

01421
87



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

CARCINOGENÉISIS EXPERIMENTAL Y BENZOPIRENO

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
CIRUJANO DENTISTA
P R E S E N T A:
VANESSA GISELA DELGADO CORNEJO.

TUTORA: DRA. ELBA ROSA LEYVA HUERTA



MEXICO, D.F.

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

NOMBRE: Vanessa Gisela

Delgado Cornejo

FECHA: 20/03/03

FIRMA: [Firma]

A



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

A **Dios** por el inmenso amor que me das permitiéndome lograr todas mis sueños guiándome por el camino correcto.

A **mi madre** y mejor amiga, por darme las palabras correctas en todo momento, por el gran amor que me das y por ser una mujer excepcional.

A **mi padre** por tu gran amor y apoyo, por estar a mi lado en todo momento, por que con una sola mirada haces mi vida maravillosa.

A **Iván** por que sin tu ejemplo no lo hubiese podido realizar.

A **David** el niño que da luz a mi corazón.

A **Jorge** por ser mi mejor amigo, mi compañero y la persona que da una ilusión nueva a mi vida cada día.

A **Fernando Murguía** por ser el amigo, el hermano y una persona grandiosa.

A **mi familia** por el lugar tan especial que tienen en mi corazón.

AGRADECIMIENTO ESPECIAL

A la **Dra. Elba** por que para ser maestro se necesitan muchas cualidades, inteligencia, tolerancia, comprensión, paciencia, y usted no solo cumple con ellas, también tiene un don muy especial, ser una gran amiga, y el ejemplo a seguir de muchos, gracias por todo eso y mucho más.

ÍNDICE

	PÁGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	3
CÁNCER	3
CARCINOGENESIS	4
CARCINOGENESIS QUÍMICA	5
Fases de la carcinogénesis química	6
Iniciación de la carcinogénesis	8
Activación metabólica de los Carcinógenos	8
<i>Dianas moleculares de los carcinógenos químicos</i>	9
<i>Promoción de la carcinogénesis</i>	10
CARCINOGENOS QUÍMICOS	12
Agentes alquilantes de acción directa	13
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	14
Aminas aromáticas y colorantes nitrogenados	14
Carcinógenos naturales	15
Nitrosamidas y amidas	15
PROMOTORES DE LA CARCINOGENESIS QUÍMICA	16
Agentes promotores en el medio ambiente humano	16
Carcinogénesis y mutación	17
<i>Efectos positivos de las mutaciones</i>	19
<i>Efectos negativos de las mutaciones</i>	19
<i>Clasificación de las mutaciones</i>	20
Genes Involucrados en la carcinogénesis	22
<i>Genes causantes del cáncer "Protooncogenes"</i>	24
<i>Genes supresores del cáncer "Antioncogenes"</i>	26
<i>Genes reguladores de la apoptosis</i>	26

C

TABACO	27
Tabaco y cáncer	28
Componentes del tabaco	29
Tabaco y carcinogénesis	30
Tabaco y cáncer bucal	31
BENZOPIRENO	34
CARCINOGENESIS EXPERIMENTAL	36
DISPLASIA EPITELIAL Y CARCINOMA "IN SITU"	42
CARCINOMA EPIDERMÓIDE	44
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	48
JUSTIFICACIÓN	48
HIPÓTESIS	48
OBJETIVO GENERAL	49
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	49
DISEÑO DEL ESTUDIO	49
Tipo de estudio	49
Universo de estudio	49
Tamaño de la muestra	49
Criterios de inclusión	50
Criterios de exclusión	50
Criterios de eliminación	50
VARIABLES	50
Dependientes	50
Independientes	50
MATERIALES Y MÉTODOS	50

Material y equipo	50
Metodología	51
RESULTADOS	55
DISCUSIÓN	69
CONCLUSIONES	72
BIBLIOGRAFÍA	73

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
TABLA 1. Agentes promotores de neoplasias en el humano.	17
TABLA 2. Clasificación de las mutaciones.	21
TABLA 3. Clases de carcinógenos producto de la combustión del cigarrillo.	30
TABLA 4. Riesgo relativo al desarrollo de cáncer bucal de acuerdo a la cantidad de tabaco fumado.	32
TABLA 5. Resultados observados en el grupo experimental y grupo control de los cambios displásicos.	56
TABLA 6. Resultados del grado de infiltrado inflamatorio y displasia presentados en grupo experimental y control .	57
TABLA 7. Análisis estadístico de cambios displásicos en el grupo experimental.	59
TABLA 8. Análisis estadístico de cambios displásicos en el grupo control.	59
TABLA 9. Frecuencia de microabscesos en grupos experimental y control.	63
TABLA 10. Frecuencia del desarrollo y grado de infiltrado inflamatorio en el grupo experimental.	66
TABLA 11. Frecuencia del desarrollo y grado de infiltrado inflamatorio en el grupo control.	67
TABLA 12. Prueba t student	68

ÍNDICE DE GRÁFICAS

PÁGINA

GRÁFICA 1. Comparación del desarrollo de displasia entre el grupo experimental y el grupo control.	58
GRÁFICA 2. Frecuencia de displasia en el grupo experimental.	62
GRÁFICA 3. Frecuencia de displasia en el grupo control.	62
GRÁFICA 4. Porcentaje de la frecuencia del desarrollo de microabscesos.	64
GRÁFICA 5. Porcentaje de infiltrado inflamatorio en grupo experimental.	67
GRÁFICA 6. Porcentaje de infiltrado inflamatorio en grupo control.	67

ÍNDICE DE FIGURAS

PÁGINA

FIGURA 1 a y b .	Pesaje de los Hámsters Syriam	51
FIGURA 2.	Tipo de alimentación y conservación del alimento	52
FIGURA 3 a y b.	Localización de las bolsas bucales	52
FIGURA 4 a y b.	Sitio y técnica de aplicación de benzo(a)pireno y placebo	52
FIGURA 5.	Sacrificio de los Hámsters con una sobredosis de éter	53
FIGURA 6 a, b y c.	Técnica de disección de los tejidos	53
FIGURA 7 a y b.	Fijación con formol al 10%	54
FIGURA 8.	Grupo control. (H&E) 200x.	55
FIGURA 9.	Displasia leve (H&E) 200x.	60
FIGURA 10 .	Displasia Moderada (H&E) a)200x y b) 400x.	60
FIGURA 11.	Displasia severa (H&E) 200x	61
FIGURA 12.	Displasia severa (H&E) 400x	61
FIGURA 13.	Displasia Moderada (H&E) 200x.	62
FIGURA 14.	Microabsceso adyacente a zona de displasia (H&E)	64
FIGURA 15.	Microabsceso intraepitelial (H&E)	65
FIGURA 16.	Asociación de displasia , microabsceso e infiltrado inflamatorio (H&E) a)200x y b) 400x.	65
FIGURA 17.	Imágenes de displasia, microabscesos e infiltrado inflamatorio en otro grupo de estudio (H&E) a) 200x y b) 400x.	66

H

RESUMEN

Se ha reportado que el Benzopireno es un carcinógeno de la familia de los hidrocarburo aromáticos policíclicos que provoca cambios displásicos en las células epiteliales de la mucosa de la bolsa bucal. El objetivo de este estudio fue demostrar histológicamente los cambios sugestivos de malignidad provocados por el benzo(a)pireno químicamente puro en la mucosa de las bolsas bucales de los Hámsters cepa Syrian, para ello se trataron 15 animales durante 12 semanas, en las cuales se aplicó benzo(a)pireno una vez al día, estos se dividieron en tres grupos los cuales se sacrificaron a las 4, 8 y 12 semanas. Los resultados mostraron que el benzo(a)pireno provoca cambios displásicos, entre los cuales se observaron nucleolos prominentes, núcleos hipercromáticos, pleomorfismo celular, pérdida de la relación núcleo/citoplasma, además de estos se observo la existencia de infiltrado inflamatorio y microabscesos. Al final del tratamiento encontramos que del total de los animales (100%) del grupo experimental 13% no presentaron, 20% presentaron displasia leve, 33.3% moderada y 33.3% severa, en los mismos animales se encontró que el 53.3% de ellos tenían microabscesos y presentaron infiltrado inflamatorio 13 animales, de ellos el 13% no presento, el 53% presento infiltrado leve, el 27% moderado y el 7% severo.

INTRODUCCIÓN

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

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

El benzopireno es considerado un potente carcinógeno a nivel experimental, provocando su aplicación, cáncer en piel y resultados diversos en el cáncer de boca desde hiperplasias hasta neoplásias francamente malignas, en este trabajo pretendimos lograr la inducción de cambios celulares y tisulares a nivel epitelial en las bolsas de los Hámsters Syrian indicativos de malignidad, provocados por el benzopireno en la mucosa de la bolsa bucal.

ANTECEDENTES

CÁNCER

El cáncer representa una de las primeras causas de muerte en nuestro siglo. Entre las principales líneas de investigación en la lucha contra el cáncer, una de las más importantes se dirige a su prevención. Para ello es fundamental identificar los factores que participan en su origen y desarrollo.¹

Aunque el cáncer ha sido una enfermedad inescrutable durante mucho tiempo, la semilla del conocimiento se plantó en 1911 cuando PEYTON RUS descubrió que un infiltrado libre de células procedente de ciertos sarcomas de pollo podía causar nuevos tumores cuando se inoculaba a animales sanos, sugiriendo así la posible etiología vírica de determinadas neoplasias. Su idea se acogió con general escepticismo, pero su trabajo fue reconocido con el premio Nóbel 56 años después.²

Actualmente las técnicas de biología molecular permiten examinar directamente el papel de las alteraciones del DNA y explorar la naturaleza del daño causado. Todo un conjunto de avances ha permitido llegar a afirmar que el cáncer es fundamentalmente una enfermedad genética, que procede de distintas alteraciones, como son: mutaciones recesivas, dominantes, reacomplamiento de DNA y mutaciones puntuales, que pueden alterar la expresión o la función bioquímica de los genes afectados. Hay que destacar, sin embargo, que el cáncer no es una enfermedad hereditaria en la gran mayoría de los casos. Las alteraciones genéticas asociadas a tumores son casi siempre de tipo somático, es decir, se adquieren durante la vida del individuo y no por herencia.²

El cáncer no es una sola enfermedad, sino un grupo de más de 200 alteraciones distintas en las que se produce un crecimiento anormal de las células, hasta convertirse gradualmente en masas de tejidos llamados tumores o neoplasias por lo general asociados a un agente carcinogénico. El proceso de

carcinogénesis se inicia cuando agentes externos denominados carcinógenos producen alteraciones irreversibles en la información genética, convirtiendo genes normales de una persona en los llamados oncogenes, capaces de inducir cáncer (iniciación tumoral). Posteriormente, determinados factores medio-ambientales hacen que estas células, con información genética ya alterada, se desarrollen y multipliquen (promoción tumoral), y que gradualmente se establezca el cáncer y se disemine (progresión tumoral).^{1,3,4}

Son muchos los agentes que producen daños genéticos y que inducen la transformación neoplásica de las células. Pueden dividirse en los siguientes grupos: 1) carcinógenos químicos, 2) energía radiante y 3) microorganismos oncogénicos, principalmente virus. Tanto la energía radiante como algunos carcinógenos químicos son causas confirmadas de cáncer en el hombre y las pruebas que relacionan a determinados virus con cáncer humano son cada día más claras.^{4,5}

CARCINOGENESIS

La carcinogénesis estudia las causas y el proceso de transformación de la célula normal en neoplásica. El cáncer puede ser provocado por uno o varios carcinógenos, que producen la transformación celular mediante un proceso progresivo de múltiples pasos previos.⁶

Se clasifica en: Unifactorial que es producido por un solo carcinógeno; es raro en patología humana; y multifactorial, es decir, por varios carcinógenos que actúan simultáneamente o secuencialmente, la mayoría de las neoplasias se producen debido a carcinogénesis multifactorial.⁶

La carcinogénesis multifactorial puede ser:

1. Sincarcinogénesis. Producida por dos o más carcinógenos que se potencian entre sí, aun actuando cada uno de ellos a dosis subcarcinogénicas
2. Cocarcinogénesis. Es la carcinogénesis combinada entre un carcinógeno que actúa a dosis subcarcinogénica o agente iniciador, y un agente que por sí solo sería incapaz de producir una transformación neoplásica denominado agente promotor.
3. Pluricarcinogénesis. Es la carcinogénesis debida a múltiples carcinógenos, que actúa a dosis subcarcinogénicas, de forma secuencial.^{6,7}

CARCINOGENESIS QUÍMICA

Aunque fue John Hill el primero en observar la asociación entre el "consumo immoderado de rapé" y el desarrollo de "pólipos", debemos en gran medida a Sir Percival Pott nuestra conciencia sobre la capacidad carcinógena potencial de los agentes químicos.^{4,5} En 1775, Percival Pott, eminente médico y cirujano inglés, describió el desarrollo de cáncer de escroto en varios de sus pacientes varones. El antecedente común a todos ellos era su profesión como deshollinadores cuando eran jóvenes. Basándose en esta observación, el Dr. Pott, con destacable perspicacia, llegó a la conclusión de que la profesión de estos hombres en su juventud estaba relacionada en forma directa y causal con su enfermedad maligna y que la gran cantidad de hollín a la que estuvieron expuestos era el agente causante del cáncer. Por extraño que parezca, Pott no sugirió evitar el hollín como recurso preventivo, aunque claramente, su informe de 1775 inspiró al Gremio Danés de Deshollinadores para regular, tres años más tarde, que sus miembros deberían bañarse diariamente. Transcurrió más de un siglo hasta que Butlin informó sobre la relativa rareza del cáncer de escroto en los deshollinadores del continente europeo en comparación con los de Inglaterra. Parecía que la

incidencia más baja de la enfermedad era resultado del baño frecuente y el uso de ropa protectora. ⁸

La lección que se desprende del informe de Pott tardó mucho tiempo en ser aprendida. Cien años después de su publicación, la alta incidencia del cáncer de piel entre ciertos trabajadores alemanes fue relacionada finalmente con la exposición del alquitrán, principal constituyente del hollín. Sin embargo transcurrieron otros cuarenta años después del informe científico original de Pott sobre la asociación de los productos de hollín y del humo con el cáncer, mucho de nosotros todavía desatendemos los riesgos evidentes de los productos carcinógenos resultantes de la combustión de nuestro mundo industrializado. ^{4,8}

Durante los dos siglos siguientes, se han descrito miles de agentes químicos capaces de transformar a las células *in vitro* y de actuar como carcinógenos en los animales. Algunos de los más potentes (p. ej., los hidrocarburos aromáticos policíclicos) proceden de los combustibles fósiles o son producto de combustiones incompletas. Otros son sustancias sintéticas creadas por la industria o durante el proceso de estudio de la carcinogénesis química; otros son componentes naturales de plantas y organismos microbianos. En todo caso, lo más importante es que existe un gran número de ellos que se ha visto fuertemente implicados en la causalidad del cáncer humano. ⁵

Fases de la carcinogénesis química

Una de las características generales de la historia natural de una neoplasia *in vivo* es el extenso período entre la primera aplicación del carcinógeno -ya sea químico, físico o biológico- y la aparición de la neoplasia. Este período de latencia o de inducción tumoral, que puede demostrarse cuando se aplica un carcinógeno químico, se ha visto incluso cuando el carcinógeno se administra de forma continua al animal de experimentación. En la mayoría de los sistemas estudiados, no existen evidencias macroscópicas de crecimiento tumoral o de neoplasia clínica

durante la mayor parte del período de latencia. Existe un período de latencia similar cuando el carcinógeno se administra al animal de experimentación durante la gestación. También existe latencia en caso de infección por virus oncogénicos, exposición de radiaciones ionizantes o implantación subcutánea de discos de metal o de plástico, los cuales dan lugar a la producción de sarcomas. Así el período de latencia ha de considerarse como una característica general de la historia natural de las neoplasias. Dicho período varía dependiendo de el tipo de agente, la dosis y ciertas características de las células diana del huésped.⁸

Como se menciona, la carcinogénesis es un proceso de múltiples pasos. Este hecho resulta más fácil de demostrar en los modelos experimentales de carcinogénesis química, en los que pueden distinguirse dos estadios de la inducción del cáncer: *la iniciación y la promoción*.^{4,5}

La iniciación es consecuencia de la exposición de las células a una dosis suficiente de un agente carcinógeno (iniciador); una célula iniciada sufre una alteración, que induce el crecimiento de un tumor por producción de daño permanente al ADN (mutaciones). Por tanto es rápida, irreversible y tiene "memoria". Sin embargo por sí sola, la iniciación no basta para que el tumor se forme.^{4,5}

Los promotores pueden inducir tumores en las células iniciadas, pero no son tumorigenos por sí solos. Cuando el agente promotor se aplica antes del iniciador, no produce tumor. Esto indica que, al contrario de lo que sucede con los efectos de los iniciadores, los cambios celulares resultantes de la aplicación de los promotores no afecta directamente al ADN y son reversibles. Los promotores, al estimular la proliferación celular, hacen que las células sean susceptibles a sufrir nuevas mutaciones.^{4,5}

Iniciación de la carcinogénesis

La estructura de las sustancias químicas que inician la carcinogénesis es complicada, diversa y abarca tanto productos naturales como sintéticos. Pueden estos dividirse en dos categorías: 1) compuestos de acción directa, es decir que no necesitan una transformación química para desarrollar su acción carcinógena, y 2) compuestos de acción indirecta o procarcinógenos, que necesitan una conversión metabólica *in vivo* para producir un carcinógeno definitivo, capaz de transformar a las células. Todos los carcinógenos tanto de acción directa como los definitivos tienen una propiedad común: son electrófilos (con átomos deficientes en electrones) sumamente reactivos que pueden reaccionar con localizaciones celulares nucleófilas (ricas en electrones). Estas reacciones no son de carácter enzimático y dan lugar a la formación de compuestos covalentes (productos de adición) entre el carcinógeno químico y un nucleótido del ADN. Las reacciones electrófilas pueden producirse en varias localizaciones ricas en electrones de las células diana, entre ellas el ADN, el ARN y proteínas, por lo que a veces se producen daños que son letales para la célula.^{5,9}

Activación metabólica de los carcinógenos

Salvo por algunos agentes alquilantes y acilantes de acción directa que son intrínsecamente electrófilos, la mayoría de los carcinógenos requieren una acción metabólica para convertirse en carcinógenos definitivos. Existen otras vías metabólicas que pueden conducir a la inactivación (destoxificación) de un procarcinógeno o de sus derivados. Por tanto, la potencia carcinógena de una sustancia química depende, no sólo de la reactividad inherente a sus derivados electrófilos, sino también del equilibrio entre las reacciones de activación y de inactivación metabólica.⁵

El metabolismo de la mayoría de los carcinógenos conocidos se efectúa a través de monooxigenasas dependientes del citocromo P-450. Los genes que codifican estas enzimas son muy polimorfos, y se ha demostrado que la actividad e inducibilidad de las enzimas varía de una persona a otra. Como estas enzimas son esenciales para la activación de los procarcinógenos, se debe al polimorfismo de estos genes que codifican a estas enzimas la regulación de la susceptibilidad a la carcinogénesis. Algunos ejemplos bastan para ilustrar este importante concepto, como es el producto del gen P-450, CYP1A1 que metaboliza a los hidrocarburos aromáticos policíclicos del tipo del benzopireno. Aproximadamente en el 10% de la población de raza blanca, esta enzima adopta una forma sumamente susceptible que se asocia a un riesgo mayor de cáncer de pulmón en los fumadores. Las personas que fuman poco pero que tienen un genotipo de CYP1A1 susceptible corren un riesgo siete veces mayor de desarrollar cáncer de pulmón que los fumadores sin este genotipo permisivo. No todas las variaciones de la activación o detoxificación de los carcinógenos tienen una base genética. La edad, el sexo y el estado de nutrición influyen también en la dosis de agentes tóxicos y, por tanto, determinan la probabilidad de que los carcinógenos químicos actúen.⁵

Dianas moleculares de los carcinógenos químicos.

Dado a que la transformación maligna se debe a mutaciones que afectan a los proto-oncogenes, genes supresores del cáncer y genes que regulan la apoptosis, no debe sorprender que la inmensa mayoría de los productos iniciadores sean mutágenos. Su potencial para producir mutaciones se ha estudiado mediante la *prueba de Ames*, que mide la capacidad de un producto químico para inducir mutaciones en la bacteria *Salmonella typhimurium*.^{4,5} La inmensa mayoría (70 a 90%) de los carcinógenos químicos conocidos dan resultados positivos con esta prueba y, a su vez, la mayoría (aunque no todos) de los productos químicos que son mutágenos *in vitro* son carcinógenos *in vivo*. Debido a la alta correlación entre mutagénesis y carcinogénesis, se recurre a

menudo a la prueba de Ames para estudiar la capacidad carcinógena de las sustancias químicas.⁵

Parece estar bien establecido que la diana primaria de los carcinógenos es el ADN y que no existe una alteración única que se asocie a la iniciación de la carcinogénesis química. No obstante la interacción de cada carcinógeno químico con el ADN no es completamente aleatoria y cada clase de carcinógeno tiende a producir un patrón limitado de lesión al ADN. Por tanto, la presencia de ciertos tipos de lesión al ADN en los tumores humanos puede proporcionar indicios moleculares sobre su causa. El estudio de las mutaciones de los genes *ras* y *p53* constituyen un ejemplo de ello. Los cambios de ADN provocados por los carcinógenos no conllevan siempre a la iniciación, ya que las enzimas celulares pueden reparar varias formas distintas de alteraciones del ADN. Es probable que las agresiones de origen ambiental del ADN sean mucho más frecuentes que el cáncer.^{5,10}

Aunque los carcinógenos químicos pueden afectar prácticamente a la totalidad de los genes, las mutaciones de *ras* son esencialmente frecuentes en varios de los tumores provocados por sustancias químicas en los ratones.^{5,10}

Promoción de la carcinogénesis

Ya se mencionó que la capacidad carcinógena de algunas sustancias químicas aumenta cuando posteriormente se administra un promotor (p. ej., hormonas, fenoles o fármacos), que por sí mismo, no es tumorigeno. La secuencia iniciación-promoción de la carcinogénesis química plantea una cuestión importante: *dado que los promotores no son mutágenos. ¿Cómo contribuyen a la tumorigénesis?* Aunque los efectos de los promotores tumorales son pleiotropos, la inducción de la proliferación celular es una condición *sine qua non* para la promoción del tumor.^{5,9}

Para que se produzca la transformación neoplásica no basta un solo cambio genético. Por tanto, aunque la aplicación de un iniciador puede inducir la activación de un oncogén como *ras*, que sufre una mutación, lo que puede provocar es un lesión preneoplásica o hiperplásica, pero la aplicación posterior de promotores provoca la proliferación y expansión clonal de las células iniciadas (mutadas). La respuesta de las células iniciadas a los promotores difiere de las células normales, ya que experimentan una expansión selectiva. Estas células (especialmente tras la activación de *ras*) tienen menos necesidades de factores de crecimiento y quizá respondan también menos a las señales inhibitorias del crecimiento presentes en el medio extracelular. Obligado a proliferar, el clon de células iniciadas sufre nuevas mutaciones, hasta que desarrolla el tumor maligno. Por tanto, el proceso de promoción del tumor consta de varios pasos: proliferación de células preneoplásicas, conversión maligna y, por último, progresión del tumor.⁵

En resumen, es así que los mecanismos moleculares de la carcinogénesis humana se están aclarando a través de los conocimientos de los cambios genéticos y epigenéticos resultantes de las interacciones DNA-carcinógeno químico.²

El proceso puede dividirse en cuatro etapas:

1. **Iniciación.** Esta ocurre como resultado de la modificación de la estructura del DNA por efecto del carcinógeno.
2. **Promoción.** Los efectos epigenéticos de los promotores tumorales facilitan la expansión clonal de la célula iniciada. Los promotores no son generalmente carcinógenos por sí solos, sino que requieren la acción previa del carcinógeno. Hay otras sustancias, conocidas como carcinógenos completos entre las cuales se encuentra el benzopireno; capaces de desencadenar tanto la iniciación como la promoción.

3. **Transformación Maligna.** Es la conversión de una célula preneoplásica en otra que ya expresa el fenotipo maligno.
4. **Progresión tumoral.** Las células malignas presentan características agresivas y tienden a metastizar.^{2,7}

La importancia de la carcinogénesis química ha estimulado el desarrollo de la epidemiología molecular, cuyo objetivo es identificar a individuos con mayor riesgo de desarrollar cáncer, el cual dependería de las características individuales para la biodistribución y metabolización de carcinógenos.²

CARCINÓGENOS QUÍMICOS

Los carcinógenos son sustancias cuya capacidad de causar cáncer es conocida^{4,11}, o todo elemento capaz de aumentar el riesgo de desarrollo de cáncer en ausencia del mismo.⁶ Vincent T. DeVita define al carcinógeno como un agente que, administrado a un animal tratado previamente, conduce a un aumento, estadísticamente significativo, de la incidencia de neoplasias de uno o más tipos histogenéticos en comparación con los animales control que presentan, de forma espontánea, una incidencia alta o baja de los tumores en cuestión.

No solo hay gran variedad de carcinógenos sino que existen diversos patrones de administración, junto a grandes diferencias de susceptibilidad de especie, de raza, género y de tropismo tisular. Algunos carcinógenos que reaccionan de forma directa con la célula para iniciar la transformación neoplásica -carcinogénesis directa-, pero son muchos más los que actúan de forma indirecta -carcinogénesis indirecta-. La función ausente, disminuida o alterada puede determinar los distintos grados de resistencia o susceptibilidad que determina los tipos de cáncer.^{6, 7}

La producción experimental de cáncer con sustancias data de 1915, cuando investigadores japoneses provocaron cáncer de piel, por medio de alquitrán de hulla, en conejos. Desde entonces, la lista de carcinógenos orgánicos e inorgánicos ha crecido en forma exponencial. Aun así, por muchos años ha existido una curiosa paradoja. Varios compuestos de potente carcinogénesis conocida son relativamente inertes en cuanto a su reactividad química. La solución de este enigma se puso en evidencia a comienzos de la década de 1960, cuando se comprobó que la mayoría de los carcinógenos químicos, aunque no todos requieren activación metabólica para que puedan reaccionar con los constituyentes celulares. De acuerdo con estas observaciones y teniendo en cuenta la íntima relación entre mutagenicidad y carcinogenicidad, un decenio después se desarrolló una prueba *in vitro* para identificar sustancias cancerígenas en potencia; la prueba de Ames, que ya se mencionó anteriormente. El estudio experimental de la acción de las sustancias químicas carcinógenas también condujo a la noción de que el cáncer es consecuencia de un proceso consistente en múltiples pasos o etapas. En el inicio se comprobó que una sola aplicación de un carcinógeno en la piel no es suficiente para producir enfermedad, pero si después se aplica localmente un estímulo proliferativo consistente en una segunda sustancia química irritante no carcinógena aparecen tumores.¹²

Entre los principales carcinógenos químicos en el ser humano se encuentran los: Hidrocarburos policíclicos (entre los cuales existe el benzopireno del cuál hablaremos más adelante y detalladamente), tabaquismo con cigarrillo, aminas aromáticas, ciclamatos y sacarina, colorantes azo, aflatoxina, nitrosaminas, hojas de betel, fármacos antineoplásicos, asbesto y algunos carcinógenos industriales como los metales pesados o el cloruro de vinilo.¹¹

Agentes alquilantes de acción directa.

Estos agentes son independientes de la activación, en general, su capacidad carcinógena es débil. No obstante, son importantes, pues muchos

agentes terapéuticos (ciclofosfámido, clorambucilo, busulfán y melfalán) pertenecen a esta categoría. Se usan como fármacos antineoplásicos, pero se ha confirmado que inducen neoplasias linfoides, leucemias y otras formas de cáncer. Aunque el riesgo de inducir cáncer con estos agentes es bajo, su uso debe ser juicioso. Parece que las sustancias alquilantes ejercen sus efectos terapéuticos a través de interacciones con el ADN ya dañado, pero son precisamente estas acciones las que las hacen carcinógenas.⁵

Hidrocarburos aromáticos policíclicos.

Estas sustancias son algunos de los carcinógenos potentes más conocidos. Para actuar necesitan pasar por una transformación metabólica y pueden inducir tumores en una amplia variedad de tejidos y especies. Aplicados en la piel, provocan cáncer cutáneo, inyectados por vía subcutánea dan lugar a sarcomas e introducidos en un órgano determinado, originan cáncer en el mismo. Los hidrocarburos policíclicos tienen un interés especial, ya que se producen durante la combustión del tabaco, sobre todo al fumar cigarrillos,^{4,5} y es muy posible que contribuyan a la producción de cáncer de pulmón y de vejiga. También se producen a partir de grasas animales en el proceso de preparación de las carnes, y se encuentran en las carnes y pescados ahumados.⁵

Aminas aromáticas y colorantes nitrogenados.

La capacidad carcinógena de la mayoría de las sustancias de estos dos grupos se ejerce fundamentalmente en el hígado, donde forman los "carcinógenos definitivos" cuando son metabolizados a través de los sistemas de la citocromo P450 oxigenasa. Así, la administración de acetaminofluoreno y de colorantes nitrogenados con la dieta produce carcinoma hepatocelular en las ratas, pero no causa cáncer del aparato gastrointestinal. Una excepción a esta regla es un agente implicado en el cáncer humano, la 1-naftalamina, que fue la responsable del aumento 50 veces de la incidencia de cáncer de vejiga en los trabajadores que

sufrían exposiciones fuertes a las anilinas o que trabajaban en la industria del caucho. Algunos de los colorantes nitrogenados que se desarrollaron para colorear alimentos (p. ej., el amarillo de mantequilla, para dar a la margarina el aspecto de mantequilla y el rojo escarlata, para conferir una coloración seductora a determinados alimentos, como las cerezas al marrasquino).^{4,5}

Carcinógenos naturales

Entre los distintos carcinógenos químicos conocidos producidos por plantas y microorganismos, el más potente carcinógeno hepático aflatoxina B1, producido por algunas cepas de *Aspergillus flavus*, que crece en cereales y frutos secos conservados en condiciones incorrectas. Existe una estrecha correlación entre el nivel dietético de este hepatocarcinógeno y la incidencia de carcinoma hepatocelular en determinadas regiones de África y el Lejano Oriente. También existe una estrecha relación entre el virus de la hepatitis B y este tipo de cáncer y, cuando se produce la exposición a los dos agentes, la aflatoxina y el virus colaboran en la producción de este.⁵

Nitrosaminas y amidas.

Estos carcinógenos son interesantes debido a la posibilidad de que se desarrollen en el aparato gastrointestinal del ser humano y puedan así contribuir a la inducción de algunas formas de cáncer, en especial del carcinoma gástrico. Se producen en el estómago a partir de la reacción de las aminas nitroestables y los nitratos usados como conservantes, que son convertidos en nitritos por las bacterias.^{4, 5, 7}

PROMOTORES DE LA CARCINOGENÉISIS QUÍMICA.

Determinados promotores podrían contribuir al desarrollo de cáncer en el hombre. Se ha defendido que la importancia de los promotores es al menos similar a la de los iniciadores químicos, ya que las células iniciadas por exposición a carcinógenos ambientales son inocuas salvo que sufran agresiones repetidas por parte de los promotores. La promoción tumoral puede producirse tras la exposición a agentes exógenos, como el humo del cigarrillo o una infección viral, que produzcan una lesión hística con hiperplasia reactiva. Quizá los más peligrosos, debido a la dificultad de controlarlos, sean los promotores endógenos, como las hormonas o las sales biliares. Ciertas hormonas, como los estrógenos, actúan como promotores de neoplasias hepáticos en los animales.⁵

En este sentido se ha señalado que los factores endógenos serían responsables de un 20% de los cánceres, mientras que el 80% restante podrían intervenir factores exógenos o medioambientales, tales como:

- Tabaco (responsable de 20- 30% de los tumores en el hombre y de 5-10% de tumores en la mujer)
- Factores ambientales y laborales, virus, radiaciones, etc, que en conjunto explicarían el origen de un 20 a 30% de los cánceres.¹

Agentes promotores en el medio ambiente humano

Basados en los conocimientos sobre la epidemiología de las neoplasias humanas y en la acción promotora demostrada de varios agentes en el medio ambiente del hombre, resulta probable que la aparición del cáncer en el hombre esté relacionada con las etapas de promoción y progresión tumoral más que con la iniciación.^{8, 10} Algunos promotores presentes de forma significativa en el medio ambiente humano se indican en la siguiente tabla.

TABLA 1. AGENTES PROMOTORES DE NEOPLASIAS EN EL HUMANO

AGENTE	NEOPLASIA RESULTANTE
Dieta grasa	Adenocarcinoma mamario
Ingesta de colorías elevada	Aumenta la incidencia de cáncer en general
Humo de los cigarrillos	Carcinoma broncogénico (cáncer esofágico y de vejiga)
Asbesto	Carcinoma broncogénico y mesotelioma
Hidrocarburos halogenados (TCDD,PBC)	Cáncer de hígado
Esteres de forbol	Cáncer esofágico
Sacarina	Cáncer de vejiga
Fenobarbital	Cáncer de hígado
Prolactina	Adenocarcinoma mamario
Estrógenos sintéticos	Adenomas hepáticos
Bebidas alcohólicas	Cáncer bucal, hepático y esofágico

Tomado del libro "Cáncer: Principios prácticos de oncología" DEVITA

Aunque no todos estos agentes se han mostrado como factores importantes para el desarrollo de cáncer en el hombre en estudios epidemiológicos, algunos lo son claramente y otros podrían serlo. El humo del tabaco es un carcinógeno completo, pero contienen muchos agentes promotores y las pruebas epidemiológicas van a favor de que la promoción tumoral es un factor importante, tal vez el principal, en desarrollo de cáncer de pulmón en el hombre como resultado del hábito de fumar.⁸

Carcinogénesis y mutación

Como ya se mencionó en el centro de la carcinogénesis se encuentra una lesión genética o mutación que puede adquirirse por la acción de agentes ambientales, como las sustancias químicas, la radiación o los virus, o puede

heredarse con la línea germinal. La hipótesis genética del cáncer implica que un tumor se debe a la expansión clonal de una sola célula progenitora que ha sufrido una lesión genética. Este hecho a sido confirmado en la mayoría de los tumores estudiados.^{5,7}

Una mutación es un cambio súbito heredable que afecta el material genético (De Vries, 1909). Este cambio ocurre constantemente en todo el organismo y es una característica fundamental e íntimamente ligada al proceso conocido como vida. La mutación junto con la transmisión y la expresión de los genes constituyen los tres procesos fundamentales de la genética.^{13, 14, 15}

Las mutaciones cambian de estructura y la información heredada por los antecesores y estos cambios pueden transmitirse a los descendientes.^{13, 15}

Las mutaciones son cambios en la estructura del ADN, molécula en la cual se encuentran codificadas todas las restantes moléculas que forman las células y que por tanto dan características que, bajo la influencia del medio ambiente, constituyen las propiedades y rasgos finales de un organismo. Estas características constituyen el fenotipo. En cambio, el genotipo, lo constituye toda la información almacenada en el ADN.¹³

Cada gen esta compuesto en promedio, por varios miles de pares de bases, por lo que cada gen tiene miles de oportunidades para mutar. Se considera que en los mamíferos por lo menos entre cada 500 pares de bases en el ADN se puede encontrar un cambio de un par de éstas. La mayoría de las mutaciones tienen poco o ningún cambio o efecto en el fenotipo, sin embargo, a veces afecta seriamente la estructura y la función del gen y por lo tanto su producto, que puede producir daños considerables en el resto del organismo y eventualmente la muerte. Otras veces, las mutaciones ofrecen ventajas al organismo que las presenta, por eso se puede hablar de efectos positivos y negativos de las mutaciones.^{13, 14}

Efectos positivos de las mutaciones

Como el fenómeno de la mutación involucra un cambio en el genotipo, este cambio puede tener diferentes sentidos: uno positivo, uno negativo o bien no reflejarse ningún cambio en el fenotipo, aun cuando el cambio si se presente en el genotipo.¹³

Analizando la primera posibilidad, las mutaciones en sentido positivo, son aquellas que le confieren al organismo que las presenta, una nueva ventaja respecto a su ambiente, una mayor facilidad de adaptación o bien nuevas aptitudes ventajosas con respecto a organismos de su misma especie. Es posible que este tipo de mutaciones se presente con menor frecuencia que las mutaciones en sentido negativo.¹³

A lo largo de la evolución, algunas mutaciones positivas se han ido presentando, se podría citar al respecto las que han ido capacitando a las neuronas del cerebro humano para un razonamiento analítico más profundo que nuestros antecesores, en términos generales, obviamente. De esta manera cabe esperar que generaciones futuras puedan presentar nuevas características ventajosas para sobrevivir en su ambiente, más fácilmente.¹³

Efectos negativos de las mutaciones

La mutación puede restar capacidad de sobrevivencia, de adaptación o de estructura a un organismo respecto a su ambiente o frente a sus semejantes. Estas son las mutaciones en sentido negativo y, como se dijo anteriormente, son más frecuentes. Estas mutaciones son las que producen los padecimientos hereditarios. En estos padecimientos, los padres llevan genes con mutaciones que son determinantes para la aparición del padecimiento en el hijo, aun cuando algunas veces los padres no presenten la enfermedad, como en el caso de los padecimientos producidos por genes autosómicos recesivos.¹³

Clasificación de las mutaciones

Las mutaciones pueden clasificarse desde varios puntos de vista; de hecho, en párrafos anteriores se clasificaron respecto al efecto que producen en el organismo: positivo, negativo o neutro.¹³

Otro punto de vista para clasificar las mutaciones es respecto al modo como se originan. Como se puede ver en la **Tabla 2**. Estas pueden ser de dos clases: transiciones, cuando se produce el cambio de una base pirimídica por otra base pirimídica como citosina por timina, o bien por una base púrica por otra como adenina por guanina. La segunda clase de mutaciones en punto son las transversiones, en las cuales una base púrica cambia por una pirimídica o viceversa.

Las mutaciones fuera de fase pueden también subdividirse en deleciones o adiciones. En las primeras se suprime una, dos o más bases. Cuando se suprimen tres bases se presenta la delección de un aminoácido en la proteína, pero la trama o fase de la lectura del ADN, que se realiza de tres bases conocidas como tripletes, no se refleja por un efecto fuera de fase. En cambio en la adición de una o dos bases sí se presenta el fenómeno fuera de fase, originando a partir de un sitio donde exista la adición, el cambio de secuencia de aminoácidos. Lo anterior también puede aplicarse a las adiciones de tres bases, añadiendo un aminoácido pero no alterando la fase de lectura del ADN, o bien en la adición de uno a dos bases, alterando la fase y por tanto la secuencia de aminoácidos de la proteína.¹³

TABLA 2. CLASIFICACIÓN DE LAS MUTACIONES

A. Respecto a su mecanismo de producción	
1. En punto Transiciones	Cambio de una base púrica o pirimídica por otro púrica o pirimídica
Tranversiones	Cambio de una base púrica por una pirimídica o viceversa
2. Fuera de fase Adiciones	Se adicionan una, o dos o más bases
Delecciones	Se suprime una o dos o más bases
B. Respecto a su expresión	
1. Letales	La presencia de la mutación es incompatible con la vida
2. Subletales	El cambio producido por la mutación permite la vida pero se presentan alteraciones estructurales o funcionales
3. Condicionales	El efecto de la mutación sólo se observa en determinadas condiciones. Es decir, por exposición a fármacos
4. Somáticas	El cambio por la mutación afecta alguna(s) estructura(s) del organismo
5. Gaméticas	La mutación altera la información genética de los gametos y los descendientes

Tomado del libro "Genética Clínica" GUIZAR y VÁZQUEZ

Una de las preguntas que surgen al estudiar las mutaciones es ¿qué tan frecuentes son?. Para contestar esta pregunta se debe distinguir mutaciones recientes y preexistentes.¹³

La mayor parte de las mutaciones en un individuo no son el resultado de mutaciones nuevas, casi todas, se han originado en el pasado, a pesar de que su existencia permita un fenotipo normal. Gran parte de este fenómeno debe a que existen genes normales o alelos normales al gen mutado, heredado por uno de los padres. En caso de existir mutaciones dominantes, éstas no siempre tienen ciento por ciento de penetrancia y por tanto algunas veces no se expresan.^{13, 14}

A esta carga heredada de mutaciones de nuestros ancestros deben añadirse las mutaciones que el propio individuo acumuló durante su existencia bien por mutación espontánea, o por mutágenos físicos, químicos o biológicos. Este tipo de mutaciones son impredecibles respecto al lugar en que se producen y se piensa que ocurren al azar y por tanto pueden afectar cualquier gen. Las mutaciones espontáneas pueden ser originadas por mecanismos normales que tienen las células al duplicar o reparar el ADN o bien porque agentes físicos como radiaciones, producen formas tautoméricas de las bases originando transiciones o trasversiones, también mecanismos de desanimación de las bases pueden producirse por sustancias químicas que interactúan con bases produciendo los cambios descritos.^{13, 14}

Actualmente, se estudian los mecanismos moleculares de la acción de los mutágenos ya sean físicos, químicos o biológicos. Respecto a estos últimos, por ejemplo; ha sido de especial importancia los cambios en el ADN que producen los virus. Sin embargo a pesar de todos estos posibles agentes mutagénicos se conocen también mecanismos de protección para el efecto de cambios de estructura del ADN, como la enzima glucosilasa de ADN-uracilo, que selectivamente remueve uracilos del ADN.¹³

Genes involucrados en la carcinogénesis

En la última década ha habido notables avances en el estudio de los aspectos genéticos del cáncer. La investigación en este campo ha permitido

importantes aportes en el conocimiento del fenómeno de la transformación maligna; se han descubierto alteraciones cromosómicas útiles en el diagnóstico y pronóstico de las entidades neoplásicas y el conocimiento reciente acerca de los oncogenes y su funcionamiento ha abierto perspectivas para la prevención y tratamiento del cáncer.^{13, 14}

Las dianas principales de la lesión genética son tres clases de genes reguladores normales, los protooncogenes que estimulan el crecimiento, los genes supresores del cáncer (antioncogenes) y los genes que regulan la muerte celular programada o apoptosis.⁵

Además de estas tres clases de genes ya mencionados, existe una cuarta categoría de genes, los que regulan la reparación del ADN dañado, y que también están implicados en la carcinogénesis. Los genes de la reparación del ADN influyen indirectamente sobre la proliferación o la supervivencia celular a través de su efecto sobre la capacidad del organismo para reparar la lesión no letal de otros genes, entre ellos los protooncogenes, los genes supresores del cáncer y los genes que regulan la apoptosis. La alteración de los genes que intervienen en la reparación del ADN puede predisponer a las mutaciones del genoma y, por tanto, a la transformación neoplásica.⁵

La carcinogénesis es un proceso de pasos múltiples, tanto a nivel del genotipo, como fenotípicamente. Una neoplasia maligna posee varios atributos fenotípicos, como el crecimiento excesivo, la capacidad de infiltración local y la de producir metástasis a distancia. Estas características se adquieren de forma progresiva, fenómeno al que se ha denominado progresión tumoral. A nivel molecular, la progresión es consecuencia de la acumulación de lesiones genéticas que, en algunos casos, están potenciadas por los defectos de la reparación del ADN.⁵

Genes causantes del cáncer “protooncogenes”

Huebner y Todaro propusieron, hace más de década y media, que las diferencias entre las células tumorales y las normales no involucraban todo su genoma, sino más bien que se debían a los cambios en algunos pequeños segmentos de material genético para los que acuñaron el término de oncogenes o sea genes que causan el cáncer.^{13, 14}

Se postuló entonces que los oncogenes estarían presentes en las células normales, pero que no funcionaban gracias a un mecanismo de represión, el cual podría dejar de operar como consecuencia de algunos agentes ambientales carcinógenos, tales como la radiación, virus y sustancias químicas.^{13, 14}

Cualquier sistema en homeostasis que permite que una célula mantenga su integridad genética está probablemente asociado a riesgo de progresión tumoral. En este sentido, la pérdida de fidelidad en la copia del ADN puede ocurrir a través de cuatro mecanismos:

- a) Por fallas en los mecanismos de reparación del ADN, presentándose falta de corrección o mutaciones corregidas en forma errónea.
- b) Por alteración de la condensación de los cromosomas, del alineamiento del huso cromático o de la migración de los mismos.
- c) Por alteración en los tiempos del ciclo celular.
- d) Por falla de los mecanismos que sufren apoptosis.

Todos estos problemas llevan a incrementar el número de mutaciones y este incremento en cierto momento puede conferir ventaja selectiva para el desarrollo de una célula tumoral.¹⁶

Los protooncogenes son genes de células normales implicados en el control del crecimiento y el desarrollo que tienen la capacidad potencial de convertirse en

oncogenes después de su activación por transducción, por retrovirus, rodeamientos de ADN o mutaciones puntuales. Al parecer, cada tipo de célula maligna debe sus rasgos a uno o varios conjuntos de oncogenes.^{8, 17}

Los primeros oncogenes fueron descubiertos en virus capaces de infectar células de mamífero y transformarlas en células cancerosas. Tales virus pueden incorporar secuencias de ADN de los protooncogenes, y convertirlos en oncogenes. Eso puede ocurrir si las secuencias de ADN quedan bajo el control de elementos reguladores virales, que hacen que el gen se transcriba a niveles mucho más altos que los normales, o si el gen capturado muta de modo que su producto proteínico sea más activo que el producto del protooncogen normal.¹⁷

Un protooncogen presente en una célula que no ha sido infectada por un virus también puede mutar y convertirse en un oncogén. Uno de los primeros oncogenes identificados se aisló de un tumor de vejiga urinaria. En la célula de la cual se originó el tumor, un protooncogen había experimentado una mutación de un solo par de bases; el resultado fue que el aminoácido valina sustituyó a una glicina en el producto proteínico del gen. Al parecer este ligero cambio fue un factor crítico en la conversión de la célula normal en una célula cancerosa.¹⁷

Mediante tecnología de ADN recombinante y otras técnicas de biología molecular, los investigadores ha podido identificar más de 100 oncogenes y sus protooncogenes correspondientes.¹⁷

Los acontecimientos moleculares a través de los cuales una célula normal sufre un proceso de transformación maligna todavía no se comprenden bien. No obstante, es claro que para que un tumor se desarrolle es necesario que se produzca una acumulación de sucesos en el genoma de las células que en forma aditiva desencadenen el mecanismo de transformación y la consecuente pérdida del control de la división celular.¹⁶

Genes supresores del cáncer "antioncogenes"

Los denominados genes supresores del cáncer u oncosupresores o antioncogenes u oncogenes recesivos, cuya expresión normal inhibe el desarrollo del fenotipo canceroso. La inactivación o delección de ambos alelos puede conducir a la célula a la transformación neoplásica, es decir, la neoplasia sólo se manifiesta cuando ambos alelos están alterados.²

Mientras que los protooncogenes codifican proteínas que estimulan el crecimiento celular, los productos de los genes supresores del cáncer actúan frenando la proliferación celular. En cierto sentido el término gen supresor del cáncer es erróneo, ya que la función fisiológica del gen consiste en regular el crecimiento celular y no evitar la formación de neoplasias. Sin embargo, la persistencia de los nombres de supresores del cáncer y de antioncogenes se debe a que su pérdida es un acontecimiento clave en muchas neoplasias. O posiblemente todas las neoplasias humanas y que su descubrimiento se debió al estudio de dichas neoplasias.⁵

Genes reguladores de la apoptosis

El tercer tipo de genes, denominados también moduladores, determinan propiedades como la invasión, la metástasis o la capacidad de generar una respuesta inmune.²

Durante muchos años, los oncogenes y los genes supresores del cáncer ocuparon el centro del escenario de la base molecular de la tumorigénesis. Aunque sus acciones son muy distintas, finalmente estas dos clases de genes regulan la proliferación celular. Sin embargo, en la actualidad se sabe a que en la ecuación del cáncer existen otras variables también importantes, asociadas a los genes que evitan o inducen la muerte celular programada. Se ha identificado una gran familia de genes reguladores de la apoptosis. Afortunadamente para los no

expertos, estos genes son fáciles de recordar, ya que se denominan por una serie de palabras de tres letras que comienzan por *b*. El primer gen antiapoptótico identificado, *bcl-2*, forma parte de una gran familia de proteínas que producen homo o heterodimerización, algunas de las cuales inhiben la apoptosis, mientras que otras, como *bax*, *bad* y *bcl-xS*, favorecen la muerte celular programada.⁵

TABACO

La idea de que el uso del tabaco puede producir cáncer viene siendo expresada desde hace años. La primera referencia remonta a finales del siglo XVIII cuando Soemmering describió una cierta asociación entre fumar pipa y el cáncer de labio. No estaba aun universalizado el cigarrillo como forma habitual de consumo de tabaco.¹⁸

A partir de la primera Guerra Mundial, el consumo anual de cigarrillos, se incrementó en los hombres, y después en las mujeres, alcanzando un nivel de 4336 cigarrillos por persona en 1963. Tras la publicación del informe de Surgeon's General Advisory Comitte de 1964, en el que concluía que el consumo de cigarrillos era uno de los factores de riesgo más importantes para el cáncer de pulmón, el consumo de cigarrillos por persona disminuyó hasta 3196 en 1987. Por desgracia el hábito de fumar es todavía más frecuente entre los adolescentes. Además de que el consumo de cigarrillos representa un factor de riesgo importante para el cáncer de pulmón, también puede interactuar con otras formas de exposición ambiental y laboral de manera aditiva o sinérgica.⁵

En las dos primeras décadas de este siglo los clínicos observaron un aumento importante en la prevalencia de cáncer de pulmón. Como ya sabemos en aquellas fechas, el consumo de cigarrillos se hizo masivo y popular, gracias al desarrollo de la industria tabaquera. No obstante, la corriente de conocimiento científico de entonces no se asociaba, más que tímida y esporádicamente, el aumento de dicha patología con la generalización del hábito de fumar cigarrillo,

sobre todo entre los hombres. Se atribuía dicho incremento a la contaminación atmosférica o al incremento en los métodos diagnósticos.¹⁸

Por otro lado, la investigación química en la década de los 30, principalmente en Inglaterra, consigue identificar y aislar determinados hidrocarburos, procedentes del alquitrán del carbón, que, experimentalmente, producían cáncer de piel en ratones. Así mismo, se demuestra que en la combustión del tabaco se producen sustancias de naturaleza similar, identificándose el 3,4 benzopireno a partir del condensado (alquitrán) del humo del tabaco, sustancia genuinamente cancerígena.¹⁸

Tabaco y cáncer

Quien fuma una cajetilla diaria inhala unos 840 centímetros cúbicos de alquitrán de tabaco por año, lo que significa rociar las vías respiratorias superiores y los pulmones con algo más de tres cuartos de litro de alquitrán, que además contiene benzopireno.¹⁹

Fumar cigarrillos se ha convertido en la causa prevenible que produce mayor morbilidad y mortalidad. Al tabaco se atribuye el 30% de las muertes por enfermedad coronaria y el 30% de los cánceres.^{6, 20}

Se ha demostrado que el aumento de la incidencia de cáncer de pulmón, que es el cáncer que produce mayor mortalidad, coincide con el aumento de consumo de tabaco. Se considera que el tabaco es responsable del 77% de las neoplasias de pulmón en el hombre y del 43% en la mujer. Esta correlación todavía es más manifiesta en las mujeres, en las que el aumento de incidencia de cáncer de pulmón es más alto en los últimos años. En los exfumadores la incidencia de cáncer de pulmón disminuye conforme aumenta el tiempo de abstinencia, de tal manera que 10-15 años después de dejar de consumir tabaco la incidencia se iguala a la de la población no fumadora.⁶

Un asunto que está preocupando en estos momentos es el riesgo de cáncer entre los fumadores pasivos, que son no fumadores expuestos crónicamente a los productos de combustión del tabaco por convivir en locales cerrados con fumadores. El humo que desprende el cigarrillo tiene una mayor concentración de carcinógenos que el humo inhalado, por lo que es potencialmente más perjudicial. El nivel de carboxihemoglobina y nicotina en la laringe de los fumadores pasivos equivale al que se encuentra en fumadores de 4-6 cigarrillos / día. Se ha demostrado, sin ningún género de dudas, que existe una mayor incidencia de infecciones respiratorias entre los hijos de padres consumidores de tabaco y en los adultos fumadores pasivos se encuentra con mayor frecuencia irritación ocular, dolor de cabeza, síntomas nasales y resfriados.⁶

Componentes del tabaco

La combustión de tabaco aporta una serie de subproductos potencialmente nocivos.

El humo del tabaco posee una composición compleja; sus constituyentes pueden ser divididos en cuatro: alquitrán, nicotina, monóxido de carbono e irritantes. De estos componentes, se acepta generalmente que el alquitrán y los irritantes son los agentes responsables del cáncer de pulmón, la bronquitis crónica y el emfisema. Aunque se cree que la nicotina no participa en el desarrollo del cáncer, puede desempeñar un papel en la enfermedad cardiovascular.¹⁹

La combustión del tabaco desprende una serie de compuestos químicos, y prácticamente todos ellos ejercen una acción irritante directa sobre la mucosa respiratoria; sin embargo, su mayor peligro deriva de sus efectos carcinogénicos. Dentro de estos tenemos: a) compuestos inorgánicos, como el arsénico, cromo y níquel, junto a cadmio y plomo; b) halógenos como el cloruro de vinilo; c) compuestos nitrogenados (naftilamina y amoniobifenilo, nitrosamina, hidrazida y nitropropano); d) compuestos aromáticos, monocíclicos como el benceno o

policíclicos como el benzopireno, y e) otros compuestos potencialmente carcinogénicos, como aldehídos y pesticidas, como el DDT, muy persistente en tabacos procedentes de plantaciones del Tercer Mundo.²¹

TABLA 3.

CLASIFICACIÓN DE AGENTES CARCINOGENICOS PRODUCTO DE LA COMBUSTIÓN DEL CIGARRILLO	
1. Nitrosaminas	<ul style="list-style-type: none"> a. Dimetil nitrosamina b. Dietil nitrosamina c. Nitrosopirrolidina d. N- Nitrosornicotina e. N- Nitrosoanatabina
2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos	<ul style="list-style-type: none"> a. Benzopireno b. Benzoantraceno c. Metilfluoanteno d. Benzofenantreno
3. Hidrocarburos heterocíclicos	<ul style="list-style-type: none"> a. Dibenzacridinas b. Dibenzocarbasona
4. Aminas aromáticas	<ul style="list-style-type: none"> a. beta.naftilamina
5. Particula alfa	<ul style="list-style-type: none"> a. ²¹⁰Pb b. ²¹⁰Po

Tomado del libro " Anderson's Pathology. " Kissane, John M.

Tabaco y carcinogénesis

Diversos estudios han demostrado la asociación del tabaco con las neoplasias de laringe, boca, esófago, vejiga, páncreas y riñón. En el terreno de la investigación química y biológica, se han dado grandes pasos en la identificación de sustancias carcinógenas así como en la comprensión de los mecanismos de carcinogénesis.^{18, 20, 22}

Son sustancias iniciadoras de la carcinogénesis, los hidrocarburos aromáticos policíclicos y, entre ellos, el benzopireno y el emilcristeno (presente en el condensado o alquitrán del humo de tabaco); y las nitrosamidas presentes en el estado gaseoso. Son sustancias promotoras el formaldehído (fase gaseosa), los fenoles, ésteres de ácidos grasos y ácidos grasos libres (alquitrán). Son cocarcinógenos el metilpireno, el fluoranteno y algunos derivados de la nicotina (alquitrán).⁶

Aún así, se sabe que la aparición del cáncer no está ligada a una causa única, como puede ser el tabaco y sus componentes. De acuerdo a la teoría actual de la multicausalidad, toda una serie de elementos, no contenidos en el tabaco, actuarían de modo conjunto, como son: las sustancias radioactivas (uranio y otras), la contaminación urbana e industrial, el alcohol, las infecciones producidas por determinados virus, la herencia y algunas hormonas. A ello habría que añadir las lesiones locales existentes en determinados órganos o procesos inflamatorios irritativos producidos por el tabaco en el árbol bronco pulmonar y la disminución de defensas locales y sistémicas (alteración de los cilios, de los macrófagos alveolares, de la competencia inmunológica de los linfocitos T y B). En definitiva, existe evidencia epidemiológica, biológica y química que nos permite afirmar que el uso del tabaco y, por ende, el fumar cigarrillos constituye un potente carcinógeno para el ser humano; que la aparición del cáncer está directamente relacionada con la cantidad consumida; y que no por ello debemos negar la importancia sobreañadida de otros factores ya comentados.⁶

Tabaco y cáncer bucal

El hábito tabáquico también es uno de los factores de riesgo para el cáncer de lengua, labios y faringe. Normalmente el factor de riesgo es el humo del tabaco en la mayoría de las poblaciones, pero en ciertas zonas donde se mastica el tabaco y no se fuma (ciertas zonas de la India), el cáncer de cavidad bucal es más frecuente. El tabaco no sólo se relaciona con el tumor primario aparecido en la

zona, también favorece a la aparición de segundos tumores primarios; esto es, cuanto más intenso es el hábito, mayor es el riesgo de múltiples tumores primarios. El tabaco mantiene una relación de dosis respuesta con el riesgo de cáncer bucal, como se muestra en la **tabla 4**.^{22, 23}

TABLA 4.

RIESGO RELATIVO ALDESARROLLO DE CÁNCER BUCAL DE ACUERDO A LA CANTIDAD DE TABACO FUMADO.		
Intensidad del tabaquismo	Mujeres RR (IC 95%)	Varones RR (IC 95%)
No fumadores	1 (referencia)	1 (referencia)
Fumar	1. (0.5-1.8)	1.1 (0.7-1.7)
1-19 cig/d durante 20 +años	3.0 (1.9-5.2)	1.6 (0.9-2.7)
20-39 cig/d, 20+ años	4.4 (2.7-7.2)	2.8 (1.8-4.3)
40+cig/d.20+años	10.2 (5.2-20.4)	4.4 (2.7-7.2)
Sólo pipa/puro		1.9 (1.1-3.4)

Tomado del libro "Cáncer y precáncer" GONZALEZ Y MOLES

El humo de la pipa y el cigarro puro contiene los mismos carcinógenos que el cigarrillo. Las personas que fuman 4 o más puros están expuestos a una cantidad de humo equivalente a 10 cigarrillos. La corriente principal del humo del puro contiene en comparación con el humo del cigarrillo, mayores concentraciones de nicotina, benceno, hidrocarburos aromáticos policíclicos (incluyendo al benzopireno), cianuro de hidrógeno, óxidos de nitrógeno y plomo, N-nitrosaminas, amoniaco, y CO. El pH alcalino del humo del tabaco y de la pipa facilita la absorción de nicotina en las mucosas bucal y nasal.²³

Uno de los aspectos que siempre surgen en la epidemiología del consumo del tabaco es conocer que es lo que sucede cuando cesa el tabaquismo. Tras un año de abandono, el riesgo se reduce a la mitad del de los fumadores actuales. La

significación estadística desaparece tras 10 años. Aunque no desaparece por completo un cierto aumento de riesgo, incluso tras 20 años de consumo, cuando se consideran todos los productos del tabaco (lo que incluye fumadores de pipas y puros y los que mastican el tabaco); en los que han consumido sólo cigarrillos comerciales el riesgo desaparece tras 15 años del cese. La eliminación del riesgo tras el cese sugiere que el tabaco opera sobre todo en los estadios finales de la carcinogénesis oral y que sus efectos son reversibles.²³

El exceso de riesgo del cáncer de faringe y boca tras el cese del tabaquismo desaparece antes que el del cáncer de laringe y pulmón. Esto se ha atribuido a un efecto de lavado de los carcinógenos en contacto con el epitelio por la masticación y deglución.^{23, 24}

Los productos de tabaco sin humo también se han asociado de manera clara con el cáncer bucal. La masticación de productos que contienen tabaco, betel y otras sustancias contribuyen a las elevadas tasas de cáncer bucal en la India y otras áreas de Asia central. El tabaco masticado bastante frecuente en el sur de Estados Unidos., fue asociado por primera vez en el cáncer bucal en 1915 y mejor documentado en la década de los 50, pero no fue hasta 1981 cuando se comprobó mediante un estudio de casos y controles en Carolina del Norte. Los masticadores de tabaco tenían 4.2 veces más riesgo que los consumidores de tabaco; los consumidores de larga duración tenían casi 50 veces más riesgo de cáncer de encía y mucosa bucal, los tejidos en contacto con el tabaco.^{23, 24}

Los productos de combustión del tabaco son los implicados en el humo del tabaco inhalado. Se han aislado nitrosaminas específicas del tabaco en productos tabaquicos sin humo (para masticar).²³

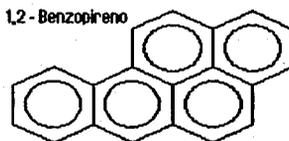
BENZOPIRENO

Ciento cuarenta años después del informe del Dr. Pott sobre la asociación del hollín procedente de la combustión del carbón con el cáncer de piel de escroto, se estableció una base experimental para la observación clínica de Pott. En 1915, los anatomopatólogos japoneses Yamagiwa e Ichikawa publicaron la producción de tumores cutáneos en animales, por primera vez mediante la aplicación de alquitrán en la piel. Estos investigadores aplicaron repetidamente alquitrán crudo en las orejas del conejo durante varios meses, provocando neoplasias benignas y más tarde malignas.^{7, 8, 25} Estudios ulteriores demostraron que la piel del ratón era susceptible a la acción carcinógena de dichos alquitranes orgánicos. Durante los quince años siguientes, se hicieron grandes intentos para determinar la naturaleza del material causante de malignidad, contenido en los alquitranes crudos. En 1932, Kennaway y cols. comunicaron la producción de carcinógenos mediante pirólisis de compuestos orgánicos simples que comprenden únicamente el carbono e hidrógeno. A principios de los años treinta se aislaron varios hidrocarburos policíclicos de fracciones de alquitrán crudo. En 1930 se aisló el primer compuesto carcinogénico sintético. Esta sustancia, el dibenzo(a,h)antraceno (1,2,5,6-dibenzoantraceno), fue analizada respecto a su actividad como carcinógeno mediante pincelación en la piel del ratón, encontrándose que era un potente carcinógeno. En 1932 se consiguió el aislamiento del benzo(a)pireno (3,4-benzopireno) a partir del alquitrán y también su síntesis. Los hidrocarburos policíclicos varían respecto a su potencia carcinogénica: por ejemplo, el isómero del dibenzo(a,h)antraceno, el dibenzo(a,c)antraceno (1,2,3,4-dibenzoantraceno), tiene muy poca actividad carcinogénica. Entre los carcinógenos más potentes figuran el 3-metilcolantreno y el 7,12-dimetil-benzoantraceno.^{7, 8}

El benzopireno es una sustancia que lesiona el material genético de las células y produce cáncer en los órganos con los que se pone en contacto.¹⁴ El benzopireno pertenece a los hidrocarburos aromáticos policíclicos conocidos

(HAPs), que son factores importantes de la contaminación ambiental afectando el organismo humano. Se genera de la combustión completa de la materia orgánica, en la emisión de vehículos petroleros, chimeneas industriales y domésticas. Dentro de los HAPs el benzopireno es considerado el de más riesgo y responsable de una larga enfermedad que tarda de 10 a 15 años en desarrollarse, desde que inicia con un trastorno genético, una vez que el benzopireno ingresa al organismo; y hasta que se forma el tumor.²⁶ El benzopireno es capaz de producir cáncer de piel en ratones cuando se aplican durante un considerable período de tiempo y sarcomas cuando se inyectan en forma subcutánea.²⁷

El 1,2-Benzopireno se ha aislado del alquitrán de hulla y se cree es responsable de la producción de cáncer de piel en los trabajadores de la industria del alquitrán de hulla y de la minería del carbón. Se encuentra presente en el humo del tabaco, en alimentos y embutidos ahumados, en la carne asada, en el café, en el pan tostado, en cualquier proceso que resulte de la "combustión de un material orgánico", son contaminantes primarios del aire y el agua en las grandes ciudades.²⁷



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Debido a los estudios realizados sobre los efectos mutagénicos del tabaco se conoce el mecanismo de acción de los benzopirenos. Los benzopirenos se combinan en el DNA alterando la secuencia de los genes lo cual produce una alteración completa de la secuencia de aminoácidos (a partir del punto de inserción) de la proteína producida, modificando su función.²⁷

La mayor contribución para la actividad carcinogénica se debe a diferentes tipos de tabaco entre ellos encontramos: Tabaco –específico N- nitrosamina (TSNA). Estos agentes están formados exclusivamente por nicotina y en su

minoría por alcaloides del tabaco, primariamente durante el proceso de fermentación, y por el envejecimiento del tabaco. La TSNA son carcinógenos orgánicos específicos, independientes de la ruta de su aplicación, estos inducen varios tumores específicamente en los tejidos y órganos huésped.²⁸

La importancia del TSNA en la carcinogénesis bucal esta basada en el hecho de tallar las superficies orales de las ratas con una solución de dos nicotinas derivadas de N-nitrosamina, NNN y NNK, induciendo tumores de mucosa bucal, paladar y lengua. Debido a la especificidad orgánica del NNK, se observó adenocarcinoma en los pulmones de estas ratas.²⁸

CARCINOGENESIS EXPERIMENTAL

La carcinogénesis experimental fue iniciada por Yamagiwa e Ichikawa²⁹ en 1915, quién repetidamente pintaba el alquitrán de hulla sobre los oídos de conejos y tuvo éxito en la producción de múltiples carcinomas de células escamosas. Los especímenes de sus experimentos están todavía expuestos en el Museo de la Facultad de Medicina de Tokio. Muchos otros científicos confirmaron los resultados relatados por estos dos investigadores, conduciendo al descubrimiento de una sustancia química cancerígena el 1,2,5,6- dibenzantraceno. Desde el principio Yamagiwa e Ichikawa describieron la complejidad del proceso cancerígeno, descubriendo una gama de lesiones hiperplásicas benignas y malignas y también cambios inflamatorios. Durante la carcinogénesis diferentes grados de malignidad fueron observados en diferentes tumores, fue así como en 1970 se propuso el término de carcinogénesis.

La Carcinogénesis química está enfocada a los procesos metabólicos, genotoxicidad y la carcinogenicidad derivada de las aminas heterocíclicas y los procesos de reparación del ADN.²⁹

Existe un grupo de investigación²⁹ que ha desarrollado técnicas bioquímicas y químicas para la detección, identificación y caracterización, tanto funcional como estructuralmente de las proteínas alteradas durante la carcinogénesis. Las investigaciones del programa tratan de aclarar los mecanismos de transformación maligna en las células humanas y animales por medio de carcinogénesis química y de otros agentes que causan cáncer; para determinar la etapa celular crítica y los factores genéticos involucrados en la iniciación, promoción y progresión de estas células transformadas y para aplicar cualquier conocimiento obtenido de estos estudios hacia la prevención efectiva del cáncer en el hombre; por lo tanto los estudios están diseñados para:

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

La carcinogénesis está relacionada con alteraciones genéticas, que la identifican como cambios que siguen que la sustancia en cuestión puede ser potencialmente carcinogénico. Se usan ensayos cortos para predecir el potencial carcinógeno de una sustancia. Evaluando la relación entre la carcinogenicidad y la actividad mutagénica de los químicos.²⁹

Como se menciono anteriormente existen carcinogénicos que han sido identificados al fumar tabaco, específicamente tabaco N- nitrosamina (TSNA), N-nitrosornicotina (NNN), y 4(metilnitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butano (NNK) entre los más importantes. NNN y NNK se forman durante la combustión del cigarro y

especialmente durante la fermentación. El tallar la mucosa bucal con concentraciones bajas de una mezcla de NNN en adición con NNK en agua induce cáncer bucal en ratas.²⁸

Existen modelos animales que se utilizan para llevar a cabo investigación de la carcinogénesis experimental, dentro de ellos se encuentran los Hamsters Syrian; Hoffmann²⁸, en su estudio titulado "El Tabaco, composición química y su carcinogenicidad" utilizó Hamsters Syrian en sus bioensayos, a los cuales trató con extractos de tabaco y demostró que la TSNA es un agente carcinogénico que se encuentra dentro de la nicotina del tabaco. Desde 1981 algunos bioensayos han fallado al tratar de provocar tumores en la cavidad bucal de los animales de laboratorio tratados con humo de cigarro o extractos del mismo. La principal razón de este fracaso según Hoffman es la inhabilidad de fomentar el hábito de fumar y mascar tabaco. Los animales simplemente no tienen la voluntad de mantener el humo del cigarro en sus bocas. Fue un dentista Suizo quién finalmente trató ratas creando un canal mediante cirugía en el labio inferior de los animales en el cuál pequeñas cantidad de humo se les aplicaba dos veces al día, induciendo eventualmente lesiones en la mucosa bucal.²⁸

La investigación "Expresión diferencial de citoqueratinas tipo 1 en el epitelio de la bolsa pequeña de la mejilla de los Hamsters tratados con dimetilbanzantraceno" Shearer y cols.³⁰ demostraron que el modelo experimental de carcinogénesis es ampliamente aceptado, en el cuál los cambios premalignos y carcinomas observados se asemejan mucho a las lesiones humanas, mencionan que el carcinoma de células escamosas puede ser inducido en el epitelio de las bolsas de las mejillas de los Hamsters con aplicaciones del carcinógeno 9,10-dimetil-1,2-banzantraceno. Los cambios detectados fueron, epitelio pre-neoplásico y epitelio neoplásico.

Santis, Shklar y cols.³¹ trataron de provocar tumores malignos en las bolsas de las mejillas de los Hamsters, en busca de cambios morfológicos, los cuáles

ocurren en los tejidos alterados, dentro de sus resultados observaron inflamación crónica, hiperplasia epitelial, hiperqueratosis y disqueratosis, carcinoma bien diferenciado, carcinoma anaplásico y papiloma.

Dentro de los métodos utilizados para inducir carcinogénesis en Hamsters se encuentran los descritos por: Salley y cols.³² quienes pintaron soluciones carcinógenas (9,10-dimetil-1,2- benzantraceno, 20 metilcolantreno y 3,4-benzopireno) en la superficie epitelial de las bolsas de las mejillas con un pincel de pelo de camello del No. 4 tres veces por semana durante 16 semanas, Wu-Wang y cols.³³ en su estudio " Efectos del Benzo(a)pireno y Nicotina en la Síntesis de Prostaglandinas en la bolsa bucal y glándulas submandibulares de los Hamsters Syrian" utilizaron veinte machos adultos de 100 a 125 g de peso. La Hamsters fueron divididos al azar en cuatro grupos; sus bolsas bucales de ambos lados se lavaron apicalmente con aceite de maíz (grupo control), 1 mm de benzo(a)pireno, 1 mm de nicotina, o una combinación de 1mm de benzo(a)pireno con 1 mm de nicotina en aceite de maíz. La dosis de benzo(a)pireno o nicotina fue estimada por un reporte hecho por Van Vunakis y cols. (1989) basados en que la concentración de cotinina en saliva de los fumadores fue de 150 a 550 ng/ml después de 15 a 90 minutos después de fumar. Los Hamsters fueron tratados dos veces al día, cinco días a la semana por cuatro semanas. La comida y el agua se les dio libremente. El peso de los animales fue registrado semanalmente. Al final de las cuatro semanas, los Hamsters fueron anestesiados con uretano al 25% (1.0ml /100g del peso corporal) y se sacrificaron. Las bolsas bucales y las glándulas fueron disecadas y colocadas en hielo. Y posteriormente analizadas. La administración del benzo(a)pireno, nicotina o la combinación de ambos en estas cuatro semanas no significaron un cambio ni en el peso corporal o en el peso de las bolsas bucales y las glándulas submandibulares. Ellos reportaron que los dos ingredientes mayores de fumar cigarro, benzo(a)pireno y nicotina, mostraron efectos diferentes en las producción y la síntesis de prostaglandinas en las bolsas bucales y glándulas submandibulares de los Hamsters.

El propósito de Papageorge y cols.³⁴ estuvo enfocado al estudio de la carcinogénesis por tabaco utilizando una nitrosamina específica de este y su efecto; (NNN) , en la mucosa bucal de los Hamsters Syrian. El método que se empleó para este estudio fue con 36 bolsas bucales de Hamsters Syrian pintadas cinco veces a la semana durante 24 semanas con 10 mg/ml de NNN puro en una suspensión con aceite mineral. Los animales fueron sacrificados a las 6, 8, 12 y 24 semanas. Dentro de los resultados observaron que a las seis semanas, la mucosa de la bolsa bucal de los animales aparecieron clínicamente más hiperémicas que las formas controladas. Después de las 12 semanas, todos los animales de experimentación mostraron hiperplasia epitelial e inflamación al examen histológico. Tres de los animales que fueron sacrificados a la 24 semanas mostraron una marcada displasia epitelial. Sus conclusiones fueron que al exponer la mucosa bucal de los Hamsters Syran al NNN, cinco veces a la semana durante 24 semanas, no encontraron cambios clínicos o displásicos, concluyendo que NNN requiere de otros factores para desarrollar cáncer, como un cocarcinógeno, una concentración alta o un largo periodo de aplicación.

El método utilizado en el estudio de Santis, Shklar y cols.³¹ fue produciendo tumores en las bolsas bucales en Hamsters Syrian de 60 días de edad. Se utilizó una brocha de pelo de camello del No. 4 para pintar la bolsa derecha con una concentración al 0.5% de solución de 9,10 dimetil 1,2 benzantraceno (DMBA) disuelta en acetona. Aproximadamente 0.25 ml. El carcinógeno fue aplicado tres veces al día. Estos animales fueron divididos en tres grupos y fueron sacrificados después de 10, 16, y 24 semanas de tratamiento en orden que se pudo estudiar las lesiones, marcadas como lesiones malignas tempranas, y lesiones malignas extensas. Las bolsas bucales izquierdas de cada animal sirvieron de control, siete animales de cada grupo solo recibieron acetona, mientras que los ocho animales sobrantes de cada grupo no fueron tratados. Después de esto los animales fueron sacrificados con éter dietílico, las lesiones tumorales o parecidas a tumores fueron cuidadosamente disecadas libremente de la mucosa adyacente. Ellos encontraron que los animales que fueron sacrificados a las 10 y 16 semanas, mostraron

engrosamiento del área de aplicación. Cuatro animales presentaron lesiones papilares pequeñas en la bolsa bucal derecha. En algunos animales la superficie de mucosa brillante normal tomo una consistencia rugosa, de apariencia gris obscura, mientras que en otros hubo manchas grandes de áreas delgadas nodulares que presentaban rugosidades, con una superficie blanca obscura. En seis animales hubo masas tumorales grandes que sobrepasaron de la mucosa de la bolsa bucal y formaron un tejido mucoso adyacente. En los animales sacrificados a las 24 semanas se encontraron masas tumorales grandes sobre la bolsa bucal experimental (nueve lesiones). En algunos casos la superficie de las lesiones fue negra y necrótica, mientras que en otros casos las lesiones fueron firmes y duras con una superficie lisa e indurada. Las observaciones microscópicas de las bolsas bucales derechas presentaron patrones histológicos distintos. Estos los agruparon dentro de las siguientes categorías: mucosa normal, inflamación crónica e hiperplasia epitelial, papiloma, hiperqueratosis y disqueratosis, carcinoma epidermoide bien diferenciado, y carcinoma anaplásico pobremente diferenciado. Santies y cols.²⁴ menciona que las aplicaciones repetidas de DMBA en las bolsas bucales de los Hamsters provoca carcinomas epidermoides, usualmente invasivos, bien diferenciados.

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

En el presente estudio utilizamos los materiales y métodos previamente descritos con la finalidad de tener un rango de error menos amplio.

DISPLASIA EPITELIAL Y CARCINOMA “IN SITU”

El desarrollo de un proceso maligno en el epitelio plano estratificado tiene lugar como un proceso gradual en el cuál múltiples alteraciones menores individuales de las células y tejidos culminan finalmente en clara premalignidad y malignidad. La combinación de los cambios tisulares observados en la transición gradual hacia la malignidad (pre malignidad) se denomina displasia epitelial.³⁵

En la displasia se encuentran las siguientes alteraciones celulares individuales:

1. Nucleolos prominentes
2. Núcleos hipercromáticos (hipercromasia)
3. Pleomorfismo nuclear
4. Cociente nuclear/citoplásmico alterado
5. Aumento en la actividad mitótica
6. Figuras mitóticas anormales
7. Multinucleación de las células.³⁵

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

casos, la regresión de las formas moderadas y grave de la displasia epitelial, puede no ser posible porque la membrana basal epitelial puede estar ya invadida focalmente. Cuando el tejido conjuntivo adyacente está invadido por epitelio displásico, se considera un carcinoma epidermoide. Las displasias epiteliales severas pueden convertirse en un carcinoma in situ. Este se caracteriza por que toda la capa epitelial está alterada y corresponde histológicamente a un carcinoma del epitelio plano estratificado.^{35, 36} Aunque no se puede realizar clínicamente el diagnóstico diferencial entre una leucoplasia precancerosa con un carcinoma in situ.³⁷

Las áreas de displasia epitelial presentan a menudo un infiltrado leucocitario crónico en el tejido conjuntivo adyacente y los linfocitos se extienden hacia arriba penetrando las capas más profundas del epitelio displásico. Si la displasia es leve y el infiltrado linfocitario es severo, existe la posibilidad de un diagnóstico erróneo.³⁵

Los carcinomas de la mucosa bucal se desarrollan preferentemente a partir de una mucosa discreta. Se considera que casi el 30% de los carcinomas de la cavidad bucal se originan en la base de una mucosa alterada por afecciones anteriores, en las que las leucoplasias precancerosas presentan el estadio previo más frecuente de cáncer.³⁷

Cuando se han cumplido todos los criterios histomorfológicos de un tumor, a excepción del crecimiento invasivo, entonces se habla de un carcinoma in situ o de un carcinoma intraepitelial. El crecimiento maligno se limita en estos casos primeramente al epitelio y la membrana basal permanece todavía intacta. No obstante se debe partir con seguridad que la base de que se producirá en los próximos 5 años un crecimiento invasivo en el estroma subepitelial, con el que también se puede originar metástasis.³⁷

CARCINOMA EPIDERMOIDE

Cuando se habla de cáncer bucal, se hace referencia a los tumores malignos que afectan a los labios, la lengua, el piso de la boca, las glándulas salivales, la faringe y el resto de localizaciones dentro de la boca, correspondiendo en mayor parte de los casos desde el punto de vista anatomopatológicos, al carcinoma epidermoide.^{23, 38, 39}

El carcinoma epidermoide se caracteriza por una proliferación de nidos, cordones o islotes neoplásicos que recuerdan en mayor o menor grado el epitelio escamoso y que penetran en el tejido conectivo de soporte de la lámina propia y submucosa.^{23, 38, 39}

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

- Grado 1: 75% o más del tumor está bien diferenciado.
- Grado 2: 50% o más esta bien diferenciado.
- Grado 3: 25-50% está bien diferenciado.
- Grado 4: menos del 25% está bien diferenciado.

Posteriormente el sistema adoptado por la O.M.S. recomienda la clasificación en tres grados histológicos de malignidad: bien diferenciados, moderadamente diferenciados y pobremente diferenciados o indiferenciados. Esta clasificación se acerca a la de Broders en relación con la diferenciación, pero se consideran además el grado de atipia y las mitosis.²³

Las neoplasias bien diferenciados presentan gran similitud con las células del epitelio escamoso normal, reconociéndose fácilmente los puentes intercelulares con abundante formación de queratina bien en forma de perlas

córneas o como queratinización celular individual. Las células suelen presentar citoplasma eosinófilo amplio y el grado de hiperchromatismo nuclear y de actividad mitótica es mínimo. Frecuentemente puede observarse un infiltrado inflamatorio crónico peritumoral prominente, constituido principalmente por células plasmáticas y linfocitos.^{23, 38}

Los carcinomas moderadamente diferenciados presentan mayor desorganización arquitectónica y aunque persiste el parecido con el epitelio escamoso, el grado de hiperchromatismo, pleomorfismo, anisocitosis y número de mitosis es mayor. La frecuencia de figuras de mitosis atípicas aumenta, mientras que disminuye la formación de perlas córneas y la queratinización individual.^{23, 38}

El los carcinomas pobremente diferenciados es difícil establecer su origen escamoso, salvo por la presencia de pequeños focos de queratinización o por la identificación de puentes intracelulares. Existe un intenso pleomorfismo nuclear con aumento de la relación núcleo/citoplasma y elevado número de mitosis, muchas de ellas atípicas. A veces, algunas neoplasias son completamente anaplásicas y la única clave para el diagnóstico es su origen del epitelio de superficie. En estos casos es necesario estudiar múltiples cortes del tumor para llegar a un diagnóstico correcto o realizar estudios inmunohistoquímicos.^{23, 38}

A lo largo de los años se han propuesto otros sistemas de clasificación como el de Jakobsson en el que se considera además la relación histológica de la neoplasia con el tejido propio del huésped.²³

Por otra parte Glanz y cols. Proponen un sistema aplicado al carcinoma epidermoide de laringe, que incluye cuatro parámetros para establecer el índice de malignidad: 1) diferenciación y pleomorfismo, 2) estructura y borde del tumor, 3) invasión vascular y perineural y 4) respuesta celular del huésped.²³

Como ya lo hemos comentado, los tumores se acompañan a menudo de infiltrado inflamatorio en el que predominan los linfocitos T. Además pueden encontrarse células cebadas, linfocitos B, células plasmáticas, macrófagos, células natural killer y células de Langerhans. También puede haber abundantes eosinófilos, lo que ha sido considerado por algunos autores de cierto valor pronóstico.²³

Independientemente de la clasificación usada, además del grado de diferenciación y el subtipo histológico, si es el caso, conviene hacer referencia al patrón de infiltración tumoral y a la profundidad de invasión tumoral. El patrón de infiltración tumoral puede ser expansivo, en forma de grandes nidos tumorales o por el contrario en forma de nidos de células poco cohesivos o mediante células tumorales individuales, lo cual se ha asociado con una mayor frecuencia a metástasis ganglionares.²³

A la profundidad de la invasión también se le ha concedido importancia pronóstica. Según algunos autores, los tumores que infiltran menos de 4 mm. En profundidad metastatizan en un 8.3%, los que profundizan entre 4 y 8 mm. metastatizan en un 35% y los que sobrepasan los 8 mm. Alcanzan un índice de metástasis del 83%.²³

Además de lo comentado en párrafos anteriores y como se pone de manifiesto en la clasificación TNM de los tumores, son de crucial importancia el tamaño tumoral (considerando el diámetro mayor) y la infiltración tumoral de los ganglios linfáticos regionales. El patólogo debe hacer constar si existe infiltración vascular, linfática o perineural, lo cual también agrava el pronóstico.²³

Un último punto importante es la valoración por parte del patólogo de los márgenes quirúrgicos de la pieza quirúrgica, puesto que márgenes positivos pueden ocasionar recurrencias en el 80% de los casos, mientras que sólo se

observa recurrencia en el 12-18% de los casos con márgenes quirúrgicos libres de tumor.²³

Desde el punto de vista de la localización del carcinoma epidermoide, el labio inferior es el lugar más frecuente afectado(45%), seguido de la lengua (16%) y del piso de boca (12%) en segundo y tercer lugar respectivamente. Considerando la cavidad bucal la gran mayoría ocurren en tres localizaciones: piso de boca principalmente en la papila (a la salida del conducto de Wharton), el complejo paladar blando-pilar anterior-complejo retromolar y en la región ventrolateral de la porción móvil de la lengua.^{23, 39}

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El benzopireno colocado en las bolsas de los Hámsters provocara cambios displásicos a diferentes tiempos comparables con los observados en el ser humano.

JUSTIFICACIÓN

Se plantea este estudio con el propósito de confirmar el daño carcinogénico que realiza el benzopireno a nivel celular y tisular (uno de los principales productos de combustión del tabaco).

Otra de las principales razones para llevar acabo el estudio del benzopireno como agente carcinogénico es debido a que se sabe que el habito del tabaquismo es nocivo, pero el porque? es un cuestionamiento que aún no ha sido aclarado a la población, es así como se debe tener en cuenta que es necesario informar, tanto a los profesionales del área de salud como a la población el general, con el fin de que tengan el conocimiento del daño de fumar tanto para los fumadores activos como para los fumadores pasivos.

HIPÓTESIS

El Benzopireno provoca cambios displásicos en las células epiteliales de la mucosa de la bolsa bucal.

OBJETIVO GENERAL

Demostrar histológicamente cambios sugestivos de malignidad provocados por el benzopireno en la mucosa de la bolsa bucal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

*Analizar microscópicamente la respuesta del tejido ante la administración del carcinógeno.

*Determinar histológicamente los cambios ocurridos en las diferentes etapas del estudio.

DISEÑO DEL ESTUDIO.

Tipo de estudio

- Experimental
- Observacional
- Prospectivo
- Longitudinal

Universo de estudio

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

Tamaño de la muestra.

- Quince bolsas bucales de Hámster Syrian con carcinógeno
- Quince bolsas bucales de Hámster Syrian con placebo

Criterios de inclusión.

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

Criterios de exclusión

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

Criterios de eliminación.

Todos aquellos animales que fallezcan durante el estudio.

VARIABLES

Dependientes

Dosis del Benzopireno
Dosis del placebo

Independientes

Respuesta del animal ante el estímulo

MATERIAL Y MÉTODOS

Material y equipo

- Alimento para los animales
- Cajas con tapas metálicas
- Estuche de disección
- Agente carcinogénico (Benzo(a)pireno) marca SIGMA
- Aceite de maíz

- Isópos
- Algodón
- Guantes
- Cámara digital
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Microscopio de luz
- Reactivos para la técnica de tinción
-

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Metodología

Se utilizaron 30 Hámster cepas Syrian, machos de 4 a 5 semanas de edad de peso de aproximadamente 150 gr., los animales fueron pesados antes de iniciar el estudio y posteriormente una vez por semana. (**Figura 1 a y b**)



FIGURA 1

Los animales fueron alimentados durante el estudio ad libitum y se mantuvieron bajo las condiciones del bioterio (**Figura2**), fueron divididos al azar y marcados en 3 grupos, a cada uno de los animales se les administró el agente carcinógeno en las bolsas del lado derecho. (**Figura 3 a.**)



FIGURA 2



FIGURA 3

Las bolsas del lado izquierdo sirvieron como grupo control administrándoles placebo. (**Figura 3 b.**) La dosis fue de .25ml. a una concentración de .5% de benzo(a)pireno diluido en aceite de maíz, se aplicó tanto el carcinógeno como el placebo cada 24 hrs., durante el tiempo que duro el estudio. (**Figura 4 a.**)

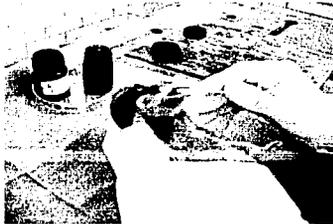


FIGURA 4

La administración del carcinógeno se realizo de la siguiente manera: Se preparo la solución mezclando el benzo(a)pireno con el aceite de maíz, se tallo una vez al día en la mucosa de la bolsa derecha, la bolsa izquierda se tallo en las mismas condiciones únicamente con aceite de maíz. (**Figura 4 b.**)

Los animales fueron sacrificados una vez administrados los tratamientos a las 4, 8 y 12 semanas, con una sobredosis de éter (**Figura 5**) inmediatamente después del sacrificio se realizó la disección de las bolsas bucales (**Figuras 6 a, b y c**); las cuales se disecaron y fueron fijadas con formol al 10% (**Figuras 7 a y b**) y procesadas con la técnica de inclusión en parafina, se realizaron cortes a cuatro micras de espesor que fueron teñidos con la tinción de rutina de H&E.

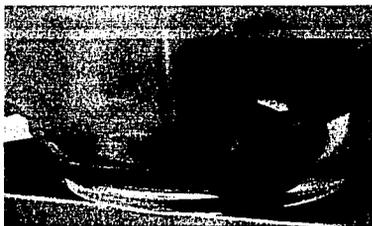


FIGURA 5



FIGURA 6

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



FIGURA 7

Se realizaron observaciones al microscopio de cortes los cortes seriados en busca de cambios displásicos, se elaboraron cuadros de recolección de datos y tablas en las que se anotaron los hallazgos histológicos, se realizaron porcentajes de los resultados obtenidos; el estudio fue observacional cualitativo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESULTADOS

Al finalizar el estudio el total de los animales fue de 15; no se observaron cambios significativos con respecto al peso entre el inicio y el final del tratamiento, el promedio de peso al inicio fue 140 grs. y al finalizar fue de 130 grs. Las bolsas derechas fueron las experimentales y las izquierdas el control, divididas en tres grupos. Durante la observación microscópica de los tejidos obtenidos para gradificar los tipos de displasia usamos los siguientes parámetros: Nucleolos prominentes, núcleos hiper cromáticos, pleomorfismo nuclear, relación núcleo/citoplasma, actividad mitótica, figuras mitóticas anormales y multinucleación de las células. La información obtenida fueron los diferentes grados de displasia usando los términos nulo, leve, moderado y severo, la presencia de microabscesos, tomando en cuenta si existían o no y el infiltrado inflamatorio que se tomo como nulo, leve, moderado y severo.

Antes de la fase experimental, se sacrificó un animal, esto con la finalidad de obtener una imagen histológica testigo. Las características de la bolsa se muestran en la **figura 8**.



Figura 8. Grupo control. (H&E) 200x.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Se revisaron tres cortes histológicos seriados de cada una de las muestras y los datos observados se anotaron en hojas de tabulación, se sumaron los resultados y se obtuvo el promedio para cada uno de los animales. De los 15 casos del grupo experimental, dos presentaron acantosis localizada y 13 tenían cambios displásicos; en el grupo control, observamos la presencia de cambios displásicos en 12 casos y tres únicamente mostraban acantosis. Los resultados se encuentran representados en las **tablas 5** en el caso de la displasia, **6** para la relación entre la displasia y la presencia o ausencia de infiltrado inflamatorio y **9** para los microabscesos

TABLA 5. RESULTADOS OBSERVADOS EN EL GRUPO EXPERIMENTAL Y GRUPO CONTROL DE LOS CAMBIOS DISPLÁSICOS.

Hámster	Semanas	G/E 1	G/E 2	G/E 3	G/E 4	G/E 5	G/E 6	G/E7	G/C 1	G/C 2	G/C 3	G/C 4	G/C 5	G/C 6	G/C 7
1	4														
2	4														
3	4	*	*	*	*										
4	4	*	*	*	*				*	*					
5	4	*	*	*	*		*								
6	8	*	*	*	*										
7	8	*	*	*	*		*								
8	8	*	*	*	*				*	*	*				
9	8	*	*	*	*				*	*	*	*	*	*	*
10	8	*	*	*	*		*		*	*	*	*	*	*	*
11	12	*	*	*	*		*		*	*	*	*	*	*	*
12	12	*	*	*	*		*		*	*	*	*	*	*	*
13	12	*	*	*	*		*		*	*	*	*	*	*	*
14	12	*	*	*	*				*	*	*	*			
15	12	*	*	*	*		*		*	*	*	*			

* Si se presentaron

G/E: Grupo experimental

G/C: Grupo control

1: Núcleos prominentes

2: Núcleos hiper cromáticos (hipercromasia)

3: Pleomorfismo nuclear

4: Cociente nuclear/citoplásmico alterado

5: Aumento en la actividad mitótica

6: Figuras mitóticas anormales

7: Multinucleación de las células

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

TABLA 6. RESULTADOS DEL GRADO DE INFILTRADO INFLAMATORIO Y DISPLASIA PRESENTADOS EN GRUPO EXPERIMENTAL Y CONTROL.

Hámster	Semanas	B/B infiltrado inflamatorio	B/B grado de displasia	B/P infiltrado inflamatorio	B/P grado de displasia
1	4	0	0	0	0
2	4	1	0	1	0
3	4	0	1	0	0
4	4	1	3	1	1
5	4	1	2	0	0
6	8	1	1	0	0
7	8	1	2	0	0
8	8	1	1	1	1
9	8	1	2	1	1
10	8	2	3	0	0
11	12	2	3	2	3
12	12	2	3	1	2
13	12	3	3	1	2
14	12	2	2	1	1
15	12	1	2	1	1

B/B: Bolsas bucales con Benzopireno

B/P: Bolsas bucales con Placebo

0 No se presento

1 Leve

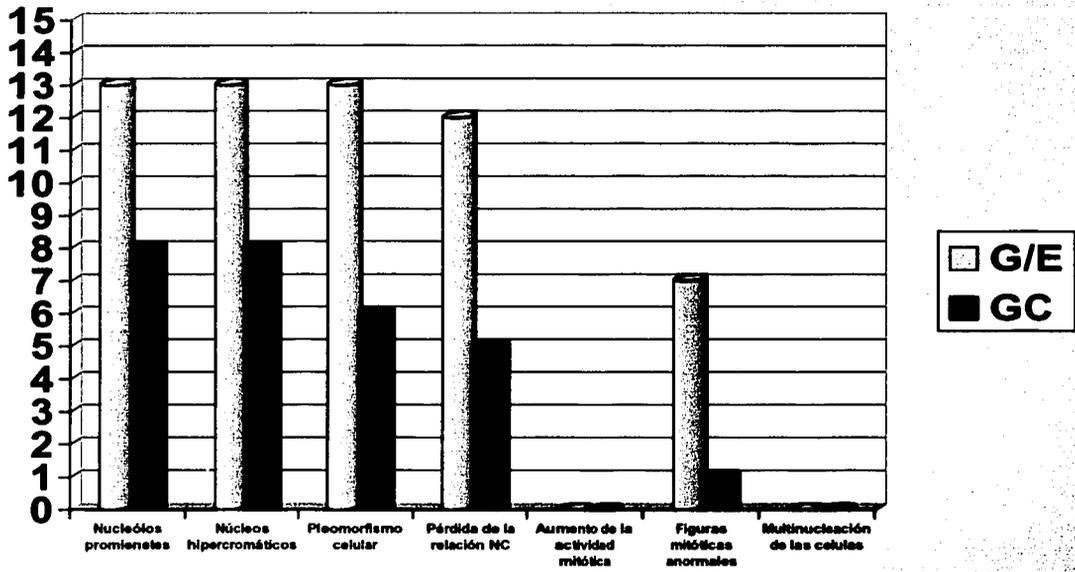
2 Moderado

3 Severo

Como se puede observar en la **tabla 5** y en la **gráfica 1**, los tipos de cambios más frecuentes fueron los nucléolos prominentes, los núcleos hipercromáticos, el pleomorfismo celular, la pérdida de la relación núcleo-citoplasma y en menor frecuencia las figuras mitóticas anormales; y con respecto a la actividad mitótica y la presencia de células multinucleadas no se observaron ninguno de los dos grupos.

GRÁFICA 1

COMPARACIÓN DEL DESARROLLO DE DISPLASIA ENTRE EL GRUPO EXPERIMENTAL Y EL GRUPO CONTROL



Se obtuvieron los promedios, desviación, estándar, varianza y los porcentajes de cada uno de los cambios displásicos los cuales se encuentran detallados en la **tabla 7 y 8**.

TABLA 7. Análisis estadístico de cambios displásicos en el grupo experimental.

B/B	PROMEDIO S.D	VARIANZA	%
NUCLEÓLOS PROMINENTES	0.87 ± 0.35	0.12	86.7
NUCLEOS HIPERCROMÁTICOS	0.87 ± 0.35	0.12	86.7
PLEOMORFISMO CELULAR	0.87 ± 0.35	0.12	86.7
PERDIDA DE LA RELACIÓN N/C	0.80 ± 0.41	0.17	80.0
FIGURAS MITÓTICAS ANORMALES	0.47 ± 0.52	0.26	46.7

TABLA 8. Análisis estadístico de cambios displásicos en el grupo control.

B/B	PROMEDIO S.D	VARIANZA	%
NUCLEÓLOS PROMINENTES	0.53 ± 0.52	0.26	53.3
NUCLEOS HIPERCROMÁTICOS	0.53 ± 0.52	0.26	53.3
PLEOMORFISMO CELULAR	0.40 ± 0.51	0.25	40.0
PERDIDA DE LA RELACIÓN N/C	0.33 ± 0.49	0.23	33.3
FIGURAS MITÓTICAS ANORMALES	0.06 ± 0.26	0.06	6.7

GRADO DE DISPLASIA.

Como se mencionó en párrafos anteriores en el grupo experimental observamos trece casos con algún grado de displasia, tres del primer grupo con displasia leve (ver **Figura 9**), una moderada y una severa; en el segundo grupo dos casos presentaron displasia leve, dos moderada (ver **figuras 10 a y b**) y una severa; en los cinco casos del tercer grupo dos presentaron displasia moderada y tres severa (ver **figuras 11 y 12**).



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 9. Displasia leve Grupo control. (H&E) 200x.en la que observamos hiper cromatismo y pleomorfismo celular en los estratos basal y suprabasal.



FIGURA 10. Displasia Moderada (H&E) a) 200x. b)400x. en las que podemos observar pleomorfismo, hiper cromatismo y pérdida de la relación núcleo citoplasma.



Figura 11. Displasia severa (H&E) 200x. Se observa pleomorfismo celular e hiper cromatismo con elongación del clavo epitelial.



Figura 12. Displasia severa (H&E) 400x. Donde encontramos el epitelio en su total aumentado de tamaño y con cambios displásicos en el nivel superior, medio e inferior.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En el grupo control se encontraron cambios displásicos no tan significativos como en el grupo experimental, observamos los datos más relevantes en el tercer grupo, donde los cinco tejidos estudiados de este grupo presentaron cambios, los cuales fueron dos leves (ver **figura 13**), dos moderados y uno severo. Posteriormente, se obtuvo el porcentaje tanto en el grupo experimental como el control, los cuales se ven representados en las **gráficas 2 y 3**.

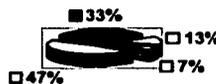
GRÁFICA 2.

FRECUENCIA DE DISPLASIA EN EL GRUPO EXPERIMENTAL



GRÁFICA 3.

FRECUENCIA DE DISPLASIA EN EL GRUPO CONTROL



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FIGURA 13. Displasia Moderada (H&E). 200x. Fue evidente el pleomorfismo leve que encontró en este caso.

MICROABSCESOS

Durante la revisión al microscopio pudimos observar la presencia y distribución a lo largo del epitelio de solitarias y múltiples lesiones con aspecto de microabscesos; que no estaban contempladas dentro del protocolo. En el grupo experimental observamos ocho microabscesos, uno de ellos se encontró en el primer grupo, dos en el segundo (ver **figura 14**) y los últimos cinco en el tercero (ver **figuras 15, 16 a y b y 17 a y b**). Por lo que al final de las doce semanas el resultado fue de un 53.3% de microabscesos y un 46.7% sin ellos en el total de las muestras (100%) (ver **gráfica 4.**) Mientras que en el grupo control cinco microabscesos se observaron únicamente en el tercer grupo, obteniendo así un 33.3% de microabscesos y un 66.7% sin ellos en el total (100%) de este grupo. La frecuencia con las que se observaron se representa en la **tabla 9**.

TABLA 9. FRECUENCIA DE MICROABSCESOS EN GRUPOS EXPERIMENTAL Y CONTROL.

Hámster	Semanas	G/E microabscesos	G/C microabscesos
1	4		
2	4		
3	4		
4	4	•	
5	4		
6	8		
7	8		
8	8	•	
9	8	•	
10	8		
11	12		•
12	12	•	•
13	12	•	•
14	12	•	•
15	12	•	•

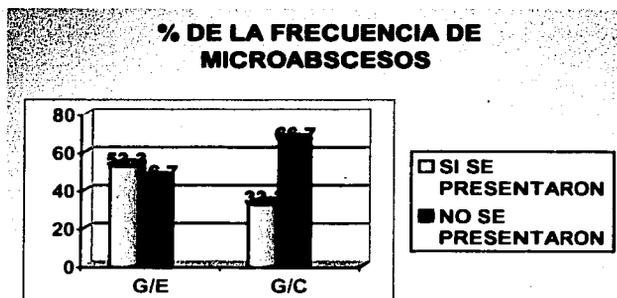
* Si se presentaron

G/E: Bolsas bucales con Benzopireno

G/C: Bolsas bucales con Placebo

TESIS CON
A DE ORIGEN

GRÁFICA 4.



La presencia de microabscesos fue más significativa en el tercer grupo del grupo experimental, el promedio de microabscesos en el grupo experimental fue de 0.53 ± 0.52 , mientras que el promedio del grupo control fue de 0.33 ± 0.49 .



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FIGURA 14. (H&E) 200x. Se observa la presencia de un microabsceso adyacente a la zona de displasia.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 15. (H&E) 200x. Presencia de un microabsceso intraepitelial rodeado por tejido displásico.



Figura 16. Imágenes en las cuales podemos observar los hallazgos relevantes del estudio como son microabsceso, displasia e infiltrado inflamatorio. a) 200x y b) 400x.



FIGURA 17. Imágenes en las cuales podemos observar los hallazgos relevantes del estudio como son microabsceso, displasia e infiltrado inflamatorio. a) 200x y b) 400x.

INFILTRADO INFLAMATORIO

El tipo inflamatorio y su frecuencia en los tres grupos estudio se representan en las *tablas 10 y 11*.

TABLA 10.

	Semana s			Total
	4	8	12	
BC infiltrado inflamatorio	0	2		2
	1	3	4	8
	2		1	3
	3			1
Total	5	5	5	15

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA 11.

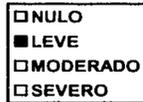
	Semana			Total
	4	8	12	
BS infiltrado inflamatorio	0	3	3	6
	1	2	2	4
	2			1
Total	5	5	5	15

Como se puede observar los datos más significativos se encontraron en el grupo experimental, en donde trece de las quince muestras (100%) presentaron algún tipo de infiltrado, predominando el leve a moderado; en comparación con el grupo control en el cual, el grado de infiltrado inflamatorio que predominó fue leve. De acuerdo a los resultados se obtuvieron los porcentajes de grado inflamatorio, los cuales se ven representados en las **gráficas 5 y 6**.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

GRÁFICA 5.

% INFILTRADO INFLAMATORIO G/E



GRÁFICA 6.

% INFILTRADO INFLAMATORIO G/C



Se utilizó la prueba de t student (**Tabla 12**) donde se cruzaron el promedio de las semanas con los promedios de cada una de los datos descritos anteriormente (BC-microabscesos, infiltrado inflamatorio, grado de displasia, BP-microabscesos, infiltrado inflamatorio, grado de displasia). Del resultado de todos los cruces obtuvimos una p de .001, la cual nos da un grado de confiabilidad aceptable.

TABLA 12. PRUEBA T STUDENT

	PRUEBA DE T STUDENT					
	PROMEDIO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	ERROR ESTÁNDAR PROMEDIO	t	df	p
Semanas - BC microabscesos	7.47	3.07	.79	9.427	14	.001
Semanas - BC infiltrado inflamatorio	6.73	2.84	.73	9.182	14	.001
Semanas - BC grado displásico	6.13	2.92	.76	8.123	14	.001
Semanas - BS microabscesos	7.67	2.97	.77	10.004	14	.001
Semanas - BS infiltrado inflamatorio	7.33	3.09	.80	9.203	14	.001
Semanas - BS grado inflamatorio	7.20	2.78	.72	10.021	14	.001

TECIS CON FALLA DE ORIGEN

DISCUSIÓN

Como se menciona en los antecedentes el objetivo de estudiar experimentalmente las sustancias carcinógenas químicas llevo al conocimiento de que el cáncer es consecuencia de un proceso que consiste en múltiples etapas. Inicialmente se comprobó que una sola aplicación de un carcinógeno en la piel no es suficiente para producir enfermedad; pero si después, se aplica localmente un estímulo proliferativo con una segunda aplicación de sustancia química irritante no carcinógena se desarrollan tumores; denominándoseles a estas sustancias promotores.¹² Se conocen como iniciadores de la carcinogénesis al Benzopireno que como ya se menciona es un hidrocarburos aromáticos presente en el condensado o alquitrán del humo de tabaco.

Los benzopirenos tienen la característica de combinarse con en el DNA alterando la secuencia de los genes lo cual produce una alteración completa de la secuencia de aminoácidos de la proteína producida, modificando su función.²⁷ En este estudio utilizamos el benzopireno para observar los cambios celulares y tisulares en las bolsas de los Hamsters, con el objetivo de determinar si era posible con la aplicación diaria de benzo(a)pireno el desarrollo de displasia y/o carcinoma invasor.

Dentro de los métodos utilizados para inducir carcinogénesis en Hamsters se encuentran los descritos por: Salley y cols.³² quienes pintaron soluciones carcinógenas (9,10-dimetil-1,2- benzantraceno, 20 metilcolantreno y 3,4-benzopireno) en la superficie epitelial de las bolsas de las mejillas con un pincel de pelo de camello del No. 4 tres veces por semana durante 16 semanas, Wu-Wang y cols.³³ utilizaron veinte machos adultos de 100 a 125 gr. de peso divididos en cuatro grupos; sus bolsas bucales de ambos lados se lavaron apicalmente con aceite de maíz (grupo control), 1 mm de benzo(a)pireno, 1 mm de nicotina, o una combinación de 1mm de benzo(a)pireno con 1 mm de nicotina en aceite de maíz, tratados dos veces al día, cinco días a la semana por cuatro semanas. Reportaron

que los dos ingredientes mayores de fumar cigarro, benzo(a)pireno y nicotina, mostraron efectos diferentes en la producción y la síntesis de prostaglandinas en las bolsas bucales y glándulas submandibulares de los Hamsters. En base a estos resultados y a la línea de investigación del presente estudio nosotros usamos una dosis de .25ml. a una concentración de 5% de benzo(a)pireno diluido en aceite de maíz, para la aplicación de las bolsas derechas (grupo experimental) y aceite de maíz como placebo en las bolsas bucales izquierdas (grupo control), se aplicaron estas soluciones cada 24 hrs., durante 12 semanas; los animales fueron divididos en tres grupos y sacrificados a las 4, 8 y 12 semanas; en los resultados se observó que el benzo(a)pireno, químicamente puro es un carcinógeno que por sí solo produce cambios displásicos progresivos y significativos e irritación con la siguiente formación de microabscesos.

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

Santis, Shklar y cols.³¹ utilizaron un pincel de pelo de camello del No. 4 para pintar la bolsa derecha con una concentración al 0.5% de solución de 9,10 dimetil 1,2 benzantraceno (DMBA) disuelta en acetona. Aproximadamente 0.25 ml. El carcinógeno fue aplicado tres veces al día. Las lesiones tumorales o parecidas a tumores fueron cuidadosamente disecadas de la mucosa adyacente. Los patrones histológicos observados por ellos variaron desde mucosa normal, inflamación crónica, hiperplasia epitelial, papiloma, hiperqueratosis,

disqueratosis, carcinoma epidermoide bien diferenciado y carcinoma pobremente diferenciado. Ellos concluyeron que las aplicaciones DMBA en los Hamsters provocan carcinomas epidermoides, bien diferenciados usualmente invasivos.

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

El tallar la mucosa bucal con concentraciones bajas de una mezcla de N-nitrosornicotina NNN en adición con 4(metilnitrosamina)-1-(3-piridil)-1-butano NNK en agua induce cáncer bucal en ratas.²⁸Shearer y cols.³⁰ mencionan que el carcinoma de células escamosas puede ser inducido en el epitelio de las bolsas de las mejillas de los Hamsters con aplicaciones del carcinógeno 9,10-dimetil-1,2-benzoantraceno, en el cuál los cambios premalignos y carcinomas observados se asemejan mucho a las lesiones humanas. Los cambios detectados fueron, epitelio pre-neoplásico y epitelio neoplásico. En este trabajo nosotros no observamos carcinomas pero si se pudieron observar cambios displásicos de diferentes grados: leve moderado y severo, caracterizados por: nucléolos prominentes, núcleos hipercromáticos, pleomorfismo celular, pérdida de la relación núcleo-citoplasma y en menor frecuencia figuras mitóticas anormales escasas.

CONCLUSIONES

- De los 15 casos del grupo experimental, dos presentaron acantosis localizada y trece presentaron displasia de las cuales fueron tres leves, cinco moderadas y cinco severas.
- Los tipos de cambios más frecuentes fueron nucleolos prominentes, núcleos hipercromáticos, pleomorfismo celular, pérdida de la relación núcleo/citoplasma y en menor frecuencia figuras mitóticas anormales.
- Se encontraron ocho microabscesos en el grupo experimental, uno en la primera etapa del estudio, dos en la segunda y cinco en la tercera.
- En el grupo experimental trece de las quince muestras (100%) presentaron algún tipo de infiltrado, predominando el leve a moderado.
- Los resultados tuvieron una p de .001, la cual nos da un grado de confiabilidad aceptable.

BIBLIOGRAFÍA

1. www.tuotromedico.com/temas/cancer-y-medioambiente.htm.
2. Rozman, Farreras. Medicina Interna. Vol. I. 13° edición. Mosby/Doyma Libros. España 1995.
3. Velázquez, Tomas. Anatomía Patológica. La Prensa Mexicana. México. 1996.
4. Rubín, Emanuel. Patología. Médica Panamericana. México 1990.
5. Robbins. Patología Estructural y Funcional. 6° edición. McGraw-Hill. México 2001.
6. Pardo, J. Mindán. Anatomía Patológica General. Vol. I. Mosby/Doyma Libros. Barcelona España 1995.
7. Fariñana, Juiliana. Anatomía Patológica. Salvat Editores. Barcelona España 1990.
8. DeVita, Vincent. Cáncer. Principios y práctica de oncología. Vol. I. 2° edición. Salvat editores. Barcelona España, 1988.
9. Mukhtar, Hasan. Skin Cancer: Mechanisms and human relevance. Ed. CRC Press. United States of America 1995.
10. Kissane, John M. Anderson's Pathology. Vol I. 9° edición. The C.V. Mosby Company. St. Luis Missouri 1990.
11. Taylor, R. Olive. Patología General. Manual Moderno. México 1998.
12. Robin/Farber. Patología Fundamental. Panamericana. México 1992.
13. Guízar, Jesús. Vázquez. Genética Clínica: Diagnóstico y manejo de las enfermedades hereditarias. 2° edición. Manual Moderno. México 1994.
14. Salamanca Gómez, Fabio. Citogenética Humana: Fundamentos y aplicaciones clínicas. Médica Panamericana. México 1990.
15. Lisker, Salvador, et.al. La genética y usted. 2° edición. Siglo Veintiuno editores. México 1984.
16. Flores, Guillermo. Patología Oncológica. McGraw -Hill Interamericana. México 1997.
17. DeVille, Martín, et.al. Biología de Ville. 3° edición. McGraw-Hill Interamerican. México 1996.

18. www.placonempresas.com/fumar/tabacoycancer.htm. Tabaco y cáncer.
19. www.encolombia.com/nicotrans_nicotina3.htm. La Nicotina y el Tabaco.
20. Moosa, A.R. Oncology. William & Wilkins. United States of America 1986.
21. Rozman, Farreras. Medicina Interna. Vol. II. Mosby/Doyma Libros. 13ª edición. España 1995.
22. Ord, Robert A. et.al. Oral Cancer: The dentist's role in diagnosis, management, rehabilitation and prevention. Quintessence books. Illinois 2000.
23. González Moles, Miguel Angel. Precáncer y Cáncer Oral. Ediciones Avances Médico-Dentales, S.L. Madrid 2001.
24. Shklar, Gerald. Oral Cancer: The diagnosis, therapy, management and rehabilitation of the oral cancer patient. W. B. Saunders Company. Philadelphia and London 1994.
25. Moore, Robert A. A textbook of Pathology: Pathology anatomy in its relations to the causes pathogenesis and clinical manifestations of disease. W. B. Saunders Company. Philadelphia and London 1994.
26. www.chiper.cl/news/1999/06/30/sp_nl.asp. Benzopireno es nuevo factor de contaminación.
27. www.oliva.net/ ¿Qué son los benzopirenos?
28. Hoffman, D; Djordjevic, M. V. "Chemical Composition and Carcinogenicity of Smokeless Tobacco" Adv. Dent. Res 11 (3):322-329, September, 1997.
29. www.ncl.nih.gov/intra/LEC/LECPAGE.htm "Laboratory of experimental carcinogenesis"
30. Shearer, BN, et. al. "Differential Expression of Type I Cytokeratins in Hamster Cheek Pouch Epithelium Following Treatment with Dimethylbenzanthracene" Journal of Oral Pathology and Medicine 26:470-6, 1997.
31. Santis Helen, et. al. "Histochemistry of Experimentally induced Leukoplakia and Carcinoma of the Hamster Bucal Pouch" Oral Pathology 17(2): 207-218, 1964.
32. Salley, John. J. "Experimental Carcinogenesis in the Cheek Pouch of the Syrian Hamster" Journal of Dental Research 11(2):253-262, 1954

33. Wu-Wang, C.Y. et. al. "Effects of Benzo(a)pyrene and Nicotine on Prostaglandin Synthesis in Buccal Pouch and Submandibular Glands of the Syrian Hamster" *Archs oral Biology* 38 (12):1045-1050, 1993
34. Papageorge, Maria; et. al. "The effect of N- Nitrosornicotine on the Buccal Mucosa of Syrian Hamsters" *Journal of Oral Maxillofacial Surgery* 54: 187-190, 1996.
35. Sapp, Philip J. *Patología Oral y Maxilofacial Contemporánea*. Habcourt Brance. Madrid España 1998.
36. Reichart, Peter A. *Atlas de Patología Oral*. Masson. Barcelona España 1999.
37. Strassburg, Mantred. Et.al. *Mucosa Oral: Atlas a color de enfermedades*. Marban libros. Madrid España 1995.
38. Shafer, William G. *Tratado de Patología Bucal*. McGraw-Hill Interamericana. México 1991.
39. Gorlin Robert. Et.al. *Patología Oral*. Salvat editores. Barcelona España 1983.
40. Schwartz, J.L.; Shkalar, G. " Verification in Syngeneic Hamsters of In Vitro Transformation of Hamster Oral Mucosa by 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene" *Oral Oncology* 33 (6):431-438, 1997.