismo caso en que existió expresión moderada de Cks en la totalidad del epitelio y en la capa basal esta fue severa

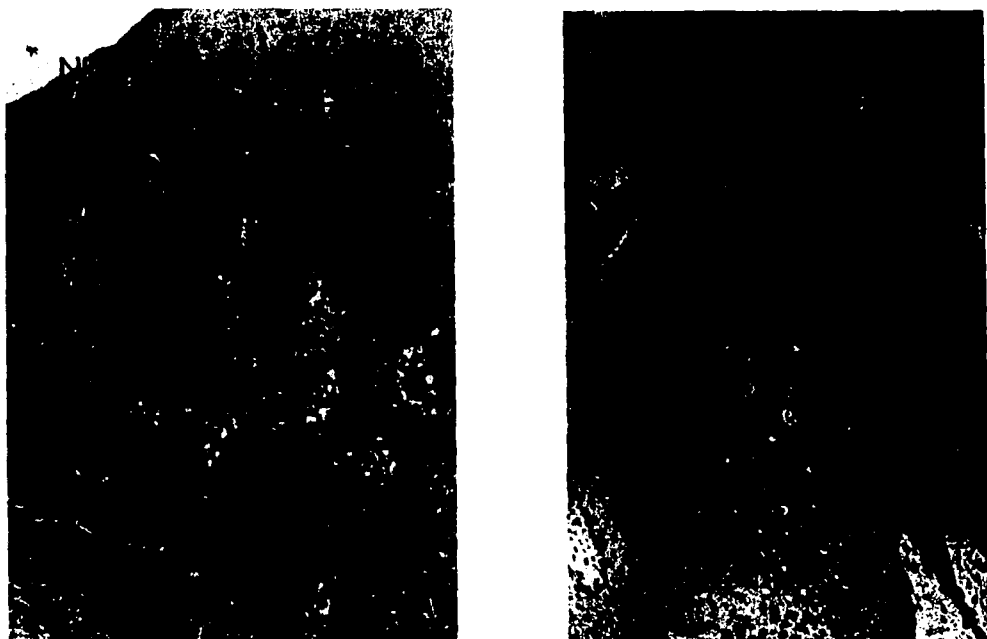


Figura 8. A) y B), Hiperparaqueratosis.

En la **figura 8 A) y B)** corresponden a hiperparaqueratosis la **a)** teñida con H&E y la **B)** con Cks donde la inmunoexpresión fue en su mayor parte leve pero en unas zonas cercanas al estrato basal la expresión fue severa



Figura 9. A) Displasia moderada.

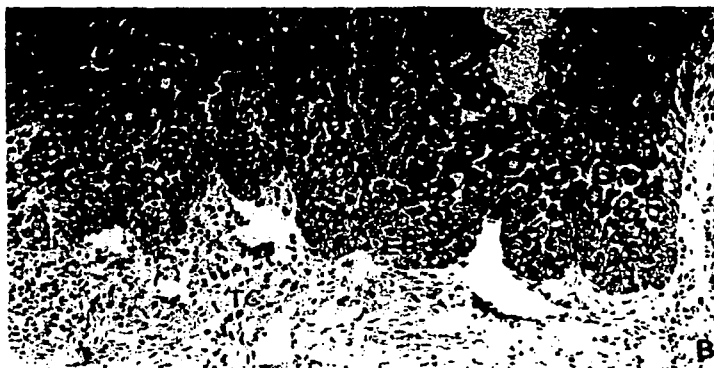


Figura 9. B), Displasia moderada.

En la **figura 9 A) y B)** corresponden a uno de los casos diagnosticados como *displasia moderada* en donde con la tinción de H&E podemos observar: *Pleomorfismo celular*, células con mas de 2 nucleolos, *pérdida de la estratificación* y *mitosis*, en la **figura B)** observamos que el patrón de Cks varió en cuanto a su distribución; en el estrato basal y suprabasal la expresión fue leve y en el espinoso esta fue severa sin embargo, las células *displásicas* conservan aunque leve el patrón de invasión.

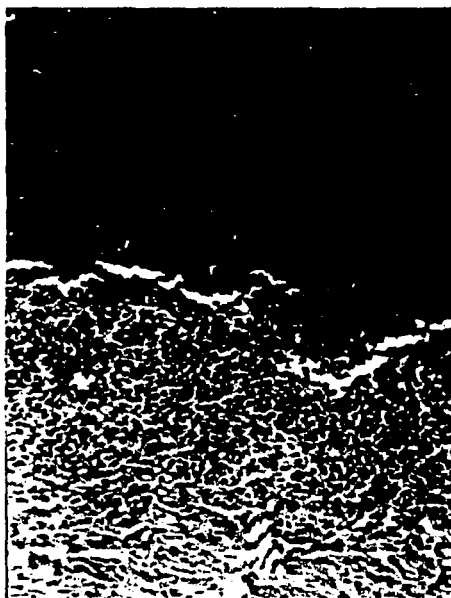


Figura 10. A) y B), Líquen plano.

En la **figura 10 A) y B)** se muestra un caso de líquen plano donde el epitelio fue hiperparaqueratinizado y podemos observar que existió pérdida de la interfase epitelio-tejido conectivo y un infiltrado inflamatorio crónico linfocitario en la **B)** La expresión de Cks fue moderada en el estrato basal y espinoso y en las zonas de hiperparaqueratina este fue leve.

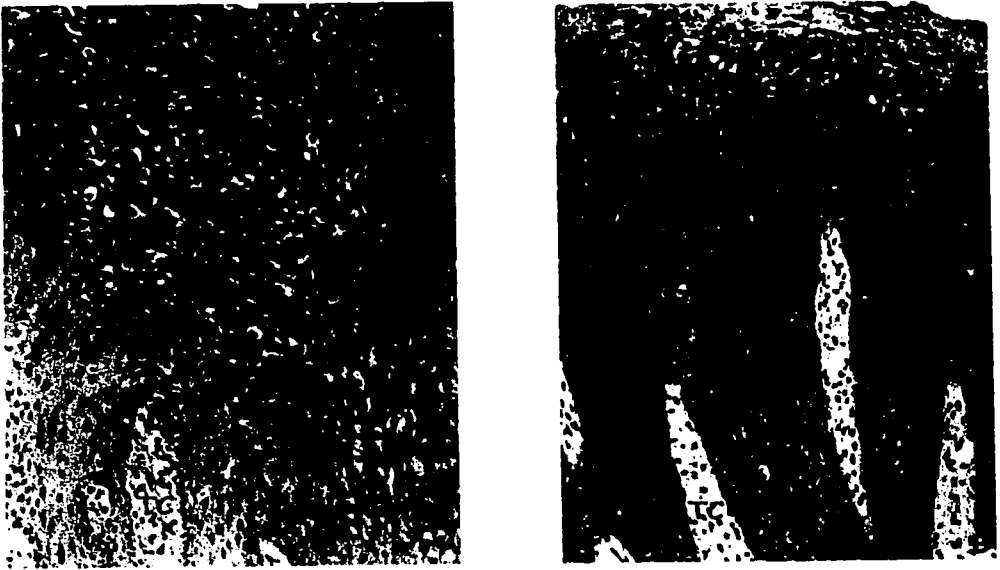


Figura 11. A) y B), Lesión viral.

En la figura 11 A) y B) se presenta un caso diagnosticado como lesión viral en donde con la tinción H&E podemos observar el epitelio escamoso estratificado no queratinizado y presenta hiperplasia basilar, acantosis severa, edema intracelular y mitosis en la figura B) nos muestra una inmunoexpresión severa con áreas de expresión leve entremezcladas.

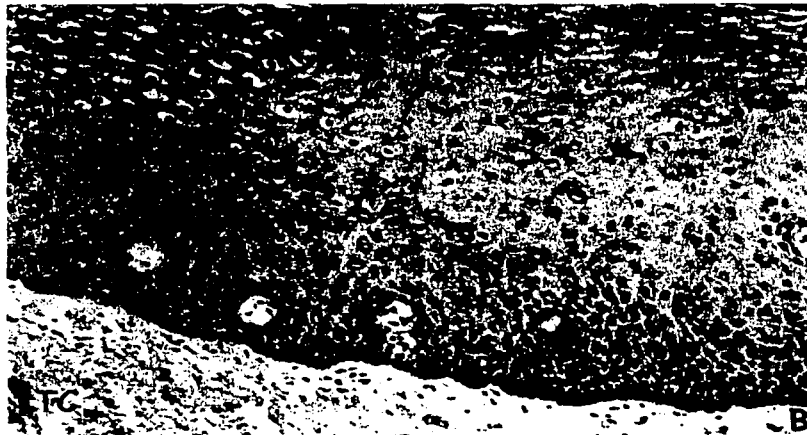
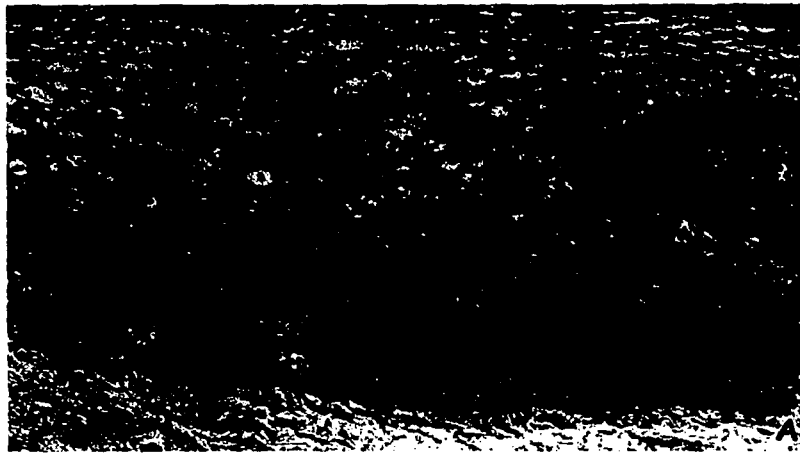


Figura 12. A) y B), Leucoedema.

En la **figura 12 A) y B)** se muestra un caso diagnosticado como leucoedema en donde con la tinción H&E observamos el epitelio escamoso estratificado no queratinizado, edema intracelular acentuado y el infiltrado inflamatorio es leve y en la **B)** observamos que en el estrato basal y espinoso presenta inmunoexpresión moderada, y en la capa basal la expresión con Cks es severa.

DISCUSION

Se ha establecido que el empleo de las citoqueratinas como marcadores requiere de la identificación de la distribución y la localización en el tejido ^{4,9,10-12,26-28}. Chaiyarit y cols.²³ realizaron un estudio en el cual 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 ortoqueratóticas. A diferencia del estudio antes mencionado, en este trabajo se realizó un coctel de 20 citoqueratinas y únicamente utilizamos epitelio con alteraciones, mostrando una expresión constante en la mayoría de los casos observados.

Bloor y cols. ³⁰, detectaron una expresión uniforme de CK4 y CK13 en el estrato espinoso de las lesiones paraqueratóticas 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. En nuestro estudio se observó una expresión homogénea en casi todos los casos, a excepción de las zonas displásicas, en donde variaba de homogénea a discreta, ya que entre más displásico sea el tejido menor expresión de citoqueratinas se obtendrá.

La importancia de conocer los cambios que se presentan en tejido que sufre transformación maligna, aunque no exista un patrón específico de citoqueratinas en la cavidad bucal, radica en la posibilidad de obtener un diagnóstico temprano de cáncer ^{10,26}; de hecho, los cambios en la inmunoexpresión, ya sea a nivel de transcripción como a nivel proteínico, puede proporcionar información específica sobre la diferenciación de las citoqueratinas en lesiones no displásicas, como las queratosis bucales,

asociadas a un patrón alterado de diferenciación, de un epitelio no queratinizado a uno para u ortoqueratinizado ³⁰. Este estudio fue realizado en lesiones benignas que incluyen: epitelio para u ortoqueratinizado, liquen plano, leucoedema y displasia. Aunque no es posible distinguir cual de las 20 CKs empleadas expresó en cada uno de los tejidos observados, ya que como se menciona anteriormente no hay CK específicas en la cavidad bucal, podemos distinguir las alteraciones en el grado de cornificación que presenta cada una de ellas, en base al tipo de expresión.

Las lesiones de la mucosa bucal, ya sean benignas o displásicas, frecuentemente se caracterizan por un aumento o disminución del grado de cronificación. Se sabe que las citoqueratinas expresadas por las células epiteliales reflejan el estado de diferenciación celular. En diferentes 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 epiteliales con alteraciones preneoplásicas o neoplásicas, ya que se ha especulado que los cambios en la expresión de citoqueratinas pueden aparecer antes de las alteraciones histológicas ^{25,29}. En este estudio me fue posible observar el cambio de expresión que se da en una lesión con alteraciones displásicas, señalando esa zona con menor expresión.

CONCLUSIONES

Las citoqueratinas son un marcador en epitelio, ya que demostró en nuestro estudio una expresión satisfactoria en la mayoría de los casos. En nuestro estudio realizado con un coctel de 20 citoqueratinas en 30 casos de distintas lesiones obtuvimos con nuestros resultados que en la mayoría la inmunoexpresión fue moderada.

En las hiperortoqueratosis la expresión con CKs se presentó moderada en el 80% y leve el 20% de los casos.

En las hiperparaqueratosis la expresión con Cks fue moderada en el 80% y severa el 20% de los casos.

En las displasias la expresión con Cks se presentó leve, ya que entre más displásico se encuentre el tejido menor será la tinción.

En el liquen plano la expresión fue moderada.

En el leucoedema como en la lesión viral la expresión se presentó moderada.

Consideramos de acuerdo a los resultados que en el epitelio no es necesario usar una citoqueratina individualizada ya que con un coctel obtuvimos buenos resultados además de que el costo se redujo.

BIBLIOGRAFIA

1. Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. Histología Texto y Atlas color. Ed. Médica Panamericana, 1997, 3ra Edición. P.p 18-20, 37-44.
2. Ville C, Martín WD, Berg RL, Solomon PE. Biología de Ville. 3º ed. Ed, Interamericana Mc Graw-Hill. 1996. P.p. 69-128.
3. Gartner LP, Hiatt JL. Histología. Texto y Atlas. Ed. McGraw-Hill Interamericana. 1997. P.p.10-77
4. Citosol y citoesqueleto. File:///A:\PROTO2.htm
5. Geneser F. Histología. Sobre Bases Biomoleculares. 3º ed. Ed. Médica Panamericana. 1999. P.p. 90-175.
6. 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.
7. Curtis H, Sue B.N. Biología. Sexta edición. Ed. Panamericana. 2000. P.p. 99-172.
8. Moffet D, Moffet S, Shauf C. Human Physiology. 2º ed. Ed. Foundations & Frontiers. 1993.
9. 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.
10. Peinado HMA, Pedroza RJA, Marínez MM, Aranda HF, Ríos GA. Biología Celular. Editoriales Gráficas La Paz. 1994.
11. García R. Laboratorio de Anatomía Patológica. Ed. Interamericana- McGraw-Hill. México 1993. pp 18-20, 37-44.

12. 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.
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. 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.
15. 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.
16. 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.
17. Chaiyapit 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.

21. 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
22. Anderson JM, Heidl LM, Bauman PA, Ludi CW, Dalton WS and Cress AE.: 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.
23. 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.
24. Bloor BK, Seddon SV, Morgan PR. Gene expression of differentiation-specific keratins (K4, K13, K1 and K10) in oral non-dysplastic keratoses and lichen planus. *Journal of Oral Pathology Medicine* 2000; 29: 376-84.
25. Muro- Cacho. The Role of inmunohistochemistry in the indifferential diagnosis of soft tissue tumors. *Cancer Control Journal*. 2000; (5) No.1.
26. 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.
27. 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.
28. Ten Cate. *Histología Oral*. 2ª ed. Ed. Médica Panamericana. 1986
29. Regezi JA, Sciubba JJ. *Patología Bucal*. 3ª ed. Ed. Interamericana McGraw-Hill. 2000.P.p:86-100,104-109.

30. Spouge JD. Patología Bucal. Ed. Mundi.
31. Gorlin JR, Goldman HM. Patología Oral. Salvat Editores.
32. Scully C. Handbook of Oral Diseases. Diagnosis and Management. Ed. Martin Dunitz. 1999. New York, NY, USA.
33. Cawson RA, Everson JW. Oral Pathology and Diagnosis. Color Atlas with Integrated Text. Saunders Company 1987. P.p. 126
34. Shafer GW, Hine KM, Levy MB. Tratado de patología bucal. 3ª ed. Ed. Interamericana. 1984. P.p. 93-95.
35. Sapp PJ, Eversole RL, Wysock PG. Patología Oral y Maxilofacial Contemporánea. 1ª ed. Editorial Harcourt Brace. 1998. P.p. 166.
36. González MMA. Precáncer y cáncer oral. 1ª Edición. Ed. Ediciones Avances. 2001. P.p.
37. Henry JB. Diagnóstico y tratamientos clínicos por el laboratorio. 9ª ed. Ed. Masson. 1993. Barcelona, España. P.p 302-303.
38. Torresini RJS, Prölla JC, Schenini ARD, Kraemer ME, Jobim LF. Combined Carcinoembryonic antigen and cytopathologic examination in ascites. Acta Cytologica 2000; 44: 778-782.
39. Horwich A. Oncology: a multidisciplinary textbook. Ed. Chapman & Hall Medical. 1995. p.p. 48-52.
40. Screm M.C, Grandis S, Cartei G, Cattaruzzi E. Detection of five circulating antigens in patients with head and neck squamous cell carcinoma. International Journal Biologic Markers 1989; 4: 35-9.
41. González BM, Ordóñez A, García PML, Feliu J, Zamora P. Oncología clínica: fundamentos y patología general. Ed. Interamericana Mc Graw-Hill. 1992. P.p. 124-125.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

42. Murphy GP, Lawrence W, Lenhard RE. Oncología clínica: Manual de la American Cancer Society. 2ª Edición. Ed. American Cancer Society. 1996.P.p.105-107.

43. Van der Liden EPH, van Kroonenburgh MJ, Pauwels EK. Side-effects of monoclonal antibody infusions for the diagnosis and treatment of cancer. International Journal of Biologic Markers 1988; 3: 147-153.

44. Devita VT. Cáncer: Principios y práctica de oncología. 2ª Edición. Ed. Salvat Editores, S.A. 1988.

45. Overgaard J, Yilmaz M, Guldberg P, Hensen LL, Alsner J. TP53 Mutation is an independent prognostic marker for poor outcome in both node negative and node positive breast cancer. Acta Oncológica 2000 Vol. 3. No. 3: 327-333.