



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

INMUNOEXPRESION DE CD34 EN QUERATOSIS Y CARCINOMA EPIDERMIOIDE

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A :

MARIANA GARDUÑO AVILA

TUTORA: DRA. ROSA ELBA LEYVA HUERTA

UPEO
[Signature]



MEXICO, D.F.

2002

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

MAMA: Gracias por tu ejemplo de dedicación y fortaleza. Te dedico la totalidad de este trabajo y todo lo bueno que un futuro pueda lograr. **TE AMO.**

PAPA: Gracias por siempre confiar en mi y porque siempre me enseñaste a mirar hacia delante. **TE AMO.**

HERMANOS (Amalia, Bere y Dany): Gracias por formar parte de mi mundo y siempre estar cuando los necesito. Los quiero mucho.

ETHAN (Mi consentido): Gracias por alegrar mis días y por ser una de las motivaciones más grandes para lograr esto.

JULY (Mi nena): Gracias por ser y estar.

FAM. BERNAL AVILA: Gracias por haber demostrado interés durante mi carrera y por su apoyo.

VAQUERAS (Cinthy, Veroca, Chabela y Eli): Gracias por ser mis amigas, las mejores. Las quiero mucho.

FAM. COBOS ORTEGA: Gracias por su hospitalidad, cariño y amistad que me brindaron desde que los conocí.

GERARD: Gracias 1000 por tus enseñanzas y consejos. Te quiero 1000.

FAM. CENTENO PLAZOLA: Gracias por ser mi familia adoptiva y la confianza que siempre me han dado. Los quiero mucho.

GILITO: Gracias por tus porras y por ayudarme a definir mi futuro odontológico.

FAM. MENDOZA ACOSTA: Gracias por tantos años de amistad y cariño.

AGRADECIMIENTOS

MAMA: Gracias por tu ejemplo de dedicación y fortaleza. Te dedico la totalidad de este trabajo y todo lo bueno que un futuro pueda lograr. **TE AMO.**

PAPA: Gracias por siempre confiar en mi y porque siempre me enseñaste a mirar hacia delante. **TE AMO.**

HERMANOS (Amalia, Bere y Dany): Gracias por formar parte de mi mundo y siempre estar cuando los necesito. Los quiero mucho.

ETHAN (Mi consentido): Gracias por alegrar mis días y por ser una de las motivaciones más grandes para lograr esto.

JULY (Mi nena): Gracias por ser y estar.

FAM. BERNAL AVILA: Gracias por haber demostrado interés durante mi carrera y por su apoyo.

VAQUERAS (Cinthya, Veroca, Chabela y Eli): Gracias por ser mis amigas, las mejores. Las quiero mucho.

FAM. COBOS ORTEGA: Gracias por su hospitalidad, cariño y amistad que me brindaron desde que los conocí.

GERARD: Gracias 1000 por tus enseñanzas y consejos. Te quiero 1000.

FAM. CENTENO PLAZOLA: Gracias por ser mi familia adoptiva y la confianza que siempre me han dado. Los quiero mucho.

GILITO: Gracias por tus porras y por ayudarme a definir mi futuro odontológico.

FAM. MENDOZA ACOSTA: Gracias por tantos años de amistad y cariño.

ARMANDO: Gracias por la confianza que me has brindado, así como por tus enseñanzas y consejos.

GRISSELL Y PAO: Gracias por ser mis cómplices en la clínica y haber estado a mi lado.

DRA. ELBA: Gracias por apoyarme para realizar mi tesis y por hacer a un lado su aracnofobia.

DR. RENE ARAU: Agradezco su cariño, confianza y apoyo durante mi estancia en la clínica.

QFB. CELEDONIO: Gracias por su paciencia y hospitalidad durante la elaboración de las laminillas.

TEO: Gracias tu ayuda para la elaboración de mi tesis.

PROFESORES: Agradezco a todos mis profesores por haber participado durante mi formación.

PACIENTES: Gracias por haber confiado en mi y contribuir con mi aprendizaje y formación.

DIOS: Gracias por darme salud y la oportunidad de conocer a las personas antes mencionadas.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
ANTECEDENTES	4
División celular	4
Ciclo celular	5
Proliferación y diferenciación celular	8
Carcinogénesis	9
Angiogénesis	11
Mucosa bucal	17
Queratosis friccional	24
Cáncer bucal	25
Carcinoma epidermoide	27
- Criterios de Jakobson	34
Metástasis	38
Marcadores tumorales	44
CD-34	46
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	50
JUSTIFICACION	50
HIPOTESIS	51
De investigación	51
Nula	51
Alternativa	51
OBJETIVOS	51
General	51
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	54
RESULTADOS	56
Fotomicrografías	59
Análisis estadístico	63
DISCUSION	64
CONCLUSIONES	66
BIBLIOGRAFIA	67

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo celular	6
Figura 2. Proceso angiogénico	12
Figura 3. Displasia	25
Figura 4. Carcinoma in situ	26
Figura 5. Carcinoma invasor	26
Figura 6. Invasión a vasos sanguíneos	39
Figura 7. Adhesión del émbolo tumoral a la pared vascular	40
Figura 8. Metástasis	40
Figura 9. Paraqueratosis	59
Figura 10. Displasia leve localizada	60
Figura 11. Carcinoma epidermoide de bajo grado de malignidad	61
Figura 12. Carcinoma epidermoide de grado intermedio de malignidad	61
Figura 13. Carcinoma epidermoide de alto grado de malignidad	62

INDICE DE GRAFICAS Y TABLAS

Gráfica 1. Tipo de expresión de CD-34	56
Gráfica 2. Gradificación histológica en relación con la expresión de CD-34	57
Gráfica 3. Promedios de células y vasos contados al microscopio	58
Tabla 1. Distribución de la estructura vascular con respecto al sitio de la lesión	57
Tabla 2. Promedios de valores obtenidos en cada caso	58

RESUMEN

Las células neoplásicas malignas son capaces de inducir una respuesta angiogénica para estimular la neovascularización, necesaria para el crecimiento y diseminación de una neoplasia. La angiogénesis tumoral puede ser cuantificada por medio del conteo de vasos por campo en microscopio de luz después de teñir con anticuerpos para antígenos endoteliales. En el presente estudio se utilizó el anticuerpo CD-34, que es una glucoproteína transmembrana que se expresa en células endoteliales y hematopoyéticas. El objetivo fue determinar la inmunexpresión de CD-34 como marcador angiogénico en el carcinoma epidermoide y correlacionarlo con su grado de malignidad. Se seleccionaron 12 casos diagnosticados como carcinoma epidermoide y 12 como hiperqueratosis, para utilizarlos como control, del archivo del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la División de Estudios de Postgrado de la Facultad de Odontología de la UNAM. Se realizó la técnica inmunohistoquímica para CD-34 en todas las laminillas y se observaron en microscopio óptico.

La inmunexpresión en los casos de hiperqueratosis fue leve en 4 casos (33.3%), moderada en 2 casos (16.6%) y severa en 6 casos (50%); en los casos de carcinoma epidermoide, la inmunexpresión fue moderada en 8 casos (66.6%), de los cuales 1 (12.5%) fue de bajo grado de malignidad, 4 (50%) de grado intermedio y 3 (37.5%) de alto grado de malignidad; en cuanto a los 4 casos (33.3%) restantes que mostraron inmunexpresión severa, 2 (50%) fueron de bajo grado de malignidad, 1 (25%) de grado intermedio y 1 (25%) de alto grado de malignidad.

Debido a que en todos los casos existió inmunexpresión de CD-34, se deduce que este anticuerpo puede ser utilizado como marcador angiogénico; sin embargo, al presentarse neovascularización en las dos lesiones estudiadas, independientemente de su comportamiento biológico y grado de malignidad, no se puede establecer una correlación directa con el tipo de inmunexpresión del anticuerpo.

INTRODUCCION

La angiogénesis es un proceso biológico en el que se originan nuevos vasos sanguíneos de pequeño calibre por gemación o brote de vasos ya existentes¹³. Su función es proporcionar nutrientes y oxígeno a las células, al mismo tiempo que les permite eliminar sus desechos metabólicos. Se presenta durante el desarrollo embrionario, inflamación, cicatrización, embarazo y en respuesta a la ovulación^{13,24,26-28}.

Este proceso se lleva a cabo cuando una célula que carece de oxígeno libera moléculas angiogénicas, que atraen células inflamatorias; durante su migración, también secretan moléculas que intensifican el estímulo. A su vez, las células endoteliales secretan proteasas para degradar la pared del vaso y poder migrar hacia el sitio del estímulo. Los fragmentos proteicos del vaso intensifican la actividad proliferativa y migratoria de las células endoteliales, que después formarán un capilar. Finalmente, por anastomosis, los capilares que emanan de las arteriolas y vénulas se unen para proporcionar un flujo sanguíneo continuo^{13,16,24,28,29}.

La angiogénesis se encuentra regulada por el balance entre sustancias inductoras e inhibitoras^{13,16,17,24,30,31}; sin embargo, también puede ser iniciada por las células neoplásicas, ya que cuando un tumor crece más de 2 mm de diámetro, se presenta hipoxia celular por la dificultad en la difusión de nutrientes y oxígeno, provocando que las células neoplásicas liberen moléculas inductoras, que marcarán la transición del estado de multiplicación celular a proliferación incontrolada. Adicionalmente, el tejido conectivo que rodea los vasos sanguíneos libera factores que estimulan el crecimiento y movilidad de las células neoplásicas, ya que ahora poseen un conducto para escapar e invadir otros tejidos, provocando metástasis^{5,13,16,17,24,25,29,31,37}.

De esta manera, el grado de vascularidad puede proporcionar información pronóstica ya que las metástasis son más probables si existen vasos sanguíneos para invadir; aparte, es probable que las metástasis de las neoplasias altamente angiogénicas tengan mayor capacidad de atraer vasos sanguíneos a su destino tisular^{13,22-25,32,35}.

Las neoplasias malignas de cabeza y cuello son capaces de inducir una respuesta angiogénica en modelos experimentales. En los especímenes de cáncer, la angiogénesis tumoral puede ser cuantificada por medio del conteo de vasos por campo en microscopio después de teñir con anticuerpos para antígenos endoteliales, que incluyen a FVIIIAg y CD-

31^{32,34,36}. En este estudio se utilizó CD-34, que ha sido asociado con el microproceso endotelial que se presenta en las puntas de los brotes vasculares^{28,49}. Se cree que su inmunoexpresión se debe a que es producido por las células endoteliales, es por eso que CD-34 se asocia a la angiogénesis^{28,48}.

DIVISION CELULAR

La mayoría de los tejidos se encuentran en un constante proceso de renovación gracias a la continua división mitótica y muerte celular. La velocidad de renovación celular varía de unos tejidos a otros; puede ser rápida, como en el caso del epitelio intestinal, las células de la sangre y la epidermis; o lenta, como en el caso del páncreas y de la glándula tiroides¹.

La división celular puede observarse al microscopio óptico en el proceso denominado mitosis, durante el cual, la célula madre se divide en dos, recibiendo cada célula hija un juego cromosómico igual al de la célula madre. Este proceso consiste esencialmente en la duplicación de los cromosomas y su distribución a las células hijas^{1,2} y se lleva a cabo en las células somáticas para incrementar la población celular de tejidos en crecimiento y reemplazar a las células perdidas de manera fisiológica o por lesión^{2,3}.

Convencionalmente, la fase celular durante la cual no hay mitosis, se denomina interfase y representa el 95% del ciclo de vida de una célula^{1,4}. Durante ésta, el núcleo es la estructura que se observa en las preparaciones microscópicas^{1,2}.

La mitosis es un proceso continuo que por motivos didácticos se subdivide en fases. La profase se caracteriza por la condensación gradual de la cromatina, que termina formando una serie de bastoncillos que se tiñen intensamente, denominados cromosomas. En esta fase, la membrana nuclear permanece íntegra y los cromosomas se disponen dentro del núcleo como si fuesen un ovillo de hilo grueso. Los centriolos, que se duplicaron en la interfase, se separan emigrando uno a cada polo celular. Comienza a aparecer un agregado de microtúbulos que une los dos pares de centriolos, iniciándose la formación del huso mitótico. En la metafase desaparecen la membrana nuclear y el nucléolo. Los cromosomas se disponen en una placa en la zona correspondiente al ecuador de la célula. Cada cromosoma se divide longitudinalmente en dos cromátides que se unen a los microtúbulos del haz mitótico por una región especial, el centrómero. En la anafase, los cromosomas hijos se separan, desplazándose cada uno a los centriolos, siguiendo la dirección de los túbulos del haz. En este desplazamiento, los centrómeros siguen por delante y son acompañados por el resto del cromosoma. La telofase se caracteriza por la reconstrucción de los núcleos de las células hijas. Los cromosomas están menos condensados, reaparecen los nucléolos, la cromatina y la cubierta nuclear, y desaparecen los microtúbulos del haz mitótico. Al mismo tiempo que se observan estas alteraciones nucleares, aparece una constricción a nivel de la

zona ecuatorial de la célula madre, que va progresando y termina por dividir el citoplasma con sus organelos en dos partes iguales. Termina así la mitosis, con formación de dos células hijas. Hay acumulación de microfilamentos por debajo de la membrana celular, en la región de la constricción mitótica¹⁻⁴.

Inmediatamente después de que se han formado dos células hijas, entran en un periodo inicial de crecimiento acelerado, que consiste en una formación rápida de ARN, síntesis de proteínas extensa y acumulación de cantidades aumentadas de nucleoplasma y citoplasma. Este periodo dura del 20 al 40% de vida total de la célula⁴.

La frecuencia con que ocurren las mitosis es mucho más alta durante el crecimiento y desarrollo que en la madurez².

CICLO CELULAR

El ciclo de vida de una célula es el periodo de tiempo transcurrido de una reproducción a otra reproducción^{3,4}. Aunque la mitosis sea una manifestación visible de la división celular, existen otros procesos que no son fácilmente evidenciables al microscopio y que desempeñan un papel fundamental en la multiplicación celular, como la duplicación del ADN que tiene lugar en la interfase¹.

Este proceso fue bien estudiado después de la introducción de precursores radioactivos y de la utilización de métodos bioquímicos y autorradiográficos. Entonces, se comprobó que la replicación del ADN tiene lugar en la interfase, momento durante el cual no se observan fenómenos visibles de la división celular. Esa alternancia de mitosis e interfase tiene lugar en todos los tejidos cuyas células son renovadas y recibe el nombre de ciclo celular¹. El estudio pormenorizado del ciclo celular muestra que está dividido en dos etapas principales: la mitosis, que se subdivide en las cuatro fases ya descritas, y la interfase^{1,3,4}. A su vez, ésta se subdivide en cuatro subfases llamadas G_0 , G_1 , S y G_2 ^{2,3,5}.

El ciclo de eventos que conllevan a la división celular se encuentra bajo un estricto control^{1,5,6}. Cuando las células están en reposo se dice que se encuentran en la fase Gap_0 (G_0). Durante este periodo, las células no se pueden dividir, pero pueden diferenciarse madurando y llevando a cabo las funciones de las células maduras. Cuando las células reciben señales externas para dividirse, entran al ciclo en la fase Gap_1 (G_1). Durante G_1 , las

células sintetizan componentes celulares, tales como ARN y proteínas, preparándose para la división. Después de cierto tiempo, las células entran a la fase de Síntesis (S), en la cual se duplica el ADN de la célula. Durante la siguiente fase, Gap₂ (G₂), la célula continúa sintetizando ARN y proteínas. Finalmente, la célula sufre Mitosis (M), durante la cual, cada célula hija recibe un conjunto completo de genes, con los que además de otros constituyentes, debe madurar y realizar sus funciones^{1-3,5}. La figura 1 muestra los pasos secuenciales del ciclo celular.

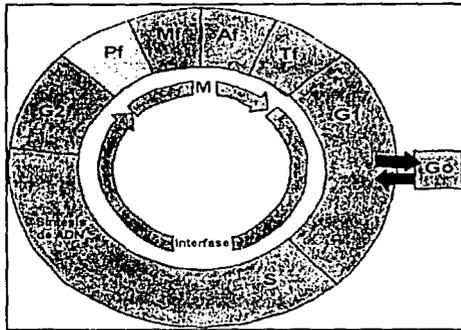


Figura 1. Ciclo celular.

M: Mitosis

Pf: Profase

Mf: Metafase

Af: Anafase

Tf: Telofase

Cornelis JF. 1998

Para asegurar que la división celular iguale a la apoptosis, la respuesta a las señales de crecimiento se encuentra regulada. Para que el ADN pueda duplicarse exitosamente existen ciertos puntos de revisión en determinadas etapas del ciclo. Si todo se encuentra en orden, la célula continúa con el ciclo. Pero si el ADN está dañado, el ciclo celular se detiene para permitir la reparación del ADN. Si el daño es tan severo que no puede repararse, la célula sale del ciclo y sufre apoptosis. Las mutaciones en cualquiera de los genes reguladores o en los genes que codifican proteínas que corrigen defectos del ADN, alteran el ciclo celular. Estas alteraciones provocan que la célula continúe el ciclo celular con el ADN dañado, lo que dará como resultado alguna anomalía cromosómica. Esto, a su vez, provocará una mayor irregularidad del ciclo celular, de manera que la proliferación sea excesiva y se reduzca la apoptosis, provocando un número excesivo de células^{1,5}.

El organismo posee complejos sistemas para estimular o inhibir la proliferación celular. Se ha demostrado que la proliferación y diferenciación normal de las células están influenciadas por un grupo de genes denominados protooncogenes, ya que codifican las proteínas que controlan la división celular. Esta denominación se debe al hecho de que cuando son activados incorrectamente y fuera del momento oportuno, estos mismos genes dan origen a varios tipos de cáncer, denominándolos de esta forma como oncogenes^{1,3,4,6-10}.

Los defectos de funcionamiento de los protooncogenes pueden ser debidos a la modificación accidental de la secuencia básica del ADN (mutación), al aumento del número de esos genes (amplificación génica) o por alteraciones de su posición cuando pasan en la proximidad de un gen promotor activo. Se ha demostrado también que ciertos virus contienen protooncogenes, probablemente derivados de células, y que pueden introducir esos protooncogenes víricos en el ADN de las células invadidas por ellos. En la génesis del cáncer intervienen otros factores, además de los mencionados, pero se ha demostrado la participación de los protooncogenes en el origen de diversos tipos de cáncer, incluyendo el de la sangre^{1,3,6-8,10,11}. Se piensa que el comportamiento biológico del cáncer se deriva principalmente de alteraciones genéticas en las células tumorales. En consecuencia, es necesario comprender las alteraciones genéticas en las células tumorales para entender las características biológicas de los tumores¹¹.

Se han identificado diversas sustancias proteicas (factores de crecimiento) que estimulan la multiplicación de ciertos tipos celulares como el factor neuronal de crecimiento o factor de crecimiento epitelial. También se han identificado diversos factores que inhiben la multiplicación celular, conocidos con el nombre de chalonas. Estos estimuladores e inhibidores controlan el número de células en los tejidos, manteniendo la organización tisular normal^{1,6,8}.

Ciertas sustancias, radiaciones o infecciones víricas pueden provocar proliferaciones celulares anormales que no obedecen a los mecanismos de control que regulan esos procesos, originando neoplasias^{1,7,8-10,12}. La expresión tumor se utilizó inicialmente para designar cualquier aumento de volumen localizado, independientemente de su causa. Pero en la actualidad, tumor generalmente significa neoplasia, esto es, una masa de tejido originada por la proliferación celular descontrolada. Las neoplasias pueden ser benignas o malignas. Las benignas son de crecimiento lento y permanecen localizadas. Las neoplasias malignas crecen rápidamente y se expanden a otros tejidos y órganos, a veces distantes, produciendo metástasis. Entre los extremos de benignidad y malignidad hay muchas neoplasias con características intermedias. Cáncer es el término generalmente utilizado para designar las neoplasias malignas que son responsables del 20-30% de las muertes y representan un grave problema médico^{1,13}.

La comprensión más completa de la mitosis y del ciclo celular ha sido de enorme utilidad en la quimioterapia para el cáncer, pues se ha hecho posible emplear fármacos en el momento en que las células se encuentran en una etapa particular del ciclo celular³.

PROLIFERACION Y DIFERENCIACION CELULAR

Al igual que las funciones celulares, la vida y muerte celular se encuentran bajo un estricto control genético. Como ya se mencionó, existen genes que codifican proteínas reguladoras, sensibles a las señales de crecimiento del medio ambiente, las cuales manejan a la célula a través de su ciclo de replicación, regulando que no se presenten anomalías celulares o genéticas y haciendo las correcciones necesarias a los genes dañados. Otras proteínas dirigen a las células para salir del ciclo celular, para que entren en un proceso de diferenciación. Mientras tanto, otras proteínas remueven a las células viejas o defectuosas del ciclo de replicación y las programan para morir, proceso conocido como apoptosis. Si cualquiera de estos genes o proteínas tuviera un defecto, el ciclo de división celular sería anormal^{5,6,8,14}.

La diferenciación celular es una característica especial de la división y crecimiento celular y se refiere a los cambios en las propiedades físicas y funcionales de las células conforme proliferan. Esto se lleva a cabo por medio de la represión selectiva de diferentes operones genéticos⁴. Representa el paso final que conduce a la especialización celular¹⁵.

Las células deben disponerse en estructuras específicas y realizar funciones especializadas. Para funcionar de diferentes maneras, las estructuras corporales deben estar constituidas por distintos componentes. Durante el desarrollo temprano, las células comienzan a modificar su estructura y función iniciales. También se hacen diferentes entre sí, al especializarse bioquímica y estructuralmente para realizar tareas específicas. Para lo que cada grupo de células pierde los genes que no necesita y retiene sólo los que requiere¹⁵.

Una célula diferenciada puede ser reconocida por su aspecto y actividades característicos¹⁵. Las células que se han diferenciado mucho después del último suceso mitótico pueden dejar de experimentar mitosis, ya sea de manera permanente o temporal, y vuelven al ciclo celular más adelante³.

CARCINOGENESIS

Los eventos que provocan que una célula sufra transformación maligna toman lugar gradualmente; a veces en periodos que pueden exceder los 10 años. Durante esta larga evolución, las células que sufren transformación maligna acumulan anomalías genéticas, razón por la cual se presentan irregularidades en el crecimiento celular⁵.

El número de células en un tejido normal se encuentra estrictamente regulado por un sistema de revisiones y balances. Las células viejas, que no pueden llevar a cabo su función adecuadamente, o que no sean requeridas por más tiempo, son programadas para sufrir apoptosis. Estas células son reemplazadas por células nuevas derivadas de células precursoras primitivas, también conocidas como células madre, que se dividen y se diferencian en célula madura para realizar una función específica. A su vez, estas células también sufrirán apoptosis, solamente para ser reemplazadas por células nuevas⁵.

La muerte celular es el resultado de un programa genético cuidadosamente controlado. Una vez dadas las señales adecuadas, se activan genes específicos que codifican proteínas para provocar el suicidio de la célula^{5,16,17}.

El crecimiento de la población de células neoplásicas depende de al menos tres factores: 1) el porcentaje de células en ciclo (parámetro estático), 2) la longitud del ciclo celular (parámetro dinámico) y 3) el rango de pérdida celular. Estudios recientes han establecido que la actividad proliferativa se incrementa secuencialmente con la severidad de la displasia en lesiones bucales premalignas, así como con el aumento en el grado histopatológico de los carcinomas invasivos¹⁸.

De esta manera, está claro que el mantener el número adecuado de células en cualquier tejido requiere de un delicado balance entre la producción y la eliminación de células. Cuando se produce un incremento de células por una división ilimitada, o cuando se eliminan muy pocas células por apoptosis, se acumula una sobreproducción de células en el tejido. Esto básicamente describe la situación en el cáncer⁵.

Durante los últimos años, se ha demostrado que la mayoría de las células neoplásicas, presentan uno o varios genes reguladores del crecimiento defectuosos, o simplemente carecen de ellos. Debe remarcarse que cuando todos estos genes funcionan adecuadamente, son cruciales para el mantenimiento de las características de crecimiento

normales de cada tipo celular, que como se dijo anteriormente, sólo promueven el cáncer cuando están alterados o sufren mutación^{4-8,11,18,19}.

Las células que se encuentran en vías de transformación maligna van acumulando cierta cantidad de anomalías genéticas y cromosómicas, las cuales obligan cada vez más a la célula a un crecimiento sin restricción. Al principio, se forman racimos de células idénticas; posteriormente, cada célula se divide con menos restricciones que las células vecinas normales^{5-8,17,19}. Debido a la inestabilidad de las poblaciones celulares neoplásicas, reflejada por la alta incidencia de errores mitóticos y variación en los marcadores genéticos, pueden surgir nuevas variantes en cualquier momento; algunas pueden tener ventajas en crecimiento sobre las formas primitivas de las células tumorales. Esta inestabilidad se hace más evidente conforme la neoplasia evoluciona⁶.

Así mismo, las probabilidades de mutación pueden incrementarse con la exposición prolongada a ciertos factores^{4,13}.

- Radiación ionizante.
- Sustancias químicas.
- Irritantes físicos.
- Tendencia familiar.
- Virus^{4,13}.

El denominador común de todos los factores etiológicos del cáncer bucal, particularmente del carcinoma epidermoide, es su capacidad para alterar de manera permanente el genoma del queratinocito de las mucosas, a través de mutación, amplificación o desactivación de oncogenes y genes supresores de neoplasias^{19,20}. Los productos proteínicos de estos genes son decisivos para controlar el ciclo celular (proliferación, supresión, señalamiento), la supervivencia de las células (apoptosis y antiapoptosis) y la movilidad celular. Se cree que la transformación maligna es la acumulación de muchos fenómenos genéticos continuos, no reparados, en un linaje celular. Los productos de estos genes mutados o modificados confieren ventajas a las células malignas en cuanto a proliferación y motilidad¹⁹.

En casi todos los tipos de cáncer se encuentra una mutación (y en ocasiones disregulación) común del gen p53, el cual detiene en condiciones normales la proliferación de

la célula para permitir la reparación del ADN dañado, de modo que las mutaciones no puedan perpetuarse¹⁹.

Cuando la masa celular alcanza un diámetro de 2 mm aproximadamente, las células emiten señales para reclutar tejido conectivo y células vasculares alrededor del tumor, induciéndolos a formar vasos sanguíneos. Literalmente, la masa celular estimula el crecimiento de su propio suplemento sanguíneo a partir de vasos sanguíneos ya existentes. Este proceso recibe el nombre de angiogénesis^{5,17,21-23}.

ANGIOGENESIS

Casi todos los tejidos desarrollan una estructura vascular que proporciona nutrientes y oxígeno a las células, al mismo tiempo que les permite eliminar desechos metabólicos. Una vez que se ha formado, la estructura vascular es un sistema estable que regenera lentamente²⁴.

La angiogénesis es un proceso biológico, en el que por medio de brotes se forman vasos sanguíneos a partir de capilares ya existentes^{13,24,25}. En condiciones fisiológicas, se presenta principalmente durante el desarrollo embrionario, inflamación, reparación tisular, gestación y en respuesta a la ovulación^{13,24,26-28}.

El proceso de angiogénesis involucra varios pasos secuenciales, y puede resumirse de la siguiente manera (Fig. 2):

- Una célula activada por falta de oxígeno libera moléculas angiogénicas que atraen células inflamatorias y endoteliales, al mismo tiempo que promueven su proliferación.
- Durante su migración, las células inflamatorias también secretan moléculas que intensifican el estímulo angiogénico.
- Las células endoteliales que forman los vasos sanguíneos responden al llamado angiogénico diferenciándose y secretando matriz metaloproteasas, que degradan las paredes del vaso sanguíneo para permitir que migren hacia el sitio del estímulo.
- Los fragmentos proteicos producidos por la digestión de las paredes del vaso intensifican la actividad proliferativa y migratoria de las células endoteliales, que entonces forman un tubo capilar alterando la organización de sus proteínas de adherencia entre membranas.

- Finalmente, por anastomosis, los capilares que emanan de las arteriolas y las vénulas se unen, dando como resultado un flujo sanguíneo continuo^{13,16,24,28,29}.

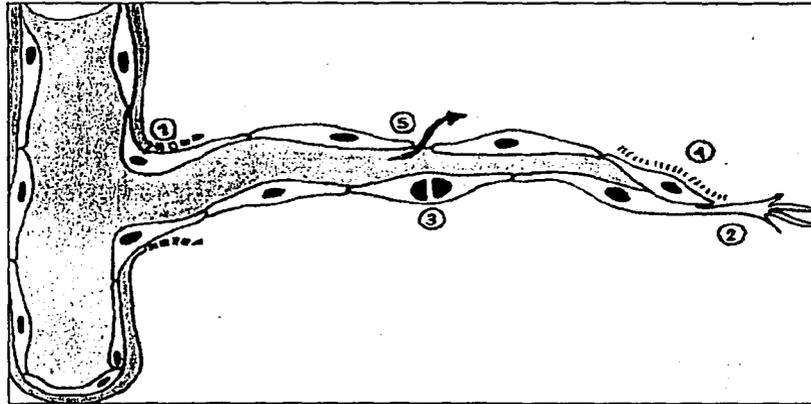


Figura 2. Proceso angiogénico. 1 Proteólisis de la pared vascular. 2 Migración y quimiotaxis. 3 Proliferación. 4 Formación de luces, maduración e inhibición del crecimiento. 5 Aumento de permeabilidad por los resquicios intercelulares y diapédesis. Robbins SL. 1999

La división de las células endoteliales y la regulación normal de la angiogénesis está gobernada por el balance entre moléculas que inducen la formación de vasos sanguíneos y aquellos que inhiben el proceso^{13,24,30,31,16,17,25}. Se trata de una variedad de mitógenos denominados factores angiogénicos³¹. Entre éstos, los mejor caracterizados, son los factores de crecimiento celular endotelial con los dos prototipos del factor de crecimiento de fibroblastos, ácido y básico, unidos a la heparina²¹. A su vez, éstos pueden dividirse en reguladores positivos y negativos, los cuales deben estar en balance^{13,16,17,24,25,30,31}. Los principales factores reguladores positivos son el factor de crecimiento fibroblástico-2 (FGF-2) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Los factores negativos incluyen moléculas inhibitoras, como la angiostatina, trombospondina-1 (TSP-1), el fragmento de prolactina humana 16-kD (16-kD PRL) y el factor de plaquetas-4 (PF-4)^{13,24,26,29,30,31}. Cuando este balance se destruye, generalmente da como resultado una angiogénesis patológica que provoca la formación incrementada de vasos sanguíneos, permitiendo así la transición de multiplicación celular a proliferación incontrolada, característica de las células neoplásicas^{13,16,17,24,30,31}.

Anteriormente se creía que la hiperemia y el incremento de vascularización que solían asociarse a las neoplasias, comúnmente se presentaban por dilatación de los vasos ya existentes en el tejido huésped; que a su vez eran un efecto colateral de los metabolitos y productos necróticos de los tumores. Sin embargo, en 1939 y 1945 aparecen dos reportes que sugieren que la hiperemia tumoral puede ser resultado de la proliferación de nuevos vasos. No obstante, durante las dos décadas siguientes continuó el debate²⁵.

Gracias a los experimentos realizados en los 60's, surgió una nueva visión sobre la función de los vasos sanguíneos en el crecimiento neoplásico, ya que se observó que cuando las células neoplásicas eran inoculadas en órganos con perfusión aislada, había ausencia completa de angiogénesis, asociada a una restricción en el crecimiento neoplásico a pequeñas esferas de 1 mm³ o menos. Esta fue la primera vez que una neoplasia viable crecía como una masa tridimensional en un tejido huésped sin neovascularización. Cuando la pequeña neoplasia fue transferida al ratón en el que se originó, se neovascularizó y creció más de 1000 veces su tamaño inicial. Fue así como en 1971, a partir de estos experimentos, nace la siguiente hipótesis "Una vez que se presenta una neoplasia, cualquier crecimiento de ésta, será precedido por un incremento de nuevos capilares que converjan sobre ella". Los estudios subsecuentes proporcionaron evidencias que soportan dicha hipótesis, principalmente de naturaleza indirecta o correlativa y los experimentos realizados a principios de los 90's han proporcionado evidencias directas²⁵.

Dichos factores pueden ser elaborados por una neoplasia sólida, por las células huésped reclutadas por la misma o por la matriz extracelular^{13,16,26,29,32,33}, de hecho, el nivel de producción de dichos factores está relacionado con el éxito de la implantación y crecimiento de las metástasis³².

Estudios in vivo e in vitro han demostrado que el crecimiento neoplásico depende de la neovascularización. Esto aplica tanto a neoplasias benignas, como malignas y se vuelve crítico después de que ha crecido tridimensionalmente más de 2 mm² ^{13,23,29,31,32,34-36}. El establecimiento de la actividad angiogénica en las células neoplásicas es un evento independiente que puede presentarse en diferentes ocasiones durante la progresión de la neoplasia^{25,32}, ya que aunque las neoplasias de 1-2 mm de diámetro pueden recibir todos los nutrientes por difusión, la angiogénesis contribuye al desarrollo de metástasis facilitando el desprendimiento de las células de la neoplasia primaria^{13,23-25,29,31,34}. Sin embargo, una neoplasia puede escaparse de los requerimientos de neovascularización creciendo como una delgada capa³².

Existen algunas evidencias de que la angiogénesis probablemente inicie porque las células de la masa tumoral, especialmente las que están en el interior, se ven privadas de oxígeno. Una vez que se ha establecido el aporte sanguíneo, la neoplasia puede importar oxígeno y nutrientes que necesita para continuar su crecimiento. De esta forma, ahora las células poseen un conducto a través del cual pueden escapar e invadir otros tejidos^{5,7,24,25,29,37}. No obstante, en las neoplasias de crecimiento rápido, la velocidad de crecimiento supera en ocasiones a la vascularización, lo que se traduce en la aparición de zonas de necrosis isquémica¹³.

Estudios clínicos y experimentales han demostrado una clara correlación entre la angiogénesis de la neoplasia primaria y el incremento del potencial metastásico, así como con el tamaño de la neoplasia y su pronóstico^{16,17,22-24,31,32,34,35,37}; en base a esto, se ha soportado que la vascularización tumoral es resultado de la angiogénesis y ha sido considerada como un factor de agresividad, ya que las neoplasias pueden inducir un factor angiogénico que propicie la neovascularización^{13,22-24,25,32,35}. Aunque no todos las neoplasias angiogénicas producen metástasis³¹, la inhibición de la angiogénesis si evita el crecimiento de las células neoplásicas tanto en el sitio primario, como en el secundario, previniendo así, que se presente la metástasis^{13,16,23-25,31,32,37}.

Está bien establecido que el crecimiento de una neoplasia sólida *in vitro* depende primordialmente de la angiogénesis, y se han aislado y purificado

varios factores de angiogénesis^{5,13,16,21-25,31,34,35}. Se ha demostrado que el crecimiento neoplásico se detiene cuando alcanza un tamaño de 1-2 mm de diámetro, pero reinicia un rápido crecimiento cuando inicia la vascularización. Las células neoplásicas rodean los vasos sanguíneos en una configuración cilíndrica, mostrando una disminución en la síntesis de ADN conforme se incrementa la distancia del capilar^{5,21,22,31,35}.

Aunque suene extraño, el cáncer solo puede desarrollarse si las células malignas se encuentran soportadas adecuadamente por los tejidos huésped^{5,22,31,23}. De hecho, la inducción de la angiogénesis es mediada por varias moléculas angiogénicas liberadas por las células neoplásicas y las células huésped^{13,16,17,24,29,31,32}. Adicionalmente, el tejido conectivo que rodea a los vasos sanguíneos libera factores (al igual que las células vasculares) que estimula el crecimiento y movilidad de las células neoplásicas^{5,22,23,31}; de esta forma, la etapa prevascular de un tumor se asocia a neoplasias benignas locales, mientras que la etapa

vascular se asocia a neoplasias capaces de metastatizar^{16,17,31}, ya que la angiogénesis es necesaria al principio y al final de la cascada metastásica^{25,38}.

El grado de vascularidad de una neoplasia está determinado por el balance entre las moléculas estimuladoras e inhibitoras^{13,16,17,24-26,30,31}. En la mayoría de los tejidos normales, predominan las influencias inhibitoras, y las células derivadas de estos tejidos no estimulan la angiogénesis; a diferencia de las células neoplásicas, que deben atraer nuevos vasos para crecer y poder metastatizar; por lo que son altamente angiogénicas, gracias a la disminución de inhibidores y al incremento de inductores^{17,23}.

Se ha reportado el aislamiento y la caracterización de un factor de angiogénesis producido por un carcinoma de pulmón de Lewis transplantable a ratones singeneicos. El factor angiogénico es un fragmento de 3 Kda de plasminógeno que ha sido llamado angiostatina, la cual tiene una vida promedio larga en la circulación y puede actuar de manera parácrina o endócrina para inhibir la proliferación de células endoteliales^{16,31}.

Cuando se realiza la resección de una neoplasia local, disminuye o se elimina súbitamente la angiostatina circulante, provocando que las células endoteliales alrededor de las pequeñas metástasis puedan proliferar y la masa tumoral pueda expandirse; de esta manera, se ha sugerido que el crecimiento tumoral puede inhibirse indirectamente al inhibir la angiogénesis; de hecho se ha reportado que la administración sistémica de anticuerpos para el FGF, VEGF o angiogenina, disminuyen la densidad de vasos sanguíneos, suprimiendo así el crecimiento de las células neoplásicas^{26,29,31}. Estos descubrimientos tienen trascendencia a largo plazo para la comprensión de la patogénesis de las metástasis y para el diseño de mejores protocolos de tratamiento de las mismas^{13,24-26,29,31,32,35}.

Desgraciadamente, los mecanismos que controlan la angiogénesis en las distintas neoplasias son diversos. Para maximizar la eficacia terapéutica, es necesario determinar el perfil angiogénico de cada neoplasia antes de utilizar agentes antiangiogénicos específicos^{29,31}, ya que el grado de vascularidad parece ser específico^{16,25,35,36}, por lo que existen variaciones entre los distintos sitios de localización de una neoplasia³⁶.

La angiogénesis tumoral puede cuantificarse contando el número de vasos por campo en microscopio de alto poder después de teñir con anticuerpos para antígenos endoteliales formalina resistentes. Esto se ha realizado con antígeno factor VIII (FVIIIAg) y con CD-31^{32,34,36}. CD-31 es una molécula de adhesión celular endotelial en plaquetas de la

superfamilia de IgG. Está involucrada en la interacción célula-célula y en las interacciones célula neoplásica-plaqueta-célula endotelial. CD-31 se expresa ampliamente en células endoteliales y ha demostrado ser un marcador más sensible a la angiogénesis que el FVIIIa^{32,34}. No obstante, FVIIIa se recomienda por su fácil interpretación³⁶.

Se ha establecido que el grado de angiogénesis tumoral representa un útil indicador de metástasis a ganglios linfáticos en cáncer de mama y melanoma^{32,35,36}. Así como en estos tipos de cáncer, es posible que la angiogénesis pueda jugar un papel importante en la predicción de la agresividad en cáncer de cabeza y cuello^{16,23,25,29,32,34,36,37}.

Hasta hoy en día, los resultados han sido inconsistentes con una correlación entre la angiogénesis y las metástasis en cáncer de cabeza y cuello que se demostró en dos estudios; uno de ellos con el uso de FVIIIa y el otro con CD-31^{16,34,36}, el cual, no discrimina entre células endoteliales sanguíneas en tejidos sanos y la neovascularización tumoral, o entre endotelio latente, en proliferación o migración¹⁶; al mismo tiempo que se expresa durante la diferenciación de células mielomonocíticas en ganglios linfáticos³⁵.

Esta falta de correlación sugiere que el cáncer de cabeza y cuello puede ser diferente de otros y puede depender menos de la neovascularización para el crecimiento en etapas tempranas; lo cual puede deberse a la vascularización extrema de la cavidad bucal. Sin embargo, conforme las neoplasias bucales crecen, la capacidad de inducir neovascularización puede ser determinante para el crecimiento de la neoplasia primaria y para el potencial metastásico³⁶.

En otro estudio, Penfold y cols.³² mencionan que Albo y cols. reportaron una correlación entre altas densidades de microvasos y el desarrollo subsecuente de recurrencias tempranas y agresivas en una muestra de 10 pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello.

Es así, como el grado de vascularidad en los tumores ha sido utilizado para tratar de predecir el potencial de malignidad y metástasis de los mismos^{23,29,32,35,37}.

MUCOSA BUCAL

La cavidad bucal, como primera parte del tubo digestivo, desempeña gran variedad de funciones. Es la puerta de entrada y el lugar de masticación de los alimentos, contiene los órganos del sentido del gusto, secreta saliva que lubrica la comida para facilitar su deglución y contiene enzimas que inician la digestión. Se encuentra limitada en todas sus partes por una membrana mucosa³⁹.

El término membrana mucosa se emplea para describir el revestimiento húmedo del tracto intestinal, el pasaje nasal y otras cavidades corporales que se comunican con el exterior. En la cavidad bucal, este revestimiento se llama membrana mucosa bucal o mucosa bucal y está situada anatómicamente entre la piel y la mucosa intestinal, mostrando algunas de las propiedades de cada una de ellas⁴⁰.

La mucosa bucal consta de dos componentes tisulares separados, un epitelio de revestimiento y un tejido conectivo subyacente^{39,40}. Como estos dos tejidos realizan una función común, la mucosa bucal, al igual que la piel y el revestimiento intestinal, deberían ser considerados como un solo órgano. Es más fácil entender la compleja estructura de un tejido o un órgano cuando se conoce su función, lo cual es particularmente cierto en el caso de la mucosa bucal, cuya estructura refleja una variedad de adaptaciones funcionales, que son el resultado de cambios evolutivos. Estas funciones son⁴⁰:

- **Protección:** Como cubierta superficial, la mucosa bucal separa y protege los tejidos profundos y órganos de la región del medio ambiente bucal. Las actividades normales de morder y masticar los alimentos, exponen a los tejidos blandos de la boca a fuerzas mecánicas como la compresión, distensión y desgarró. La mucosa bucal muestra una serie de adaptaciones del epitelio y del tejido conectivo para poder resistir estas agresiones. Por otro lado, normalmente hay una población residente de microorganismos dentro de la cavidad bucal que ocasionarían infecciones si tuvieran acceso a los tejidos. Muchos de estos organismos también producen sustancias que poseen un efecto tóxico sobre los tejidos. El epitelio de la mucosa bucal actúa como principal barrera a estas amenazas⁴⁰.
- **Sensación:** La función sensorial de la mucosa bucal es importante porque proporciona considerable información sobre los estímulos que ocurren en la cavidad bucal, ya que posee receptores que responden a la temperatura, al tacto y al dolor, al igual que

corpúsculos gustativos que no se hallan en ninguna otra parte del organismo. Ciertos receptores de la mucosa bucal responden probablemente al "gusto" del agua y señalan una satisfacción que debe ser cumplida: la sed. La deglución, el vómito y la salivación son también inducidos por receptores de la mucosa bucal⁴⁰.

- Regulación térmica: Probablemente, la mucosa bucal humana juega un papel mínimo en la regulación de la temperatura corporal, dado que no existen especializaciones obvias de los vasos sanguíneos para controlar la transferencia de calor, a diferencia de algunos animales⁴⁰.
- Secreción: La secreción principal asociada con la mucosa bucal es la saliva producida por las glándulas salivales, que contribuye al mantenimiento de una superficie húmeda. Las glándulas salivales principales están situadas lejos de la mucosa y se abren en ella por medio de largos conductos; y las glándulas salivales menores, más numerosas, están asociadas con la mucosa bucal⁴⁰.

La cavidad bucal consta de dos partes, un vestíbulo, limitado por los labios y las mejillas; y la cavidad bucal propiamente dicha, la cual está separada del vestíbulo por los rebordes alveolares, los dientes y encías. El límite superior de la cavidad bucal propiamente dicha está formado por los paladares blando y duro, mientras que el piso de la boca y la base de la lengua forman el límite inferior. El límite posterior lo constituyen los arcos glosopalatinos y las amígdalas^{39,40}.

Aunque la mucosa bucal se continúa con la piel, su aspecto es totalmente diferente. Generalmente, tiene un color más intenso, que es más obvio a nivel de los labios donde el borde rojo, brillante, contrasta con el tono más pálido de la piel. Esta coloración representa los efectos combinados de una serie de factores, como el espesor, el grado de queratinización y la cantidad de pigmento melánico del epitelio, así como la concentración y el estado de dilatación de los pequeños vasos sanguíneos del tejido conectivo subyacente. El color es un indicador de la condición clínica de la mucosa; los tejidos sanos y normales son de color rosa pálido⁴⁰.

Otras características por las cuales la mucosa bucal difiere de la piel son su superficie húmeda y la ausencia de apéndices o anexos. La piel contiene numerosos folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas, mientras que los componentes glandulares de la mucosa bucal están representados principalmente por las glándulas salivales menores. Estas se

concentran en varias regiones de la cavidad bucal donde las aberturas de sus conductos en la superficie de la mucosa son a veces evidentes al examen clínico. Las glándulas sebáceas están presentes en el labio superior y la mucosa bucal y ocasionalmente pueden observarse en la mucosa alveolar y en el dorso de la lengua, como puntos amarillo-pálidos, conocidos como puntos de Fordyce y no representan una condición patológica⁴⁰.

Aunque la superficie de la mucosa bucal tiende a ser más lisa y a tener menos pliegues o arrugas que la piel, posee características topográficas fácilmente visibles en el examen clínico: las diferentes papilas del dorso de la lengua y las rugas palatinas. La encía sana muestra el patrón de un fino puntillado superficial, consistente en pequeñas indentaciones de la mucosa. En muchas personas hay un pequeño surco blanquecino a lo largo de la mucosa bucal en el plano oclusal de los dientes, conocida como línea alba, es una región queratinizada y puede representar el efecto de la abrasión por restauraciones ásperas o el mordisqueo de los carrillos⁴⁰.

Los dos tejidos principales de la mucosa bucal son el epitelio escamoso estratificado, llamado epitelio bucal, y el tejido conectivo subyacente llamado lámina propia, submucosa o corion. La interfase entre estos dos tejidos generalmente es irregular y recibe el nombre de membrana basal^{39,40}, aparece como una línea amorfa de 1 a 2 μm , no visible en un corte teñido con H&E. También se observan proyecciones hacia arriba del tejido conectivo, las cuales se interdigitan con cordones o clavos epiteliales⁴⁰.

Según la localización intraoral específica, el epitelio de la mucosa bucal normal puede ser no queratinizado, ortoqueratinizado o paraqueratinizado. La ortoqueratina es una queratina sin núcleos, mientras que la paraqueratina presenta núcleos residuales retraídos (picnóticos). La queratina actúa como una barrera protectora sobre la mucosa normal⁹.

En el hombre, el epitelio escamoso estratificado está queratinizado solamente en algunas zonas, que son la encía y el paladar duro. El epitelio queratinizado y el no queratinizado no solo difieren por la presencia o ausencia de queratina. En ambos tipos, las células basales forman una sola capa de células cuboideas altas, ancladas a la membrana basal por medio de prolongaciones citoplásmicas cortas. En las siguientes capas, las células son irregularmente poliédricas, más grandes en las zonas no queratinizadas que en las queratinizadas. En el epitelio queratinizado los espacios intercelulares y los puentes intercelulares se notan bien, pero son insignificantes o no existen en las zonas no queratinizadas. El aspecto espinoso de las células aisladas es característico solamente para

las células con puentes intercelulares bien visibles, no obstante, en todas las zonas reciben el mismo nombre³⁹.

Los puentes no tienen continuidad entre las células, ya que están formados por dos prolongaciones de células contiguas y en donde se ponen en contacto, las células se adhieren entre sí por medio de desmosomas, que son estructuras especializadas, ultramicroscópicas que consisten en dos placas situadas sobre las superficies celulares, y que unen a las dos células. Los desmosomas también se encuentran en el epitelio no queratinizado, pero la falta de puentes se debe a la ausencia de espacios intercelulares, lo que permite contactar a las células entre sí en superficies amplias. Sin embargo, aquí la adherencia está proporcionada también por desmosomas irregularmente distribuidos³⁹.

Hacia la superficie, las células poliédricas de la capa de estrato espinoso se aplanan y al mismo tiempo se hacen considerablemente anchas. En el epitelio no queratinizado no se presentan más cambios y en las zonas donde el epitelio es queratinizado, las células del estrato espinoso se aplanan, y migran al estrato granuloso y después hacia la capa queratinizada conforme se desplazan hacia la superficie. Las células del estrato granuloso contienen gránulos de queratohialina que son basófilos y se tiñen en color azul en las preparaciones con H&E. Los núcleos de las células planas son picnóticos. La capa queratinizada se caracteriza por su naturaleza acidófila y por la desaparición de la mayor parte, o de la totalidad de los núcleos. La estructura de los estratos granuloso y queratinizado varía en las diversas regiones de la cavidad bucal³⁹.

La lámina propia es una capa de tejido conectivo denso de espesor variable. Sus papilas, que forman indentaciones en el epitelio, llevan los vasos sanguíneos y los nervios, y algunos de éstos pasan realmente hasta el epitelio. Las papilas de la lámina propia varían considerablemente en longitud y anchura en diferentes zonas. Las prolongaciones epiteliales hacia adentro, entre las papilas, se describen como clavos epiteliales por su aspecto en los cortes histológicos. Sin embargo, en realidad forman una red continua de puentes epiteliales. La disposición de las papilas aumenta la superficie de contacto entre la lámina propia y el epitelio, facilitando el intercambio de material entre los vasos sanguíneos y el epitelio. La presencia de papilas permite hacer la subdivisión de la lámina propia en capa papilar externa y la reticular, más profunda³⁹.

La submucosa está formada por tejido conectivo de espesor y densidad variable y une a la mucosa con las estructuras subyacentes. El tipo de unión es laxo o firme, dependiendo

del carácter de la submucosa. En esta capa se encuentran glándulas, vasos sanguíneos, nervios y tejido adiposo. Las arterias grandes se dividen en ramas más pequeñas, las cuales penetran en la lámina propia, dividiéndose otra vez para formar una red capilar subepitelial en las papilas. Las venas originadas siguen el recorrido de las arterias, y los vasos sanguíneos están acompañados por una rica red de vasos linfáticos. Los nervios sensitivos de la mucosa atraviesan la submucosa y las fibras mielinizadas pierden su vaina de mielina en la mucosa antes de dividirse en sus arborizaciones terminales. En las papilas se encuentran terminaciones nerviosas de diversos tipos: algunas fibras penetran en el epitelio como terminaciones libres, los vasos sanguíneos se acompañan de fibras nerviosas viscerales amielínicas, que inervan sus músculos lisos y otras fibras viscerales inervan a las glándulas³⁹.

Aunque la unión entre el epitelio bucal y la lámina propia es evidente, la que existe entre la mucosa bucal y la submucosa es menos fácil de reconocer. En regiones como los carrillos, los labios y zonas del paladar duro, una capa de tejido adiposo laxo o tejido conectivo glandular, que contiene los vasos sanguíneos principales y los nervios de la mucosa, separa la mucosa bucal del hueso o del músculo subyacente. Esta es la submucosa de la cavidad bucal y su composición determina la flexibilidad de la unión de la mucosa bucal a las estructuras subyacentes. En las encías y zonas del paladar duro, la mucosa bucal está adosada directamente al periostio y al hueso subyacente, sin submucosa de por medio. Esta disposición se llama mucoperiostio y provee de un adosamiento firme e inelástico⁴⁰.

En varias regiones de la cavidad bucal hay nódulos de tejido linfoide consistentes en criptas del epitelio en la lámina propia. Estas zonas están extensamente infiltradas de linfocitos y células plasmáticas, que debido a su capacidad inmunológica, tienen un papel importante para combatir las infecciones de la boca; las acumulaciones más grandes de tejido linfoide se encuentran en la zona posterior de la cavidad bucal, donde forman las amígdalas lingual, palatina y faríngea, llamadas a veces colectivamente anillo peribucal de Waldeyer. También hay pequeños nódulos linfoides en la mucosa del paladar blando, la superficie ventral de la lengua y el piso de la boca⁴⁰.

La mucosa bucal varía considerablemente en cuanto a su firmeza y textura. En los labios y carrillos es blanda y extensible, mientras que la encía y el paladar duro están cubiertos por una capa firme e inmóvil. Estas diferencias tienen importantes implicaciones clínicas cuando se trata de tomar biopsias de la mucosa bucal, ya que al anestesiarse se puede introducir líquido fácilmente dentro de una mucosa de revestimiento que es laxa, pero la

inyección en mucosa masticatoria es difícil y dolorosa. Por otra parte, la mucosa de revestimiento se separa al ser incidida y puede requerir sutura; la mucosa masticatoria no⁴⁰.

La mucosa bucal muestra diferencias estructurales considerables, reconociéndose tres tipos principales de mucosa de acuerdo con la función primaria de zonas específicas y a las influencias mecánicas que actúan sobre ellas: mucosa masticatoria, mucosa de revestimiento y mucosa especializada^{39,40}.

- **Mucosa masticatoria:** La encía y la cubierta del paladar duro tienen en común el espesor y la queratinización, el espesor, densidad y dureza de la lámina propia y, finalmente, su unión inmóvil a las estructuras profundas. En la encía la formación de queratina verdadera u ortoqueratina, está sustituida en la mayoría de los individuos por paraqueratosis. A veces el epitelio no es queratinizado, aunque en la encía debe considerarse como normal. En la estructura de la submucosa, las zonas de encía y del paladar duro difieren considerablemente. No se puede identificar una capa submucosa bien diferenciada en la encía. En su lugar, el tejido conectivo denso e inelástico de la lámina propia se fusiona con el periostio de la apófisis alveolar, o está adherida a la región cervical del diente y a las zonas marginales de la apófisis³⁹.

A diferencia de la encía, la cubierta del paladar duro tiene, a excepción de zonas estrechas, una capa submucosa bien definida. Solamente no existe en la zona periférica, donde el tejido palatino es idéntico al de la encía, y en una zona estrecha a lo largo de la línea media sobre toda la longitud del paladar duro. A pesar de la existencia de una capa submucosa bien definida en los campos laterales anchos del paladar duro, entre el rafé palatino y la encía palatina, la mucosa es inmóvil sobre el periostio del maxilar superior y los huesos palatinos. La adherencia se efectúa por bandas y trabéculas densas de tejido conectivo fibroso que unen a la lámina propia de la mucosa con el periostio. Es así, como el espacio de la submucosa se divide en compartimentos de diversos tamaños comunicados entre sí, llenos de tejido adiposo en la parte anterior y de glándulas en la parte posterior del paladar duro. La presencia de grasa o glándulas en la submucosa actúa como cojín, comparable al que puede encontrarse en el tejido subcutáneo de las palmas y de las plantas³⁹.

- **Mucosa de revestimiento:** Todas las zonas con este tipo de mucosa se caracterizan por un epitelio, relativamente grueso, no queratinizado y una lámina propia delgada. Difieren en la estructura de la submucosa. Donde la mucosa de revestimiento se refleja a partir de

labios móviles, carrillos y lengua hacia el hueso alveolar, la submucosa tiene textura laxa, y en las regiones donde cubre músculos es inmóvil y está fija a la fascia del músculo. En estas regiones la mucosa es también muy elástica. Esas características mantienen la relativa lisura de la mucosa de revestimiento en cualquier fase funcional del músculo y evita la formación de pliegues marcados, que podrían dar lugar a lesiones de los labios o de las mejillas si se atraparan entre los dientes. La mucosa del paladar blando es una transición entre este tipo de mucosa de revestimiento, y el que se encuentra en el surco vestibular y en el surco sublingual del piso de la cavidad bucal, donde la submucosa es laxa y tiene volumen considerable. La mucosa es móvil y está unida a las estructuras profundas, lo que permite el movimiento libre de labios, carrillos y lengua³⁹.

- Mucosa especializada: El cuerpo y base de la lengua difieren ampliamente en la estructura de la mucosa. En la parte anterior o porción papilar de la mucosa lingual se encuentran numerosas papilas filiformes y consisten en un centro de tejido conectivo dotado de papilas secundarias. El epitelio que las cubre es queratinizado y forma, en la punta de las papilas, borlas como pelos sobre las papilas secundarias del tejido conectivo. Entre las papilas filiformes están intercaladas las papilas fungiformes aisladas, que son prominencias redondas y rojizas. Su color se debe a la rica red capilar, visible a través del epitelio relativamente delgado. Contienen escasos corpúsculos gustativos³⁹.

Entre el cuerpo y la base de la lengua, se encuentran las papilas circunvaladas, rodeadas por una pared en número de 8 a 10. Están limitadas por un surco circular profundo, que parece excluirlas de la sustancia de la lengua. Son ligeramente más estrechas en su base. Su superficie libre muestra numerosas papilas secundarias cubiertas por epitelio delgado y liso. Sobre la superficie lateral de las papilas circunvaladas y, ocasionalmente sobre las paredes que las rodean, el epitelio contiene numerosos corpúsculos gustativos. En el foso se abren los conductos de pequeñas glándulas serosas, las glándulas de von Ebner, que sirven para lavar los elementos solubles de comida que estimulan a los corpúsculos gustativos³⁹.

Hacia atrás del agujero ciego, la superficie de la lengua está irregularmente sembrada de folículos linguales, que muestran uno o más nódulos linfoides, a veces con un centro germinativo. La mayor parte de estas prominencias poseen una cripta lingual, limitada por epitelio escamoso. Los conductos de las glándulas mucosas linguales posteriores pequeñas se abren hacia las criptas, y forman la amígdala lingual junto con los folículos linguales. Sobre el borde lateral de las porciones posteriores de la lengua se pueden

observar hendiduras paralelas bien definidas, de longitud variable. Limitan pliegues mucosos delgados estrechos y corresponden a vestigios de las papilas foliáceas grandes, encontradas en muchos mamíferos. Contienen corpúsculos gustativos³⁹.

QUERATOSIS FRICCIONAL

La hiperqueratosis focal es una lesión blanca clasificada a menudo bajo el término clínico general de leucoplasia¹⁹. Se define como una capa del estrato córneo excesivamente engrosada constituida por ortoqueratina (hiperortoqueratosis) o por paraqueratina (paraqueratosis)⁹. Presuntamente, se presenta como una protección por el frotamiento o fricción crónicas sobre una superficie de la mucosa bucal¹⁹, que pueden estar dados por diversos estímulos como un aparato protésico mal ajustado, tabaquismo o consumo de tabaco mascado⁹. Se observa en áreas donde es común el traumatismo, como labios, bordes laterales de la lengua, mucosa bucal a lo largo de la línea de oclusión y bordes edéntulos. La mordedura continua de la cara interna de los labios o las mordeduras sobre un borde alveolar edéntulo¹⁹ inducirán por lo general una queratinización del epitelio no queratinizado y formación adicional de queratina en el epitelio queratinizado^{9,19}.

Microscópicamente, el cambio primario es la hiperqueratosis, generalmente sin cambios displásicos¹⁹. Sin embargo, se denomina con más precisión hiperortoqueratosis o hiperparaqueratosis de acuerdo a su componente principal⁹. En el tejido conectivo subyacente se puede observar infiltrado inflamatorio crónico leve¹⁹.

La naturaleza de esta lesión puede determinarse por medio de una historia clínica e inspección cuidadosamente realizados. Si se sospecha de una causa traumática, en base a datos clínicos, no se requiere de biopsia. No obstante, se le debe solicitar al paciente que interrumpa el hábito causante de la lesión, que se resolverá con el tiempo o al menos reducirá su intensidad, lo cual confirmará el diagnóstico clínico. La resolución de la lesión también permite descubrir cualquier lesión subyacente no relacionada con traumatismo, y cualquier lesión de causa dudosa debe someterse a biopsia¹⁹.

Durante las últimas décadas se ha observado un incremento significativo en la incidencia de cáncer bucal y su mortalidad. Hoy en día, la mitad de los pacientes con cáncer bucal morirán en los primeros dos años después del diagnóstico y se espera que el cáncer bucal se vuelva un problema de salud pública en un futuro cercano. Desgraciadamente, los resultados con la terapia estándar, incluyendo cirugía y/o radiación, han permanecido en un nivel estable por muchos años, aún con el desarrollo de múltiples tratamientos para la enfermedad^{18,19}.

Generalmente, la progresión morfológica de la neoplasia se caracteriza inicialmente por una notoria hiperplasia basal, comúnmente acompañada de una membrana basal irregular. La progresión a displasia leve incluye el patrón anterior, pero con alteraciones como: aumento de la relación núcleo citoplasma, hiperchromatismo nuclear y cromatina nuclear irregular, confinada al estrato basal (aproximadamente un tercio del espesor total del epitelio). La progresión a displasia moderada incrementa estos cambios a la mitad del espesor del epitelio con desorganización de la porción superficial del estrato espinoso (pérdida de la estratificación y polaridad). Ocasionalmente, las células disqueratóticas pueden contener o ser reemplazadas por células más grandes, semejantes a las del estrato espinoso¹⁰ (Fig. 3).

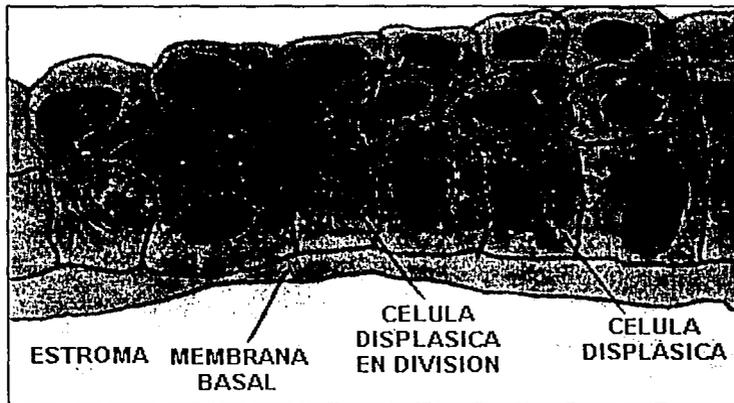
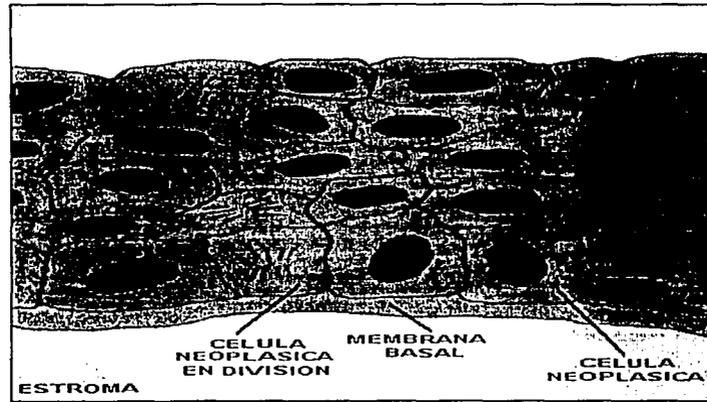


Figura 3. Displasia. Cornelis JF. 1998.

La displasia severa o carcinoma *in situ* representa la invasión del espesor total del epitelio, sin evidencia de maduración; las células disqueratósicas son más frecuentes y el estrato espinoso muestra gran desorganización y es difícil de identificar, aunque la superficie puede mostrar cierta maduración (Fig. 4).



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 4. Carcinoma *in situ*. Cornelis JF. 1998

El carcinoma invasivo se caracteriza por todos los cambios mencionados, pero principalmente por el escape de las células del compartimiento epitelial a través de la membrana basal (Fig. 5). Sin embargo, existe una gran tendencia a darle más importancia a la evidencia citológica de displasia que al grado de invasión epitelial, ya que el carcinoma invasivo puede surgir a partir de lesiones displásicas que involucran menos de la mitad del espesor epitelial¹⁰.

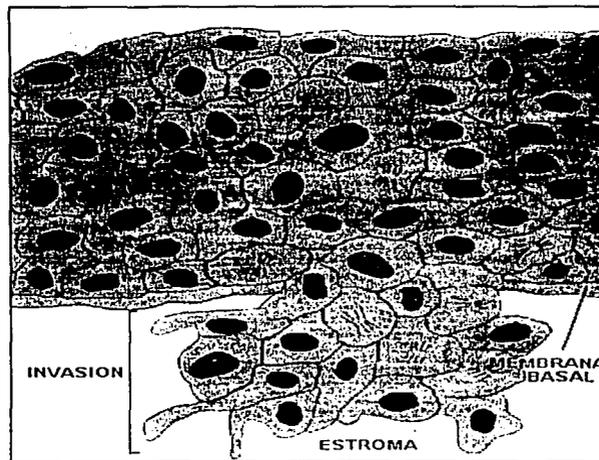


Figura 5. Carcinoma invasor. Cornelis JF. 1998

El cáncer de cabeza y cuello, particularmente el carcinoma epidermoide, representa uno de las neoplasias más frecuentes en el mundo, particularmente en el sur de Asia. Aunque los procedimientos terapéuticos han mejorado, muchos pacientes mueren de cáncer, por lo que es importante conocer las características biológicas de las células neoplásicas para mejorar el tratamiento y pronóstico de los pacientes¹¹. Al mismo tiempo existe la necesidad de desarrollar nuevos auxiliares de diagnóstico que puedan ayudar al clínico a definir el manejo más apropiado para cada paciente en particular, lo que proporcionará un mejor entendimiento del curso de la enfermedad, mejor predicción de la respuesta al tratamiento estándar, una selección más precisa de pacientes que pueden beneficiarse con modalidades de tratamiento experimentales e información más confiable para pacientes y familiares¹⁸.

CARCINOMA EPIDERMOIDE

Neoplasia maligna que se origina en la superficie del epitelio de células escamosas o de diferenciación epidermoide^{9,41,42}. Representa aproximadamente el 3% de todas las neoplasias de cabeza y cuello en hombres y 2% en mujeres^{9,10,19,41} y menos del 1% de todas las neoplasias malignas^{20,41}; aunque en países como la India, puede alcanzar hasta un 40%³³. Se considera el tipo de neoplasia epitelial más común, y afecta más a varones que a mujeres entre la sexta y séptima década de vida^{10,19,16,20,41,42,43}; aunque, la proporción entre hombres y mujeres es ahora de casi 2 a 1^{10,19,43}, esta cifra fue anteriormente de 3 a 1, y el cambio se ha atribuido a un incremento en el hábito de fumar en las mujeres y a las mayores expectativas de vida^{19,43}. Se presenta con más frecuencia en áreas subdesarrolladas como en el sudeste de Asia, Brasil y Puerto Rico⁴². La tendencia en la supervivencia de pacientes con este proceso maligno ha sido más bien desalentadora durante los últimos decenios, ya que solo mejoró ligeramente de 45 a 50%^{9,10,19,28,33}.

Dado que las células basales del epitelio bucal tienen una tasa de actividad mitótica más alta de lo normal, cualquier factor que cause un trastorno de la calidad y cantidad de las proteínas reguladoras de las células puede inducir un crecimiento neoplásico^{9,10}. El desarrollo y progresión del carcinoma epidermoide están controlados al menos por dos factores. El primero es la hiperproliferación, que no se presenta forzosamente, y el segundo, que si es esencial, es la inestabilidad genética, que se caracteriza por un incremento de ADN dañado y la formación de estructuras genómicas anormales¹⁰. Aunque se han implicado muchos factores en su etiología, es probable que se trate de una enfermedad multifactorial, y no se

conoce el papel preciso de cualquier factor o condición individual en el desarrollo de la gran mayoría de tumores^{10,20}. Los factores etiológicos, que actuando en un huésped genéticamente susceptible, pueden provocar esta lesión, incluyen^{9,10,19,20,28,42}.

- **Tabaquismo:** cigarrillos, puros, pipa, consumo de tabaco masticado, así como el hábito de fumar "al revés", o invertido^{9,10,19,20,28,42}.
- **Alcoholismo:** aparentemente, aumenta el riesgo de desarrollar cáncer bucal, considerándolo un promotor de la enfermedad^{9,10,19,20,28,42}.
- **Deficiencias nutricionales:** la deficiencia de hierro que acompaña el síndrome de Plummer-Vinson, suele afectar a mujeres de edad media y consiste en lengua eritematosa y adolorida, atrofia de la mucosa, disfagia y predisposición al carcinoma epidermoide^{9,19,20}.
- **Agentes infecciosos:** dentro de estos, se encuentran la sífilis terciaria, el hongo *Candida Albicans*, que puede producir un carcinógeno (N-nitrosobencilmetilamina) y el papilomavirus humano (HPV) tipos 16 y 18, que actúa a través de proteínas virales que inhiben la proteína p53, acelerando el ciclo celular y comprometiendo los mecanismos de reparación del ADN^{9,10,19,20,42}.
- **Riesgos laborales:** Se ha observado incidencia alta de cáncer bucal entre trabajadores textiles, expuestos a partículas creadas por el proceso inicial de algodón y lana virgen; así como en individuos que tienen contacto con químicos y plásticos^{9,20}.
- **Síndrome de inmunodeficiencia humana adquirida (SIDA):** predispone a personas relativamente jóvenes y en ausencia de los factores mencionados⁹. Un sistema inmunológico comprometido coloca al paciente en riesgo de cáncer bucal, lo cual se ha comprobado en receptores de trasplante de médula ósea, ya que la radiación total del cuerpo y la quimioterapia en las dosis altas que se emplean en la preparación de estos pacientes los pone en riesgo de por vida para procesos malignos sólidos¹⁹.

Por otra parte, la irritación crónica se considera como promotor y no iniciador de cáncer bucal^{10,19}. De la misma manera, se ha sugerido cierta asociación con procesos de inflamación crónica como en la hiperplasia epitelial difusa crónica, la cual se considera un precursor común de neoplasias intraepiteliales; esto se debe a la liberación de factores de crecimiento liberados por linfocitos y macrófagos del infiltrado inflamatorio crónico en el estroma subepitelial¹⁰. No obstante, si el cáncer inicia por otra causa, probablemente estos factores aceleren el proceso. También se considera que la higiene bucal deficiente posee un efecto modificador comparable¹⁹.

La fibrosis bucal submucosa predispone a la mucosa al desarrollo de carcinoma epidermoide y se cree que existe algún indicio de que las formas crónicas de liquen plano bucal también lo hagan. Aunque no son considerados como causas directas, se han implicado varios cofactores, como la irritación crónica causada por dentaduras protésicas mal ajustadas^{9,20}.

El carcinoma epidermoide de la cavidad bucal representa el 4% de todos los tumores malignos que ocurren en cabeza y cuello, y de estos, el 90% corresponde a este tumor^{9,19,20,41,43}. Su incidencia en diversas localizaciones anatómicas es distinta; algunas áreas parecen ser relativamente inmunes, mientras que otras parecen ser especialmente susceptibles al mismo⁹. El orden de frecuencia con que se presenta en cavidad bucal es el siguiente^{9,19,20,41,43}.

- 30-40% en labio: se presenta con mayor frecuencia entre los 50 y 70 años de edad y afecta con mucha mayor frecuencia a hombres que a mujeres.
- 25-40% en lengua: es el proceso maligno intrabucal más común y muestra predilección definida por hombres en los decenios sexto, séptimo y octavo de la vida. Sin embargo, ocasionalmente puede desarrollarse en personas muy jóvenes.
- 15-20% en piso de boca: se presenta de manera predominante en hombres de edad avanzada, particularmente en fumadores y alcohólicos crónicos.
- 2-10% en mucosa bucal y gingival: los hombres en el séptimo decenio de vida constituyen el típico grupo afectado. El hábito de masticar tabaco es un factor etiológico importante en las alteraciones malignas de estas regiones.

- 6-20% en paladar duro, blando y úvula: en el paladar blando y tejidos contiguos ocurre con bastante frecuencia. En el paladar duro son relativamente infrecuentes. Sin embargo, en la India no son raros, ya que se acostumbra fumar "al revés"^{9,19,20,41}.

Aunque cualquier parte de la boca puede estar involucrada, la mayoría de los tumores (excluyendo los del labio), forman un área en forma de herradura formada por el piso de la boca, la mucosa lingual adyacente, surco lingual y región retromolar. No obstante, el 75% de los carcinomas epidermoides se encuentran en un área que compromete menos del 20% del total de la mucosa bucal. Esta región de susceptibilidad incrementada se denomina "área de drenaje", en donde los carcinógenos presentes en la boca pueden almacenarse antes de ser deglutidos (tabaco masticado, nuez de betel)²⁰.

El carcinoma epidermoide suele ser la etapa final de la alteración del epitelio escamoso estratificado, iniciándose con diversos grados de displasia epitelial^{9,20}, que como ya se mencionó, incluyen hiper cromatismo, pleomorfismo, aumento en la relación núcleo-citoplasma, queratinización prematura, formación de perlas de queratina y en ocasiones, incremento en el número de mitosis, siendo algunas de éstas anormales²⁰. Después evoluciona hasta que las células epiteliales displásicas rompen la membrana basal e invaden el tejido conectivo, aumentando así la posibilidad de que las células malignas erosionen los vasos linfáticos y sanguíneos, haciendo posible su transporte a distancia (metástasis)^{9,20}. Casi todos los carcinomas epidermoides son lesiones moderadas o bien diferenciadas^{19,20}, por lo que la mayoría de células se asemejan a células espinosas normales²⁰. Son evidentes cuando presentan perlas de queratina y queratinización de células individuales. También es típica la invasión a estructuras subyacentes en forma de pequeños nidos de células hiper cromáticas. Se observan variaciones considerables relacionadas con número de mitosis, pleomorfismo nuclear y cantidad de queratinización entre distintas neoplasias¹⁹. En neoplasias moderadamente bien diferenciadas, puede haber ausencia de los nidos de células tumorales, pero puede haber queratinización individual y células espinosas obvias²⁰. En neoplasias pobremente diferenciadas, no hay evidencia de queratinización y las células neoplásicas muestran grados extremos de pleomorfismo e hiper cromatismo con numerosas mitosis y en ocasiones, células neoplásicas gigantes. Las neoplasias provocan una gran variedad de respuestas en el estroma. En muchos casos, existe una gran infiltración de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas. En otros, la respuesta inflamatoria es mínima, pero hay proliferación de fibroblastos en el estroma próximo a la neoplasia^{19,20}.

Aunque un carcinoma epidermoide avanzado es relativamente fácil de reconocer clínicamente, las neoplasias tempranas frecuentemente son indoloros y la variedad de apariencias puede dificultar el diagnóstico temprano. Una gran cantidad de pacientes de edad avanzada utilizan dentaduras, por lo que están acostumbrados a molestias permanentes y a la ulceración bucal. Dichos pacientes utilizan una gran variedad de enjuagues o medicamentos tópicos mientras la neoplasia progresa lentamente. De esta manera, aunque la inspección intraoral es de acceso relativamente fácil, se observa una gran proporción de pacientes por primera vez cuando la enfermedad ya ha avanzado. Debido a que el pronóstico disminuye conforme aumenta el tamaño y la etapa clínica de la neoplasia, el diagnóstico y tratamiento tempranos son esenciales para prevenir la muerte prematura, la deformación facial y la mutilación del paciente²⁰.

La mayoría de los carcinomas epidermoides inician como lesiones superficiales que pueden presentarse como úlcera o mucosa ligeramente elevada, lisa o moderadamente rugosa^{9,20,42,43}, así como leucoplasia o eritroplasia⁹. Estas lesiones siempre deben ser consideradas para biopsia, ya que puede tratarse de un carcinoma *in situ* o invasivo; aproximadamente una tercera parte de dichos carcinomas pueden presentar un componente leocoplásico⁴³. Generalmente, las lesiones más avanzadas aparecen como una úlcera de bordes indurados y centro granuloso, una masa tumoral o una excrecencia verrucosa^{9,20,42}. Es así como en las etapas tardías, la destrucción y necrosis tisular provocan dolor e infección agregada²⁰.

El carcinoma epidermoide que se ha infiltrado profundamente en el tejido conectivo puede tener pocos cambios superficiales, pero aparece como un área indurada firme con pérdida de la movilidad del tejido^{20,42}. En el piso de la boca, habitualmente produce fijación de la lengua e imposibilidad de abrir la boca totalmente. El carcinoma que invade la encía hasta el maxilar o la mandíbula subyacentes puede llevar a movilidad o pérdida de dientes, mientras que los que penetran profundamente en la mandíbula, involucrando al nervio dentario inferior pueden causar parestesia⁹. La invasión a músculo es una característica común, y el cáncer puede diseminarse a lo largo de planos musculares o fasciales a una gran distancia de la lesión visible o palpable. De igual manera, puede involucrar el periostio o pericondrio de forma temprana, pero generalmente éste es un evento tardío⁴³. El agrandamiento de ganglios linfáticos cervicales puede ser detectable⁴².

La invasión de un tumor al espacio parafaríngeo permite la diseminación potencial de la base del cráneo al cuello. La diseminación dentro del lumen de los conductos salivales no es un patrón prevalente. Sin embargo, la diseminación perineural es la vía más importante para la diseminación de la neoplasia, y se incrementa la probabilidad cuando existe recurrencia local, con lo que la neoplasia puede llegar a la base del cráneo. La invasión del espacio vascular es común e incrementa la frecuencia de metástasis distantes linfáticas, siendo la más frecuente a pulmón⁴³.

Aunque todos los carcinomas tienen capacidad de metastatizar, hay una gran diversidad en el potencial metastático de los diversos carcinomas epidermoides, correlacionado en cierta medida con la variedad histológica; ésta se relaciona con el grado de diferenciación que presentan las células neoplásicas y la similitud entre la arquitectura del tejido y el epitelio normal⁹.

Para poder diagnosticar esta lesión, invariablemente, hay que realizar una biopsia. Así mismo, es crucial determinar si los ganglios linfáticos cervicales están involucrados o si existen otras neoplasias primarias o metástasis^{9,42}.

El carcinoma epidermoide puede caracterizarse dentro de tres categorías^{9,19,42}:

- Carcinoma bien diferenciado, que presenta una queratinización mayor del 75% y presenta algunos rasgos de maduración desde las células basales a queratina^{9,19}.
- Carcinoma moderadamente bien diferenciado, que presenta una queratinización del 25 al 75%, pero el epitelio todavía es reconocible como escamoso estratificado, a pesar de su importante desviación de la normalidad^{9,19}.
- Carcinoma poco diferenciado, que presenta un 25% de queratinización, tiene poco parecido con el epitelio, muestra una significativa falta de patrón estructural normal y de cohesión de las células y presentan anomalías celulares extensas^{9,19}.

Por regla general, los carcinomas epidermoides del labio inferior tienden a ser bien diferenciados; los que se presentan en los bordes laterales de la lengua suelen ser moderadamente diferenciados y los que afectan la región amigdalina tienden a ser poco diferenciados. No obstante que el comportamiento biológico de un tumor está influenciado por diferentes factores, como las estructuras anatómicas y las vías de drenaje linfático; el grado de diferenciación parece ser muy importante en la determinación de su velocidad de crecimiento y su tendencia a metastatizar⁹.

El carcinoma epidermoide de la cavidad bucal se extiende mediante la invasión de los vasos linfáticos^{9,19,20,42}. Una vez en el interior de dichos vasos, las células neoplásicas son transportadas a ganglios linfáticos regionales, donde se alojan y continúan proliferando. Las células neoplásicas en proliferación producen un aumento de tamaño de los ganglios linfáticos y se extienden más allá de sus cápsulas hacia el tejido circundante. Esos ganglios linfáticos se hacen fácilmente palpables y parecen duros y fijos al tejido adyacente. La presencia de ganglios linfáticos de mayor tamaño, duros y fijos, es un signo clínico de mal pronóstico. Los ganglios linfáticos más frecuentemente afectados por el carcinoma epidermoide intraoral metastásico son los ganglios submandibulares y los cervicales superficiales y profundos. Las lesiones que se extienden más allá de los ganglios linfáticos regionales de la cabeza y cuello suelen metastatizar a pulmones e hígado⁹.

El objetivo fundamental de clasificarlos radica primero, en determinar el estado clínico de la neoplasia y segundo, en gradificarlos histológicamente, para así poder establecer una mejor respuesta en el tratamiento^{8,33,41}. Por tal razón, Broders propuso un sistema de gradación para los carcinomas basado en la proporción de similitud que guarda la neoplasia con respecto al epitelio normal^{22,41}. Grado I para los carcinomas bien diferenciados, los cuales producen queratina de un 75 a un 100%. Grado IV a los poco diferenciados, en los que no existe producción de queratina, y que difícilmente se reconocen como neoplasias malignas de origen epitelial⁴¹. Esta gradificación ha sido una herramienta diagnóstica tradicional de valor pronóstico, pero no ha sido incorporada a las estrategias estándar de planeamiento terapéutico. Esto se debe principalmente a la subjetividad del actual sistema de gradificación y en la falta de consenso con respecto a su valor pronóstico²².

Sin embargo, no existe correlación entre el grado de diferenciación y el pronóstico del enfermo. Jakobson y cols. desarrollaron un sistema multifactorial de gradación con el propósito fundamental de obtener una evaluación morfológica más precisa. Se trata de un esquema de gradificación semicuantitativo para el carcinoma epidermoide que incorpora múltiples observaciones que describen parámetros histológicos tanto de la población celular del tumor, como de la interfase tumor-huésped^{22,41}. A continuación, se describen todos los parámetros utilizados en este trabajo.

Criterios de Jakobson

Factores intrínsecos de la neoplasia:

- Grado de queratinización.
- Polimorfismo nuclear.
- Número de mitosis.

Grado de queratinización

- I. Neoplasia con queratinización mayor del 50%.
- II. Neoplasia moderadamente diferenciada con queratinización que oscila entre un 20 a un 50%.
- III. Mínima queratinización, de 5 a 10%.
- IV. Mínima o nula queratinización individual.

Polimorfismo nuclear:

- V. Más del 75% de las células son maduras.
- VI. Moderado polimorfismo, del 50 al 75% son células maduras.
- VII. Abundante polimorfismo nuclear, del 25 al 50% son células maduras.
- VIII. Polimorfismo nuclear extremo, del 0 al 25% son células maduras.

Número de mitosis (en 10 campos de gran aumento):

- I. De 0-1 mitosis.
- II. De 2-3 mitosis.
- III. De 4-5 mitosis.
- IV. Más de 6 mitosis.

Factores relacionados entre el huésped y tumor:

- Patrón de invasión.
- Estado de invasión tumoral.
- Infiltrado linfoplasmocitario.

Patrón de invasión:

- I. Areas o mantos sólidos de células con bordes definidos o de tipo empujante.
- II. Neoplasia con infiltración en cordones sólidos, bandas o listones.
- III. Grupos pequeños o cordones delgados no mayores de 15 células.
- IV. Marcada invasión estrómic individual o en grupos menores de 15 células.

Estado de invasión tumoral:

- I. In situ o invasión cuestionable.
- II. Invasión hasta la lámina propia.
- III. Invasión por debajo de la lámina propia.
- IV. Invasión a través del hueso o invasión profunda de planos musculares.

Infiltrado linfoplasmocitario:

- I. Infiltrado abundante de linfocitos o de células plasmáticas en estrecha relación con las células neoplásicas.
- II. Infiltrado moderado.
- III. Infiltrado ligero.
- IV. Infiltrado nulo.

Estos parámetros se deben evaluar en biopsias y especímenes quirúrgicos. Los resultados demuestran supervivencia a cinco años del 85% para pacientes con neoplasias cuya suma fue menor de 13 puntos, 65% para neoplasias entre 13 y 16 puntos y 44% para pacientes con neoplasias con un puntaje mayor de 16^{41,42}. Sin embargo, cuando un paciente presenta metástasis locorregionales o a distancia queda fuera de esta valoración histopatológica⁴¹.

Aún con el avance en la terapéutica, el carcinoma epidermoide de cabeza y cuello representa una importante causa de morbilidad y mortalidad^{10,44}, siendo responsable del 2% de fallecimientos anuales en hombres y del 1% en mujeres⁹. La detección de esta enfermedad a menudo se retrasa hasta que se presenta una etapa tardía de la enfermedad, ya que con frecuencia, las lesiones tempranas no producen síntomas^{20,44}. De esta manera, para reducir esta tendencia, es necesario identificar los factores de riesgo y detectar clínicamente las lesiones tempranas^{10,33}.

En 1984, Anneroth y Hansen presentan un esquema que considera cuatro características del epitelio y tres características de la relación huésped-neoplasia³³. No obstante, en 1992, se publica un dato de aparente relevancia para la gradificación histopatológica de malignidad en carcinoma epidermoide, examinando exclusivamente las capas celulares más avanzadas de la neoplasia invasivo en la interfase neoplasia-huésped. Este es una modificación y aplicación simplificada del sistema de gradificación multifactorial propuesto por Anneroth y cols. y proporciona información pronóstica altamente significativa e independiente de la etapa TNM; así mismo, ha demostrado ser superior a las gradificaciones

anteriores (Broder, OMS y UICC). Diversos estudios han confirmado la importancia del "frente invasivo tumoral" (FIT) para la gradificación del carcinoma epidermoide de boca y de otros sitios anatómicos, el cual se basa en la valoración cualitativa de parámetros histológicos: 1) grado de queratinización, 2) polimorfismo nuclear, 3) patrón de invasión y 4) infiltrado linfocitario; obviamente se encuentra sujeto a variaciones interobservadores¹⁸.

Se han evaluado muchos factores de acuerdo a su potencial pronóstico en pacientes con carcinoma epidermoide primario de cabeza y cuello. Generalmente pueden clasificarse en factores pronósticos relacionados con el paciente, con la neoplasia y con el tratamiento^{9,19,22,41}. Aunque actualmente los factores clínicos relacionados con la neoplasia son utilizados en la clasificación de pacientes con fines terapéuticos, son insuficientes para la subestratificación demandada por la complejidad de las nuevas modalidades de manejo de estos pacientes^{22,33}.

En general, el pronóstico de pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello está correlacionado con la etapa clínica; mostrando un mejor pronóstico los de etapa I que los de etapa III o IV^{19,34,43}. De hecho, un carcinoma epidermoide de alto riesgo se asocia a un periodo corto de supervivencia, debido a la recurrencia temprana de la neoplasia después del tratamiento, sobre todo si hay presencia de lesiones metastásicas en ganglios linfáticos del cuello³³. Sin embargo, esto no siempre es cierto. A pesar de una terapia adecuada, existen pacientes con carcinoma epidermoide T1 que desarrollan metástasis a nódulos, metástasis distantes, recidivas y algunos mueren a causa de éstos^{19,34,43}, ya que existen otros factores que pueden modificar el curso clínico como edad, sexo, salud general, estado del sistema inmunológico y actitud mental^{19,33}.

El carcinoma epidermoide de cabeza y cuello tiende a metastatizar principalmente por vía linfática y aunque, el control quirúrgico de la enfermedad local se ha incrementado, hoy en día, hay pacientes que mueren por metástasis distantes³⁷.

No obstante que se han evaluado muchos factores como indicadores pronósticos potenciales, ninguno ha demostrado ser confiable o tener valor clínico real, particularmente en cáncer en etapas tempranas, en donde estos indicadores serían de mayor valor^{33,34}. De hecho, debido a la amplia variación de características clínicas en pacientes con cáncer de cabeza y cuello, existe la necesidad de identificar nuevos marcadores biológicos que permitan reconocer factores pronósticos adicionales para optimizar la terapéutica¹⁶.

En la actualidad, la mejoría de las tasas de supervivencia estriba en la detección temprana y debido a que la cavidad bucal es fácil de examinar y accesible para biopsia, el diagnóstico temprano es un objetivo realista y alcanzable para controlar el cáncer bucal¹⁹.

Un aspecto importante en el pronóstico integral del cáncer bucal es el riesgo a desarrollar una segunda lesión primaria. Estas patologías no representan recurrencia o persistencia de la neoplasia original sino nuevas lesiones separadas topográficamente en el conducto alimentario o incluso en otros órganos de los sistemas. Alrededor del 10% de los pacientes con cáncer bucal sufre una segunda lesión primaria, habitualmente en el primer o segundo año de seguimiento¹⁹.

El monitoreo de la respuesta a la terapia para el carcinoma de cabeza y cuello se limita a técnicas como investigación radiográfica y observación clínica cercana. El desarrollo de un marcador tumoral confiable podría ayudar en la evaluación de los pacientes, facilitando de manera potencial la detección de lesiones ocultas y podría ser usado para monitorear la terapia. Además, dicho marcador podría utilizarse para desarrollar nuevas formas de tratamiento y predecir el comportamiento biológico de la neoplasia⁴⁴.

El marcador tumoral ideal debe ser un indicador sensible a la enfermedad a tal grado que un alto porcentaje de pacientes deben tener niveles séricos por arriba de lo normal establecido. También debe ser específico en que los controles normales no deben tener niveles por arriba del estándar aceptado. Las concentraciones séricas deben correlacionarse con la agresividad de la neoplasia y con los resultados clínicos y deben regresar a los niveles normales con una terapia exitosa; así como reaparecer antes que la recurrencia clínica^{44,45}. A pesar de que aún no se ha identificado dicho marcador "ideal", se han descubierto varios marcadores dignos de estudiarse en carcinoma de cabeza y cuello⁴⁴.

Recientemente, la cuantificación de la vascularización ha sido propuesta como un parámetro de importancia clínica potencial basado en estudios clínicos y básicos que indican que el crecimiento tumoral depende de la angiogénesis^{22,26,29,31,32,35,37}. Varios estudios han demostrado que las neoplasias con redes vasculares bien desarrolladas poseen mayor potencial de crecimiento metastásico y son más sensibles a la radioterapia y/o quimioterapia, lo que puede atribuirse al efecto de la vascularización en el estado nutricional y en el aporte de oxígeno de la célula en proliferación²². Sin embargo, se ha establecido que el carcinoma epidermoide de cabeza y cuello presenta alta heterogeneidad vascular, ya que es un evento temprano en el desarrollo de una neoplasia invasiva, independiente de la etapa clínica¹⁶.

La relación entre la angiogénesis tumoral y las metástasis en cáncer de cabeza y cuello y la supervivencia no es muy clara³⁶, ya que probablemente, los neoplasias de cabeza y cuello no requieran de la neovascularización, debido a que se encuentran en una región altamente vascularizada y reciben suficiente aporte sanguíneo para su crecimiento y progresión³⁴. No obstante, en dos estudios de neoplasias de cabeza y cuello en diversos sitios y etapas se demostró una correlación entre el incremento en la densidad vascular y las metástasis tumorales. Zatterstrom y cols.³⁶ examinaron un grupo de pacientes tratados con radioterapia y descubrieron una correlación positiva entre la densidad de microvasos y la respuesta a la radioterapia.

En base a lo anterior y tomando en cuenta que el crecimiento y progresión de una neoplasia sólida dependen ampliamente de la neovascularización, la interrupción de este proceso actuando en contra del efecto de los factores de crecimiento de angiogénesis puede representar un novedoso y selectivo alcance terapéutico para el cáncer, además de poder estratificar a aquellos pacientes con un fenotipo neoplásico más agresivo^{16,22,26,29,31,35}.

La valoración de la proliferación celular se ha vuelto más simple y confiable con el desarrollo de los anticuerpos monoclonales²³. Es así, como la densidad vascular puede usarse como indicador pronóstico en carcinoma epidermoide cabeza y cuello y puede ayudar a determinar estrategias de tratamiento identificando subgrupos de pacientes que pudieran beneficiarse con la cirugía o radioterapia, independientemente del estado clínico ganglionar³².

METASTASIS

El término metástasis, tomado del griego μετασταςισ, significa originalmente, desplazamiento o cambio de lugar¹⁴. En medicina se utiliza para designar la transferencia de la enfermedad, infecciosa o neoplásica, de un foco primario, en un órgano o parte de él, a otro no contiguo. El vehículo de transporte o vía de propagación de la metástasis comprende la vía sanguínea o linfática, la canalicular de tubos anatómicos preformados, como uréteres y epéndimo, las cavidades anatómicas, como ocurre en la cavidad peritoneal, y la trasplatación mecánica de las células, como sucede a veces a lo largo de cicatrices correspondientes a incisiones previas para extirpar la lesión original^{7,14}.

Una vez que se ha establecido el diagnóstico de cáncer, la cuestión más urgente es si la enfermedad está localizada o se ha diseminado a ganglios linfáticos u órganos distantes. El aspecto más grave del cáncer es la metástasis, lo cual está justificado³¹, ya que aproximadamente en el 70% de los pacientes recién diagnosticados con neoplasias sólidas tienen metástasis ocultas o no detectables clínicamente³⁰, y en el 50% de los pacientes, la excisión quirúrgica de la neoplasia primaria no es curativa, debido a que en ese momento ya se ha presentado metástasis³¹. De hecho, la invasión neoplásica y las metástasis son las principales causas de falta de respuesta al tratamiento³⁸.

El proceso metastásico es, a la vez, muy selectivo, ya que solo una pequeña subpoblación de las células de una neoplasia maligna, menos del 0.1% es capaz de desprenderse de él y sobrevivir a distancia^{14,31}. De hecho, la célula metastásica debe desprenderse de la neoplasia progenitora, invadir la matriz que media entre células y atravesar la membrana de un vaso sanguíneo⁵ (Fig. 6).

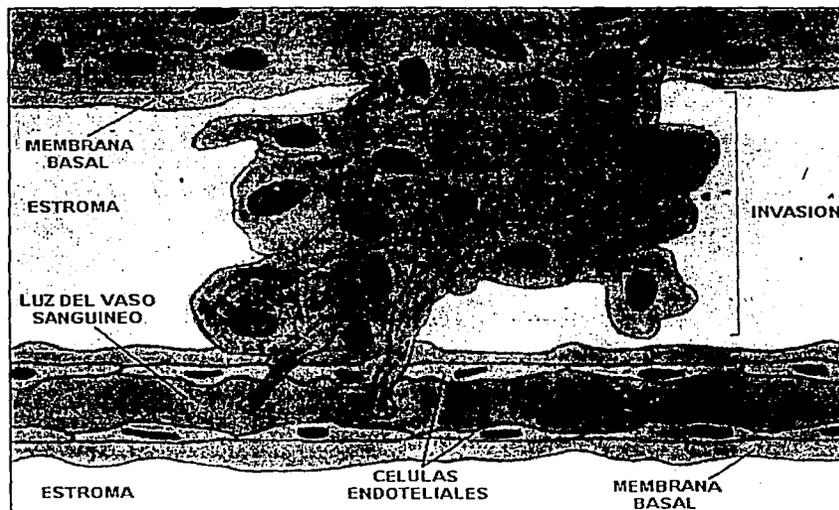


Figura 6. Invasión a vasos sanguíneos. Cornelis JF. 1998.

Ha de sobrevivir a su paso por el torrente sanguíneo, en donde patrullan células hostiles del sistema inmunológico, adherirse a la pared vascular y salir del torrente sanguíneo en el lugar favorable (Fig. 7 y 8). Después de aposentarse en el tejido circundante, debe inducir el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos para nutrir a la neoplasia que se está formando^{7,31,38}. Sin embargo, el hecho es que generalmente, la neoplasia metastásica es más agresiva que la neoplasia primaria⁵.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

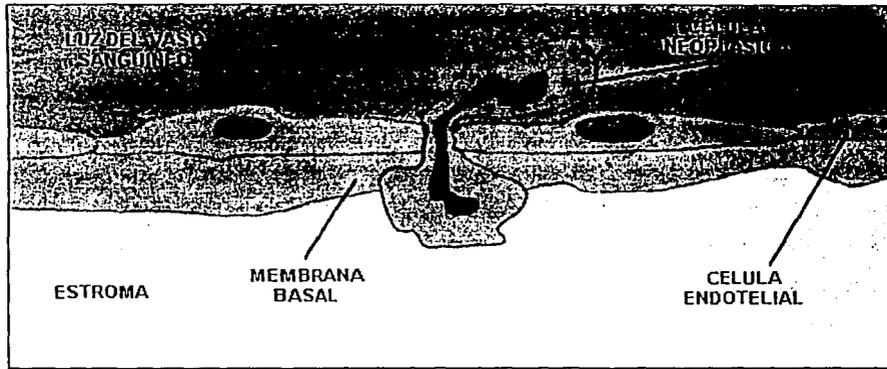


Figura 7. Adhesión del émbolo tumoral a la pared vascular. Cornelis JF. 1998.

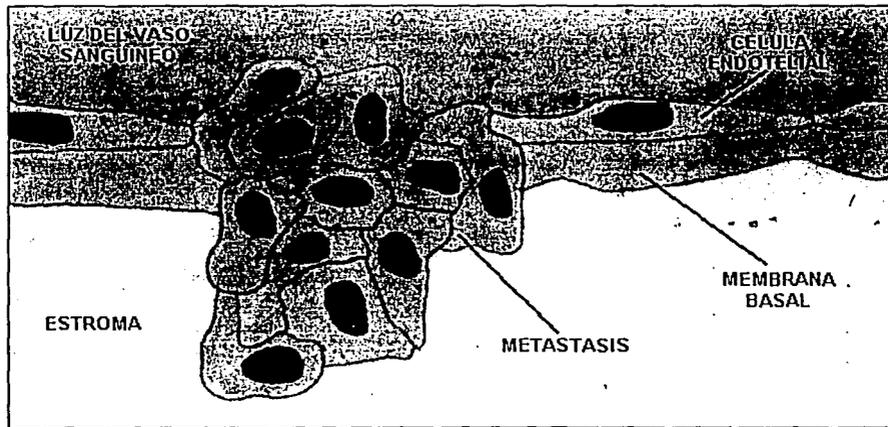


Figura 8. Metástasis. Cornelis JF. 1998

Cuando se presenta el cáncer, los genes y cromosomas de las células sufren una desorganización importante, llevándolos a realizar programas genéticos muy alejados de los programas para los cuales fueron diseñados. Se ha demostrado que las células malignas son distintas, ya que se encuentran indiferenciadas; esto es, perdieron sus funciones, y como resultado no desarrollan por completo sus características y actividades propias de las células maduras de su tipo^{4,5}.

La mayoría de las células están diseñadas para permanecer unidas a sus órganos para realizar actividades especializadas. Esto se logra por medio de uniones moleculares que

las unen a otras células y a la matriz proteica en dicho tejido; esto aunado a que dichas células, simplemente carecen de la maquinaria migratoria de las células móviles. Esto sucede especialmente en el tejido epitelial que recubre muchos órganos y a partir del cual surgen la mayoría de los procesos malignos. Las células metastásicas se encuentran alteradas a tal grado, que son capaces de romper estas uniones y penetrar las paredes proteicas que recubren los tejidos y vasos sanguíneos; alejándose así del órgano de origen para invadir otros tejidos u órganos^{4,5}.

Durante las últimas décadas, los patólogos han observado que las células que se encuentran en las partes más invasivas de la neoplasia maligna difieren sustancialmente de las que se encuentran en el centro de la misma. Se ha postulado que el frente invasivo de las neoplasias está formado por células más agresivas, que tienen la capacidad de invadir los tejidos de estructuras vecinas, incluyendo vasos, para así metastatizar¹⁸.

Para que una colonia de células neoplásicas se establezca lejos de la neoplasia primaria, ha de producirse una serie sucesiva de hechos a cuyo conjunto se le denomina cascada o secuencia metastásica, la cual consta de los siguientes pasos sucesivos^{5,7,13,14,31,38}.

1. Invasión del tejido normal adyacente.
2. Desprendimiento de células neoplásicas de la neoplasia primaria.
3. Penetración de las células neoplásicas en la microcirculación sanguínea o linfática.
4. Diseminación hematológica.
5. Alojamiento del émbolo, formado por plaquetas y células neoplásicas, en la microcirculación, o adherencia directa de las células neoplásicas a la superficie endotelial o desprovista de endotelio del vaso.
6. Extravasación de las células neoplásicas al tejido u órgano donde se alojó el émbolo neoplásico.
7. Crecimiento de la neoplasia secundaria^{5,7,13,14,31,38}.

Cada paso se halla probablemente controlado por un sistema molecular diferente; el fallo de cualquiera de estos sistemas haría, probablemente, que la célula neoplásica no provocara metástasis⁷.

Las neoplasias malignas tienden a seguir patrones de distribución metastásica, específicos para tipos histológicos definidos^{14,31}. Ewing sugirió que estos patrones están pautados exclusivamente por factores anatómicos y hemodinámicos. Sin embargo, parece

más cierta la teoría propuesta por Paget en el siglo pasado, que atribuía importancia tanto a factores del huésped como a propiedades de las células neoplásicas^{14,31}; por lo que al parecer, el resultado de las metástasis depende de las propiedades tanto de las células huésped, como de las células neoplásicas³¹.

El drenaje linfático puede explicar el comportamiento de la mayor parte de los carcinomas, que suelen diseminarse, en primer lugar, a ganglios linfáticos regionales. Las células neoplásicas aparecen, inicialmente en el seno subcapsular y en los senos yuxtacapsulares^{13,14}.

La vascularización sanguínea de algunos órganos puede condicionar la frecuencia con que aparecen las metástasis en ellos. El pulmón podría ser una localización frecuente de depósitos metastásicos, simplemente porque es el primer filtro capilar que encuentran las células neoplásicas cuando ingresan a la circulación venosa. En el caso del hígado, es también comprensible la frecuente presencia de nódulos metastásicos, procedentes de neoplasias originadas en órganos tributarios del sistema porta. Sin embargo, las consideraciones hemodinámicas no bastan para explicar la rareza con la que se desarrollan metástasis en el bazo o en el músculo esquelético, ni tampoco la frecuencia con la que se dan depósitos metastásicos en huesos¹⁴.

El reclutamiento selectivo de células neoplasias circulantes podría tener que ver con el reconocimiento específico entre células. El control de este proceso podría residir en la superficie celular, produciéndose un aumento de la agregación o adherencia entre células neoplásicas y células del órgano metastásico¹⁴.

En algunos pacientes, las metástasis se desarrollan muchos años después de la eliminación de la neoplasia primaria y aparente cura. Se han propuesto algunas hipótesis para explicar este fenómeno de "latencia" en las metástasis^{31,38}. 1) La repentina conversión de células inactivas a células activas en proceso de división puede presentarse por un cambio en el ciclo celular con progresión de G_0 a G_1 . No obstante, aún no se conoce el factor que puede iniciar esta conversión. 2) El tamaño de las metástasis neoplásicas debe ser vigilado por la respuesta inmunológica específica e inespecífica del huésped, de manera que cualquier cambio en la antigenicidad o supresión de la inmunidad del huésped puede desequilibrar el balance a favor de las células neoplásicas. 3) Generalmente, el trauma en los tejidos normales está seguido por inflamación y reparación, lo que depende de la producción de factores de crecimiento órgano-específicos. 4) La restricción inmunológica provoca que los

rangos de muerte de la población neoplásica iguale los rangos de su crecimiento. 5) La avascularidad causa que las metástasis se limiten en tamaño por deficiencias en la difusión de nutrientes³⁸. Estos factores pueden estimular la proliferación de células neoplásicas si poseen los receptores apropiados³¹.

La mejor comprensión del proceso de angiogénesis ha llevado a una hipótesis más reciente que propone que la interrupción de la "latencia" neoplásica puede ser explicada por una conversión repentina de la neoplasia a un fenotipo angiogénico. Esto puede suceder por un incremento en los estimuladores angiogénicos, una disminución en los inhibidores angiogénicos, o una combinación de ambos³¹.

El pronóstico de las neoplasias malignas depende, en gran medida de las metástasis. En un extremo de la escala están las neoplasias malignas que todavía no han metastatizado y que son, en la mayor parte de los casos, curables y, en el otro, las neoplasias diseminadas, que escapan a toda posibilidad de control terapéutico¹⁴.

Para intentar un pronóstico más preciso, se han diseñado a lo largo del tiempo diferentes sistemas de clasificación por estadio de extensión anatómica de las neoplasias malignas^{14,41}.

Con la exploración clínica o con métodos de imagen (radiología, ecografía, resonancia magnética) se puede sospechar, con mayor grado de certidumbre, la presencia de enfermedad neoplásica metastásica. La confirmación definitiva, sin embargo, requiere la realización de estudios histopatológicos, debido a la posibilidad de inclusiones epiteliales benignas, ya que se han descrito elementos tiroideos y salivales en ganglios linfáticos cervicales y mediastínicos y glándulas müllerianas en ganglios pélvicos, abdominales e inguinales. También se han observado grupos de células névicas en las cápsulas y trabéculas de ganglios linfáticos cervicales, axilares e inguinales¹⁴.

Aunque se supone que las metástasis a ganglios linfáticos ocurren por medio de canales linfáticos, su desarrollo también es un signo de metástasis sistémica. Es posible que exista cierta correlación entre la angiogénesis y el incremento del potencial metastásico, de hecho, la asociación de cuentas vasculares altas con metástasis ganglionares proporciona evidencias clínico patológicas³¹.

A menudo, las metástasis son muy pequeñas para detectarlas (<5 mm de diámetro) y la neoplasia primaria se extirpa quirúrgicamente con fines curativos. Desgraciadamente, aunque en la mayoría de pacientes, las metástasis crecen gradualmente, en unos pocos, especialmente en aquellos con enfermedad local avanzada, la resección quirúrgica de la neoplasia primaria puede estar seguida por un rápido crecimiento de metástasis viscerales³¹.

Durante los últimos 80 años han surgido distintas hipótesis al respecto. Estas incluyen la liberación mecánica de una gran cantidad de células neoplásicas durante el procedimiento quirúrgico, la disponibilidad repentina de "nutrientes" para el crecimiento de las metástasis, los efectos inmunosupresores de la anestesia y de la cirugía que facilitan el escape de las células neoplásicas de los mecanismos de supervisión, el incremento en las propiedades adhesivas de las plaquetas y coagulación sanguínea que favorecen a la supervivencia del émbolo neoplásico circulante, y la producción de un inhibidor mitótico por parte de la neoplasia local. La existencia de tantas hipótesis sugiere que el mecanismo preciso por el que una neoplasia primaria puede controlar el crecimiento de las metástasis es controversial. Con una mejor comprensión de la patogénesis de las metástasis en general y el papel que juega la angiogénesis en este proceso en particular, podrá comprenderse la supervivencia del émbolo neoplásico³¹.

Las principales barreras para el tratamiento de las metástasis son la heterogeneidad de las células neoplásicas y la rápida invasión de las mismas con resistencia a la mayoría de los agentes anticáncer. Sin embargo, la inhibición de la angiogénesis proporciona un abordaje novedoso y más general para tratar las metástasis por medio de la manipulación del microambiente del huésped. Las células endoteliales de los vasos sanguíneos neoplásicos se dividen rápidamente, a diferencia de los de tejidos normales³¹.

MARCADORES TUMORALES

El diagnóstico actual en oncología ya no depende sólo de la estirpe celular de las neoplasias; en realidad, la concepción clínica de la enfermedad y el estudio completo de sus características son muy orientadores para el diagnóstico presuntivo. La meta principal de la oncología es el control de la enfermedad. Cuando es posible, el enfoque curativo es la meta de todo tratamiento oncológico⁴¹.

En la actualidad es posible utilizar técnicas moleculares que determinan la programación citogenética de una neoplasia y entre éstas destaca la determinación de oncogenes. Existen algunos otros compuestos sintetizados por neoplasias o grupos de neoplasias que, al ser medidos en sangre, suero, tejido, etc., son capaces de "marcar" la presencia de una neoplasia determinada. Por tanto, estos compuestos constituyen los marcadores tumorales⁴¹, y se basan en la preservación de características de la célula progenitora o en la síntesis de proteínas especializadas por la célula neoplásica, para hacer esta distinción⁴⁶.

Por definición, un marcador tumoral es una sustancia que es posible detectar, por métodos bioquímicos o inmunohistoquímicos, en tejido o líquido tisular. Este compuesto contribuye a identificar el cáncer antes del tratamiento y permite vigilar la respuesta a los tratamientos establecidos. A la fecha, existen pocos marcadores de alta confiabilidad. Aún así, los marcadores séricos con que se cuenta establecen un nuevo campo de investigación que cada vez se hace más sólido para el diagnóstico y seguimiento. Los marcadores se determinan en la neoplasia o en el suero del paciente⁴¹.

Las aplicaciones de los marcadores tumorales van siendo cada vez más amplias. 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. 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^{44,45}.

Uno de los problemas que presenta el diagnóstico de cáncer con los marcadores tumorales actualmente disponibles es que algunas enfermedades no malignas pueden asociarse con las mismas alteraciones. Otro problema al utilizarlos para el diagnóstico, es el de la sensibilidad de las técnicas utilizadas, ya que pueden dar resultados elevados en cáncer avanzado o metastásico, pero no ser sensibles en cáncer incipiente o localizado, lo que ocurre en el 50% de los casos⁴⁵.

Un objetivo más realista al utilizar los marcadores tumorales como monitores es encontrar marcadores que se asocien a condiciones que predispongan a la aparición de cáncer, tales como anomalías genéticas o exposición a agentes mutágenos. La posibilidad de identificar a los individuos que presentan alto riesgo de desarrollar un tipo concreto de neoplasia permitiría diseñar estudios prospectivos de terapéutica precoz o

preventivos y también proporcionaría una mejor idea de los estadios y desarrollo del cáncer en el ser humano⁴⁵.

Los marcadores tumorales también pueden proporcionar información sobre el estadio neoplásico y permitir la detección de metástasis microscópicas. En la radioinmunodetección se inyecta al paciente sospechoso de ser portador de metástasis un anticuerpo específico para el marcador tumoral, marcado radioactivamente. El acúmulo de este anticuerpo en las células neoplásicas puede detectarse con una gammacámara con las técnicas de sustracción adecuadas para eliminar la actividad de fondo o mediante tomografía de emisión. Los anticuerpos marcados pueden administrarse por vía intravenosa, o en la circulación linfática directamente para obtener una mayor fijación a las metástasis pequeñas⁴⁵.

Los marcadores pueden proporcionar 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 prueba de metástasis^{16,45}.

La aplicación más rentable de los marcadores tumorales es la monitorización de la actividad neoplásica. El marcador puede dar una idea muy precisa de la efectividad de un tratamiento. El poder detectar la recidiva de algunas neoplasias permite iniciar la terapéutica, incluso con cirugía exploratoria y resección, semanas e incluso meses antes de que haya pruebas clínicas de la misma. La última aplicación de los marcadores es utilizarlos como diana para los agentes citotóxicos unidos a los anticuerpos o como objetivo de las células del sistema inmune del propio paciente, en un intento de ser más selectivo para destruir células neoplásicas y afectar al mínimo las células normales⁴⁵.

CD-34

Las células del sistema inmunológico expresan diferentes moléculas de membrana, de importancia por su propiedad de reconocer y reaccionar frente a antígenos y a determinadas moléculas de adhesión de las paredes vasculares, orientando la migración y recirculación de estas células en el organismo. Se expresan en distintas combinaciones sobre las diferentes líneas celulares y para los diversos estadios de maduración o diferenciación, por lo que la demostración de las moléculas de membrana mediante anticuerpos monoclonales es de gran importancia como medio para distinguir las diferentes subpoblaciones celulares entre sí¹². El

uso de anticuerpos monoclonales específicos para marcadores de superficie celular permite la caracterización fenotípica de células en estados de enfermedad⁴⁷.

Las diversas moléculas de membrana fueron designadas por varios grupos de investigadores con diferentes nombres, a medida que se descubrieron mediante anticuerpos monoclonales y técnicas de clonación biomoleculares, lo cual condujo a un gran número de denominaciones, donde a menudo, la misma molécula de membrana recibía diversos nombres. En consecuencia, en 1982 se reunió el "Primer Grupo de Trabajo Internacional sobre Antígenos de Diferenciación de Leucocitos Humanos" (First International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens) patrocinado por la Organización Mundial de la Salud, para desarrollar una nomenclatura estándar para las moléculas de membrana de los leucocitos. Todos los anticuerpos monoclonales que reaccionan con la misma molécula de superficie de la membrana se agruparon en un cúmulo de diferenciación "CD" (Cluster of Differentiation), con un número agregado que determina la molécula de membrana en cuestión^{12,47}. En 1993, se clasificaron más de 125 antígenos CD en el 5º Congreso Internacional de Caracterización Leucocitaria llevado a cabo en Boston⁴⁷.

El antígeno CD34 es una proteína transmembrana altamente glucosada tipo I presente en células progenitoras linfohematopoyéticas, células endoteliales, fibroblastos embrionarios y algunas células de tejido nervioso fetal y adulto^{48,49}. Las moléculas de CD34 se encuentran asociadas con los microprocesos endoteliales que se llevan a cabo en los extremos de los brotes vasculares, lo que sugiere que participan en la adhesión (37,38) y/o migración celular²⁸ y se cree que también lo hacen en la inhibición de la diferenciación hematopoyética. Se puede presentar en dos formas⁴⁹:

- CD34 de longitud completa: tiene un dominio intracelular que posee áreas para la fosforilación de cinasa, serina, treonina y tirosina⁴⁹.
- CD34 de longitud truncada: carece de la mayoría de dominios intracelulares, incluyendo las áreas potenciales de fosforilación⁴⁹.

Ambas formas presentan una región extracelular completa con un dominio tipo Ig rico en cisteína y su transcripción está regulada por diversas proteínas: myb, myc, ets-2, mzf-1 y NC-3A⁴⁹.

El antígeno celular para CD34 no se encuentra en eritrocitos, linfocitos, monocitos, granulocitos y plaquetas normales de sangre periférica; se expresa de manera selectiva en células hematopoyéticas progenitoras en la médula ósea y en células endoteliales de numerosos órganos no hematopoyéticos, incluyendo la piel²⁸. Es un marcador muy sensible para diferenciación endotelial, tiñendo el endotelio neoplásico más fuertemente que el endotelio normal^{28,46}.

Como ya se mencionó, la angiogénesis requiere del reclutamiento de células endoteliales hacia el lecho neoplásico. Existen dos formas de lograr esto: 1) por migración endotelial y brote de los vasos ya existentes, o 2) por reclutamiento de precursores de células endoteliales de la circulación. La primera opción está ampliamente demostrada, sin embargo, se han hecho estudios en los que se demostró la existencia de precursores endoteliales circulantes en humanos²⁷. Actualmente, se ha demostrado la expresión de CD34 mRNA en células endoteliales vasculares por medio de análisis Western Blot²⁸.

Los pacientes con cáncer de cabeza y cuello, de los cuales la mayoría son carcinomas epidermoides, tienen alteraciones severas en su respuesta inmune. La reducción en la competencia inmune se ha correlacionado con la reducida supervivencia de los pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello. Algunas de las inmunosupresiones en dichos pacientes son mediadas por células inmunosupresoras inducidas por las neoplasias⁵⁰.

Garrity y cols.⁵⁰ han demostrado que aproximadamente el 65% de los pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello inducen una población de células supresoras naturales (NS). Las células NS no tienen los marcadores de las células T maduras o de los monocitos, pero pueden ser aisladas con el anticuerpo CD34. La caracterización de las células NS CD34+ dentro de los carcinomas epidermoides de cabeza y cuello demostró que son células progenitoras capaces de crecer en agar blando en colonias compuestas de granulocitos y monocitos⁵⁰.

En estudios en los que la remoción inmunomagnética de células CD34+ de especímenes de cáncer enzimáticamente disociados dio como resultado un incremento en la actividad de las células T intratumorales, se demostró que las células progenitoras de granulocitos y macrófagos CD34+ dentro de carcinomas epidermoides de cabeza y cuello son inmunosupresoras. En un análisis de más de 200 especímenes humanos de carcinoma epidermoide de cabeza y cuello se sugirió la importancia de estas células NS por su actividad antitumoral inmunoinhibidora in vivo, ya que las neoplasias con alta frecuencia de células

CD34+ tuvieron un menor contenido de células CD8+ y función reducida de las células CD4+ intratumoral. Además el contenido de células CD34+ demostró ser más alto en neoplasias primarias quirúrgicamente excisionadas, que posteriormente recurrieron o metastatizaron en los siguientes 2 años subsecuentemente en comparación con las neoplasias primarias que permanecieron en remisión por al menos 2 años después de la excisión. Mientras que las células CD34+ han demostrado ser importantes en la restricción de competencia del infiltrado inmune en los carcinomas epidermoides de cabeza y cuello, no se han explorado extensivamente las estrategias para disminuir su presencia⁵⁰.

Las células CD34+ derivadas de una gran cantidad de sitios, incluyendo sangre del cordón umbilical^{27,50,51}, de la médula ósea, y de sangre periférica^{50,51}, se diferencian en dirección mieloide y monocítica. La combinación del factor estimulador de colonias de macrófagos y granulocitos (GM-CSF) y factor α de necrosis tumoral (TNF- α), en presencia o ausencia del factor de células pluripotenciales (SCF), puede diferenciar a las células progenitoras hematopoyéticas CD34+ en células dendríticas, con la capacidad de presentar antígenos y células T inmaduras, la cual es la principal función de las células dendríticas⁵⁰.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a que la angiogénesis es crucial para el crecimiento y diseminación de las neoplasias, se ha prestado gran interés a su mecanismo de acción y al papel que desempeña en la invasión de una neoplasia primaria. La neovascularización es necesaria tanto para el crecimiento de la neoplasia como para la invasión metastásica. Estudios de cáncer de cabeza y cuello han demostrado que existe una correlación de la angiogénesis con el tamaño de la neoplasia, su potencial metastásico y su pronóstico, aunque los resultados son inconclusos. En base a lo anterior, surge la pregunta ¿Es posible determinar la neoformación y el grado de vascularidad en carcinoma epidermoide, y correlacionarlo con su grado de malignidad?

JUSTIFICACION

Debido a la amplia variación de las respuestas clínicas de los pacientes con cáncer de cabeza y cuello, es necesario identificar nuevos marcadores biológicos que nos permitan reconocer factores pronósticos adicionales para optimizar los recursos de la terapéutica.

HIPOTESIS

*** DE INVESTIGACIÓN**

La neoformación de vasos sanguíneos se presenta en la queratosis friccional y en el carcinoma epidermoide; incrementándose el grado de vascularidad con el grado de malignidad del carcinoma epidermoide.

*** NULA**

No existe asociación entre el grado de malignidad y la inmunoexpresión de la angiogénesis.

*** ALTERNA**

La inmunoexpresión de la angiogénesis se presenta indistintamente en las dos lesiones en estudio.

OBJETIVOS

*** GENERAL**

Determinar la inmunoexpresión de CD34 como marcador angiogénico en el carcinoma epidermoide y correlacionarlo con su grado de malignidad.

*** ESPECIFICOS**

- Observar la expresión del marcador CD34 en queratosis friccional.
- Observar la expresión del marcador CD34 en carcinoma epidermoide.
- Cuantificar el grado de expresión de CD34 en ambas lesiones.
- Correlacionar la expresión de CD34 con el grado de malignidad del carcinoma epidermoide.

MATERIAL Y METODOS

Tipo de estudio

Retrospectivo
Transversal
Observacional

Población de estudio

Tejido de pacientes diagnosticados como queratosis friccional y carcinoma epidermoide.

Criterios de inclusión

Todos los casos diagnosticados histopatológicamente como queratosis friccional y carcinoma epidermoide.

Criterios de exclusión

Todos los casos que no sean diagnosticados histopatológicamente como queratosis friccional y carcinoma epidermoide y que no exista tejido suficiente para el estudio.

Variables

Independientes:

Marcador de angiogénesis CD34

Dependientes:

Queratosis friccional
Carcinoma epidermoide

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

- * Endotelial cell (CD34) Monoclonal, Mouse IgG₁ [QB End/10] AM236-5M
- * ABC (Elite, PK-6102 Mouse IgG VECTOR
- * Cromógeno Peroxidase substrate Kit DAB. SK 4100 VECTOR

METODOLOGÍA

Para llevar a cabo este estudio, se seleccionaron 12 casos diagnosticados como hiperqueratosis y 12 de carcinoma epidermoide 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.

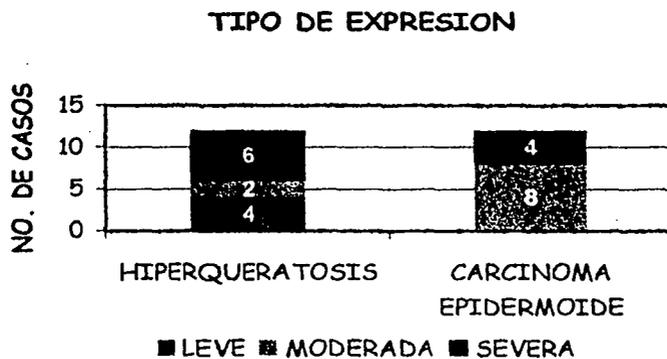
Una vez realizados estos pasos se lavaron y se colocaron en un vaso de Coplin con agua. Se realizó la contratinción, se filtró la hematoxilina y se dejaron en agua caliente. Finalmente, las laminillas se deshidrataron en alcohol y se montaron.

Para obtener los resultados las laminillas se observaron en un microscopio de campo claro a 10 y 40x, evaluando la expresión de las células CD34+ en nula, leve, moderada y severa; posteriormente se cuantificaron los vasos y las células expresadas en 20 campos a 40x, registrando los resultados en hojas de recolección de datos. Se obtuvieron porcentajes, rangos, promedio, desviación estándar y se aplicó la prueba de χ^2 para análisis estadístico.

RESULTADOS

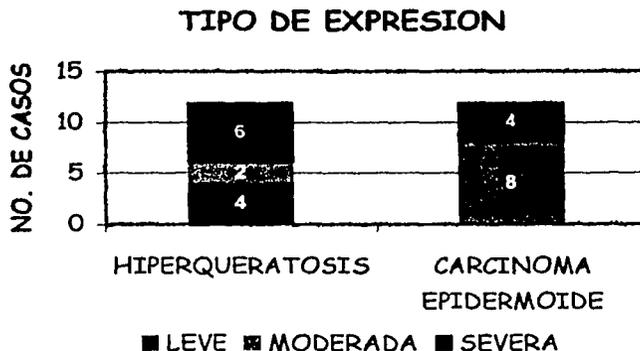
Se examinaron 12 casos diagnosticados como queratosis y 12 como carcinoma epidermoide. Los cortes teñidos con H&E se observaron al microscopio para establecer el tipo de queratosis y el grado histológico de los carcinomas epidermoides, de acuerdo a los criterios de Jakobson. Dentro de las lesiones queratósicas encontramos 2 con hiperqueratosis, 5 con hiperparaqueratosis, 4 con hiperortoqueratosis y 1 displasia leve localizada. En cuanto a los carcinomas epidermoides, 3 casos fueron de bajo grado de malignidad, 5 de grado intermedio y 4 de alto grado de malignidad.

Después de obtener el diagnóstico de las lesiones, se examinaron al microscopio los cortes teñidos con CD-34 para clasificar el tipo de inmunexpresión en leve, moderada y severa, de acuerdo a la intensidad de la tinción. La gráfica 1 muestra el número de lesiones que presenta cada uno de los diversos grados de tinción. Es importante observar que ninguno de los casos de carcinoma epidermoide mostró un grado leve de inmunexpresión de CD-34.



Gráfica 1. Tipo de expresión de CD-34

Posteriormente, se elaboró una relación del grado histológico de malignidad de los carcinomas epidermoides con el tipo de inmunoexpresión de CD-34. En la gráfica 2 se observan los resultados obtenidos.



Gráfica 2. Gradificación histológica en relación con la expresión de CD-34

Al realizar las observaciones al microscopio se observó la distribución de vasos sanguíneos en diversos patrones: 1) adyacentes a la lesión, 2) en los extremos y adyacentes a la lesión, 3) en la profundidad y adyacentes a la lesión, o 4) de distribución generalizada. Además, la estructura vascular puede estar o no asociada a infiltrado inflamatorio. Al analizar dichos parámetros se obtuvieron los resultados que se observan en la tabla 1.

Tabla 1. Distribución de la estructura vascular con respecto al sitio de la lesión.

Lesión	Adyacentes	Extremos y adyacentes	Profundidad y adyacentes	Distribución generalizada
Hiperqueratosis	0	2	1	9
C. epidermoide	3	0	0	9

En relación con la presencia o ausencia de infiltrado inflamatorio, tenemos que en 2 casos (16.6%) de hiperqueratosis y 1 caso (8.3%) de carcinoma epidermoide no hubo asociación con infiltrado inflamatorio.

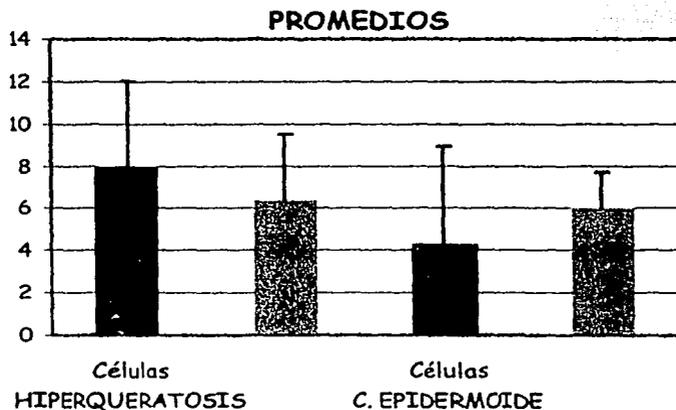
Se realizaron observaciones en microscopio óptico para cuantificar el número de vasos y células CD-34+ aisladas por campo en 20 campos a 40x, en cada una de las laminillas. La tabla 2 muestra el valor promedio obtenido en cada caso.

Tabla 2. Promedios de valores obtenidos en cada caso.

QUERATOSIS	PROMEDIO CELULAS +	PROMEDIO VASOS
1	7.8	9.5
2	13.8	7.2
3	8.5	6.2
4	7.4	8.1
5	3.5	6.5
6	9.1	8.5
7	4.5	6.6
8	1.8	7.0
9	3.5	4.5
10	13.5	4.5
11	11.8	4.7
12	11.0	4.5
PROMEDIO	8.0	6.4
DS	4.0	3.1

CARCINOMA EPIDERMOIDE	PROMEDIO CELULAS	PROMEDIO VASOS
1	6.1	5.7
2	1.5	6.5
3	0.4	6.5
4	17.3	6.0
5	1.4	3.4
6	1.8	7.3
7	1.0	6.0
8	3.2	4.5
9	2.4	6.3
10	4.3	5.1
11	7.7	4.7
12	4.3	10.1
PROMEDIO	4.2	6.0
DS	4.6	1.6

En la gráfica 3 se pueden apreciar dichos valores.



Gráfica 3. Promedios de células y vasos contados al microscopio.

FOTOMICROGRAFIAS

A continuación se presentan los casos más representativos del estudio. La **figura 9** corresponde a una lesión paraqueratósica. En la **figura 9a** podemos apreciar la capacidad del anticuerpo para CD34 para reaccionar con las células endoteliales de los vasos sanguíneos. Este caso presentó promedio individual más alto (13.8 ± 4.0) de células CD34+ dentro de las lesiones queratósicas.

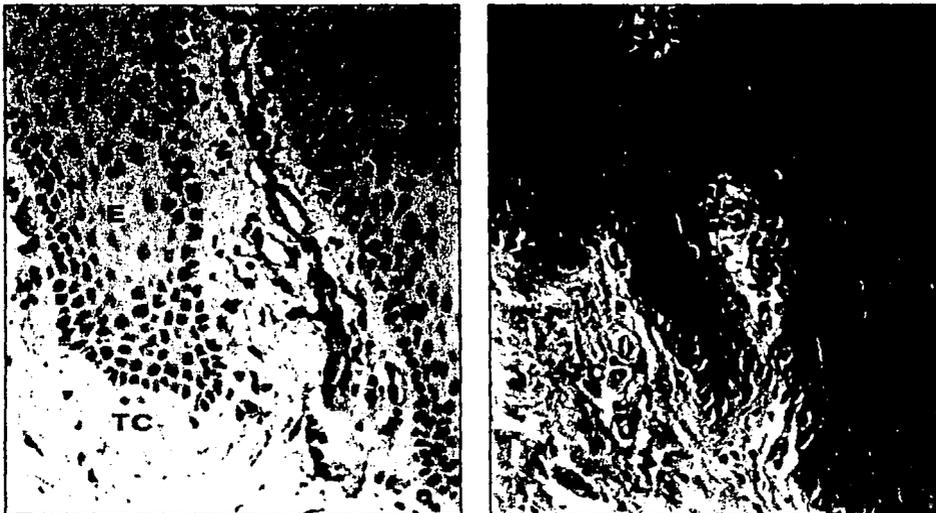


Figura 9. Paraqueratosis. a) Técnica CD-34, b) Técnica H&E.

E = epitelio, TC = tejido conectivo

TEST CON
FALLA DE ORIGEN

Durante las observaciones al microscopio, un caso del grupo de lesiones queratósicas presentó parámetros suficientes para ser diagnosticado como displasia leve (**Fig. 10 a y b**). El promedio individual (13.5 ± 4.0) de células CD-34+, es muy parecido al del caso anterior; no obstante, el número promedio de vasos positivos fue menor.

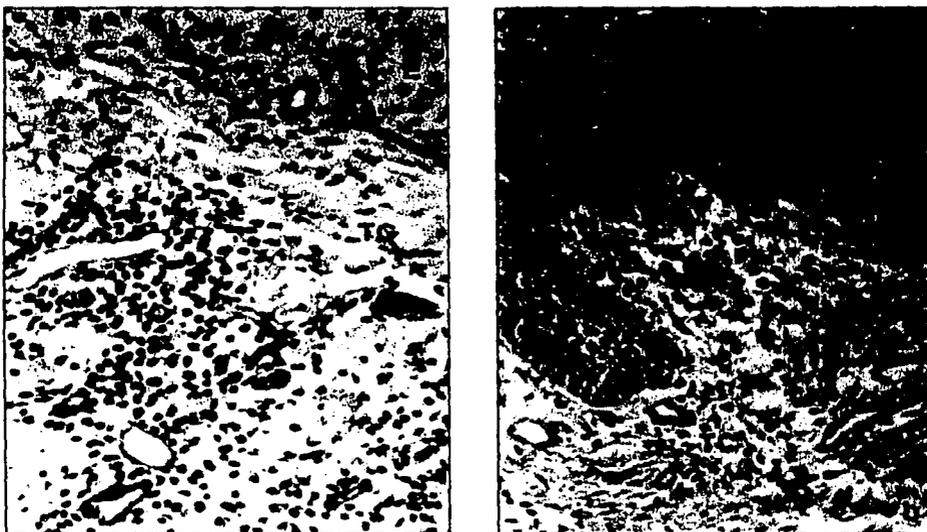


Figura 10. Displasia leve localizada. a) Técnica CD-34, b) Técnica H&E.
E = epitelio, TC = tejido conectivo

Las figuras 11 a y b, 12 a y b y 13 a y b corresponden a carcinomas epidemoides de bajo, intermedio y alto grado de malignidad respectivamente. Es importante comentar que el caso de carcinoma de alto grado de malignidad presentó el número promedio más bajo (0.4 ± 4.6) de células CD-34+ dentro de su grupo, seguido por el caso de carcinoma epidemoides de grado intermedio con un promedio de 1.0 células CD-34+. El caso de bajo grado de malignidad, presentó un promedio individual de 1.5 células CD-34+. En cuanto al promedio de vasos sanguíneos positivos al anticuerpo, los tres casos mostraron promedios individuales muy cercanos al promedio general del grupo (6.02 ± 1.6).



Figura 11. Carcinoma epidermoide de bajo grado de malignidad.

a) Técnica CD-34, b) Técnica H&E.

TEJIDO CON
FALLA DE ORIGEN

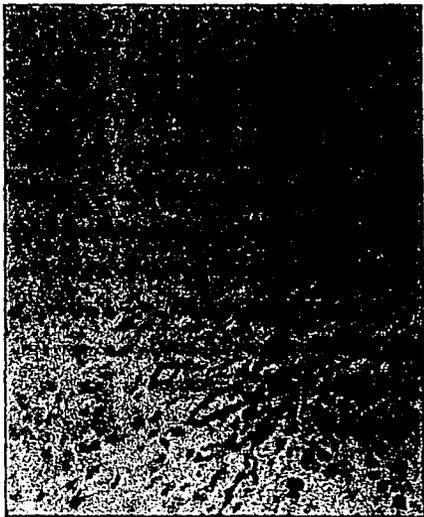


Figura 12. Carcinoma epidermoide de grado intermedio de malignidad.

a) Técnica CD-34, b) Técnica H&E.

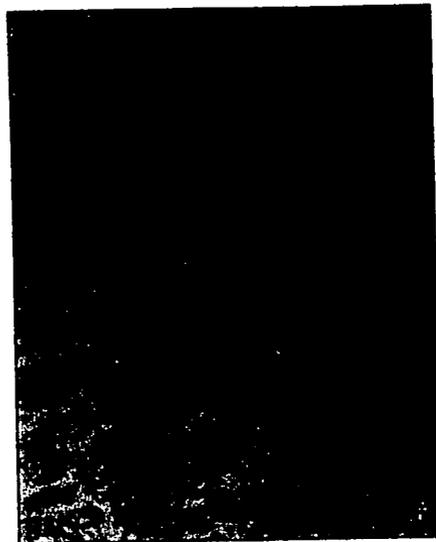
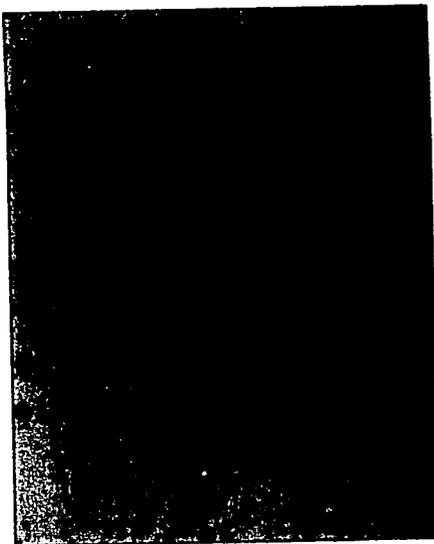


Figura 13. Carcinoma epidermoide de alto grado de malignidad.
a) Técnica CD-34, b) Técnica H&E.

ANALISIS ESTADISTICO

En este estudio se utilizó la prueba de χ^2 para determinar la significancia estadística de los valores obtenidos. La fórmula es la siguiente:

$$\chi^2 = \frac{N(ad-bc)}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}$$

Al aplicar dicho análisis estadístico, obtuvimos una χ^2 de 0.7537, lo cual nos da un grado de confiabilidad de 0.05.

DISCUSION

Existen estudios clínicos y experimentales que han demostrado la correlación que existe entre la angiogénesis de la neoplasia primaria y el incremento de la actividad metastásica, así como con el tamaño y su pronóstico^{16,17,22-24,31,32,34,35,37}; en base a esto, se ha considerado que la vascularización tumoral es el resultado de la angiogénesis, y ha sido propuesta como factor de agresividad, ya que las neoplasias pueden inducir mecanismos angiogénicos que propicien la neovascularización^{13,22-25,32,35,36}.

Esto ha sido soportado por estudios angiogénicos de neoplasias que no son de cabeza y cuello, utilizando anticuerpos endoteliales distintos al que se utilizó en este estudio^{34,36}. En la actualidad, los resultados obtenidos en búsqueda de una correlación directa entre la angiogénesis y las metástasis en cáncer de cabeza y cuello han sido inconsistentes^{16,34,36}. Gleich y cols.^{34,36} reportan que Lyon y cols. evaluaron 19 neoplasias de cavidad bucal utilizando antígeno CD-31 y detectaron un número mayor de vasos que en condiciones normales, pero no pudieron correlacionarlo con la presencia de metástasis, recurrencia o supervivencia, al igual que Leedy y cols. que no encontraron correlación significativa en tumores con estadio T1 y T2. Así mismo, ellos mencionan que Williams y cols. si encontraron correlación entre la cantidad de microvasos, las metástasis y las recurrencias tumorales al evaluar tumores de boca en estadio clínico T1-T3 utilizando CD-31. En otro estudio, Penfold y cols.³², mencionan que Albo y cols. reportaron una correlación entre el incremento en la cantidad de microvasos y el desarrollo subsecuente de recurrencias tempranas y agresivas en un seguimiento de 10 pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello.

Estos resultados contradictorios sugieren que el cáncer de cabeza y cuello puede presentar un patrón diferente de otros tumores malignos del ser humano y depender menos de la neovascularización para su crecimiento en etapas tempranas, probablemente debido a la vascularización extrema de la cavidad bucal. Sin embargo, conforme las neoplasias de cavidad bucal crecen, la capacidad de inducir neovascularización puede ser determinante para el crecimiento de la neoplasia primaria y para el potencial metastásico³⁶. Durante la revisión bibliográfica ninguno de los autores mencionó el patrón de neoformación vascular en lesiones benignas o queratósicas. Por lo anterior, en el presente trabajo se decidió evaluar la cantidad de vasos en lesiones queratósicas, utilizándolas como control y en carcinomas epidermoides de diferentes grados de malignidad, con el objetivo de evaluar la cantidad de vasos sanguíneos, la neoformación de ellos y las células aisladas positivas a CD34. Este anticuerpo ha sido utilizado por Yoshida y cols.²⁸, en un estudio de articulación

temporomandibular y también por Garrity y cols.⁵⁰ en estudios de remoción inmunomagnética de células CD34+ intratumorales en carcinoma epidermoide, mencionando que estas corresponden a células supresoras naturales.

Tanto CD31 como CD34 presentan ventajas y contraindicaciones; por ejemplo, se ha demostrado que CD-31 no discrimina entre las células endoteliales sanguíneas en tejidos sanos y la neovascularización tumoral, así como entre el endotelio inactivo, en proliferación o migración¹⁶, al mismo tiempo que se expresa durante la diferenciación de células mielomonocíticas en ganglios linfáticos³⁵. Al igual que nosotros, Yoshida y cols.²⁸ utilizaron CD-34 y reportaron una expresión de manera constante en vasos de pequeño y mediano calibre, mientras que en los vasos más grandes la respuesta positiva fue variable y en algunas arterias fue negativa en la gran mayoría.

Como se mencionó anteriormente el antígeno es un proteína transmembrana presente en células endoteliales, fibroblastos embrionarios y células progenitoras linfohematopoyéticas; estas moléculas se encuentran asociadas con los microprocesos endoteliales que se llevan a cabo en los extremos de los brotes vasculares^{28,49}. En este trabajo se utilizó el anticuerpo Endotelial cell (CD34) Monoclonal, Mouse IgG₁ (QB End/10) AM236-5M, encontrando durante la observación microscópica, una distribución de vasos sanguíneos CD34+ en diversos patrones tales como: adyacentes a la lesión, en los extremos y adyacentes a la lesión, en la profundidad y adyacentes a la lesión y en distribución generalizada; además, la estructura vascular se encontró asociada o no a infiltrado inflamatorio. El promedio de vasos sanguíneos CD34+ en las lesiones queratósicas fue de 5.45 ± 3.11 y en los carcinomas de 6.02 ± 1.64 , mientras que el de células aisladas CD34+ en lesiones queratósicas fue de 8.01 ± 4.04 y en los carcinomas de 4.28 ± 4.64 . Esto confirma que el anticuerpo utilizado si se expresa en los vasos de pequeño calibre, que se encuentran asociados a queratosis y carcinoma epidermoide, ya que todos los casos utilizados en el estudio fueron positivos, con una expresión semejante a la de Yoshida y cols.²⁹

Aunque todos los casos fueron positivos a CD34 no encontramos correlación estadísticamente significativa entre el conteo de vasos y el grado de malignidad en los casos de carcinoma epidermoide (χ^2 0.7537; $p = 0.05$).

CONCLUSIONES

- Los 24 casos del estudio fueron positivos a CD34 a nivel de pared vascular.
- En todos los casos se encontraron células aisladas CD 34+.
- CD-34 se expresó indistintamente en queratosis y carcinoma epidermoide, independientemente del grado histológico de este último.
- Fue posible observar la neoformación vascular debido a que la expresión de CD-34 permitió evidenciar los brotes capilares.
- Posiblemente, sin poderlo afirmar, las células CD34+ aisladas pueden ser NS.

BIBLIOGRAFÍA

1. Junqueira LC, Carneiro J. *Histología Básica*. 4ª ed. Ed. Masson, S. A. 1996.
2. Moffett D, Moffett S, Schawf C. *Human Physiology*. 2nd ed. *Foundations and Frontiers*. 1993.
3. Gartner LP, Hiatt JL. *Histología. Texto y Atlas*. Ed. McGraw-Hill Interamericana. 1997.
4. Guyton AC. *Textbook of Medical Physiology*. 9th edition. W. B. Saunders Company. 1997. Philadelphia, PA.
5. Cornelis JF, Meade-Tollin LC, Bosman FT. *Metastasis*. *American Scientist* 1998; 86 No. 2: 130-141.
6. Klein G, Klein E. *Evolution of Tumors and the Impact of Molecular Oncology*. *Nature* 1985; 315 16 may: 190-195.
7. Feldman M, Eisenbach L. ¿Por qué es metastásica la célula tumoral? *Patología*. Ed. Salvat. 1989.
8. Park M, George F, Woude V. *Cancer. Principles and practice of oncology*. 3rd Edition.
9. Sapp JP, Eversole LR, Wysocki GP. *Patología Oral y Maxilofacial Contemporánea*. Harcourt Brace. 1998.
10. Ord RA, Blanchaert RH. *Oral Cancer. The Dentist Role in Diagnosis, Management, Rehabilitation and Prevention*. Quintessence Books. 2000.
11. Okafuji M, Ita M, Hayatsu Y, Shinozaki F, Oga A, Sasaki K. *Identification of Genetic Aberrations in Cell Lines from Oral Squamous Cell Carcinomas by Comparative Genomic Hybridization*. *Journal of Oral Pathology Medicine* 1999; 28: 241-245.
12. Geneser F. *Histología. Sobre Bases Biomoleculares*. 3ª ed. Ed. Médica Panamericana. 1999.
13. Robbins SL; Cotran RS, Kumar V. *Patología Estructural y Funcional*. 6ª edición. Ed. McGraw-Hill Interamericana. 1999.
14. Fariña J. *Anatomía Patológica*. ED. Salvat. 1996
15. Ville C, Solomon EP, Berg LR, Martin DW. *Biología de Ville*. 3ª ed. Ed. Interamericana McGraw-Hill. 1996.
16. Gasparini G, Weidner N, Maluta S, Pozza F, Boracchi P, Mezzetti M, Testolin A, Bevilacqua P. *Intratumoral Microvessel Density and p53 Protein: Correlation with Metastasis in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma*. *International Journal of Cancer* 1993; 55: 739-744.
17. Dameron KM, Volpert OV, Tainsky MA, Bouck N. *Control of Angiogenesis in Fibroblasts by p53 Regulation of Thrombospondin-1*. *Science* 1994; 265:1582-1584.

18. Bãnkfalvi A, Piiffkò J. Prognostic and Predictive Factors in Oral Cancer: the Role of the Invasive Tumour Front. *Journal of Oral Pathology Medicine* 2000; 29: 291-298.
19. Regezi JA, Sciubba JJ. *Patología Bucal. Correlaciones Clinicopatológicas*. 3ª ed. Ed. McGrawHill-Interamericana. 1999. México.
20. Cawson RA, Everson JW, Binnie WH. *Oral Pathology and Diagnosis. Color Atlas with Integrated Text*. 2nd ed. Wolfe. 1993
21. Acker H, Pietruschka F, Deutscher J. Endothelial Cell Mitogen Released from HT29 Tumor Cells Grown in Monolayer or Multicellular Spheroid Culture. *Max-Plank-Institut für Systemphysiologie, Rheinlanddamm* 1990; 376-377.
22. Klijanienko J, El-Naggar AK, Braud F, Rodríguez PJL, Rodríguez R, Itzhaki M, Russo A, Janot F, Luboinski B, Cvitkovik E. Tumor Vascularization, Mitotic Index, Histopathologic Grade, and DNA Ploidy in the Assessment of 114 Head and Neck Squamous Cell Carcinomas. *Cancer* 1995; 75 No 7: 1649-1656.
23. Tipoe GL, Jin Y, White FH. The Relationship Between Vascularity and Cell Proliferation in Human Normal and Pathological Lesions of the Oral Cheek Epithelium. *Oral Oncology, European Journal of Cancer* 1996; 32B No 1: 24-31.
24. <http://www.angioworld.com/angiogenesis.htm>
25. Mendelsohn J, Howley P, Israel MA, Liotta L. *The Molecular Basis of Cancer*. Ed. Saunders Company. 1995.
26. Zebrowski BK, Liu W, Ramírez K, Akagi Y, Mills GB, Ellis LM. Markedly Elevated Levels of Vascular Endothelial Growth Factor in Malignant Ascites. *Annals of Surgical Oncology* 1999; 6 No 4: 373-378.
27. Peichev M, Naiyer AJ, Pereira D, Zhu Z, Lane WJ, Williams M, Oz MC, Hicklin DJ, Witte L, Moore MAS, Raffi S. Expression of VEGFR-2 and AC133 by Circulating Human CD-34⁺ Cells Identifies a population of Functional Endothelial Precursors. *Blood* 2000; 95 No 3: 952-958.
28. Yoshida H, Fujita S, Nishida M, Iizuka T. Angiogenesis in the Human temporomandibular Joint studied by Immunohistochemistry for CD34 Antigen. *Journal of Oral Pathology Medicine* 1999; 28: 289-292.
29. Brown LF, Perse B, Jackman RW, Tognazzi K, Guidi AJ, Dvorak HF, Senger DR, Connolly JL, Schnitt SJ. Expression of Vascular Permeability Factor (Vascular Endothelial Growth Factor) and Its Receptors in Breast Cancer. *Hum Pathology* 1995; 26: 86-91.
30. Jouan V, Canron X, Alemany M, Caen JP, Quentin G, Plouet J, Bikfalvi A. Inhibition of in Vitro Angiogenesis by Platelet Factor-4-Derived Peptides and Mechanism of Action. *Blood* 1999; 94 No 3: 984-993.
31. Fidler IJ, Ellis ML. The Implication of Angiogenesis for the Biology and Therapy of Cancer Metastasis. *Cell* 1994; 79: 185-188.

32. Penfold CN, Partridge M, Rojas R, Langdon JD. The Role of Angiogenesis in the Spread of Oral Squamous Cell Carcinoma. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 1996; 34: 37-41.
33. Johnson NW. Risk Markers for Oral Diseases. *Oral Cancer: detection of Patients and lesions at Risk. Volume 2.* Cambridge University Press. 1991.
34. Gleich LL, Biddinger PW, Pavelic ZP, Gluckman ZL. Tumor Angiogenesis in T1 Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma: Role in Predicting Tumor Aggressiveness. *Head & Neck* July/August 1996; 343-346.
35. Horak ER, Leek R, Klenk N, Le Jeune S, Smith K, Stuart N, Greenall M, Stepniwska K, Harris AL. Angiogenesis, Assessed by Platelet/Endothelial Cell Adhesion Molecule Antibodies, as Indicator of Node Metastases and Survival in Breast Cancer. *The Lancet* 1992; 340: 1120-1124.
36. Gleich LL, Biddinger PW, Duperier FD, Gluckman JL. Tumor Angiogenesis as a Prognostic Indicator in T2-T4 Oral Cavity Squamous Cell Carcinoma: a Clinical-Pathologic Correlation. *Head & Neck* 1997; 19:276-280.
37. Dunstan S, Powe DG, Wilkinson M, Pearson J, Hewitt RE. The Tumor Stroma of Oral Squamous Cell Carcinomas Show Increased Vascularity Compared with Adjacent Host Tissue. *British Journal of Cancer* 1997; 75 No 4: 559-565.
38. Fenoglio-Preiser CM, Willman CL. Molecular Diagnosis in Pathology. *Techniques in Diagnostic Pathology.* Williams & Wilkins. 1991.
39. Sicher H. *Histología y Embriología Bucales.* Ed. Científicas. La Prensa Médica Mexicana S.A. 1987.
40. Ten Cate AR. *Histología Oral. Desarrollo, Estructura y Función.* 2ª ed. Ed. Médica Panamericana. 1986.
41. Flores G. *Patología Oncológica.* Ed. McGraw-Hill Interamericana. 1997.
42. Scully C. *Handbook of Oral Disease: Diagnosis and Management.* Ed. Martin Dunitz. 1999. New York, NY USA.
43. Million RR, Cassisi NJ. *Management of Head and Neck Cancer. A multidisciplinary Approach.* 2nd ed. J. B. Lipincontt Company. 1994.
44. Rassekh CH, Johnson JT, Eibling DE. Circulating Markers in Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck: A review. *Oral Oncology, European Journal of Cancer* 1994; 30B No 1: 23-28.
45. Henry JB. *Diagnóstico y Tratamiento Clínicos por el laboratorio.* 9ª ed. Ed. Masson. 1993.
46. García MR. *Laboratorio de Anatomía Patológica.* Ed. McGraw-Hill Interamericana. 1997.
47. Harmening DM. *Clinical Hematology and Fundaments of Hemostasis.* 3rd ed. F. A. Davis Company Philadelphia 1997.

48. Muro-Cacho CA. The Role of Immunohistochemistry in the Differential Diagnosis of Soft Tissue Tumors. *Cancer Control Journal* 2000; 5 No 1:
49. <http://www.med.virginia.edu/medicine/basic-sci/biomed/ley>
50. Garrity T, Pandit R, Wright MA, Benefield J, Keni S, Young MR. Increased Presence of CD34+ Cells in the Peripheral Blood of Head and Neck Cancer Patients and their Differentiation into Dendritic Cells. *International Journal of Cancer* 1997; 73: 663-669.
51. Lataillade JJ, Clay D, Dupuy C, Rigal S, Jasmin C, Bourin P, Le Bousse-Kerdilès MC. Chemokine SDF-1 Enhances Circulating CD34⁺ Cell Proliferation in Synergy with Cytokines: Possible Role in Progenitor Survival. *Blood* 2000; 95 No 3: 756-768.