

01421
47



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

**POSIBLE MECANISMO DE INDUCCIÓN DE CÁNCER BUCAL
EN LA MUCOSA BUCAL POR EL ETANOL A TRAVÉS DE LA
ENZIMA ALCOHOL DESHIDROGENASA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA
P R E S E N T A :
AILEEN BUENO CARDOSO

Jose Antonio Morales Gonzalez
DIRECTOR Y ASESOR DE TESIS: DR. JOSÉ ANTONIO MORALES GONZALEZ

CD. UNIVERSITARIA, MÉXICO, D. F.

2003



FACULTAD DE
ODONTOLOGIA

A

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

La presente tesis Fue realiza bajo la tutoría del Dr. en Ciencias Biológicas José Antonio Morales González del Laboratorio de Bioquímica Médica de la FES Iztacala UNAM. (GRACIAS)

Este trabajo fue apoyado parcialmente por el donativo IN211402-3 DEL PAPIIT-DEGAPA, UNAM.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Bueno Cardose Ailcen

FECHA: 8/abril 05

FIRMA: [Firma]

B

**Cuando quiero alguna cosa,
todo el universo conspira para
que lo consiga.**

El alquimista (Paúl Coelho)

**A mis padres * Ofelia Cardoso Sánchez
* Gerardo Bueno Martínez**

**A mis hermanos * Gerardo Amed Bueno Cardoso
* Adisson Bueno Cardoso**

(GRACIAS)

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
ETANOL	3
METABOLISMO DEL ETANOL	6
a) ADH	6
b) MEOS	9
c) SISTEMA DE LA CATALASA	10
CÁNCER	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
JUSTIFICACIÓN	14
HIPÓTESIS	15
OBJETIVOS	16
DISEÑO Y DURACIÓN	17
MATERIAL Y METODOS	18
a) PROCEDIMIENTO GENERAL	18
CRITERIOS	19
a) INCLUSIÓN	19
b) EXCLUSIÓN	19
c) ELIMINACIÓN	19
METODOLOGÍA	20
a) DETERMINACIÓN DE ADH CLASE III	20
b) DETERMINACIÓN DE ADH POR WESTERN BLOT	21
c) MICROSCOPIA DE LUZ	21
CANTIDAD DE MUESTRA	22
ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD	22
EXPECTATIVAS	23
RECURSOS FINANCIEROS	23
RESULTADOS	24
DISCUSIÓN	37
CONCLUSIONES	39
RECURSOS DISPONIBLES	40
REFERENCIAS	41
ABREVIATURAS	50
AGRADECIMIENTOS	51

“El camino al éxito siempre está en construcción”.
Anónimo.

“Hay que decir que nunca he tenido las facilidades mentales que otros encuentran sin fatiga en torno a la ciencia”.
Anónimo.

“La medicina al servicio del hombre no del dinero”
Anónimo.

E **TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

RESUMEN

En investigaciones recientes se ha demostrado que los hábitos como el tabaquismo y el alcoholismo son factores de riesgo para el desarrollo del cáncer en la mucosa de la cavidad bucal. Sin embargo actualmente no se conoce con exactitud el mecanismo por el cual estos factores participan en el desarrollo de esta patología. Específicamente en los alcohólicos, se cree que el acetaldehído, por ser el resultado del metabolismo del etanol, probablemente sea el causante directo del desarrollo de cáncer en la mucosa de la cavidad bucal. Partiendo de esta premisa, probablemente la enzima ADH, específicamente la isoforma III participe directamente, conociendo que el alcohol deshidrogenasa clase III es la encargada de metabolizar el etanol en la cavidad bucal. Por lo tanto, se esperaba que participara directamente en el desarrollo de las alteraciones de estas células que en forma crónica podrían llegar a desarrollar cáncer. En estudios epidemiológicos realizados por la OMS, se demostró recientemente que existe un incremento en el consumo del alcohol, no importando el género, ni raza. En la actualidad la población juvenil consume, más cantidad y con más frecuencia el alcohol, lo cual significa que nos enfrentamos ante problemas que repercuten sustancialmente en la salud, así como en aspectos sociales y económicos, de cualquier forma estamos inmersos en el problema del alcoholismo. Por lo anterior, el presente trabajo de investigación se realizó para estudiar los efectos del consumo crónico de etanol sobre la enzima ADH clase III, en ratas macho de la cepa Wistar con un peso promedio de $250g \pm 20gr$, las cuales se dividieron en dos grupos, al primer grupo se les administró etanol al 36% durante 84 días (12 semanas) y a las ratas de este grupo se les sacrificaron cada 7 días con previa anestesia con pentobarbital. El segundo grupo fue el grupo control, a ambos grupos se les extrajo mucosa bucal para analizar la cantidad de la ADH clase III por la técnica de Western blot; para análisis histológicos por microscopia de luz y para determinar la actividad enzimática específica de la ADH clase III. Los resultados obtenidos muestran que la actividad de la enzima alcohol deshidrogenasa clase III presentó un aumento a partir de la semana 3 mostrando un pico en la semana 10, este incremento no se modificó; de igual manera se ve reflejado en Western blot la ADH clase III mostrando su punto pico en la semana 8, mientras que en la histología se observan cambios morfológicos a partir de la semana 4 hasta la semana 12, mostrando elevados grados de acantosis, hiperqueratosis, queratohialina y ulceración. Es así como se concluye que el consumo crónico de etanol modifica la cantidad y actividad de la enzima ADH clase III, presentando evidentes cambios metabólicos y morfológicos en la mucosa bucal durante un consumo crónico de etanol.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INTRODUCCIÓN

En México no se tienen registros exactos con respecto a la frecuencia del cáncer en la cavidad bucal, si se sabe que ocupa el 6 lugar (Prakash C. Gupta y cols. 1999) entre los diferentes tipos de cáncer a nivel mundial. (Gary Escoda y cols., en 1997) señalaron que entre los factores causantes de cáncer bucal se encuentra en un gran porcentaje el tabaquismo y el alcoholismo ambos en un consumo crónico, presentando una importante relación, con esta patología (cáncer bucal) se ha determinado que existe un aumento del 30% en los últimos años a nivel mundial. De acuerdo con investigaciones recientes, la patología comienza a tener sus inicios a los 18 años de edad (Fraumeni Jr y cols. 1999). La mortalidad y morbilidad con respecto al cáncer de la cavidad bucal por alcoholismo, constituye un 3% de los tumores malignos, que afectan principalmente a varones (Mico Salaspuro y cols. 1999), sin embargo hoy en día existe una relación de 2 a 1 con respecto a las mujeres y con mayor frecuencia entre la tercera década de vida. La tasa de incidencia de cáncer bucal es de 2.5 veces superior en varones y 1.5 en las mujeres, con un porcentaje mayor en raza negra que en raza blanca. Las estadísticas revelan que el alcoholismo en México en el periodo de 1990 a 1995 presentó un notable incremento en el número de muertos y enfermos por algunos de los padecimientos relacionados con el consumo de bebidas alcohólicas en forma crónica, como es la cirrosis hepática y destacando también el cáncer bucal cuya tasa de mortalidad incrementó de 15 a 35 por cada cinco mil derechohabientes del I.M.S.S (Instituto Mexicano del Seguro Social 1997) y en este mismo lapso creció la tasa de enfermos por cirrosis, pasando de 13.3 a 19.8 por cada 100 mil derechohabientes, este significativo hecho nos lleva a creer que cada vez es mayor el consumo de bebidas alcohólicas a una edad más temprana antes de los treinta años de edad. Por desgracia en México se encuentra una cultura de alcoholismo, favorecida a causa de la excesiva disponibilidad que hay en el país.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A continuación se describe el metabolismo del etanol, conocer como se metaboliza el etanol, es importante para identificar los probables mecanismos de daño de esta droga hacia los tejidos de la mucosa de la cavidad bucal.

ETANOL.

Normalmente el etanol se encuentra por destilación de disoluciones diluidas, el de uso comercial contiene 95% en volumen de etanol y un 5% de agua. Ciertos agentes deshidratantes extraen el agua residual y producen etanol absoluto. El etanol tiene un punto de fusión de $-114.1\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un punto de ebullición de $78.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ con una densidad relativa 0.789 a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ desde la antigüedad se conoce que el etanol es obtenido por fermentación de azúcares. (Rafael Velasco F y cols., en 1992).

El alcohol es una droga con alto poder adictivo, es por ello que la sociedad lo consume crónicamente, ya que su amplia tolerancia social y una fácil adquisición lo convierte en una sustancia doméstica. Provocando una enfermedad crónica y habitualmente progresiva producida por el consumo crónico de alcohol, la Organización Mundial de la Salud (OMS) 1999 define al alcoholismo crónico como una ingestión diaria ó al menos de 5 a 6 días a la semana y en más de 100 mililitros de alcohol absoluto, cada día. Esto equivale a más de un cuarto de litro de cualquier bebida destilada (tequila, vodka, whisky, ginebra). Para una mejor orientación, (Rafael Velasco y cols., en 1999), dice que un típico trago (vaso, copa) de bebida alcohólica es equivalente a:

- Una copa (de las pequeñas) de bebida destilada: tequila, whisky, vodka, ginebra, tienen entre 40 y 50 % de alcohol.
- Una copa de mesa de vino " fuerte" (el vino de postre) tiene de alrededor del 20% de alcohol.
- Un vaso (copa grande, para vino) de vino de mesa que generalmente tiene entre 10 y 20% de alcohol.

El alcoholismo parece ser producido por la combinación de diversos factores fisiológicos, psicológicos y, siendo característico principalmente por la dependencia emocional y a la vez orgánico. El alcohol ocasiona un daño cerebral progresivo y

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

finalmente la muerte. Según la OMS (2001) el alcoholismo afecta más a los adultos (hombres), final de la adolescencia y principios de la tercera década de la vida Presentando dificultades sociales, ocasionando un gran aumento de problemas a nivel médico y no médico. Existen 10 criterios para el diagnóstico del alcoholismo, OMS (2001):

- Preocupación por el alcohol o por la próxima oportunidad de beber
- Aumento de la tolerancia del alcohol
- Tendencia a apurar los primeros tragos
- Tendencia a beber solo
- Empleo de alcohol como medicamento
- Amnesia retrógrada
- Tendencia a tener una botella de alcohol de reserva o escondida
- Ingestión no premeditada de alcohol
- Temblores matutinos
- Tendencia a beber en las mañanas

La asociación Médica Americana define al alcoholismo como una enfermedad caracterizada por la preocupación por el alcohol y la pérdida del control sobre su consumo, lo que da lugar a intoxicaciones alcohólicas repetidas, cronicidad, aumento progresivo en la cantidad ingerida y tendencia a las recívidas. Se acompaña de deterioro físico y conduce a la larga a desajustes emocionales, ocupacionales y sociales. Partiendo con esta premisa podemos decir que el etanol es el que se encuentra íntimamente ligado en el desarrollo de esta enfermedad (alcoholismo).

El etanol por sí mismo es tóxico para cualquier tejido en general, por que es altamente polar ya que interactúa principalmente en los componentes lipídicos de la membrana celular, y así provoca un desequilibrio estructural, afectando de esta manera la función, de la mucosa bucal (Polokop y cols. 1983). Ya que de está forma el alcohol puede dañar a la cavidad bucal afectando principalmente a las membranas celulares. Es ampliamente conocido que las capas extracelulares de lípidos derivan de las membranas celulares que cubren las capas granulares ó intermedias y actúan como barreras permeables hacia el agua y algunos componentes de la cavidad bucal. Se

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

conoce que el etanol ejerce un efecto sobre los fosfolípidos de las membranas celulares. Es por eso que la mucosa bucal expuesta a tóxicos como el alcohol, remuevan fácilmente esos lípidos y así de esta manera causan una mayor permeabilidad. Este proceso nos ayuda a explicar por que las personas que consumen crónicamente el alcohol, presentan modificaciones de la mucosa de la cavidad bucal y probablemente tengan el riesgo de desarrollar cáncer en la mucosa de la cavidad bucal. (William J. Blot 2001).

En la actualidad hay varios reportes en donde se relaciona al consumo crónico de etanol como un factor de riesgo para la aparición del cáncer bucal. El mecanismo por el cual el etanol es el causante de esta neoplasia no ha sido bien identificado, sin embargo, se piensa que los metabolitos del etanol como el acetaldehído podría ser el causante directo de provocar la neoplasia en las partes altas del tubo digestivo (cavidad bucal y faringe) y las partes altas del sistema respiratorio (laringe). Durante la administración crónica de etanol se ha reportado daños al DNA, como por ejemplo mutaciones (Lea C Harty y cols. 1997).

Con relación a la epidemiología, existen reportes de Puerto Rico que es uno de los países con alta incidencia de cáncer bucal, en donde se ha encontrado que la mayoría de los pacientes los cuales presentan esta patología, un 85% tienen antecedentes de un consumo crónico de etanol (Deborah M y cols. 1998); en Francia, existen evidencias de una alta incidencia de morbilidad y mortalidad por el consumo crónico de etanol (Cristine Bouchardy y cols. 2000). Por otra parte, al norte de Italia hay reportes de hospitales que analizan el origen de los tumores en vías aéreas altas, mencionando que el hábito del tabaco y el consumo cónico de etanol fueron uno de los factores que sobresalían dando origen a neoplasias. Sin embargo, los lugares que presentaron mayor incidencia de cáncer fueron la cavidad bucal y la faringe seguido por la laringe y posteriormente el esófago (Silvia Franceschi y cols. 1999). Por último, se ha reportado que en Brasil se relaciona el consumo del etanol como un factor de riesgo para el cáncer bucal. Así como también, mutaciones en al DNA (Tatiana Nociva y cols. 2001).

Es importante destacar el evidente mecanismo así como también los sistemas por medio de los cuales se metaboliza el etanol, y de esta manera poder conocer.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

profundizar y analizar la evidente lesión que ocasiona este tóxico en diferentes órganos del ser humano y en especial en la mucosa de la cavidad bucal.

METABOLISMO DEL ETANOL

El metabolismo del etanol se realiza por tres sistemas bien definidos los cuales son:

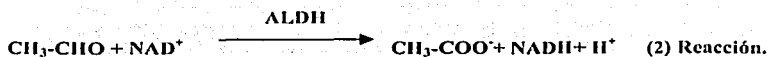
1.- Sistema de la alcohol deshidrogenasa (ADH clase III)

El sistema del alcohol deshidrogenasas se compone de varias enzimas, que en los mamíferos se dividen en seis clases distintas que comprenden 20 isoenzimas diferentes, codificadas por más de 7 genes (Danielsson y cols. 1994; Arnon y cols. 1995). Estas se distribuyen ampliamente en los diferentes órganos y alcanzan su mayor actividad en el hígado, sin embargo presentan un porcentaje considerable en la mucosa bucal (Boleda y cols. 1989; Kennedy y Tipton 1990). Son moléculas diméricas con subunidades de aproximadamente 40 kDa; y cada subunidad se caracteriza por tener 2 átomos de zinc (Das y cols. 1984; Cortot y cols. 1986; Zakim y Boyer 1990) unidos por cisteína, los cuales ayudan a estabilizar la estructura de la enzima (Jelokova y cols. 1994).

Por técnicas inmunohistoquímicas se han localizado estas enzimas alrededor de la vena central (zona 3) del hígado. La ADH hepática se localiza preferentemente en citosol y convierte al etanol en acetaldehído, utilizando como coenzima nicotinamida adenín dinucleótido (NAD^+). El H^+ es transferido del sustrato (etanol) al cofactor (NAD^+), produciendo NADH y acetaldehído (reacción 1) (Lieber 1984c). Posteriormente el acetaldehído es oxidado, predominantemente en las mitocondrias y secundariamente en el citosol (Arnon y cols. 1995), produciendo acetato, por medio de la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH) que utiliza nuevamente como coenzima NAD^+ para producir como productos acetato y NADH (reacción 2).



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Cuantitativamente hablando, la mayor parte del etanol es metabolizado por estas dos enzimas (ADH y ALDH) y una fracción pequeña se metaboliza por los otros sistemas. El equilibrio de la reacción de la ADH está desplazada hacia la formación de etanol; Sin embargo, la rápida e irreversible reacción catalizada por la ALDH facilita el metabolismo del etanol (Lieber 1974; Tottamer 1973; Peter 1982).

En los humanos, el alcohol deshidrogenasa y el aldehído deshidrogenasa son las dos enzimas que catalizan la oxidación de etanol hacia acetaldehído y acetato, respectivamente (Boosron y Li, 1986; Yin y Li, 1989). Basados en sus cinéticas y sus características estructurales, las isoenzimas de las ADH humanas se han agrupado en 5 clases (Vallee y Bazzone, 1983; Yoshida y cols. 1991) (Tabla I). Los rangos de Km para el etanol son los siguientes: ADH clase I (α, β, γ) 4mM; ADH clase II (π) 34 mM; ADH clase III (χ) 3 M; ADH clase IV (μ) 18 mM (Yin y cols. 1990); ADH clase V 28 mM (Chen y Yoshida, 1991). La clase I es altamente sensible a la inhibición por 4-Metilpirazola (4-MP) con una Ki menor a 2 μ M; clase II Ki = 2 mM; clase III es virtualmente insensible a la inhibición; clase IV Ki = 320 μ M. La homología de las secuencias de las proteínas o de los nucleótidos intraclase es aproximadamente del 90% y de interclase es del 60 % (Yasunami y cols. 1991; Yoshida y cols. 1991; Parés y cols. 1992).

Se han purificado y caracterizado de hígado y estómago de humano 5 isoenzimas de la aldehído deshidrogenasa (Tabla II): ALDH1, ALDH2 (Greenfield y Pietruszko, 1977), ALDH3 (Wang y cols. 1990), ALDH4 (Forte-McRobbie y Pietruszko, 1986), y ALDH5 (Kurys y cols. 1989). Basados en las constantes de Michaelis (Km) para acetaldehído, en el humano se dividen en alta Km en el rango mM (ALDH3 83 mM; ALDH4 5mM) (Forte-McRobbie y Pietruszko, 1986; Yin y cols. 1989) y bajo Km en el rango μ M (ALDH1 30 μ M; ALDH2 3 μ M; ALDH5 50 μ M) (Greenfield y Pietruszko, 1977; Kurys y cols. 1989). Aproximadamente el 50% de los orientales tienen deficiencia en la actividad de la ALDH2 mitocondrial de bajo Km (Harada y cols. 1980; Yin y cols. 1988), y esta alteración es atribuible a la sustitución de un simple aminoácido (ácido glutámico por lisina) en la posición 14 del carboxilo terminal (Yoshida y cols. 1984;

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Hempel y cols. 1984). Múltiples formas de ALDH3 se encuentran en la mucosa del estómago. Se ha propuesto el modelo de 2 genes para la ALDH3, que codifican para las cadenas polipeptídicas A y B (Yin y cols. 1988).

Las isoenzimas de la ADH y de la ALDH tienen una distribución en tejidos específicos (Smith, 1986; Yin y Li, 1989; Yoshida y cols. 1991), todas las isoenzimas de la ADH clase I y clase II se expresan en el hígado. La ADH- β se expresa en el pulmón y ADH- γ se expresa en el tracto gastrointestinal; la ADH clase III tiene una distribución universal; la ADH clase IV se encuentra presente en el estómago. Las isoformas de la aldehído deshidrogenasa, ALDH1 y ALDH2 se expresan en hígado, pulmón y tracto gastrointestinal. Múltiples formas de la ALDH3 se han detectado en estómago y pulmón pero no en hígado. La carencia de la actividad de la ALDH2 en los orientales causa reacción de sensibilidad al alcohol (Harada y cols. 1980; Agarwal y Goedde, 1989).

TABLA I Clases de isoenzimas y distribución de la alcohol deshidrogenasa.

En seres humanos				
Clase	Isoenzimas	K_M etanol	Sensibilidad 4-MP	Distribución
I	α β γ	4 mM	KI menos 2 μ M	Hígado Hígado, pulmón Hígado, Tubo Digestivo
II	π	34 mM	KI = 2Mm	Hígado, TB
III	χ	3 M	Insensible	Universal (Cavidad bucal)
IV	$\mu(\sigma)$	18 mM	KI=320 μ M	Estómago
V		28 mM		Estómago

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA II Isoenzimas y distribución del aldehído deshidrogenasa en los seres humanos.

Isoenzima	K _M acetaldehído	Distribución
ALDH1	30 μM	Hígado, pulmón, Tubo Digestivo
ALDH2	3 μM	Hígado, pulmón, Tubo Digestivo
ALDH3	83 mM	Estómago, pulmón
ALDH4	5 mM	Hígado, riñón
ALDH5	50 μM	Cerebro, estómago

2.- Sistema microsomal de oxidación de etanol.

El sistema microsomal de oxidación de etanol (MEOS por sus siglas en inglés: Microsomal Ethanol Oxidizing System) (Lieber y De Carli 1968; Rubin y cols. 1968; Zakim y Boyer 1990), es el responsable principal del metabolismo de los fármacos y otras sustancias xenobióticas (Winter 1993), como el acetaminofén, la acetona, el fenol, entre otros (Morgan y cols. 1982 y 1983; Ingelman y Johansson 1984; Koop y Casazza 1985; Yang y cols. 1985; Koop y Tierney 1990), incluyendo a los barbitúricos, lo que explica la resistencia que tienen los alcohólicos a este tipo de drogas. Cabe destacar que cuando se ha ingerido una gran cantidad de etanol, el MEOS metaboliza preferentemente etanol por lo que los barbitúricos dejan de metabolizarse, ocasionando resistencia a esta droga.

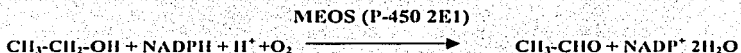
Este sistema se localiza en las cisternas del retículo endoplásmico liso del hepatocito. Se ha descrito la presencia del MEOS en las microsomas de células de diferentes tejidos (González 1992) y se conoce que involucra la participación de varias enzimas, las cuales catalizan la oxidación de etanol a acetaldehído.

El MEOS se ha purificado y se encontraron tres componentes diferentes, la citocromo C reductasa (citocromo P-450 reductasa), el citocromo P-450 y un fosfolípido (lecitina). El MEOS es un sistema que se induce por el alcoholismo crónico, en donde participan varias isoenzimas del citocromo P-450 en la oxidación del etanol, siendo el citocromo P-450 2E1 el encargado del metabolismo del etanol (Koop y Casazza 1985; Koop 1989), el cual es capaz de catalizar la oxidación del etanol hacia acetaldehído,

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

utilizando como coenzima NADPH y de oxígeno molecular (reacción 3) (Kennedy y Tipton 1982; Lieber 1991). Posteriormente, el acetaldehído así formado es convertido en acetato por la ALDH utilizando como coenzima NAD^+ .

(3) Reacción.



Normalmente, el etanol se metaboliza preferentemente por la ADH hepática y en menor cantidad por el MEOS, debido a una baja afinidad por el etanol de este último ya que posee una $K_M = 8.6 \text{ mM}$ o 40 mg/100 ml en comparación con la ADH en con una $K_M = 2 \text{ mM}$ o 9 mg/100 ml . Esto se traduce en que el MEOS necesita cantidades mayores de etanol en sangre para saturarse. En un estudio se reportó que el MEOS cataliza el 42% del metabolismo del etanol si se encuentra a una concentración de 10 mM , y el 62% si ésta es de 50 mM (Takagi y cols. 1986).

La contribución del MEOS y de la ADH en el metabolismo del etanol depende de la concentración sanguínea de alcohol y la duración de su consumo.

3.-Sistema de la catalasa

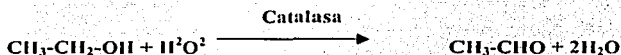
Los tejidos contiene catalasa en los peroxisomas (Lieber 1984) y utiliza peróxido de hidrógeno para oxidar el etanol. Este sistema está en relación estrecha con el sistema de glutatión oxidado-reducido y al igual que el sistema MEOS, es inducido por el alcoholismo crónico (Thurman y Handler 1989; Lieber 1991). El etanol puede servir como donador de hidrógenos en la reacción.

Esta reacción es dependiente de la disponibilidad de peróxido de hidrógeno por lo que un incremento de este o un decremento en la catalasa puede activar o inhibir esta reacción. Precisamente, la velocidad de producción de H_2O_2 es un factor limitante (Peter 1982), debido a que la producción del peróxido es tan sólo de 3.0 a $3.6 \mu\text{mol/h/g}$ hígado y este sistema apenas representa el 2% de la oxidación de etanol *in vivo* (Lieber 1994).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El etanol se oxida hacia acetaldehído por el sistema de la catalasa, que utiliza como coenzima H_2O_2 (reacción 4). El acetaldehído sigue el mismo camino para convertirse a acetato por medio de la ALDH.

Reacción (4)



Los tres sistemas principales de oxidación de etanol (ADH, MEOS y la catalasa) producen acetaldehído el cual se convierte en acetato por la enzima ALDH; así mismo, el acetato que es el resultado final del metabolismo del etanol, se libera a la sangre para ser metabolizado hasta CO_2 por los demás tejidos periféricos (Kennedy y Tipton 1990; Lieber 1991)

Asimismo, el aumento en la concentración intracelular de NADH y NADP es el responsable de las alteraciones en el estado redox, provocando las anomalías metabólicas hepáticas en el alcohólico (Pöös y Forsander 1976; Christensen y Higgins 1979; Lieber 1991), aunado a la alta toxicidad que produce el acetaldehído y los demás metabolitos secundarios que se producen en la oxidación del etanol, como los radicales libres.

CÁNCER

En una proliferación incontrolable de las células da lugar a que se desarrolle un tumor, éste puede ser maligno o benigno. El cáncer representa los tumores malignos; de los cuales la proliferación de las células dobla su número en menor tiempo en lo que lo hacen las normales y llega un punto en el que se pone en peligro la integridad del órgano y origina metástasis por la rápida proliferación celular.

El cáncer en la cavidad bucal es incluido en la clasificación internacional de enfermedades (CIE), publicadas por la OMS 1998. De igual manera que otros tipos de cáncer, su incidencia es alta entre los adultos mayores con un promedio de edad diagnóstico de 45 años, es decir en personas productivas, y se especula que esta incidencia a decrecido con respecto a la edad significa que la población con una edad promedio de 35 años ya presentan inicios de cáncer bucal. (L.A. Moreno y cols. 2000).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Estos estudios son compaginados con análisis histopatológicos y de esta manera poder llegar a un correcto diagnóstico. La población que presenta esta neoplasia es en su mayoría varones con una relación de 2:1. Los sitios de alto riesgo incluyen la superficie ventrolateral de la lengua, la parte anterior del piso de boca, encía, la mucosa bucal, el labio y el paladar blando.

El cáncer bucal es un problema muy importante de salud donde el cirujano dentista juega un papel central en su control y manejo. Cuando se consume etanol, éste droga se mezcla con la saliva, distribuyéndose sobre toda la cavidad oral ocasionando un metabolismo mínimo del alcohol y que al darse este proceso en una forma crónica puede generar alteración al DNA por la producción de acetaldehído proveniente del catabolismo del etanol por la ADH.

Numerosos estudios epidemiológicos presentan evidencias de que el consumo crónico de etanol y los cigarrillos son factores de riesgo para la aparición de cáncer bucal (Tina Koivisto, 1999) y se ha postulado la posibilidad de que los metabolitos derivados de la oxidación del etanol como el mecanismo de acción del etanol para el desarrollo del cáncer bucal (Bosch Fx y col. 1988), pero hasta la fecha no se han presentado evidencias terminales de esta postulación.

En España, India, China, Inglaterra y al norte de Italia, se encuentra mucha evidencia acerca de cáncer bucal por el consumo crónico de etanol. Sin embargo, es increíble que en México casi no se encuentra evidencias de investigación a cerca de cáncer bucal por el consumo crónico de etanol ya que México se encuentra en el 6to lugar a nivel mundial de alcoholismo INS (Instituto Nacional de la Salud 1999).

Es importante destacar la importancia que se le da un EU al en el problema del alcoholismo, así como también el cáncer.

- En los USA se destina cerca del 10% del presupuesto anual de salud nacional para la atención de las enfermedades ocasionadas por el alcoholismo; esto contrasta con el 0.5% de este presupuesto que se dedica a atender los problemas de cáncer.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El alcoholismo es un problema de salud en nuestro país y en el mundo entero, causante de gran cantidad de problemas médicos y no médicos. Dentro de los problemas de salud, se ha puesto gran atención a las alteraciones hepáticas, nerviosas, digestivas, etc., pero existen pocos trabajos de investigación básica sobre la participación de esta droga en la patogenia del cáncer bucal, y los existentes son su mayoría reportes de casos clínicos o de estudios epidemiológicos. A pesar de que algunos mecanismos de daño ya han sido referidos en la acción del alcohol sobre los tejidos, llama la atención de que prácticamente se desconozca si las acciones de dicho tóxico son por la molécula misma, o por las transformaciones metabólicas que sufre en las células. En particular, nada está reportado sobre la participación de la ADH clase III en la regulación del proceso proliferativo normales de los tejidos y en particular de la mucosa bucal. Por lo tanto, el presente estudio se diseñó para explorar la participación de la ADH clase III en el daño a la cavidad bucal que en un momento dado puede ocasionar alteraciones celulares que probablemente llevan a un desarrollo de una neoplasia como el cáncer.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

JUSTIFICACIÓN

Es conocido que el consumo crónico de etanol es un factor de riesgo importante para la aparición del cáncer bucal, a través de desregular un proceso tan complejo, como el de la proliferación celular de la mucosa bucal. Por lo tanto, el conocimiento del manejo de alcohol por las células de la mucosa bucal a través de la ADH clase III puede ser de importancia, tomando en cuenta que pacientes con diversas alteraciones de la cavidad bucal, y por ende diversos grados de proliferación celular, consumen alcohol en diversas proporciones y de esta manera encontrar un mecanismo de daño del etanol y por lo tanto proponer una terapéutica preventiva ó curativa de esta enfermedad.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

HIPÓTESIS

Hipótesis de trabajo:

- Dado que el etanol es uno de los principales factores de riesgo para la aparición de cáncer bucal, la alteración que esta molécula produce sobre la cavidad bucal estaría dependiendo estrechamente de su metabolismo. Ya que se sabe que la actividad de la ADH clase III es el principal sistema de oxidación de etanol, se esperaría que esta enzima esté profundamente involucrada en el efecto de daño del etanol sobre la mucosa de la cavidad bucal.

Hipótesis nula:

- Que la alcohol deshidrogenasa clase III no esté involucrada en el efecto de daño del etanol sobre la cavidad bucal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

OBJETIVOS

Generales

1. Estudiar los efectos del etanol sobre la estructura y la función de la mucosa de la cavidad bucal en ratas wistar, después del consumo crónico de etanol.
2. Estudiar si existe una relación entre el principal sistema de oxidación del etanol la alcohol deshidrogenasa clase III con el daño a la mucosa de la cavidad bucal, en ratas de la cepa wistar.

Específicos

1. Determinar en ratas de la cepa wistar sujetos a consumo crónico de etanol la actividad específica de la ADH clase III en muestras de mucosa de la cavidad bucal.
2. Estudiar por microscopia de luz la estructura y el índice mitótico (como parámetro de proliferación) en muestras de mucosa de la cavidad bucal de ratas con consumo crónico de etanol.
3. Cuantificar la cantidad de proteína de la ADH clase III de muestras de mucosa de la cavidad bucal de ratas tratadas con consumo crónico de etanol, por técnica de Western blot.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DISEÑO Y DURACIÓN

El protocolo de investigación se realizó en un periodo de 7 meses, siendo el cronograma de actividades el siguiente:

Durante el primer bimestre y medio (84 días) se les dio el tratamiento con el consumo de etanol a los grupos experimentales, por otra parte, durante este periodo además se estandarizaron las técnicas bioquímicas y morfológicas que se emplearon durante la investigación.

Durante el tercer mes, se obtuvieron las muestras de la mucosa de la cavidad bucal a estudiar tanto de las ratas que fueron tratadas con la administración crónica de etanol (84 días) como de las que no recibieron etanol; en este mes a estas muestras de estudio se les determinó la cantidad de la alcohol deshidrogenasa clase III por técnicas de Western blot.

Durante el cuarto mes, se realizaron los estudios de microscopia de luz por tinción de hematoxilina-eosina de las muestras de mucosa de la cavidad bucal tanto de las ratas que fueron tratadas con el consumo crónico de etanol como de las ratas normales.

Durante el quinto mes, se determinó la actividad específica de la ADH clase III tanto en las ratas tratadas con etanol como las normales en las muestras de mucosa de la cavidad bucal.

En el sexto y séptimo mes, se analizaron los resultados obtenidos así como también se discutieron los mismos para la elaboración de la tesis correspondiente; además se presentaron algunos de estos resultados en el Congreso de Odontología, en Acapulco que se efectuó en el mes de Octubre de 2002, así como también fueron presentados en el coloquio de investigación en la FES Iztacala en el mes de Diciembre de 2002 y también se espera la estructuración para de un artículo en una revista arbitrada.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico.

Se emplearon ratas de la cepa Wistar (250 ± 20 gr. de peso), alimentadas con croquetas (Purina Rat, St Luis MO). Y agua ad libitum, obtenidas del bioterio de la FES Iztacala, UNAM.

MATERIALES	
Materiales (reactivos)	Proveedor o marca comercial
• Acido acético	Sigma
• Acrilamida.	Research Organics.
• Azul de coomassie	Sigma.
• Albúmina bovina	Sigma.
• Alcohol etílico.	Hycer.
• Bis acrilamida	Sigma.
• EDTA	Sigma.
• Éter	Hycer.
• Formaldehído	Sigma.
• Folin	Sigma.
• Glicerina	Sigma.
• Glicerol	Sigma.
• Glicina	Sigma.
• NAD	Sigma.
• Persulfato de amonio	J.T. Baker.
• PBS	Mallinckrodt.
• Proteína de peso molecular	Promega SDS J.T. Baker.
• Trizma base	Sigma.
• Tween 20	Mallinckrodt.
• Metanol	Sigma.
• 2 Mercaptoetanol	Sigma.

Procedimiento general.

Se realizó un estudio longitudinal, prospectivo, experimental y comparativo en ratas macho de la cepa Wistar obtenidas del bioterio de la FES-Iztacala (UNAM) con un peso promedio de 250 ± 20 gr. las cuales fueron alimentadas con una dieta balanceada para roedores. Las ratas se dividieron en dos grupos a) al primer grupo se

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

le administró en forma crónica etanol al 36%, b) el segundo grupo fue el grupo control sin la administración de etanol. El experimento se realizó por 84 días continuos. Cada 7 días se sacrificaron 5 ratas de cada grupo por decapitación previa anestesia con pentobarbital, para la obtención de las muestras de la mucosa de la cavidad bucal; las muestras se dividieron de la siguiente manera:

- 1) Muestras para la determinación inmunológica de ADH clase III por la técnica de Western blot.
- 2) Muestras para estudio histológico.
- 3) Muestras para la determinación de la actividad enzimática específica de la ADH clase III.

Teniendo como controles en todos los casos a las ratas que no recibieron etanol.

Los criterios de inclusión, exclusión y eliminación fueron los siguientes:

Criterios de inclusión:

- Ratas cepa Wistar de un peso promedio de 250 ± 20 gr.
- Ratas macho.
- Ratas sanas.

Criterios de exclusión:

- Ratas que no tengan el peso promedio.
- Ratas que tengan cualquier enfermedad.
- Ratas hembras (por los niveles de estrógenos).

Criterios de eliminación:

- Ratas que mueran durante el tratamiento.

El manejo de las ratas y de las muestras biológicas se llevaron a cabo de acuerdo con los criterios, normas y reglas que el comité de bioética y seguimiento han determinado en la FES-Iztacala.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

METODOLOGÍA

Obtención de las células de la cavidad bucal

La mucosa de la cavidad bucal se obtuvieron por extirpación en forma ya establecida en humanos modificada (Eward Cohen 1997). Las muestras de la mucosa bucal fueron homogenizadas en un buffer de Tris-Sacarosa-EGTA (Tris 0.01 M; Sacarosa 0.255 M; EGTA 0.3mM, con un pH 7.4), posteriormente se obtuvo citosol por centrifugación diferencial (Aguilar y cols. 1996) de la siguiente manera: las muestras de la mucosa bucal después de ser homogenizadas fueron centrifugados a 3500 rpm a 4°C por 15 minutos y se recuperó el sobrenadante el cual se vuelve a centrifugar a 7500 rpm a 4°C por 15 minutos y por último, nuevamente el sobrenadante se le realizó ultracentrifugación a 45,000 rpm por 60 minutos y de este se obtuvo el sobrenadante que fue el citosol. Del citosol obtenido se utilizó para la determinación de la actividad específica de la ADH según lo reportado por Roine y cols. 1992. La cantidad de proteína se cuantificó en las muestras utilizando albúmina de suero bovino como estándar por la técnica de Lowry 1951.

Determinación de la actividad de la ADH.

- a) La actividad de la ADH fue determinada espectrofotométricamente, en la fracción citosólica, determinada como un incremento en la absorbancia a 340 nm, en un espectrofotómetro Milton Roy 1001 plus. La actividad de oxidación de alcohol se midió en buffer que contenía 0.1 M glicina/NaOH, con un pH 4), con 3 M de etanol puro y 2.4 mM NAD^+ (Roine y cols. 1992). La actividad es reportada en nanomoles por minuto por miligramo de proteína.
- b) La actividad de la ADH se determinó espectrofotométricamente en la fracción citosólica a 340 nm, en un espectrofotómetro Milton Roy spectronic 1001 plus. La actividad de oxidación de etanol de la enzima se midió en un buffer de glicina (0.1 M/NaOH, pH 9.6), con 2.4 mM de NAD^+ y la reacción se inició con etanol (10 mM) (Roine y cols 1992). La actividad se reportó en nanomoles/min/mg proteína

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Determinación de la presencia de la ADH clase III por Western blot.

Una vez obtenidas las muestras de la mucosa de la cavidad bucal fueron lavadas dos veces con PBS frío (pH 7.4) con centrifugaciones a 360 revoluciones por minuto (rpm) por 10 minutos. Las muestras fueron lisadas con un buffer de lisis que contenga (Tris-HCl 100 mmolas/L, KCl 5 mmolas/L, SDS 1%, NP-40 0.5%, e inhibidores de proteasas, RNasa y DNasa, pH 8). La mezcla se incubo por 10 minutos en hielo y se centrifuga a 680 RPM por 10 minutos. Se recupera el sobrenadante el cual es considerado como extracto crudo de proteínas. Las muestras (20 µg) del extracto crudo de proteína son sometidas a una electroforesis vertical en geles de acrilamida a 8% y al 10%, de acuerdo a la técnica descrita por Cumming y cols 1996. Aquí las muestras fueron sometidas a una electroforesis de poliacrilamida con SDS al 10% y la corrida se llevará a cabo por 2 horas a 100 volts. Los geles resultantes fueron preparados para inmunoblot. El inmunoblot se llevo a cabo en un medio de transferencia (Tris-metanol-glicina; 50/25/12 p/p) en cámara de transferencia, utilizando membranas de nitrocelulosa como matriz receptora. La transferencia fue realizada toda la noche a 63 volts. La membrana de nitrocelulosa fue lavada dos veces con PBS y bloqueada por 2 horas a temperatura ambiente con una solución de PBS que contenga 5% de leche en polvo descremada y 0.5% de tween-20. Al término del bloqueo, los anticuerpos policlonales (Chemicon) a una concentración 1:10000 dirigidos en contra de la proteína específica (anti-ADH clase III), fueron utilizados y posteriormente para su detección con anticuerpos secundarios conjugados con fosfatasa alcalina, (marca comercial BCIP/NBT COMBO GIBCOBRL). La cantidad de proteína fue determinada en cada muestra de acuerdo a la técnica ya descrita por Lowry y cols. 1951, utilizando albúmina bovina como estándar.

Microscopio de luz.

Muestras de la mucosa de la cavidad bucal de cada grupo fue utilizada para microscopía de luz. Cada muestra fue fijada en formaldehído (10% en solución isotónica), incrustadas en cera y teñidas con hematoxilina-eosina. Los criterios para el análisis de las anormalidades morfológicas son los reportados por Niemela 1995 y Morales-González y cols. 1999. El índice mitótico fue evaluado en microscopio óptico (Olympus, CH-30), y se reporto según el número de células en mitosis, acantosis

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

(perdida de adhesión intracelular, que produce la separación de las células epiteliales y aumentando el número de células con anomalía), inflamación crónica (es la presencia de linfocitos), ulceración (es la transición de la queratohialina y una hemorragia), hiperqueratosis (es el aumento de queratina), queratohialina (es la transición de entre el epitelio y la queratina), en 10 campos ópticos con un objetivo de 45X y 65X. El índice mitótico se indica como sigue: + 1-3 células en mitosis; ++ 4-7 mitosis; +++ más de 7 mitosis, así también se reporta reacción inflamatoria crónica, + 1-4 inicio de inflamación leve, ++ 5-8 inflamación crónica moderada, +++ 6-10 inflamación crónica severa, con respecto a la acantosis se representa así, + 1-2 reciente formación de acantosis, ++ 3-5 acantosis moderada, +++ 6-8 acantosis severa, la hiperqueratosis se reportó así, + 1-3 reciente formación de la hiperqueratosis, ++ 4-6 avances de la hiperqueratosis moderada, +++ 7-9 hiperqueratosis severa, y con la queratohialina se encontró esto: + 1-2 reciente formación de queratohialina, ++ 3-5 leve formación de queratohialina, +++ 6-8 queratohialina severa, + 1-2 reciente formación de la úlcera, ++ 3-5 leve formación de úlcera, +++ 6-8 ulceración severa.

Cantidad de muestras

El protocolo de investigación contó con aproximadamente 150 ratas.

Análisis estadístico.

Los datos fueron analizados por el programa Excel para Microsoft (versión 5.0), y se calculó la media y la desviación estándar en cada grupo de ratas. La comparación entre los grupos de ratas tratados con etanol contra los no alcoholizados fueron llevados a cabo usando la prueba de *t* de student para muestras pareadas. Todos los valores son expresados como promedio más menos error estándar, tomando en cuenta una * $p < 0.001$ como estadísticamente significativo.

Aspectos de bioseguridad.

El presente protocolo de investigación se realizó de acuerdo con los criterios, normas, y reglas que el comité de bioética y seguimiento ha determinado en la FES-Iztacala.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Expectativas

Con este estudio probablemente se encuentre uno de los mecanismos de acción del etanol que afecta a la mucosa de la cavidad bucal, que estén involucrando al sistema de la enzima alcohol deshidrogenasa clase III, que su desregulación ocasione alteración de la normalidad de esta mucosa y ocasione a la larga un proceso maligno, como el cáncer bucal.

Materiales.

- Bioterio de la FES Iztacala
- Laboratorio de Bioquímica Médica, a cargo del Dr. José Antonio Morales, en la FES Iztacala, UNAM.

Recursos financieros.

- Donativos de los proyectos a cargo del Dr. José Antonio Morales González, en la FES-Iztacala (UNAM).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en este protocolo de investigación con respecto a la determinación, de la actividad enzimática de la enzima ADH clase III, proteína total de la ADH clase III y microscopía durante un periodo de 12 semanas de administración crónica de etanol, en los cuales se encontraron los siguientes resultados: En la Tabla III se muestran los resultados histológicos de microscopía de luz. Con respecto a las reacciones inflamatorias se observa cambios significativos en las ratas con el tratamiento crónico de etanol a partir de la 4 a la 12 semana, a diferencia de las ratas que no se les dió tratamiento de etanol, no se encuentran modificaciones morfológicas en ninguna de las semanas. De igual manera se observa que en la acantosis se presenta cambio significativo a partir de la semana 9, sin embargo cuando observamos la regeneración solo es manifestado en la semana 5 con el grupo de tratamiento de etanol, sin embargo en el otro grupo no existen modificaciones, esto se puede observar en la tabla III y IV, sin embargo con respecto a las tablas V y VI se pueden reflejar cambios morfológicos importantes en cuanto a la fibrosis que se hace más notoria a partir de la semana 6 hasta la semana 12. Con respecto a la hiperqueratosis no existen cambios significativos, sin embargo existe una tendencia a aumentar hasta la semana 12, en las ratas sin tratamiento crónico de etanol no existieron cambios significativos, como se puede mostrar en la tabla VI. Estos resultados son más evidentes en la imagen 1, donde se muestra a la mucosa sin tratamiento crónico de etanol, sin embargo en la imagen 2 se observan cambios celulares en la semana 4 de tratamiento crónico de etanol en donde se encuentra inflamación +, inicio de acantosis, y el inicio de queratohialina, con respecto a la imagen 3 con 6 semanas de tratamiento crónico de etanol, también se observa un evidente aumento de acantosis así como también el inicio de la hiperqueratosis y la inflamación ++ que se encuentra presente. En la imagen 4 en la semana 8 de tratamiento, es más evidente la acantosis, así como también la inflamación y el aumento de queratosis. En la imagen 5 que es a la semana 10 se puede observar un mayor aumento de inflamación y de acantosis, también se observa la queratina. La imagen 6 con semanas 10 de tratamiento crónico de etanol se aprecia la inflamación en una toma más cercana. Y la toma de la imagen 7 en la semana 12 de tratamiento

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

crónico de etanol se observa desde otro punto de vista la acantosis avanzada, la gran acumulación de inflamación y la ulceración. Así como también en las imágenes 8 y 9 se puede observar considerablemente la inflamación, sin embargo, la imagen 8 es la semana 10 y la imagen 9 es a las 12 semanas en donde se ve más la inflamación. En la imagen 10 corresponde al tratamiento crónico de etanol, se identifica la zona donde ya esta la úlcera y la zona donde el tejido esta aparentemente sano.

Tabla III: Estudio microscópico en ratas con tratamiento crónico de etanol por semanas.

Semanas de tratamiento	Reacción inflamatoria	Acantosis	Regeneración
1	+	+	+
2	+	++	+
3	++	++	+
4	++	++	-
5	+++	+++	+
6	+++	+++	++
7	+++	+++	-
8	+++	+++	-
9	+++	+++	-
10	+++	+++	-
11	++++	++++	-
12	++++	++++	-

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla IV: Estudio microscópico en ratas sin tratamiento de etanol.

Tratamiento	Reacción Inflamatoria	Acantosis	Regeneración
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-
11	-	-	-
12	-	-	-

Tabla V: Estudio microscópico en ratas con tratamiento crónico de etanol.

Semanas de tratamiento	Queratoelastina	Fibrosis	Hiperqueratosis
1	-	-	-
2	-	+	-
3	-	+	-
4	-	++	-
5	+	++	-
6	+	++	-
7	+	++	+
8	++	++	++
9	++	+++	+++
10	+++	+++	+++
11	++++	+++	+++
12	++++	+++	+++

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Tabla VI: Estudio microscópico en ratas sin tratamiento de etanol

Semanas de tratamiento	Queratina	Fibrosis	Hiperqueratosis
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-
11	-	-	-
12	-	-	-

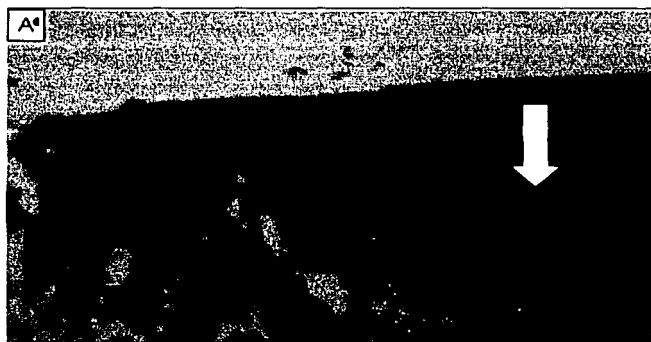


Imagen 1. Muestras control de mucosa de la cavidad bucal, mucosa sana (flecha blanca), Músculo (flecha azul), con un aumento de 45X.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

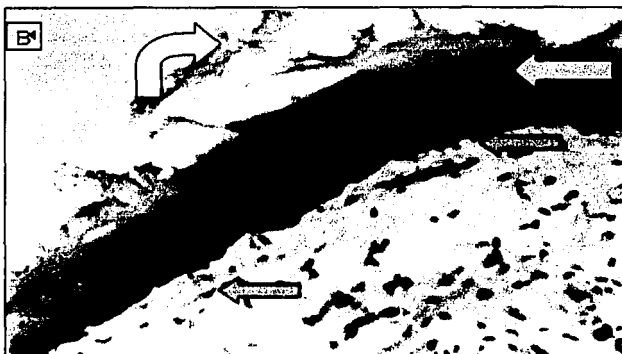


Imagen 2. Muestras de mucosa con tratamiento crónico de etanol a la 4 semana, Presentando inflamación ++ (flecha rosa), inicio de ulceración (flecha azul), Inicio de queratohialina (flecha verde) acantosis (flecha roja), con un aumento de 45X.



Imagen 3. Muestras de mucosa bucal con tratamiento crónico de etanol a la 6 semanas. En donde se muestra, la inflamación ++ (flecha rosa), queratohialina (flecha verde), Hiperqueratosis (flecha blanca), músculo con inflamación (flecha azul) y acantosis (flecha roja). Con un aumento de 45X.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Imagen 4. Muestra de la mucosa de la cavidad bucal, en un tratamiento crónico de etanol A la 8 semana, observándose acantosis (flecha rojo), inflamación (flecha rosa), queratosis(flecha verde), Queratohialina (flecha café) y músculo (flecha azul), con un aumento de 45X.



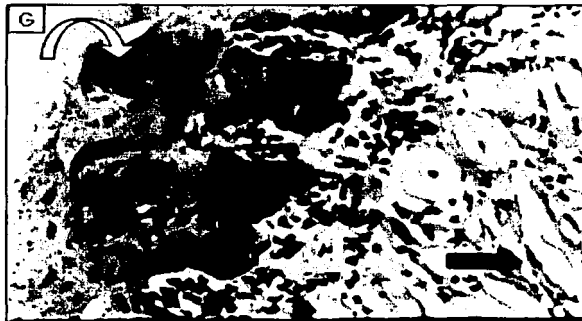
Imagen 5. Muestra de mucosa de la cavidad bucal con tratamiento crónico de etanol A la 10 semana en donde se observa inflamación+++ (flecha rosa), acantosis (flecha roja), Queratohialina (flecha café), hiperqueratina (flecha amarillo) y músculo (flecha azul).

Con un aumento de 45X.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Imagen 6. Muestra de mucosa bucal en un tratamiento crónico de etanol
A la 10 semana en donde se muestra, inflamación +++ (flecha rosa) y músculo
(flecha azul) con un aumento de 45X.



Imágenes 7. Muestra de mucosa bucal en un tratamiento crónico de etanol
12 semanas en donde se observa inflamación ++++ (flecha verde), músculo (flecha azul oscuro)
Queratina (flecha azul claro) y acantosis +++ (flecha roja), con un aumento de 65X.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

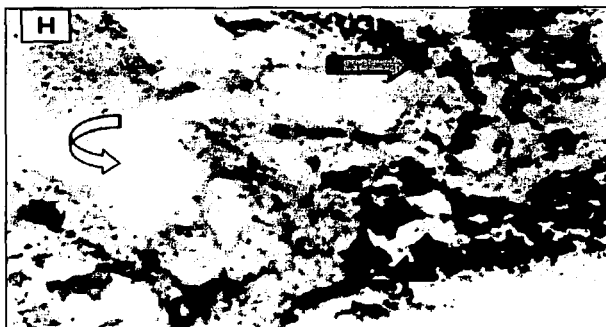


Imagen 8. Muestras de mucosa bucal con tratamiento crónico de etanol 12 semanas
 En donde se observa, inflamación +++ (flecha rosa), hemorragia+++ (flecha negro) y úlcera+++
 (flecha azul) con un aumento de 65X.

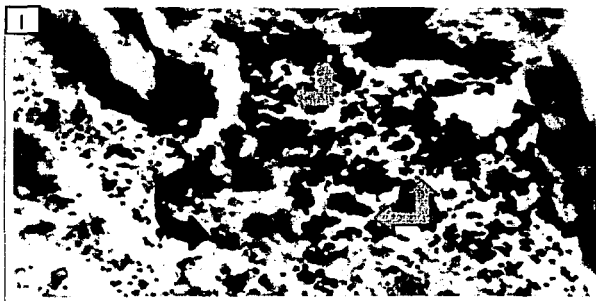


Imagen 9. Muestra de mucosa de la cavidad bucal a las 12 semana en donde se observa
 Inflamación ++++ (flecha rosa) y hemorragia +++ (flecha negra), con un aumento de 65X.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN



Imagen 10. Muestra de la mucosa de la cavidad bucal con tratamiento crónico De etanol de 12 semanas, en donde se observa mucosa normal (flecha blanca), Inflamación+ (flecha rosa) y úlcera (flecha azul), con un aumento de 65X.

Actividad enzimática de ADH clase III.

En la Figura 1, se observa que en la 1 y 2 semana se mantuvo la actividad en 10 nmol/min/mg pero en la 3 semana tendió a aumentar a 20 nmol/min/mg y fue progresivo ya que de la 4 a la 10 semana existió un incremento considerable de 50 nmol/min/mg, sin embargo se mantuvo estable hasta la 12 semana con 55 nmol/min/mg como se muestra en la Figura.1. Sin embargo, de la 1 a la 3 semana se encontró en 10 nmol/min/mg y a partir de la 4 a la 12 semana se mantuvo estable en un promedio de 20 y 25 nmol/min/mg con las ratas sin tratamiento de etanol como lo representa la Figura 2. Estos datos se pueden ejemplificar de una mejor manera en la Figura 3. En donde alcanza su punto pico a la 11 semana con 55 nmol/min/mg con el tratamiento crónico de etanol, a diferencia de las ratas sin tratamiento alcanzo su punto pico en la 4 semana con 20nmoles/min/mg. De la figura 1 a la 3 se puede observar como fue el incremento de actividad enzimática durante un tratamiento crónico de etanol.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

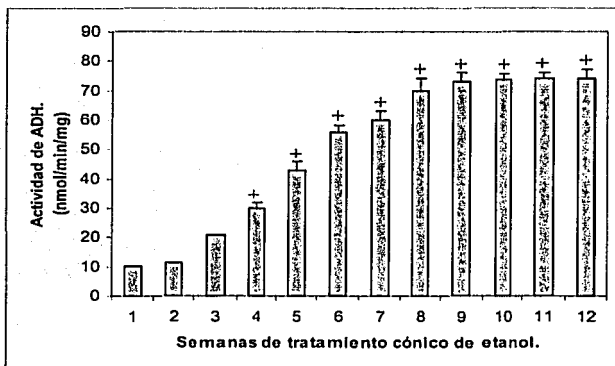


Figura 1. Actividad de la enzima alcohol Deshidrogenasa clase III, con un tratamiento crónico De etanol, en donde cada barra significa la actividad de la ADH clase III (del día 7 hasta el día 84) durante un tratamiento crónico de etanol. Todos los valores son expresados como promedio más menos error estándar, tomando en cuenta una * $p < 0.001$, como estadísticamente significativo, con respecto al grupo control.

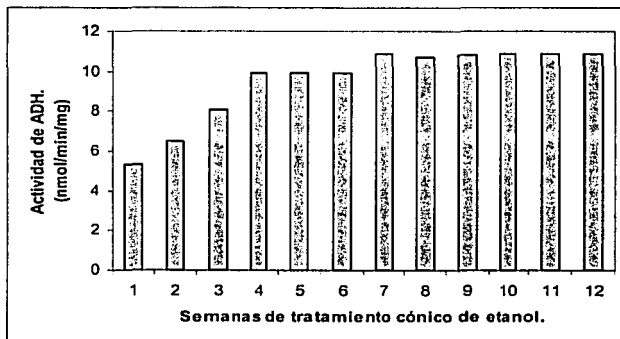


Figura 2. Actividad específica de la enzima alcohol deshidrogenasa clase III en cada una de las barras son consecutivos los días, sin tratamiento crónico de etanol. Todos los valores son expresados como promedio más menos error estándar, tomando en cuenta una * $p < 0.001$ como estadísticamente significativo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

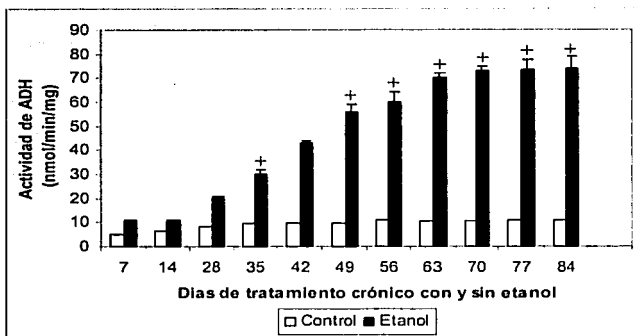


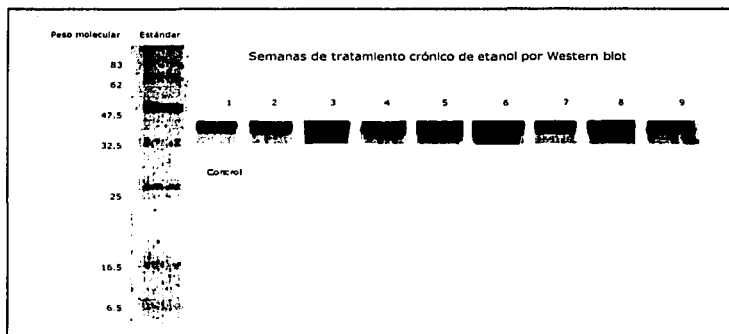
Figura 3. Actividad de ADH clase III durante un tratamiento crónico de etanol (barra oscura), en comparación con las que no se les administro etanol (barra blanca). Todos los valores son expresados como promedio más menos error estándar, tomando en cuenta una * $p < 0.001$ como estadísticamente significativo. Con respecto al grupo control.

Cantidad de proteína de ADH clase III por Western blot

Grafica 4. Con respecto a los resultados obtenidos por la técnica de Western blot de la enzima ADH clase III se encontró un incremento en las proteínas con tendencia a aumentar, presentando un punto pico en la 8 semana y estos niveles fueron decreciendo hasta concluir las 12 semanas del tratamiento de administración crónico del etanol. Es decir existe una relación entre ADH clase III y la proteína total de ADH clase III en los modelos experimentales en el tratamiento crónico de etanol, sin embargo no sucede ese incremento en las mismas semanas de la cantidad de proteína de ADH clase III y de actividad de ADH clase III en las muestras. Aquí se muestra en la grafica 4 y también en la fotografía 1. En donde se muestra el grado de intensidad de la proteína por Western blot.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A



B

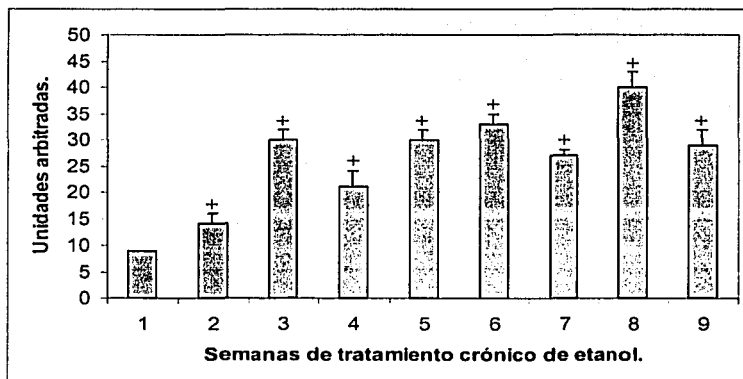
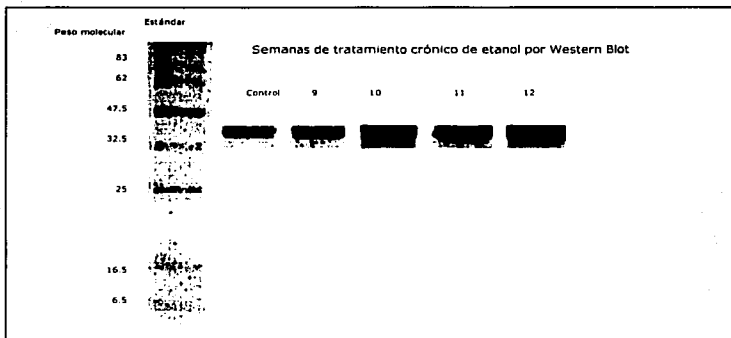


Figura 1: Análisis de Western blot de la ADH clase III en ratas con tratamiento crónico de etanol (de la barra 2 a la barra 9) y sin tratamiento crónico de etanol (solo la barra 1), este tratamiento crónico de etanol fue durante 84 días (12 semanas). En el panel A, análisis representativo por Western blot en la proteína ADH clase III y en el panel B es la cuantificación representativa por análisis desintométrico. Utilizando la prueba de *t* de student, en donde todos los valores son expresados como promedio más menos error estándar, tomando en cuenta una $*p < 0.001$ como estadísticamente significativo. Las graficas fueron analizadas con el programa Alpha imager de Multimage Light Cabinet.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

C



D

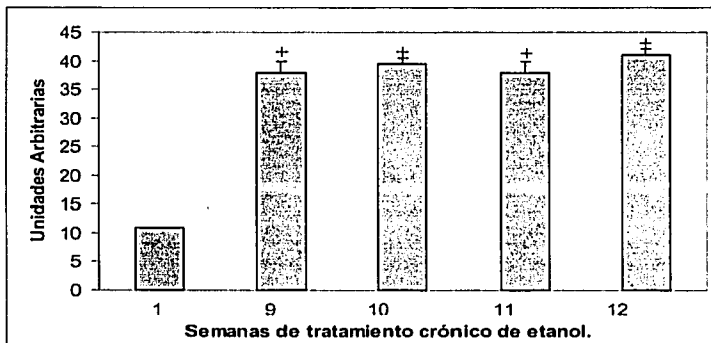


Figura 2: Análisis de Western blot de la ADH clase III en ratas con tratamiento crónico de etanol (de la barra 2 a la barra 5) y sin tratamiento crónico de etanol (solo la barra 1), este tratamiento crónico de etanol fue durante 84 días (12 semanas). En el panel C, análisis representativo por Western blot en la proteína ADH clase III y en el panel D es la cuantificación representativa por análisis desintométrico. Utilizando la prueba de *t* de student, en donde todos los valores son expresados como promedio más menos error estándar, tomando en cuenta una $*p < 0.001$ como estadísticamente significativo. Las graficas fueron analizadas con el programa Alpha Imager de Multimage Light Cabinet.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DISCUSIÓN

Se tienen evidencias que el alcohol daña al organismo en general, y especialmente al hígado (Morales-González y cols. 1999), por ser este el órgano que metaboliza en su mayor parte el alcohol, pero el primer punto donde inicia el recorrido para metabolizar el alcohol es en la cavidad bucal, este recorrido transcurre en un periodo de 2 a 3 segundos en donde se tienen evidencias que esta molécula, probablemente sea el causante de riesgo de un cáncer bucal, en un tratamiento crónico como lo mencionan los estudios de C. J. Kerawala y cols 1999. Al analizar las muestras del tratamiento crónico del alcohol, en esta investigación, se encuentra que la actividad, la cantidad de la ADH clase III, cantidad de ADH clase III en proteína total por Western blot, así también como las células de este tejido se encuentra una alteración como lo muestra en estudios previos (Paol Boffetta y cols. 1998), mencionando que todos los tejidos son afectados por el etanol. Sin embargo los más afectados por orden de daño son hígado, faringe, estómago y mucosa bucal. Cuando se analiza la cantidad de ADH clase III presente en las muestras de la mucosa de la cavidad bucal por técnica de Western blot se encuentra un incremento de esta cantidad de ADH conforme transcurren el tiempo, de 1-2 semana no existen muchos cambios con respecto a las muestras control, sin embargo, en la 3-7 semana de cantidad de ADH se encuentra aumentando, hasta alcanzar su punto pico a la 8 semana y posteriormente, teniendo una fase estacionaria en las últimas semanas hasta concluir el tratamiento crónico de etanol, esto es comparable con las investigaciones, que realizaron Seitz Oneta en 1998. En la Tabla 1 se muestran los resultados histológicos en microscopio de luz, los cuales nos demuestra datos importantes con respecto a las reacciones inflamatorias. Se observan cambios significativos en las ratas con el tratamiento crónico de etanol a partir de la 4 hasta la semana 12. A diferencia de las ratas que no se les dio tratamiento de etanol, en estas últimas no existieron modificaciones morfológicas, de igual manera se observa que en la acantosis se presenta cambio significativo a partir de la 9 semana, sin embargo cuando observamos la regeneración no existen modificaciones en ninguno de los dos grupos, esto se puede observar en la tabla 1-2, con respecto a la tabla 3 y 4 se pueden reflejar cambios morfológicos importantes en

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

cuanto a la fibrosis que se hace más notoria a partir de la 6 semana hasta la semana 12. Con respecto a la hiperqueratosis no existen cambios significativos, pero sin embargo existe una tendencia a aumentar hasta las 12 semanas, en las ratas sin tratamiento crónico de etanol no existieron cambios significativos, como se puede mostrar en la tabla 4. En este aspecto concluimos que solo existió aumento en la inflamación, acantosis, y fibrosis lo cual se sugiere que hubieron modificaciones morfológicas a nivel celular sobre todo a partir de la 4 y 5 semana. En cuanto este punto también se pueden hacer analizar con lo reportado por Horowitz AM y cols 2000, solo que el tratamiento que dieron ellos fue en pacientes y con un periodo más cortó que el que se les dio a nuestros modelos experimentales.

En los mecanismos observados del metabolismo del alcohol, algunas enzimas semejantes como ALDH, ADH y citocromo P-450 son los inductores del metabolismo del etanol como lo muestra Isasi y cols. 1995. Lo cual también es evidente en estudio con los resultados del incremento de actividad del ADH clase III mostrados en esta investigación, podrían considerarse como una primera causa alteraciones de las células de la cavidad bucal que probablemente puedan estar involucradas en el desarrollo de cáncer bucal como lo menciona Sirithant P y cols. 2001. También se ha observado que no solo el cáncer se puede encontrar en la mucosa bucal, sino también en el esófago, la cabeza y el cuello, con una administración crónica de alcohol, como es reportado por Hiroki Tanabe y cols. 1999,

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES

La alcohol deshidrogenasa clase III se incrementó en cantidad, actividad y cambios morfológicos a nivel celular durante un consumo crónico de etanol.

El etanol afecta el metabolismo de las células de la mucosa de la cavidad bucal, durante un tratamiento crónico de etanol.

La enzima alcohol deshidrogenasa clase III esta estrechamente involucrada en el efecto de daño del etanol en la mucosa de la cavidad bucal.

El alcohol deshidrogenasa clase III aparece sustancialmente modificando las células de la mucosa bucal ocasionando alteraciones en la actividad y cantidad, estas expresiones probablemente sean un factor de riesgo de cáncer en la cavidad bucal. Sin embargo, esta es una mera hipótesis ya que es necesario hacer más estudios encaminados para esclarecer este fenómeno patológico (cáncer bucal), con un consumo crónico de etanol.

La alteración en la actividad de la ADH clase III de la mucosa bucal puede contribuir al posible desarrollo de cáncer bucal en la cavidad bucal, esto nos hace creer, por las expresiones señaladas en los resultados de esta investigación así como también los datos bibliográficos obtenidos en este trabajo de investigación. Los datos sugieren que la ingesta de etanol puede aumentar los efectos tóxicos durante un consumo crónico de etanol, ya que los indicadores histológicos, funcionales, bioquímicos, posiblemente sean indicadores en un inicio de cáncer bucal, sin embargo, esta es solo una suposición, partiendo con los resultados arrojados en esta investigación.

En México se desconoce el verdadero impacto del cáncer bucal debido a la falta de registros que reflejen la realidad nacional.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RECURSOS DISPONIBLES

Humanos

- **Dr. José Antonio Morales González, Doctor en Ciencias Biológicas, UNAM**
- **Dr. José Gutiérrez Salinas, Doctor en Bioquímica, UNAM**
- **Aileen Bueno Cardoso, Tesista**

Materiales

- **Bioterio de la FES Iztacala**
- **Laboratorio de Bioquímica Médica, a cargo del Dr. José Antonio Morales, en la FES Iztacala, UNAM.**

Recursos financieros.

- **Donativos de los proyectos a cargo del Dr. José Antonio Morales González, en la FES-Iztacala (UNAM).**

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

REFERENCIAS

- * Aday L, Aderson R, A, framework for tree study of access to medical care, *Health Serv Res* 1974; 9:208-220.
- * Agarwal DP, Goedde HW. Human aldehyde dehydrogenases: their role in alcoholism. *Alcohol* 1988;6:517-523.
- * Aguilar Delfin I, Lopéz Barrcea F, Hernández Muñoz R. Selective enhancement of lipid peroxidation in plasma in two experimental models of liver regeneration: partial hepatectomy and acute CC14 administration. *Hepatology* 1996;24:657-662.
- * Albanes D, Winick M. Are cell number and cell proliferation risk factors for cancer. 1998;80: 772-781.
- * Albano E, Clop, Comoglio A, Dianzani MU, Tomasi A. Free radical activation of acetaldehyde and its role in protein alkylation. *FEBS Lett* 1994; 19: 657-681.
- * Anderson, L.M., Chabra, S. K, Nerurkar, P. V., Souliotis, L. V., and Kytopoulos.S, A. Alcohol- related cancer risk 1995; 12:97-105.
- * Amir Z, Kwan SY, Landes D, Feber T, Williams SA. Diagnostic delays in head and neck cancers. *Ear J Cancer Care* 1999;8: 189-203.
- * Blot Wj. Alcohol and cancer. *Cancer Res* 1992;52(suppl): 219s-232.
- * Boffetta P, Mashberg A, Winkelmann R Garfinkel L. Carcinogenic effect of tobacco smoking and alcohol drinking on anatomic sites of the oral cavity and oropharynx. *Int J Cancer* 1999;52:530-545.
- * Bosron, W.F. and Li T.K. Genetic polymorphism of human liver alcohol and aldehyde dehydrogenases, and their relationship to alcohol metabolism and alcoholism. *Hepatology* 1989;6:502-510.
- * Bouchardy, C Ward, P, Dayer, and Benhamou, S Letter to the editor: Re: Harty et al, 1997 Alcohol dehydrogenase 3 genotype and risk of oral cavity and pharyngeal cancers. *J. Nat. Cancer inst.* 1999;90: 937-938.
- * Campisi C, Marggolta, V.CG. Oral mucosal lesions and risk habits among men in an Italian study population. *J Oral Pathol Med.* 2001;30:223-231.
- * Carpenter, C., Morgentern, H., and London, S. Alcohol deverage consumption and lung cancer risk among residents of Los Angeles Country, *J. Nutr.*, 1991; 128: 694-671.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- * C.J. Kerawala, Barra S, Morse RT. Oral cancer, smoking and alcohol: the pathnes perspective. 1999; 37: 374-376.
- * Cortot A, Jobin G, Ducrot F, Aymes C, Giraudeau V, Modigliani R. Gastric emptying ingested with a meal. Dig Dis Sci . 1986; 31:343-348.
- * Coulete, C., Ward P, J, Quattrocchi, P., Chambrin, H., Iron Laryngeal and orofaryngeal cancer, and alcohol deshydrogenase 3 and glutathione S-transferase M1 polymorphisms. Hum.Genet., 2000;99:319-325.
- * Coutelle. C, Ward.P.J, Fleury, B, Quattrocchi, P, and De Waziers. I, Human cytochrome P-450 2E1 (CYP2E1): from genotype to phenotype. Pharmacogenetics. 1997;6:203-211
- * Cristensen E L, Higgins J J. Efect of acute chronic administration of etanol on de redox status of brain and liver. En: E. Majchrowicz, Ep Noble (eds). Biochemistry and Pharmacology of etanol. Plenym Press. New York. 1979:191-247.
- * Bosron WF, Li TK. Genetic polymorphism of human liver alcohol and aldehyde dehydrogenases, and their relationship to alcohol metabolism and alcoholism. Hepatology.200;6: 502-515.
- * Bouchardy, C Ward, P, Dayer, and Benhamou, S Letter to the editor: Re: Harty et al, 1997 Alcohol deshydrogenase 3 genotype and risk of oral cavity and pharyngeal cancers.J. Nat. Cancer inst. 1999; 90: 937-938.
- * Danielsson O, Atrain S, Luque T, Hjelmquist L, Gonzalez Duarte R, Jörnvall H. Fundamental molecular differences between alcohol deshydrogenases classes. Proc Natl Acad Sci USA. 1997;92:4980-4984.
- * Dellarco VL, A mutagenicity assessment of acetaldehyde, mutat Res 1988;29:245-251.
- * De Stefani, e., Correa, P., Fierro, L, Fontham, E.T., Chen, V., and Zavala, D, The effect of the alcohol on the risk of luna cancer in Uruguay. Cancer Epidemiol.Biomark.Prev. 1993;2: 21-29.
- * Drive HE, Swann PF. Alcohol and human cancer. 2000;7:309-314.
- * Dong YJ, Peng TK, Yin SJ. Expression and activities of class IV alcohol dehydrogenase and class III aldehyde dehydrogenase in human mounht. Alcohol 1999;13: 257-269.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- * Dosemeci, M., Gokmen, I., Unasal, M., Hayes, R. B., and Brair, A. Tobacco, alcohol cancer causes control. 1999;8:729-734.
- * Dung Y. J., Peng, T.K. and Yin, S. J. Expression and activites of class IV alcohol deshydrogenase and classe III aldehyde deshydrogenase in human mouth. Alcohol. 2001;
- * Du X, Squier CA, Kremer MJ, Wertz. Mucosa oral in presence of ethanol and nicotine. J Oral Pathol Med. 2001;45:10s-23s.
13:257-262.
- * Edenberg, H.J., and Brown, C.J., Regulation of human alcohol deshydrogenase genes. 1999;2:185-196.
- * Elwood JM, Pearson JC, Skippeson SM. Alcohol, smoking, social and occupation factors in the etiology of cancer of the oral cavity. 1999;34:603-616.
- * Espina N, Lima V, Lieber CS, Garro AJ. In vitro and in vivo inhibitory effect of ethanol and acetaldehyde on O⁶-methyl guanine transferase, Carcinogenesis 200;9:671-679.
- * Fali S. Mehta, A.R. Vora, C.M. Yeoman, and J.P. Hayter. Alcohol, tobacco and paan use and understanding of oral cancer risk among Asian males in Leicester. 2000;188: 444-451.
- * Feldman JG, Hasan M, Nagarajan M, Kissin B. A case control investigation of alcohol, tobacco and diet in head and neck cancer. Prev Med 1998;4:444-467.
- * Fioretti F, Boscetti C, Tavani , et al Risk factors for oral and pharyngeal cancer in never smokers, Oral Oncology 1999; 35: 375-384.
- * Franceschi S, Talamini R, Barra, S, Baron AE, Negri E, Bidoli E, et al, Smoking and drinking in relation to cancer of the oral cavity, pharynx, larynx, and esophagus in northern Italy, cancer Res 1990; 50 6502-7.
- * Fraumeni Jr, Lea C, Harty Neil E, Caporaso, Richard B, Dedorah M Winn. Alcohol dehydrogenase 3 genotype and risk of oral cavity and pharyngeal cancers. J Med. 1999;22:1698-6507.
- * G.L. Evans, J.D. Sibonga, A. Kennedy, R.T. Turner. Moderate alcohol consumption suppresses bone turnover in adult female rats. 2000;16:589-594.
- * Gina L. Day, M.S, William J Blot Ph D. Second primary tumors in patients with oral cancer. J Oral Pathol Med. 2002;92:14-18.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- * González Calvin JL, García Sánchez A, Bellot V, Muñoz Torres M, Raya Alvarez E, Salvatierra Ríos D Mineral metabolism, osteoblastic function and bone mass in chronic alcoholism. *Alcoholismo* 1993; 28: 571-582.
- * Groppl, A., Begueret, J. and Iron, A., Improved methods for genotype determination of human alcohol deshydrogenase (ADH) at ADH2 and ADH 3 loci by using polymerase chain reaction-directed mutagenesis. 2000; 36: 1765-1769.
- * Guengerich, F.P., Kim, D.H. and Iwasaki, M., Role of human cytochrome P-450IIE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects. *Chem. Rees Toxicol.*, 2001; 4:168-179.
- * Harty, L.C., Caporaso, N.E., Hayes, R.B., Winn, D.M., Bravo-Otero, E., Blot, W.J., L.M., Armenian, H.K., Fraumeni, J.F., Jr and Shields, P.G., Alcohol deshydrogenase 3 genotype and risk of oral cavity and faryngeal cancers *J. Natl. Cancer Inst.*, 2001; 89: 1698-1705. * * * Hiroki Tanabe, Motoyuki Ohhira, Tikara Ohtsubo, Jiro Watari, Kinichi Yokota. Genetic polymorphism of aldehyde dehydrogenase 3 in patients with upper aerodigestive tract cancer. 1999; 34: 17s-23s.
- * Hiroyasu Igaki, Hiroki Sasaki, Yuji Tachimori, Hoichi Kato. Mutation frequency of the p 16/CDKN2 gene in primary cancers in the upper digestive tract. 2000; 55: 3421-3432.
- * Kabat GC, Wynder EL. Type the alcohol deverage and oral cancer *Int J Cancer* 1998; 43: 190-209.
- * Horowitz AM, Drury TF, Canto MT. Practices of Maryland dentists: oral cancer. 2000; 6: 288-296.
- * Laitinen K, Lamberg Allardt C, Tunninen R, Karonen SL, Ylikahri R, Valmaki M. Effects of 3 weenks moderate alcohol intake on bone and mineral in normal men. *Bone Mirer.* 1991; 13: 139-151.
- * Lucas D., Mendez, C., Floch, F., Guarlaquen, Y., Sparfel, O., Juannet, I., Hispard, E., Bardou, L. G. and Mendez, J.F., Cytochromes P-450 E1 and p-451A1 genotypes and susceptibility to cyrrhosis or upper aerodigestive tract cancer in alcoholic caucasians. *Alcohol clin. Exp Res* 2000; 5: 1033-1037.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

- * Lucas D., Mendez , C., Floch, F., Guarlaquen,Y., Sparfel, O.,Juannet, I., Hispard, E., Bardou,L.G. and Mendez, J.F., Georou, H., Berthou, F., Aldehyde genotoxicity and cytotoxic human lymphocytes.Mutat. Res 1995;20:298-304.
- * La Vecchia C Tavaini A, Franceschi S, Levi F, Corrao G, Negri I. Epidemiology and prevention of oral oncol. 199;33:309-321.
- * Lieber CS, De Carli LM . Ethanol oxidation dy hepatic microsomes: adaptative increase after ethanol feeding. Science. 1968;162:917-920.
- * Lieber CS. Metabolism of alcohol. En Lieber CS(Ed). Medical and nutritional complications of alcoholism. Mechanism and management. NY: Plenum medical book company. 1984c;1:32-78.
- * Khan F.A, Robinsón P.G, Gelbier. S, Gibbons E.D. Predictors of tobacco and alcohol consumption and their relevance to aral cancer control amongst people from minority ethnic communities in the south thames health region, England.2000;25:214-223.
- * Paolo Boffetta, Regina Winkelman, M.A, Lawrence Garfinkel M.S. Tobacco smoking, alcohol drinking, and cancer of the oral cavity and oropharyux among u.s.veterans.1998; 31:1369-1375.
- * Maier H, Weidauer H, Zoller J, Seltz HK, Flentje M, Mall G, et al . Effect of chronic alcohol consumption on the morphology of the oral mucosa. 2002; 18: 387-393.
- * Mashberg A, Boffetta P, Winkelman R, Garfinkel L. Tobacco smoking, alcohol drinking, and cancer of the oral cavity and oropharyunx among US veterans. Cancer. 1998; 72:1369-1375.
- * McKeigue PM, Karmi G. Alcohol consumption and alcoholism-related problems in Afro-Caribbean's and South Asians in the United Kingdom.2000;6:337-345.
- * Moreno, A., Pares, A., Ortiz, J., Enriquez, J. and pares, X., Alcohol deshydrogenase fram human stomach: variability in normal mucosa and effect of age, gender, ADH 3 phenotype and gastric region .Alcohol Alcohol 2001; 29: 663-671.
- * Newell GR, Krementz ET, Roberts JD. Alcohol drinking.IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, International Agency for research on Cancer 1998; 44:456-467.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- * Lucas D., Mendez , C., Floch, F., Guarlaquen,Y., Sparfel, O.,Juannet, I., Hispard, E., Bardou,L.G. and Mendez, J.F., Georou, H., Berthou, F., Aldehyde genotoxicity and cytotoxic human lymphocytes.Mutat. Res 1995;20:298-304.
- * La Vecchia C Tavalni A, Franceschi S, Levi F, Corrao G, Negri I. Epidemiology and prevention of oral oncol. 199;33:309-321.
- * Lieber CS, De Carli LM . Ethanol oxidation dy hepatic microsomes: adaptative increase after ethanol feeding. Science. 1968;162:917-920.
- * Lieber CS. Metabolism of alcohol. En Lieber CS(Ed). Medical and nutritional complications of alcoholism. Mechanism and management. NY: Plenum medical book company. 1984c;1:32-78.
- * Khan F.A, Robinsón P.G, Gelbier. S, Gibbons E.D. Predictors of tabacco and alcohol consumption and their relevance to aral cancer control amongst people from minority ethnic communities in the south thames health region, England.2000;25:214-223.
- * Paolo Boffetta, Regina Winkelman, M.A, Lawrence Garfinkel M.S. Tabacco smoking, alcohol drinking, and cancer of the oral cavity and oropharyux among u.s.veterans.1998; 31:1369-1375.
- * Maier H, Weidauer H, Zoller J, Seitz HK, Fientje M, Mall G, et al . Effect of chronic alcohol consumption on the morphology of the oral mucosa. 2002; 18: 387-393.
- * Mashberg A, Boffetta P, Winkelman R, Garfinkel L. Tabacco smoking, alcohol drinking, and cancer of the oral cavity and oropharynnx among US veterans. Cancer. 1998; 72:1369-1375.
- * McKeigue PM, Karimi G. Alcohol consumption and alcoholism-related problems in Afro-Caribbean's and South Aslans in the United Kingdom.2000;6:337-345.
- * Moreno, A., Pares, A., Ortiz, J., Enriquez, J. and pares, X. Alcohol deshydrogenase fram human stomach: variability in normal mucosa and effect of age, gender, ADH 3 phenotype and gastric region. Alcohol Alcohol 2001; 29: 663-671.
- * Newell GR, Krementz ET, Roberts JD. Alcohol drinking.IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, International Agency for research on Cancer 1998; 44:456-467.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- * Nomura T, Shibahara T, Noma H, Yamane G Yokoyama A, Muramatsu T. Ohmori T. A study of the smoking and drinking habits as carcinogens in the development of oral cancer head and neck cancer .2001;24:83-98.
- * Nomura T, H Noma, Shibahara T.S. Aldehyde dehydrogerase 3 glutathione S-transferase M1 polymorphisms in relation to the risk for oral cancer in Japanese drinkers.2002;81:42-46.
- * Prakash C. Gupta, Daftary DK, Pindborg JJ, Bhonsle. Incident of oral cancer and natural history of oral precancerous lesions in a 10 year follow-up study of Indian villagers. Common dent oral epidemiol.1999;21: 439-447.
- * Rodriguez Artalejo F, de Andres Manzano B, Guallar- Castillon P, Puente Mendizabal MT, González Enriquez J, del Rey Calero J.The association of tobacco and consumption with the use of health care service in Spain.2000;31:554-561.
- * Rothman KJ, Kelle AZ, The effect of joint exposure to alcohol and tobacco on the risk of mouth cancer and pharynx.J Chronic Dis. 1999; 25: 711-723.
- * Rubin E, Hutterer F, Liber CS. Ethanol increases hepatic smooth endoplasmic reticulum and drug metabolizing anzymes. Science. 1979;159: 1469-1478.
- * Schottenfeld D, Grantt RC, Wynder EL. The role of tobacco and alcohol in multiple primary cancers of the upper digestive system of the oral mucosa. 1998;3:277-285.
- * Silverman S.J.R. Early diagnosis of oral cancer. Cancer 1998;62:1796-1799.
- * Silvia Franceschi, Renato Talamini, Salvatore Barra, Ana E Brron, Eva Negri, Ettore Bidoli, Diego Serraino, and Carlos La Vecchia. Smoking and drinking in relation to cancer of the Oral Cavity, Pharynx, Larynx and Esophagus in Northern Italy. 1999; 50: 6502-6509.
- * Siriphant P, Drury TF, Horowitz AM, Harris RM. Oral cancer knowledge and opinions among Maryland. J. P. H. D.2001;177-285.
- * Stephen Magura, Constance M, Horgan, Jennifer R, Meters, and Donald S. Shepard. Effects of managed care on alcohol and other drug (AOD) treatment.2002;26:416-423.
- * Steven A, Aherendt John T, Stephan C, Yang Li Wu. Alcohol consumption and cigarette smoking increase the frequency of p53 mutations in non small cell lung cancer.2000; 12:3155-3162.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- * Tepperman BS, Fitzpatrick PJ. Second respiratory and upper digestive tract cancer after oral cancer. *Lancet*. 1981;60: 3083-3096.
- * Tuyns AJ, Esteve J, Raymonds L, Berrino F, Blanchet F, et al. Cancer of the larynx and oral mucosa, tobacco and alcohol. (Italy and France) 2000;41: 483-498.
- * Trizna Z, Clayman GL, Spitz MR, Briggs KL, Goepfert H. Glutathione S-transferase genotypes as risk factors for head and neck cancer. *American Journal of Surgery* 200;170:499-459.
- * Turner RT, Aloia RC, Segel LD, Hannon KS, Bell NH. Chronic alcohol treatment results in disturbed vitamin D metabolism and skeletal abnormalities in rats. *Alcohol Clin Exp*.1999;12: 151-159.
- * Jokelainen K, Heikkonen E, Roine R, Lehtonen, H, Salasspuro M. High acetaldehyde production by mouth washings patients with oral cavity, laryngeal, or pharyngeal cancer. *Alcohol Clin Exp Res* 1996;45:234-249.
- * Vora AR, Yeoman CM, Hayter JP. Alcohol, tobacco and paan use and understanding of oral cancer risk among .Br. Dent, J. *Cancer*. 2002; 86:128-138.
- * W. Pitiptat, S.R. Diehl, G. Laskaris, V. Cartsos, CW. Douglass, and A.I. Zavras. Factors associated with delay in the diagnosis of oral cancer. 2002;3:192-197.
- * William J. Blot. Invited commentary: more evidence of increased risks of cancer among alcohol drinkers. 2001; 26: 1138-1145.
- * Winder Pitiptat, S.R. Diehl g.d, Laskaris V.T, Duglas P.O. Factors associated with delay in the diagnosis of oral cancer. 2002;16: 192-202.
- * Winter JC. Tolerancia, dependencia física y drogadicción. En Smith CM, Reynard AM (eds). *Pharmacology*. Bogota, Editorial Médica Panamericana. Pp 53-67. 1993
- * Wynder EL, Mushinski MII, Spivak JC. Tobacco and Alcohol consumption in relation to the development of multiple primary cancer. *Cancer* 1999; 40: 1872-7884.
- * Jenny C, Chang-Claude, Jurgen Wahrendorf, Nubia Muñoz. An epidemiological study of precursor lesion of esophageal cancer among young persons in a high-risk population in Huixian China. 2002; 10: 2270-2281.
- * Yokoyama A, Ohmori, Yocayama T, Ocuyama K, Takahashi H, Hasegawa Y, Higachi S, Maruyama, K, Shirakara K, Ishii H. Alcohol-retated cancers and

aldehyde dehydrogenase 3 in Japanese alcoholics, *carcinogenesis* 200; 19: 1383-1405.

- * Yoshida A, Huang IY, Ikawa M. Molecular abnormality of an inactive aldehyde dehydrogenase variant commonly found in orientals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81: 258-261.
- * Yoyoyama A, Ohmori T, Muramatsu T, Higuchi S, Yoyoyama T, Matsushita S, Matsumoto M, Maruyama K, Hayashida M, Ishii H. Cancer screening of upper aerodigestive tract in Japanese alcoholics with reference to drinking and smoking habits and aldehyde deshydrogenase-3 genotype. *Int J Cancer* 2000;68: 313-324.
- * Zhang ZF, Kurtz RC, Sun M, Karpel M Jr, Yu GP, Garson N, et al. Adenocarcinomas of the esophagus and cardia: medical conditions tobacco, alcohol and socioeconomic factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;5: 178-185.
- * Zakim D, Boyer TD. *Hepatectomy. A textbook of liver disease* 2nd ed. Philadelphia: Saunders. pp 823-828. 1990.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**POSIBLE MECANISMO DE INDUCCIÓN DE CÁNCER BUCAL EN LA MUCOSA
BUCAL POR EL ETANOL ATRAVÉS DE LA ENZIMA ALCOHOL
DESHIDROGENASA.**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO
DE CIRUJANO DENTISTA PRESENTA:**

AILEEN BUENO CARDOSO

DIRECTOR Y ASESOR DE TESIS
Dr. José Antonio Morales González.

México, D.F. 2003

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

ABREVIATURAS

ADH	ALCOHOL DESHIDROGENASA
OMS	ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD
IMSS	INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
NAD	NICOTINAMIDE ADENIN DINUCLEOTIDO
ALDH	ALDEHIDO DESHIDROGENASA
MEOS	SISTEMA MICROSOMAL DE OXIDACION DEL ETANOL
RPM	REVOLUCIONES POR MINUTO
CIE	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL DE ENFERMEDADES
Volts	VOLTIOS
Cols	COLABORADORES

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

- Mis más profundo y sincero agradecimiento a el Dr.: José Antonio Morales González y al Dr. José Gutiérrez Salinas por su apoyo así como también su orientación y asesoría constante durante toda la realización de este trabajo. Cuyos consejos y estímulos contribuyeron en forma importante a alcanzar la cima de esta tesis.
- Me complace incluir. Una nota muy especial de gratitud a: Dr. Badillo Romero, Dr. Vicente Nava S, Dr. Enrique Piña G, Álvaro y a mis amigos, por su apoyo incondicional, Lucila González V^(gracias), Karina, Lucero, Dulce, Edgar Méndez S^(gracias), Raúl, Heriberto, Jair, Juan José, Sandra, Simon Andrés A, Gerardo Alberto E, Karla y Jessica Segura M. Marlen M, Ana luisa, Manuel Delgado, Rolando Rivera
- También en este abanico desco expresar mi más profundo agradecimiento a mis familiares por el apoyo constante. Petra Sánchez Chávez, Arturo Cardoso S, Raúl Cardoso S, Arturo Atzayacatl Cardoso V, Eduviges Bueno.