



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE NICOTINA EN EL
EPITELIO DE LAS BOLSAS BUCALES DE LOS HAMSTERS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA
P R E S E N T A
ROCÍO RAMÍREZ HERRERA

TUTORA: DRA. ELBA ROSA LEYVA HUERTA

*Uo B0
E. Leyva Huerta*



MÉXICO, D.F.

2004



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.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

1980

A DIOS

Gracias por todo lo que me has dado, la vida, mi familia, mis amigos. Te amo

A MI MADRE

Gracias por que sin tu amor, ayuda y comprensión no hubiera logrado este objetivo. Te amo.

A MI TIA MARTHA

Gracias por el apoyo, la comprensión y en cariño. Te quiero mucho.

A MARIO

Por ser el mejor hermano que pueda existir, por tu ayuda y comprensión.

A MIS ABUELITOS JOSÉ Y CELIA

Gracias por su ayuda y comprensión para lograr esta meta. Los quiero mucho

A MIS PRIMOS Y PRIMAS

Los quiero mucho y gracias por todo su cariño y amor. Los amo

A TODOS LOS QUE FORMAN PARTE DE MI FAMILIA:

Gracias por que sin su apoyo, confianza y dedicación para mi formación no lo habría logrado. Los amo a todos

A ALEJANDRO

Por ser mi compañero, amigo y sobre todo por ser mi amor. Gracias por tu amor, confianza y tu ayuda. Te amo.

A mis amigos MARIELA, MIREYA, EDITH, VANESSA Y GERARDO

Por ser mis amigos los quiero mucho por todo el apoyo que me brindaron en la carrera y en la vida. Los quiero

**A CHUY, ANDRES, GABY, MARCOS, CHUCHO, JOSÉ LUIS, JORGE A. , VERO
Y A TODO CAMPISMO I'KAL,**

Por ser mis amigos y hermanos en la montaña. Los amo por estar siempre que los necesito.

A LA DRA. LEYVA

Gracias por compartir sus conocimientos con paciencia y entusiasmo, por ser un ejemplo a seguir y dedicar tiempo a mi formación.

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

Gracias por abrirme sus puertas al mundo del conocimiento para que me formara profesional. Orgullosamente UNAM.

A LA FACULTAD DE ODONTOLOGIA

Gracias por abrir mi mente hacia en campo del conocimiento dentro de tus aulas, laboratorios y clínicas.

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

NOMBRE: Rocio Ramirez
Herrera

FECHA: 20-Enero-2009

FIRMA: [Firma]

ÍNDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	3
HISTORIA DEL TABACO	6
TABACO	7
TIPOS DE TABACO	7
No fumado (con humo)	7
Fumado (sin humo)	8
COMPONENTES DEL TABACO	9
Componente particulado	9
Componente gaseoso	10
<i>Alquitrán</i>	13
<i>Monóxido de carbono</i>	13
<i>Nicotina</i>	14
Absorción	15
Efectos fisiológicos	16
Nicotina libre	20
Niveles en la sangre	21
<i>Cotina</i>	21
Tolerancia y dependencia	22
CÁNCER Y CARCINOGENESIS	24
Carcinógenos químicos	24
Carcinogénesis química	28
Carcinogénesis experimental	30
Displasia epitelial y carcinoma "in situ"	34
Carcinoma epidermoide	36
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	39

JUSTIFICACIÓN	39
HIPÓTESIS DE TRABAJO	39
HIPÓTESIS NULA	39
OBJETIVO GENERAL	40
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	40
DISEÑO DEL ESTUDIO	40
UNIVERSO DEL ESTUDIO	40
CRITERIOS DE INCLUSIÓN	40
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	41
CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	41
VARIABLES	41
DEPENDIENTES	41
INDEPENDIENTES	41
MATERIAL Y MÉTODOS	41
MATERIAL Y EQUIPO	41
METODOLOGÍA	43
RESULTADOS	51
PRESENCIA DE DISPLASIA	57
MICROABSCESOS	61
INFILTRADO INFLAMATORIO	62
DISCUSIÓN	65
CONCLUSIÓN	68
BIBLIOGRAFÍA	69

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Planta del tabaco	6
FIGURA 2. Estructura química de la nicotina	14
FIGURA 3 a y b. Hámsters cepa Syriam	43
FIGURA 4 a y b. Pesaje de Hámsters	43
FIGURA 5 a y b. Bolsas bucales derecha e izquierda	45
FIGURA 6. Aplicación de nicotina y placebo	45
FIGURA 7. Sacrificio de los Hámsters con sobredosis de éter	46
FIGURA 8 a y b. Técnica de disección de la bolsa bucal	46
FIGURA 9. Fijación con formol al 10%	47
FIGURA 10. Epitelio normal 10x	51
FIGURA 11. Epitelio normal 10x	52
FIGURA 12 a y b. Epitelio normal 40x	52
FIGURA 13. Acantosis grupo control 40x	53
FIGURA 14. Displasia grupo control 10x	53
FIGURA 15. Acantosis grupo experimental 40x	54
FIGURA 16. Displasia grupo experimental 10x	54
FIGURA 17. Presencia de mitosis anormal hiper cromatismo y cromatina dispersa 40x	56
FIGURA 18. Presencia de mitosis anormal y pleomorfismo 40x	57
FIGURA 19. Displasia leve grupo experimental 40x	57
FIGURA 20. Displasia leve grupo experimental 10x	58
FIGURA 21. Displasia leve grupo experimental 40x	58
FIGURA 22. Displasia moderada grupo experimental 40x	58
FIGURA 23. Microabscesos grupo control 10x	61
FIGURA 24. Microabscesos grupo control 40x	61
FIGURA 25. Microabscesos grupo experimental 10x	62
FIGURA 26. Microabscesos grupo experimental 40x	62
FIGURA 27. Microabsceso, displasia leve e infiltrado inflamatorio 10x	63

FIGURA 28. Microabsceso, displasia leve e infiltrado inflamatorio 40x

63

INDICE DE GRAFICAS

GRAFICA 1. Comparación del desarrollo de displasia entre el grupo experimental y control	56
GRAFICA 2. Presencia de displasia grupo experimental	59

INDICE DE TABLAS

TABLA 1. Principales partículas que componen el humo del tabaco	9
TABLA 2. Principales gases que componen el humo del tabaco	10
TABLA 3. Pesos de los Hámsters al iniciar el estudio en los tres grupos	44
TABLA 4. Peso de los Hámsters a las 4 semanas en los tres grupos	44
TABLA 5. Peso de los Hámsters a las 8 semanas en el grupo 2 y 3	44
TABLA 6. Peso de los Hámsters a las 12 semanas en el grupo 3	45
TABLA 7. Resultados observados en el grupo control y experimental de cambios displásicos	55
TABLA 8. Comparación del grado de displasia entre el grupo experimental a las 4 semanas	60
TABLA 9. Comparación del grado de displasia entre el grupo experimental a las 8 semanas	60
TABLA 10. Comparación del grado de displasia entre el grupo experimental a las 12 semanas	60
TABLA 11. Presencia de infiltrado inflamatorio grupo control y experimental	64

RESUMEN

Tabaco es una planta con flores blancas; produce de 10 a 20 hojas anchas que brotan de un tallo central, ⁴ planta de la familia de las solanáceas y de distintas especies del género NICOTINIANA y NICOTINIANA TABACUM, ⁴ que una vez curadas, se fuman, se mascan o se aspiran en forma de rape, La base fundamental de este vegetal y el ingrediente activo de la hoja de la planta ⁵, se le dio el nombre de "Nicotina".¹

La nicotina es el causante de la adicción al tabaco, el objetivo de este estudio fue demostrar que la nicotina químicamente pura produce displasia en las bolsas bucales de Hámsters cepa Syriam, se trabajo con 14 Hámsters durante 12 semanas y se les aplicó nicotina cada 24 horas, se dividieron en tres grupos de los cuales se sacrificaron a las 4, 8 y 12 semanas. Se diseccionaron la bolsas y se procesaron por la técnica de inclusión en parafina se tiñeron las laminillas y se observaron al microscopio.

Los resultados mostraron que la nicotina provoca displasia leve en las células epiteliales de la mucosa de la bolsa bucal de los Hámsters en los cuales se pudieron observar nucleolos prominentes, núcleos hipercromaticos y pleomorfismo nuclear, también se observó la presencia de infiltrado leve y microabscesos solo en el primer grupo control.

Al final del tratamiento encontramos que del total de los animales (100%) del grupo experimental 14.30% no presentaron displasia, 7.10 % presentaron displasia leve, 78.6% moderada; en los mismos animales se encontró que el 7.14% de ellos tenían microabscesos y con respecto al infiltrado inflamatorio el 35.71% no presento, el 57.14% presento infiltrado leve, el 7.14% moderado.

INTRODUCCIÓN

Prácticamente todo el mundo sabe y esta de acuerdo que fumar, predispone a muchas enfermedades, siendo esta la causa más frecuente de muertes que puede evitarse. No solo afecta a la persona que fuma (fumador activo) sino también a las personas que están alrededor convirtiéndolos en fumadores pasivos al inhalar el humo exhalado por el propio fumador.⁶

El tabaquismo es un importante problema de salud pública a nivel mundial, debido a la alta incidencia de padecimientos crónicos invalidantes que se relacionan con esta adicción, mismos que originan muertes prematuras y grandes pérdidas económicas por gastos en atención médica así como ausentismo laboral y deterioro de la calidad de vida.

Las dos últimas décadas han sido esenciales para la prevención del cáncer, y se han incrementado las vías de investigación tanto experimental como clínica enfocadas a cubrir todos los aspectos del conocimiento de la enfermedad dentro de ellos se ha investigado los agentes carcinogénicos que contiene el tabaco. Dentro de los componentes del humo del tabaco tenemos al alquitrán, metales carcinogénicos como níquel, promotores potenciales como el acetaldehído y fenol, sustancias irritantes como monóxido de carbono, hidrocarburos policíclicos como el benzopireno y nicotina,

El tabaco es el factor de riesgo más importante de cáncer bucal en el mundo; el 95% de los casos de cáncer de boca y faringe están directamente relacionados con fumadores, en el sur y sudoeste de Asia y principalmente en donde se acostumbra a masticar tabaco, nuez de areca y hoja de betel.⁵

En este trabajo pretendimos lograr la inducción de cambios celulares y tisulares a nivel epitelial en las bolsas de los Hámsters Syrian indicativos de malignidad, provocados por la nicotina en la mucosa de la bolsa bucal.

ANTECEDENTES

HISTORIA DEL TABACO

El nacimiento de la palabra tabaco es incierto y múltiple. Algunos cronistas españoles, mencionaban que el nombre viene por haberse descubierto en Tabasco, una pequeña isla Antillana; otros por descubrirse en Tabasco, México y otros, que el nombre procede del receptáculo donde los indígenas de Brasil y la Florida fumaban una planta llamada cohibic y petun respectivamente.¹

Investigaciones estiman que los Mayas utilizaban esta planta y el humo resultante de su combustión en ceremonias religiosas y lo reportan 2000 y 3000 A. C.²

En oficios religiosos o mágicos, los indios de América del Norte fumaban en grandes pipas de piedra o enrollando el tabaco en las hojas secas del maíz. Los aborígenes de las Antillas lo consideraban con propiedades medicinales y tóxicas, siendo utilizadas para emponzoñar las puntas de sus flechas de combate³ Desde Paraguay hasta Québec, los indígenas americanos han consumido el tabaco por siglos. Ya fuera con fines rituales, mágicos o medicinales, su uso era bien conocido: en forma de puro, como cigarrillo, en pipa, combinado con jarabe para ser ingerido, e incluso en forma de enema.⁴

Los marinos de Cristóbal Colón fueron los primeros que vieron fumar tabaco.⁴ En Europa en 1559 se populariza el tabaco a partir de la "cura" que logra el Embajador Francisco II de Portugal,⁴ Juan Nicot, manda como regalo especial a Catalina de Médicis, esposa del Rey Enrique II de Francia.¹ Se le llamaba entonces hierba santa o hierba para todos los males por su empleo casi indiscriminado: se receta para el dolor, la cefalea, la flatulencia, e incluso para la tos.⁴ Nicolás Monardes, en su descripción de las plantas del nuevo mundo (1574) recomienda el tabaco como cura infalible para 36 enfermedades.⁴

La designación de peligroso veneno, ocurrió en Francia (s. XVI), amenazando a los adeptos con los castigos más horribles.¹ La Reina Elizabeth mandó confiscar

pipas y tabaqueras, que eran entonces de un valor alto. El gran Duque de Moscovia amenazó a los fumadores de tabaco con la pena de muerte.¹ El Papa Urbano VIII excomulgó a los que fumaban dentro de las Iglesias. El Sha Abbas de Persia, aplicaba severos castigos a los fumadores, llegando a quemarlos vivos.³ En Turquía, Amurath IV sometía a severos castigos, cortándoles la nariz y los labios y la pena de muerte a los que osaban fumar.³

En Londres y Turquía se impuso la decapitación al que fumase tabaco.¹

Jacobo I de Inglaterra escribió su misocapnos (odio al humo) a lo que los Jesuitas publicaron un Anti-Misocapnos.¹

La Inquisición prohibió el uso de este por considerarlo una práctica bárbara y procedente de una cultura salvaje.¹

Hubo muchos países en los que el uso del tabaco fue prohibido, como en Inglaterra, donde Jacobo I en 1601 fue un firme opositor. El Papa Urbano VIII excomulgó a los sacerdotes sevillanos que consumían rapé mientras oficiaban la misa.³

En España se consumía preferentemente el cigarro,³ En Inglaterra la pipa³ En Francia el rapé, con tabaco en polvo.³

En 1610, los ingleses enviaron a John Rolfe a colonizar la región ahora conocida como Virginia, en los EUA. En 1612, él sembró algunas semillas de *Nicotiana tabacum* que había conseguido, obteniendo espléndidos resultados. La venta de la cosecha de tabaco, a partir de 1613, significó no sólo la supervivencia de la colonia, sino incluso su riqueza. El uso del tabaco se propagó vertiginosamente: en 1614, sólo en Londres había 7000 tabaquerías, y su consumo abarcaba todos los estratos sociales.⁵ Para 1619 se vendía en Londres tanto tabaco de Virginia como de las colonias españolas.⁵

Alexis, Zar de Rusia, en 1645 ordenó que los fumadores fueran deportados a Siberia.³ Los Papas Urbano VIII e Inocente X proclamaron edictos en contra del tabaco, pero en 1725, el Papa Benedicto XIII, fumador empedernido, los revocó.³ Al inicio del siglo XVII, en Turquía, Rusia y China, se castigaba a los

fumadores con la pena de muerte. A pesar de ello, el consumo de tabaco siguió aumentando.⁵ Durante el siglo XVIII se observó una tendencia a preferir el tabaco administrado por la nariz (el llamado rapé) que fumado, particularmente entre las clases altas.

En Inglaterra, la reina Carlota era conocida por su adicción al rapé, y en Francia, Napoleón consumía casi cuatro kilos de rapé al mes.⁵

La base fundamental de este vegetal y el ingrediente activo de la hoja de la planta⁵, fue descubierta por Reimann y Posselt dos químicos franceses en 1829, a la cual le dieron el nombre de su introductor, "Nicotina".¹

En los Estados Unidos, hacia la segunda mitad del siglo XIX, comenzó a predominar el mascado de tabaco.⁵ En 1860, sólo siete de 348 fábricas de Virginia y Carolina lo preparaban para fumar. El resto era para masticar (de hecho, hasta 1945, era obligatorio poner escupideras en todos los edificios públicos de ese país).⁵

Hacia fines del siglo XIX era tan frecuente mascar tabaco como fumar puros, o muchos de los fabricantes de puros desprestigiaban al cigarrillo.⁵ Pero el proporcionar al público un puro más barato estimuló a los comerciantes de tabaco a fabricar cigarrillos. Hacia 1860 uno de ellos, Phillip Morris, empezó a vender cigarrillos hechos a mano. En Austria se vendían cigarrillos con doble boquilla: ¡el usuario los cortaba a la mitad y así tenía dos!⁵ El uso del cigarrillo empezó a ser significativo a partir de 1883.⁵

TABACO

Tabaco es el nombre vulgar⁶ de una planta hermosa (**figura 1**), de gran porte, flores blancas que suele alcanzar⁷ entre 1 y 3 metros de altura; produce de 10 a 20 hojas anchas alternas que brotan de un tallo central,⁴ planta de la familia de las solanáceas y de distintas especies del género NICOTINIANA y NICOTINIANA TABACUM,⁶ que una vez curadas, se fuman, se mascan o se aspiran en forma de rape, la especie mas cultivada es la Nicotiana Tabacum.⁴ Con fines comerciales parte del tabaco también se obtiene de la Nicotiana rústica, una especie hermana de menor tamaño con menos hojas que la Nicotiana tabacum.⁴



Figura 1.
Planta del tabaco

Clasificación de la planta de tabaco:

- **Especie:** *Nicotiana tabacum* *Nicotiana rústica*
- **Género:** *Nicotiana*
- **Suborden:** *Solanaceas*
- **Orden:** *Personatas*
- **Subclase:** *Dialipètalas*
- **Clase:** *Dicotiledòneas*
- **Subdivisión:** *Angiospermas*
- **División:** *Espermafitas*
- **Reino:** *Vegetal*

TIPOS DE TABACO

Las personas que mascan tabaco o fuman puros y pipas absorben la nicotina a través de la mucosa de la boca. En promedio, una persona adulta consume de 6 a 9 puñados de tabaco de mascar diarios, o aproximadamente de 2.6 a 3.8 latas de tabaco a la semana.

Existen dos tipos de tabaco el no fumado y el fumado:

No fumado (sin humo):

Existen dos tipos: el rapé y el tabaco de mascar;

El rapé, un tabaco picado muy fino, se almacena seco, húmedo o en saquitos (como las bolsitas de té). Normalmente, el consumidor pone una pizca de tabaco entre la mejilla y las encías. Esnifar (inhalar) rapé seco por la nariz es algo más común en los países europeos que en Estados Unidos.⁸

El tabaco para mascar está disponible en hojas sueltas, en tapón o en remolinos, el consumidor pone un taco de tabaco en la mejilla. El tabaco sin humo a veces se llama tabaco de "escupir" porque la gente escupe los jugos del tabaco y saliva que se forma en la boca al usarlo.⁸ Cuando es mantenido en la boca, este libera productos químicos que también aceleran los latidos del corazón. Este puede causar cáncer en los puntos de contacto con las mucosas: labios, encías e interior de las mejillas.²

El tabaco de mascar contiene por lo general un promedio de entre 7.11 y 11.04 mg de nicotina por gramo de tabaco. Las personas que mascan tabaco entre 8 a 10 veces al día están expuestas a la misma cantidad de nicotina que una persona que se fuma entre 30 y 40 cigarros diarios.⁵

El tabaco de mascar es manipulado por las compañías con el fin de aumentar la absorción de nicotina. Las compañías le añaden carbonato de sodio y carbonato de amoníaco al tabaco de mascar para aumentar el nivel de nicotina libre y subir

el pH. El aumento del pH del tabaco de mascar aumenta la absorción de nicotina en las personas que lo usan .⁵

El uso de tabaco de mascar y de esnifar puede producir niveles de nicotina en plasma comparable a los de los fumadores de cigarrillos y provocar dependencia o adicción a la nicotina. El uso de estos productos de tabaco sin humo también aumenta el riesgo de cáncer de la cavidad bucal.⁹

El tabaco para mascar y el rapé contienen 43 carcinógenos. Los carcinógenos más dañinos en el tabaco sin humo son las nitrosaminas específicas del tabaco (TSNAs). Éstas se forman durante el curado, la fermentación y la maduración del tabaco.⁸

Otras sustancias causantes de cáncer que se encuentran en el tabaco sin humo son formaldehído, acetaldehído, crotonaldehído, hidracina, arsénico, níquel, cadmio, benzopireno y polonio (que despiden radiación).⁸

Fumado (con humo)

El humo de tabaco ambiental es una mezcla compleja de químicos que se producen cuando se queman los productos de tabaco. Los principales elementos que constituyen el humo de tabaco ambiental son el "humo de corriente principal," el "humo de corriente secundaria" y las sustancias que se difunden a través del papel del cigarro.⁵

El tabaco fumado produce humo que inhalado por el fumador está constituido por un componente particulado y un componente gaseoso

COMPONENTES DEL TABACO

Componente particulado

El alquitrán representa el componente particulado sin agua ni nicotina.

Existen 300 a 3300 millones de partículas por mm³.

Así como más de 4000 constituyentes, entre los que se incluyen 43 carcinógenos conocidos^{6, 4, 5, 10}

La fase particulada contiene nicotina, agua y alquitrán, mezcla de hidrocarburos aromáticos policíclicos, algunos de los cuales son carcinógenos probados.^{4, 5}
(*tabla 1*)

Tabla 1. Principales partículas que componen el humo.

PRINCIPIOS ACTIVOS	CANTIDAD
Alquitrán	1-40 miligramos (mg)
Agua	1-4 mg
Nicotina	1-2,5 ug
Fenol	20-150 ug
CAMECOL	130-280 ug
Pireno	50-200 ug
Benzo (a) pireno	20-40 ug
2,4 Dimetilfenol	49 ug
Tn- y p-Cresol	20 ug
p-Etilfenol	18 ug
Sigmasterol	53 ug
Fitosteroles	130 ug
Indol	14 ug

<http://www.ondasalud.com/edicion/noticia/0,2458,14345,00.html>

Componente gaseoso

El humo contiene metales, carcinogénicos como arsénico, níquel, cadmio y cromo.

Promotores potenciales como acetaldehído y fenol

Sustancias irritantes como dióxido de nitrógeno y el formaldehído.

*Toxinas para los cilios como el cianuro de hidrógeno, monóxido de carbono.*⁶

Las partículas de aerosol tienen un tamaño que va de 0.15 μm a 1.3 μm , con una media de 0.4 μm , de tal manera que las partículas, el vapor y los gases permanentes pueden llegar a los alvéolos pulmonares cuando se inhalan y, de hecho, se ha demostrado que el humo llega a la tráquea, los bronquios y los pulmones, y que los macrófagos alveolares fagocitan componentes del humo.⁶

El humo del tabaco es un aerosol compuesto de gotitas dispersas en un gas o vapor, es una mezcla de componentes orgánicos e inorgánicos, generados por la combustión del tabaco y de sus aditivos.^{1,3,7} (**Tabla 2**)

Tabla 2. Principales gases que componen el humo

PRINCIPIOS ACTIVOS	CANTIDAD
Dióxido de carbono	20-60 mg
Monóxido de carbono	10-20 mg
Metano	1,3 mg
Isopreno	582 μg
Acetona	100-600 μg
Cianidina de hidrógeno	240-430 μg
2-Butanona	80-250 μg
Tolueno	108 μg
Acetonitrilo	120 μg
Acroleína	84 μg
Amoníaco	80 μg
Benceno	67 μg

Dimetilnitrosamina	10-65 ug
Nitrosopirrolidina	10-35 ug
Acetaldehído	770 ug
Nitrobenceno	25 ug

<http://www.ondasalud.com/edicion/noticia/0,2458,14345,00.html>

La composición del humo depende de diferentes factores, como son el tipo de tabaco, la temperatura de combustión, la longitud del cigarrillo, la porosidad del papel, los aditivos y los filtros. La temperatura del cigarrillo varía de 30° C en la boquilla a 90° C en el extremo encendido. En presencia de calor intenso algunos constituyentes del tabaco presentan descomposición térmica (pirólisis). Las sustancias volátiles se destilan directamente en el humo. Las moléculas inestables se recombinan para generar otros compuestos (pirosíntesis). La concentración de constituyentes del humo sucede cuando se filtra el humo por tabaco no quemado y se redestila en el extremo encendido. Algunas sustancias del tabaco pasan sin modificarse al humo del cigarrillo. Aproximadamente, entre el 92 y el 95 % del peso total del humo principal está presente en la fase gaseosa. El 85 % del peso del humo está compuesto de nitrógeno, oxígeno y dióxido de carbono. Los gases restantes y las partículas de materia son las sustancias de importancia médica. En el humo de los cigarrillos se han identificado más de 4000 sustancias, que incluyen algunas que son farmacológicamente activas, antigénicas, citotóxicas, mutagénicas y carcinogénicas; estos efectos biológicos variados brindan un contexto para comprender las consecuencias adversas del tabaquismo.⁹

La fase gaseosa contiene compuestos indeseables: monóxido de carbono, bióxido de carbono, amoníaco, nitrosaminas volátiles, óxidos de nitrógeno, cianuro de hidrogeno, derivados de azufre y de los nitritos, hidrocarburos volátiles, alcoholes, aldehidos y cetonas.

Los gases que aparecen en mayor proporción son las nitrosaminas, el acetaldehído, el ácido cianhídrico y los óxidos de nitrógeno.¹⁰

El humo de cigarrillo y su condensado son carcinógenos en varias especies animales. Los principales carcinógenos identificados en el humo de cigarrillo son los hidrocarburos aromáticos, las aminas aromáticas y las nitrosaminas. Los cocarcinógenos presentes en el humo de cigarrillo.⁹

Sin embargo, la combustión del cigarrillo genera dos tipos de humo: el que se desprende de la corriente principal (cuando se produce la succión activa) y el de la corriente secundaria (combustión del propio cigarrillo mientras no es succionado).¹⁰

La composición de estas corrientes es diferente. La corriente principal es una combustión rica en oxígeno, ya que al aspirar el humo entra aire en la zona de ignición. La corriente secundaria es una combustión espontánea, incompleta y de menor temperatura.¹⁰

Estas corrientes desprenden pequeñas partículas y gases. Las partículas están compuestas por una mezcla de hidrocarburos aromáticos, nicotina, alquitrán y agua. Su tamaño medio es de 0,4 micras, lo que les permite alcanzar la tráquea, los bronquios, los pulmones, los macrófagos alveolares y las vías aéreas más pequeñas.¹⁰

Las investigaciones sobre el humo de tabaco ambiental han revelado muchos datos importantes, tales como:

- El humo de tabaco ambiental causa aproximadamente 3000 muertes al año por cáncer de pulmón en personas que no fuman.⁵
- Estar expuesto al humo de tabaco ambiental aumenta el riesgo de: bebés que nacen con bajo peso; síndrome de muerte súbita infantil o muerte de cuna; enfermedad crónica del oído medio; cáncer de pulmón; cáncer de los senos paranasales; cáncer del cuello de la matriz; infecciones en la vía respiratoria inferior, tales como bronquitis y neumonía; frecuentes ataques de asma en niños;

nuevos casos de asma en niños que no padecían esta enfermedad; incremento de la morbilidad y mortalidad por las enfermedades del corazón.⁵

El humo del tabaco posee una composición compleja; sus constituyentes pueden ser divididos en cuatro categorías principales; ellas son ⁴ Alquitrán Monóxido de carbono. Irritantes y Nicotina

Alquitrán

Compone una fracción sólida del humo. Cada vez que se absorbe el cigarrillo, se deposita una película de sustancia alquitranada en todas las zonas en que el humo entra en contacto con los tejidos que revisten la boca, orofaringe y pulmones.^{6, 10} Es la brea que se utiliza para recubrir las pistas y construir carreteras Esta se va acumulando en los pulmones de los fumadores, dificultando la entrada del oxígeno.⁶

El contenido promedio de alquitrán de un cigarrillo varía de 0.5 a 35 mg,

Monóxido de carbono

Se produce durante la combustión incompleta de combustibles fósiles del tabaco que interfiere con el transporte y utilización del oxígeno

Disminuye el aporte de oxígeno a los tejidos periféricos.

Es un gas incoloro y muy tóxico que se desprende de la combustión del tabaco y del papel del cigarrillo. Al aspirarse por vía pulmonar, desplaza al oxígeno de los hematíes y forma carboxihemoglobina, sustancia no apta para el transporte del oxígeno.^{6, 10}

El no fumador tiene de 1 a 2% de carboxihemoglobina en sangre, y el fumador una tasa que supera el 8%, llegando comúnmente al 12% y 14%.^{6, 9}

Estas tasas producen disminución de la entrada de oxígeno y menor fijación de éste a la hemoglobina, aumento presumible la arterioesclerosis.⁶

Debido a que el humo de un cigarrillo contiene de un 2 a un 6 % de monóxido de carbono, los fumadores inhalan una concentración de hasta 400 partes por millón

(ppm) y tienen una concentración elevada de carboxihemoglobina (COHb). El aumento moderado y crónico de la COHb debido al tabaco es una causa frecuente de policitemia leve y puede producir una ligera alteración de la función del sistema nervioso central.⁹

Nicotina

La nicotina es un alcaloide ⁽³⁾ líquido natural ⁵ tóxico ⁹ oleoso, e incoloro; ⁴ que está presente en muchas variedades de hojas de tabaco. ⁴ Es una molécula pequeña de amina terciaria con una piridina y un anillo de pirrolidina (**Figura 2**),¹² que es una grasa (lípidos) y es soluble en agua; por lo tanto, se absorbe rápidamente a través de la piel o la mucosa de la boca y la nariz.⁵

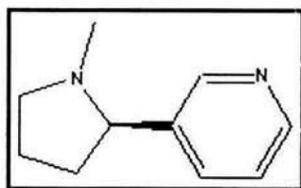


Figura 2
Estructura química
de la nicotina

Tiene un pH de 8,0, algunos tipos de tabaco de mascar tiene un pH promedio de 8,35.⁵

Se utiliza en química como fuente de ácido nicotínico, el cual se obtiene por oxidación.⁵

Cada cigarrillo contiene entre 0.005 a 3,5 miligramos de nicotina y 60 mg de ella son suficientes para matar a un adulto de 70 kg. Un puro puede contener hasta 120 mg. Cuando uno aspira el humo (da el golpe), se puede absorber hasta el 90% de la nicotina, mientras que si sólo pasa por la boca, esta cifra se reduce al 20 o 35%. La nicotina inhalada llega al cerebro en menos de 10 segundos.⁵

Se trata de un alcaloide sin propiedades terapéuticas. Los pulmones absorben hasta el 90 por ciento de la nicotina cuando se aspira el humo del cigarrillo,

mientras que esta cifra se reduce hasta el 35 por ciento si el humo sólo pasa por la boca.¹⁰

La nicotina, es uno de los principales componentes activos presentes en el tabaco con o sin humo, ¹¹ es el que tiene el mayor poder de adicción y se debe, a sus propiedades farmacológicas, pero también a la manera en que es liberada por el cigarrillo. La forma de administración de esta droga es por vía respiratoria, lo que significa que en menos de 10 segundos la sangre distribuye esta droga por todo el cuerpo. ¹¹

La nicotina es la droga psicoactiva que causa la adicción a los productos de tabaco. La nicotina tiene un efecto estimulante y también sedante en el sistema nervioso central de la persona.¹⁰

Absorción.

Cuando la persona fuma cigarrillos, una alta dosis de nicotina entra rápidamente a la corriente sanguínea a través de los pulmones. La nicotina es transportada en cuestión de segundos a regiones específicas del cuerpo y el cerebro. (Tarda de 10 a 19 segundos para llegar del cigarrillo al cerebro.)⁵

Cada cigarrillo contiene entre 8 y 10 mg de nicotina. Pero la persona sólo se administra alrededor de 1 mg de nicotina cuando se fuma un cigarrillo ⁵ las personas altamente dependientes al tabaco necesitan una dosis de nicotina cada 20 ó 30 minutos, mientras están despiertos. La dosis normal de nicotina que consume un adulto diariamente es de aproximadamente 20 mg. Hay 20 cigarrillos en una cajetilla.⁵ La gente que consume entre 8 y 10 dosis de tabaco o las mastica recibe la misma cantidad que un fumador que fume entre 30 y 40 cigarrillos diarios.⁸ La nicotina del rapé y del tabaco de mascar se absorbe más lentamente que la de los cigarrillos. Del mismo modo, permanece en el torrente sanguíneo más tiempo.⁸

El tabaco que se encuentra en los cigarrillos es manipulado por las compañías de tabaco con el propósito de aumentar la absorción. El fumador absorbe hasta el 90% de la nicotina que se encuentra en el humo de corriente principal. Para

aumentar la absorción de nicotina libre, las compañías añaden compuestos de amoníaco a los cigarrillos. Estos compuestos aumentan la alcalinidad, o pH del tabaco.⁵

Al pH "normal" del humo, 6,0 o menos, la mayor parte de la nicotina está ligada químicamente a las sustancias "ácidas" (o de pH bajo) del humo de tabaco, por lo que es no volátil y es absorbida lentamente, pero la absorción puede aumentar en un ambiente levemente alcalino (o pH alto) por el fumador. Conforme aumenta el pH del humo de tabaco, más de 6,0, una mayor proporción de nicotina de las sustancias "ácidas" se libera y se convierte en nicotina libre, la cual es volátil y es absorbida más rápidamente por la persona.⁵

Efectos fisiológicos.

Este alcaloide tiene efectos colinérgicos con la característica de estimular para después deprimir. La estimulación resulta de la ocupación del receptor colinérgico, mientras que la segunda resulta de su permanencia en el sitio, impidiendo la acción de la acetilcolina. Es el llamado antagonismo por bloqueo.⁵

Libera catecolaminas a partir de las glándulas suprarrenales y del sistema nervioso simpático. En el aparato cardiovascular estas catecolaminas aumentan la frecuencia cardíaca, la presión arterial y el flujo coronario,⁵ incrementando la demanda de oxígeno del tejido cardíaco, pero no de su suministro. En personas susceptibles esto puede conducir a una crisis cardíaca;^{12, 10, 4, 5} *aumenta la contractilidad y del gasto cardíaco*

Es un alcaloide que atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica y estimula los receptores nicotínicos del cerebro.

La nicotina incide directamente en la pared de los vasos sanguíneos y desencadena una serie de mecanismos bioquímicos que contribuyen, a veces en forma decisiva, a que se forme una placa de ateroma en las arterias desencadenando trombosis aguda.⁵

Aumenta la concentración y los niveles circulantes de ácido graso, glicerol y lactato en la sangre, la adhesión de plaquetas y el engrosamiento de las arterias coronarias, cuya principal consecuencia es la trombosis.^{4, 10, 12}

La relajación muscular que ocasiona favorece los síntomas cardiovasculares y endocrinos que refuerzan la necesidad de su consumo.^{4, 10, 12}

La nicotina produce efectos variables de acuerdo a la dosis, inicialmente producen estimulación transitoria seguida de depresión más persistente (efecto difásico). La nicotina produce la liberación de catecolaminas (adrenalina, etc.) la cual acelera la frecuencia cardiaca y aumenta la presión arterial, así como incrementa la cantidad de ácidos grasos libres. A la estimulación inicial del sistema nervioso central sigue depresión y muerte por insuficiencia respiratoria (parálisis central y bloqueo periférico de los músculos respiratorios). Estimula la secreción salival y bronquial. Se excreta en la leche de la mujer que fuma, en forma proporcional a la cantidad consumida. El eslabón entre fumar cigarrillo, cáncer pulmonar y enfermedad pulmonar crónica ha sido conocidos por años. Todo fumador de cigarrillos corre el riesgo de enfermedad cardiaca, el riesgo es aún mayor si el fumador también tiene presión sanguínea elevada y/o niveles incrementados de colesterol en la sangre. Cuando se fuma, la nicotina hay taquicardia y como resultado el corazón es forzado a trabajar más intensamente y necesita más oxígeno; para hacer las cosas aún peores el monóxido de carbono del humo del tabaco disminuye la cantidad de oxígeno transportado en la sangre hacia el corazón.¹³

En los fumadores habituales, existen algunas diferencias en los efectos de la nicotina. Por ejemplo, la presión no parece aumentar significativamente, probablemente como consecuencia del desarrollo de una tolerancia a la nicotina.¹²

El incremento de la frecuencia cardíaca se produce con los primeros cigarrillos del día, pero posteriormente permanece inalterada. Los fumadores presentan niveles elevados de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y niveles reducidos de lipoproteínas de alta (HDL), fenómeno asociado a la aterosclerosis.

Hiperactividad y función de las plaquetas, ya que la sangre de los fumadores tiende a coagularse más fácilmente.¹²

Los efectos hormonales de la nicotina pueden variar, dependiendo del número y frecuencia de cigarrillos fumados y si los fumadores han desarrollado tolerancia a la nicotina al fumar de forma repetida.¹²

Desencadena una serie de trastornos en todos los mecanismos del organismo y fundamentalmente en el área cardiocirculatoria. La suma de todos ellos culminará en una lesión cardíaca irreversible, infarto de miocardio o muerte súbita.⁶

Taquicardia: elevación de 10 a 30 pulsaciones por minuto, que al cabo de los años son millones de latidos de más y un exceso de consumo de energía. Pueden aparecer palpitaciones.⁶

Arritmia: es un trastorno de la conducción o irritabilidad miocárdica después de un infarto al miocardio, puede producir muerte súbita.

Tensión arterial: respuesta compensatoria a la sobre carga de presión capaz de causar trastornos de la función miocárdica, dilatación cardíaca y muerte súbita

Arteriosclerosis: Lesión vascular que consiste en un engrosamiento hialino, homogéneo y de color rosado, de la pared de las arteriolas, acompañado de la pérdida de los detalles estructurales y estrechamiento de las paredes de las arterias a causa de cúmulos de colesterol, disminuyendo o llegando a dificultar completamente el riego sanguíneo del tejido al que llega la arteria. A nivel cardíaco produce problemas cuando esto sucede en las arterias coronarias.^{6, 14}

Trombosis: es el resultado de una activación inadecuada de los procesos hemostáticos normales con la formación de un coágulo de sangre. Hay aumento de la adhesividad de las plaquetas, llevando al fumador a la trombosis coronaria.⁶

Isquemia cardíaca: Es la suma de todos los eventos anteriores lo que conduce a la suspensión temporal o definitiva, y parcial o total de riego en una zona del corazón.⁶

Deficit de riego: La absorción y fijación del monóxido de carbono, formando carboxihemoglobina, desplaza e impide la absorción del oxígeno por la

hemoglobina, por lo que disminuye el oxígeno circulante y el que llega a los tejidos, con una generalizada falta de oxigenación.⁶

Vasoconstricción periférica: La liberación de adrenalina cierra los vasos periféricos con caída de la temperatura cutánea y frialdad de las extremidades (manos y pies), pudiendo llegar a aparecer cuadros de gangrena.⁶

Cefalea: La nicotina y el monóxido de carbono son los responsables de la primera fase de vasoconstricción, que va seguida de la vasodilatación paralítica que produce el dolor de cabeza.⁶

Dificultades en el metabolismo: La nicotina disminuye las contracciones de la pared gástrica, con lo que la sensación de hambre desaparece; la intoxicación por tabaco produce la pérdida del apetito; interfiere con la absorción de proteínas; insomnio; favorece la mala digestión: todo esto produce adelgazamiento. Por otro lado, los niveles de vitamina C en los fumadores son más bajos, incrementándose las enfermedades infecciosas.⁶

Oftalmológicas: Aumento de conjuntivitis por la acción irritante del humo.⁶

Urinarias: Cáncer de vejiga, por la eliminación de nicotina a través de la orina.⁶

Depresión: Estudios recientes indican que la prevalencia del consumo de cigarrillos es mayor entre las personas que han tenido un trastorno depresivo mayor.⁹

Alteraciones bucales.

Entre los efectos del uso del tabaco sobre los tejidos bucales, podemos encontrar desde susceptibilidad a desarrollar enfermedad periodontal, retraso cicatrizal, pigmentación de la mucosa, hasta la aparición de procesos premalignos y malignos en la cavidad bucal.¹

La nicotina afecta a la circulación periférica, causando vasoconstricción gingival importante, por lo cual disminuye el aporte de elementos del tejido gingival y por consiguiente disminuye la capacidad de cicatrización de este tejido. También puede estar suprimido el sistema inmune, esto a causa de una reducción de la quimiotaxis y fagocitosis por parte de los leucocitos.¹

Además la nicotina causa alteración en la matriz extracelular. Una concentración menor a 0.075% causa muerte celular, una de 0.075% causa vacuolización de los fibroblastos y una del 0.05% inhibe la producción de fibronectina y colágeno tipo II por lo que se produce ruptura de la matriz extracelular gingival por consiguiente aumenta la gravedad de la enfermedad periodontal. Con lo anterior podemos pensar que un efecto similar se puede dar en cualquier otro sitio de la mucosa bucal y no solo en el periodonto. El fumar se asocia clínicamente a bolsas profundas, formación de cálculo, pérdida de hueso alveolar, gingivitis ulceronecrotizante aguda grave, y osteoporosis.¹

Los consumidores de tabaco pueden presentar cambios displásicos en la mucosa bucal, según la magnitud de esta y su localización en boca, pueden ser estos de buen, mediano a mal pronóstico. Algunos cambios displásicos leves pueden ceder con el cese del hábito del tabaco.¹

Entre los efectos más comúnmente descritos que tiene el tabaco sobre la mucosa bucal se encuentra el cáncer

Nicotina libre

Por lo menos uno de los fabricantes de cigarros en los Estados Unidos usa aditivos para aumentar la absorción de nicotina del humo del cigarro. Los compuestos de amoniaco alteran el pH de la nicotina en el tabaco, convirtiendo a la nicotina de *nicotina cargada positivamente* y ligada a otros compuestos (varias sales de nicotina), a *nicotina libre* (o *nicotina sin carga eléctrica positiva*).⁵

La *nicotina libre* penetra con mayor rapidez en la corriente sanguínea, atravesando fácilmente la mucosa de la boca y la pared de los pulmones, especialmente cuando se compara con la velocidad de absorción de las sales de nicotina Algunos productos de tabaco de mascar pueden llegar a tener hasta un 68.14% de nicotina libre.⁵

Niveles en la sangre

Los niveles de nicotina en la sangre varían de acuerdo a la hora del día, la cantidad de tabaco que usa y el patrón con que lo usa. Los niveles de nicotina en el plasma de personas que usan tabaco, por lo general ascienden hasta un nivel de entre 10 y 50 ng /ml, cuando las determinaciones se hacen por la tarde ⁵

La nicotina tiene una vida media de entre 2 a 3 horas. El principal metabolito de la nicotina es la cotinina, tiene una vida media promedio de 19.7 horas (con un rango de 11 a 37 horas), de acuerdo con el metabolismo de la persona. En general, no es posible detectar la nicotina en la sangre de la persona después de 24 horas.⁵

Los niveles de nicotina más altos que se obtienen en la sangre de las personas que usan tabaco de mascar generalmente se alcanzan en los primeros 30 minutos, con un máximo de absorción en los primeros 10 minutos. Las personas que mantienen una pizca de rapé (tabaco en polvo) en la boca por un periodo de 20 a 30 minutos, alcanzan niveles de nicotina 2 a 3 veces mayores que la cantidad de nicotina que absorbe la persona al fumarse un cigarro.⁵

Cotinina:

La cotinina es un metabolito de la nicotina producto de su transformación por el organismo, y se utiliza para medir la exposición al humo activo y, sobre todo, al pasivo.¹⁵

Es posible detectar la cotinina en el cuerpo de la persona durante un periodo de tiempo mayor porque su vida media es más larga. Los niveles de cotinina en suero se pueden usar para determinar si la persona ha estado expuesta a la nicotina en los últimos 2 a 3 días. Niveles de cotinina en suero que varían entre 0,03 a 650 ng /ml, se han encontrado en personas expuestas al humo de tabaco ambiental o en fumadores cuyas edades varían de los 4 a los 91 años de edad (CDC, 1993).⁵

La cotinina permanece bastante tiempo en el organismo: sólo después de 20 horas disminuye en la sangre.¹⁵

Es posible detectarla también en la saliva o en la orina.¹⁵

La concentración media de la cotinina en la orina de no-fumadores expuestos al humo dispersado en el ambiente ha sido medida en 40 mg/ml. La concentración media en los fumadores activos es más o menos de 1500 mg/ml.¹⁵

Por lo general, las personas que mascan tabaco o fuman puros tienen un nivel de cotinina en la sangre más alto que las personas que fuman cigarros. Así mismo, está demostrado que estas personas tienen concentraciones más altas de compuestos tóxicos y cancerígenos, cuando se comparan con personas que sólo fuman cigarros.⁵ De acuerdo con los Centros para el Control de las Enfermedades, nueve de cada diez personas que no fuman expuestas al humo de tabaco ambiental, de acuerdo a las pruebas para medir los niveles de cotinina en la sangre.⁵

Tolerancia y dependencia.

Cada año miles de niños y adolescentes comienzan a fumar y la mayoría de los fumadores establecidos tienen gran dificultad para abandonar el hábito. Las mujeres y las jóvenes son las que más fuertemente están aumentando la prevalencia. Los efectos adictivos de la nicotina son la causa de gran parte de este dilema sanitario, personal. Para un tratamiento eficaz de los pacientes, es esencial reconocer que el consumo de tabaco es una adicción y que la nicotina es la droga adictiva. Los criterios primarios para definir la adicción a una droga son: uso compulsivo, efectos psicoactivos y conducta reforzada por la droga. El uso de nicotina cumple estos criterios debido a que produce una compulsión a fumar, causa efectos placenteros del estado de ánimo y motiva una conducta crónica de búsqueda y consumo de tabaco. La tolerancia y la dependencia física, que se manifiestan en un síndrome de abstinencia, contribuyen al férreo control que la nicotina ejerce sobre la conducta de fumar. Los fumadores regulan su dosis de nicotina para obtener los efectos deseados; éstos comprenden tanto efectos intrínsecamente positivos, como el placer y la mejora del rendimiento, como el evitar el síndrome de abstinencia. Este síndrome se caracteriza por ira, ansiedad,

ansia de productos de tabaco, dificultad para concentrarse, hambre, impaciencia e intranquilidad. La mayoría de estos síntomas alcanzan un máximo uno o dos días después del abandono y vuelven a la situación de partida en 3 ó 4 semanas; sin embargo, el ansia de tabaco y el hambre pueden persistir durante largos períodos. El uso de productos del tabaco es una conducta compleja, aprendida, entrelazada con la vida diaria y relacionada con la forma con que el fumador se relaciona con el mundo. Numerosas actividades, pensamientos y emociones de la vida diaria actúan como poderosas señales para fumar. De forma similar, la conducta del fumador está influida por factores ambientales, como la aceptación del tabaquismo en el hogar, entre los compañeros y en el lugar de trabajo.⁹

Cuando la nicotina llega al hipotálamo, lo estimula para producir la misma sustancia que normalmente es producida en situaciones de estrés: los esteroides. Esta reacción química a una falsa situación de estrés genera una baja en la sensación de ansiedad y aumenta momentáneamente la capacidad de concentración. Con el tiempo, y cantidad de cigarrillos fumados, el hipotálamo se adapta a este suministro permanente de estímulo y cada vez requiere mayores cantidades de droga (nicotina) para generar una cantidad de esteroides que produzcan el mismo efecto y la misma sensación en el cuerpo. Al mismo tiempo, ante la ausencia de nicotina el cuerpo genera una cantidad insuficiente de esteroides y la forma de reclamarlos, y proveerlo, es con un fuerte e incontenible deseo de fumar. Una vez satisfecho este deseo, el cuerpo no pide más droga hasta que no necesita compensar la falta de esteroides provistas por el hipotálamo, cosa que cada vez sucede con más frecuencia debido a la adaptación del hipotálamo al suministro de nicotina. O sea que se genera un círculo vicioso (literalmente) en el que cuanto más nicotina se le dé al cuerpo, mas nicotina necesita para mantenerse equilibrado.¹¹

Un gran porcentaje de los pacientes que presentan cáncer en boca u orofaringe son fumadores o en alguna época de su vida lo fueron, se ha demostrado la presencia de neoplasias malignas en pacientes con historia de hasta 15 años de haber dejado el hábito del tabaco.¹

CÁNCER Y CARCINOGENESIS.

El cáncer se origina a menudo en tejidos que cuentan con un sistema celular de autorrenovación. Se puede considerar como una ampliación clonal de células que experimentaron transformación maligna durante una etapa incipiente del desarrollo y se han descrito como caricaturas de la maduración y duplicación de células normales.^{16,17}

El cáncer no es solo una enfermedad, sino un grupo de más de 200 alteraciones distintas en las que se produce un crecimiento anormal de las células, hasta convertirse gradualmente en masas de tejidos llamados tumores o neoplasias por lo general asociados a un agente carcinógeno. El proceso de carcinogénesis se inicia cuando agentes denominados carcinógenos producen alteraciones irreversibles en la información genética, convirtiendo genes normales de una persona en los llamados oncogenes, capaces de inducir cáncer (iniciación tumoral). Posteriormente, determinados factores medio-ambientales hacen que las células, con información genética ya alterada, se desarrollen y multipliquen (promoción tumoral y que gradualmente se establezca el cáncer y se disemine (progresión tumoral)).^{18, 19, 20}

Son muchos los agentes que producen daño genético e inducen la transformación neoplásica de las células. Pueden dividirse en los siguientes grupos: 1) carcinógenos químicos, 2) energía radiante y 3) microorganismos oncogénicos, principalmente virus.²¹

La carcinogénesis estudia las causas y el proceso de transformación de la célula normal en neoplásica. El cáncer puede ser provocado por uno o varios carcinógenos que producen la transformación celular mediante un proceso progresivo de múltiples pasos previos.²²

Carcinógenos químicos:

Un carcinógeno es cualquier agente químico, biológico, o físico que puede en potencia inducir cáncer. El término se aplica con más frecuencia a sustancias

químicas introducidas en el medio ambiente por la actividad humana. Los investigadores clasifican una sustancia como carcinógeno cuando al afectar a una población cuyos organismos no han sido expuestos a ella con anterioridad, hay un aumento significativo, según las estadísticas, de alguna forma de neoplasia. Sin embargo, aún no se conocen bien los mecanismos que desencadenan el cáncer, y los esfuerzos realizados para determinar el riesgo de cáncer inherente a determinadas sustancias han desatado grandes controversias. Durante la pasada década, las sustancias catalogadas como carcinógenos fueron los pesticidas DDT, kepona y EDB; la hormona sintética DES; el edulcorante artificial ciclamato; el asbesto, y una gran variedad de otras sustancias industriales y del medio ambiente. Los carcinógenos del tabaco siguen siendo todavía la causa más importante de cáncer.²³

De acuerdo con las guías de evaluación de sustancias carcinógenas elaboradas por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos, el humo de tabaco ambiental está clasificado como un carcinógeno del Grupo A. Los carcinógenos del Grupo A son sustancias para las cuales existe suficiente evidencia de que pueden causar cáncer en los seres humanos.

La estructura de las sustancias químicas que inician la carcinogénesis es extraordinariamente diversa y abarca tanto productos naturales como sintéticos, pueden dividirse en dos categorías:

- 1) Compuestos de acción directa, no necesitan transformación química para desarrollar su acción carcinógena,
- 2) Compuestos de acción indirecta o procarcinógenos, que necesitan una conversión metabólica in vivo para producir un carcinógeno definitivo capaz de transformar a las células.

La carcinogénesis multifactorial puede ser:²²

1. La Sincarcinogénesis: es la carcinogénesis producida por dos o más carcinógenos que se potencian entre sí, aun cuando cada uno de ellos se encuentre en dosis subcarcinogénicas.^{22, 24}
2. Cocarcinogénesis: es la carcinogénesis combinada entre un carcinógeno que actúa a dosis subcarcinogénicas - agente iniciador- y un agente que por si solo seria incapaz de producir una transformación neoplásica.^{22, 24}
3. Pluricarcinogénesis: es la carcinogénesis debida a múltiples carcinógenos, que actúan a dosis subcarcinogénicas, de forma secuencial.^{22, 24}

Todos los carcinógenos de acción directa y definitivos tienen una propiedad: son electrófilos (con átomos deficientes de electrones) sumamente reactivos que pueden reaccionar con localizaciones celulares nucleófilas (ricas en electrones). Estas reacciones no son de carácter enzimático y dan lugar a la formación de compuestos covalentes (productos de adición) entre el carcinógeno químico y un nucleótido del DNA, las reacciones electrófilas pueden producirse en varias localizaciones ricas en electrones de las células diana entre ellas el DNA, el RNA y las proteínas, por lo que a veces se producen daños que son letales para la célula, como es lógico la interacción no es letal para las células iniciadas y, evidentemente, afecta fundamentalmente al DNA.

Una de las características generales de la historia natural de una neoplasia *in vivo* es el extenso período entre la primera aplicación del carcinógeno -ya sea químico, físico o biológico- y la aparición de la neoplasia. Este período de latencia o de inducción tumoral, puede demostrarse cuando se aplica un carcinógeno químico, se ha visto incluso cuando el carcinógeno se administra de forma continua al animal de experimentación. En la mayoría de los sistemas estudiados, no existen evidencias macroscópicas de crecimiento tumoral o de neoplasia clínica durante la mayor parte del período de latencia. Existe un período de latencia similar cuando el carcinógeno se administra al animal de experimentación durante la gestación. También existe latencia en caso de infección por virus oncogénicos, exposición de

radiaciones ionizantes o implantación subcutánea de discos de metal o plástico, los cuales dan lugar a la producción de sarcomas. Así el periodo de latencia ha de considerarse como una característica general de la historia natural de las neoplasias. Dicho periodo varia dependiendo del tipo de agente, la dosis y ciertas características de las células diana del huésped.

Se clasifica en: unifactorial que es producido por un solo carcinógeno; (es raro en patología humana); y multifactorial, es decir, por varios carcinógenos que actúan simultáneamente y secuencialmente, la mayoría de las neoplasias se producen debido a carcinogenesis multifactorial.²²

Los carcinógenos son sustancias cuya capacidad de causar cáncer es conocida o bien que cuando menos producen un incremento en la incidencia de cáncer en una población animal o humana.²⁶

Es importante recalcar que: 1) la causa de los cánceres humanos más comunes es desconocida; 2) que la mayor parte de los casos de cáncer es probable que sean multifactoriales y 3) con excepción del tabaquismo con cigarrillos,²⁶

La importancia de los carcinógenos ambientales aun no identificados no debe minimizarse simplemente porque pueden no haber sido identificados todavía.²² No sólo hay variedad de carcinógenos sino que se dan diversos patrones de aplicación, junto a grandes diferencias de susceptibilidad de especie, de raza y de tropismo tisular. Algunos carcinógenos que reaccionan de forma directa con la célula para iniciar la transformación neoplásica – carcinogénesis directa- pero son muchos más los que actúan de forma indirecta –carcinogénesis indirecta-.²²

La carcinogénesis química se rige por una serie de principios básicos, que le son específicos, los más importantes son:²²

1. Los carcinógenos químicos son citotóxicos a determinadas dosis, pueden condicionar necrosis y/o hiperplasia compensadora.²² La carcinogénesis química

suele ser un proceso multicausal: muchos carcinógenos químicos con agentes mutágenos iniciadores, cuya acción potencian los agentes promotores.²²

2. La proliferación celular potencia la carcinogénesis: sin proliferación celular no hay transformación neoplásica.²²

3. Muchos carcinógenos actúan como carcinógenos remotos o indirectos: muchos carcinogénicos químicos requieren una activación metabólica antes de reaccionar con las células diana para ejercer su acción carcinogénica.²²

4. Todos los carcinógenos químicos son electrofílicos, y se conjugan covalentemente con residuos nucleófilos en el DNA, RNA y proteínas celulares. Solo con estas últimas muestran cierto grado de especificidad.²²

Carcinogénesis química.

Los efectos iniciales producidos por los carcinógenos químicos causan alteraciones de: a) Replicación: el carcinógeno se une al DNA y se sintetizan cadenas anormales de DNA y RNA, que inducen errores genéticos y deleciones y alteraciones cromosómicas. b) transcripción: se produce una inhibición precoz de la síntesis de RNA. c) traslación: se produce una inhibición precoz de la síntesis proteica con degranulación de RER y desagración de los polisomas. d) regulación: con frecuencia los carcinógenos producen un bloqueo enzimático debido a la alteración del DNA, RNA e inhibición de la síntesis.²²

Como se menciona, la carcinogénesis es un proceso de múltiples pasos. Este hecho resulta más fácil de demostrar en los modelos experimentales de carcinogénesis química, en los que pueden distinguirse cuatro etapas de inducción del cáncer.

En resumen, es así que los mecanismos moleculares de la carcinogénesis humana se están aclarando a través de los conocimientos de los cambios genéticos y epigenéticos resultantes de las interacciones DNA-carcinógeno químico.²⁵

El proceso puede dividirse en

1. *Iniciación*. Esta ocurre como resultado de la modificación de la estructura del DNA por efecto del carcinógeno²⁵

La iniciación es consecuencia de la exposición de las células a una dosis suficiente de un agente carcinógeno (iniciador); una célula iniciada sufre una alteración, que induce el crecimiento de un tumor por producción de daño permanente al ADN (mutaciones). Por lo tanto es rápida, irreversible y tiene "memoria". Sin embargo por si sola, la iniciación no basta para que el tumor se forme.^{20, 21}

2. *Promoción*. Los efectos epigenéticos de los promotores tumorales facilitan la expansión clonal de la célula iniciada. Los promotores no son generalmente carcinógenos por si solos sino que requieren la acción previa del carcinógenos completos, capaces de desencadenar tanto la iniciación como la promoción.²⁵

Los promotores pueden inducir tumores en las células iniciadas, pero no son tumorigenos por sí solos. Cuando el agente promotor se aplica antes del iniciador, no produce tumor. Esto indica que, al contrario de lo que sucede con los efectos de los iniciadores, los cambios celulares resultantes de la aplicación de los promotores no afecta directamente al ADN y son reversibles. Los promotores, al estimular la proliferación celular, hacen que las células sean susceptibles a sufrir nuevas mutaciones.^{20, 21}

3. *Transformación maligna*. Es la conversión de una célula preneoplasica en otra que ya expresa el fenotipo maligno.²⁵
4. *Progresión tumoral*. Las células malignas presentan características agresivas y tienden a metastatizar.²⁵

La importancia de la carcinogénesis química ha estimulado el desarrollo de la epidemiología molecular, cuyo objetivo es identificar a individuos con riesgo

aumentado de desarrollar cáncer, el cual dependería de las características individuales para la distribución y metabolización de carcinógenos.²⁵

Carcinogénesis experimental.

La producción experimental de cáncer con sustancias químicas data de 1915, cuando investigadores japoneses provocan cáncer de piel, por medio de alquitrán de hulla, en conejos. Desde entonces la lista de carcinógenos orgánicos e inorgánicos ha crecido de forma exponencial. Aun así, por muchos años ha existido una curiosa paradoja. Varios compuestos de carcinogénesis conocida son relativamente inertes en cuanto a su reactividad química. La solución de este enigma se puso en evidencia a comienzos de la década del 1960, cuando se comprobó que la mayoría de los carcinógenos químicos, aunque no todos, requieren activación metabólica para que puedan reaccionar con los constituyentes celulares. De acuerdo con estas observaciones y teniendo en cuenta la íntima relación entre mutagenicidad y carcinogenicidad, un decenio después se desarrolló una prueba in vitro para identificar sustancias cancerígenas en potencia: la prueba Ames. El estudio experimental de las acciones de las sustancias químicas carcinógenas también condujo a la noción de que el cáncer es consecuencia de un proceso consistente en múltiples pasos y etapas. En el inicio se comprobó que una sola aplicación de un carcinógeno en la piel no es suficiente para producir la enfermedad, pero si después se aplica localmente en una segunda sustancia química irritante no cancerígena aparecen tumores. El primer efecto es irreversible pero no detectable con los métodos actuales y se denomina iniciación. La acción de la segunda sustancia química no cancerígena se llama promoción.²⁷

La carcinogénesis experimental fue iniciada por Yamagiwa e Ichikawa²⁸ en 1915, quienes repetidamente pintaban el alquitrán de hulla sobre los oídos de conejos y tuvo éxito en la producción de múltiples carcinomas de células escamosas. Los especímenes de sus experimentos están todavía expuestos en el museo de la facultad de medicina de Tokio. Muchos otros científicos continuaron los resultados

relatados por estos dos investigadores, conduciendo al descubrimiento de una sustancia química cancerígena el 1,2,5,6-dibenzantraceno. Desde el principio Yamagiwa e Ichikawa describieron la complejidad del proceso cancerígeno, descubierto una gama de lesiones hiperplásicas, lesiones benignas y malignas y cambios inflamatorios. Durante la carcinogénesis diferentes grados de malignidad fueron observados en diferentes tumores, fue así como en 1970 se propuso el término de carcinogénesis.

Existe un grupo de investigación que ha desarrollado técnicas bioquímicas y químicas para la detección y caracterización, tanto funcional como estructuralmente de las proteínas alteradas durante la carcinogénesis. Las investigaciones del programa tratan de aclarar los mecanismos de transformación maligna en las células humanas y animales por medio de carcinogénesis química; para determinar la etapa celular crítica y los factores genéticos involucrados en la iniciación, promoción y progresión de estas células transformadas, con el objetivo de aplicar cualquier conocimiento obtenido de estos estudios hacia la prevención efectiva del cáncer en el hombre; por lo tanto los estudios están diseñados para:

1. Identificación y caracterización de factores exógenos y endógenos que controlan la iniciación, promoción y progresión de los tumores inducidos químicamente.
2. Determinación de la regulación de la expresión génica y diferenciación en neoplasias humana y en animales.
3. Definir el mecanismo por el cual se modifica la diferenciación celular pudiendo inhibir y/o promover el proceso neoplásico.
4. Caracterizar los procesos metabólicos y el potencial mutagénico de las aminas aromáticas como carcinogénicos.

Existen modelos de animales que se utilizan para llevar a cabo investigación de la carcinogénesis experimental, dentro de ellos se encuentran los hámsters Syrian; Hoffmann, en su estudio titulado "el tabaco, composición química y

carcinogenicidad" utilizó Hámsters Syrian en sus bioensayos, a los cuales trató con extractos de tabaco y demostró que la TSNA es un agente carcinógeno que se encuentra dentro de la nicotina del tabaco. Desde 1981 algunos bioensayos han fallado al tratar de provocar tumores en la cavidad bucal en animales de laboratorio tratados con humo de cigarro o extractos del mismo. La principal razón de este fracaso según Hoffman es la inhabilidad del animal de obtener el habito de fumar y mascar tabaco. Los animales simplemente no tienen la voluntad de mantener el humo del cigarro en sus bocas. Fue un dentista Suizo quien finalmente trató ratas creando un canal mediante cirugía en el labio inferior de los animales en el cual pequeñas cantidad de humo se les aplicaba dos veces al día, induciendo eventualmente lesiones en la mucosa bucal.²⁹

En la investigación "Expresión diferencial de citoqueratinas tipo 1 en el epitelio de la bolsa bucal de los Hámsters tratados con dimetilbzantraceno" Shearer y cols.³⁷ Demostraron que el modelo experimental de carcinogénesis es ampliamente aceptado, en el cual los cambios premalignos y el desarrollo de carcinomas se asemejan mucho a las lesiones humanas, menciona que el carcinoma de células escamosas puede ser inducido en el epitelio de las bolsas bucales de los Hámsters. Los cambios detectados fueron, epitelio pre-neoplásico y epitelio neoplásico.

Santis, Shklar y cols. Trataron de provocar tumores malignos en las bolsas de las mejillas de los Hámsters, en busca de cambios morfológicos, dentro de sus resultados observaron inflamación crónica, hiperplasia epitelial, hiperqueratosis y disqueratosis, carcinoma bien diferenciado, carcinoma anaplásico y papiloma.

Dentro de los métodos utilizados para inducir carcinogénesis en Hámsters se encuentran los descritos por: Salley y Cols.³¹ Quienes pintaron soluciones carcinógenas (9,10-dimetil-1,2-benzatraceno, 20 metilcolantreno y 3,4-benzopireno) en la superficie epitelial de las bolsas de las mejillas con un pincel de pelo de camello del No. 4 tres veces por semana durante 16 semanas, Wu-Wangy cols.³² En su estudio "Efectos del Benzo(a)pireno y Nicotina en la síntesis de

prostaglandinas en la bolsa bucal y glándulas submandibulares de los Hámsters Syrian" utilizaron veinte machos adultos de 100 a 125g de peso. Los Hámsters fueron divididos al azar en cuatro grupos; sus bolsas bucales de ambos lados se lavaron apicalmente con aceite de maíz (grupo control), 1mm de benzo(a)pireno, 1mm de nicotina, o una combinación de 1mm de benzo(a)pireno con 1mm de nicotina en aceite de maíz. La dosis de benzo(a)pireno o nicotina fue estimada por un reporte hecho por Van Vunakis y cols. (1989) basados en la que la concentración de cotinina en saliva de los fumadores fue de 150 0 550ng/ml después de 15 a 90 minutos después de fumar. Los Hámsters fueron tratados dos veces al día, cinco días a la semana por cuatro semanas. La comida y el agua se les dio libremente. El peso de los animales fue registrado semanalmente. Al final de las cuatro semanas los Hámsters fueron anestesiados con uretano al 25% (1.0ml/100g del peso corporal) y se sacrificaron. Las bolsas bucales y las glándulas fueron disecadas y colocadas en hielo. Y posteriormente analizadas. La administración del benzo(a)pireno, nicotina o la combinación de ambos en estas cuatro semanas no significaron un cambio ni en el peso corporal o en el peso de las bolsas bucales y las glándulas submandibulares. Ellos reportaron que los dos ingredientes mayores de fumar cigarro, benzo(a)pireno y nicotina, mostraron efectos diferentes en la producción y la síntesis de prostaglandinas en las bolsas bucales y glándulas submandibulares de los Hámsters.

Las bolsas de los Hámsters son aceptadas como modelo experimental en la carcinogénesis en el cual los cambios premalignos y malignos son semejantes a las lesiones que aparecen en los humanos. El carcinoma de células escamosas puede ser inducido en el epitelio de las bolsas bucales de los Hámsters mediante aplicación de algunos carcinógenos como varios de los autores lo han llevado a cabo.³⁰

El diseño y la metodología de este estudio se baso en los descritos anteriormente con respecto a la administración de la nicotina.

Displasia epitelial y carcinoma "in situ"

El desarrollo de un proceso maligno en el epitelio plano estratificado tiene lugar como un proceso gradual en el cual múltiples alteraciones menores individuales de las células y tejidos culminan finalmente en clara premalignidad y malignidad. La combinación de los cambios tisulares observados en la transición gradual hacia la malignidad (pre malignidad) se denomina displasia epitelial ³³

En la displasia se encuentran las siguientes alteraciones celulares individuales:

1. Nucleolos prominentes
2. Núcleos hiper cromáticos (hipercromasia)
3. Pleomorfismo nuclear
4. Cociente nuclear/ citoplásmico alterado
5. Aumento en la actividad mitótica
6. Figuras mitóticas anormales
7. Multinucleación de las células.³³

La severidad de una displasia se expresa mediante la asignación de un grado **leve, moderado, severo/carcinoma in situ**, basado en su aspecto microscópico. Es importante señalar que el grado de displasia epitelial puede aumentar con el tiempo y con la continuidad del hábito. El factor tiempo variará ampliamente entre individuos, desde meses a años. Igualmente importante es que, cuando se suprime un factor inductor, algunas formas leves e incipientes de displasia epitelial regresarán y el epitelio volverá a la normalidad. En otras formas de displasia epitelial, incluso con control de algún factor responsable, la remisión puede no ser posible, aunque la velocidad de la evolución a una forma más grave suele ser más lenta. Parece dudoso que las formas moderada y grave de la displasia epitelial puedan remitir por simple eliminación de su causa. En algunos casos, la regresión de las formas moderadas y grave de la displasia epitelial, puede no ser posible porque la membrana basal epitelial puede estar ya invadida focalmente. Cuando el

tejido conjuntivo adyacente está invadido por epitelio displásico, se considera carcinoma epidermoide invasivo. Las displasias epiteliales severas pueden convertirse en un carcinoma in situ. Este se caracteriza por que toda la capa epitelial esta alterada y corresponde histológicamente a un carcinoma del epitelio plano estratificado.^{33, 34} Aunque no se puede realizar clínicamente el diagnostico diferencial entre una leucoplasia precancerosa con un carcinoma in situ.³⁵ ya que el termino leucoplasia es clínica y carcinoma "in situ" histologico.

Las áreas de displasia epitelial presentan a menudo un infiltrado leucocitario crónico en el tejido conjuntivo adyacente y los linfocitos se extienden hacia arriba penetrando las capas mas profundas del epitelio displásico. Si la displasia es leve y el infiltrado linfocitario es severo, existe la posibilidad de un diagnóstico erróneo

33

Los carcinomas de la mucosa bucal se desarrollan a partir de una mucosa discretamente alterada. Se considera que casi el 30% de los carcinomas de la cavidad bucal se originan en la base de una mucosa alterada, en las que las leucoplasias precancerosas presentan el estadio previo más frecuente de cáncer.³⁵

Cuando se han cumplido todos los criterios histomorfológicos de malignidad, a excepción del crecimiento invasivo, entonces se habla de un carcinoma in situ o de un carcinoma intraepitelial. El crecimiento maligno se limita en estos casos primeramente al epitelio y a la membrana basal la cual permanece todavía intacta.³⁵

Carcinoma epidermoide.

El carcinoma epidermoide se caracteriza por una proliferación de nidos, cordones o islotes neoplásicos que recuerdan en mayor o menor grado al epitelio escamoso y que penetran en el tejido conectivo de soporte de la lámina propia y submucosa.
36, 37, 38

Brodens en 1920 publica un estudio en el que destaca la agresividad de un tumor se expresa como el mayor o menor grado de diferenciación celular y propone un sistema de clasificación en el que se consideran cuatro grados.

Grado 1: 75% o más del tumor está bien diferenciado.

Grado 2: 50% o más está bien diferenciado.

Grado 3: 25-50% está bien diferenciado.

Grado 4: menos del 25% esta bien diferenciado.

Posteriormente el sistema adoptado por la O.M.S. recomienda la clasificación de tres grados histológicos de malignidad: bien diferenciados, moderadamente diferenciados y pobremente diferenciados o indiferenciados. Esta clasificación se acerca a la de Broders en relación con la diferenciación, pero consideran además el grado de atipia y las mitosis.³⁶

Los carcinomas bien diferenciados presentan gran similitud con las células del epitelio escamoso normal, reconociendo fácilmente los puentes intercelulares, la formación de queratina en forma de perlas córneas o como queratinización celular individual. Las células suelen presentar citoplasma eosinófilo amplio y el grado de hiperchromatismo nuclear y de actividad mitótica es mínimo. Frecuentemente puede observarse un infiltrado inflamatorio crónico peritumoral prominente, constituido principalmente por células plasmáticas y linfocitos.

Los carcinomas moderadamente diferenciados presentan mayor desorganización arquitectónica y aunque persiste el parecido con el epitelio escamoso, el grado de hiperchromatismo, pleomorfismo, anisocitosis y número de mitosis es mayor. La

frecuencia de figuras de mitosis atípicas aumenta, mientras que disminuye la formación de perlas córneas y la queratinización individual.^{36, 37}

En los carcinomas pobremente diferenciados es difícil establecer su origen escamoso, salvo por la presencia de pequeños focos de queratinización o por la identificación de puentes intracelulares. Existe un intenso pleomorfismo nuclear con aumento de la relación núcleo/citoplasma y elevado número de mitosis, muchas de ellas atípicas. A veces, algunas neoplasias son completamente anaplásicas y la única clave para el diagnóstico es su origen del epitelio de superficie. En estos casos es necesario estudiar múltiples cortes del tumor para llegar a un diagnóstico correcto o realizar estudios inmunohistoquímicos. A lo largo de los años se han propuesto otros sistemas de clasificación como el de Jakobsson en el que se considera además la relación histológica de la neoplasia con el tejido propio del huésped.³⁶

Por otra parte Glanz y cols. proponen un sistema aplicado al carcinoma epidermoide de laringe, que incluye cuatro parámetros para establecer el índice de malignidad 1) diferenciación y pleomorfismo, 2) estructura y borde del tumor, 3) invasión vascular y perineural y 4) respuesta celular de huésped.³⁶

Independientemente de la clasificación usada, además del grado de diferenciación y el subtipo histológico, si es el caso conviene hacer referencia al patrón de infiltración tumoral y a la profundidad de invasión tumoral. El patrón de infiltración tumoral puede ser expansivo en forma de grandes nidos tumorales o por el contrario en forma de nidos de células poco cohesivos o mediante células tumorales individuales, lo cual se ha asociado con una mayor frecuencia a metástasis ganglionares.³⁶

A la profundidad de la invasión también se le ha concedido importancia pronóstica. Según algunos autores, los tumores que infiltran menos de 4 mm de profundidad metastizan en un 8.3%, los que profundizan entre 4 y 8 mm. Metastizan en un 35 % y los que sobrepasan los 8 mm. Alcanzan un índice de metastasis del 83%.

El patólogo deber determinar si existe infiltración vascular, linfática o perineural, lo cual también agrava en pronóstico

Un último punto importante es la valoración por parte del patólogo de los márgenes quirúrgicos de la pieza quirúrgica, puesto que márgenes, positivos pueden ocasionar recurrencias en el 80 % de los casos mientras que solo se observa recurrencia en el 12-18% de los casos con márgenes quirúrgicos libres de tumor.^{36,38}

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El tabaco es el factor de riesgo más importante de cáncer bucal, la mayoría de los casos de cáncer de boca y faringe están directamente relacionados con este hábito; en el tabaco, se han detectado sustancias tóxicas, como la nicotina que es una droga blanda de las más adictivas, y que determina la conducta del fumador, provoca alteraciones bioquímicas y biofísicas, responsables de trastornos, fundamentalmente cardiorespiratorios, por lo regular cuando se estudia la nicotina no se estudia la capacidad de provocar tumores en boca y ni las dosis a los que los causa, aunque se sabe que derivados de la nicotina como las nitrosaminas (NNN y NNK) provocan cáncer; en fumadores los niveles de estas son bastante altos y es similar en magnitud para el total requerido para producir cáncer en animales de laboratorio (roedores).^{9,10}

JUSTIFICACIÓN

Analizar si existe asociación entre la nicotina, químicamente pura y la transformación maligna en las células epiteliales de las bolsas de los hámsters syrian Siendo este similar al daño que se produce en el epitelio de los humanos.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

La administración de nicotina provoca displasia en el epitelio de las bolsas de los Hámsters syrian

HIPÓTESIS NULA

La administración de nicotina no causa lesión microscópica en epitelio de las bolsas de los hámsters.

OBJETIVO GENERAL

Demostrar histológicamente que la nicotina produce lesión displásica en el epitelio de las bolsas de los hámsters

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Observar microscópicamente la respuesta del tejido ante la administración de la nicotina a diferentes intervalos de tiempo (semanas)
2. Determinar histológicamente los cambios ocurridos a nivel epitelial
3. Comparar la diferencia entre las lesiones en las diferentes etapas con el grupo control.

DISEÑO DEL ESTUDIO

Tipo de estudio.

- Experimental
- Observacional.
- Prospectivo
- Longitudinal.

UNIVERSO DE ESTUDIO

Quince Hámsters cepa Syrian, machos de 4 a 5 semanas de edad de peso aproximado a 150 gr, alimentados bajo el régimen habitual de bioterio.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Hámsters cepa Syrian, machos, de 4 a 5 semanas de edad, de un peso aproximado de 150gr.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Todo aquel Hámster que no sea cepa Syrian, que no este dentro de las 4 a 5 semanas de edad, y que su peso no alcance los 150 gr aproximadamente o los sobrepase.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Todos aquellos animales que fallezcan durante el estudio.

VARIABLES

DEPENDIENTES

Respuesta del animal ante el estímulo aplicado.

INDEPENDIENTES

- Dosis de Nicotina
- Dosis de placebo

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y EQUIPO

- Alimento para los animales
- Cajas con tapas metálicas
- Estuche de disección
- Nicotina marca SIGMA
- Aceite de maíz
- Isópos

- Algodón
- Guantes
- Cámara digital
- Porta objetos
- Cubreobjetos
- Microscopio de luz
- Microscopio Axiophotot.
- Reactivos para la técnica de tinción

METODOLOGIA

Se utilizaron 14 Hámsters cepa Syrian (*Figura 3 a y b*), de 4 a 5 semanas de edad, de peso de aproximadamente 140gr. Los animales se pesaron antes de iniciar el estudio y posteriormente una vez por semana (*Figura 4 a y b, en las tablas 3, 4, 5 y 6 se muestran los pesos de los Hámsters en diferentes semanas*). Fueron alimentados durante el estudio ad libitum y se mantuvieron bajo las condiciones del bioterio, fueron marcados y divididos al azar en tres grupos; a cada uno de los animales se les administro nicotina en las bolsas del lado derecho.

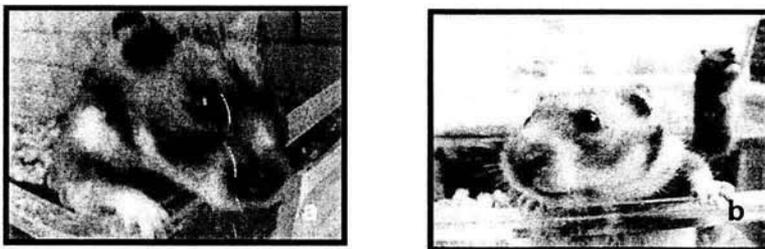


Figura 3

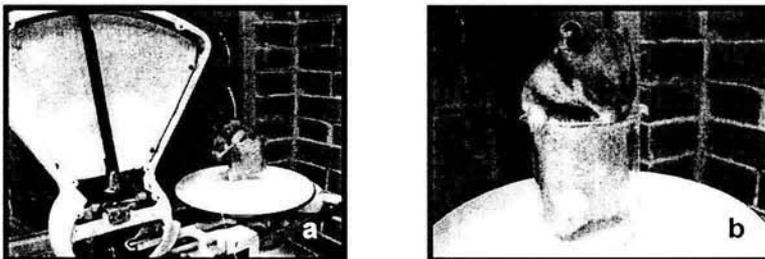


Figura 4

Tabla 3. Pesos de los hámsters al iniciar el estudio

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
160g	120g	160g
120g	150g	150g
murió	110g	152g
140g	142g	170g
160g	160g	168g

Tabla 4. Peso a las cuatro semanas

Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
160g	150g	160g
120g	110g	170g
Murió	120g	150g
140g	142g	170g
160g	160g	168g

Tabla 5. Peso a las ocho semanas

Grupo 2	Grupo 3
1. 120g	198g
2. 150g	175g
3. 110g	175g
4. 142g	195g
5. 160g	185g

Tabla 6. PESO A LAS 12 SEMANAS

Grupo 3
1. 113g
2. 141g
3. 103g
4. 135g
5. 154g

La bolsa izquierda sirvió para la administración de placebo, a la bolsa derecha se le administro una dosis de nicotina a una concentración de 0.5% diluida en aceite de maíz (*Figura 5 a y b*), se aplico la nicotina y el placebo cada 24 hrs, durante el tiempo que duro el estudio. (*Figura 6*)



Figura 5



Figura 6

Los animales fueron sacrificados una vez administrados los tratamientos a las 4, 8 y 12 semanas, con una sobredosis de éter (*Figura 7*) inmediatamente después del sacrificio se realizó la disección de las bolsas bucales (*Figura 8 a y b*); las cuales se disecaron y fueron fijadas con formol al 10% y procesadas con la técnica de inclusión en parafina, se realizaron cortes a cuatro micras de espesor y fueron teñidos con la tinción de rutina HyE.

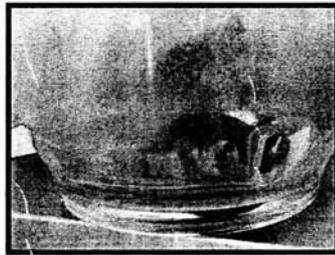


Figura 7

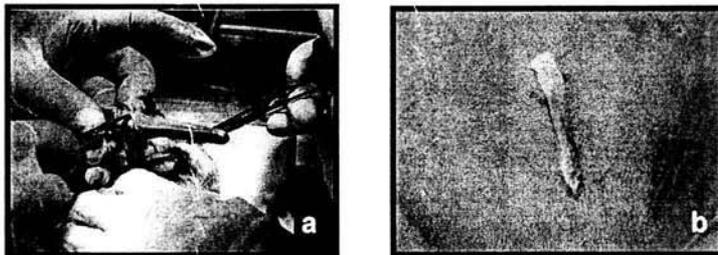


Figura 8

El tejido se introdujo en una solución fijadora de formol al 10% (formol 87-90 %, fosfato de sodio manobásico, fosfato de sodio dibásico 6.05 mg) dependiendo la cantidad de formalina, del tamaño y consistencia del tejido una parte por 20 partes de formalina, dejándose el tejido por tiempo determinado de 12 a 24 horas para evitar que el fragmento disecado pierda el estado natural de las células. **(Figura 9)**

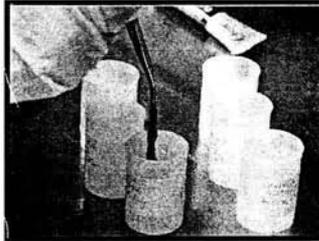


Figura 9

Posteriormente se lavo en agua corriente dentro de una cápsula metálica de 6 a 12 horas aproximadamente para eliminar el fijador utilizado.

Las cápsulas se colocaron en el Histokinette (Reichert-Jung), el cual contiene una serie de alcoholes ascendentes que llevan al tejido a la deshidratación e infiltración en parafina:

- Alcohol etílico 60 % - Alcohol etílico 70 % - Alcohol etílico 80% - Alcohol etílico 96% I – Alcohol etílico 80% - Alcohol etílico 96% II – Alcohol absoluto 100 % I – Alcohol absoluto 100 % II

Se preparo el tejido para la penetración de parafina pasándolo por una solución combinada de alcohol 100% + xilol, para impedir que el cambio de sustancias sea brusco: - Xilol I – Xilol II. Por un tiempo aproximado de 2 horas 45 minutos cada una.

Se deshidrató, ya que los tejidos contienen grandes cantidades de agua, tanto intra como extracelular, que debe ser eliminada y reemplazada por parafina (alcohol etílico).

Se aclaró, para permitir que el alcohol absorbido por los tejidos fuera reemplazado por un líquido que disolviera la parafina con el agua, siendo el tejido impregnado (xileno).

Se incluyó, para impregnar los tejidos con parafina que en su mayoría llenó todas las cavidades naturales, espacios e intersticios tisulares y aún los espacios intracelulares, proporcionando la consistencia firme y necesaria para hacer cortes finos sin provocar distorsión y sin alterar las relaciones especiales del tejido y los elementos celulares.

Una vez procesados los tejidos se llevó a la inclusión en parafina limpia, utilizando platinas de metal y aros plásticos en donde se anoto su clave.

Se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se introdujeron al refrigerador para obtener el cubo de parafina.

Los bloques orientados en forma transversal en parafina se llevaron al microtomo para obtener cortes seriados en laminillas delgadas de tejidos con una medida aproximada de 4 a 5 micras de espesor.

Los cortes se introdujeron en la tina de flotación, la cual contenía agua a una temperatura de 48° a 50° C, después se colocaron en el portaobjetos sobre una plancha con una temperatura superior al punto de fusión de parafina, es decir, de 58° a 65° C, para secar o escurrir el excedente de agua.

Se colocaron en laminillas en una rejilla metálica para llevarlas al tren de tinción de rutina (HyE). Que permitió observar, estudiar y analizar las características físicas de los tejidos y las relaciones de las células que los constituyen (ya que los distintos componentes muestran afinidades diferentes para casi todos los colorantes).

Dicho proceso se efectuó de la siguiente manera:

Para desparafinar se introdujo en:

-Xilol I – Xilol II durante 5 a 10 minutos.

Para hidratar hasta agua corriente y no fuera tan brusco el cambio de sustancias se pasó por una solución combinada en partes iguales de alcoholes 100% + xilol, durante 15 baños.

Se introdujo a 2 alcoholes al 100%

-Alcohol 100% I - Alcohol 100% II, durante 5 a 10 baños

se introdujo la rejilla con las laminillas en 2 alcoholes al 96%:

-Alcohol 96% I

-Alcohol 96% II, durante 15 baños

Se llevó la canastilla a la tina de enjuague bajo agua corriente durante 5 minutos, posteriormente se llevó la canastilla a la hematoxilina de Gill's durante 5 minutos (obteniéndose una coloración azul).

Se volvió a pasar la tina de enjuague durante 5 minutos (hasta eliminar el exceso de color).

Para deshidratar los tejidos las laminillas pasaron por 4 alcoholes:

-Alcohol 96% I -Alcohol 96%II -Alcohol 100% I -Alcohol 100% II, durante 15 baños.

La rejilla se llevó a una solución de Scott para virar el color de la hematoxilina durante 1 minuto, nuevamente se llevó a la agua corriente durante 5 minutos. Se contrastó el color de la hematoxilina con eoxina durante 80 baños aproximadamente.

Por último, se pasaron por 2 soluciones de xilol para aclarar, antes pasándolas por una mezcla en partes iguales de xilol y alcohol puro, durante 15 baños, esto para evitar el cambio brusco de sustancias.

Las laminillas previamente teñidas se llevaron a un medio de montaje que consta del cubreobjetos adherido con una resina sintética que protege el tejido teñido de los cambios físicos o deterioros.

Al término de los días señalados se procedió a la misma metodología con los cortes obtenidos de cada grupo de especímenes.

Se realizaron observaciones al microscopio de los cortes seriados en busca de cambios displásicos, se elaboraron cuadros de recolección de datos y tablas en

las que se anotaron los hallazgos histológicos, se realizaron porcentajes de los resultados obtenidos; el estudio fue observacional cualitativo.

RESULTADOS

Al finalizar el estudio el total de los animales fue de 14 y no se observaron cambios significativos con respecto al peso del inicio y al final del estudio, el promedio de peso al inicio fue de 147.2 grs. Y al finalizar fue de 130 grs.

Las bolsas derechas fueron las experimentales y las izquierdas de control, para gradificar los tipos de displasia usamos los siguientes parámetros: Nucleolos prominentes, núcleos hipercromáticos, pleomorfismo nuclear, relación núcleo/citoplasma, actividad mitótica, figuras mitóticas anormales y multinucleación de las células. La información obtenida fueron los diferentes grados de displasia usando los términos nulo, leve, moderado y severo, la presencia de microabscesos, tomando en cuenta si existían o no y el infiltrado inflamatorio que se tomo como nulo, leve, moderado y severo.

Antes de la fase experimental, se sacrifico un hámster esto con la finalidad de obtener una imagen histológica testigo para identificar las características de la bolsa (*Figuras 10, 11, 12 a y b*)

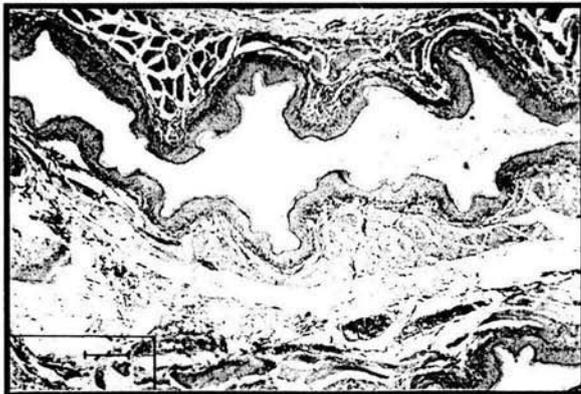


Figura 10.
Epitelio normal (10 x)

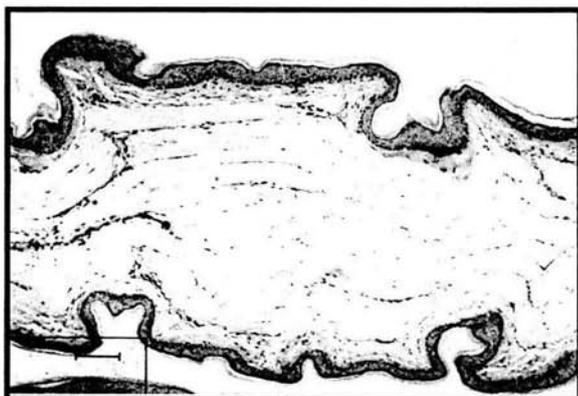
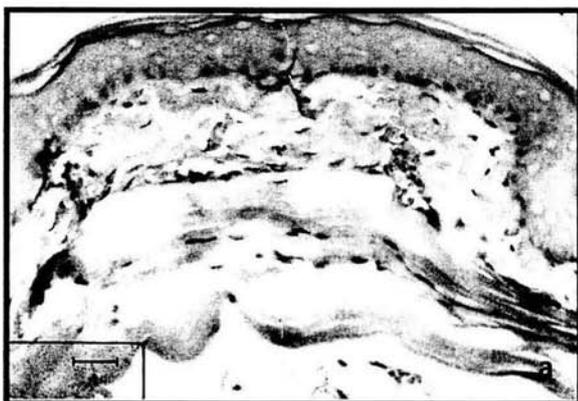
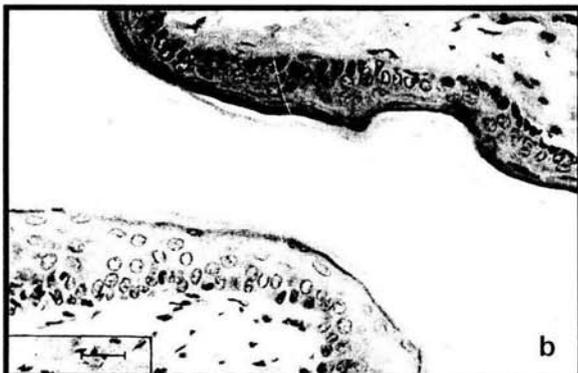


Figura 11.
Epitelio normal (10x)



Figuras 12 a y b.
Epitelio normal (40 x)



Se revisaron tres cortes histológicos seriados de cada una de las muestras y los datos observados se anotaron en hojas de tabulación, se sumaron los datos para cada uno de los animales. De los 14 casos del grupo control 10 presentaron acantosis (*figura 13*) y en 6 tenían cambios displásicos. (*Figura 14*)

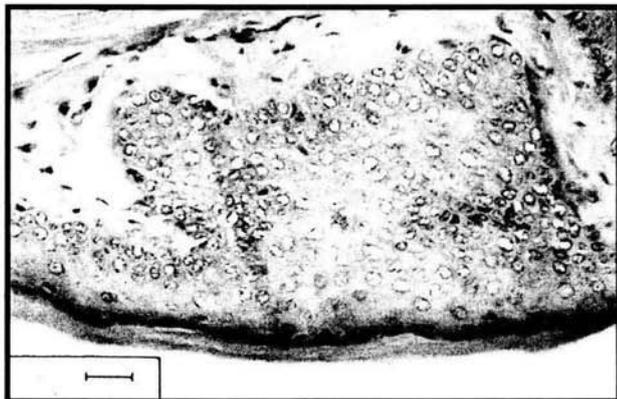


Figura 13.
Acanthosis grupo control.
(40x)

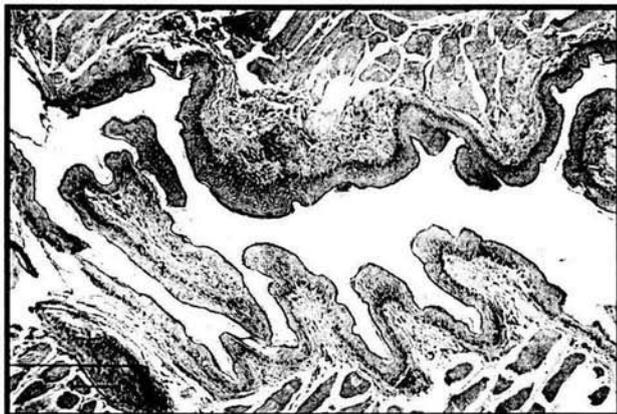


Figura 14.
Displasia grupo control.
(10X)

En grupo experimental. Los 14 casos presentaron acantosis (*figura 15*) y 12 tenían cambios displásicos (*figura 16*).

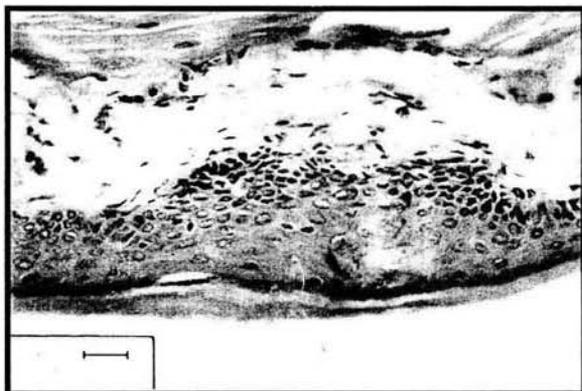


Figura 15.
Acanthosis grupo experimental
(40 x)

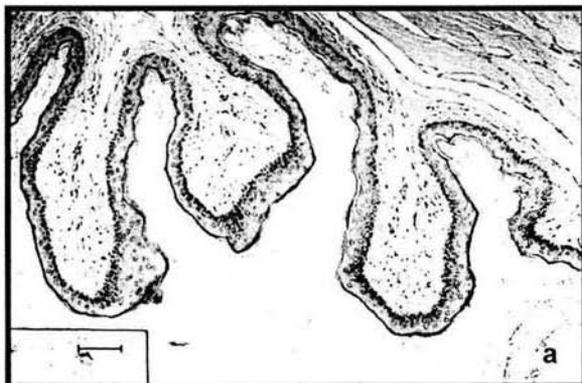


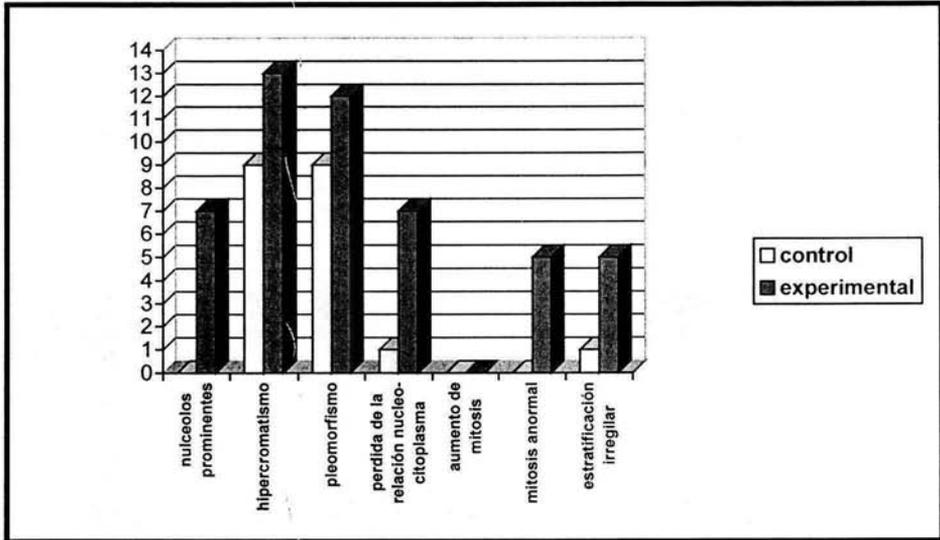
Figura 16.
Displasia grupo experimental.
(10 x)

Como se puede observar en la **tabla 7** y en la **gráfica 1** los cambios más frecuentes fueron los nucleolos prominentes hiper cromatismo nuclear, pleomorfismo nuclear (*figura 17 y 18*) y con menor frecuencia mitosis anormales y el parámetro que no se presentó en ninguno de los grupos fue mitosis.

HAMSTER	SEMANA	G/C NP	G/C NH	G/C PN	G/C PRNC	G/C AM	G/C MA	G/C EI	G/E NP	G/E NH	G/E PN	G/E PRNC	G/E AM	G/E MA	G/E EI
1	4														
2	4								*	*					
3	4								*	*	*				*
4	4		*	*						*	*				
5	8		*	*						*	*	*			*
6	8		*	*						*	*				*
7	8		*	*				*	*	*	*	*		*	*
8	8								*	*	*				*
9	8									*	*	*			
10	12		*	*					*	*	*	*			
11	12		*	*	*				*	*	*			*	
12	12		*	*						*	*	*		*	
13	12		*	*					*	*	*	*		*	
14	12		*	*						*	*	*		*	

* Si se presentaron
G/C: Grupo control
G/E: Grupo Experimental.
NP: Nucleolos prominentes
NH: Núcleos hiper cromáticos
PN: Pleomorfismo nuclear
PRNC: Pérdida de la relación núcleo citoplasma
AM: Aumento de mitosis
MA: Mitosis anormal
EI: Estratificación irregular

Tabla 7.
Resultados observados en el grupo control y grupo experimental de los cambios displásicos.



GRAFICA 1.

Comparación del desarrollo de displasia entre el grupo experimental y control

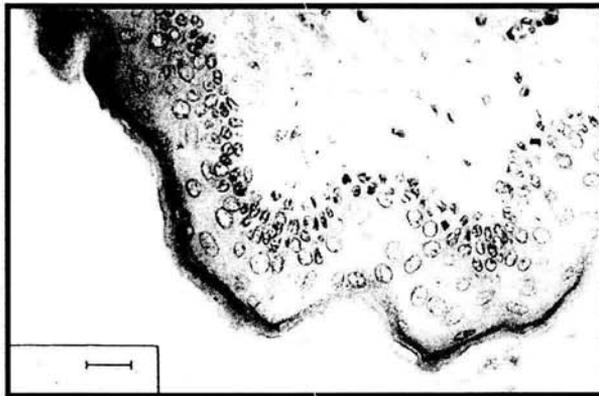


Figura 17.

Mitosis anormal, hiperchromatismo y cromatina dispersa (40x)

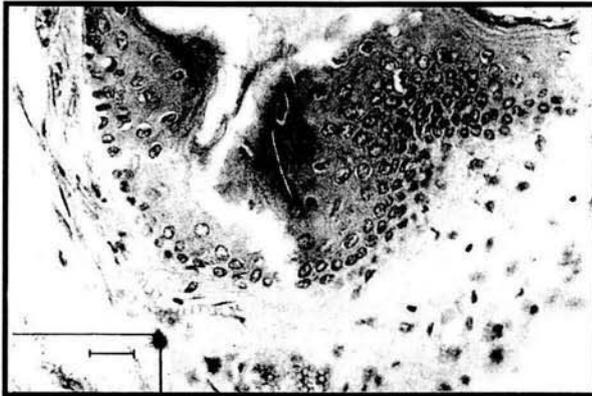


Figura 18. Mitosis anormal y pleomorfismo (40x).

PRESENCIA DE DISPLASIA

En el grupo control se encontró cambios displásicos no tan significativo como en el grupo experimental.

En el grupo experimental observamos 12 casos con algún tipo de displasia (*grafica 2*), del primer grupo uno presento displasia leve (*figuras 19, 20 y 21*) y uno displasia moderada; en el segundo grupo los cinco casos presentaron displasia moderada; en el tercer grupo los cinco casos presentaron displasia moderada. (*Figura 22*)



Figura 19. Displasia leve grupo experimental (40 x)

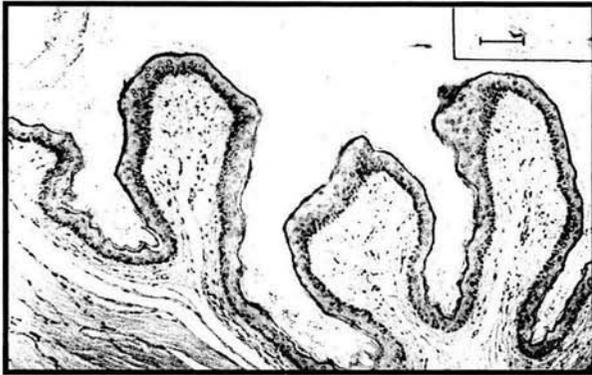


Figura 20.
Displasia leve grupo
experimental (10 x)

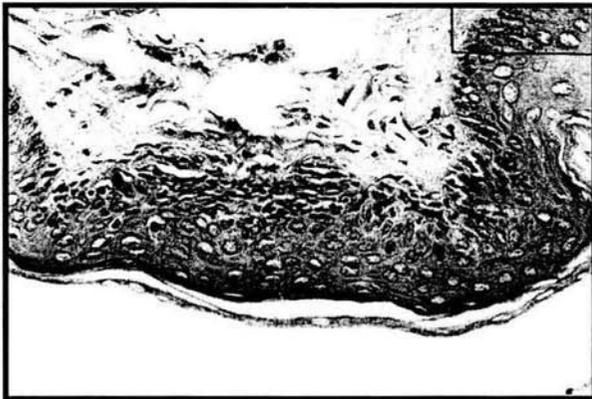


Figura 21.
Displasia leve grupo
experimental (10x)

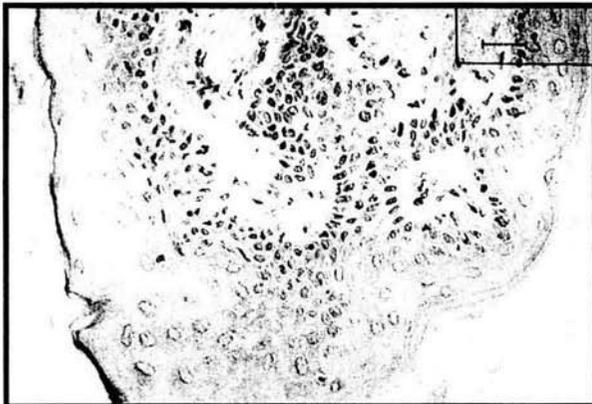
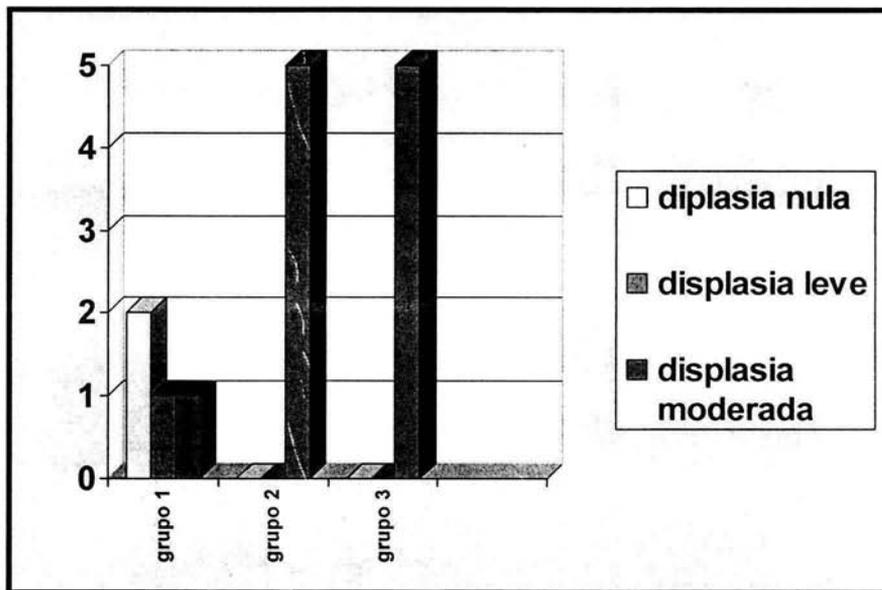


Figura 22.
Displasia moderada grupo
experimental (40x)



Grafica 2:
Presencia de displasia grupo experimental

Interpretación:

Para el análisis estadístico se aplicó χ^2 con un nivel de confiabilidad del 95% ($p=0.05$) se encontró puede a severar que a las 4 y 8 semanas no se observó una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y el grupo experimental. Sin embargo, a las 12 semanas sí se presentó una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos (*tablas 8, 9 y 10*).

Tabla 8.

Comparación del grado de displasia entre el grupo experimental y el grupo control a las 4 semanas.

	Sin displasia	Displasia leve	Displasia moderada	Displasia severa	Total
Grupo experimental	2	1	1	0	4
Grupo control	4	0	0	0	4
Total.	6	1	1	0	8

$$X^2 = 2.66; p > 0.05$$

Tabla 9.

Comparación del grado de displasia entre el grupo experimental y el grupo control a las 8 semanas.

	Sin displasia	Displasia leve	Displasia moderada	Displasia severa	Total
Grupo experimental	0	5	0	0	5
Grupo control	2	3	0	0	5
Total.	2	8	0	0	10

$$X^2 = 2.50; p > 0.05$$

Tabla 10.

Comparación del grado de displasia entre el grupo experimental y el grupo control a las 12 semanas.

	Sin displasia	Displasia leve	Displasia moderada	Displasia severa	Total
Grupo experimental	0	0	5	0	5
Grupo control	2	3	0	0	5

$$X^2 = 10; p < 0.05$$

MICROABCESOS.

Durante la revisión al microscopio se pudo observar la presencia y distribución a lo largo del epitelio de solitarias a múltiples lesiones con aspecto de microabscesos; que no estaban contemplados dentro del protocolo.

En el grupo control observamos ocho microabscesos (*Figura 23 y 24*), siete de ellos en el primer grupo y uno en el grupo tres. En el grupo experimental solo de observo un microabsceso en el primer grupo (*Figura 25 y 26*).

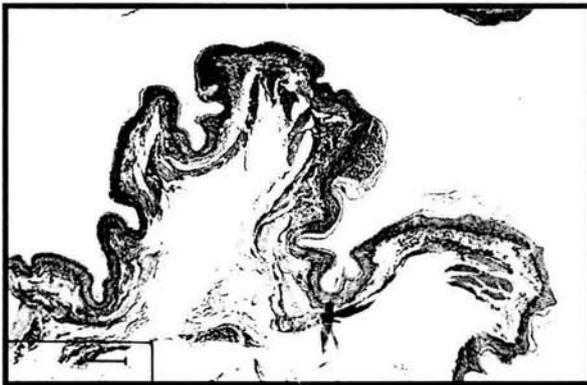


Figura 23.
Microabsceso grupo control.
10x



Figura 24.
Microabsceso grupo control
40 x

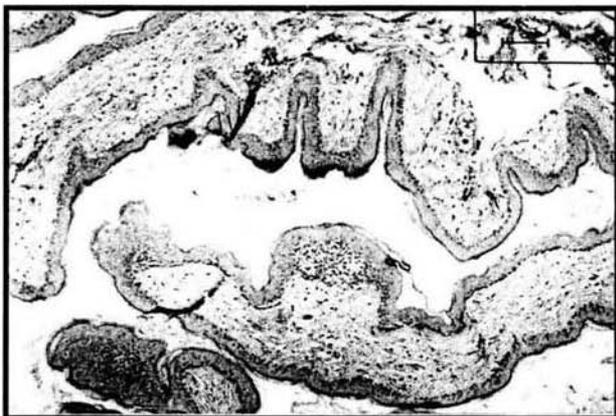


Figura 25.
Microabsceso grupo
experimental 10x

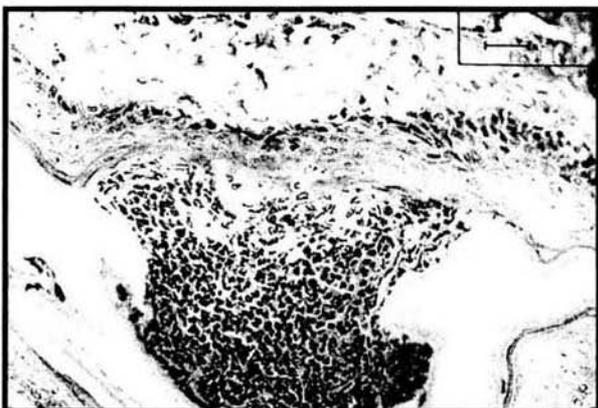


Figura 26.
Microabsceso grupo
experimental 40x

INFILTRADO INFLAMATORIO

La frecuencia del infiltrado en el grupo control en el primer grupo fue en el 50 % de los casos nulo y 50 % leve; en el segundo grupo el 80% fue nulo y 20 leve; en el tercer grupo 60 % fue leve y 40 % nulo. (*Figura 27 y 28*)

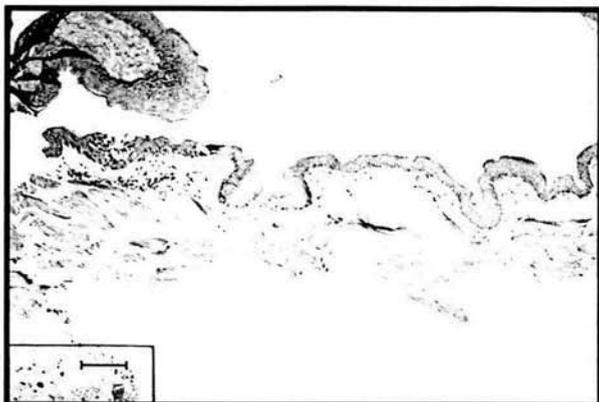


Figura 27.
Microabsceso, displasia leve e
infiltrado inflamatorio (10x)



Figura 28.
Microabsceso, displasia leve
e infiltrado inflamatorio (40x)

La presencia de infiltrado inflamatorio en el grupo experimental fue del 100% nulo en el primer grupo; en el segundo grupo el 100% fue leve y en el tercer grupo 20 % nulo, 60 % leve y 20 % moderado. (*Tabla 11*)

HÁMSTER	SEMANAS	B/P INFILTRADO INFLAMATORIO	B/N INFILTRADO INFLAMATORIO
1	4	0	0
2	4	1	0
3	4	1	0
4	4	0	0
5	8	0	1
6	8	0	1
7	8	1	1
8	8	0	1
9	8	0	1
10	12	1	1
11	12	1	1
12	12	1	0
13	12	0	1
14	12	0	2

B/N: Bolsas bucales con nicotina

B/P: Bolsas bucales con placebo

0: Nulo

1: Leve

2: Moderado

3: Severo.

TABLA 11.

Presencia de infiltrado inflamatorio grupo control y experimental

DISCUSIÓN

Como se menciona en los antecedentes el objetivo de estudiar experimentalmente las sustancias carcinógenas químicas llevo al conocimiento de que el cáncer es consecuencia de un proceso que consiste en múltiples etapas. Inicialmente se comprobó que una sola aplicación de un carcinógeno en la piel no es suficiente para producir enfermedad; pero si después, se aplica localmente un estímulo proliferativo con una segunda aplicación de sustancia química irritante no carcinógena se desarrollan tumores; denominándoseles a estas sustancias promotores.¹² En este estudio utilizamos la nicotina para observar los cambios celulares y tisulares en las bolsas de los Hamsters, con el objetivo de determinar si era posible con la aplicación diaria de nicotina el desarrollo de displasia y/o carcinoma invasor.

Wu- Wang y COIS.³³ utilizaron veinte machos adultos de 100 a 125 gr. de peso divididos en cuatro grupos; sus bolsas bucales de ambos lados se lavaron apicalmente con aceite de maíz (grupo control), 1 mm de benzo(a)pireno, 1 mm de nicotina, o una combinación de 1mm de benzo(a)pireno con 1 mm de nicotina en aceite de maíz, tratados dos veces al día, cinco días a la semana por cuatro semanas. Reportaron que los dos ingredientes mayores de fumar cigarro, benzo(a)pireno y nicotina, mostraron efectos diferentes en la producción y la síntesis de prostaglandinas en las bolsas bucales y glándulas submandibulares de los Hamsters.

En base a estos resultados y a la línea de investigación del presente estudio nosotros usamos una dosis de .25ml. a una concentración de 5% de nicotina diluida en aceite de maíz, para la aplicación de las bolsas derechas (grupo experimental) y aceite de maíz como placebo en las bolsas bucales izquierdas (grupo control), se aplicaron estas soluciones cada 24 hrs., durante 12 semanas; los animales fueron divididos en tres grupos y sacrificados a las 4, 8 Y 12 semanas; en los resultados se observo que la nicotina, químicamente pura es un

carcinógeno que por sí solo produce cambios displásicos progresivos y significativos.

Papageorge y cols.³⁴ estudiaron la carcinogénesis por tabaco utilizando una nitrosamina específica de este y su efecto; (NNN), en las bolsas bucales de 36 Hamsters Syrian, pintadas cinco veces a la semana durante 24 semanas con 10 mg/ml de NNN puro en una suspensión con aceite mineral. Los animales fueron sacrificados a las 6, 8, 12 Y 24 semanas. Sus conclusiones fueron que al exponer la mucosa bucal de los Hamsters Syran al NNN, cinco veces a la semana durante 24 semanas, no encontraron cambios clínicos o displásicos, concluyendo que NNN requiere de otros factores para desarrollar cáncer, como es un cocarcinogéno, o que sea utilizada a una concentración alta o un período de aplicación prolongado.

Yamagiwa e Ichikawa mencionan haber observado una gama de lesiones hiperplásicas, benignas y malignas así como cambios inflamatorios. Nosotros no observamos cambios clínicos, pero al realizar las observaciones microscópicas, diferentes grados de displasia, infiltrado inflamatorio y microabscesos estaban presentes, la severidad de los cambios dependieron del tiempo de evolución del tratamiento, dando como resultado, cambios más notorios en el tercer grupo experimental. En el grupo control también se encontraron cambios, contrario a lo esperado, esto pudo deberse a que la aplicación de la nicotina y el placebo en las bolsas bucales de los Hamsters fue difícil de controlar ya que una vez realizado el procedimiento, los animales degluten e ingieren sus alimentos, sin embargo al comparar el grupo control con el experimental, hubo una diferencia estadísticamente significativa, una forma de controlar este aspecto es utilizando diferentes animales para el control y para el experimental.

El tallar la mucosa bucal con concentraciones bajas de una mezcla de N-nitrosomnicotina NNN en adición con 4(metilnitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butano NNK en agua induce cáncer bucal en ratas. ²⁸ Shearer y cols. ³⁰ mencionan que el carcinoma de células escamosas puede ser inducido en el epitelio de las bolsas

de las mejillas de los Hamsters con aplicaciones del carcinógeno 9,10-dimetil-1,2-benzoantraceno, en el cuál los cambios premalignos y carcinomas observados se asemejan mucho a las lesiones humanas. Los cambios detectados fueron, epitelio pre-neoplásico y epitelio neoplásico. En este trabajo nosotros no observamos carcinomas pero si se pudieron observar cambios displásicos de diferentes grados: leve moderado y severo, caracterizados por: nucléolos prominentes, núcleos hipercromáticos, pleomorfismo celular, pérdida de la relación núcleo-citoplasma y en menor frecuencia figuras mitóticas anormales escasas.

CONCLUSIÓN

-De los 14 casos del grupo experimental, los 14 presentaron acantosis localizada y doce presentaron displasia de las cuales 1 fue leve y 11 moderada.

-Los tipos de cambios más frecuentes fueron nucleolos prominentes, núcleos hipercromáticos, pleomorfismo celular, pérdida de la relación núcleo/citoplasma y en menor frecuencia figuras mitóticas anormales.

-Se encontró 1 microabsceso en el grupo experimental, en la primera etapa del estudio.

-En el grupo experimental nueve (64.28%) de las catorce muestras (100%) presentaron algún tipo de infiltrado, predominando el leve.

-Los resultados tuvieron una p de .001, la cual nos da un grado de confiabilidad

BIBLIOGRAFÍA.

1. morgan.ia.unam.mx/usr/humanidades/187/ARTICULOS/HERNANDEZ.html.
2. <http://scienceu.fsu.edu/espanol/communication/faq/>.
3. www.tabacoysalud.com.ar/. Tabaco
4. www.monografias.com/trabajos10/efni/efni.shtml.
5. National Cancer Institute, 1999; Jinot, Bayard, US EPA, NCI, & ICF Inc., 1993).
6. www.preveniciona.com/salud/general/art5.shtml Nicotina y tabaco
7. www.fortunecity.es/felices/trinidad/60/tab2a.html.
8. congnas.tripod.com/tabaco_y_cancer.htm.
9. anestesiaweb.ens.uabc.mx/pulmon_terapia_respiratoria/tabaco.htm.
10. www.ondasalud.com/edicion/noticia/0,2458,14345,00.html.
11. <http://adiostabaco.com.ar/antes/nicotina.htm>.
12. www.encolombia.com/nicotrans.
13. <http://salud.discapnet.es/guias+de+salud/guia+sobre+tabaquismo/tabaco+y+salud/tabaco+y+enfermedades.htm>.
14. www.enbuenasmanos.com/ARTICULOS/muestra.asp?art=865.
15. <http://kidslink.bo.cnr.it/besta/fumo/snicotina.html>.
16. http://semanasalud.ua.es/semana_3/cancer.html.
17. Patología Médica. Biología Molecular de la Célula. OMEGA. Bruce Alberts. Dennis Bray. Julian Lewis. Martin Raff. Keith Roberts. James D. Watson).
18. www.tuotromedico.com/temas/cancer-ymedioambiente.htm.
19. Velázquez, Tomas. Anatomía Patológica. La prensa Mexicana. México. 1996.
20. Rubin, Emanuel. Patología. Médica Panamericana. México, 1990.

21. Robbins. Patología estructural y funcional. Sexta edición. McGraw-Hill. México 2001.
22. Pardo Mindán J. "Anatomía patológica general" vol. I. Mosby/ Doyma libros. Barcelona España.
23. www.sudocor.com.mx/Entretenimiento/salud/el%20tabaco%20o%20su%20salud.html#Anchor-Carcin-40225.
24. Fariñana, Juliana. Anatomía Patológica. Salvat Editores. Barcelona España 1990.
25. Rozman, Ferreras. Medicina Interna. Vol. I. 13ª edición. Mosby/Doyma Libros. España. 1995.
26. Patología general. Manual Moderno. Para Krama Chandrasema clive R. Taylor Mexico 1998.
27. Rubin /farber. Patología Fundamental. Editorial Panamericana. 1992 México.
28. www.ncl.nih.gov/intra/LEC/LECPAGE.htm Laboratory of experimental carcinogenesis".
29. Hoffman, D; Djordjevic, M.V. "Chemical Compositión and carcinogenicity of Smkeless Tobacco" Adv. Dent. Res 11(3):322-329, September, 1997
30. Shearer, BN. et. al. "Diferencial Expresion of Type I Cytokerratins in Hámsters Cheek Pouch Epithelium Following Treatment with Dimeethybenzanthacene" Journal of oral Pathology a n Medicine. 26:470-6, 1997.
31. Salley, John. J. "Experimental Carcinogenesis in the Cheek Pouch of the Syrian Hámsters" Journal of Dental Research 11(2): 253-262, 1954.
32. Wu-Wang, C.Y. et. al. "Efects of Benzo(a)pyrene and Nicotine on prostaglandin Synthesis in Buccal Pouch and submandibular Glands of the Syrian Hámsters" Archs Oral Biology 38(12):1045-1050, 1993.
33. Sapp, Philip J. Patología Oral y Maxilofacial contemporánea. Habcourt. Brance. Madrid España 1998.

34. Reichart, Peter A. Atlas de Patología oral. Masson. Barcelona España 1999.
35. Strassburg Mantred. Ed.al. Mucosa oral: Atlas a color de enfermedades. Marban libros. Madrid España 1995.
36. Gonzales Moles, Miguel Angel. Precáncer y cáncer oral. Ediciones avances Medico- Dentales, S.L. Madrid 2001.
37. Shafer, William G. Tratado de Patología Bucal. McGraw Hill Interamericana. México1991.
38. Gorlin Robert. Et.al. Patología Oral. Salvat editores. Barcelona España1983.