

117

2 ej-



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

"DETECCION DE ORGANIZADORES NUCLEOLARES EN CARCINOMA EPIDERMIOIDE Y CARCINOMA BASOCELULAR"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A

GUADALUPE MARCELA RAMIREZ MACIAS

TUTORA: DRA. ELBA ROSA LEYVA HUERTA

ASESOR: DRA. ELISA VEGA MEMIJE



MEXICO, D. F.

1999

TESIS CON
FALSA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Le doy gracias a Dios por haberme concedido la gracia de tener unos padres me han heredado el tesoro más valioso que se le puede dar a una hija, sin escatimar esfuerzo alguno han sacrificado gran parte de su vida por siempre darnos lo mejor.

A mis hermanos Miguel y Laura quienes me apoyan y me alientan a ser mejor cada día.

A la Universidad Nacional Autónoma de México; Facultad de Odontología, por haberme brindado una formación profesional y haberme acogido en su casa durante tantos años.

Dra. Elba Leyva le agradezco el apoyo, cariño y empeño, demostrado a lo largo de todo este estudio, que es para mi un paso importante en mi carrera profesional.

Dra. Elisa Vega, Dra. Claudia de León, Dra. Beatriz Aldape, Dr. Teodomiro Pérez y Rubén Pérez por el apoyo brindado para la realización de esta tesis.

Dr. Víctor Moreno quién compartió sus conocimientos y su experiencia profesional durante todo este tiempo

A Jorge Ayala, por siempre contar contigo; dándome apoyo, cariño y amor en los momentos buenos y malos.

A Laura Rocha, Gabriela Hernández⁺, Angélica Senties, Arith Zarate, Rosa Sanders, Ivonne Díaz, Arisbeh García y Alejandra Zavala, por su amistad, apoyo y confianza en lo largo de esta trayectoria en la cual hemos caminado juntas.

“DETECCIÓN DE ORGANIZADORES NUCLEOLARES EN CARCINOMA EPIDERMOIDE Y CARCINOMA BASOCELULAR”

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	3
-MUCOSA BUCAL	3
• <i>HISTOLOGIA DE LA MUCOSA BUCAL</i>	4
Epitelio	
Lámina Propia	
Submucosa	
• <i>SUBDIVISIONES DE LA MUCOSA BUCAL</i>	7
Áreas queratinizadas	
Áreas no queratinizadas	
-TRANSICIÓN ENTRE LA PIEL Y LA MUCOSA	9
-PIEL	10
• <i>HISTOLOGIA DE LA PIEL</i>	11
Epidermis	
Dermis	
-CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO	15
-CARCINOMA EPIDERMOIDE	18
• Criterio de Jacobsson	21
-CARCINOMA BASOCELULAR	23
• Variantes Clínicas	24
-PROLIFERACIÓN CÉLULAR Y DIFERENCIACIÓN	25
-CICLO CELULAR	26
• Interfase	
• Mitosis	
-NUCLEOLO	29
• Estructura del Nucléolo	29
• Función del Nucléolo	30

-REGIONES DE ORGANIZADORES NUCLEOLARES	32
-REGIONES DE ORGANIZADORES NUCLEOLARES Y PROLIFERACIÓN CELULAR	35
PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA	38
JUSTIFICACIÓN	38
HIPOTESIS	39
OBJETIVO GENERAL	39
OBJETIVOS ESPECIFICOS	39
MATERIAL Y METODOS	41
RESULTADOS	44
DISCUSIÓN	59
CONCLUSIONES	62
BIBLIOGRAFIA	63
ANEXOS	70

INDICE DE FIGURAS

<i>FIGURA 1.</i> Estructuras que conforman la mucosa bucal	3
<i>FIGURA 2.</i> Células que conforman las diferentes capas de la epidermis	12
<i>FIGURA 3.</i> Localización, sexo y prevalencia de cáncer	15
<i>FIGURA 4.</i> Cascada de eventos en la patogénesis del cáncer	16
<i>FIGURA 5.</i> Secuencia de eventos del ciclo celular	28
<i>FIGURA 6.</i> Función del nucléolo en la síntesis de ARNr y subunidades ribosomales	33
<i>FIGURA 7.</i> Proliferación de células neoplásicas en el frente invasivo	37
<i>FIGURA 8.</i> Morfología del Nucléolo y ubicación de las Regiones de Organizadores Nucleolares AgNORs	43
<i>FIGURA 9.</i> Carcinoma epidermoide y carcinoma basocelular teñidos con HyE y AgNORs, 20X	53
<i>FIGURA 10.</i> Áreas de pleomorfismo celular en carcinoma epidermoide y carcinoma basocelular altamente celular teñidas con HyE y AgNORs ,40X	54
<i>FIGURA 11</i> Detección de las Regiones de Organizadores Nucleolares en cacinoma epidermoide y basocelular,100X	56

INDICE DE TABLAS

<i>TABLA 1.</i> Patogénesis del cáncer	17
<i>TABLA 2.</i> Criterios de gradificación de displasia	20
<i>TABLA 3.</i> Gradificación histológica de carcinoma epidermoide	44
<i>TABLA 4.</i> Gradificación histológica de carcinoma basocelular	47
<i>TABLA 5.</i> Conteo total de AgNORs en Ca. Epidermoide	50
<i>TABLA 6.</i> Conteo total de AgNORs en Ca. Basocelular	51
<i>TABLA 7.</i> Total AgNORs y Gradificación Jackbosson	52
EPIDERMOIDE & BASOCELULAR	
<i>TABLA 8.</i> Promedio total de Número de células, AgNORs y Sd	58
<i>TABLA 9.</i> Coeficiente de correlación de Spearman	59

RESUMEN

La cuantificación de Regiones de Organizadores Nucleolares (NORs), ha sido sugerida como un indicador indirecto de la proliferación celular, por lo cual puede contribuir junto con la gradificación de los tumores en su diagnóstico y pronóstico. En base a esto el objetivo del estudio fue evaluar la presencia de NORs en 11 carcinomas epidermoides y 11 carcinomas basocelulares, utilizando la tinción de plata coloidal descrita por Plotón en 1986 y la gradificación histológica de acuerdo a los criterios de Jackbsson.

El promedio del conteo de AgNORs al compararlo con la gradificación histológica de los tumores fue: en el carcinoma epidermoide; en los 4 casos de bajo grado de malignidad (36.36%) fue de 7.54 AgNORs; en los 4 casos de grado intermedio (36.36%) fue de 6.13 AgNORs y en los 3 casos de alto grado de malignidad (27.28%) fue de 7.27 AgNORs. En el carcinoma basocelular obtuvimos 6 casos de bajo grado de malignidad (54.54%) con un promedio de AgNORs de 3.42; 4 casos de grado intermedio (36.36%) con un promedio de AgNORs de 3.63 y 1 caso de alto grado (9.10%) con un promedio de 4.49 AgNORs.

Al comparar nuestros resultados entre el carcinoma basocelular y el carcinoma epidermoide, encontramos que el promedio de AgNORs para el basocelular fue $3.55 \text{ Sd} \pm 0.25$ y para el epidermoide fue de $6.96 \text{ Sd} \pm 0.53$ lo cual al analizarlo estadísticamente aplicando el coeficiente de correlación de Spearman tuvimos una significancia de $r_s=1.35^*$, con un nivel de confiabilidad de $p=0.05$ por lo cual el resultado fue que ambas variables; la Gradificación de Jackbsson y la Cuantificación de Organizadores Nucleolares, se correlacionan de manera positiva, es decir cuando una aumenta o disminuye en la otra sucede lo mismo.

De acuerdo con nuestros resultados podemos concluir que el número de AgNORs refleja una actividad proliferativa de los tumores, por lo cual consideramos necesario estudiar más a fondo este indicador de proliferación en estudios prospectivos.

INTRODUCCIÓN

El cáncer es una enfermedad multifactorial que resulta por la acumulación de daños a nivel genético, cuyos productos participan en procesos celulares como la proliferación, la diferenciación y la muerte celular. El mecanismo por medio del cual se controlan los índices de proliferación en los tumores malignos, es uno de los aspectos menos comprendidos dentro de la biología celular.

Los cambios morfológicos del nucléolo son características de las células malignas y muchos patólogos consideran que las alteraciones en el tamaño y la forma nucleolar representan un criterio importante para el diagnóstico de malignidad, el nucléolo frecuentemente se ha descrito que en las células malignas a diferencia de la benignas se presenta de forma irregular y proporcionalmente grande con respecto al núcleo, la relación entre el tamaño del nucléolo y la distribución de las Regiones de Organizadores Nucleolares, teñidas con Plata coloidal (AgNORs), se ha documentado en base a que los AgNORs son más numerosos y grandes en células malignas que en benignas.

El presente trabajo se realizó con el fin de estudiar la patogenia del cáncer, pero principalmente conocer la biología del cáncer en boca; por lo cual se decidió evaluar las Regiones de Organizadores Nucleolares en 2 tumores malignos de la misma estirpe celular que presentan diferente comportamiento clínico, los cuales los cirujanos dentistas debemos estar capacitados para reconocer y poder diagnosticar decidiendo estudiar el carcinoma epidermoide de boca y el carcinoma basocelular de piel; esta decisión se basó además de lo mencionado anteriormente en que son los dos tumores malignos más frecuentes en boca y tejidos extraorales como se menciona en el siguiente párrafo.

El carcinoma epidermoide bucal representa alrededor del 4% del total de cáncer en hombres y 2% en mujeres; se considera el tipo más común de cáncer bucal, representa aproximadamente 90% del cáncer en boca y la proporción del desarrollo de carcinoma epidermoide entre hombres y mujeres se ha incrementado en los últimos años en una relación 3:1 a 2:1; porque se cree que este cambio se relaciona con el aumento de mujeres fumadoras y a sus mayores expectativas de vida.

Por otra parte, el carcinoma de células basales es una neoplasia maligna epidérmica común que produce invasión local, compuesto de células semejantes a la de la capa basal epidérmica, siendo el cáncer cutáneo menos maligno y de mejor pronóstico de todos; el sitio más común es la piel de la cara particularmente en la región del pliegue nasolabial y alrededor de la boca. No existiendo evidencias de que esta neoplasia maligna pueda desarrollarse dentro de la cavidad bucal.

ANTECEDENTES

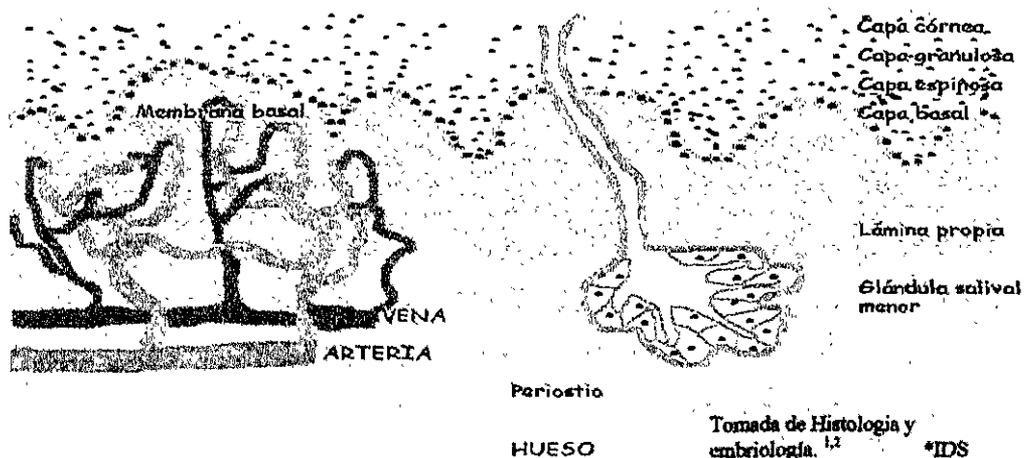
MUCOSA BUCAL

La cavidad bucal como primera parte del tubo digestivo es entrada y el sitio de la masticación de los alimentos; contiene el sentido del gusto, la saliva secretada hacia ella no solamente lubrica el alimento para facilitar la deglución, sino contiene también enzimas que inician la digestión; está limitada en todas sus partes por una membrana mucosa, este termino designa el revestimiento de las cavidades que comunican con el exterior.^{1,2}

La estructura morfológica de la mucosa varía en las diferentes áreas de la cavidad bucal en relación con las funciones de zonas específicas y las influencias mecánicas que actúan sobre ella. Por ejemplo, alrededor de los dientes y en el paladar duro, la mucosa está expuesta a fuerzas mecánicas durante la masticación, mientras que el piso de la boca está protegido por la lengua, esta es la razón del porqué la mucosa alrededor de los dientes y en el paladar duro difiere en estructura de la del piso de la boca, carrillos y los labios.^{1,2}

La mucosa está adherida a las estructuras subyacentes mediante una capa de tejido conjuntivo; la submucosa cuyo carácter también varía en las diferentes zonas. La mucosa bucal está formada por dos capas, la lámina propia y el epitelio superficial; la lámina propia está separada del epitelio escamoso estratificado por una membrana basal como se muestra en la *figura 1*.^{1,2}

figura 1. Estructuras que conforman la mucosa bucal



La cavidad bucal se puede dividir en dos partes: el *vestibulum oris* (vestíbulo) y el *cavum oris proprium* (cavidad bucal propia); el vestíbulo es la parte de la cavidad bucal limitada por los labios y las mejillas en la parte externa por los dientes y las apófisis alveolares en la interna; la cavidad bucal propia se encuentra dentro de los arcos dentales y los huesos maxilares, estando limitada hacia la faringe por los pilares anteriores de las fauces o arcos glosopalatinos.^{1,2}

HISTOLOGÍA DE LA MUCOSA BUCAL

Epitelio

Lámina propia

Submucosa

Epitelio.- El epitelio de la mucosa bucal es de tipo pavimentoso o escamoso estratificado, puede ser queratinizado, paraqueratinizado y no queratinizado, según su localización. En el humano el epitelio de la encía y de la bóveda palatina (mucosa masticatoria) es queratinizado, aun cuando en muchos individuos el epitelio gingival es paraqueratinizado; los epitelios de los carrillos, del istmo de las fauces y sublingual son normalmente no queratinizados.¹⁻³

El epitelio bucal queratinizado tiene cuatro capas o estratos celulares: basal, espinoso, granuloso y córneo, tomando estos nombres de su aspecto morfológico.¹⁻³

Toda célula del epitelio estratificado migra, desde la profundidad hasta la superficie, después de sufrir división mitótica puede permanecer en la capa basal y dividirse nuevamente o puede emigrar o ser desplazada hacia arriba. Durante su migración se transforma en una célula especializada que experimenta cambios bioquímicos y morfológicos a queratinocito. Cuando un queratinocito penetra al estrato córneo, se convierte en una escama queratinizada, la que después de llegar a la superficie se descama y cae al medio bucal, para que el tejido permanezca con espesor constante, debe formarse una célula en la capa basal por cada célula descamada o perdida en la superficie.¹⁻³

La capa basal esta formada por células que sintetizan ADN y experimentan mitosis, proporcionando así nuevas células. La mayoría de las células nuevas son generadas en la capa basal; pueden verse algunas figuras mitóticas en las células espinosas inmediatamente adyacentes a la capa basal. Por lo tanto, las células basales y las células espinosas parabasales se denominan estrato germinativo.¹⁻³

Las células basales forman una capa única de células cúbicas o cúbicas altas, con prolongaciones protoplasmáticas que se proyectan desde su superficie basal hacia el tejido conectivo. En la superficie basal se encuentran estructuras especializadas denominadas hemidesmosomas, que terminan en la lámina basal; están formadas por una placa de inserción, la membrana plasmática adyacente y una estructura extracelular asociada que parece adherir el epitelio al tejido conectivo; la lámina basal está compuesta por una zona clara (lámina lúcida) que se encuentra debajo de las células epiteliales y una zona oscura (lámina densa) más allá de la lámina lúcida y adyacente al tejido conectivo, los bordes laterales de las células basales adyacentes se hallan en íntima aposición y conectados por desmosomas.¹⁻³

Las células espinosas son de forma poliédrica, irregular y más grandes que las células basales; cuando se observan al microscopio óptico parece que las células están unidas por "puentes intercelulares", las tonofibrillas van de una célula a otra; se han demostrado que los puentes intercelulares son desmosomas y las tonofibrillas son haces de tonofilamentos; la red de tonofilamentos y los desmosomas forman un sistema de sostén tensil para el epitelio. Los espacios intercelulares de las células espinosas en los epitelios queratinizados son más grandes o están distendidos, por eso los desmosomas son más prominentes y estas células adquieren un aspecto espinoso. Las células espinosas semejan poliedros, cuyas puntas terminan en un desmosoma; de las cuatro capas, la de las células espinosas es la más activa en la síntesis de proteínas.¹⁻³

Las células granulosas son más aplanadas y más anchas, estas células tienen mayor tamaño que las células espinosas, se denominan así por los gránulos de queratohialina basófila que contiene. Los núcleos muestran signos de degeneración y picnosis; los tonofilamentos son más densos en cantidad y se ven a menudo asociados con gránulos de queratohialina. Las superficies celulares se tornan más regulares y están unidas más íntimamente a las superficies celulares adyacentes. La unidad interna de la membrana celular aumenta de grosor; la membrana engrosada contiene proteínas ricas en azufre, estabilizadas por enlaces transversales covalentes formando así una estructura muy resistente.

El estrato corneo está formado por escamas queratinizadas que son más planas que las células granulosas, aquí todos los núcleos y otros organelos como ribosomas y mitocondrias han desaparecido; los gránulos de queratohialina también han desaparecido. Las células de la capa cornificada están compuestas por filamentos agrupados en forma compacta que se forman a partir de los tonofilamentos alterados y recubiertos por la proteína básica del gránulo de queratohialina.

Los gránulos de queratohialina contienen, dos tipos de proteína como mínimo; una proteína es rica en azufre que puede desempeñar algún papel en el engrosamiento de la unidad interna de la membrana celular, la otra proteína es rica en el aminoácido histidina.¹⁻³

Lámina propia.- Tejido conectivo de espesor variable que confiere sostén y nutrición al epitelio, está dividida en dos partes: papilar y reticular. La porción papilar se denomina así por las papilas coriales que posee y la reticular por las fibras reticulares que contiene. Dado que existen considerables variaciones de longitud y ancho de las papilas en diferentes regiones, también la porción papilar tiene una profundidad variable; una parte de la lámina propia subyacente a la membrana basal puede ser diferenciada del tejido conectivo porque tiene la propiedad de captar más intensamente la coloración argéntica (argirofilia). Las finas fibras de colágeno inmaduro que son argirófilas y tienen una organización de enrejado se denominan "de reticulina". Esta porción lo mismo que la porción papilar contiene fibras reticulares; las dos porciones no están separadas forman un continuo, pero se utiliza para describir esta región de diferentes maneras, siempre existe la zona reticular, mientras que la zona papilar puede faltar en algunas áreas tales como la mucosa alveolar, cuando las papilas son muy cortas o no existen en absoluto.¹⁻³

La disposición entrelazada de las papilas del tejido conectivo y las crestas epiteliales, aun las ondulaciones y proyecciones más finas que se encuentran en la base de cada célula epitelial, aumentan el área de contacto entre la lámina propia y el epitelio; este incremento de superficie facilita el intercambio de materiales entre el epitelio y los vasos sanguíneos del tejido conectivo.¹⁻³

La lámina propia puede adherirse al periostio del hueso alveolar o recubrir la submucosa, que es variable en diferentes regiones de la cavidad bucal como el velo del paladar o el piso de la boca.¹⁻³

Submucosa.- Está constituida por tejido conectivo de espesor y densidad variables, adhiere la membrana mucosa a las estructuras subyacentes; esta inserción es laxa o firme según el carácter de la submucosa. En esta capa se encuentran glándulas, vasos sanguíneos, nervios así como tejido adiposo.¹⁻³ En la submucosa es donde las grandes arterias se dividen en ramas más pequeñas que penetran en la lámina propia, aquí vuelven a dividirse para formar una red capilar subepitelial; las venas que se originan en la red capilar retornan siguiendo el recorrido descrito por las arterias, los vasos sanguíneos están acompañados por una abundante red de vasos linfáticos. Los nervios sensitivos de la membrana mucosa suelen estar más concentrados hacia la parte anterior de la boca (rugas palatinas, punta de la lengua, etc.).

Las fibras nerviosas son mielínicas cuando atraviesan la submucosa, pero pierden su vaina de mielina antes de dividirse en sus arborizaciones terminales; en las papilas se encuentran terminaciones nerviosas sensitivas (Corpúsculo táctil de Meissner). Algunas de las fibras penetran en el epitelio donde terminan entre las células epiteliales como terminaciones nerviosas libres; los vasos sanguíneos están acompañados por fibras nerviosas autónomas amielíticas que inervan a sus músculos lisos. Otras fibras del mismo tipo van a inervar a las glándulas; la submucosa falta donde el corion está fijamente adherido a estructuras óseas subyacentes.^{1,2}

SUBDIVISIONES DE LA MUCOSA BUCAL

La mucosa bucal se ha dividido en:

Áreas Queratinizadas: Mucosa masticatoria

Borde rojo o libre del labio^{1-3,6}

El epitelio estratificado queratinizado puede presentarse como: Hiperortoqueratosis, por la alteración histológica en el espesor de la capa ortoqueratósica siendo mayor del que se puede ver normalmente en un determinado sitio anatómico; en la ortoqueratosis las capas celulares externas del epitelio suelen formar una capa acidófila homogénea, excenta de núcleos siempre existe el estrato granuloso.⁵

Hiperparaqueratosis, se emplea para designar la alteración histológica en que el espesor de la capa paraqueratósica es mayor del que se suele ver normalmente en un área dada, en la paraqueratosis las células de la capa externa del epitelio son acidófilas, aplanadas y contienen núcleos picnóticos, en la paraqueratosis es raro que exista estrato granuloso.⁷

Áreas no Queratinizadas: Mucosa de revestimiento

Mucosa especializada^{1-3,6}

ÁREAS QUERATINIZADAS

Mucosa masticatoria.- Tiene un color rosado, es queratinizada y está integrada por la encía y bóveda palatina, tienen similitudes en grosor y queratinización del epitelio; en espesor, densidad y firmeza de inserción a la lámina propia. La membrana mucosa de la bóveda palatina está fija firmemente al periostio subyacente y no tiene movilidad, lo mismo que la encía, tienen un color rosado. El epitelio es uniforme bien queratinizado; la lámina propia y el tejido conectivo denso, son más gruesos en las partes anteriores del paladar que en las partes posteriores y presenta numerosas papilas coriales largas.^{1,2}

Borde rojo o libre del labio.- La zona de transición entre la piel y la membrana mucosa del labio es la zona roja, únicamente se encuentra en el humano; el límite entre la zona roja y la membrana mucosa interna del labio se encuentra donde termina la queratinización de la zona de transición, el epitelio de la membrana mucosa del labio no es queratinizado.¹⁻³

ÁREAS NO QUERATINIZADAS

Mucosa de revestimiento.- Se encuentra en el labio interno, los carrillos, el fórnix vestibular y la mucosa alveolar, todas las zonas de la mucosa de revestimiento se caracterizan por un epitelio no queratinizado relativamente grueso y una lámina propia delgada, sus zonas varían entre sí por la estructura de su submucosa; donde hace flexión en los labios, los carrillos y la lengua hacia el hueso alveolar, la submucosa tiene una textura laxa. La mucosa de flexión que se encuentra en el fórnix vestibular y en el surco sublingual del piso de la cavidad bucal tiene una submucosa laxa y de volumen considerable, la membrana mucosa está adherida a las estructuras profundas y no limita el movimiento de los labios, mejillas y lengua.¹⁻³

En los sitios donde la mucosa de revestimiento cubre al músculo, como ocurre en los labios, carrillos y piso de boca; la mucosa está fija a la aponeurosis y en estas regiones es muy depresible.¹⁻³

Mucosa especializada (Mucosa lingual dorsal).- La superficie de la lengua es áspera e irregular, una línea en forma de V la divide en una parte anterior o cuerpo y una parte posterior, o base. La primera comprende aproximadamente dos tercios de la longitud del órgano y la última forma el tercio posterior.¹⁻³

El cuerpo y la base de la lengua difieren en cuanto a la estructura de la membrana mucosa, en la porción papilar o parte anterior se encuentran numerosas papilas en forma de cono o agudas que le dan un aspecto aterciopelado y una porción linfática a la parte posterior de la mucosa dorsolingual; en la parte anterior se encuentran proyecciones llamadas papilas filiformes, que son estructuras epiteliales que contienen un centro de tejido conectivo del cual sobresalen hacia el epitelio las papilas secundarias, el epitelio que las recubre es queratinizado y forma penachos en el ápice de la papila dérmica, las papilas filiformes no contienen botones gustativos.¹⁻³

Entremezcladas entre las papilas filiformes se encuentran las papilas fungiformes que son prominencias redondas y rojizas; las papilas fungiformes contienen de uno a tres botones gustativos que únicamente se encuentran en su superficie dorsal. Por delante del surco terminal divisorio en forma de V, entre el cuerpo y la raíz de la lengua, se encuentran de ocho a diez papilas calciformes o circunvaladas; en la superficie lateral de las papilas circunvaladas, el epitelio contiene numerosos botones gustativos.¹⁻³

TRANSICIÓN ENTRE LA PIEL Y LA MUCOSA

La zona de transición entre la piel que cubre la superficie externa del labio (zona roja o borde bermellón del labio) y la mucosa verdadera que cubre la superficie interna; es característico del hombre. La piel del labio está cubierta por epitelio cornificado, de espesor moderado cuyas papilas del tejido conjuntivo son escasas y cortas; se encuentran muchas glándulas sebáceas, en relación con los folículos pilosos y entre ellas hay glándulas sudoríparas. La epidermis es un epitelio escamoso estratificado cornificado, con una capa gruesa de queratina, la región transicional se caracteriza por numerosas papilas largas, dispuestas densamente en la lámina propia, que llegan profundamente al epitelio y portan asas capilares grandes cerca de la superficie. De este modo se ve la sangre a través de las porciones delgadas del epitelio translúcido que cubre a las papilas y de ahí el color rojo de los labios.^{1,2}

El límite que hay entre la zona roja del labio y la mucosa, se encuentra donde termina la cornificación de la zona transicional, el epitelio de la mucosa interna del labio no es cornificado.^{1,2}

Mucosa especializada (Mucosa lingual dorsal).- La superficie de la lengua es áspera e irregular, una línea en forma de V la divide en una parte anterior o cuerpo y una parte posterior, o base. La primera comprende aproximadamente dos tercios de la longitud del órgano y la última forma el tercio posterior.¹⁻³

El cuerpo y la base de la lengua difieren en cuanto a la estructura de la membrana mucosa, en la porción papilar o parte anterior se encuentran numerosas papilas en forma de cono o agudas que le dan un aspecto aterciopelado y una porción linfática a la parte posterior de la mucosa dorsolingual; en la parte anterior se encuentran proyecciones llamadas papilas filiformes, que son estructuras epiteliales que contienen un centro de tejido conectivo del cual sobresalen hacia el epitelio las papilas secundarias, el epitelio que las recubre es queratinizado y forma penachos en el ápice de la papila dérmica, las papilas filiformes no contienen botones gustativos.¹⁻³

Entremezcladas entre las papilas filiformes se encuentran las papilas fungiformes que son prominencias redondas y rojizas; las papilas fungiformes contienen de uno a tres botones gustativos que únicamente se encuentran en su superficie dorsal. Por delante del surco terminal divisorio en forma de V, entre el cuerpo y la raíz de la lengua, se encuentran de ocho a diez papilas calciformes o circunvaladas; en la superficie lateral de las papilas circunvaladas, el epitelio contiene numerosos botones gustativos.¹⁻³

TRANSICIÓN ENTRE LA PIEL Y LA MUCOSA

La zona de transición entre la piel que cubre la superficie externa del labio (zona roja o borde bermellón del labio) y la mucosa verdadera que cubre la superficie interna; es característico del hombre. La piel del labio está cubierta por epitelio cornificado, de espesor moderado cuyas papilas del tejido conjuntivo son escasas y cortas; se encuentran muchas glándulas sebáceas, en relación con los folículos pilosos y entre ellas hay glándulas sudoríparas. La epidermis es un epitelio escamoso estratificado cornificado, con una capa gruesa de queratina, la región transicional se caracteriza por numerosas papilas largas, dispuestas densamente en la lámina propia, que llegan profundamente al epitelio y portan asas capilares grandes cerca de la superficie. De este modo se ve la sangre a través de las porciones delgadas del epitelio translúcido que cubre a las papilas y de ahí el color rojo de los labios.^{1,2}

El límite que hay entre la zona roja del labio y la mucosa, se encuentra donde termina la cornificación de la zona transicional, el epitelio de la mucosa interna del labio no es cornificado.^{1,2}

PIEL

La piel es el revestimiento externo del organismo, forma la barrera que lo separa del medio ambiente, constituye un eficaz órgano de protección biológica e interviene en tres mecanismos fisiológicos esenciales: la regulación del volumen de sangre circulante, la hidratación y la temperatura. Es además, el más fino receptor de percepciones externas, tales como la temperatura, las sensaciones táctiles y el dolor, posee funciones de secreción sebácea y sudor para que permitan excretar algunos desechos.^{4,5}

Es el órgano más grande de nuestro cuerpo; en un adulto tiene una superficie de 1.70 m² pesa casi tres kilogramos, normalmente la piel no tiene ningún sitio de más de 5 mm de grosor, pero proporciona al cuerpo una barrera fuerte y flexible, que lo protege contra enfermedades, lesiones y pérdida de agua de los tejidos internos húmedos.^{4,5}

Las características de la piel humana varían de acuerdo a la zona, la edad, el sexo, la complexión y la raza; de acuerdo a esto serán diferentes las dimensiones de la piel, el número de glándulas sebáceas, sudoríparas, el grado de vascularización, la textura y la inervación.^{4,5} Como se mencionó en párrafos anteriores, su función es de secreción y excreción.

Secreción. El sebo, producto de las glándulas sebáceas, interviene en la lubricación de la piel y formación del manto ácido el cual tiene propiedades fungicidas y germicidas, esta función tiene variaciones según la edad, el sexo y sobre todo bajo la acción de andrógenos que estimulan esta función, en cambio no tienen influencia ni los factores nerviosos (las glándulas sebáceas no tienen inervación neurovegetativa) ni las grasas de la alimentación que no incrementan la producción del sebo por las glándulas.^{4,5}

Sudor. Las glándulas sudoríparas producen grandes cantidades de sudor cuando el cuerpo se sobrecalienta; en sí no es el sudor el que baja la temperatura corporal, el enfriamiento se da cuando el sudor se evapora.^{4,5}

Excreción. El sudor también actúa como excreción ya que por medio de él se elimina urea y creatinina, también se eliminan sustancias que se encuentran en la circulación, como la tiamina o inclusive sustancias provenientes de los alimentos, por medio del sudor se eliminan también grandes cantidades de sodio y potasio.^{4,5}

Sensibilidad. El dolor es percibido por las terminaciones nerviosas libres junto con el frío, el calor y tacto grueso, estas sensaciones pueden confundirse ya que estas terminaciones nerviosas libres no son específicas para cada sensación.^{4,5} El tacto es captado por receptores táctiles especializados denominados: corpúsculos de Meissner, los cuales se encuentran en las puntas de los dedos y en los labios, permite diferenciar con mucha precisión detalles finos.

Precisión: Es captada por los corpúsculos de Paccini, se encuentra en la profundidad de los tejidos, reaccionan a la presión, estiramiento o cualquier deformación tisular rápida la señal transmitida dura una pequeña fracción de segundo.^{4,5}

Temperatura: Es captada por las terminaciones nerviosas libres, cuando una persona pierde la sensibilidad a la temperatura se producen daños no sólo en la piel sino también en los tejidos subyacentes; de la piel parten a través de terminaciones termosensibles reflejos rumbo al hipotálamo para regular la temperatura.^{4,5} La sensibilidad a la temperatura así como al tacto, presión y dolor son punto de partida que conducen a la protección.

Protección. La piel es una barrera que protege al individuo contra las agresiones externas por sus cualidades de: elasticidad, cohesión, integridad y propiedades eléctricas; debido al manto ácido que la cubre y que impide el desarrollo de hongos y bacterias, por su flora normal que impide el desarrollo de microorganismos patógenos. No se puede vivir con una piel afectada en un 60% como sucede en las quemaduras, no se ha logrado encontrar un sustituto de la piel que tenga un mínimo de sus funciones, es por ahora un órgano insustituible.^{4,5}

HISTOLOGÍA DE LA PIEL

La piel está formada por dos capas principalmente: la epidermis y la dermis; la epidermis es una capa delgada de epitelio escamoso estratificado cuyo grosor varía de 0.04 mm en los párpados a 1.6 mm en las palmas.¹²

CAPAS DE LA EPIDERMIS

La epidermis presenta cinco capas denominadas según el grado de maduración alcanzada por sus queratinocitos, como se observa en la *figura 2*.^{6,8-11}

1.-Estrato Germinativo o Basal.- Es la capa más profunda de la epidermis, que consiste en una capa única de células columnares bajas, donde se producen los queratinocitos nuevos, por lo tanto se pueden encontrar en esta capa figuras mitóticas. Las células de esta capa están unidas a la membrana basal subyacente que fija la epidermis con la dermis por hemidesmosomas, también están unidas fuertemente entre ellas y con las células subyacentes del estrato espinoso por numerosos desmosomas.^{6,8-11}

2.- Estrato Espinoso.- El estrato espinoso, a diferencia del estrato germinativo tiene varias células de grosor; al microscopio de luz sus células poliédricas se observan comúnmente como si estuvieran unidas por procesos semejantes a espinas, por lo que algunas veces se les denomina células espinosas. Al

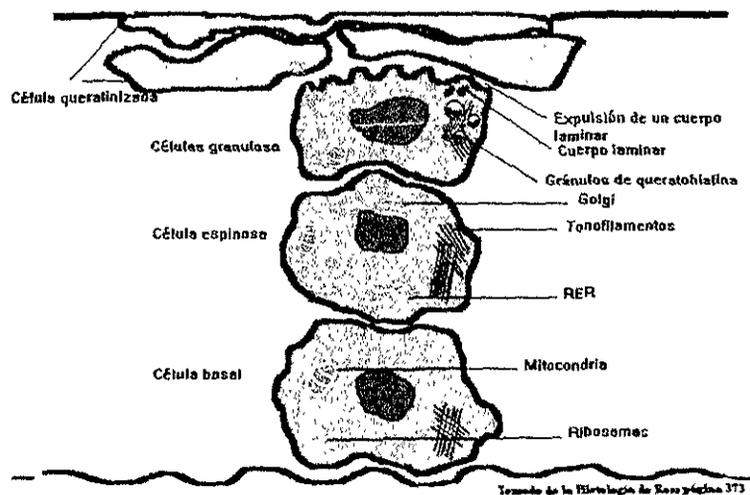
microscopio electrónico se puede apreciar que cada espina representa el sitio donde un desmosoma une las membranas celulares contiguas, los haces de tonofilamentos que semejan cables se encuentran anclados a las placas de desmosomas, distribuyendo las fuerzas de tensión por toda la célula; estos haces de filamentos aludidos a menudo como tonofibrillas, son apenas visibles al microscopio electrónico. Los tonofilamentos de estas células representan un tipo de filamentos intermedios, conformados en su mayor parte por un grupo de proteínas denominadas prequeratina.^{6,8-11}

3.- Estrato Granuloso.- Tiene sólo unas cuantas células de grosor que consisten en células aplanadas que contienen gránulos basófilos característicos conocidos como gránulos de queratohialina, estos gránulos se consideran que representan la fuente del componente de proteína amorfa de la queratina blanda, la conformación de la queratina característica de la piel.^{6,8-11}

4.- Estrato Lúcido.- Tiene el aspecto de una capa transparente apenas superficial al estrato granuloso, el estrato lúcido es una capa casi clara de la epidermis y no siempre se aprecia en los cortes de rutina, estas células empacadas en forma compacta, están muertas, con sus núcleos en proceso de cariólisis.^{6,8-11}

5.-Estrato Córneo.- Cuando los queratinocitos llegan al estrato córneo, los gránulos de queratohialina y los núcleos han desaparecido; las células se han transformado en escamas aplanadas compuestas casi enteramente de queratina, y permanecen adheridas una a otra y al resto de la epidermis mediante los desmosomas.^{6,8-11}

Figura 2. Células que conforman las diferentes capas de la epidermis



La epidermis está constituida por cuatro tipos de células: queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans y células de Merckel.^{6,8-12}

Queratinocitos

Los queratinocitos son las células más abundantes de la epidermis, son células que queratinizan y forman una barrera contra el agua; la transformación de la célula del estrato granuloso en una célula queratinizada comprende la degradación del núcleo, otros organelos y el engrosamiento de la membrana plasmática. En el estrato corneo se produce descamación regulada de las células queratinizadas superficiales; este proceso ocurre en aquellas células del estrato córneo que han acumulado fosfatasa ácida, se cree que esta enzima hidrolítica participa en la exfoliación de las células queratinizadas.^{6,8-11}

Al mismo tiempo que los queratinocitos producen queratina, también sintetizan un glucolípido que actúa como barrera contra el agua, este glucolípido se almacena en la célula dentro de los cuerpos laminares (o gránulos de revestimiento de la membrana), que están rodeados de membrana. Los cuerpos laminares son producidos por un mecanismo intracelular, en el que interviene el aparato de Golgi y luego secretados en el espacio intracelular por las células del estrato granuloso, el glucolípido se difunde para llenar el espacio intracelular y formar una barrera contra el agua.^{6,8-11}

Melanocitos

El color de la piel se debe a un pigmento en la epidermis, el principal pigmento es la melanina sintetizada por los melanocitos, estas son células redondeadas con largas prolongaciones dendríticas localizadas primariamente en el estrato basal. Los melanocitos no forman desmosomas con los queratinocitos vecinos y sus múltiples prolongaciones se extienden a través de los dos estratos más profundos de la epidermis.^{6,8-11}

Los melanocitos producen melanina mediante un proceso que comprende la transformación de tirosina en 3,4- dihidroxifenilalanina (DOPA) por acción de la enzima tirosinasa y la transformación de la DOPA en melanina (melanización melanosómica). El proceso de formación ocurre en corpúsculos limitados por membranas llamadas melanosomas, que derivan del aparato de Golgi; los melanosomas maduros son transferidos a los queratinocitos por las prolongaciones de los melanocitos, este tipo de transferencia intercelular ha recibido el nombre de secreción citocrina. En la raza blanca la melanina es degradada por actividad lisosómica de los queratinocitos, mientras que en la raza negra los melanosomas son más estables.^{6,8-11}

Célula de Langerhans

Las células de Langerhans se localizan en el estrato espinoso están provistas de prolongaciones dendríticas que semejan al melanocito, esta cumple una importante función en las respuestas inmunes, dado que se encarga de presentar antígenos al linfocito T. Como presentadora de antígenos, la célula de Langerhans participa en la iniciación de las reacciones de hipersensibilidad cutánea por contacto, es muy probable que esta célula derive del ectomesénquima y se ha incluido a la lista de células del sistema fagocítico mononuclear.^{6,8-11}

Célula de Merkel

La célula de Merkel es una célula epidérmica modificada que se encuentra en el estrato basal, entra en contacto con las células vecinas de la epidermis a través de desmosomas; contiene gran cantidad de pequeños gránulos densos que se consideran emparentados con los gránulos de catecolaminas del tejido nervioso. La base de la célula de Merkel está en contacto con una terminación axónica expandida a manera de disco y forma un receptor especial, por sus características funcionales se clasifica como mecanoreceptor.^{6,8-11}

DERMIS

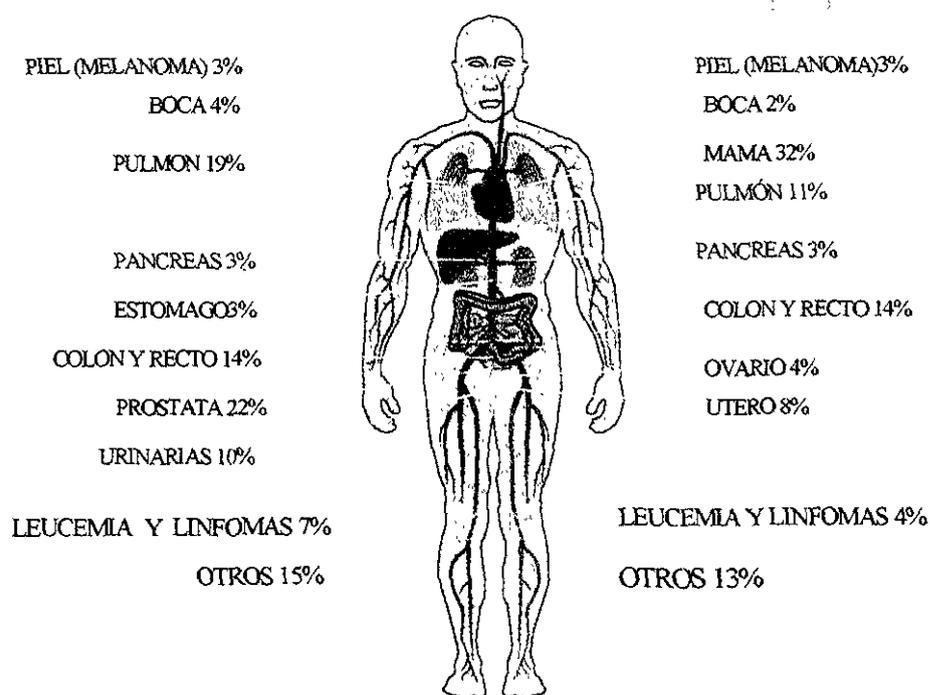
La dermis está compuesta por tejido fibroelástico, el cual contiene unidades ecrinas, apocrinas y pilosebáceas; vasos sanguíneos, linfáticos, músculos y nervios, esta capa es 15 a 40 veces más gruesa que la epidermis según su localización; se divide convencionalmente en dermis papilar y dermis reticular, esta última se extiende de la base de la dermis papilar hasta el tejido celular subcutáneo. En el cuerpo humano las glándulas sudoríparas apocrinas se encuentran en axila, areola, monte púbico, labios menores, prepucio, escroto, áreas circunanal, periumbilical y en párpados; también se pueden encontrar en cara, cuero cabelludo y en hamartomas epiteliales como nevos sebáceos. Las glándulas sudoríparas ecrinas derivan de la epidermis superficial, son independientes de los folículos pilosos, atraviesan la dermis y descienden a lo largo de ésta hasta el tejido celular subcutáneo, están presentes en toda la piel excepto en la unión mucocutánea.^{6,8,9,12}

CÁNCER DE CABEZA Y CUELLO

El cáncer es una enfermedad que resulta fundamentalmente de la acumulación de daños en genes cuyos productos participan en procesos celulares como la proliferación, la diferenciación y la muerte celular. Estos genes pueden dividirse en dos clases: los oncogenes, que estimulan la progresión celular a través del ciclo y los genes supresores de tumores, que son en general reguladores negativos de la proliferación e inducen la diferenciación.¹³

El cáncer es la segunda causa de muerte después de las enfermedades cardiovasculares, en la *figura 3* se muestran las localizaciones comunes del cáncer en el humano por sexo y prevalencia.^{14,15}

figura 3. Localización, sexo y prevalencia de cáncer.



Una célula maligna carece de inhibiciones biológicas normales, para ella el organismo no es más que un medio de cultivo en la cual puede vivir; las células normales están estrechamente reguladas por mecanismos de control que las hacen dividirse cuando es necesario e impiden que crezcan y se dividan en momentos inapropiados. Las células neoplásicas malignas han escapado a tales controles y pueden dividirse de manera continua, como consecuencia de su patrón anormal de reproducción algunas células neoplásicas malignas llegan a formar una masa de tejido denominado tumor. Uno de los principales problemas con ciertas formas de cáncer es que las células pueden escapar a los controles que las mantienen en su ubicación original provocando la invasión a distancia.¹⁶

En la *tabla 1* se describe la Patogénesis del cáncer, así como los mecanismos involucrados y en la *figura 4* se muestra la cascada de eventos.

Se consideran tumores malignos de cabeza y cuello a aquellos que se originan primariamente en el tracto aerodigestivo superior, cavidades, glándulas anexas y órganos de la audición. Se excluyen de estas consideraciones las neoplasias oftalmológicas y primarias de la órbita, las del SNC, los linfomas, los sarcomas, las neoplasias no melánicas de piel y los melanomas originados en cualquiera de las regiones que anatómicamente pertenecen a la cabeza y al cuello.¹⁷

La mayoría de los tumores de cabeza y cuello son carcinomas epidermoides que se presentan en la quinta y sexta década de la vida; se ha identificado una serie de factores etiológicos entre los que destacan el tabaco y el alcohol, siendo clasificados como factores de riesgo en tumores de la cavidad bucal, la faringe y la laringe.¹⁷

figura 4. Cascada de eventos en la patogénesis del cáncer

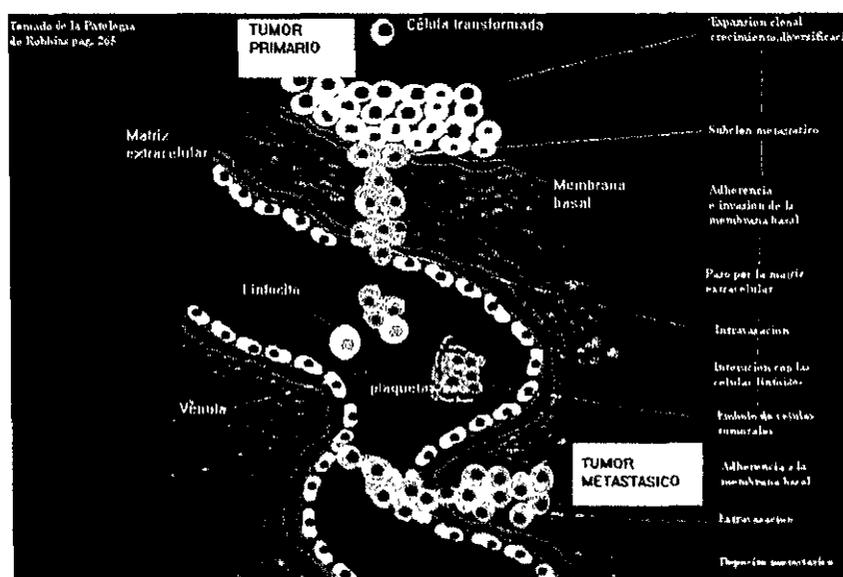


tabla 1. Patogénesis del Cáncer

CASCADA DE EVENTOS	MECANISMOS INVOLUCRADOS
1. INICIACIÓN	Daño carcinogenico, activación de oncogeno o depresión y reacomodo cromosomico.
2. PROMOCIÓN Y PROGRESIÓN	Cariotipo, genética y inestabilidad epigenetica, amplificación genética; promoción-asociación a genes y hormonas.
3. PROLIFERACIÓN INCONTROLABLE	Factores de crecimiento autocrino o de sus receptores, receptores de sus hormonas tales como estrógeno.
4. ANGIOGENESIS	Factores múltiples de angiogenesis, incluyendo factores de crecimiento.
5. INVASIÓN DE TEJIDO, VASOS LINFÁTICOS Y SANGUÍNEOS	Quimioatrayente del suero, Factores motilatorios autocrinos, receptores de ataque y enzimas degradativas.
6. EXTRAVASACIÓN DE CELULAS TUMORALES EN CIRCULACIÓN	Células tumorales homotípicas y agregación heterotípicas.
A. Adherencia al endotelio	Interacción de células tumorales con fibrina, plaquetas, factores de coagulación; adhesión a los tipos de receptores RGD.
B. Retracción del endotelio	Factores plaquetarios y factores de células tumorales.
C. Adhesión a la membrana basal	Receptores de la laminina y receptores trombosicos
D. Disolución de membrana basal	Proteasa degradativa, colagenasa tipo IV, heparanasa, catepsinas.
E. Locomoción	Factores motilatorios autocrinos, factores quimiotaxicos.
7. FORMACIÓN DE COLONIAS EN SITIOS SECUNDARIOS	Factores de crecimiento en receptores locales, factores angiogenesicos.
8. EVASIÓN DE DEFENSAS Y RESISTENCIA A LA TERAPIA	Resistencia a: macrofagos, células NK y células T activadas.

Tomado de Molecular Diagnostics in Pathologic.¹⁸

CARCINOMA EPIDERMOIDE

Sinónimos: Carcinoma de células escamosas y carcinoma espinocelular.⁴²

Carcinoma epidermoide es una neoplasia epitelial maligna. La cavidad bucal es un sitio fácil de examinar y accesible a la biopsia, el pronóstico del cáncer bucal depende del sitio involucrado, el tiempo de evolución y un buen diagnóstico en etapa temprana.^{14,15,19,20}

El carcinoma epidermoide bucal representan alrededor del 4% del total de cáncer en hombre y 2% en mujeres; se considera el tipo más común de cáncer bucal, se presenta en un 90% con respecto a los diferentes tipos de cáncer.^{12,14,15,19}

La prevalencia de tumores malignos en cavidad bucal de diferente estirpe celular es: 90% carcinoma epidermoide; 5% adenocarcinoma; 4% sarcomas y 1% neoplasias metastásicas.^{14,20}

EPIDEMIOLOGÍA.- La proporción del desarrollo de carcinoma epidermoide entre hombres y mujeres se ha incrementado en los últimos años en una relación 3:1 a 2:1; porque se cree que este cambio se relaciona con el aumento de mujeres fumadoras y a sus mayores expectativas de vida. Más del 95% de cáncer en boca ocurre en personas mayores de 40 años, siendo la lengua el sitio más común de cáncer intrabucal en hombre y mujeres.

La localización y porcentaje en boca es:^{14,20-22}

Lengua 30%	Piso de boca 23%
Orofaringe 27%	Mucosa bucal 5%
Encía 8%	Labios 3%
Paladar duro 3%	

PATOGENIA.- Dentro de los mecanismos de carcinogénesis se reconocen dos fases o periodos; un periodo de iniciación en el que actúan los factores de transformación neoplásica y un periodo de promoción, en el que se posibilita que el tipo celular transformado entre en una situación de crecimiento celular transformado.^{14,15,19}

ETIOLOGÍA.- La carcinogénesis del carcinoma epidermoide es un proceso complejo de etiología multifactorial que involucra muchos factores tales como sexo, edad, raza y factores genéticos; pero tradicionalmente atribuida al uso del tabaco y el alcohol.²³

Por lo que estos últimos son los factores más importantes que se conocen asociados al desarrollo de cáncer en boca.^{14,15,19,21,24-32} Otros factores que también son considerados son: irritación por dientes o prótesis y ciertos virus.²¹

ASPECTOS CLÍNICOS.- El carcinoma epidermoide en etapa temprana es por lo general asintomático; clínicamente se puede manifestar como: ulceración o erosión, leucoplasia, eritroplasia, induración, fijación, linfadenopatía y Cronicidad.^{14,15,19} El carcinoma epidermoide en estadio avanzado puede presentarse bajo tres formas clínicas:

1. Tipo exofítico, con crecimiento de forma vegetante, hacia fuera, observándose una tumoración de superficie irregular y dura a la palpación.
2. Tipo endofítico, que corresponde a la úlcera neoplásica, la cual se caracteriza por tener forma irregular, con bordes evertidos y fondo sucio. A la palpación se percibe dureza y sensación de infiltración en los tejidos profundos.
3. Tipo mixto, en el que aparecen asociados los dos anteriores.²¹

Por otra parte, **la displasia epitelial** en boca es un termino utilizado para describir histopatológicamente los cambios que se observan en la cronicidad, progresividad y premalignidad que se presenta en la mucosa bucal y que clínicamente pueden manifestarse como leucoplasia, eritroplasia o leucoeritroplasia. La displasia epitelial puede presentarse también desde el punto de vista clínico como leucoplasia papilar o verrucosa, y/o úlcera crónica. Histológicamente se puede marcar como una lesión premaligna y predecir el desarrollo de un carcinoma epidermoide invasivo.³³⁻³⁵ En la **tabla 2** se describen los criterios de gradificación de la displasia.

El carcinoma epidermoide tiene un componente neoplásico que podemos denominar parénquima tumoral y un estroma; el organismo está compuesto por diferentes tejidos, los cuales presentan diferente comportamiento uno del otro, hay dos tipos de **matriz extracelular**: la membrana basal y el estroma intersticial, la matriz determina la arquitectura del tejido, la función biológica y es un mecanismo de barrera para la invasión.³³⁻³⁵

Durante la transición de un carcinoma in situ a invasivo, las células epiteliales tumorales penetran la membrana basal y entran al estroma intersticial, una vez que las células tumorales se encuentran en el estroma se diseminan hacia los vasos sanguíneos y linfáticos; las células tumorales penetran la membrana

basal subendotelial, en la extravasación las células tumorales migran hacia el estroma intersticial perivascular después el tumor empieza a crecer en el parenquima de los órganos; por lo tanto, la interacción de las células tumorales con matriz extracelular propicia una cascada metastasica con múltiples cambios.¹⁸

tabla 2. Criterios de gradificación de la displasia

GRADO	CARACTERISTICAS
Bajo	<ul style="list-style-type: none"> - Hiperplasia de las células basales. - Pérdida de la polaridad de las células basales.
Medio	<ul style="list-style-type: none"> - Hiperplasia de las células basales. - Pérdida de la polaridad en las células basales. - Moderado polimorfismo celular. - Incremento en el rango de mitosis. - Disqueratosis ocasionalmente.
Alto	<ul style="list-style-type: none"> - Hiperplasia de las células basales. - Pérdida de la polaridad de las células basales. - Marcado polimorfismo celular. - Incremento en el rango de mitosis. - Disqueratosis incrementada. - Epitelio estratificado anormal.
Carcinoma <i>in situ</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Alto grado de displasia. - Pérdida de epitelio estratificado. - Estroma no invadido o intacto.

ASPECTOS HISTOLÓGICOS.- El carcinoma epidermoide deriva del epitelio escamoso estratificado de la cavidad bucal, es decir, de los queratinocitos. El carcinoma epidermoide puede caracterizarse dentro de tres categorías:

- Carcinoma bien diferenciado que presenta una queratinización mayor del 75%;
- Carcinoma moderadamente diferenciado que presenta una queratinización del 25% al 75%;
- Carcinoma poco diferenciado que presenta un 25% de queratinización.¹²

El objetivo fundamental de clasificarlos de esta forma radica en determinar el estadio clínico de la neoplasia y así poder establecer una mejor respuesta al tratamiento. Por tal razón, Broders propuso un sistema de gradificación para los carcinomas basado en la proporción de similitud que guarda la neoplasia con respecto al epitelio normal; el cual consiste en grado I para los carcinomas bien diferenciados, los cuales producen queratina de un 75% a un 100%. Hasta grado IV a los poco diferenciados, en los que no existe producción de queratina y que difícilmente se reconocen como neoplasias malignas de origen epitelial; sin embargo, no existe correlación entre el grado de diferenciación y el pronóstico del enfermo. En 1973 Jackbsson desarrolla un sistema multifactorial de gradificación con el propósito fundamental de obtener una evaluación morfológica más precisa.¹²

CRITERIOS DE JACKBSSON

FACTORES INTRÍNSECOS DE LA NEOPLASIA

Grado de queratinización; Polimorfismo nuclear y Número de mitosis.

GRADO DE QUERATINIZACIÓN

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

POLIMORFISMO NUCLEAR

- I. Más del 75% de las células son maduras;
- II. Moderado polimorfismo, del 50% al 75% son células maduras;
- III. Abundante polimorfismo nuclear, del 25% al 50% son células maduras;
- IV. Polimorfismo nuclear extremo, del 0% al 25% son células maduras.

NÚMERO DE MITOSIS (en 10 campos de gran aumento)

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

FACTORES RELACIONADOS ENTRE HUÉSPED Y TUMOR

Patrón de invasión, estado de invasión y infiltrado linfoplasmocitario.

PATRÓN DE INVASIÓN

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

ESTADO DE INVASIÓN TUMORAL

- I. In situ o invasión cuestionable;
- II. Invasión hasta la lámina propia;
- III. Invasión por debajo de la lámina propia, en áreas adyacentes al músculo, glándulas salivales y periostio;
- IV. Invasión a través del hueso o invasión profunda a planos musculares.

INFILTRADO LINFOPLASMOCITARIO

- I. Infiltrado abundante de linfocitos o de células plasmáticas en estrecha relación con las células tumorales;
- II. Infiltrado moderado;
- III. Infiltrado ligero;
- IV. Infiltrado nulo.¹²

Los pacientes con carcinoma epidermoide que presentan metástasis a los ganglios linfáticos cervicales, juegan un papel crítico en el pronóstico; muchos investigadores han estudiado tumores malignos en etapa inicial, tanto clínica como histológicamente. Utilizando parámetros de localización del tumor, grado de diferenciación, grado de infiltrado inflamatorio y patrón de invasión; con esto pueden predecir un potencial metastásico en etapa temprana.³⁸

Los criterios de *Jackbsson*, descritos anteriormente son el mejor sistema de gradificación para evaluar la invasión potencial metastásico y predecir si se van a encontrar comprometidos los ganglios linfáticos cervicales en el carcinoma epidermoide. Como se menciona anteriormente, existen otros métodos de gradificación histológica convencional pero estos no son suficientes los cuales requieren de una gran práctica, son difíciles de evaluar y son subjetivos.³⁸

El pronóstico de los pacientes con carcinoma epidermoide es muy difícil de predecir; por lo cual es necesario la búsqueda de marcadores pronósticos confiables, los cuales ayuden a la decisión de tratamiento. Bryne y Cols.³⁹ sostienen la hipótesis de que las características moleculares y morfológicas en las áreas superficiales de los carcinomas puede reflejar el pronóstico del tumor ya que eventos moleculares de importancia para la diseminación del tumor son: la pérdida de las moléculas de adhesión, la secreción de enzimas proteolíticas, incremento en la proliferación celular e iniciación de la angiogenesis; lo cual ocurre en la interfase huésped-tumor, al cual se le denomina frente invasivo, en base a esto ellos mismos han desarrollado un sistema de gradificación morfológico de malignidad en el cual se evalúan las áreas invasivas del tumor, mencionan que este sistema es un predictor pronóstico mucho más útil que el sistema morfológico utilizado tradicionalmente.

CARCINOMA BASOCELULAR

Sinónimo: Epitelioma de Células Basales⁴⁴ y Carcinoma de células basales

El carcinoma de células basales es una neoplasia maligna epidérmica común que produce invasión local,⁴⁰ compuesto de células semejantes a las de la capa basal epidérmica;⁴¹ es el cáncer cutáneo menos maligno.

No existen evidencias de que el carcinoma de células basales, pueda desarrollarse dentro de la cavidad bucal, el sitio más común es la piel de la cara particularmente en la región del pliegue nasolabial y alrededor de la boca; esos tumores se desarrollan de las células de los folículos pilo-sebáceos o de los conductos de glándulas sebáceas.⁴²⁻⁴⁴

Es la neoplasia maligna más frecuente de la piel y tiene mejor pronóstico de todas; como ya se mencionó, se origina de las células basales de la epidermis y de los anexos de la piel³², aparece generalmente en la cara y el cuero cabelludo; su crecimiento es lento y se puede desarrollar en varios años.⁴² La región media de la cara es el área donde se encuentra principalmente; en personas caucásicas^{39,41} es más susceptible en individuos de ojos azules, cabello claro y una mínima cantidad de melanina en la piel;⁴⁴ la lesión se observa con mayor frecuencia en pacientes ancianos entre los 50 y 80 años de edad. Los varones se afectan más que las mujeres 2:1 por la mayor exposición acumulativa al sol.¹⁵

El pronóstico de los pacientes con carcinoma epidermoide es muy difícil de predecir; por lo cual es necesario la búsqueda de marcadores pronósticos confiables, los cuales ayuden a la decisión de tratamiento. Bryne y Cols.³⁹ sostienen la hipótesis de que las características moleculares y morfológicas en las áreas superficiales de los carcinomas puede reflejar el pronóstico del tumor ya que eventos moleculares de importancia para la diseminación del tumor son: la pérdida de las moléculas de adhesión, la secreción de enzimas proteolíticas, incremento en la proliferación celular e iniciación de la angiogenesis; lo cual ocurre en la interfase huésped-tumor, al cual se le denomina frente invasivo, en base a esto ellos mismos han desarrollado un sistema de gradificación morfológico de malignidad en el cual se evalúan las áreas invasivas del tumor, mencionan que este sistema es un predictor pronóstico mucho más útil que el sistema morfológico utilizado tradicionalmente.

CARCINOMA BASOCELULAR

Sinónimo: Epitelioma de Células Basales⁴⁴ y Carcinoma de células basales

El carcinoma de células basales es una neoplasia maligna epidérmica común que produce invasión local,⁴⁰ compuesto de células semejantes a las de la capa basal epidérmica;⁴¹ es el cáncer cutáneo menos maligno.

No existen evidencias de que el carcinoma de células basales, pueda desarrollarse dentro de la cavidad bucal, el sitio más común es la piel de la cara particularmente en la región del pliegue nasolabial y alrededor de la boca; esos tumores se desarrollan de las células de los folículos pilo-sebáceos o de los conductos de glándulas sebáceas.⁴²⁻⁴⁴

Es la neoplasia maligna más frecuente de la piel y tiene mejor pronóstico de todas; como ya se mencionó, se origina de las células basales de la epidermis y de los anexos de la piel³², aparece generalmente en la cara y el cuero cabelludo; su crecimiento es lento y se puede desarrollar en varios años.⁴² La región media de la cara es el área donde se encuentra principalmente; en personas caucásicas^{39,41} es más susceptible en individuos de ojos azules, cabello claro y una mínima cantidad de melanina en la piel;⁴⁴ la lesión se observa con mayor frecuencia en pacientes ancianos entre los 50 y 80 años de edad. Los varones se afectan más que las mujeres 2:1 por la mayor exposición acumulativa al sol.¹⁵

El pronóstico de los pacientes con carcinoma epidermoide es muy difícil de predecir; por lo cual es necesario la búsqueda de marcadores pronósticos confiables, los cuales ayuden a la decisión de tratamiento. Bryne y Cols.³⁹ sostienen la hipótesis de que las características moleculares y morfológicas en las áreas superficiales de los carcinomas puede reflejar el pronóstico del tumor ya que eventos moleculares de importancia para la diseminación del tumor son: la pérdida de las moléculas de adhesión, la secreción de enzimas proteolíticas, incremento en la proliferación celular e iniciación de la angiogenesis; lo cual ocurre en la interfase huésped-tumor, al cual se le denomina frente invasivo, en base a esto ellos mismos han desarrollado un sistema de gradificación morfológico de malignidad en el cual se evalúan las áreas invasivas del tumor, mencionan que este sistema es un predictor pronóstico mucho más útil que el sistema morfológico utilizado tradicionalmente.

CARCINOMA BASOCELULAR

Sinónimo: Epitelioma de Células Basales⁴⁴ y Carcinoma de células basales

El carcinoma de células basales es una neoplasia maligna epidérmica común que produce invasión local,⁴⁰ compuesto de células semejantes a las de la capa basal epidérmica;⁴¹ es el cáncer cutáneo menos maligno.

No existen evidencias de que el carcinoma de células basales, pueda desarrollarse dentro de la cavidad bucal, el sitio más común es la piel de la cara particularmente en la región del pliegue nasolabial y alrededor de la boca; esos tumores se desarrollan de las células de los folículos pilo-sebáceos o de los conductos de glándulas sebáceas.⁴²⁻⁴⁴

Es la neoplasia maligna más frecuente de la piel y tiene mejor pronóstico de todas; como ya se mencionó, se origina de las células basales de la epidermis y de los anexos de la piel³², aparece generalmente en la cara y el cuero cabelludo; su crecimiento es lento y se puede desarrollar en varios años.⁴² La región media de la cara es el área donde se encuentra principalmente; en personas caucásicas^{39,41} es más susceptible en individuos de ojos azules, cabello claro y una mínima cantidad de melanina en la piel;⁴⁴ la lesión se observa con mayor frecuencia en pacientes ancianos entre los 50 y 80 años de edad. Los varones se afectan más que las mujeres 2:1 por la mayor exposición acumulativa al sol.¹⁵

ETIOLOGÍA.- Está asociada a la exposición duradera a la luz solar a bajos niveles de pigmentación natural en la piel, en personas de más de 40 años de edad que poseen antecedentes de radiación^{15,32,41,42} o quemaduras cutáneas y con síndromes.¹⁵

ASPECTO CLÍNICO.- La forma clínica más frecuente, es la nóduloulcerativa, se presenta como un nódulo indurado, suave con un aspecto aperlado y con vasos telangiectásicos que cursan sobre la superficie. Con el tiempo el centro de la lesión se ulcera, forma costra y al expandirse la lesión las estructuras vitales adyacentes se erosionan con lentitud, porque el ritmo de progresión es muy variable, ya que la úlcera invade estructuras subyacentes, incluyendo cartílago, hueso e incluso meninges, esto es la úlcera roedora.^{15,32,41}

VARIANTES CLINICAS

PIGMENTADO.- Son frecuentes algunos puntos dispersos de pigmento y la hemorragia produce oscurecimiento irregular.⁴¹

MORFEICO.- La mayor parte del tumor está formada por estroma fibroso, el borde saliente característico es menos notable y muy difícil de definir la extensión del tumor. La placa tumoral por lo regular está un poco deprimida por debajo de la superficie y la ulceración es rara; este ocurre de manera característica en la cara.^{32,41,45}

SUPERFICIAL.- La extensión aparece sobre todo cerca de la superficie, con poca penetración profunda, son comunes pequeñas zonas de erosión y costra, puede haber nódulos de engrosamiento localizado. El borde saliente es delgado y filiforme suele ocurrir en el tronco y puede ser complicación de intoxicación arsenical.^{32,41}

BASOSCAMOSO.- Forma úlcera roedente, en este tipo se ven elementos de carcinoma epidermoide intercalados entre islotes de carcinoma basocelular y en ocasiones; su comportamiento biológico es más el de un carcinoma epidermoide agresivo que el de un carcinoma basocelular.³²

SÍNDROME DE CARCINOMA DE CÉLULAS BASALES NEVOIDE.- Los tumores son múltiples; pápulas o nódulos de color de la piel o cafés, que ocurre sobre todo en la cara, cuello y tronco, la ulceración es una característica tardía.⁴¹

CARCINOMA DE CÉLULAS BASALES DEL PLIEGUE NASOLABIAL.- En este sitio, el aspecto es menos característico, el borde saliente es difícil de reconocer, existe una tendencia especial a extensión y ulceración profunda.⁴¹

ASPECTOS HISTOLÓGICOS.- Las células del carcinoma basocelular son de aspecto característico y casi uniforme, semejan células de la capa basal epidérmica

o de la matriz del pelo; el núcleo es grande y de forma oval o alargada; el citoplasma es escaso y los bordes celulares son difíciles de definir, existen desmosomas pero las células carecen de puentes intercelulares.⁴¹

Las mitosis son poco frecuentes y las células extrañas son raras, las masas celulares a menudo están limitadas por una empalizada de células cuyos núcleos están paralelos, en tanto que los núcleos del interior de las masas tienen disposición al azar, las células basales forman nódulos, nidos o cordones.^{15,41}

Presenta un estroma de tejido conectivo dispuesto de haces paralelos alrededor de las masas tumorales, los fibroblastos jóvenes están cerca de los islotes de células, que suelen encontrarse en grandes grupos; puede haber presencia de estructuras queratinocíticas.⁴¹

PROLIFERACIÓN CELULAR Y DIFERENCIACIÓN

El mecanismo por medio del cual se controlan los índices de proliferación de los diferentes tipos de células es uno de los aspectos menos comprendidos dentro de la biología celular; cada órgano y parte del cuerpo tiene una forma determinada, así como un tamaño establecido genéticamente, de alguna manera la información esta presente dentro de cada individuo en desarrollo y esta forma dicta un camino ordenado de proliferación, división y diferenciación celular para cada tejido específico del organismo. En el adulto la proliferación y división continúan, aunque solo lo necesario para reemplazar las células que se pierden de manera normal, por ejemplo: las células de la epidermis proliferan, se dividen y se diferencian en un índice que le proporciona al organismo un suplemento continuo de células epiteliales para reemplazar a las que mueren y se pierden, el índice de proliferación se encuentra muy regulado como ya se mencionó; poco se sabe de los mecanismos que participan en la regulación de la proliferación y división celular, pero la existencia de ellos es por demás evidente, el análisis de la regulación de la proliferación celular es importante por sí mismo, pero lo es aún más en el estudio de la célula maligna y la formación de tumores, las células neoplásicas malignas de alguna manera se liberan de los mecanismos de control del organismo y proliferan y se dividen de una manera irrefrenable.⁴⁶

Los niveles de proliferación de los tejidos dependen del balance entre agentes estimuladores e inhibidores, dentro de estos factores se encuentran los factores de crecimiento epidermal y fibroblástico así como la prostaglandina PGE2 donde todos estos agentes son estimuladores de la mitosis.⁴⁶

o de la matriz del pelo; el núcleo es grande y de forma oval o alargada; el citoplasma es escaso y los bordes celulares son difíciles de definir, existen desmosomas pero las células carecen de puentes intercelulares.⁴¹

Las mitosis son poco frecuentes y las células extrañas son raras, las masas celulares a menudo están limitadas por una empalizada de células cuyos núcleos están paralelos, en tanto que los núcleos del interior de las masas tienen disposición al azar, las células basales forman nódulos, nidos o cordones.^{15,41}

Presenta un estroma de tejido conectivo dispuesto de haces paralelos alrededor de las masas tumorales, los fibroblastos jóvenes están cerca de los islotes de células, que suelen encontrarse en grandes grupos; puede haber presencia de estructuras queratinocíticas.⁴¹

PROLIFERACIÓN CELULAR Y DIFERENCIACIÓN

El mecanismo por medio del cual se controlan los índices de proliferación de los diferentes tipos de células es uno de los aspectos menos comprendidos dentro de la biología celular; cada órgano y parte del cuerpo tiene una forma determinada, así como un tamaño establecido genéticamente, de alguna manera la información esta presente dentro de cada individuo en desarrollo y esta forma dicta un camino ordenado de proliferación, división y diferenciación celular para cada tejido específico del organismo. En el adulto la proliferación y división continúan, aunque solo lo necesario para reemplazar las células que se pierden de manera normal, por ejemplo: las células de la epidermis proliferan, se dividen y se diferencian en un índice que le proporciona al organismo un suplemento continuo de células epiteliales para reemplazar a las que mueren y se pierden, el índice de proliferación se encuentra muy regulado como ya se mencionó; poco se sabe de los mecanismos que participan en la regulación de la proliferación y división celular, pero la existencia de ellos es por demás evidente, el análisis de la regulación de la proliferación celular es importante por sí mismo, pero lo es aún mas en el estudio de la célula maligna y la formación de tumores, las células neoplásicas malignas de alguna manera se liberan de los mecanismos de control del organismo y proliferan y se dividen de una manera irrefrenable.⁴⁶

Los niveles de proliferación de los tejidos dependen del balance entre agentes estimuladores e inhibidores, dentro de estos factores se encuentran los factores de crecimiento epidermal y fibroblástico así como la prostaglandina PGE2 donde todos estos agentes son estimuladores de la mitosis.⁴⁶

CICLO CELULAR

Cada célula nueva recibe una serie completa de instrucciones genéticas lo cual significa que el genoma se replica fielmente en las células maternas y luego se distribuye en las células de la progenie por procesos ordenados que se repiten en generaciones: estos procesos se llevan a cabo durante el ciclo celular y consisten en la replicación de ADN y la separación ordenada de los cromosomas durante la mitosis, además se deben sintetizar nuevas moléculas a medida que la célula crece y finalmente origina dos células hijas. Las células pueden crecer y dividirse a diferentes velocidades y en diversas condiciones aún cuando todas contienen los mismos genes; los controles sobre la velocidad de crecimiento y de división se encuentran dentro de los aspectos menos comprendidos de la célula y de la biología del desarrollo.⁴⁷

El ciclo celular consiste en un intervalo de biosíntesis y crecimiento activo durante el cual la célula duplica su masa y contenido;⁴⁷ el proceso de autoduplicación, transcurre a lo largo de dos etapas: 1) La interfase, durante la cual tiene lugar la duplicación de los materiales que integran la célula progenitora y 2) La división en la que dichos materiales son repartidos equitativamente entre las dos células hijas.^{13,48,49}

INTERFASE

La interfase es el periodo más largo del ciclo celular, ya que representa el 80% del tiempo total del mismo, la fase de división sólo ocupa el 20% restante; aunque existen ligeras variaciones de estos porcentajes según los tipos celulares. Durante el período interfásico se han establecido tres fases: el periodo central es el que tiene lugar la replicación del material genético, se denomina **Periodo S**; los intervalos que preceden y siguen a la división se denominan **Periodo G1** y **G2** respectivamente.⁴⁷

Periodo G1. Es el más variable en duración del ciclo, donde permanecen las células que cesan de proliferar temporal o definitivamente; dicho periodo se caracteriza por una síntesis de ARN y proteínas y supone un marcado incremento en los materiales citoplásmicos de las células hijas recién formadas.⁴⁷

Périodo S. Es la etapa más constante de la interfase, la célula se transforma de diploide en tetraploide,⁵⁰ la replicación del ADN esta registrada en la fase S, pero la síntesis de ARN y proteínas se da en toda la interfase.⁴⁷

Periodo G2. Es el de menor duración de la interfase, cesando durante el mismo la síntesis de ADN aunque la síntesis de proteínas continúa, de hecho la síntesis de proteínas se mantiene durante todo el ciclo celular; terminando la fase G2 la célula entra en división para que todos los materiales de la célula madre se repartan entre las dos células hijas.⁴⁷

MITOSIS

La división celular se compone de la división o reparto del material nuclear denominado mitosis; este proceso consiste en la distribución a dos células hijas de los materiales celulares duplicados en la interfase previa. La mitosis se divide de manera arbitraria en cuatro fases: profase (pro=antes), metafase (meta=entre), anafase (ana=posterior) y telofase (telo=final).^{47,50,51}

Profase. Se caracteriza por la condensación gradual de la cromatina interfásica, que se forma por los cromosomas, a lo largo de esta fase persiste la envoltura nuclear; los centriolos ya duplicados migran un par para cada polo de la célula. Comienzan a observarse un gran haz de microtúbulos que unen los dos pares de centriolos y forman el huso mitótico, la desorganización total de los nucléolos y la fragmentación de la membrana nuclear finaliza en esta etapa.^{47,50,51}

Metafase. Cada cromosoma se alinea en el ecuador del huso en una orientación tal que los centrómeros de cada par de cromátides hermanas se colocan a los polos de la célula; para este momento las fibras cromosómicas se han adherido a cada centrómero y todo está listo para la separación precisa de las cromátides hermanas y su emigración a los polos opuestos.^{47,50,51}

Anafase. Inicia cuando las cromátides hermanas de cada cromosoma replicado son atraídas a los polos opuestos de la célula; después de su separación cada cromátide se convierte en un cromosoma maduro que actúa independientemente de su hermano. Durante el movimiento anafásico cada cromosoma es atraído al polo por fibras cromosómicas del huso adheridas al centrómero; fibras que se acortan gradualmente cuando se aproximan a los polos, al mismo tiempo que las fibras cromosómicas se acortan, las fibras polares del huso gradualmente se hacen más largas y los dos polos del huso se separan más y más.^{47,50,51}

NUCLÉOLO

Dentro del núcleo de una célula en interfase se encuentran incluidos: *Los cromosomas* los cuales están presentes como fibras de nucleoproteínas extendidas denominada cromatina; *la matriz nuclear* la cual es una malla fibrilar de contenido protéico; *uno o más nucleólos* el cual es una estructura amorfa electrónicamente densa que funciona en la síntesis del ARN ribosomal y en el ensamblaje de ribosomas y *el nucleoplasma* término usado generalmente para denotar la sustancia fluída en las que están disueltos los solutos del núcleo.⁴⁶

Los nucleólos fueron descritos por primera vez en 1781 por Fontana, gracias a su tamaño y a su afinidad por los colorantes básicos, se observan muy fácilmente como estructuras individualizadas en el interior de la esfera nuclear.⁵²

Se trata de estructuras constituidas a partir de ARN ribosomal y proteínas, formadas como consecuencia de la actividad transcripcional de determinados genes, que en conjunto constituyen el organizador nucleolar; así representan el lugar en el que está llevándose a cabo la transcripción y maduración de los ARNs ribosómicos.⁵²

ESTRUCTURA DEL NUCLÉOLO

El número, forma y posición de los nucleólos dependen del tipo celular y de su actividad metabólica; por lo general consiste en una estructura esférica rodeada por nucleoplasma sin estar separada por una membrana. Cada nucleólo es producido por una región organizadora del nucleólo u organizador nucleolar específico localizado en un sitio particular de un cromosoma; un genoma puede incluir uno ó más cromosomas organizadores y por lo tanto puede haber uno ó más nucleólos en un mismo núcleo.⁴⁷

- El número de nucleólos generalmente suele ser de uno por núcleo, aunque algunos tipos celulares suelen presentar dos (neuronas y hepatocitos).
- La forma del nucleólo es frecuentemente esférica, aunque se dan casos de nucleólos con formas irregulares.
- La posición de nucleólo suele ser más o menos céntrica dentro de la esfera nuclear, en caso de que exista más de un nucleólo estos pueden desplazarse e incluso situarse por debajo de la cubierta.⁵²

La organización estructural del nucléolo refleja su adhesión cromosómica y sus funciones en la producción de la subunidad del ribosoma, al microscopio electrónico se pueden distinguir cuatro componentes: Una **zona granular** que contiene partículas difusas de alrededor de 15 nm de ancho, las cuales representan subunidades ribosómicas próximas a complementarse; una **zona fibrilar**, con fibrillas mal definidas de transcritos de ARN en forma de nucleoproteína que miden unos 5 nm; **una zona de cromatina nucléolar** que consta de asas cromosómicas de 10 nm de ancho que se extienden fuera de su punto de adhesión en la NOR del cromosoma y una **matriz nucleolar** sin estructura en la cual están distribuidos todos estos materiales.^{46,47,51,53} Dependiendo del estado metabólico y tipo celular, el nucléolo puede presentarse bajo dos formas estructurales: la **forma laxa**, caracterizada por la alternancia de regiones fibrilares y granulares al nivel de toda la estructura y la **forma condensada**, que muestra una estructura mucho más densa, caracterizada por la disposición de la región granular en la periferia, mientras que la fibrilar ocupa el centro, en este caso disminuye e incluso desaparece la región amorfa.⁵²

El nucléolo puede agrandarse en células activas y reducirse en las inactivas, debido principalmente a la expansión o reducción de la zona granular, estos cambios dimensionales son debidos a las diferentes velocidades en la producción de la subunidad ribosómica respecto a actividades celulares biosintéticas.⁴⁷

FUNCIÓN DEL NUCLÉOLO

La función del nucléolo ha sido relacionada con los procesos de transcripción y maduración de los precursores ribosómicos. Ya en 1940 Brachet demostró por técnicas de espectrofotometría, la existencia a nivel del nucléolo de grandes cantidades de ARN; es un ejemplo de organelo cuya función se relaciona por lo general con el ciclo de la división celular.⁴⁶

En 1960 Perry realizó un experimento consistente en destruir el nucléolo mediante el empleo de radiación ultravioleta dirigidas al lugar de ubicación del mismo en la célula; en estas células anucleoladas, observó que el reflujo de ARN ribosómico de nueva síntesis cesaba en el citoplasma, demostrando así que la producción de ARN ribosomal (ARNr) dependía de un nucléolo intacto. El nucléolo está conectado directamente a un segmento de los cromosomas llamados Organizadores Nucleolares.⁵¹

El ARNr presente en el nucléolo se origina por transcripción; a partir de ciertas regiones del ADN del cromosoma denominadas organizadores nucleolares. Los genes que integran estas regiones suelen situarse al nivel de las constricciones secundarias de uno o más cromosomas según la especie de que se trate. En el caso de las células humanas, son 5 los cromosomas que contienen los genes del organizador nucleolar.^{46,47,52,53} Debido a estos fenómenos el nucléolo es considerado una fábrica virtual para la síntesis de ARN ribosomal y el ensamblaje de subunidades precursoras de ribosomas. Los ARN ribosomales sintetizados en el núcleo se transcriben de los genes de ARNr agrupados en las Regiones de Organizadores Nucleolares.⁴⁷

Las moléculas de ARNr varían en tamaño, es convencional describir y referirse a los ARNr y a los ribosomas en términos de su coeficiente de sedimentación, expresado en unidades Svedberg; un ribosoma completo consta de dos subunidades ribosómicas de tamaño diferente cada una de las cuales contiene uno o más ARNr específicos. El tamaño absoluto del pre-ARNr eucariótico en el mamífero es de 45S y se procesa para generar las moléculas de ARNr 18S,25S y 5.8S las cuales son consideradas ribonucleoproteínas y serán transportadas posteriormente del núcleo al citoplasma, estas nucleoproteínas ribosómicas son partículas inactivadas o precursoras, las cuales se transforman en subunidades ribosómicas activas empacadas al dejar el núcleo en un genoma eucariótico se presentan numerosas copias de los genes de ARNr y se conocen como ADN ribosómico y están agrupados en las Regiones Organizadores del Nucléolo de uno o más cromosomas del genoma.^{47,54} Durante la división celular, el nucléolo se desintegra durante la profase de la mitosis y las partes que lo componen se dispersan y se vuelven indistinguibles respecto a la sustancia celular. Cuando se ha completado la división, el nucléolo reaparece durante la siguiente telofase apareciendo en regiones bien definidas de los cromosomas o sea los Organizadores Nucleolares.^{46,51} Existen variaciones entre los distintos tipos de células en cuanto a la disposición de los nucléolos durante la mitosis; pero como ya se mencionó, el nucléolo se destruye eventualmente y desaparece al final de la profase o durante la metafase; a nivel ultraestructural la destrucción del nucléolo se detecta primero por la pérdida de su estructura, las zonas fibrilar y granular se vuelven menos aparentes, evidentemente por la pérdida de matriz nucleolar. El nucléolo se hace cada vez más pequeño hacia el final de la profase, justo antes de su desaparición solo queda el componente granular, durante la telofase el nucléolo se reorganiza a partir de uno o más cromosomas apareciendo primero como un cuerpo esférico que aumenta gradualmente de tamaño hasta alcanzar su forma interfásica típica.^{46,51}

Los cambios morfológicos del nucléolo son características de las células malignas y muchos patólogos consideran que las alteraciones en el tamaño y la forma nucleolar representa un criterio importante para el diagnóstico de malignidad, el nucléolo frecuentemente se ha descrito que en las células malignas a diferencia de la benignas se presenta de forma irregular y proporcionalmente grande con respecto al núcleo, la relación entre el tamaño del nucléolo y la distribución de las Regiones de Organizadores Nucleolares, teñidas con Plata coloidal (AgNORs), se ha documentado como que los AgNORs son más numerosos y grandes en células malignas que en benignas.⁵⁸

REGIONES DE ORGANIZADORES NUCLEOLARES

Las Regiones de Organizadores Nucleolares (NORs) son regiones de manchas débiles de cromatina que se encuentran en el nucléolo al final de la telofase, las cuales cambian después de que desaparece la fase mitótica de la célula. Los NORs corresponden a una constricción secundaria correspondiente a la metafase cromosomal; los cuales son localizados en el ser humano, en los brazos cortos de los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22.^{23,56,57} En experimentos de hibridación *in situ* se ha mostrado que los NORs contienen genes ribosomales, los cuales corresponden al ARN ribosomal.

La localización de los genes de ARNr en la o las Regiones de Organizadores Nucleolares del genoma eucariótico fué establecida por primera vez en 1965 por Ritossa y Spiegelman quienes buscaron evidencia molecular de la localización de los genes ARNr en el NOR utilizando cuatro cepas de *Drosophila melanogaster* (mosca) que tenían de uno a 4 NOR en un genoma similar, después de añadir uridina marcada radioactivamente para identificar ARNr nuevo en las moscas purificaron el ARNr recién sintetizado de ribosomas aislados, entonces el ARNr marcado fué incubado con cadenas sencillas desnaturalizadas de ADN cromosómico en ensayos de hibridación molecular para determinar el porcentaje de moléculas híbridas ADN-ARNr formados en cada cepa; la predicción aparentemente era simple: si los genes de ARNr están localizados en el NOR, el porcentaje de híbridos ADN-ARNr debería ser paralelo al número de NOR por cepa; el paralelismo entre el número de NOR (series de genes de ARNr) y la cantidad de ARNr que fué sintetizada, demostrando definitivamente que los genes de ARNr están presentes en las Regiones Organizadoras Nucleolares de los cromosomas.⁴⁷

Los cambios morfológicos del nucléolo son características de las células malignas y muchos patólogos consideran que las alteraciones en el tamaño y la forma nucleolar representa un criterio importante para el diagnóstico de malignidad, el nucléolo frecuentemente se ha descrito que en las células malignas a diferencia de la benignas se presenta de forma irregular y proporcionalmente grande con respecto al núcleo, la relación entre el tamaño del nucléolo y la distribución de las Regiones de Organizadores Nucleolares, teñidas con Plata coloidal (AgNORs), se ha documentado como que los AgNORs son más numerosos y grandes en células malignas que en benignas.⁵⁸

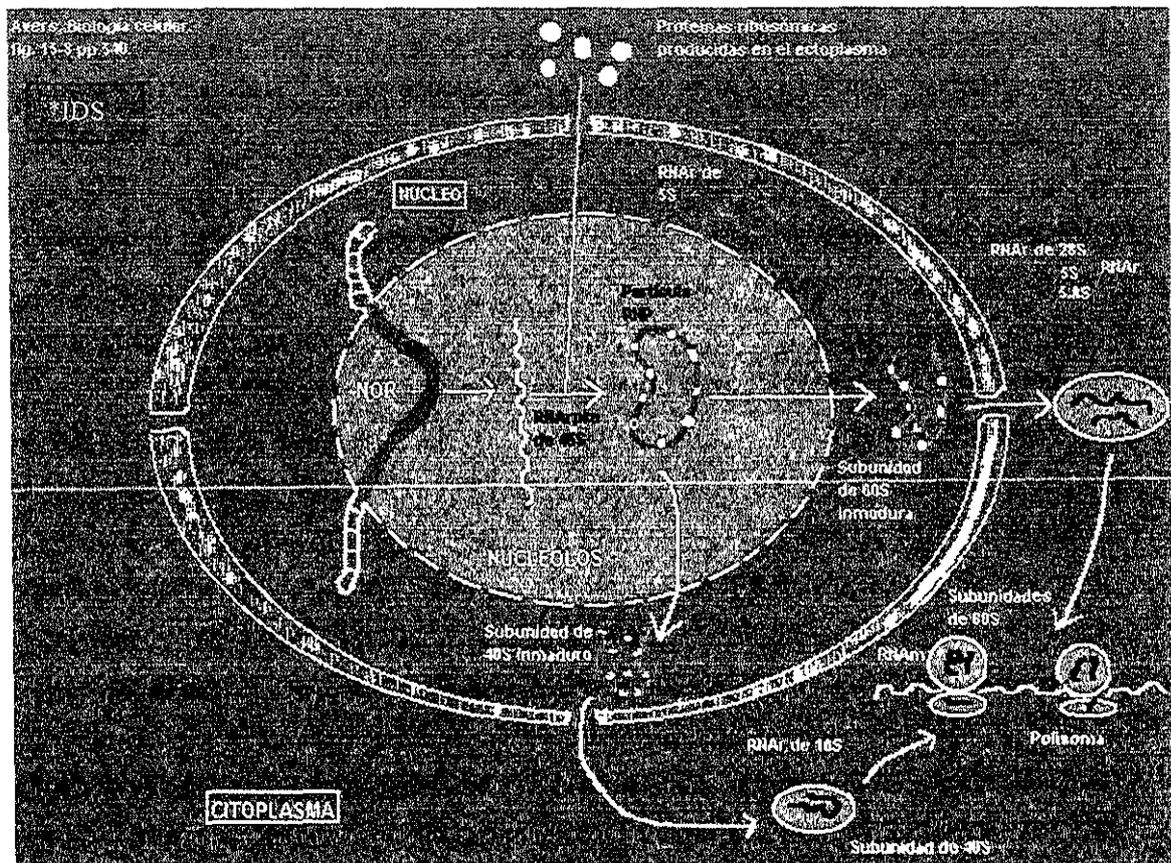
REGIONES DE ORGANIZADORES NUCLEOLARES

Las Regiones de Organizadores Nucleolares (NORs) son regiones de manchas débiles de cromatina que se encuentran en el nucléolo al final de la telofase, las cuales cambian después de que desaparece la fase mitótica de la célula. Los NORs corresponden a una constricción secundaria correspondiente a la metafase cromosomal; los cuales son localizados en el ser humano, en los brazos cortos de los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22.^{23,56,57} En experimentos de hibridación *in situ* se ha mostrado que los NORs contienen genes ribosomales, los cuales corresponden al ARN ribosomal.

La localización de los genes de ARNr en la o las Regiones de Organizadores Nucleolares del genoma eucariótico fué establecida por primera vez en 1965 por Ritossa y Spiegelman quienes buscaron evidencia molecular de la localización de los genes ARNr en el NOR utilizando cuatro cepas de *Drosophila melanogaster* (mosca) que tenían de uno a 4 NOR en un genoma similar, después de añadir uridina marcada radioactivamente para identificar ARNr nuevo en las moscas purificaron el ARNr recién sintetizado de ribosomas aislados, entonces el ARNr marcado fué incubado con cadenas sencillas desnaturalizadas de ADN cromosómico en ensayos de hibridación molecular para determinar el porcentaje de moléculas híbridas ADN-ARNr formados en cada cepa; la predicción aparentemente era simple: si los genes de ARNr están localizados en el NOR, el porcentaje de híbridos ADN-ARNr debería ser paralelo al número de NOR por cepa; el paralelismo entre el número de NOR (series de genes de ARNr) y la cantidad de ARNr que fué sintetizada, demostrando definitivamente que los genes de ARNr están presentes en las Regiones Organizadoras Nucleolares de los cromosomas.⁴⁷

En resumen un Organizador Nucleolar está constituido por un elevado número de genes (unidades de transcripción) todos ellos con la misma información genética cuyo ADN es abundante, estos genes repetidos en tándem a lo largo de toda la secuencia fibrilar están separados por zonas de material genético a lo largo de toda la secuencia fibrilar, cada unidad de transcripción contiene la información para la síntesis de ARNr 45S que posteriormente madurará; fragmentándose en varias moléculas de ARNr concretamente una de 18S, otra de 5.8S y finalmente una 28S todas ellas integrantes de los ribosomas. Estas cadenas de ARNr sufren una serie de cambios postranscripcionales que implican pérdida de nucleótidos y unión de proteínas, finalmente se originaran las dos partículas ribonucleoprotéicas 40S y 60S constituyentes de los ribosomas eucarióticos. Como se observa en la *figura 6*.

figura 6. Función del nucléolo en la síntesis de ARNr y subunidades ribosomales.



Conforme se van sintetizando las fibrillas de ARN 45S se van uniendo a proteínas y terminan desprendiéndose del ADN molde; estas van formando partículas ribonucleoprotéicas que constituyen la porción granular del nucléolo.^{46,52} En la preparación cromosomal, los NORs pueden ser observados por medio de amoniaco o nitrato de plata y ácido fórmico, cuando se utiliza la técnica de tinción de plata los NORs son conocidos como AgNORs (tinción con plata coloidal, Regiones de Organizadores Nucleolares).⁵⁶ La reacción de AgNORs fue descrita en 1975 por Goodpasteure y Blomm utilizando una tinción de nitrato de plata con hidróxido de amonio a 60°C; logrando demostrar la presencia de AgNORs en cromosomas de *macaca mulatta* y *carollia perspicillata*. Este hecho fué posteriormente corroborado a través de hibridación *in situ* por Pardue y Tsue; la concordancia entre los métodos condujo a la estandarización de la técnica de AgNORs.^{47,51}

Ploton demostró en 1986 que esta técnica podía ser llevada a cabo en cromosomas en interfase a 20°C, estabilizando con ácido fórmico. Existen otros factores capaces de modificar la técnica de AgNORs, en especial el pH del material procesado en parafina histológica; con un PH alto de 11.5-11.7 las muestras se tiñen de manera más adecuada; sin embargo, con un pH intermedio o bajo la tinción suele verse disminuída o ausente; tal factor demuestra que el pH es un elemento importante para poder correr la tinción de manera adecuada.⁵⁸

La cantidad de depósitos de plata en el núcleo es la reacción citoquímica que refleja la actividad de los genes ribosomales, esta tinción de plata revela la posición de los NORs transcripcionalmente activos dentro del núcleo en interfase o en las figuras mitóticas. El número de AgNORs en la interfase refleja el rango de proliferación y el grado de malignidad,⁵⁹ esta serie de estudios ocurrieron a principios de los años ochenta, demostrados durante la interfase y localizados en los componentes fibrilares del nucléolo.⁶⁰

Durante la división nuclear ya sea por mitosis o por meiosis los nucléolos desaparecen en el momento de la metafase y reaparecen durante la reorganización nuclear en la telofase, toda síntesis de macromoléculas se detiene; incluyendo la de ARN cuando los cromosomas se condensan y los nucléolos desaparecen de las células en división; cuando empieza la telofase en la Región Organizadora se forman nucléolos pequeños que crecen y se fusionan para formar uno o más nucléolos grandes.^{47,51} La síntesis macromolecular se reanuda y continua en toda la interfase es decir en las fases G1,S y G2 del ciclo celular.⁴⁷

REGIONES DE ORGANIZADORES NUCLEOLARES Y PROLIFERACION CELULAR

Los NORs son puntos de ADN que codifican los genes para ARNr y sus proteínas asociadas,^{61,62} estas proteínas las cuales incluyen ARN polimerasa I,^{59,62,63} pueden observarse en secciones histológicas convencionales utilizando tinciones argirofílicas siendo conocidas como AgNOR.^{56,59,61,62} Las proteínas AgNORs son consideradas como marcadores de los genes ribosomales los cuales son activamente transcritos o potencialmente activos, la transcripción de los genes ribosomales, es estrictamente dependiente de la presencia de las proteínas AgNORs, las principales proteínas AgNORs son: C23 o nucleolina y la proteína B23 o numatrina, de ellas la proteína C23 es la única que ha sido identificada como proteína AgNOR.⁵⁶

Los AgNORs se observan como puntos negros en las secciones de tejido dentro del nucléolo y el conteo promedio está calculado entre 50 y 100 células; aunque la función exacta de estas proteínas es incierta sin embargo se ha demostrado su correlación con la proliferación celular. Se ha sugerido que el número de AgNORs, en un núcleo en interfase puede reflejar el estadio de activación y el grado de transformación maligna de ciertos tejidos, así mismo los AgNORs reflejan el grado de proliferación y diferenciación celular.^{23,63}

Cabrini y Cols.⁵⁹ mencionan que el conteo de AgNORs puede contribuir al diagnóstico cuando existe asociación con los parámetros de displasia estableciendo el grado de transformación maligna, por lo cual este método puede ser un auxiliar como marcador cuantitativo en alteraciones celulares incipientes antes de que los cambios puedan ser detectados histológicamente. Xin Xie y Cols.⁶¹ sugieren que la cuantificación de AgNORs es un parámetro de gran valor en la patología tumoral, ya que un incremento en el número de AgNORs, esta asociado con un incremento con la agresividad de un tumor; debido a que el promedio del número de AgNORs por núcleo es más alto en tejidos malignos que en benignos, en sus resultados mencionan que en el epitelio normal el 70% de los núcleos muestran únicamente 1 o 2 AgNORs y en el carcinoma epidermoide más del 60% de los núcleos presentaron más de 4 AgNORs y los epitelios displásicos muestran una distribución de AgNORs, entre el epitelio normal y el carcinoma epidermoide. Cabrini y Cols.⁵⁹ apoyan la teoría de que esta técnica puede ser un indicador diagnóstico de mucha utilidad en los tumores malignos.

Warnakulasuraya y Cols.⁵⁷ cuantificaron los NOR en lesiones benignas, reactivas, displasias y carcinomas; utilizando la tinción de plata, el promedio del conteo de AgNORs en su estudio fue en carcinomas de 8.37; en displasias epiteliales de 5.61 y en queratosis de 4.51. Diferentes técnicas han sido estudiadas para aplicarlas como indicadores diagnósticos y pronósticos, en lesiones premalignas; esto con la finalidad de auxiliar a la técnica histopatológica de rutina para poder diferenciar las lesiones que tienen riesgo de sufrir transformación maligna, una de las técnicas en estudio es la técnica AgNOR, la cual se aplica en secciones de rutina para estudiar la interfase celular en lesiones preneoplásicas y tumores,³¹ que es un método económico, reproducible y no requiere experiencia especializada así como que es aplicable en tejidos embebidos en parafina donde es evidente que el conteo de AgNOR es indicativo de la proliferación celular aunque es bastante laborioso porque el problema principal es la interpretación y el conteo lo que porque debe evaluarse el método antes de usarse como indicador del comportamiento biológico de la neoplasia. Bajo esta consideración los estudios conducen a que existen diferencias significativas entre tumores benignos y malignos estableciendo que después de un conteo amplio es posible determinar el valor de este método en la determinación del comportamiento biológico en los tumores "borderline". Schwint y Cols.⁶² cuantificaron los valores de los NORs en Carcinoma epidermoide, en epitelio adyacente al carcinoma y en mucosa normal, cuantificando un promedio de 6.56 en el carcinoma; 4.81 en el epitelio adyacente y 2.95 en el epitelio normal, mencionando que el crecimiento lateral de tumor puede deberse en parte por los cambios progresivos de las células periféricas del cáncer y no por la expansión y destrucción de células malignas preexistentes del cáncer.^{64,65}

De La Rosa y Cols.⁶⁶ dividen al Carcinoma Basocelular en dos grupos: Carcinoma Basocelular agresivo y Carcinoma Basocelular no agresivo, ellos al observar los AgNORs presentes en esta lesión, contaron en el primero 9.48 y en el segundo 6.56.

La proliferación celular debe compararse en áreas de epitelio normal y en zonas invasivas, por ejemplo se ha observado recientemente que AgNORs, presentes en la interfase celular; dentro de las células tumorales, los cuales muestran un análisis significativo del alto grado de invasión vertical, en comparación con las partes centrales de algunos tumores bucales, como se muestra en la *figura 7*. La invasión vertical ha mostrado una fuerte relación con el pronóstico.³⁹

figura 7. Proliferación de células neoplásicas en frente invasivo

Tomado del artículo Is the invasive front of an oral carcinoma the most important area for prognostication?
De M Byrne.

*IDS



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El carcinoma epidermoide es la neoplasia que se presenta con mayor frecuencia en la cavidad bucal debido probablemente que la mayor parte de esta se encuentra cubierta por tejido epitelial. El carcinoma basocelular es un tumor maligno frecuente en piel, ambos corresponden a la misma estirpe celular pero presentan diferente comportamiento clínico, siendo el epidermoide el de comportamiento más agresivo; si logramos establecer un método auxiliar como marcador cuantitativo de “lesiones incipientes” podemos contribuir a la detección temprana de estas lesiones.

JUSTIFICACIÓN

La investigación se realiza con el fin de poder establecer factores de diagnóstico y pronóstico de cáncer en boca, y así poderlo detectar tempranamente, ya que siendo el tejido epitelial el sitio más frecuente de desarrollo de cáncer es posible establecer un método de diagnóstico de fácil manejo y reproductibilidad así como de bajo costo, en base a la utilización de tinciones de plata, evaluando la diferencia de AgNORs en 2 neoplasias malignas de la misma estirpe celular, que presentan diferente comportamiento clínico, con la finalidad de dar una detección temprana de cáncer en boca.

HIPÓTESIS

La cantidad de AgNORs por célula es diferente en el carcinoma epidermoide que en el carcinoma basocelular.

OBJETIVO GENERAL

Cuantificar la presencia de AgNORs en dos tumores malignos de la misma estirpe celular que presenten diferente comportamiento clínico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Cuantificar la presencia de Organizadores Nucleolares en carcinoma epidermoide de boca.

Cuantificar la presencia de Organizadores Nucleolares en carcinoma basocelular.

Correlacionar la presencia de AgNORs con el grado de diferenciación histológica de los tumores en estudio.

UNIVERSO DE ESTUDIO

Se seleccionaron 11 casos de carcinoma epidermoide y 11 de carcinoma basocelular del Archivo de Laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la División de Estudios de Posgrado e Investigación y del Departamento de Dermatología del Hospital Manuel Gea González S.S.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Todos aquellos casos diagnosticados clínicamente como carcinoma epidermoide y carcinoma basocelular corroborados histopatológicamente.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Todos los especímenes en los cuales histológicamente no exista presencia de tumor.

VARIABLES INDEPENDIENTE

Carcinoma epidermoide.- Es una neoplasia epitelial más común en boca.^{12,19}

Carcinoma basocelular.- Neoplasia maligna epitelial, compuesta de células semejantes a las de la capa basal.^{40,41}

Grado de diferenciación.- Bajo, intermedio y alto grado de malignidad.¹²

VARIABLES DEPENDIENTES

Características de los Organizadores Nucleolares en número.

TIPO DE ESTUDIO

Retrospectivo
Descriptivo
Cualitativo
Cuantitativo
Transversal

MATERIAL Y MÉTODOS

Material

- Matraz 125ml
- Vasos de Coplin
- Pipetas de 5 y 10ml
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Balanza analítica
- Microtomo
- Histokinette
- Microscopio de campo claro
- Microscopio Axhiofot Carl Zeiezz

Reactivos

- Nitrato de plata
- Gelatina bacteriológica
- Ácido fórmico
- Agua bidestilada
- Formalina amortiguada 10%
- Xilol
- Alcohol
- Hematoxilina de Gill
- Eosina
- Solución de Scott
- Resina sintética

METODOLOGÍA

Para llevar a cabo este estudio se seleccionaron 11 casos de carcinoma epidermoide y 11 de carcinoma basocelular del archivo de Laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la División de Estudios de Posgrado e Investigación y del Departamento de Dermatología del Hospital Manuel Gea Gonzalez S.S.

Los casos seleccionados fueron revisados por un patólogo bucal y la tesista al microscopio, para confirmar el diagnóstico histopatológico y en aquellos tejidos en que no existió presencia de tumor fueron eliminados del estudio.

Se utilizaron únicamente los bloques de tejidos para realizar 4 cortes histológicos a 4 micras de espesor, 2 de las laminillas se tiñeron con la técnica convencional de H y E, se revisaron con microscopía de campo claro y se gradificaron los carcinomas epidermoides de acuerdo a los criterios establecidos por Jackbsson para determinar si las neoplasias malignas eran de bajo, intermedio o alto grado de malignidad. Los carcinomas basocelulares se gradificaron de acuerdo a los criterios de Jackbsson eliminando dentro los factores intrínsecos de la neoplasia el grado de queratinización debido a que estos tumores no presentan como característica este factor.

Las otras 2 laminillas se tiñeron con sales de plata para Regiones de Organizadores Nucleolares de acuerdo con la técnica de Ploton descrita en 1986; con la siguiente fórmula: Gelatina al 2% en ácido fórmico acuoso al 1%, posteriormente se mezcló una parte de la solución con 2 partes de nitrato de plata al 50% durante 45 minutos en cuarto oscuro a una temperatura entre 20 y 25°C.

1.- Se desparafinaron e hidrataron las laminillas en agua destilada después se pasarón en:

- Xilol 1, durante 10 min.
- Xilol 2, durante 10 min.
- Alcohol Xilol 10 a 15 baños
- Alcohol 100 % (1) 10 a 15 baños
- Alcohol 100 % (2) 10 a 15 baños
- Alcohol 96° (1) 10 a 15 baños
- Alcohol 96° (2) 10 a 15 baños

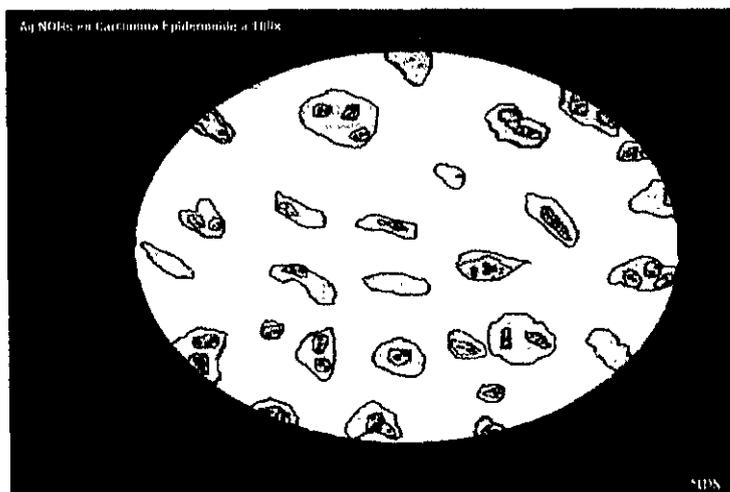
Se colocaron las laminillas en vasos de Coplin y se hidrataron durante un minuto; mientras se preparó la solución de trabajo, que constó de 2% de gelatina en un litro de ácido fórmico acuoso al 1%; después se mezcló una parte de esto con dos partes de Nitrato de Plata acuoso al 50%, la cual fué la solución de trabajo (la solución de trabajo fué preparada justo antes de teñir).

La solución de trabajo se manejó en un cuarto oscuro a una temperatura de 20 a 25°C; se colocó la solución de trabajo en vasos de Coplin y se sumergieron las laminillas dejándose durante 45min.

Después se lavaron con agua bidestilada y se deshidratan en:

- Alcohol 96° (2) 10 a 15 baños
- Alcohol 96° (1) 10 a 15 baños
- Alcohol 100% (2) 10 a 15 baños
- Alcohol 100% (1) 10 a 15 baños
- Alcohol xilol 10 a 15 baños
- Xilol 1 10 a 15 baños
- Xilol 2

Una vez realizada la técnica se montaron las laminillas para su observación al microscopio y la calibración para poder empezar hacer la cuantificación de AgNORs; esta no se pudo realizar, sino hasta que los resultados de la Patóloga y los míos eran semejantes. La observación y la cuantificación de las manchas nucleolares se realizaron a doble ciego por un Patólogo bucal y la tesista utilizando un objetivo de 100x y aceite de inmersión, en la *figura 8* se muestra una esquematización del carcinoma epidermoide con la técnica de AgNORs a 100X; se elaboró una cédula para recolección de datos en la cual se estableció la observación de 10 campos por caso con los siguientes datos: número de células por campo y número de AgNORs, así como promedio total de AgNORs por célula. **ANEXO 1.**
figura 8. Esquematación de AgNORs en carcinoma epidermoide a 100 X



ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A los resultados de la Patóloga y los mios de cada lesión se les obtuvo el número total de AgNORs y el número total de células; se les aplicó porcentaje, promedio, desviación estándar y el coeficiente de correlación de Spearman, analizando todos los datos con una confiabilidad de $p=0.05$.

RESULTADOS

De los 22 carcinomas estudiados, 11 carcinomas epidermoides (100%) y 11 carcinomas basocelulares (100%); obtuvimos al aplicar los criterios de Jackbsson lo siguiente: en el carcinoma epidermoide 4 casos (36.36%) fueron de bajo grado de malignidad; 4 casos (36.36%) de grado intermedio y 3 casos (27.28%) de alto grado de malignidad. En la *tabla 3* se muestra la gradificación de cada uno de los casos de acuerdo a los criterios de Jackbsson.

tabla 3. Gradificación histológica de Carcinoma Epidermoide

FOI-20898

Queratinización	2
Polimorfismo nuclear	3
Número de mitosis	3
Patrón de invasión	2
Estado de invasión tumoral	2
Infiltrado linfoplasmocitario	1

Puntaje total: 13 ***Grado: BAJO***

FOI-20998

Queratinización	2
Polimorfismo nuclear	3
Número de mitosis	2
Patrón de invasión	3
Estado de invasión tumoral	2
Infiltrado linfoplasmocitario	1

Puntaje total: 11 ***Grado: BAJO***

FOI-21998

Queratinización	3
Polimorfismo nuclear	3
Número de mitosis	2
Patrón de invasión	2
Estado de invasión tumoral	2
Infiltrado linfoplasmocitario	1

Puntaje total: 13 **Grado: BAJO**

FOI-22298

Queratinización	2
Polimorfismo nuclear	3
Número de mitosis	2
Patrón de invasión	1
Estado de invasión tumoral	3
Infiltrado linfoplasmocitario	1

Puntaje total: 12 **Grado: BAJO**

FOI-21298

Queratinización	1
Polimorfismo nuclear	4
Número de mitosis	1
Patrón de invasión	4
Estado de invasión tumoral	2
Infiltrado linfoplasmocitario	2

Puntaje total: 14 **Grado: INTERMEDIO**

FOI-21398

Queratinización	2
Polimorfismo nuclear	4
Número de mitosis	1
Patrón de invasión	4
Estado de invasión tumoral	2
Infiltrado linfoplasmocitario	1

Puntaje total: 14 **Grado: INTERMEDIO**

FOI-21498

Queratinización	2
Polimorfismo nuclear	4
Número de mitosis	1
Patrón de invasión	4
Estado de invasión tumoral	2
Infiltrado linfoplasmocitario	2

Puntaje total: 15 **Grado: INTERMEDIO**

FOI-22398

Queratinización	4
Polimorfismo nuclear	3
Número de mitosis	2
Patrón de invasión	3
Estado de invasión tumoral	2
Infiltrado linfoplasmocitario	2

Puntaje total : 16 **Grado: INTERMEDIO**

FOI-21098

Queratinización	3
Polimorfismo nuclear	4
Número de mitosis	3
Patrón de invasión	4
Estado de invasión tumoral	2
Infiltrado linfoplasmocitario	2

Puntaje total: 18 **Grado: ALTO**

FOI-21598

Queratinización	4
Polimorfismo nuclear	4
Número de mitosis	1
Patrón de invasión	4
Estado de invasión tumoral	4
Infiltrado linfoplasmocitario	4

Puntaje total: 21 **Grado: ALTO**

FOI-21898

Queratinización	4
Polimorfismo nuclear	4
Número de mitosis	2
Patrón de invasión	4
Estado de invasión tumoral	2
Infiltrado linfoplasmocitario	1

Puntaje total: 17 **Grado: ALTO**

En la gradificación del carcinoma basocelular al tratar de aplicar los criterios de Jackbsson eliminando como se mencionó en la metodología el grado de queratinización, obtuvimos los siguientes resultados: 6 casos de bajo grado (54.54%); 4 casos de grado intermedio (36.36%) y 1 caso de alto grado de malignidad (9.10%). Los resultados de aplicar individualmente los criterios de Jackbsson a estos tumores se muestran en la **tabla 4**.

tabla 4. Gradificación histológica del carcinoma basocelular

FOI 22898

Polimorfismo nuclear	1
Número de mitosis	1
Patrón de invasión	2
Estado de invasión tumoral	3
Infiltrado linfoplasmocitario	2

Puntaje total: 9 **Grado: BAJO**

FOI 10999

Polimorfismo nuclear	2
Número de mitosis	1
Patrón de invasión	1
Estado de invasión tumoral	2
Infiltrado linfoplasmocitario	1

Puntaje total: 7 **Grado: BAJO**

FOI 11299

Polimorfismo nuclear	2
Número de mitosis	1
Patrón de invasión	1
Estado de invasión tumoral	2
Infiltrado linfoplasmocitario	3

Puntaje total: **9** ***Grado: BAJO***

FOI 11399

Polimorfismo nuclear	2
Número de mitosis	1
Patrón de invasión	1
Estado de invasión tumoral	2
Infiltrado linfoplasmocitario	2

Puntaje total: **8** ***Grado: BAJO***

FOI 11499

Polimorfismo nuclear	2
Número de mitosis	1
Patrón de invasión	2
Estado de invasión tumoral	2
Infiltrado linfoplasmocitario	2

Puntaje total: **9** ***Grado: BAJO***

FOI 11599

Polimorfismo nuclear	2
Número de mitosis	1
Patrón de invasión	2
Estado de invasión tumoral	2
Infiltrado linfoplasmocitario	2

Puntaje total: **9** ***Grado: BAJO***

FOI 22798

Polimorfismo nuclear	2
Número de mitosis	1
Patrón de invasión	1
Estado de invasión tumoral	3
Infiltrado linfoplasmocitario	3

Puntaje total: **10** ***Grado: INTERMEDIO***

FOI 10899

Polimorfismo nuclear	2
Número de mitosis	1
Patrón de invasión	1
Estado de invasión tumoral	3
Infiltrado linfoplasmocitario	4

Puntaje total: **11** ***Grado: INTERMEDIO***

FOI 11099

Polimorfismo nuclear	2
Número de mitosis	1
Patrón de invasión	3
Estado de invasión tumoral	3
Infiltrado linfoplasmocitario	3

Puntaje total: **12** ***Grado: INTERMEDIO***

FOI 11199

Polimorfismo nuclear	3
Número de mitosis	1
Patrón de invasión	3
Estado de invasión tumoral	3
Infiltrado linfoplasmocitario	1

Puntaje total: **11** ***Grado: INTERMEDIO***

FOI 25298

Polimorfismo nuclear	2
Número de mitosis	4
Patrón de invasión	4
Estado de invasión tumoral	3
Infiltrado linfoplasmocitario	1

Puntaje total:**14****Grado: ALTO**

Al administrar la tinción de plata para Regiones de Organizadores Nucleolares (AgNORs) encontramos en general que el número y tamaño de Organizadores fué variable; algunos de ellos fueron gruesos y escasos mientras que otros son finos y abundantes, sin embargo este dato no se cuantificó. La observación de los resultados que se presentan se basa en el número de células observadas en 10 campos a 100x y el número de Organizadores visibles, cuantificables dentro de los nucléolos de estas células. Los resultados del conteo por cada uno de los casos en estudio del número total de células, la cuantificación total de AgNORs así como el promedio y la desviación estándar del Carcinoma Epidermoide se muestran en la *tabla 5* y del Carcinoma Basocelular en la *tabla 6*.

tabla 5. Conteo total de AgNORs en Ca. Epidermoide

CASO	Núm.de células	AgNORs	Promedio	Sd (+/-)
FOI 20898	319	2583	8.10	0.11
FOI 20998	526	3801	7.23	0.02
FOI 21098	154	1448	9.40	0.14
FOI 21298	162	1190	7.35	0.03
FOI 21398	296	1771	5.98	0.09
FOI 21498	180	658	3.66	0.33
FOI 21598	319	2058	6.45	0.05
FOI 21998	440	2552	5.80	0.11
FOI 21898	781	4370	5.60	0.13
FOI 22298	253	2288	9.04	0.20
FOI 22398	500	3964	7.93	0.09
PROMEDIO TOTAL:	357.27	2425.73	6.96	
<u>DESVIACIÓN ESTANDAR DE AgNORs</u>	0.53			

tabla 6. Conteo total de AgNORs en Ca. Basocelular

CASO	Núm.De células	AgNORs	Promedio	Sd(+/-)
FOI 22798	850	2219	2.16	0.09
FOI 22898	534	1654	3.10	0.04
FOI 25298	773	3090	4.00	0.04
FOI 10899	547	2592	4.74	0.11
FOI 10999	549	2463	4.49	0.09
FOI 11099	884	2284	2.58	0.09
FOI 11199	239	1097	4.59	0.10
FOI 11299	973	3652	3.75	0.02
FOI 11399	941	3086	3.28	0.02
FOI 11499	908	2636	2.90	0.06
FOI 11599	434	1303	3.00	0.05
PROMEDIO TOTAL	693.82	2370.55	3.55	
<u>DESVIACIÓN ESTANDAR DE AgNORs :</u>	0.253			

El promedio del total de AgNORs por caso, así como los resultados de la gradificación histológica de los 2 tumores en estudio se muestran en la *tabla 7*.

**tabla 7. Total AgNORs y Gradificación Jackbosson
EPIDERMOIDE & BASOCELULAR**

CASO	Total AgNORs	Gradificación histológica
	EPIDERMOIDE	
FOI 20898	8.10	BAJO
FOI 20998	7.23	BAJO
FOI 21098	9.40	ALTO
FOI 21298	7.35	INTERMEDIO
FOI 21398	5.98	INTERMEDIO
FOI 21498	3.66	INTERMEDIO
FOI 21598	6.45	ALTO
FOI 21998	5.80	BAJO
FOI 21898	5.60	ALTO
FOI 22298	9.04	BAJO
FOI 22398	7.93	INTERMEDIO
	BASOCELULAR	
FOI 22798	2.16	INTERMEDIO
FOI 22898	3.10	BAJO
FOI 25298	4.00	ALTO
FOI 10899	4.74	INTERMEDIO
FOI 10999	4.49	BAJO
FOI 11099	2.58	INTERMEDIO
FOI 11199	4.59	INTERMEDIO
FOI 11299	3.75	BAJO
FOI 11399	3.28	BAJO
FOI 11499	2.90	BAJO
FOI 11599	3.00	BAJO

El promedio del conteo de AgNORs al compararlo con la gradificación histológica de los tumores fue: en el carcinoma epidermoide en los 4 casos de bajo grado de malignidad (36.36%) fue de 7.54 AgNORs; en los 4 casos de grado intermedio (36.36%) fue de 6.13 AgNORs y en los 3 casos de alto grado de malignidad (27.28%) fue de 7.27 AgNORs. Los resultados de la observación microscópica con las técnicas de HyE y AgNORs se muestran en la *figura 9 a y b*.

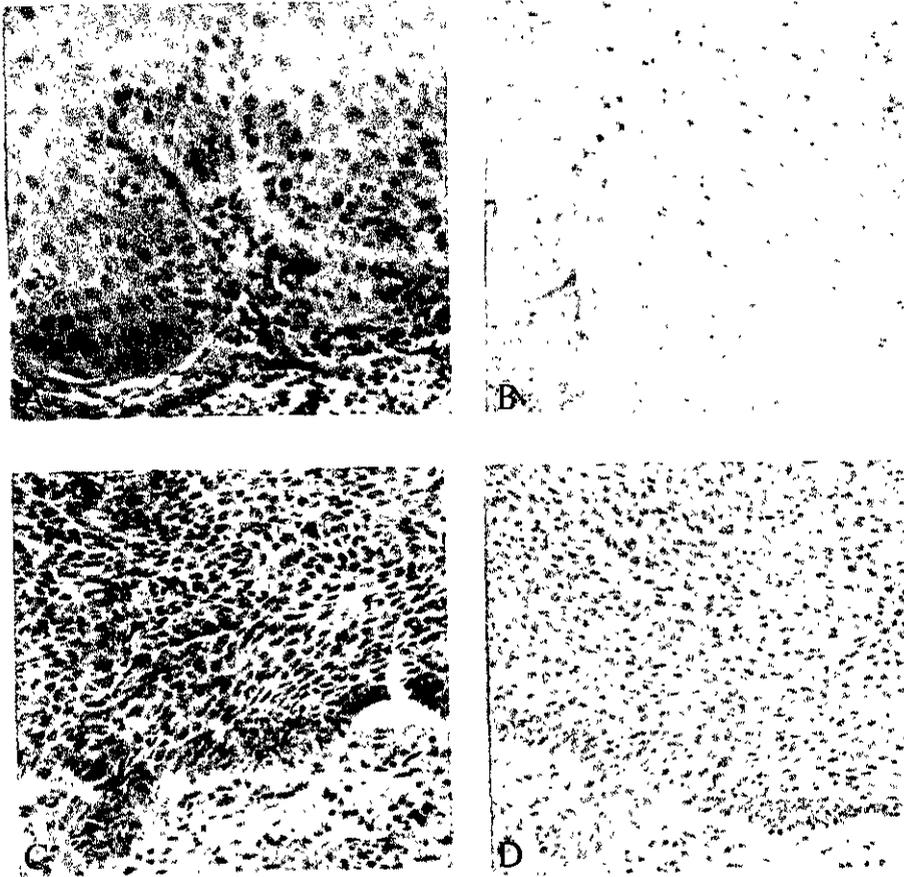


Figura 9. A) Carcinoma epidermoide de bajo grado: B) El mismo carcinoma teñido con AgNORs. C) Carcinoma basocelular de alto grado y D) El mismo carcinoma teñido con AgNORs. 20x.

En el carcinoma basocelular obtuvimos 6 casos de bajo grado de malignidad(54.54%) con un promedio de AgNORs de 3.42; 4 casos de grado intermedio (36.36%) con un promedio de AgNORs de 3.63 y 1 caso de alto grado (9.10%) con un promedio de 4.49 AgNORs. Los resultados se observan en la *figura 9 C y D*.

Los resultados de la gradificación histológica del carcinoma Epidermoide y del basocelular así como el promedio de la cuantificación de los AgNORs por grado se muestran *gráficas 1 y 2*; y se demuestran en la *figura 10 A, B, C, y D*.

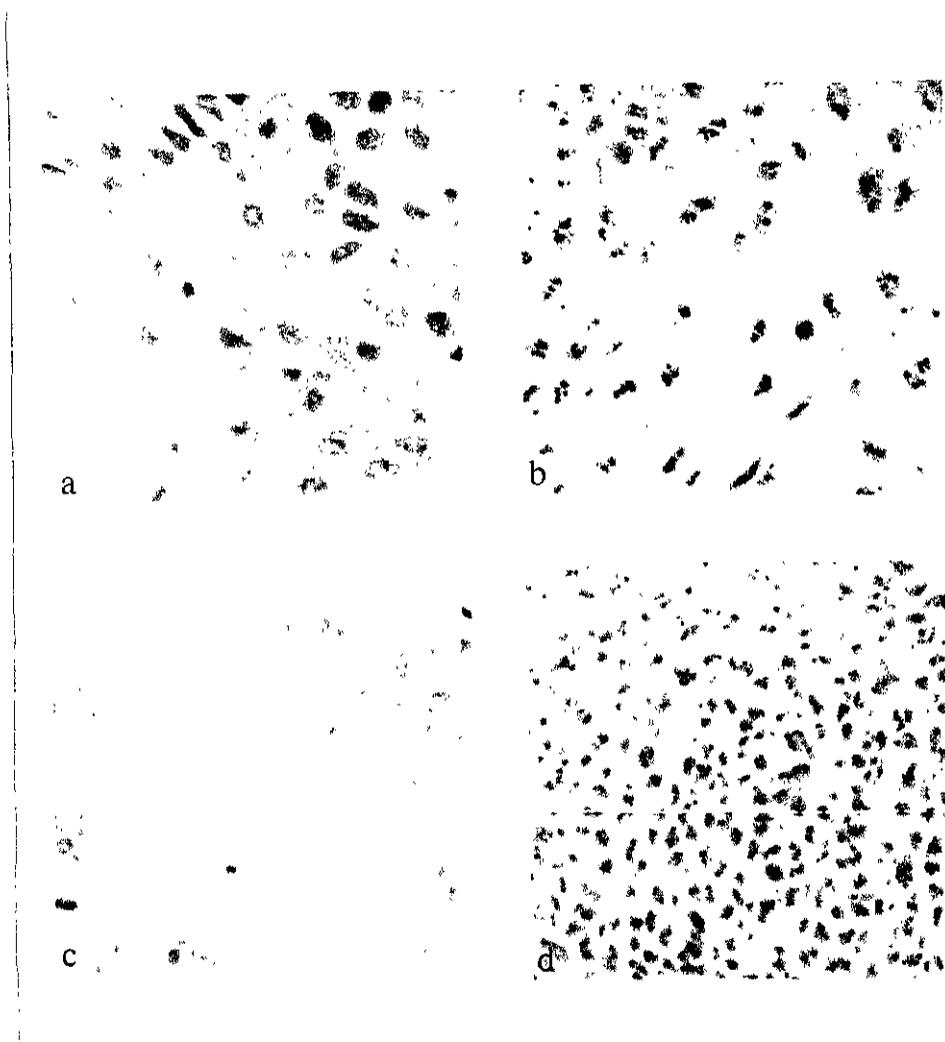
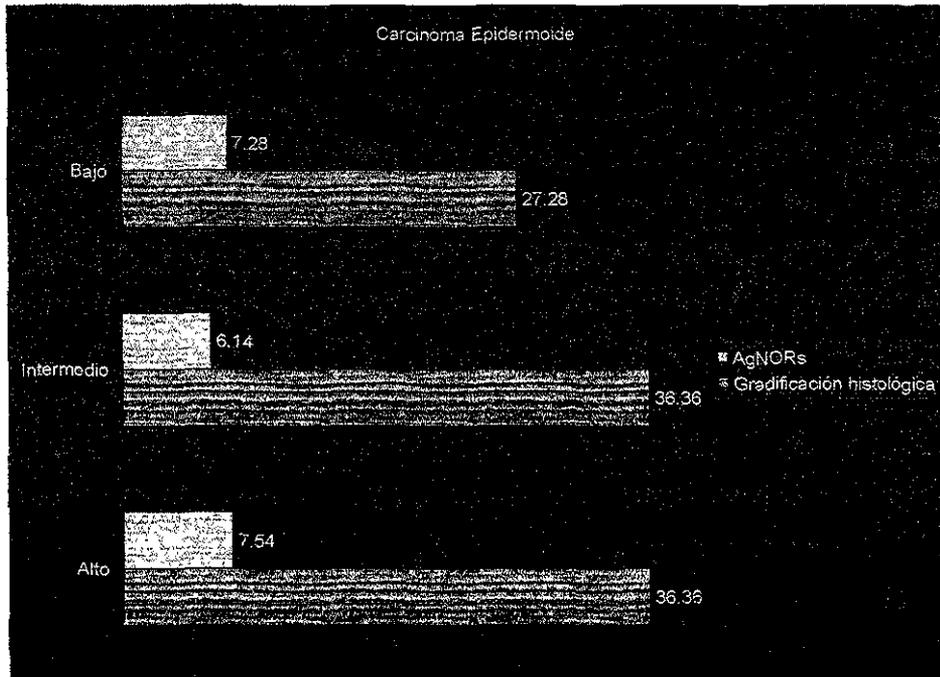
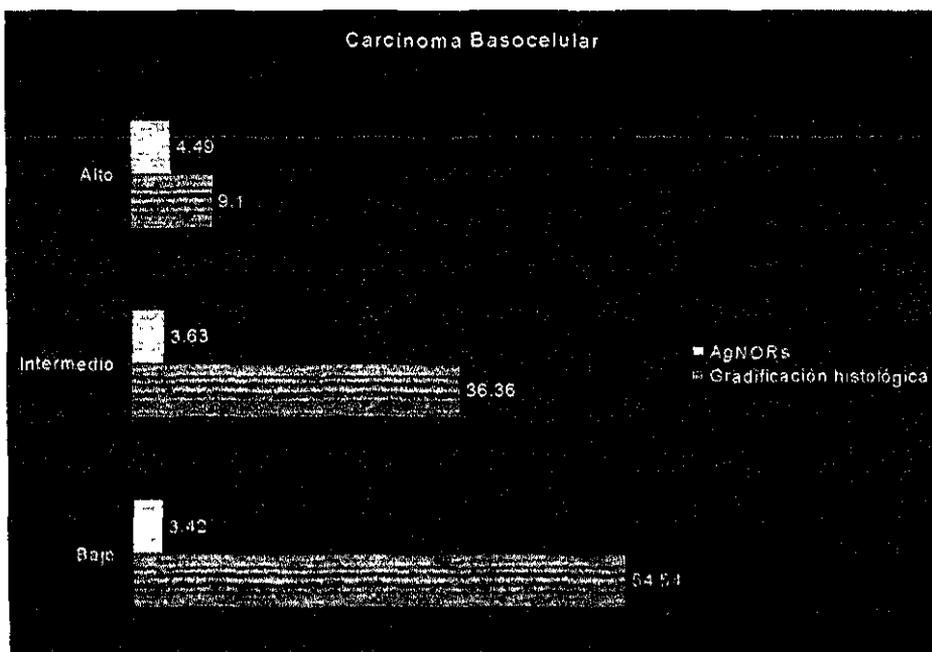


Figura 10. A) CA. epidermoide con áreas de queratinización individual. B) El mismo caso con abundantes Regiones de Organizadores. C) Basocelular con células pequeñas y uniformes. D) Manchas nucleolares escasas y gruesas del mismo basocelular. 40X

Gráfica 1. Carcinoma Epidermoide total AgNORs & Gradificación Histológica



Gráfica 2. Carcinoma Basocelular total AgNORs & Gradificación histológica



En la *tabla 8* mostramos el promedio total del número de células contadas, la cuantificación total de AgNORs en ellas; así como el promedio y la desviación estándar. Los patrones histológicos de los 2 tumores en estudio al aplicar la técnica de plata coloidal, se muestran en la *figura 11 A y B*.

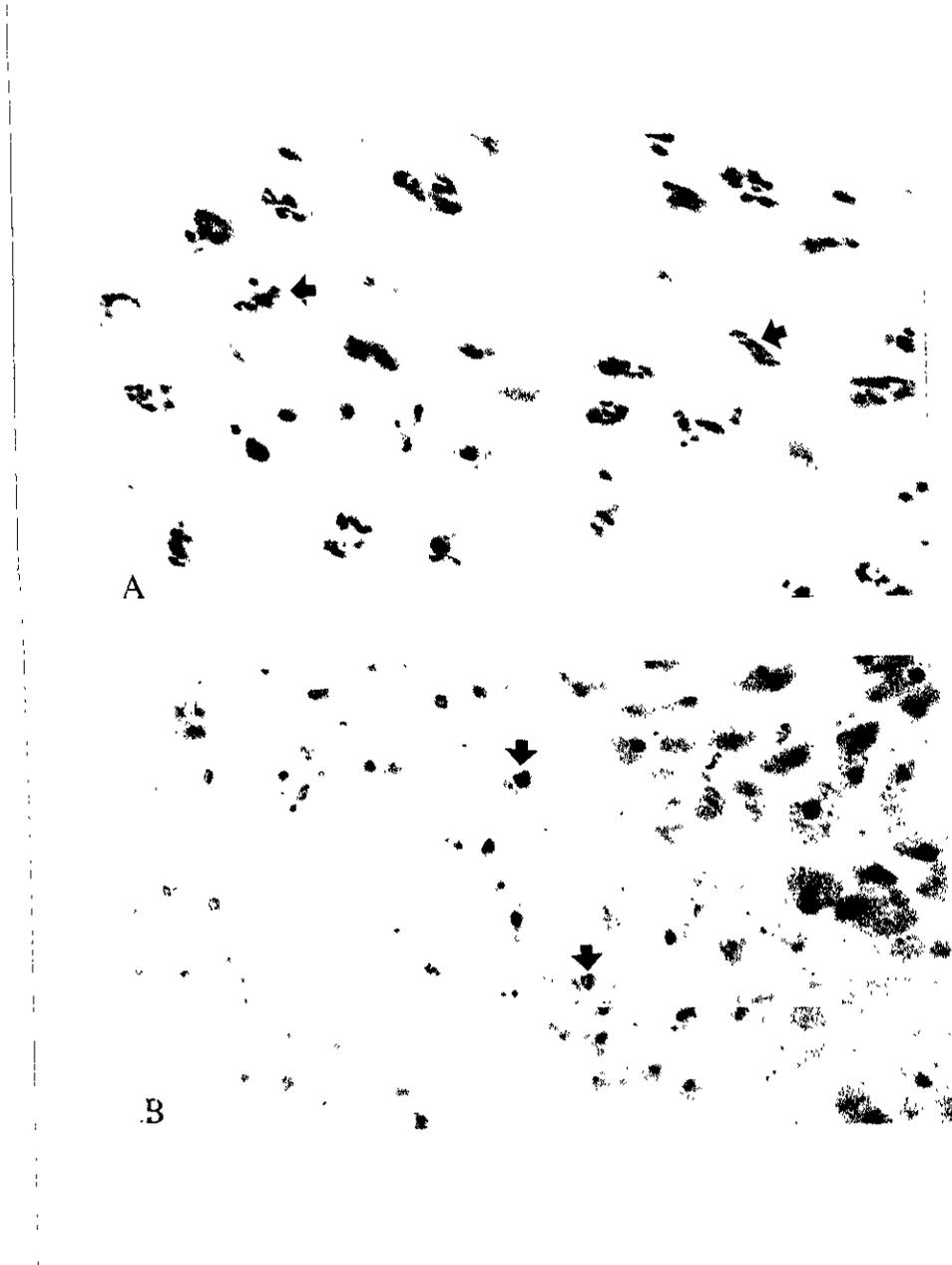


Figura 11. A) Carcinoma epidermoide; B) Carcinoma basocelular con las flechas se muestran el número de Organizadores Nucleolares contados por célula en un campo de 100X en ambos tumores

tabla 8.

	Núm. Células	AgNORs	Promedio	Sd
Carcinoma epidermoide	357.27	2425.73	6.96	± 0.53
Carcinoma basocelular	693.82	2370.55	3.55	± 0.25

Al aplicar a nuestros resultados el coeficiente de correlación de Spearman obtuvimos los siguientes datos, *tabla 9*.

Aplicando la siguiente fórmula $r_s = \frac{1 - 6 (\sum D^2)}{n(n^2 - 1)}$

tabla 9.

CASOS	X AgNORs	Y Gradificación	T	T2
EPIDERMOIDE				
FOI 20898	8.10	.3636	-9.5	90.25
FOI 20998	7.23	.3636	-6.5	42.25
FOI 21098	9.40	.2728	-19	361
FOI 21298	7.35	.3636	-7.5	56.25
FOI 21398	5.98	.3636	-4.5	20.25
FOI 21498	3.66	.3636	3.5	12.25
FOI 21598	6.45	.2728	-13	169
FOI 21998	5.80	.3636	-3.5	12.25
FOI 21898	5.60	.2728	10	100
FOI 22298	9.04	.3636	-10.5	110.25
FOI 22398	7.93	.3636	-8.5	72.25
BASOCELULAR				
FOI 22798	2.16	.3636	9.5	90.25
FOI 22898	3.10	.5454	14.5	210.25
FOI 25298	4.00	.0910	8	64
FOI 10899	4.74	.3636	-1.5	2.25
FOI 10999	4.49	.5454	9.5	90.25
FOI 11099	2.58	.3636	8.5	72.25
FOI 11199	4.59	.3636	.5	.25
FOI 11299	3.75	.5454	11.5	132.25
FOI 11399	3.28	.5454	13.5	182.25
FOI 11499	2.90	.5454	16.5	272.25
FOI 11599	3.00	.5454	15.5	240.25

$r_s = 1.35^*$

* = diferencia estadísticamente significativa
p=0.05

$$r_s = \frac{1 - 6(2402.5)}{22(22^2 - 1)} = \frac{14414}{10647} = 1.35$$

Debido a la naturaleza de esta investigación se utilizó el método de correlación de rangos de Spearman ya que es una medida no paramétrica cuando se tienen dos variables diferentes, en este caso los criterios de Gradificación de Jackbsson y la Cuantificación de Organizadores Nucleolares.

El resultado fue que ambas variables se correlacionan de manera positiva, es decir cuando una aumenta o disminuye en la otra sucede lo mismo.

ESTA TESIS NO DEBE
SER DE LA BIBLIOTECA

DISCUSIÓN

Los criterios de Jackbsson, se han descrito como el mejor sistema de gradificación para evaluar la invasión, potencial metastásica y predecir la conducta biológica del carcinoma epidermoide de laringe y boca.³⁸

El pronóstico de los pacientes con carcinoma epidermoide es muy difícil de predecir. Por lo cual es necesario la búsqueda de marcadores pronósticos confiables, los cuales ayuden a la decisión de tratamiento. Bryne y Cols.³⁹ sostienen la hipótesis de que las características moleculares y morfológicas en las áreas superficiales de los carcinomas puede reflejar el pronóstico de la neoplasia ya que eventos moleculares de importancia para la diseminación de la neoplasia son la pérdida de las moléculas de adhesión, la secreción de enzimas proteolíticas, incremento en la proliferación celular, e iniciación de la angiogenesis, lo cual ocurre en la interfase huésped-neoplasia, al cual se le denomina frente invasivo. El mecanismo por medio del cual se controlan los índices de proliferación de los diferentes tipos de células es uno de los aspectos menos comprendidos dentro de la biología celular.⁴⁶ Sin embargo, entre los marcadores sugeridos como indicadores de proliferación celular se encuentran las Regiones de Organizadores Nucleolares, los cuales al ser teñidos con plata coloidal se observan como puntos negros en las secciones de tejidos dentro del nucléolo y el conteo promedio es calculado entre 50 y 100 células.

Aunque la función exacta de estas proteínas es incierta, sin embargo se ha demostrado su correlación con la proliferación celular. Se ha sugerido que el número de AgNORs, en un núcleo en interfase puede reflejar el estadio de activación y el grado de transformación maligna de ciertos tejidos, así mismo los AgNORs reflejan el grado de proliferación y diferenciación celular.^{23,63} Cabrini y Cols.⁵⁹ mencionan que el conteo de AgNORs puede contribuir al diagnóstico cuando existe asociación con los parámetros de displasia estableciendo el grado de transformación maligna, por lo cual este método puede ser un auxiliar como marcador cuantitativo en alteraciones celulares incipientes antes de que los cambios puedan ser detectados histológicamente. Xin Xie y Cols.⁶¹ sugieren que la cuantificación de AgNORs es un parámetro de gran valor en la patología tumoral, ya que un incremento en el número de AgNORs, está asociado con un incremento con la agresividad de un tumor; ellos se han basado en el dato de que el promedio del número de AgNORs por núcleo es más alto en tejidos malignos que en benignos; en sus resultados mencionan que en el epitelio normal el 70% de los núcleos muestran únicamente uno o dos AgNORs y en el carcinoma epidermoide más del 60% de los núcleos presentaron más de cuatro AgNORs, así mismo los

epitelios displásicos muestran una distribución de AgNORs; entre el epitelio normal y el carcinoma epidermoide, sin demostrar las cifras exactas. Xin Xie y Cols.⁶¹ apoyan la teoría reportada por Cabrini y Cols.⁵⁹ de que esta técnica puede ser un indicador diagnóstico de mucha utilidad en los tumores malignos. Warnakulasuraya y Cols.⁵⁷ cuantificaron los NOR en lesiones benignas, reactivas, displasias y carcinomas, utilizando la tinción de plata; el promedio del conteo de AgNORs en su estudio fue en carcinomas de 8.37; en displasias epiteliales de 5.61 y en queratosis de 4.51. En un estudio realizado en nuestra Facultad obtuvieron que el carcinoma epidermoide de boca se comporta como una enfermedad agresiva independientemente del grado de diferenciación de los tumores al aplicar los criterios de Jackbsson, encontrando que el número promedio de AgNORs fue de 9.5 manchas nucleolares, comentando que un carcinoma epidermoide con alto contenido de AgNORs puede tener un carácter agresivo y que a mayor número de AgNORs más pobre será el pronóstico independientemente del grado de diferenciación.⁵⁸

Bajo esta consideración los estudios conducen a que existen diferencias significativas entre tumores benignos y malignos estableciendo que después de un conteo amplio es posible determinar el valor de este método en la determinación del comportamiento biológico en los tumores "borderline". Schwint y Cols.⁶² cuantificaron los valores de los NORs en Carcinoma epidermoide, en epitelio adyacente al carcinoma y en mucosa normal, cuantificando un promedio de 6.56 en el carcinoma; 4.81 en el epitelio adyacente y 2.95 en el epitelio normal, mencionando que el crecimiento lateral de tumor puede deberse en parte por los cambios progresivos de las células periféricas del cáncer y no por la expansión y destrucción de células malignas preexistentes del cáncer.^{64,65}

En base a nuestros resultados en los cuales obtuvimos un promedio de 6.96 AgNORs en el carcinoma epidermoide y comparandolos con Xin Xie y Cols.⁶¹ en donde mencionan que en esta neoplasia más del 60% de los núcleos presentaron más de cuatro AgNORs sin establecer cifras exactas, consideramos que nuestros datos se acercan a los obtenidos por Warnakulasuraya y Cols.⁵⁷, donde su promedio de AgNORs en carcinomas epidermoides fue de 8.37 mientras que Schwint y Cols.⁶² los cuales reportan un promedio de 6.56; la discrepancia entre los resultados obtenidos puede deberse a una falta en la estandarización de la técnica para valorar y cuantificar los AgNORs, pero consideramos que es cuestión de tiempo para poder lograrlo.

Por otra parte, las células del carcinoma basocelular son de aspecto característico y casi uniforme, semejan células de la capa basal epidérmica o de la matriz del pelo; el núcleo es grande y de forma oval o alargada, el citoplasma es escaso y los bordes celulares son difíciles de definir.⁴¹ En este estudio nosotros intentamos gradificar los carcinomas basocelulares bajo los criterios establecidos

por Jackbsson, pero modificados de acuerdo a las características propias de este tumor; cabe mencionar que esta modificación se hizo de manera tentativa ya que no encontramos en la literatura reporte que establezcan la aplicación de estos criterios a ellos, se realizó con el fin de poder compararlos bajo las mismas circunstancias y así poder realizar el análisis estadístico que le diera validez al estudio.

De La Rosa y Cols.⁶⁶ dividen al carcinoma basocelular en dos grupos: carcinoma basocelular agresivo y carcinoma basocelular no agresivo; ellos al observar los AgNORs presentes en esta lesión, contaron en el primero 9.48 y en el segundo 6.56; nosotros como no contamos con los antecedentes clínicos de los pacientes no pudimos hacer esta clasificación por lo cual intentamos gradificar a los tumores de acuerdo al comportamiento biológico local. Y con base en los criterios de Jackbsson dividiéndolos en bajo, intermedio y alto grado de malignidad; cabe mencionar que el promedio total de células contadas en el carcinoma basocelular fue mayor que el carcinoma epidermoide, pero estas tuvieron una diferenciación celular mayor que la del epidermoide, ya que en pocos casos perdieron su uniformidad, el rango en el promedio de AgNORs fue de 3.42 a 4.49 no alcanzando las cifras que ellos mencionan.

Al comparar nuestros resultados entre el carcinoma basocelular y el carcinoma epidermoide, encontramos que el promedio de AgNORs para el basocelular fue $3.55 \text{ Sd} \pm 0.25$ y para el epidermoide fue de $6.96 \text{ Sd} \pm 0.53$ lo cual al analizarlo estadísticamente aplicando el coeficiente de correlación de Spearman tuvimos una significancia de $r_s = 1.35$ por lo cual el resultado fue que ambas variables; la Gradificación de Jackbsson y la Cuantificación de Organizadores Nucleolares, se correlacionan de manera positiva, es decir cuando una aumenta o disminuye en la otra sucede lo mismo.

CONCLUSIONES

- El carcinoma epidermoide presentó mayor número de Regiones de Organizadores Nucleolares que el carcinoma basocelular.
- Existe una correlación significativa entre el grado de diferenciación de los tumores en estudio y la cuantificación de AgNORs.
- De acuerdo con nuestros resultados podemos concluir que el número de AgNORs reflejan una actividad proliferativa de los tumores, por lo cual consideramos necesario estudiar más a fondo este indicador de proliferación en estudios prospectivos.
- Esta técnica es un parámetro accesible y comparable que se podría utilizar en forma rutinaria de manera paralela a los criterios de Jackbsson para predecir la conducta biológica del carcinoma epidermoide y carcinoma basocelular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bhaskar, N., *Histología y Embriología Bucal de Orban*, Novena edición, Edit. El Ateneo, Argentina, 1986, pp.289-363.
2. Sicher, Harry., *Histología y Embriología Bucal*, Cuarta edición, Edit. La Prensa Médica Mexicana, México, 1981, pp.209- 259.
3. Ten Cate, A.R., *Histología Oral*, Segunda edición, Edit. Panamericana, Buenos Aires, 1986, pp.400-448.
4. Ross, Michael., *Histología Texto y Atlas Color*, Tercera edición, Edit. Panamericana, México, 1997, pp.368-403.
5. Austin Charlotte, Barri Iris, Boylston Arthur, Clark Gill., *El Hombre*, Capítulo 42 (PIEL), Edit. Círculo de Lectores, Barcelona, 1985.
6. Ramón Alcalde González, A. Fernández Cruz; *El Libro de la Salud*, Tercera edición, Edit. Oceano-Danae, Madrid, España, 1990, pp.54-63.
7. Pindborg, Jens., *Cáncer y Precáncer Bucal*, Primera edición, Edit. Panamericana, Buenos Aires, 1981, pp.33.
8. Ham, Arthur., *Tratado de Histología*, Séptima edición, Edit. Interamericana, México, 1980, pp.555-583.
9. Lever, Walter F., *Histopathology of the Skyn*, Séptima edición, Edit. Lippncott Company Philadelphia, 1990, pp.9-43.
10. Elson, B., *The Skyn*, Edit. Waverli Press, Inc. Baltimor, USA, 1971.
11. Ackerman, B.A., *Histologic Diagnosis of Inflammatory skin Disease*, Primer Capítulo.
12. Flores, F.G., *Patología Oncológica*, Primera edición, Edit. Mc Graw- Hill Interamericana, México, 1997, pp.22-31.

- 13.Santana, Carla y García Carrancá, Alejandro., Los genes RAS, el ciclo celular y el desarrollo UNAM, México, Septiembre 1997, pp.86-91.
- 14.Captain Auclair, Paul., Oral Squamous cell carcinoma, Departament of Oral Pathology, Armed Forces, Institute of Pathology, Washington DC., 1996, pp.1-22.
- 15.Regezi, Joseph A., Patología Bucal, Segunda edición, Edit. Interamericana, México, 1996, pp.81-93, 601-604.
- 16.Solomon, E. P., Biología de Ville, Tercera edición, Edit. Interamericana, México, 1995, pp.356.
- 17.Villar, R. A., Monografías oncológicas, Cáncer de cabeza y cuello, México, 1997, pp.1 –18.
- 18.Fenogreo-Preiser., Molecular Diagnostics in Pathologic, Primera edición, Edit. Williams & Willkins, United States of America, 1991, pp.289.
- 19.Robbins, C. K., Patología Estructural y Funcional, Cuarta edición, Edit. Interamericana, España, 1990, pp.1358.
- 20.Oliver, J. A., BDS, MDSC, John F. Helfrick, DDS, MS, y Don Gard, MD., Primary Oral Squamous Cell Carcinoma, Journal Oral Maxillo Surg 1996,54: pp.949 – 954.
- 21.Bagán Sebastián,J.V., Medicina Oral, Edit. Mason, México, 1995, pp.186 – 194.
- 22.Ichiro, Ogura., Quantitative evaluation of consistency of normal mucosa, Leukoplakia y squamous cell carcinoma of the tongue, Journal of Cranio-Maxillofacial surgery 1998; 26: pp.107-111.
- 23.Donofrio, V., L. Lo Muzio, M.D. Mignogna, G. Troncone, S.Staibano, A. Boscaino y G. De Rosa., Prognostic evaluation of HPV-Associated precancerous and microinvacive carcinome of the Oral Cavity: combined use of Nucleolar Organizer Regions (AgNOR) and Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA), Oral Oncol, Eur J Cancer, Vol. 31B, No. 3, 1995, pp.174-180.

24. Joshikazu Suel, Keiji Tanimoto, Akira Taguchi y Takuro Wana., Mucosal condition of the Oral Cavity and sites of origin of Squamous Cell Carcinoma, Journal Oral Maxillo Fac Surg, 1995,53: pp.144-147.
25. Bundgaard T., S.M.. Bentzen y J. Wildt., The Prognostic effect of Tabacco y Alcohol consumption in intra-oral Squamous Cell Carcinoma, Oral Oncol, Eur J Cancer, Vol. 30 B, No.5 pp.323-328.
26. Macfarlane, G.J., T.Zheng, J.R. Marshall, P. Boffetta, S.Niu, J. Brasure, F. Merletti y P. Boyle., Alcohol, Tabaco, Dieta and the Risk of Oral Cancer: a Pooled Analysis of three case control studies, Oral Oncol, Eur J cancer, Vol. 31B, No.3, pp.181-187.
27. Barasch Andrei, D.M.D., Douglas E, Morse, D.D.S., S.M., David J. Krutchkoff, D.D.S., M.S., y Ellen Eisenberg, D.M.D., Smoking, Gender, and Age as Risk Squamous Cell Carcinoma, Cáncer 1994; 73: pp.509-513.
28. Joshua E. Muscat, John P. Richie, Jr., Seth Thompson, y Ernst L. Wynder., Gender Differences in Smoking and Risk for Oral Cancer, Cancer reserch Noviembre 15, 1996:56, pp.5192-5197.
29. Llewelyn J., Mitchell R., Smoking, alcohol and oral cancer in South East Scotland: a 10-year experience, British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery (1994) 32, pp.146-152.
30. Andre K., S. Schraub, M. Mercier y P. Bontemps., Role of Alcohol and Tobacco in the Aetiology of Head and Neck Cancer: a Case-Control Study en the Doubs Region of France; Oral Oncol, Eur J Cancer, 1995, Vol.31b, No.5, pp.301-309.
31. Nadarajah Vigneswara, Dr Med Dent, Ken Tilashalski, DMD, Brad Rodu, DDS, y Philip Cole, MD, DrPh, Birmingham, Ala., Tabacco use and cancer, Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod 1995,80: pp.178-82.
32. Rose, L., Medicina Interna en Odontología, Edit. Salvat, Tomo II, España, 1992, pp.1014.
33. Lumerman Harry, DDS, Paul Freedman, DDS, y Stanley Kerpel, DDS, Flushing, N.Y., Oral Epithelial Dysplasia and the development of invasive squamous cell carcinoma, Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod, 1995: 79: pp.321- 329.

34. Abbey, Louis M George E. Kaugars, John C. Gursolley, James c. Burns, Dennis G. Page, John A. Svirsky, Ellen Eisenberg, David J. Kruchkoff y Mark Cushing., *Intraexaminer and Interexaminer reliability in the diagnosis of Oral Ephetelial Dysplasia*, Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod, 1995; 80: pp.188-191
35. Abbey, Louis M, George E. Kaugars, John C. Gunsolley, James C. Burns, Dennis G. Page, John A. Svirsky, Ellen Eisenberg y Davis J. Krutchkoff., *The effect of clinical information on the Histopathologic Diagnosis of the Oral Ephetelial*, Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod, 1998; 85: pp.74-77.
36. Burkhardt, Arne., *Oral cancer*, Color Atlas, Wolfe Medical Publications, Chicago, 1981, pp. 33.
37. Strassburg, M., *Diseases of the Oral Mucosa*, Color Atlas, Segunda edición, Editorial Quintessence Publishing CO., Illinois, 1994, pp.364
38. Masanori Shinohaja, DDS, PhD, Seiji Nakamura, DDS, PhD, Takeshi Harada, DDS, PhD, Makoto Shimada, DDS, y Masuichiro Oka, MD, PhD., *Mode of Tumor Invasion in Oral Squamous Call Carcinoma: Improved grading Based on Extracellular Matrices*, HEAD & NECK 1996; 18: pp.153-159.
39. Bryne M., *Is the inasive front of oral carcinoma the most important area for.* Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod, 1995; 80: pp.55-62.
40. Oro, Anthony E., Kay M. Higgins, Zhilan Hu, Jeannette M. Bonifas, Ervin H. Epstein Jr., Matthew P. Scott, *Basal Cell carcinomas in Mice overexpressing sonic Hedgehog*, Science vol. 276, Mayo 1997, pp.817-821.
41. Dr. Launey., *Dermatologia*, Edit. Interamericana, México, 1986, pp.159-163.
42. Shelley, Walther; *Dermatología*, Edit. Interamericana, México, 1973, pp.186-189.
43. Cawson, R., *Oral Pathology and Diagnosis, color atlas with integrated text.* Gower Medical Publishing, London, 1987, pp.13-15.

44. Wood-Goaz., Differential Diagnosis of Oral Lesions, Cuarta edición, Mosby Year Book, Estados Unidos de América, 1995, pp.641-645.
45. Bengel, W., Differential Diagnosis of Diseases of the Oral Mucosa, Quintessence Publishing Books, Chicago Illinois, 1989, pp.294.
46. Karp, Geral., Biología Celular, Segunda edición, Edit. Mc Graw- Hill Interamericana, México, 1987, pp.522.
47. Avers, Charlotte., Biología Celular, Segunda edición, Edit. Iberoamericana, México, 1991, pp.539.
48. Goodger N.M., J. Gannon, T.Hunt y P.R.Morgan., Cell Cycle Regulary Protein-an Overview with relevance to Oral Cancer, Oral Oncology, 1997, Vol. 33. No.2, pp.61-73.
49. Zentella, D.A. López Marure, R. Gómez Gonzáles, Erika. Paredes G.Rafael, Ibarra Sánchez, María de Jesus., El Ciclo Celular y su regulación: La interacción entre las proteínas cinasa CDKs y la familia de las ciclinas, Bol. Educ. Bioq. México, 1997, XV (1): 4-12, 1997.
50. Junqueira, C., Biología Celular, Primera edición, Edit. La Prensa Médica Mexicana, México, 1976, pp.168.
51. Wolfe, Stephen., Biología de la célula, Primera edición, Edit. Omega, Barcelona, 1977, pp.570.
52. Peinado, Ma.A., Biología Celular, Primera edición, Universidad de Jaén, 1994, pp.235.
53. De Robertis, E., Biología Celular, Novena edición, Edit. El Ateneo, Buenos Aires, 1977, pp.231.
54. Jiménez García, L.F., El Nucleolo: Relación entre la distribución espacial de ácidos nucleicos y proteínas, Tesis de Doctorado, UNAM, México, 1988.
55. Migaldi M.,MD, PhD, Mario Criscuolo, MD, Elena Zunarelli, MD, Laura Lo Bianco, MD, Anna Maria Martinelli, BD, y Giuseppe Barbolini., P120 and

- AgNOR nucleolar protein expresion, Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radiol Endod 1998; 85: pp.189-196.
56. Derenzini, M., V. Sirri, D. Trere., Nucleolar Organizer Region in tumor cells, The Cancer Jurnal, Vol. 7, Núm. 2, 1997.
57. Warnakulasuriya KAAS, Johnson NW., Nucleolar Organizer Region (NOR) distribution asa diagnostic marker in oral keratosis dysplasia and squamous cell carcinoma, J. Oral Pathol Med, Munksgaard 1993; 22: pp.77-81.
58. Leyva E, Flores G, Barrera R. y Aldape B., Regiones de organizadores nucleolares y examen por PCR de RNAr 18S en 19 casos de carcinoma epidermoide de cavidad bucal, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Año 2, Núm. 7, Julio-Septiembre de 1998; pp.17-25.
59. Cabrini RL, Schwint AE, Mendez A, Femopase F, Lanfranchi H y Itoiz ME., Morphometric study of nucleolar Organizer Regions in human oral normal mucosa, papilloma and squamous cell carcinoma, Journal Oral Pathol Med. 1992; 21: pp.275-279
60. Crocker, John., Nucleolar Organizer Regions, Fibrillar Centres and Lymphomas, Noveno Capítulo.
61. Xin Xic M.D, Ole Petter Fraas C, Jon Sudbo MD y Morten Boysen MD., Diagnostic and Prognostic Value of Nucleolar Organizer Regions in normal Epithelium, Dysplasia and Squamous Cell Carcinoma of the Oral Cavity, American Cancer Society, 1997, pp.2200.
62. Schwint E.A, E.Gomez, M.E. Itoiz, y R.L. Cabrini., Nucleolar Organizer Regions as Markers of Incipient Cellular alterations in Squamous Epithelium, Journal Dent Res , August, 1993 72 (8): pp.1233- 1236.
63. Schwint A. E, Savino TM, Lanfranchi HE, Marschoff E, Cabrini RL, y Itoiz ME., Nucleolar Organizer Region in Lining Epithelium Adjacent to Squamous cell carcinoma of human Oral Mucosa, Cancer 1994; 73: pp.2674-2679.
64. Pusztai, C.E., Cell Proliferation in cancer, Primera edición, Edit. Oxford University Press, Oxford, 1996, pp.19-20.

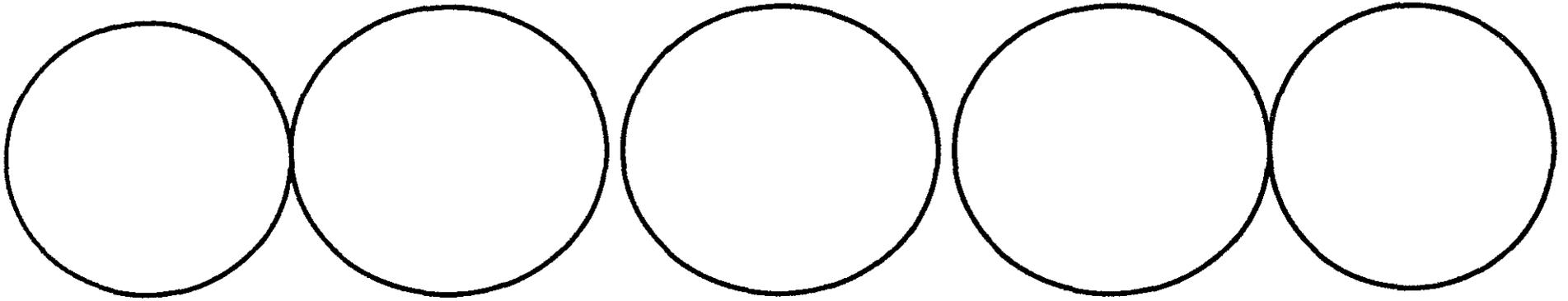
65. Seifert, Gerhard., Oral Pathology, Primera edición, Edit. Springer; New York, 1996, pp.153-154.
66. De Rosa G, Staibano S, Barra E, Zeppa P, Salvatore G, Vetrani A, y Palombini L., Nucleolar Organizer Region in Aggressive and Nonaggressive Basal Cell Carcinoma of the skin. Cancer 1992; 69: pp.123-126.

*IDS (IVONNE DIAZ SIERRA) Diseño de imágenes para figuras.

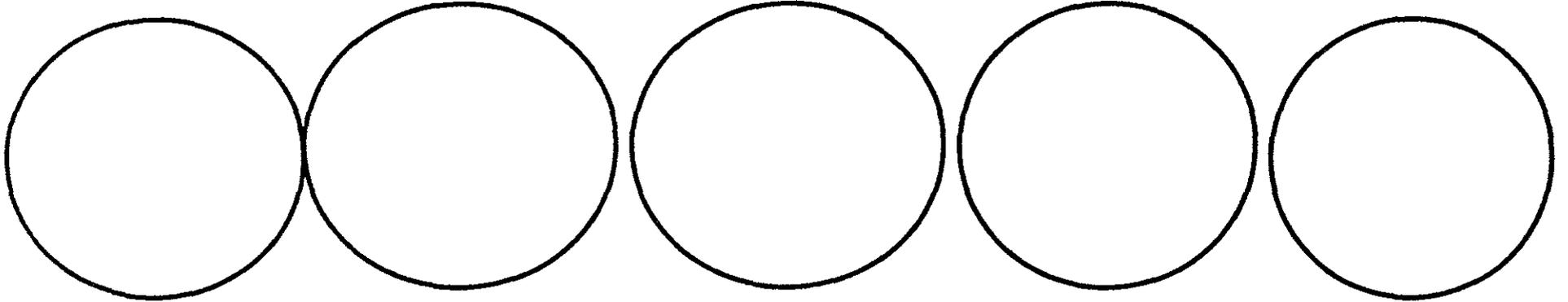
*RUBÉN PÉREZ. Revisión de datos estadísticos

FOI #

AgNORs



# Cel:				
AgNORs:				
Promedio				



# Cel:				
AgNORs:				
Promedio				

TOTAL DE CELULAS: _____
 TOTAL DE AgNORs : _____
 PROMEDIO TOTAL : _____