



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**INMUNOEXPRESIÓN erbB-1 EN CARCINOGENESIS
QUÍMICA POR DMBA EN HÁMSTERS SIRIO DORADO.**

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A:

DANIELA ESTHER MORALES REYES

**TUTOR: Dr. JUAN CARLOS CUAUHTÉMOC HERNÁNDEZ
GUERRERO**

ASESOR: Mtro. LUIS FERNANDO JACINTO ALEMÁN

Este estudio fue apoyado por PAPITT N° 1N228407-2 N° 1N226809-2

MÉXICO, D. F.

2009



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.

A ti Dios por no abandonarme nunca, por darme fortaleza e inspiración; por sostenerme siempre que parecía caer.

A mi madre por porque gracias a ella he llegado a realizar una de mis mas grandes metas, la cual contribuye la herencia más valiosa que pudiera recibir; a quien su dedicación, esfuerzo y amor me han convertido en una mujer de provecho. Te amo mamá.

A mis hermanas, abuelos y a Tom que me brindaron su ayuda y muchas veces dieron consejos. Gracias por sus oraciones.

A ti July por tu amistad honesta, sincera, leal e inquebrantable; con quien he compartido mis alegrías, tristezas y secretos.

A mi Universidad Nacional Autónoma de México en particular a la facultad de Odontología y a sus profesores por abrirme sus puertas y darme las pautas para ser una buena profesionista.

ÍNDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. ANTECEDENTES	4
3.1. Carcinogénesis	4
3.1.1 Proto-oncogenes y Oncogenes	6
3.2. Factores de crecimiento	7
3.3. Carcinogénesis oral y Cáncer Oral de Células Escamosas	9
3.3.1 Definición	9
3.3.2 Características Generales	10
3.3.3 Características clínicas	11
3.3.4 Características histológicas	12
3.3.5 Factores de Riesgo	14
3.3.6 Tabaco y DMBA	14
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
5. JUSTIFICACIÓN	17
6. HIPÓTESIS EXPERIMENTAL	18
7. OBJETIVOS	18
8. VARIABLES	18
9. METODOLOGÍA	19
10. RESULTADOS	24

11. DISCUSIÓN	30
12. CONCLUSIÓN	35
13. REFERENCIAS	36

1. RESUMEN

El COCE es el más común de los carcinomas de cabeza y cuello. Se ha descrito que el consumo habitual del tabaco en sus diversas formas: cigarro, puro ó tabaco en pipa es el factor más importante asociado con el COCE. Se estima que 85-90% de los casos de cáncer de vías digestivas superiores están relacionadas a la exposición con tabaco y el riesgo es proporcional a la intensidad de la exposición. Entre los principales carcinógenos presentes en el tabaco se cuentan los hidrocarburos policíclicos aromáticos como el 7.12 dimetilbenceno (a) antraceno (DMBA), este compuesto es capaz de causar daños en el ADN. erbB1 es un protooncogen asociados a la proliferación y diferenciación celular; cuya sobreexpresión o mutación puede contribuir al desarrollo y progresión tumoral por la acción de un cancerígeno.

METODOLOGÍA: Dieciocho hámsteres sirios dorados de 8 semanas de edad fueron divididos aleatoriamente en dos grupos control y experimental el grupo control (10 hámsteres) recibió aceite mineral en la bolsa de alimento derecha, el grupo experimental (8 hámsteres) fueron expuestos a DMBA al 0.5% durante 14 semanas. Las muestras fueron obtenidas y procesadas convencionalmente para obtener cortes seriados de 4µm y realizar el análisis histopatológico e inmunohistoquímico.

RESULTADOS: Los animales tratados con DMBA pesaron un promedio de 2-4% menos que los tratados con aceite mineral. Al realizar el análisis histológico, en el grupo experimental 4 muestras presentaron displasia severa y 4 carcinomas bien diferenciados. El grupo de control no presento cambios histológicos. La expresión de erbB1 en el grupo control fue de $101.26 \pm 24.15 \text{uo}/\mu\text{m}^2$. Las muestras del grupo experimental con displasia severa expresaron $49.42 \pm 18.11 \text{uo}/\mu\text{m}^2$, las muestras experimentales con carcinoma oral de células escamosas bien diferenciados expresaron $91.03 \pm 39.14 \text{uo}/\mu\text{m}^2$.

CONCLUSIÓN: La exposición a DMBA indujo menor peso en los animales experimentales, esto pudo ser debido a la tensión metabólica causada por la inflamación o la irritación en la bolsa de los hámsteres como resultado de la formación de tumores. Se confirmó que los HPA que se encuentran en el tabaco como el DMBA contribuyen al desarrollo y progresión tumoral. EL receptor del factor de crecimiento epitelial o EGFR se expresa diferencialmente según el estado histológico. La familia erbB, en particular erbB1 participa en roles fundamentales tales como la embriogénesis, diferenciación, maduración, mantenimiento, regeneración celular, tisular y orgánica. Su papel en carcinogénesis ha sido demostrado, por lo que aproximaciones a sus aspectos moleculares y celulares son un gran campo de investigación que podría tener aplicación terapéutica futura, al incrementar el conocimiento en el área de la oncología oral.

2. INTRODUCCIÓN

El carcinoma de células escamosas representa un problema de salud pública significativo, su etiología se relaciona con el estilo de vida, principalmente los hábitos (en particular tabaco y el consumo de alcohol), sin embargo otros factores se encuentran implicados, como agentes infecciosos (como el VPH), así como defectos en la inmunidad o defectos en las enzimas de reparación del DNA son ejemplos de algunos factores asociados. El carcinoma oral ocurre más a menudo en gente sobre la edad de 40 años. El de 7.12 dimetilbenceno antraceno [a] (DMBA), un agente carcinógeno presente en el humo del cigarro puede mediar la transformación neoplásica induciendo el daño de la DNA. En modelos animales de carcinogénesis oral inducida por DMBA los tumores se asemejan a un tumor oral humano tanto histológica como morfológicamente, lo cual lo convierte a este modelo en ideal para estudiar la patogenia celular, molecular y postular medidas preventivas y/o terapéuticas.

El receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) se sabe implicado en el desarrollo del cáncer oral.

La familia EGFR incluye EGFR/erbB1, erbB2, erbB3 y erbB4, se sabe que regulan la proliferación celular, diferenciación, migración y evasión de apoptosis. EGFR/erbB1 se expresa en células epiteliales escamosas orales normales de seres humanos y los hámsteres; la sobreexpresión o mutación de EGFR ha sido asociada como acontecimiento durante carcinogénesis oral.

A pesar de avances significativos en varias formas de tratamiento, la tasa de supervivencia para los enfermos de cáncer oral no ha mejorado, por lo tanto, es importante entender con mayor precisión la patogenia, fenotipo y conducta biológica de esta enfermedad para diseñar estrategias preventivas y terapéuticas nuevas y eficaces.

3. ANTECEDENTES

3.1. Carcinogénesis

Hunter y Nurse ^{17,18} definen a la carcinogénesis como el proceso biológico de transformación de células normales a neoplásicas, ocasionado por: señales químicas, físicas y biológicas en una o varias fases del ciclo celular provocando modificaciones moleculares y estructurales que alteran el proceso vital de la célula.

Un agente carcinógeno, o cancerígeno, tanto físico, como químico o biológico, es aquél que puede actuar sobre los tejidos vivos de tal forma que produce cáncer. Generalmente, este término se refiere a aquellos agentes que han sido producidos por el hombre, pero puede usarse para toda sustancia que tiende a causar cáncer.

Tabla 1. Carcinógenos humanos conocidos y sospechosos por órgano.

órgano	Carcinógeno conocido	carcinógeno sospechoso
Pulmón	Arsénico Asbesto benzo (a)pireno Eter bis (clorometílico) Cromo Subsulfuro de níquel Cromatop de zinc Consumo de tabaco Gas mostaza Uranio	Acilonitrilo Berilio Cadmio 1,2-dibromo-3-cloropropano Hidrocarburos aromaticos polinucleares (PHA)
Riñón	Emisiones de horno de coque Cromato de zinc	tetracloroetileno

Vejiga	Bencidina Ciclofosfamida 4-aminodifenilo Consumo de tabaco Clorafazina	Tetracloroetileno
Estomago	Cromato de zinc	Óxido de etileno
Piel	Arsénico benzo(a)pireno exposición excesiva al sol	PHA Tetracloroetileno
Hígado	Cloruro de vinilo Aflatoxina Bebidas alchoolicas	
Boca, faringe, laringe, esófago.	Bebidas alcoholicas Consumo de tabaco Tabaco de mascar (boca solamente) Gas mostaza (laringe)	
Próstata	Cadmio	

Fuente: Lybarger JA, Spengler RF, DeRosa Ct, editores. Priority health conditions: An integrated strategy to evaluate the relationship between illness and exposure to hazardous substances. Atlanta: Agencia para sustancias Toxicas y el registro de enfermedades; 1993. P. 61.

Los carcinógenos tienen la capacidad de inducir mutaciones en el ADN. Cuando este daño ocurre en genes particulares como lo son los protooncogenes, genes supresores de tumores, genes reguladores del ciclo celular, apoptosis, invasión y/o angiogénesis, se puede producir una neoplasia.

3.1.1 Proto-oncogenes y Oncogenes

Los Oncogenes son genes derivados de la alteración de los proto-oncogenes celulares, que codifican las proteínas que median el crecimiento celular y/o las señales de la supervivencia de la célula. Cuando el proto-oncogene se altera o muta puede activarse para convertirse en un oncogene, promoviendo la proliferación incontrolada de célula, llevando a la formación de un tumor. Algunos de los mecanismos comunes de la activación del oncogen incluyen la mutación, el desplazamiento cromosómico, la amplificación del gene, y la inserción retroviral. Los Oncogenes se categorizan ampliamente en grupos funcionales como sigue:^{10,11}

- (i) Receptores de los factores de crecimiento o del factor de crecimiento (hst-1, int-2, EGFR/erbB, c-erbB-2/Her-2, SIS);
- (ii) Transductores intracelulares de la señal (ras, RAF, stat-3);
- (iii) Factores de la transcripción (myc, fos, junio, c-myc);
- (iv) Reguladores del ciclo celular (cyclin D1); y
- (v) Genes implicados en la inhibición del apoptosis (bcl-2, bax).

La neoplasia también puede producirse cuando se reprimen los genes supresores (antioncogenes), que actúan normalmente reprimiendo y controlando la activación innecesaria del ciclo celular. Los genes supresores responsables más destacados son los p53 y RB.¹³

Durante la carcinogénesis oral, la señalización del crecimiento puede ser alterada con aumentos en el nivel de receptores del factor de crecimiento y/o de sus ligandos para promover el estímulo autocrino sin los factores exógenos.¹⁴ La expresión creciente del receptor epidérmico del factor de crecimiento (EGFR) y/o de su ligando alfa del factor de transformación (TGF) puede desempeñar un papel crítico en el desarrollo y la progresión orales del tumor.¹⁵

3.2. Factores de crecimiento

Los factores de crecimiento son sustancias de naturaleza polipeptídica, solubles y disolubles, que regulan el crecimiento, diferenciación y fenotipo de numerosos tipos de células.

Los factores de crecimiento estimulan la proliferación de las células normales e intervienen en la tumorigénesis cuando presentan mutaciones. La proliferación celular puede seguir los siguientes pasos:

- Unión de un factor de crecimiento a su receptor específico existente en la membrana celular.
- Activación del receptor del factor de crecimiento que, a su vez, activa a varias proteínas transductoras de señales existentes en la capa interna de la membrana plasmática.
- Transmisión por el citosol de la señal transducida hasta que llega al núcleo. Inducción y activación de los factores reguladores de núcleos que inician la transcripción del ADN.
- Paso de la célula al ciclo celular, por el que progresa hasta que se produce su división²³

Los receptores de crecimiento son proteínas transmembrana que sufren una activación transitoria cuando el receptor capta a su factor de crecimiento específico, a lo que sigue rápidamente la mitosis. Las versiones oncogénicas de estos receptores sufren activaciones persistentes sin necesidad de unirse al factor de crecimiento correspondiente. De esta forma, el receptor mutante libera hacia la célula continuas señales que estimulan la mitosis²³.

Recientemente, se ha intensificado el interés de los investigadores en la expresión de receptores de factores de crecimiento codificados por proto-oncogenes c-erb B en el desarrollo de cáncer oral. Uno de estos receptores es el receptor para el Factor de Crecimiento Epidérmico, que se une a erbB-1, mientras que el factor de diferenciación neural (NDF) es el ligando preferente para erbB-3 y erbB-4. Estos receptores están involucrados en la proliferación y diferenciación celular, y su activación aberrante o su sobre-expresión puede contribuir al desarrollo y progresión tumoral²⁴.

EGFR es una glicoproteína transmembrana de 170 kD cuyo gen está localizado en el brazo corto del cromosoma humano 7p12¹⁶. Tiene diferentes ligandos extracelulares entre los que se encuentra TGF-EGF. Una vez activado produce la fosforilación de numerosos efectores involucrados en las vías del PI3K/Akt (11), PLC- γ y ras/raf-1. La activación de estas cascadas produce a su vez la transcripción de genes responsables de la coordinación, diferenciación, desarrollo, crecimiento y maduración celular.^{3, 11}

EGRFR es un receptor transmembrana miembro de la familia de tirosin-kinasas (TK). Al igual que otros receptores Tk, traduce señales tanto del exterior como del interior de la célula y juega un papel importante en numerosos procesos que afectan a la evolución tumoral, crecimiento, progresión, diferenciación, inhibición de apoptosis y desarrollo de metástasis.¹

3.3 Carcinogénesis oral y Cáncer Oral de Células Escamosas

3.3.1 Definición

Neoplasia significa “nuevo crecimiento”, en salud este término se aplica para designar a una masa anormal de tejido cuyo crecimiento excede el de los tejidos normales y que no es coordinado por estos mismos; en este sentido, tumor se entiende como uno de los signos de la inflamación; una neoplasia puede causar una tumefacción sin embargo es importante recalcar que no todos los tumores son causados por neoplasias y que no todas las neoplasias puede causar tumores. Cáncer es la manera común de nombrar a los tumores malignos. De modo que el cáncer es un conjunto de enfermedades en las cuales el organismo produce un exceso de células malignas con crecimiento y división más allá de los límites normales, invasión de tejido circundante y a veces metastasis.⁹

El carcinoma de oral de células escamosas (COCE), denominado a veces carcinoma de células planas o carcinoma epidermoide, se define como una neoplasia maligna derivada del epitelio plano con diferentes grados de diferenciación, metástasis temprana a ganglios linfáticos regionales. El COCE suele ser la etapa final de la alteración del epitelio plano estratificado, iniciándose como una displasia epitelial, evolucionando hasta que las células epiteliales displásicas rompen la membrana basal e invaden el tejido conjuntivo.¹³

El COCE se produce cuando un número suficiente de alteraciones genéticas, entre otras, alteran de forma irreversible la regulación normal de la división celular y la apoptosis.¹³

La alteración genética más común del COCE es la pérdida de región cromosómica 9p21, esta región del cromosoma conocida como el lugar geométrico de CDKN2A, codifica los supresores del tumor p16 y p14ARF; la pérdida de la región del cromosoma 3p es otra alteración genética temprana del campo común en la carcinogénesis oral. La región del cromosoma 3p incluye FHIT (gene frágil de la tríada de la histadina) y RSSFIA, los genes de supresores del tumor. La pérdida del heterocigoto (LOH) de la región 17p del cromosoma y la mutación del gene p53 son otras alteraciones genéticas que ocurren en el estado avanzado de progresión de displasia al carcinoma escamoso invasor. Las alteraciones de p53, incluyendo la mutación o la supresión, se asocian a inestabilidad genómica creciente en displasia oral y pueden acelerar el índice de alteraciones genéticas en carcinogénesis oral. Generalmente la pérdida de material cromosómico en 9p, 3p, y 17p se observa en las partes relativamente elevadas de lesiones displásicas, indicando que esos acontecimientos son marcadores tempranos de la carcinogénesis oral, mientras que las pérdidas en 13q y 8p se observan más con frecuencia en carcinomas que en displasia y se asocian al estado avanzado de carcinogénesis.³

3.3.2 Características Generales

El COCE es la neoplasia maligna más frecuente de la cavidad oral, representando alrededor del 90% del total de cánceres orales. Aunque se presenta en diversas localizaciones orales, es más frecuentemente en el labio inferior, en los bordes laterales de la lengua y en el piso de la boca. La incidencia del COCE aumenta con la edad; la mayoría de los casos se presenta después de los 40 años.¹³El COCE es más frecuente en hombres que en mujeres en proporción de 2:1.

3.3.3 Características clínicas.

En la piel expuesta al sol el COCE aparece como una placa de color rojo pardo y contornos netos con bordes muy poco elevados. En la piel adyacente casi siempre hay signos de daño actínico. La lesión invasora temprana es un nódulo actínico, indoloro, consistente y rojo con escamas queratóticas. La lesión profundamente invasora suele presentarse en forma de ulcera superficial con bordes anchos, elevados y duros; en la base del tumor puede palpase la infiltración que se propaga .Las dimensiones de las lesiones varían de varios milímetros a varios centímetros.^{9,12}

En la piel no expuesta, el carcinoma epidermoide invasor puede presentarse en forma de placas de color rojo y que exudan. Las lesiones profundamente invasoras son ulceradas. El COCE en las superficies paramucosas y mucosa a menudo guarda relación con áreas de leucoplasia.^{9,12}

El COCE aparece en bordes derecho o izquierdo del bermellón de los labios y rara vez en la línea media. En casi todos los casos las lesiones van precedidas por periodos prolongados de queilitis actínica, seguidos por un intervalo de ulceración y formación de costras recidivantes. Finalmente la ulcera ya no cicatriza y desarrolla un borde sobreelevado, rodeado de tejido inmaduro.¹³

Las lesiones tempranas de la superficie lateral de la lengua suelen estar localizadas en los tercios medio y posterior. Comúnmente las lesiones aparecen al principio como aéreas de leucoplasia que ulceran pronto y desarrollan bordes elevados. Otras lesiones pueden empezar como zonas localizadas de eritema o nodulares. Las lesiones avanzadas se ulceran finalmente y producen una induración extensa del tejido circundante, llevando frecuentemente a inmovilidad de la lengua y alteración del habla.¹³

El aspecto clínico de las lesiones tempranas o iniciales del suelo de la boca empiezan por lo general como un área de eritroplasia o eritroplasia moteada, que evoluciona gradualmente a una ulceración central de forma irregular. Cuando las lesiones avanzan, el área se convierte en nodular e indurada e invade los tejidos más profundos. En las lesiones avanzadas, son frecuentes la fijación de la lengua y la extensión sobre la encía.¹³

Habitualmente, en el paladar duro, las lesiones son eritroplásicas o incluyen una mezcla de zonas con aspecto de placas de color rojo y blanco. La invasión suele producirse antes de ser visible la ulceración de su superficie.¹³

3.3.4 Características histológicas.

Es común a todas las lesiones la presencia de invasión hacia el tejido conjuntivo subyacente y la posibilidad de que las células malignas erosionen los vasos linfáticos y sanguíneos, haciendo posible su metástasis.¹³

Aunque todos los carcinomas tienen alguna capacidad de metastatizar, hay una gran diversidad en el potencial metastásico de los diversos carcinomas de células escamosas. Este potencial está relacionado en cierta medida con la variedad histológica que se encuentra en el carcinoma. La variedad histológica se relaciona con la magnitud (grado) de la diferenciación que presentan las células tumorales y la similitud entre la arquitectura del tejido y el epitelio plano estratificado normal.¹³

Histológicamente: según Pindborg y otros; los carcinomas de células escamosas son microscópicamente clasificados sobre la base de un método que tiene en cuenta una evaluación subjetiva del grado de queratinización, pleomorfismo celular y nuclear así como actividad mitótica. Los grados de diferenciación van de grado 1 que son bien diferenciados, grado 2 moderadamente diferenciados y pobremente diferenciados que corresponden al grado 3.^{28,29}

- Grado 1: Presencia de puentes intercelulares menos de 2 mitosis por campo histológico, observándose a mayor aumento, rara presencia de mitosis atípicas y escasas células gigantes multinucleadas, pleomorfismo celular y nuclear muy reducido.
- Grado 2: Presencia de puentes intercelulares de; 2-4 mitosis por campo histológico con algunas mitosis atípicas, moderado pleomorfismo celular y nuclear con escasas células gigantes multinucleadas.
- Grado 3: Ausencia de puentes intercelulares más de 4 mitosis atípicas, pleomorfismo celular y nuclear pronunciado, frecuentes mitosis atípicas, y frecuentes células gigantes multinucleadas.

Los COCE del labio inferior tienden a ser bien diferenciadas; los que se presentan en los bordes laterales de la lengua suelen ser moderadamente diferenciados y los que afectan a la región amigdalina tienden a ser poco diferenciados. Sin embargo sobre esta característica influyen diversos factores, como las estructuras anatómicas, los factores ambientales y la susceptibilidad genética todas estas variables aunadas a y las vías de drenaje linfático, el grado de diferenciación parece ser muy importante en la determinación de su velocidad de crecimiento y, en último término, de su tendencia a metastatizar.¹

El COCE se observa cuando queratinocitos atípicos atraviesan la membrana basal y proliferan descendiendo a la dermis. Las células tumorales pueden presentar variación de dimensiones y forma, acantolisis, multinucleación, hipercromasia nuclear, disqueratosis, imágenes mitóticas atípicas, y formación de perlas córneas (capas concéntricas de células escamosas con aumento de la queratinización central). Variantes histológicas poco frecuentes incluyen tipos seudoglandular y de células fusiformes.⁹

3.3.5 Factores de Riesgo

Una serie de factores parecen implicados en el desarrollo del COCE como el consumo de tabaco y alcohol, virus, radiación, inmunosupresión, diferencias nutricionales, irritación crónica.¹³

La exposición crónica a los agentes carcinógenos puede dañar genes en forma individual así como porciones más grandes de material genético, incluyendo los cromosomas. La acumulación de tales alteraciones genéticas puede llevar al desarrollo de lesiones premalignas y del carcinoma invasor subsecuente. Estas alteraciones genéticas incluyen mutaciones o la amplificación que activan a los oncogenes que promueven supervivencia y la proliferación de la célula.¹¹

3.3.6 Tabaco y DMBA

El cigarrillo es, muy probablemente, la fuente más importante de compuestos químicos tóxicos causante de enfermedades humanas²⁵. Según datos de la OMS, el cigarrillo es causante de por lo menos cuatro millones de muertes cada año, esta cifra podría duplicarse para el año 2020²⁶. En el año 2000 se calculaba que anualmente en el mundo se consumían unos 5.7 billones de cigarrillos, en América 845337 millones de cigarrillos²⁷.

Se ha descrito que el consumo habitual de tabaco en sus diversas formas, principalmente cigarrillos, puros, tabaco en pipa, es el factor más importante asociado con la transformación de las células epiteliales normales de la mucosa en carcinoma epidermoide. Los datos de investigación señalan que 8 de cada 10 pacientes con cáncer oral habían sido grandes fumadores durante mucho tiempo.¹³

El tabaco contiene cerca de 4000 partículas, tras su combustión se detectan 6000 de las cuales 65 son posibles cancerígenos ya comprobados.¹⁹

El humo del cigarrillo contiene cantidades importantes de cancerígenos agentes conocidos, de posibles cancerígenos y de probables carcinógenos humanos.²⁰

Entre los principales carcinógenos se cuentan los hidrocarburos policíclicos aromáticos como el benzo (a) pireno (BaP) y el antraceno de 7.12 dimetilbenceno (a) (DMBA); nistrosaminas (aminas aromáticas), aldehídos y componentes inorgánicos como el níquel, plomo y polonio²¹. Los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) se forma tras la combustión incompleta de materia orgánica. Los HPA causan cáncer de pulmón, tráquea, cavidad bucal, laringe y tracto digestivo cuando son administrados a animales de laboratorio²².

El benzo (a) pireno (BaP) y el antraceno de 7.12 dimetilbenceno (a) (DMBA) son hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) encontradas en la fracción del alquitrán del humo del cigarrillo, tan bien como en gases del extractor y del horno de coche.

Estos compuestos causan apoptosis celular y daños en el ADN celular. En principio los mecanismos reparadores logran recuperar la información genética dañada, sin embargo, la exposición crónica a los carcinógenos causa mutaciones en genes de control de la división, proliferación y crecimiento celulares.

4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El COCE es el más común de los carcinomas de cabeza y cuello. Se ha descrito que el consumo habitual del tabaco en sus diversas formas cigarro, puro, o tabaco en pipa es el factor más importante asociado con el COCE. El tabaco es la primera y más importante causa de cáncer, se estima que 85-90% de los casos de cáncer de vías digestivas superiores son explicadas por la exposición a tabaco y el riesgo es proporcional a la intensidad de la exposición. Entre los principales carcinógenos presentes en el tabaco se cuentan los hidrocarburos policíclicos aromáticos como el antraceno de 7.12 dimetilbenceno (a) (DMBA), este compuesto causan apoptosis celular y daños en el ADN celular. erbB1 es un protooncogen cuya sobreexpresión puede contribuir al desarrollo y progresión tumoral por la acción del cancerígeno DMBA esta alteración representa el factor más importante asociado con la transformación de las células epiteliales normales de la mucosa en carcinoma epidermoide.

Considerando la importancia de lo antes dicho aun así no se ha determinado la relación entre la exposición a carcinógenos de tabaco como DMBA con la expresión de erbB1 en COCE.

5 JUSTIFICACIÓN

En los últimos tiempos ha existido un interés especial en erbB1 no sólo por su posible valor pronóstico sino también porque es diana de algunos agentes terapéuticos cuya eficacia ha sido demostrada en determinados tipos de cáncer. Dichos fármacos pueden ser de diferentes familias: ligandos-toxina conjugadas, anticuerpos monoclonales anti-EGFR, inhibidores específicos de TKs o inhibidores del propio RNAm ⁴⁰. Entre los más conocidos está el Cetuximab® (anticuerpo anti-EGFR) que ha mostrado *in vitro* inhibir el crecimiento de Carcinoma Células Escamosas de Cabeza y Cuello ⁴¹ y ha dado buenos resultados en los ensayos clínicos realizados con pacientes con Carcinoma Células Escamosas de Cabeza Cuello en estado avanzado⁴². Otros ejemplos de anticuerpos que se están empleando son EMD 72000, hR3 o ABX-EGF. Entre los inhibidores específicos se encuentra el Iressa® que inhibe específicamente la fosforilación del dominio catalítico del receptor. La ventaja de este fármaco es su posibilidad de administración oral y existen numerosos ensayos clínicos al respecto⁴³. Otros ejemplos de fármacos inhibidores de EGFR son SU5416, PKI166, OSI-744 Tarceva® o CI-1033.¹¹

El determinar cuál sería el patrón de expresión de erbB1 en neoplasias COCEs inducidos por DMBA permitirá determinar y postular medidas estratégicas para un tratamiento futuro.

6 HIPÓTESIS EXPERIMENTAL

La exposición a DMBA en la mucosa oral del hámster promoverá el desarrollo tumoral, el cual presentara alteraciones respecto a la expresión erbB1.

7 OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la inmunoexpresión de erbB-1 en carcinogénesis química oral inducida por DMBA en modelos hámster sirio dorado.

Objetivos específicos:

- Determinar el efecto del DMBA sobre el crecimiento tumoral clínico.
- Determinar los cambios histológicos inducidos por el DMBA en animales expuestos.
- Determinar el índice de la expresión semicuantitativo y digital asistida de erbB1 en ambos grupos.

8 VARIABLES

Variable dependiente

- Expresión de erbB1

Variables independientes

- DMBA
- Tamaño tumoral
- Grado histológico

9 METODOLOGÍA

Animales

Veinte hámsteres sirios dorado de 5 semanas de edad con un peso promedio de $114\text{g} \pm 15$ fueron divididos aleatoriamente en dos grupos equitativos, grupo A experimental y grupo B control. Después de tres semanas de aclimatación los animales fueron expuestos a los componentes control y experimental, el carrillo derecho de cada animal del grupo experimental A fueron tratados con DMBA al 0.5% en aceite mineral. DMBA era aplicado (lunes, miércoles y viernes) con un pincel número 4 de pelo orgánico en el carrillo derecho durante 14 semanas. Los animales del grupo B fueron tratados con aceite mineral por aplicación tópica en el carrillo derecho durante 14 semanas.

Al término de las 14 semanas los animales fueron sacrificados en la cámara de gas a través de una sobredosis de cloroformo.

Muestras estudiadas

Se realizó la disección de la bolsa de alimento para determinar el número y volumen tumoral.

Las muestras de tejido se fijaron en solución de paraformaldehído al 4% y para su posterior inclusión en parafina. Se realizaron cortes de 4 micras a partir de los bloques y se montaron en portaobjetos previamente tratados con 3-aminopropiltriethoxysilano. Se realizó la tinción con hematoxilina y eosina para su análisis histológico.

Los cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina fueron clasificados como normales, hiperplásicos, displásicos y carcinoma. A su vez, las

tinciones clasificadas como displásicos eran subdivididas en displasia leve, moderada y severa; para las tinciones clasificadas como carcinoma se subclasificaron en carcinoma bien diferenciado, moderadamente diferenciado y pobremente diferenciado.

Análisis inmunohistoquímico

Se realizó el desparafinado y rehidratación de las muestras a través de inmersiones en xilol-alcohol a diferentes concentraciones.

Posteriormente se realizó el lavado con PBS (solución buffer de fosfatos) 1x durante 15` para después realizar la recuperación antigénica por medio del buffer de citratos al 0.01M, se lavo con PBS, se inhibió la peroxidasa endógena con peróxido de hidrogeno al 5%, se lava con PBS, se bloqueo sitios inespecíficos a través de la incubación a temperatura ambiente con albumina al 2%, se lavo con PBS, se realizó la inmersión en tritón x 100 al 0.2%, se lavo con PBS para la incubación con el Ag primario (EGFR 1005 SC-03 rabbit policlonal) a 4°C durante toda la noche.

Se realizó lavado con PBS posteriormente se incubo 30` con el Ag secundario y 30` con el complejo streptovidina peroxidasa para posteriormente revelar con DAB (diaminobenzidina) y contrateñir con hematoxilina de Harris para montar el cubreobjetos con resina hidrofobica.

Cuantificación Inmunohistoquímica

Las diapositivas eran analizadas usando un microscopio óptico Olympus xb40®. Para cada caso, la cuantificación de inmunotinción fue hecha por 2 diversos métodos: digital semicuantitativo y de ayuda de computadora análisis de imagen.

De cada muestra se tomaron fotomicrografías de los pixeles 640x480 fueron obtenidos de campos consecutivos en el objetivo 40x de 200 x200µm, con cámaras digitales de Olympus C 3040®, ajustadas a estos parámetros. Las imágenes obtenidas eran analizadas por el sistema de proceso y análisis de proyección de imagen, ImageLab® (MCM Desing 2.2.4), ajustado a la escala micrométrica (µm).

Tres parámetros fueron obtenidos con el programa ImageLab®: (1) porcentaje de células marcadas; (2) intensidad inmunotinción digital, y (3) índice digital de la expresión.

El porcentaje de las células marcadas (PCM) del tumor de origen epitelial, para cada caso, fueron contadas por el ImageLab® mientras que el observador las clasificó como células positivas o negativas.

$$\text{PCM} = \frac{\text{número de células etiquetadas}}{\text{Total de células contadas}} \times 100 = \%$$

ImageLab® fue utilizado para cuantificar la intensidad del color. Para cada caso, las fotomicrografías usadas para determinar el PMC eran consideradas. El promedio de la densidad óptica de estas áreas era calculada automáticamente y representa el promedio de color rojo, verde, y azul (RGB) por el área del citoplasma analizada, expresado en unidades ópticas por el micrómetro ajustado (ou/µm²). El mismo procedimiento fue aplicado para obtener la densidad óptica del fondo (DOF) de un área sin el tejido o espacio vascular para cada fotomicrografía. El color blanco absoluto que corresponde al máximo la densidad óptica (3207 ou/µm²) es compuesto por la totalidad de rojo, de verde, y el azul; y el negro es la ausencia de estos colores. Por lo tanto, los valores de densidad óptica calculados por el

programa compone una escala en la cual los valores elevados corresponden a los colores que están claros. Para determinar la intensidad de inmunoexpresión digital (DOF) se uso la siguiente fórmula:

$$I_{dig} = 320.7 - \frac{320.7 \times \sum DO}{\sum DOF} = \text{L}_{ou/\mu\text{m}^2}$$

El índice digital de la expresión (IE_{dig}) fue obtenido por la multiplicación del PCM por la I_{dig} para cada caso.

$$IE_{dig} = \frac{PCM \times I_{dig}}{100} = \text{L}_{ou/\mu\text{m}^2}$$

Análisis semicuantitativo

La fracción del área de células marcadas era resuelta según la ecuación siguiente:

$$ALC = \frac{\text{total de células marcadas contadas}}{500} \times 100 = \%$$

Los valores del área de las células marcadas (ALM) fueron categorizados en 4 categorías como sigue:

- 0: ausencia de células etiquetadas del tumor
- 1: del 0% al 10% de células etiquetadas del tumor
- 2: a partir del 11% al 50% y
- 3: más del 50% de las células etiquetadas del tumor.

La cuantificación de 0 a 3 fue atribuida a la intensidad inmunotinción (II_{SQ}) como sigue:

0. Ninguna coloración
1. Débil
2. Suave
3. Fuerte

Finalmente, el índice de expresión semicuantitativo (IE_{SQ}) fue determinado multiplicando el ACM y el II_{SQ} para categorizar de la siguiente forma: ninguna coloración, débil (1, 2, o 3 puntos), suave (4, 5, 6 puntos) y fuerte (7, 8 o 9 puntos).

10 RESULTADOS

La población al final del experimento fue de 10 hámsteres para el grupo control y 8 para el grupo experimental debido a que 2 animales murieron por causas ajenas al experimento (disputa territorial).

El peso de los animales del grupo control al inicio del experimento fue de 88.43 ± 2.41 g y del experimental de 86.23 ± 1.29 g; al final de las 14 semanas el grupo control peso 104.21 ± 8.57 g y el experimental 93.03 ± 9.46 g.

Inicio	Control (g)		Experimental (g)	
Hembras	90.14	9.34	87.15	4.14
Machos	86.72	2.21	85.32	1.71
Promedio (DE)	88.43	2.41	86.235	1.29

14 semanas	Control (g)		Experimental (g)	
Hembras	110.27	3.12	99.72	5.24
Machos	98.15	7.19	86.34	7.92
Promedio (DE)	104.21	8.57	93.03	9.46

Los animales tratados con DMBA pesaron un promedio de 2-4% menos que los tratados con aceite mineral esto puede ser debido a la tensión metabólica causada por la inflamación o la irritación en la bolsa de mejilla. El peso corporal de los animales fue registrado una vez por semana.

Las características clínicas de la mucosa del grupo control no mostró datos significativos, la textura, hidratación y coloración fueron semejantes a la mucosa contralateral; no así la mucosa experimental que presento zonas leucoeritroplásicas e inflamación con número variable de tumores.

El número total de tumores orales en las bolsas bucales experimentales fue contado; así como el diámetro de cada tumor fue medido por medio de un calibrador o vernier. El volumen del tumor era calculado por la fórmula $v = 4/3 \pi r^3$ (donde r es el valor medio de las tres medidas del diámetro en milímetros).

El promedio de los tumores encontrados fue de 3.28 y el volumen tumoral fue de 299 mm³.

Tabla 2. Volumen tumoral promedio.

Grupo	Promedio Tumores	Volumen Tumoral (mm)
A (DMBA)	3.28	299mm ³

Análisis histológico.

Al realizar el análisis histológico el grupo control presento epitelio plano estratificado de 2-4 capas de grosor con un empalzado de células basales cúbicas y cambio a células planas con presencia de ortoqueratina. El tejido conjuntivo fue de naturaleza fibrosa densa con presencia de vasos sanguíneos.

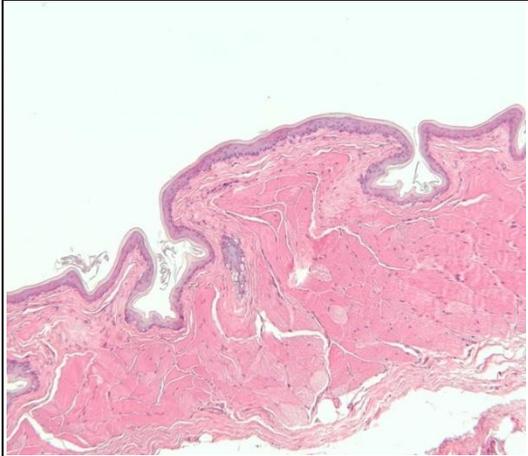


Imagen 1. Mucosa sana 10x.

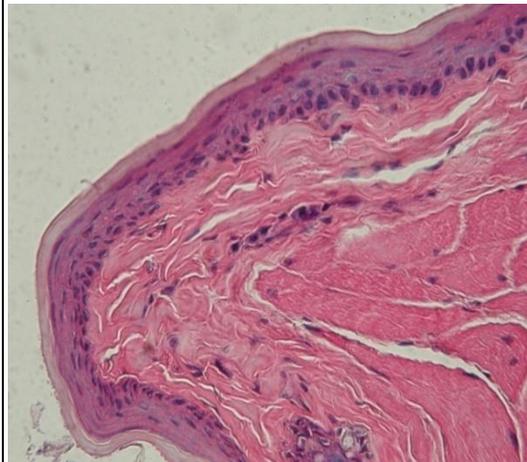


Imagen 2. Mucosa sana 40x. Se observa epitelio estratificado ortoqueratinizado con tejido conjuntivo fibroso.

En el grupo experimental se desarrollaron 4 muestras con tejido displásico severo así como 4 carcinomas bien diferenciados.

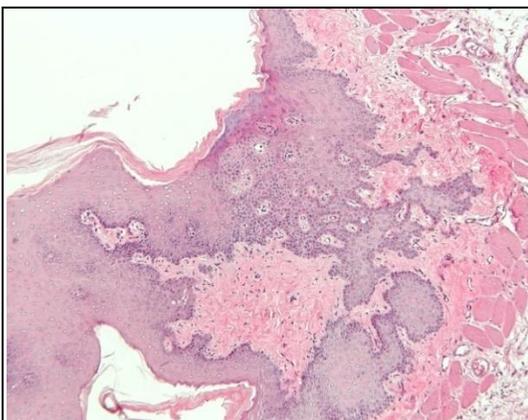


Imagen 3. Displasia severa 10x

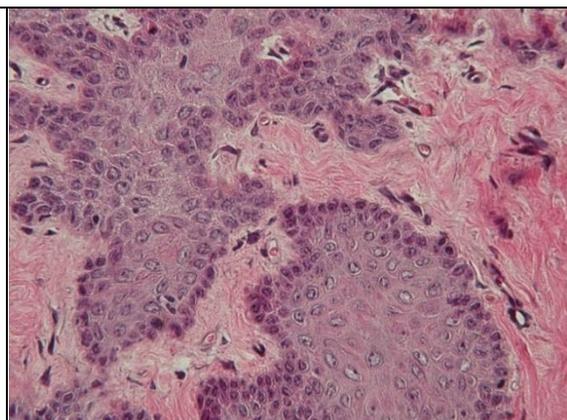


Imagen 4. Displasia severa 40 x. se observan células con pleomorfismo celular y nuclear, pérdida de la arquitectura epitelial, sin presencia de células invasoras a tejido conjuntivo.

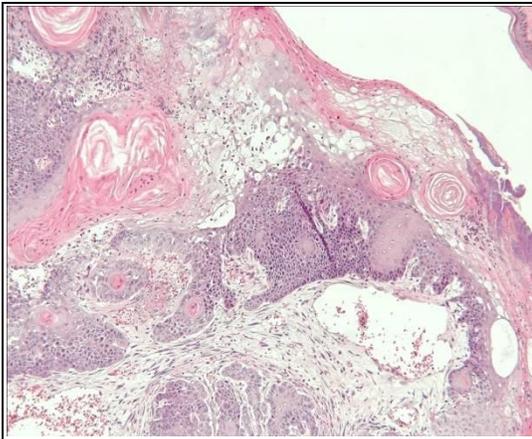


Imagen 5. Carcinoma bien diferenciado 10x

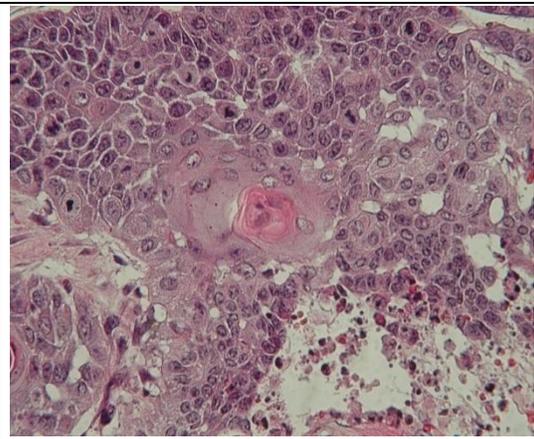


Imagen 6 Carcinoma bien diferenciado 40x

En las muestras con displasia epitelial severa se observó mitosis incrementadas, alteraciones en la relación núcleo citoplasma, hiperchromatismo, núcleos grandes y prominentes, atipia celular e hiperplasia basilar, pérdida de la polaridad de las células basales y pérdida o reducción de la adherencia de las células epiteliales.

Las muestras clasificadas como carcinoma bien diferenciado se caracterizaron por la invasión al tejido conjuntivo subyacente, presentar queratinización, pérdida de la capa basal, estratificación celular epitelial irregular, bajo número de mitosis (1-2 por campo) y presencia de mitosis anormales, pleomorfismo celular, hiperchromatismo nuclear, alteración de la relación núcleo citoplasma y núcleos aumentados de volumen.

Inmunohistoquímica.

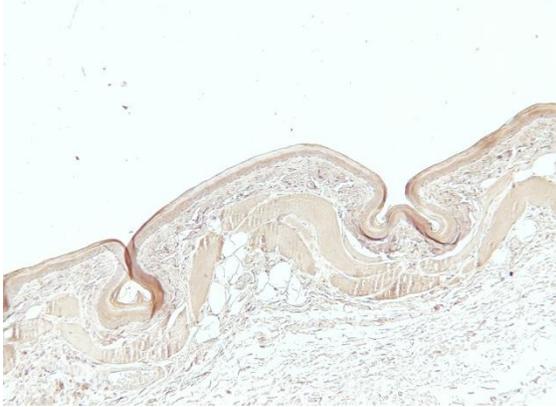
El análisis inmunohistoquímico de la mucosa del grupo control presento un nivel semicuantitativo óptico elevado equivalente a 9 asociado a todos los estratos del epitelio y un índice digital de la expresión (IE dig) de 101.26 $uo/\mu m^2$.

En el grupo experimental los epitelios que presentaron displasias severas presentaron una expresión semicuantitativa de 6 equivalente a fuerte y un IE dig de 49.42 $ou/\mu m^2$.

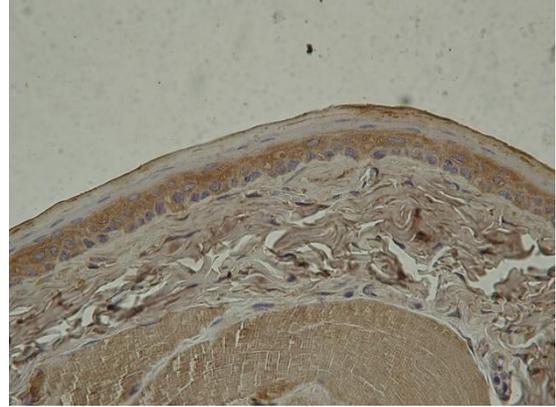
Los cuatro carcinomas bien diferenciados presentaron una expresión semicuantitativa de 6 equivalente a fuerte y un IE dig de 91.03 $uo/\mu m^2$.

Tabla 3. Expresión de ErbB

LESION	erbB1
Normal (10)	Edig=101.26+/-24.15 $ou/\mu m^2$ ISC=9
Displasia severa (4)	E dig=49.42 +/-18.11 $ou/\mu m^2$ Isc=6
Carcinoma bien diferenciado (4)	Edig=91.03 +/-39.14 $ou/\mu m^2$ Isc= 6

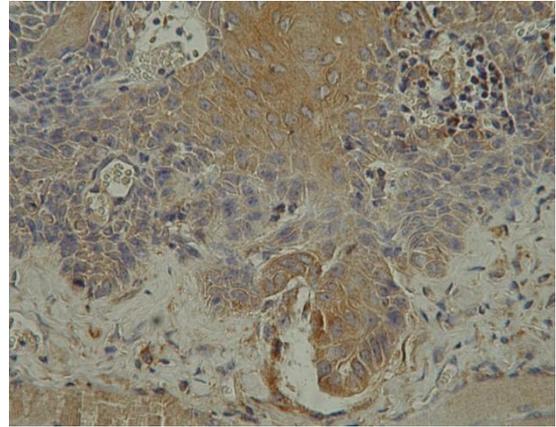
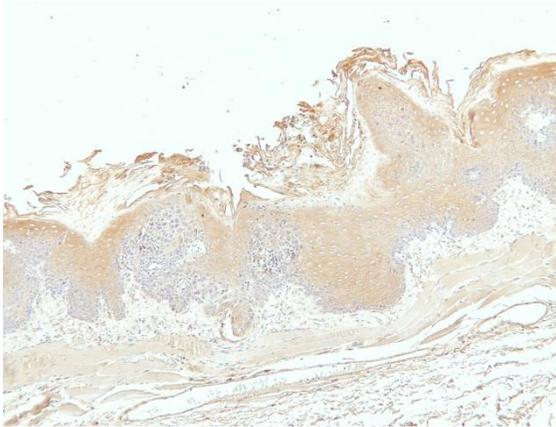


MUCOSA SANA 10X

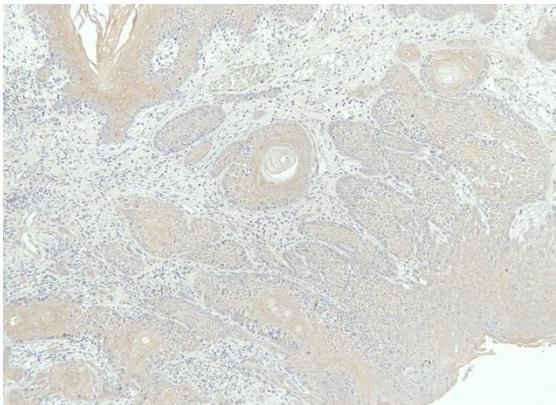


MUCOSA SANA 40X

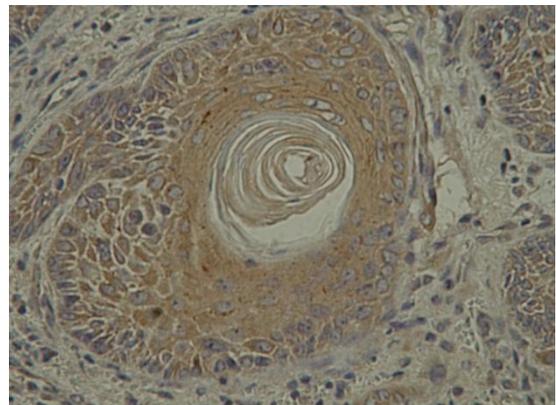
DISPLASIA 10X



DISPLASIA 40X



CARCINOMA BIEN DIFERENCIADO 10X



CARCINOMA BIEN DIFERENCIADO 40X

11 DISCUSIÓN

La carcinogénesis es el mecanismo a través del cual se desarrolla una neoplasia maligna. La génesis y el desarrollo tumoral son el resultado de numerosas alteraciones moleculares que se producen en nuestro ADN, principalmente por la activación de los oncogenes y/o la supresión de genes supresores de tumores. Los cambios en la secuencia de estos genes puede promover el desarrollo de tumores.³⁴

Muchos PAHs son considerados como carcinógenos, pues son capaces de producir tumores en diferentes tejidos, incluido el tejido epitelial. Otros efectos biológicos sobre diferentes organismos pueden incluir efectos adversos en la reproducción y el desarrollo del sistema inmunológico. Varios HAPs, entre los que se incluyen dimetilbenzo[a]antraceno, han sido utilizados como herramientas experimentales para causar tumores en los animales de laboratorio que han respirado estas sustancias en el aire, que las han consumido o que han entrado en contacto directo con las mismas a través de la piel o mucosas durante largos períodos de tiempo. Esto es debido a que estudios realizados en los seres humanos demuestran que las personas expuestas a través de la respiración o el contacto de la piel durante largos períodos de tiempo con mezclas que contienen HAPs y otros compuestos también pueden desarrollar neoplasias.³⁷ Los animales hembras que se alimentaron con altos niveles de benzo[a]pireno durante el embarazo tuvieron problemas reproductivos, así como los tuvieron sus crías. Las crías de las ratonas embarazadas que se alimentaron con benzo[a]pireno también mostraron otros efectos dañinos, como defectos congénitos y disminución del peso corporal. En los seres humanos se podrían presentar efectos similares, pero no disponemos de información para demostrar que estos efectos ocurren. Los estudios realizados en animales han demostrado que los HAPs pueden causar efectos dañinos en la piel, los fluidos corporales y el sistema que utiliza el cuerpo para combatir las enfermedades después de exposiciones tanto a corto como a largo plazo. Estos efectos no se han observado en los seres humanos.³⁷

Al final de las 14 semanas el grupo control pesaron 104.21 ± 8.57 g y el experimental 93.03 ± 9.46 g. Los animales tratados con DMBA pesaron un promedio de 2-4% menos que los tratados con aceite mineral esto puede ser debido a la tensión metabólica causada por la inflamación o la irritación en la bolsa de mejilla como lo explican Zheng Sun³⁰ y Ning Li³¹ en sus respectivos artículos.

El humo del cigarrillo ha sido probado para la carcinogenicidad en animales ya sea por la inhalación y por el uso tópico del condensado entre otras maneras. La exposición de hámsteres y de ratas al humo entero da lugar a la inducción de los tumores malignos del tracto respiratorio. El condensado del humo del cigarrillo induce cánceres de piel en ratones y conejos después de su aplicación en la piel, y cánceres de pulmón en ratas después de la inyección intrapulmonar. El humo del cigarrillo contiene muchos productos químicos sabidos para producir el cáncer en animales y/o seres humanos. Se sabe que aproximadamente 4000 químicos diferentes se encuentran en el tabaco y que 40-100ng de DMBA por cigarrillo son liberados en el humo.⁴²

La génesis y el desarrollo tumoral son el resultado de numerosas alteraciones moleculares que se producen en nuestro ADN y en donde están implicados los oncogenes, que a través de variaciones en su secuencia de nucleótidos adquieren capacidades generadoras de tumores.³⁴

La carcinogénesis puede comenzar por la iniciación o activación cuando el ADN de la célula o de una población de células se daña por la exposición a factores carcinogénicos, tanto endógenos como exógenos; la sensibilidad de las células mutadas respecto a su microambiente puede alterarse e iniciarse un crecimiento más rápido que en las células no alteradas.³⁴

La promoción tumoral se caracteriza por una expansión clonal selectiva de las células iniciantes, como resultado de la expresión alterada de los genes.³⁴ Las células que progresan entran en una etapa de transformación donde otras mutaciones serán acumuladas, ya sea para promover estados de hiperproliferación, inflamación y remodelación tisular.³⁴

La progresión del tumor se producirá cuando coincidan los factores implicados en la iniciación y promoción del mismo. Parece ser que el cáncer se desarrolla de forma gradual, a partir de células ligeramente aberrantes, y se caracteriza por una acumulación de alteraciones en los genes encargados de la regulación de la homeostasis celular, como los oncogenes, genes supresores de tumores y los genes reparadores de ADN.³⁴ Sin embargo en muchas de las ocasiones la detección de una neoplasia se realiza cuando ya existe una presencia tumoral.

Debido a su accesibilidad y fácil manejo, la bolsa bucal del hámster es un modelo excelente para la inducción del carcinoma de células escamosas a través de agentes carcinógenos químicos. El uso del 7,12 dimetilbenceno (a) antraceno (DMBA) a la bolsa de mejilla del hámster sirio es capaz de producir el COCE que es histológicamente similar al COCE oral humano y emular la exposición a químicos derivados del tabaco.³²

En nuestro estudio el número promedio de tumores encontrados fue de 3.28 y el volumen tumoral fue de 299 mm³. Esto confirma el potencial neoplásico de los hidrocarburos aromáticos policíclicos, como el DMBA.

Al realizar el análisis histológico, en el grupo experimental el resultado fue de 4 muestras con tejido displásico severo así como 4 carcinomas bien diferenciados.

Aproximadamente un 50% de los carcinomas epidermoides se desarrollan sobre un epitelio previamente alterado. Entendemos por lesión precancerosa un tejido morfológicamente alterado en el cuál la aparición de cáncer es más probable que en su homólogo normal. De acuerdo a su clasificación clínica las lesiones precancerosas pueden ser leucoplasia, eritroplasia, quelitis actínica y palatitis nicotínica; por su clasificación histológica pueden ser displasia epitelial leve, displasia epitelial moderada y displasia epitelial severa. Una condición precancerosa es un estado sistémico generalizado que predispone a un riesgo mayor de padecer cáncer. Estas condiciones precancerosas pueden ser: liquen plano, disfagia sideropenica, fibrosis oral submucosa, sífilis, lupus eritematoso discoide, xeroderma pigmentoso, inmunosupresión, epidermólisis bullosa y disqueratosis congénita.³⁵

El potencial de malignización de estos estados llamados "potencialmente cancerosos", ya que la progresión hacia la malignidad no parece ser inevitable, viene determinado por la presencia de displasia epitelial, entendiéndose por esta la combinación variable de una serie de fenómenos microscópicos indicativos de un desorden de la maduración epitelial y una alteración de la proliferación celular. Los rasgos que identifican una displasia epitelial se clasifican en alteraciones arquitectónicas y alteraciones celulares.^{23, 36.}

Ante estímulos como el tabaco o el alcohol se puede inducir el desarrollo de estas lesiones así como promover que estas lesiones evolucionen a un carcinoma invasor. Otro punto importante es la susceptibilidad genética, sexo, dieta, inmunosupresión, infecciones (bacterianas, virales y micóticas), irritantes locales, radiaciones y factores socioeconómicos y ocupacionales^{45, 46, 47}.

Actualmente se ha intentado explicar la conducta y forma de una neoplasia más allá de su componente clínico o histológico. La búsqueda de moléculas que nos permitan fenotipificar y asociar variables como el grado histológico al número y forma de expresión de estas es una de las ambiciones de la oncología oral moderna, no obstante esta meta será alcanzada hasta que amplíemos nuestro conocimiento sobre la neoplasia en este caso el carcinoma oral de células escamosas.

El receptor erbB1 el cual pertenece a la familia de los Receptores EGF-Familia (EGFR), que son proto-oncogenes virales, es un receptor transmembrana que traduce señales tanto del exterior como del interior de la célula y juega un papel importante en numerosos procesos que afectan a la evolución tumoral, crecimiento, progresión, diferenciación, inhibición de apoptosis y desarrollo de metástasis.³⁹

En este estudio pudimos encontrar que la expresión de erbB1 en el grupo control fue de 101.26 ± 24.15 uo/ μm^2 . El grupo experimental con displasias severas expreso 49.42 ± 18.11 uo/ μm^2 . En las muestras que solo desarrollan displasias severas tienen una disminución de la expresión respecto al control. Esto puede ser debido a la expresión de otro miembro de la familia erbB, ya que erbB1 no es el único miembro de la familia EGFR, de modo que las uniones diméricas con los otros miembros de la familia se hayan expresado en mayor número disminuyendo así la expresión de erbB1. Interesantemente la expresión en las muestras que desarrollaron carcinomas bien diferenciados la expresión fue de 91.03 ± 39.14 uo/ μm^2 ; esta recuperación en la expresión de la expresión de erbB1 en las células transformadas puede ser debida al hecho de que las células transformadas no han perdido su capacidad proliferativa.

12 CONCLUSIÓN

La exposición a DMBA promovió menor peso en los animales experimentales, esto pudo ser debido a la tensión metabólica causada por la inflamación o la irritación en la bolsa de los hámsteres como resultado de la formación de tumores, cambios en el sistema inmunológico o a nivel sistémico.

Se confirmó que los HPA que se encuentran en el tabaco como el DMBA contribuyen al desarrollo y progresión tumoral.

EL receptor del factor de crecimiento epitelial o EGFR se expresa diferencialmente según el estado histológico.

La familia erbB, en particular erbB1 participa en roles fundamentales tales como la embriogénesis, diferenciación, maduración, mantenimiento, regeneración celular, tisular y orgánica. Su papel en carcinogénesis ha sido demostrado. Por lo que aproximaciones a sus aspectos moleculares y celulares son un gran campo de investigación que podría tener aplicación terapéutica futura, al incrementar el conocimiento en el área de la oncología oral.

13 REFERENCIAS

- 1 Blume JP, Hunter T. Oncogenic Kinase signaling. *Nature* 2001; 28 (suppl 16): 67–79.
- 2 Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J. Biol. Chem.* 1962; 237: 1555, 62.
- 3 Gregory GM. Factores de Crecimiento Epitelial: aspectos biológicos, patológicos y clínicos. *Salud UIS* 2005; 37: 106–121.
- 4 Smith J, Cook E, Fotheringham I. Chemical synthesis and cloning of a gene for human beta-urogastrone. *Nucleic Acid Res.* 1982; 10: 397-401.
- 5 Carpenter S, Cohen S. Epidermal Growth Factor. *Ann.Rev. Biochem.* 1979; 48: 193-216.
- 6 Tsutsumi O, Kurachi H. Oka T. A physiological role of epidermal growth factor in male reproductive function. *Science* 1986; 233: 975-7.
- 7 Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J. Biol. Chem.* 1962; 237: 1555-62.

- 8 Mathison R, Davison J. S, Befus A. D. Neuroendocrine regulation of inflammation and tissue repair by submandibular gland factors. *Immunology today* 1994; 15: 527-32.
- 9 Robbins SL. *Patología estructural y funcional* 2^a edición México D.F. 1984, editorial interamericana, 1984, Pp. 133, 156, 162–164, 167.
- 10 Choi S. and Myers J.N.; *Molecular Pathogenesis of Oral Squamous Cell Carcinoma: Implications for Therapy*; *Journal Dental Research* 2008; 87; 14.
- 11 Altuna M. Estudio por inmunohistoquímica de la expresión de EGFR en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello; *Acta otorrinolaringol España* 2005; 55; 143–146.
- 12 Portilla RJ. *Texto de Patología Oral*. 1^a edición Ed. Ateneo. Pp 35 y 36.
- 13 Sapp JP. *Patología Oral y Maxilofacial Contemporánea*. Ed. Elsevier Pp.174–185
- 14 Tood R, Chou MY, Matossian K, Gallagher GT, Donoff RB, Wong DT (1991). Cellular source of transforming growth factor –alpha in human oral cancer. *J Dent Res* 70: 917–923.
- 15 Grandis JR, Tweardy DJ (1993). Elevated levels of transforming growth factor alpha and epidermal growth factor receptor messenger RNA are early markers of carcinogenesis in head and neck cancer. *Cancer Res* 53: 3579–3584.
- 16 Quon H, Liu FF, Cummings BJ. Potential molecular prognostic markers in head and neck squamous cell carcinomas. *Head and Neck* 2001; 2:147-59.

- 17 Hunter, D. J., Hankinson, S. E., Laden, F., Colditz, G. A., Manson, J. E., Willett, W. C., Speizer, F. E., y Wolff, M. S. (1997). Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer. *N. Engl. J. Med.*, 337(18), 1253-1258.
- 18 Nurse, P., y Bissett, Y. (1981). Gene required in G1 for commitment to cell cycle and in G2 for control of mitosis in fission yeasts. *Nature*, 292, 558-560.
- 19 Minna JD. Nicotine exposure and bronchial epithelial cell nicotinic acetylcholine receptor expression in the pathogenesis of lung cancer. *J Clin Invest* 2003; 111: 31-33.
- 20 Fowles J, Dybing E. Application of toxicological risk assessment principles to the chemical constituents of cigarette smoke. *Tob Control* 2003; 13: 424-430
- 21 Hoffman D, Hoffman I, El Bayoumy K. The less harmful cigarette: a controversial issue. A tribute to Ernst L Wynder. *Chem Res Toxicol* 2001;14: 167-790.
- 22 Culp SJ, Gaylor DW, Sheldon WG, Goldstein LS, Belan FA. A comparison of the tumors induced by coal tar and benzo (a) pyrene in a two- year bioassay. *Carcinogenesis* 1998; 19: 117-124.
- 23 Bascones A. y cols. *Cáncer y Precáncer Oral*. 1ª Edición. Ediciones Avances. Madrid 2003.
- 24 De Vicente J.C. y cols. Expresión de las proteínas de los proto-oncogenes ErbB-3 y ErbB-4 en el carcinoma oral de células escamosas: estudio piloto. *Med Oral* 2003; 8: 374-81.

- 25 Fowles J, Dybing E. Application of toxicological risk assessment principles to the chemical constituents of cigarette smoke. *Tob Control* 2003; 12:424-430
- 26 World Health Organization, Tobacco Free Initiative. Oslo , Norway : WHO workshop on advancing knowledge on regulating tobacco CCO products, February 2000
- 27 World Health Organization. The world health report 2002. Reducing Risk, Promoting Healthy Life. Geneva , Switzerland , 2002
- 28 Conceicao Pereira M, Tostes Oliveira D, Landman Gilles, Paulo Kowaski L. Histologic subtypes of oral squamous cell carcinoma: prognostic relevance. www.cda-adc.ca/jcda/vol-73/issue-4/339.html
- 29 Martínez A, Carmona M, Medina E. Comportamiento del cáncer oral en los pacientes atendidos en la unidad de estomatología del hospital universitario de Cartagena entre enero 1991 y diciembre 1998. *Rev neumología*.
- 30 Zheng Sun. Chemoprevention of 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced oral carcinogenesis in hamster cheek pouch by topical application of a dual inhibitor of epidermal growth factor receptor (EGFR) and ErbB2 tyrosine kinases. Published online 2007 October 23. j.oraloncology.2007.08.006
- 31 Ning Li. Inhibition of 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced oral carcinogenesis in hamsters by tea and curcumin. *Carcinogenesis*, Vol. 23, No. 8, 1307-1313, August 2002 Oxford University.
- 32 Ya Yang. Effect of genistein on DMBA-induced oral carcinogenesis in hamster. *Carcinogenesis Advance Access* originally published online on September 29, 2005 *Carcinogenesis* 2006 27(3):578-583.

- 33 Quon H, Liu FF, Cummings BJ. Potential molecular prognostic markers in head and neck squamous cell carcinomas. *Head and Neck* 2001; 2:147-59.
- 34 Jané Salas E. y cols. Importancia de la dieta en la prevención del cáncer oral. *Med Oral* 2003; 8:260-8.
- 35 Axéll T. y cols. Oral white lesions with special referente to precancerous and tobacco-related lesions: conclusions of an internacional symposium held in Uppsala, Sweden, May 18-21 1994. *J.Oral Pathol Med* 1996; 25:49-54.
- 36 Mc Alinden RL. y cols. Bcl-2 expression in sequential biopsies of potentially malignant oral mucosal lesions assessed by immunocytochemistry. *Oral Diseases* (2000) 6, 318-26.
- 37 Departamento de salud y servicios humanos de los EE.UU., Servicio de Salud Pública. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades.
- 38 World health organization. International Agency for Research on Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 38. Tobacco Smoking. Summary of Data Reported and Evaluation. 21 April 1998.
- 39 Riese D. J. II, Stern D. F. Specificity within the EGF family/ErbB receptor family signaling network. *Bioessays* 1998; 20: 41-8.
- 40 Ford AC, Grandis JR. Targeting EGFR in HNSCC. *Head and Neck* 2003; 1:67-73.

- 41 Hoffmann T, Hafner D, Ballo H, Haas I, Bier H. Antitumor activity of anti-EGFR monoclonal antibodies and cisplatin in ten human head and neck squamous cell carcinoma cell lines. *Anticancer Res* 1997; 17:4419-25.
- 42 Robert F, Ezequiel MP, Spencer SA. Phase I study of anti-EGFR antibody cetuximab in combination with radiation therapy in patients with advanced head and neck cancer. *J Clin Oncol* 2001; 19:3234-43.
- 43 Cohen E, Rosen F, Dekker A. Phase II study of ZD1839 (Iressa) in recurrent or metastatic SCCHN. *Proceedings of ASCO* 2002; 21:95a, 377.
- 44 Lee LL, Lee JSC, Waldman SD, Casper RF, Grynepas MD. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Present in Cigarette Smoke Cause Bone Loss in an Ovariectomized Rat Model. *Elsevier Science* 2002; No. 6, Vol. 30.
- 45 Meza G G, Muñoz JJ, Paez C, Cruz LB, Aldape B. Oral cavity squamous cell carcinoma, 5 years experience in third level social assistance center, in Mexico City. *Avances de estomatología* 2009, vol 25 (1) 19-28.
- 46 Aleman NR, Sandoval L, Martinez MM, Although cancers. *Crea ciencia*. Junio 2008. 17-20.
- 47 Cuevas UM, Villasis KM, Fajardo GA. Epidemiología del cáncer en adolescentes; *Salud Pública Mexicana* 2003; 45 supl 1: 115-123.