



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**DETERMINACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DEL FACTOR
DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO (FCE) Y FACTOR DE
CRECIMIENTO TRANSFORMANTE β 3 (FCT β 3) EN
PACIENTES CON LABIO Y PALADAR HENDIDO
SOMETIDOS A CIRUGÍA CORRECTIVA**

TESIS

Que para obtener el título de

CIRUJANA DENTISTA

Presenta:

CAROLINA LÓPEZ GONZÁLEZ

TUTORA: DRA. SANTA PONCE BRAVO.

ASESORES: C. D. JUAN CARLOS LÓPEZ NORIEGA.
C. D. MARÍA LUISA LÓPEZ SALGADO
Mtro. ISRAEL MORALES SÁNCHEZ
C. D. IVONNE SÁMANO OZUNA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

A Dios, quien me ha dado vida, salud y la mejor de las familias.

A toda mi enorme familia, principalmente a mis queridos padres Lucila González Loperena y Jaime López Camacho, quienes siempre están conmigo, brindándome su amistad y una gran educación personal. Gracias por apoyarme desde el desarrollo embrionario hasta mi formación profesional.

A mi querida hermana Ana, por su compañía, consejos, complicidad, enormes cuidados y ayuda en todo momento de mi vida.

A todos mis amigos, principalmente a Paola, Marco, Dulce, Denisse, María, Christian, Jessica y Luis, por su compañía y apoyo de siempre. Y en especial para un amigo, y la persona más desinteresada que he conocido, el Sr. Renato, su ayuda fue de vital importancia...aquí está mi Tesis!

A la Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Odontología, que me permitió desarrollarme profesionalmente.

Y claro, agradezco infinitamente a mi directora de Tesis, Dra. Santa Ponce Bravo, por sus enseñanzas, consejos, dedicación y enorme paciencia.

A mi tutor de Tesis, C.O.M.F. Juan Carlos López Noriega, por darme la gran oportunidad de participar en este proyecto, por sus asesorías, comprensión, enseñanza, y canalización de pacientes.

A mi tutor de Tesis, Mtro. Israel Morales Sánchez, por todo su tiempo, paciencia, consejos, enseñanza, y asesoría en el proyecto.

A mi tutora de Tesis, CO.M.F. Ma. Luisa López Salgado, una de las personas más comprometidas con los pacientes con labio y paladar hendido que he conocido, por sus enseñanzas y enorme asesoría en el proyecto y en la canalización de estos pacientes.

A mi tutora de Tesis, la CO.M.F. Ivonne Sámano, por su gran asesoría y canalización de pacientes.

Al CO.M.F. Rafael Ruiz por su valiosa aportación al proyecto.

A todo el personal que contribuyó con la recolección de muestras, en el Hospital Para el Niño DIF de Toluca, Hospital General de Atizapán y en cada una de las Brigadas de Cirugía encaminadas a la corrección de Labio y Paladar Hendido.

Debo de dar gracias a aquellos guías que han iluminado mi mente en grandes momentos, gracias a las C.O.M.F. Gabriela Vilar y Jerem Cruz por contribuir en mi proyecto de tesis y de vida.

A los residentes de la Especialidad de Cirugía Oral y Maxilofacial, que me apoyaron, por su paciencia, enseñanza y gran ayuda en la recolección de muestras.

Y por último, y no por ello menos importante, gracias a todos los niños y niñas que desafortunadamente presentan labio y paladar hendido.

ÍNDICE

I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	3
III. MARCO TEÓRICO.....	6
A. EMBRIOLOGÍA DE CARA Y CAVIDAD BUCAL.....	6
1. DESARROLLO DE LA CARA.....	6
2. ARCOS FARÍNGEOS.....	7
2.1. Primer Arco Faríngeo.....	7
2.2. Segundo Arco Faríngeo.....	7
2.3. Tercer Arco Faríngeo.....	8
2.4. Cuarto Y Sexto Arcos Faríngeos.....	8
3. BOLSAS FARÍNGEAS.....	8
3.1. Primera Bolsa Faríngea.....	8
3.2. Segunda Bolsa Faríngea.....	8
3.3. Tercera Bolsa Faríngea.....	9
3.4. Cuarta Bolsa Faríngea.....	9
3.5. Quinta Bolsa Faríngea.....	9
4. HENDIDURAS FARÍNGEAS.....	10
5. LENGUA.....	10
5.1. FORMACIÓN DE LA LENGUA.....	10
6. FORMACIÓN DE LA CAVIDAD BUCAL.....	11
6.1. Segmento Intermaxilar.....	11
6.2. Paladar Primario.....	12

6.3. Paladar Secundario.....	12
B. LABIO HENDIDO.....	16
1. DEFINICIÓN.....	16
2. FACTORES ETIOLÓGICOS.....	16
3. EPIDEMIOLOGÍA.....	17
4. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DEL LABIO HENDIDO.....	17
C. PALADAR HENDIDO.....	18
1. DEFINICIÓN.....	18
2. FACTORES ETIOLÓGICOS.....	18
3. EPIDEMIOLOGÍA.....	18
4. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DEL PALADAR HENDIDO.....	18
D. CLASIFICACIÓN ANATÓMICA PARA LABIO Y PALADAR HENDIDO....	20
E. FACTORES DE CRECIMIENTO.....	24
1. FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO.....	24
2. FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMADOR β 3.....	25
F. INMUNOHISTOQUÍMICA.....	27
G. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	28
H. JUSTIFICACIÓN.....	28
I. OBJETIVOS.....	28
J. HIPÓTESIS.....	29
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
1. TIPO DE ESTUDIO.....	30
2. VARIABLES.....	30

2.1. VARIABLES DEPENDIENTES.....	30
2.2. VARIABLE INDEPENDIENTE.....	30
2.3. DEFINICIÓN DE VARIABLES.....	30
3. CRITERIOS.....	32
3.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	32
3.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	32
4. MATERIAL.....	32
4.1. Equipo.....	33
4.2. Cristalería.....	33
4.3. Reactivos.....	33
4.4. Anticuerpos.....	33
4.5. Consumibles.....	33
5. METODOLOGÍA.....	34
V. RESULTADOS.....	37
VI. DISCUSIÓN.....	64
VII. CONCLUSIONES.....	67
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

I.RESUMEN

DETERMINACIÓN DE FCE y FCT β 3 EN PACIENTES CON LABIO Y PALADAR HENDIDO DE CIRUGÍA CORRECTIVA.

El labio (LH) y paladar hendido (PH) es una alteración de hereditaria, congénita, adquirida en pacientes pediátricos, de etiología multifactorial. Es posible que participen en este proceso factores de crecimiento como el epidérmico (FCE) y el transformante β 3 (FCT- β 3), ambos intervienen directamente en la fusión de las crestas palatales, el FCE sobre la proliferación de tejidos epiteliales y el FCT β 3 en el epitelio de fusión del paladar.^(16, 20 y 21)

OBJETIVO. Establecer la presencia y tipo de expresión de FCE y FCT- β 3 en la mucosa de las LH y PH de pacientes, de ambos sexos, de cualquier edad, sometidos a cirugía para el cierre de defecto.

METODOLOGÍA. Se procesaron 49 muestras tomadas de la mucosa de la zona de la hendidura, para teñirse con H&E e inmunohistoquímica por técnica de Avidin-Biotin-Streptavidina con FCE y FCT β 3, para su observación al microscopio óptico.

RESULTADOS. Las muestras se obtuvieron del estado de Chiapas (17 casos, 35%). Del DIF en Quintana Roo (2 casos, 4%) y en Ecatepec (2 casos, 4%), del Hospital para el Niño DIF Toluca (23 casos; 47%), del Hospital General de Atizapán (5 casos, 10%; Estado de México. De las 49 muestras correspondieron 18 mujeres y 31 varones con edades entre 1 mes y 14 años, de las muestras 16 fueron mucosa de LF (33%), 1 tejido de paladar hendido completo unilateral (PFCU, 2%), 5 de paladar hendido completo bilateral (PFCB, 10%), 3 de paladar hendido incompleto unilateral (PFIU, 6%), 24 del labio y paladar hendido completo (LPFC; 49%).

INMUNOHISTOQUÍMICA. FCE tuvo 19 casos con reacción negativa (37%), 2 con respuesta intensa (6%), 13 respuesta moderada (26%) y 15 leve (31%). FCT β 3 presentó una inmunorrespuesta más intensa con 23 casos (47%), 17 moderado (35%) y 9 leve (18%), posible que la acción de uno de los factores en este caso el FCT β 3 no está potencializado por algún otro factor, como sería la poca respuesta del FCE que se encontró en la mayor parte de las muestras.

CONCLUSIONES. Es menos marcada la reacción en el labio, ya que se detectaron grados desde leve a moderado, encontrando una mayor reacción en el labio hendido completo bilateral. Las edades con mayor predominio fueron de 1 mes a 11 meses de edad, con mayor incidencia en infantes con labio y paladar hendido de 3 meses de edad. Histológicamente un hallazgo importante fue la presencia de coilocitos.

II. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo de investigación trata el tema de labio y paladar hendido en pacientes pediátricos y cómo es que este defecto en el desarrollo embrionario se ve influenciado por la disminución en la expresión de factores de crecimiento, entre los cuales se encuentran el Factor de Crecimiento Epidérmico (FCE) y Factor de Crecimiento Transformante β 3 (FCT β 3), debido a que se ha visto que ambos intervienen directamente en la fusión de las crestas palatales, si hablamos del FCE encontramos que actúa sobre la proliferación de tejidos epiteliales, y al referirnos al FCT β 3, encontramos que actúa sobre el epitelio de fusión del paladar.

Esta disminución de factores de crecimiento se detectó mediante estudios de inmunohistoquímica, ya que estas técnicas han ayudado a observar y determinar con gran precisión estructuras celulares y antígenos en tejidos que muestran distintas patologías.

Respecto a las reacciones que encontramos con las técnicas de inmunohistoquímica, se detectó que los pacientes con paladar hendido, presentan una reacción de mayor intensidad con el FCE que con el FCT β 3, debido al mayor recambio celular que encontramos en el paladar por la hiperplasia celular, y los pacientes con labio hendido, presentan una reacción de mayor intensidad en la inmunohistoquímica del FCT β 3 que con el FCE, en donde se hace evidente la falta del FCE al detectar en la mayoría de los epitelios zonas hipertróficas.

Dicho de otra forma, las características que más resaltan son las de células hiperplásicas en el epitelio del paladar, mientras que en el epitelio del labio hendido encontramos células hipertróficas principalmente.

ANTECEDENTES

Corbo (2001), menciona que las malformaciones congénitas se conocen desde los albores de la humanidad, tal como lo muestran los grabados y figurillas testigos de pasadas civilizaciones (datan del año 2000 a.c.). La explicación que de este fenómeno se ha dado a través de las diferentes épocas, va desde los conceptos mágico-religioso o filosóficos hasta los de hoy en día, basados en hechos científicos.⁽¹⁾

Según Coiffman (1994) y Gómez (1998), a mediados del siglo XIX nació la teratología (terato = monstruo, logos = estudio) la cual se define como la ciencia que trata las malformaciones, y en las últimas décadas se ha acuñado el término dismorfología para referirse a la ciencia que estudia las malformaciones congénitas.^(2,3)

Machida (1999), asegura que durante mucho tiempo el labio y el paladar hendido han sido objeto de innumerables estudios a nivel mundial, poniendo atención en la identificación de los posibles factores etiológicos.⁽⁴⁾ Sin embargo, en sus estudios Alappat (2005) y Dudas, (2006), han detectado que existe inhibición de la señalización para la activación de algunos factores de crecimiento, entre los que destaca el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento transformante beta (FCT- β 3), importantes para la formación del paladar.^(5,6)

Carpenter (2007), refiere que la existencia del FCE se definió hace más de 20 años, se comprobó que extractos de glándula submaxilar de ratón, inyectados en animales recién nacidos, inducían erupción de incisivos, debido a una estimulación directa del crecimiento epidermal y queratinización, por lo que se deduce que la falta de este factor produce la falta de unión en las crestas palatales.⁽⁷⁾

Nawshad (2004), refiere que el FCT β 3 regula la transformación del epitelio del borde medio (EBM) a mesénquima, a modo de producir la confluencia palatal. La formación del EBM, es un paso crucial en el desarrollo del paladar, las placas opuestas se adhieren una a otra en el EBM, la sutura de este desaparece por transformación mesénquima epitelial (EMT), que crea confluencia del tejido conectivo a través del paladar. El paladar hendido tiene una etiología multifactorial, que a menudo incluye falla en la adherencia de las placas opuestas y/o EMT del BME.⁽⁸⁾

INMUNOHISTOQUÍMICA

En las últimas décadas la utilización de la inmunohistoquímica (IHQ) ha sido progresivamente creciente y se ha consolidado como tecnología esencial en el diagnóstico patológico de rutina. En general y muy especialmente en patología oncológica, son cada vez más las patologías cuyo diagnóstico y clasificación requiere IHQ. La IHQ requiere una metodología de laboratorio muy distinta de la del laboratorio clásico de anatomía patológica. La interpretación debe efectuarse siempre conjuntamente con el contexto clínico y los hallazgos morfológicos.⁽⁹⁾

III. MARCO TEÓRICO

A. EMBRIOLOGÍA DE CARA Y CAVIDAD BUCAL

1. DESARROLLO DE LA CARA

Según Sadler (2002), hacia el final de la cuarta semana e inicios de la quinta semana de desarrollo intrauterino da inicio la formación de la cara, aparecen los procesos fronto-nasales y el primer arco faríngeo, éste último derivado de la cresta neural. A partir del primer arco faríngeo también denominado mandibular surgen los dos procesos maxilares y mandibulares, siendo éste el primero en fusionarse. Los procesos maxilares se encuentran localizados lateralmente a la depresión central que corresponde al estomodeo o cavidad bucal primitiva y en posición caudal los procesos mandibulares. La prominencia frontonasal se forma por la proliferación del mesénquima ventral a las vesículas cerebrales, constituye el borde superior del estomodeo. A cada lado de la prominencia frontonasal se observan engrosamientos locales del ectodermo superficial, que corresponden a las placodas nasales (olfatorias).⁽¹⁰⁾

Durante la quinta semana, las placodas nasales se invaginan para formar las fositas nasales con lo cual aparecen rebordes de tejido que rodean a cada fosita y forman procesos nasales. Los del lado externo son los procesos nasales laterales y del lado interno los procesos nasales mediales.⁽¹⁰⁾

En las dos semanas siguientes los procesos maxilares continúan aumentando de volumen y simultáneamente crecen en dirección medial, comprimiendo los procesos nasales mediales hacia la línea media. En una etapa posterior queda cubierta la hendidura localizada entre el proceso nasal medio y el maxilar, y ambos procesos se fusionan. En consecuencia, el labio superior se forma por el proceso nasal medio y los dos procesos maxilares. Los procesos nasales laterales no participan en la formación del labio superior. El labio inferior y la mandíbula se forman a partir de los procesos mandibulares, que se fusionan en la línea media.⁽¹⁰⁾

En un principio los procesos maxilares y nasales laterales están separados por un surco llamado nasolagrimal. El ectodermo del piso de este surco forma un cordón epitelial denso, el cual se canaliza y forma el conducto nasolagrimal (que va desde el ángulo interno del ojo en donde forma el saco lagrimal hasta el meato inferior de la cavidad nasal) permitiendo la unión de los procesos maxilar y nasal lateral. Los procesos maxilares se ensanchan para formar los carrillos y los maxilares superiores.⁽¹⁰⁾

La nariz se forma a partir de cinco prominencias faciales: la prominencia frontonasal da origen al puente de la nariz; los procesos nasales mediales fusionados forman la cresta y la punta y los procesos nasales laterales forman los lados de la nariz.⁽¹⁰⁾

2. ARCOS FARÍNGEOS

Se conocen seis arcos faríngeos, cada uno de los arcos está compuesto por un núcleo de tejido mesenquimatoso, cubierto por su lado externo por ectodermo, revestido por endodermo, (Fig.1)⁽¹¹⁾. Además de mesénquima (derivado del mesodermo paraaxial y de la lámina lateral) la parte central de los arcos recibe un aporte de células de la cresta neural que emigran hacia los arcos para constituir los componentes esqueléticos de la cara. El mesodermo original de los arcos forma los músculos de la cara y cuello. Cada arco faríngeo posee sus propios componentes musculares, arteriales y sus nervios craneales.⁽¹⁰⁾

2.1. Primer arco faríngeo

Anatomía. El primer arco está compuesto por una porción dorsal, el proceso maxilar, que se extiende hacia delante por debajo de la región correspondiente al ojo, y una porción ventral, el proceso mandibular, que contiene el cartílago de Meckel. Durante el desarrollo sólo quedan dos porciones de cartílago de Meckel en su extremo dorsal que persisten y forman, respectivamente, el yunque y el martillo. El mesénquima del proceso maxilar dará origen a la premaxila, al maxilar, al hueso cigomático y a una parte del hueso temporal por osificación membranosa. El maxilar inferior se forma de manera análoga por osificación membranosa del tejido mesenquimático que rodea al cartílago de Meckel. Además, el primer arco contribuye a la formación de los huesos del oído medio. La musculatura del primer arco faríngeo está constituida por los músculos de la masticación (temporal, masetero y pterigoideo), el vientre anterior del digástrico, el milohioideo, el músculo del martillo (tensor del tímpano) y el periestafilino externo (tensor del velo del paladar).⁽¹⁰⁾

Inervación. El mesénquima del primer arco contribuye a la formación de la dermis de la cara, la inervación sensitiva de la piel facial depende de las ramas oftálmica, maxilar superior y maxilar inferior del nervio trigémino.⁽¹⁰⁾

2.2. Segundo arco faríngeo

Anatomía. El cartílago del segundo arco faríngeo o arco hioideo (cartílago de Reichert) da origen al estribo, la apófisis estiloides del hueso temporal, el ligamento estilohioideo y, ventralmente, el asta menor y la porción superior del cuerpo del hueso hioides. Los músculos del arco hioideo son el músculo del estribo, el estilohioideo, el vientre posterior del digástrico, el auricular, y los músculos de la expresión facial.⁽¹⁰⁾

Inervación. El nervio facial inerva a todos los músculos del segundo arco faríngeo.⁽¹⁰⁾

2.3. Tercer arco faríngeo

Anatomía. El cartílago del tercer arco faríngeo da origen a la porción inferior del cuerpo y el asta mayor del hueso hioides. La musculatura del tercer arco consiste en los músculos estilofaríngeos.⁽¹⁰⁾

Inervación. Los músculos son inervados por el glossofaríngeo.⁽¹⁰⁾

2.4. Cuarto y sexto arcos faríngeos

Anatomía. Los componentes cartilagosos del cuarto y sexto arcos faríngeos se fusionan para formar los cartílagos de la laringe: tiroides, cricoides, aritenoides, corniculado o de Santorini y cuneiforme o de Wrisberg.⁽¹⁰⁾

Inervación. Los músculos del cuarto arco (cricotiroideo, periestafilino externo (elevador el velo del paladar) y constrictores de la faringe) son inervados por la rama laríngea superior del vago, el nervio del cuarto arco. Los músculos intrínsecos de la laringe reciben inervación de la rama laríngea recurrente del vago, el nervio del sexto arco.⁽¹⁰⁾

3. BOLSAS FARÍNGEAS

El embrión humano posee cinco pares de bolsas faríngeas. La última es atípica y a menudo se la considera parte de la cuarta.⁽¹⁰⁾ (Fig.1)⁽¹¹⁾

3.1. Primera bolsa faríngea

La primera bolsa faríngea forma un divertículo pediculado, el receso tubo timpánico, que se pone en contacto con el revestimiento epitelial de la primera hendidura faríngea, el futuro conducto auditivo externo. La porción distal de la evaginación se ensancha en forma de saco, y constituye la caja del tímpano o cavidad primitiva del oído medio, mientras que la porción proximal no aumenta de tamaño y forma la trompa de Eustaquio o faringotimpánica.⁽¹⁰⁾

El revestimiento de la cavidad timpánica participa posteriormente en la formación de la membrana timpánica o tímpano.⁽¹⁰⁾

3.2. Segunda bolsa faríngea

El revestimiento epitelial de la segunda bolsa faríngea forma brotes que se inducen en el mesénquima adyacente. Los brotes son invadidos por el tejido mesodérmico, y se forma el primordio de la amígdala palatina. Una porción de la bolsa no desaparece y se encuentra en el adulto constituyendo la fosa tonsilar o amígdalina.⁽¹⁰⁾

3.3. Tercera bolsa faríngea

La tercera y cuarta bolsa se caracterizan por poseer las llamadas alas o prolongaciones dorsal y ventral en el extremo caudal. En la quinta semana el epitelio del ala dorsal de la tercera bolsa se diferencia en la glándula tiroides inferior, y la de la porción ventral forma el timo. Los primordios de ambas glándulas pierden su conexión con la pared faríngea y el timo emigra en dirección caudal y medial, llevando consigo la paratiroides inferior. En tanto que la porción principal del timo se desplaza rápidamente hacia su situación definitiva en la parte anterior del tórax, donde se fusiona con su contraparte. Por último, el tejido paratiroideo de la tercera bolsa faríngea se sitúa sobre la cara dorsal de la glándula tiroides y forma la glándula paratiroides inferior.⁽¹⁰⁾

3.4. Cuarta bolsa faríngea

El epitelio del ala dorsal de esta bolsa forma la glándula paratiroides superior. Cuando la glándula paratiroides se separa de la pared de la faringe, se fija a la cara dorsal de la glándula tiroides que está emigrando en dirección caudal, constituyendo la glándula paratiroides superior.⁽¹⁰⁾

3.5. Quinta bolsa faríngea

Es la última bolsa faríngea en desarrollarse y se considera que es parte de la cuarta. Da origen al cuerpo ultimobranquial, que queda incluido en la glándula tiroides. Las células del cuerpo ultimobranquial dan origen a las células parafoliculares o células C de la glándula tiroides, las cuales secretan calcitonina, hormona que interviene en la regulación de la concentración del calcio en la sangre.⁽¹⁰⁾

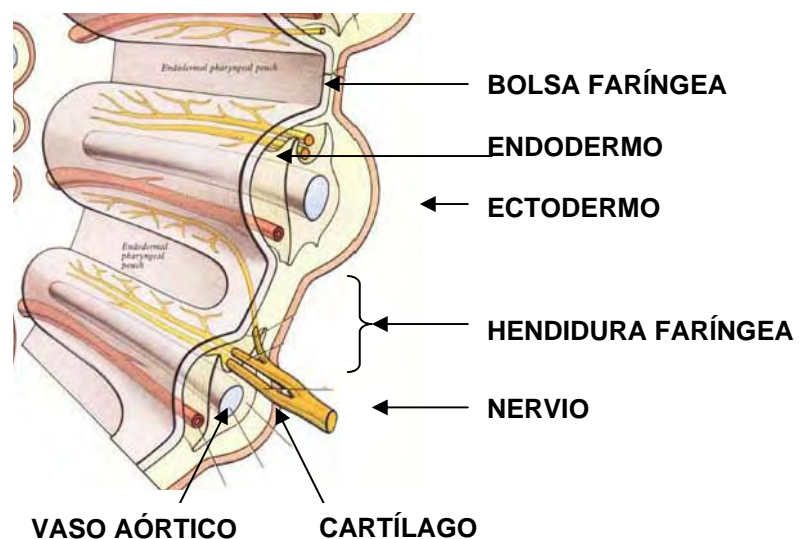


FIGURA 1. Componentes anatómicos de los arcos faríngeos⁽¹¹⁾

4. HENDIDURAS FARÍNGEAS

El embrión de cinco semanas se caracteriza por cuatro hendiduras, y solamente una contribuye a la estructura definitiva del embrión. La porción dorsal de la primera hendidura se introduce en el mesénquima subyacente y original en el conducto auditivo externo. El revestimiento epitelial en el fondo del conducto contribuye a la formación del tímpano. La proliferación activa del tejido mesenquimático en el segundo arco ocasiona una superposición sobre los arcos tercero y cuarto. Por último se fusiona con el llamado relieve epicárdico en la porción inferior del cuello, y la segunda, la tercera y la cuarta hendidura pierden contacto con el exterior.⁽¹⁰⁾

Las hendiduras forman el seno cervical, el cual es una cavidad revestida por epitelio ectodérmico y desaparece por completo durante el desarrollo posterior.⁽¹⁰⁾ (Fig.1)⁽¹¹⁾

5. LENGUA

5.1. FORMACIÓN DE LA LENGUA

La lengua aparece en el embrión de cuatro semanas, como dos protuberancias linguales laterales y una prominencia medial (el tubérculo impar). Originados en el primer arco faríngeo. Existe otro abultamiento hacia la línea media, la cúpula o eminencia hipobranquial, constituida por mesodermo del segundo y tercer arco, y parte del cuarto. Por último, un tercer abultamiento medial, formado por la porción posterior del cuarto arco, señala el desarrollo de la epiglotis. Por detrás de esta formación se encuentra el orificio laríngeo o conducto traqueolaríngeo, limitado a ambos lados por las prominencias aritenoideas.⁽¹⁰⁾

Cuando aumenta el tamaño de las protuberancias linguales laterales, éstas exceden el volumen del tubérculo impar y se fusionan entre sí, formando los dos tercios anteriores o cuerpo de la lengua.⁽¹⁰⁾ (Fig.2)⁽¹²⁾

Inervación. Dado que la mucosa que cubre el cuerpo de lengua proviene del primer arco faríngeo, la inervación sensitiva de esta zona proviene de la rama maxilar inferior del nervio trigémino. Los dos tercios anteriores, o cuerpo de la lengua, están separados del tercio posterior por un surco en forma de V llamado surco terminal.⁽¹⁰⁾

Los músculos de lengua están inervados por el hipogloso.

El cuerpo de la lengua, originado en el primer arco está inervado por el nervio trigémino; la raíz, originada en los arcos faríngeos segundo, tercero y parte del cuarto está inervada por los nervios glossofaríngeo y vago, que son los nervios del tercero y cuarto arco, respectivamente. La rama cuerda del tímpano del nervio

facial suministra inervación sensitiva especial (para el gusto) al cuerpo de la lengua.⁽¹⁰⁾

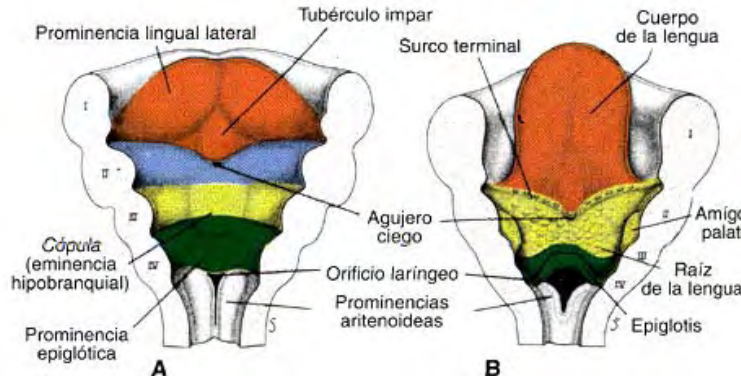


FIGURA 2. Esquema A) de los arcos faríngeos, B) desarrollo de la lengua.⁽¹²⁾

6. FORMACIÓN DE LA CAVIDAD BUCAL

6.1. Segmento intermaxilar

Como resultado del crecimiento medial de los procesos maxilares, los dos procesos nasales mediales se fusionan no solamente en la superficie; sino también a un nivel más profundo. Las estructuras formadas por la fusión de estos procesos reciben el nombre de segmento intermaxilar, (Fig.3)⁽¹²⁾. Está compuesto por: a) un componente labial, que forma el surco subnasal (filtrum) por arriba del labio superior; b) un componente maxilar superior, que lleva los cuatro incisivos, y c) un componente palatino, que forma el paladar primario triangular. En dirección craneal el segmento intermaxilar se continúa con la porción rostral del tabique nasal, formado por la prominencia frontonasal.⁽¹⁰⁾ (Fig. 4)⁽¹²⁾

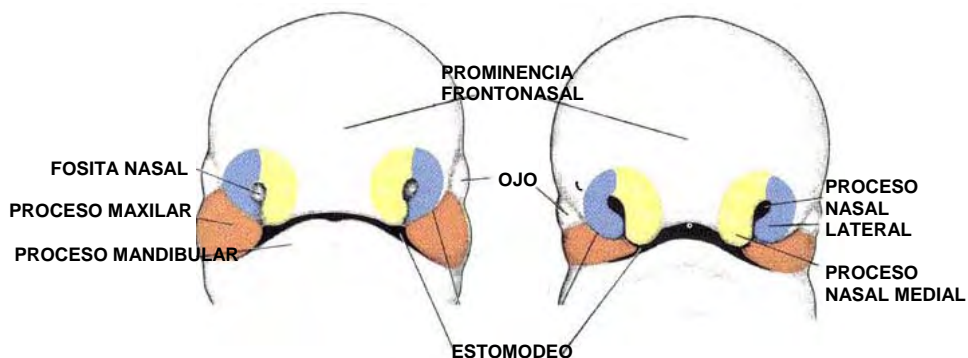
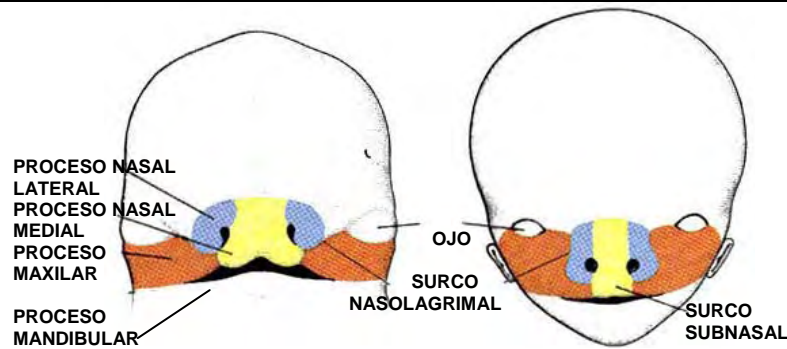
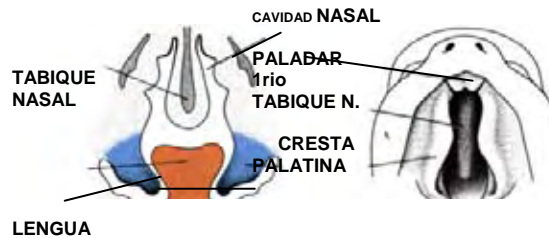


FIGURA 3. Esquema de la formación de la cara a las 4 semanas.⁽¹²⁾

FIGURA 4. Esquema de la formación de la cara. ⁽¹²⁾

6.2. Paladar primario

Neville (2002), refiere que el paladar primario deriva del segmento intermaxilar, formado por la fusión de los procesos nasales mediales. ⁽¹³⁾ Este segmento da origen a la premaxila, la cual consiste en una porción triangular de hueso que incluye los cuatro dientes incisivos. (Fig. 5) ⁽¹²⁾



6ta y ½ SEMANA

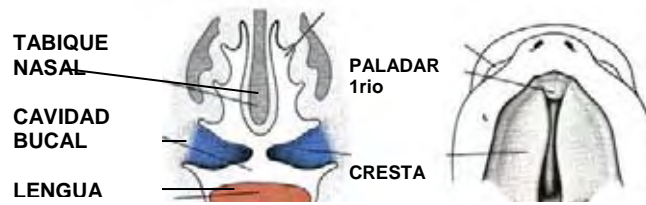
FIGURA 5. Formación del paladar primario ⁽¹²⁾

6.3. Paladar secundario

La porción principal del paladar secundario es formada por dos evaginaciones laminares de los procesos maxilares. Estas elevaciones, llamadas prolongaciones o crestas palatinas, aparecen en la sexta semana de desarrollo y descienden oblicuamente a ambos lados de la lengua. En la séptima semana las crestas palatinas ascienden hasta alcanzar una posición horizontal por arriba de la lengua y se fusionan entre sí y se constituye el paladar secundario. ⁽¹⁰⁾ (Fig. 6 y 7) ⁽¹²⁾

Hacia delante, las crestas se fusionan con el paladar primario triangular, y el agujero incisivo puede considerarse la marca de la línea media entre los paladares primario y secundario. Al mismo tiempo que se fusionan las crestas palatinas, el

tabique nasal crece hacia abajo y va a unirse con la superficie cefálica del paladar neoformado.⁽¹⁰⁾ (Fig. 7)⁽¹²⁾



7ma SEMANA

FIGURA 6. Formación del paladar secundario⁽¹²⁾



10 ma SEMANA

FIGURA 7. Esquema en el que se observa la fusión de los procesos palatinos⁽¹²⁾

El mesénquima que interviene en la formación de la región de la cabeza deriva del mesodermo paraaxial y de la lámina lateral del mesodermo, la cresta neural y las plácotas ectodérmicas, que son porciones engrosadas del ectodermo.⁽¹⁰⁾

El mesodermo paraaxial (somitas y somíteras) forma el piso de la caja craneana y una pequeña porción de la región occipital, todos los músculos voluntarios de la región craneofacial, la dermis y los tejidos conectivos de la región dorsal de la cabeza, y las meninges que se encuentran en posición caudal con respecto al prosencéfalo.⁽¹⁰⁾

La lámina lateral del mesodermo forma los cartílagos laríngeos (aritenoides y cricoides) y el tejido conectivo de esta región.⁽¹⁰⁾

Las células de la cresta neural se originan en el neuroectodermo de las regiones del cerebro anterior, del cerebro medio y del cerebro posterior y emigran en dirección ventral hacia los arcos faríngeos y en dirección rostral alrededor del cerebro anterior y la cúpula óptica hacia la región facial.⁽¹⁰⁾

En estos sitios forman las estructuras esqueléticas de la región media de la cara y del arco faríngeo y los demás tejidos de estas regiones incluidos el cartílago, el hueso, la dentina, el tendón, la dermis, la piamadre y la aracnoides, las neuronas

sensitivas y el estroma glandular. Las células de las placodas ectodérmicas, junto con las de la cresta neural, forman las neuronas de los ganglios sensitivos craneales quinto, séptimo, noveno y décimo. ⁽¹⁰⁾ (Fig. 8) ⁽¹⁰⁾

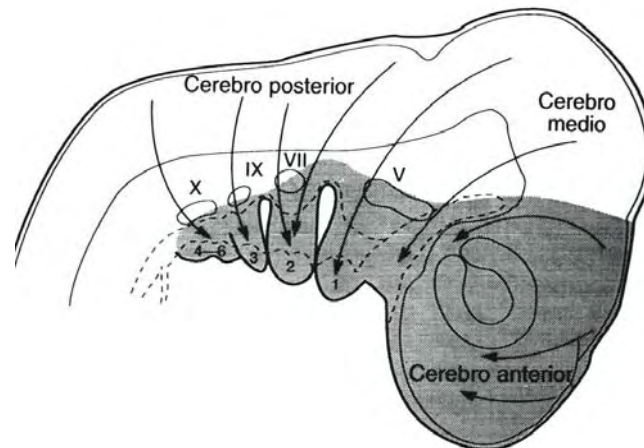


FIGURA 8. Esquema de los ganglios sensitivos de los arcos faríngeos (Tomada de Sadler) ⁽¹⁰⁾

La característica más típica del desarrollo de la cabeza y el cuello es la formación de los arcos branquiales o faríngeos. Estos arcos aparecen en la cuarta y quinta semana de desarrollo y contribuyen en gran medida al aspecto externo característico del embrión. ⁽¹⁰⁾ (Fig. 9) ⁽¹²⁾



FIGURA 9. Posición que guarda el embrión en las primeras semanas de desarrollo. ⁽¹²⁾

En un período inicial están constituidos por barras de tejido mesenquimático separados por profundos surcos, las hendiduras branquiales o faríngeas. Simultáneamente con el desarrollo de los arcos y hendiduras, aparecen algunas evaginaciones, las bolsas faríngeas, a lo largo de las paredes laterales del intestino faríngeo, la porción más craneal del intestino anterior. ⁽¹⁰⁾

Las bolsas se introducen en el mesénquima circundante, pero no establecen una comunicación abierta con las hendiduras externas. En consecuencia, aun cuando

el desarrollo de los arcos, las hendiduras y las bolsas faríngeas se parecen a la formación de las agallas o branquias en los peces y anfibios, el embrión humano nunca posee verdaderas branquias. Por eso al hablar del embrión humano se usan los términos arcos, hendiduras y bolsas faríngeas.⁽¹⁰⁾ (Fig. 10)⁽¹²⁾

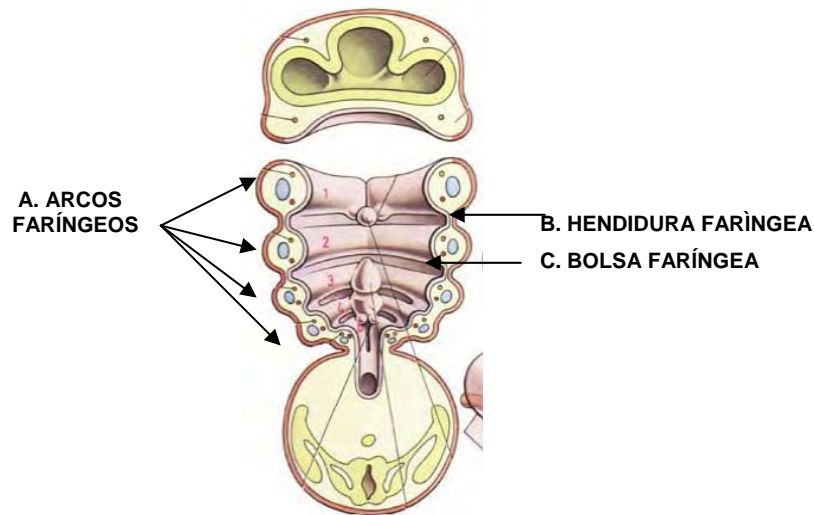


FIGURA 10. (A. Arcos faríngeos, B. Bolsa faríngea y C. Hendidura faríngea)⁽¹²⁾

Los arcos faríngeos contribuyen a la formación del cuello y de la cara. Hacia el final de la cuarta semana, el centro de la cara está formado por el estomodeo, rodeado por el primer par de arcos faríngeos. Cuando el embrión tiene 4 semanas y media pueden identificarse cinco formaciones mesenquimáticas: los procesos mandibulares (primer arco faríngeo), que pueden distinguirse caudalmente en relación con el estomodeo; los procesos maxilares (porción dorsal del primer arco faríngeo) lateralmente al estomodeo; y la prominencia frontonasal, elevación ligeramente redondeada, que se encuentra en situación craneal con respecto al estomodeo.⁽¹⁰⁾

B. LABIO HENDIDO

Al labio hendido a lo largo de la historia y desde su aparición se le ha denominado de diversas formas como labio hendido, leporino, queilosquisis, hocico de liebre o trompa de puerco, actualmente se refiere a él como LABIO HENDIDO.⁽¹⁴⁾

1. DEFINICIÓN

Según Sapp (2003), es un trastorno del desarrollo que habitualmente afecta al labio superior y se caracteriza por un defecto en forma de cuña que es consecuencia de una ausencia de fusión de las dos partes del labio en una sola estructura.⁽¹⁵⁾

2. FACTORES ETIOLÓGICOS

La etiología del labio hendido parece implicar factores hereditarios y ambientales. Las investigaciones señalan que aproximadamente el 40% de los casos de labio hendido, con o sin hendidura palatina, parecen ser hereditarios.⁽¹⁵⁾

Regezi (1995), refiere que cuando una combinación de genes y factores ambientales provocan un trastorno, la herencia se denomina "multifactorial" (muchos factores contribuyen a la causa). Debido a su carácter genético, las probabilidades de que se vuelva a presentar un labio hendido o paladar hendido en una familia son elevadas, y dependen de qué cantidad de miembros de esa familia presente una o ambas anomalías.⁽¹⁶⁾

Una serie de estudios realizados por Ibáñez (2006), han demostrado que la mayoría de los casos de hendiduras son poligénicos (influidos por varios genes diferentes que actúan juntos). La formación de hendiduras se presenta en algunos síndromes como: el síndrome de Waardenburg (sordera, hipoplasia del ala nasal, heterocromía del iris, telecanto), síndrome de Van Der Woude (labio hendido bilateral con paladar hendido y quistes o trayectos fistulosos en el labio inferior), y se incluyen las trisomias del 13 y 21, los cuales representan en conjunto aproximadamente un 5% del total de pacientes afectados. En estos síndromes, sin embargo, la formación de hendiduras parece ser monogénica (influida por un solo gen), más que poligénica. Aunque existe generalmente acuerdo en que la herencia es probablemente el factor aislado más importante en el labio hendido y la hendidura palatina, también se han investigado una serie de factores ambientales que son coparticipes en el desarrollo de este tipo de alteraciones.⁽¹⁷⁾

Según Sadler (2002) y Sapp (2003), los factores ambientales cuya implicación se ha postulado como elementos accesorios en el desarrollo del labio hendido y la hendidura palatina son: 1) factores nutricionales, como deficiencia o exceso de vitamina A y deficiencia de riboflavina; 2) estrés fisiológico, emocional o

traumático; 3) isquemia relativa sobre el área; 4) obstrucción mecánica por la lengua de mayor tamaño; 5) sustancias como alcohol, fármacos o toxinas, y 6) infecciones. Por lo que se considera como multifactorial involucrando agentes físicos como químicos y biológicos.^(10, 15)

3. EPIDEMIOLOGÍA

El labio hendido se presenta con una frecuencia aproximada de 1 entre 1.000 nacidos vivos, se observa más en varones aproximadamente en el 80% que en mujeres; mucho se ha especulado en relación a la edad materna se menciona que la frecuencia es mayor en cuanto aumenta la edad de ella y varía en distintos grupos de población.⁽¹⁰⁾

Si los padres son normales y han tenido un hijo con labio hendido, la probabilidad de que el niño siguiente presente el mismo defecto es del 45%.⁽¹⁰⁾

Cuando están afectados dos hermanos, el riesgo para el tercero aumenta al 9%; pero cuando uno de los padres presenta labio hendido y este defecto aparece en un hijo, la probabilidad de que el siguiente hijo resulte afectado se eleva al 17%, aunque existen casos en el que ninguno de los hijos hereda este padecimiento, por lo que se piensa que se trata de una herencia recesiva.⁽¹⁰⁾

Son más comunes en la raza asiática, pero también afecta a otros grupos como son los indios americanos, los caucásicos y con menor frecuencia entre los afroamericanos.⁽¹⁴⁾

4. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DEL LABIO HENDIDO

El labio hendido recibe distintos nombres según su ubicación y el grado de compromiso del labio. Una hendidura en un lado del labio que no se extiende hasta la nariz se denomina unilateral incompleta. Una hendidura en un lado del labio que se extiende hasta la nariz se denomina unilateral completa.⁽¹⁴⁾

Una hendidura que compromete ambos lados del labio y que se extiende y compromete la nariz se denomina bilateral completa y si no compromete la nariz se denomina bilateral incompleta.⁽¹⁴⁾ (Fig. 11)⁽¹⁴⁾



FIGURA11. Características clínicas de los diferentes tipos de labio hendido.⁽¹⁴⁾

C. PALADAR HENDIDO

1. DEFINICIÓN

El paladar hendido, es un defecto del desarrollo del paladar caracterizado por ausencia de fusión completa de las dos crestas palatinas que podría deberse al pequeño tamaño de éstas, a su falta de ascenso, a la inhibición del propio proceso de fusión o a la presencia de micrognacia que hace que la lengua no descienda entre las crestas, produciéndose una comunicación con la cavidad nasal.⁽¹⁰⁾

2. FACTORES ETIOLÓGICOS

Al igual que en el labio hendido, la etiología de la hendidura palatina parece implicar factores hereditarios y ambientales. Los factores ambientales que influyen en el desarrollo del paladar hendido consisten en: factores nutricionales, estrés, obstrucción mecánica por la lengua aumentada de tamaño, infecciones y sustancias como alcohol, toxinas y fármacos entre los que se encuentran drogas anticonvulsivantes, como fenobarbital y difenilhidantoína, que durante el embarazo aumentan el riesgo de hendidura del paladar.^(10,16)

3. EPIDEMIOLOGÍA

La frecuencia de la hendidura palatina aislada es mucho menor que la de labio hendido (1:2.500 nacidos vivos), se observa una mayor incidencia en mujeres (67%) que en los varones y no tiene relación alguna con la edad de la madre. Si los padres son normales y tienen un hijo con hendidura en paladar, la probabilidad de que el siguiente presente la anomalía es del 2%, aproximadamente. Sin embargo, si un familiar o uno de los padres y un hijo presentan hendidura del paladar, la probabilidad aumenta al 7% y al 15% respectivamente. Se ha demostrado que en la mujer las crestas palatinas se fusionan alrededor de una semana después que el varón. Esto explica porque se observa con mayor frecuencia en mujeres que en varones la hendidura de paladar aislado.⁽¹⁰⁾

Se presenta con mayor frecuencia al igual que en labio hendido, en orden decreciente en la raza asiática, indios americanos, los caucásicos y con menor frecuencia entre los afroamericanos.⁽¹⁴⁾

4. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DEL PALADAR HENDIDO

La hendidura palatina suele conducir a una comunicación directa entre las cavidades oral y nasal que lleva a un deterioro funcional importante.^(15, 16)

La hendidura puede afectar a cualquier lado del paladar. Puede extenderse desde la parte anterior de la boca (paladar duro) hasta la garganta (paladar blando). Estas deformidades oscilan desde una úvula hendida, una hendidura palatina

incompleta (que no abarca la totalidad del paladar), hendidura palatina unilateral y labio hendido (abarcando todo el paladar duro y blando), hasta graves hendiduras bilaterales que afectan el labio, el alvéolo y todo el paladar duro y blando como es el caso de la hendidura palatina bilateral y labio hendido. ^(15,16) (Fig. 12)⁽¹⁵⁾



a) Úvula hendida

b) Hendidura palatina
incompleta mediac) Hendidura labial y
paladar hendido
unilaterald) Labio hendido doble
y paladar hendido
completo

FIGURA12. Diagramas de los tipos de paladar hendido (Tomada de Sapp)⁽¹⁵⁾

D. CLASIFICACIÓN ANATÓMICA PARA LABIO Y PALADAR HENDIDO

La clasificación más conocida y utilizada es la de Kernahan y Stark (1958), que utilizaba bases embriológicas para describir el diagnóstico de la hendidura.⁽¹⁸⁾

PALADAR HENDIDO		LABIO HENDIDO	
Primario	Secundario	Unilateral	Bilateral
Unilateral	Bilateral	Completo	Incompleto
Completo	Incompleto		

Con la finalidad de esquematizar un diagnóstico, Kernahan ideó un diagrama en forma de Y, que posteriormente modificarían Millard y Nabil Elsayh en 1977. En cada cuadrante de dicho diagrama se representan los órganos anatómicos a diagnosticar.⁽¹⁸⁾ (Fig.13)⁽¹⁸⁾

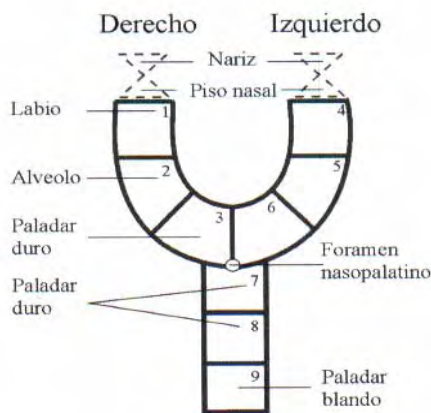


FIGURA 13. La banda en Y de Kernahan, modificada por Millard y Nabil Elsayh. (Tomada de Rozen, 2000).

A continuación se muestran diferentes hendiduras de labio y paladar hendidado con su correspondiente diagrama, esquema e imagen fotográfica.

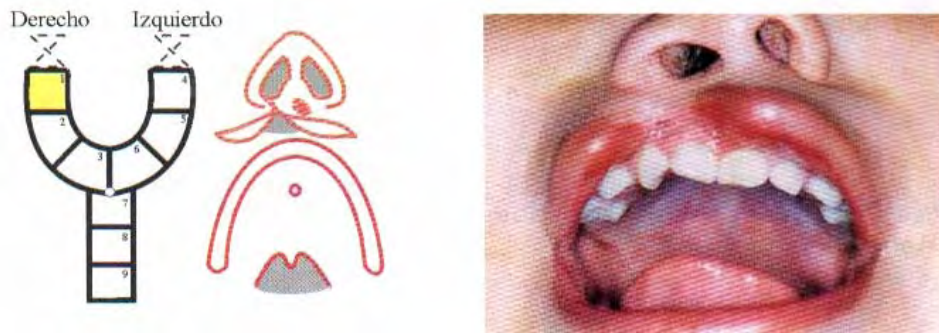


FIGURA 14. Labio hendido derecho incompleto⁽¹⁸⁾

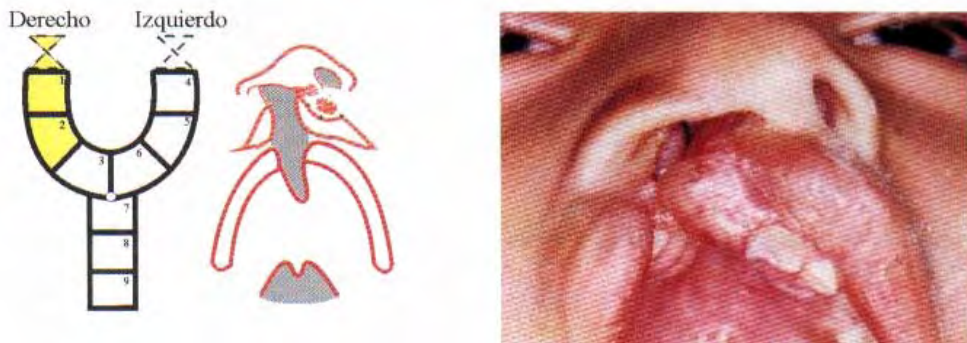


FIGURA 15. Labio y paladar hendido derecho primario completo⁽¹⁸⁾



FIGURA 16. Labio y paladar hendido derecho completo⁽¹⁸⁾

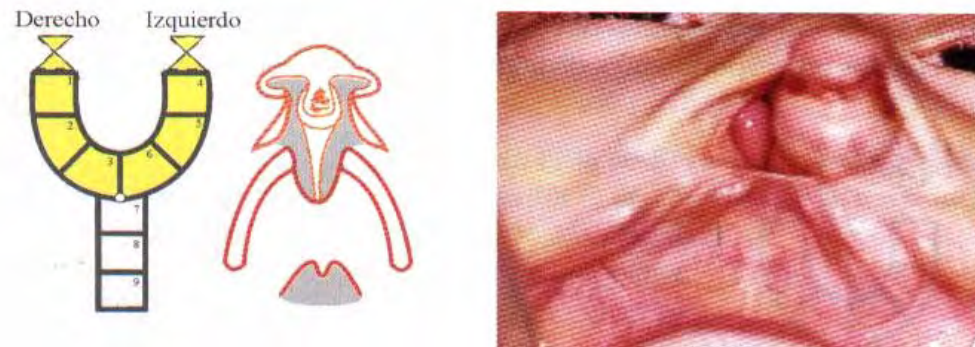


FIGURA 17. Labio y paladar hendido bilateral primario completo⁽¹⁸⁾



FIGURA 18. Labio y paladar hendido bilateral completo⁽¹⁸⁾



FIGURA 19. Paladar hendido secundario incompleto⁽¹⁸⁾

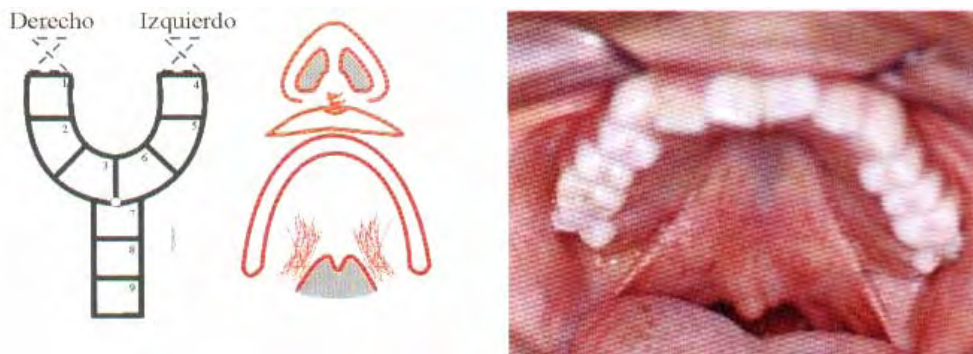


FIGURA 20. Paladar hendido secundario submucoso⁽¹⁸⁾



FIGURA 21. Paladar hendido secundario completo⁽¹⁸⁾

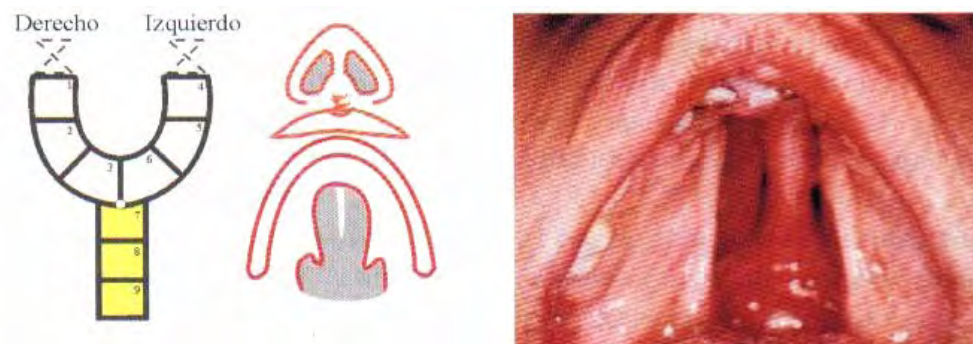


FIGURA 22. Paladar hendido bilateral secundario completo⁽¹⁸⁾

E. FACTORES DE CRECIMIENTO

Los factores de crecimiento son un conjunto de sustancias, la mayoría de naturaleza proteica que junto con las hormonas y los neurotransmisores desempeñan una importante función en la comunicación intercelular.⁽¹⁹⁾

La función principal de los factores de crecimiento es el control externo del ciclo celular, mediante el abandono de la quiescencia celular (G0) y la entrada de la célula en fase G1.⁽¹⁹⁾

La función de los factores de crecimiento no sólo es la de estimular la proliferación celular mediante la regulación del ciclo celular iniciando la mitosis, sino también el mantener la supervivencia celular, estimular la migración celular, la diferenciación celular e incluso la apoptosis.⁽¹⁹⁾

Actúan uniéndose a receptores celulares situados en la membrana celular que transmiten la señal del exterior al interior de la célula, mediante el acoplamiento de diferentes proteíncinasas que se fosforilan y que activan una cascada de señales que acaba con la activación de uno o varios genes (transducción de señales).⁽¹⁹⁾

La función de los factores de crecimiento está regulada por diferentes mecanismos que controlan la activación genética como:

1. La transcripción y traslación del gen del factor de crecimiento.
2. La modulación de emisión de señal por el receptor.
3. El control de la respuesta celular por moléculas con acción opuesta a la respuesta inicial.
4. Control extracelular por la disponibilidad del factor de crecimiento que es atrapado en la matriz extracelular.⁽¹⁹⁾

1. FACTOR DE CRECIMIENTO EPIDÉRMICO

Arquero refiere (2003) que el primer factor de crecimiento - descubierto en 1960 - fue denominado Epidermal Growth Factor (EGF) o factor de crecimiento epidérmico (FCE) nombre que indica su capacidad de inducir la proliferación celular en cultivos de células de la epidermis.⁽²⁰⁾

Los factores de crecimiento epidérmico (FCE) venían siendo obtenidos por bioingeniería genética y utilizados en la cicatrización de quemaduras, aplicaciones post-peeling o incorporados a los cosméticos. Más tarde, su aplicación en odontología y en la cirugía de los implantes hizo desarrollar un método de obtención a partir de la propia sangre del paciente. Es decir, se realiza una extracción sanguínea al paciente y se centrifuga la sangre. Se separa del tubo de ensayo la fracción correspondiente al concentrado de plaquetas o Plasma Rico en

Plaquetas (PRP) y a este se le echa una cantidad mínima de cloruro cálcico que provoca la transformación del fibrinógeno en fibrina y la formación, a los 5 minutos, de un coágulo blanquecino. La degranulación de las plaquetas (con la consiguiente liberación de los factores de crecimiento que están dentro de su citoplasma) aparece a las pocas horas y tienen una vida media de tres días. Si el coágulo plaquetario (rico en factores de crecimiento) se mezcla con partículas de hueso se liberan los factores de crecimiento y estos son los encargados de estimular la producción de hueso ese lugar. Otra aplicación de gran utilidad es como cicatrizante. La aplicación de factores de crecimiento o de plasma rico en plaquetas (PRP) acelera la producción de tejido fibroso y mejora la cicatrización. Un trastorno en este factor de crecimiento y la función de su receptor produce labio y paladar hendido.⁽²⁰⁾

2. FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMADOR $\beta 3$

En sus estudios Cui X y cols. (2005), refieren que el factor transformante del crecimiento (FCT- $\beta 3$) es un importante contribuyente a la desaparición de la regulación del epitelio del borde medio (EBM) durante la fusión palatal, se ha demostrado que la fosforilación SMAD2 en la EBM se regula directamente por el (FCT- $\beta 3$).⁽²¹⁾

Los FCT- β 's típicamente señalizan o marcan vía complejos receptores heterotetraméros; el paladar para presentar fusión adecuada, requiere de una sólida adhesión mutua, de las 2 crestas opuestas, y degradación subsecuente de la sutura epitelial, lo que origina una confluencia del mesénquima. En investigaciones realizadas, los ratones deficientes en FCT- β -2 o FCT- β -3 demuestran defectos en la fusión palatina, en tanto el FCT- β -2 se expresa en el mesenquima palatino, la expresión del FCT- β -3 se limita estrictamente al epitelio de la línea palatina media en pre-fusión.⁽⁶⁾

Sasaky y cols., (2007) han establecido con claridad el papel de FCT- $\beta 3$ en la palatogénesis, la expresión de FCT-beta 3 se limita tanto temporal como espacialmente al epitelio de fusión pre-palatino, y los ratones deficientes en FCT- $\beta 3$ mostraron bien sea una completa hendidura bilateral sobre el paladar secundario, o hendidura posterior y adherencia anterior superficial; de acuerdo con las observaciones más recientes se ha demostrado que la transdiferenciación epitelial-mesenquimática, no es un mecanismo mayor impulsado por FCT- $\beta 3$ de la fusión palatina, además, existe evidencia que la adición de muestras o cortes de FCT- $\beta 3$ en la sutura de la línea media en FCT- β -3, induce apoptosis, mostrando el papel crítico de la muerte celular programada.⁽²²⁾

F. INMUNOHISTOQUÍMICA

Las técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) corresponden a un grupo de técnicas de inmunotinción, que permiten la identificación, sobre muestras tisulares, de antígenos característicos de distintas líneas de diferenciación y funcionalismo celular, presentes en las células o tejidos utilizando anticuerpos marcados.⁽⁹⁾

Estas técnicas se basan en la capacidad de los anticuerpos de unirse específicamente a los correspondientes antígenos. Esta reacción es visible sólo si el anticuerpo está marcado con una sustancia que absorbe o emite luz o produce coloración. La aplicación directa de anticuerpos policlonales o monoclonales sobre secciones tisulares permite la localización microanatómica de su expresión y su correlación con los parámetros morfológicos, aumentando la sensibilidad y especificidad del estudio y proporcionando información adicional esencial en muchos casos.⁽⁹⁾

Un aspecto elemental, pero esencial, es la preservación del tejido desde el momento de su obtención. La inmensa mayoría de técnicas de IHQ pueden aplicarse a tejido fijado e incluido en parafina con buenos resultados, siempre que la fijación tisular, su procesado e inclusión se realicen correctamente.⁽⁹⁾

La utilización de métodos o reactivos inapropiados en el tratamiento tisular previo a la IHQ determina pérdidas de antigenicidad que limitarán o impedirán la obtención de resultados fiables.⁽⁹⁾

G. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los factores de crecimiento Epidérmico (FCE), y Transformante- β 3 (FCT- β 3), tienen directa relación con el desarrollo craneofacial por lo que se necesita estudiar el resultado de la inhibición de su señalización como un factor etiológico de labio y paladar hendido. Generando las siguientes interrogantes:

¿Qué factores de crecimiento se encuentran alterados asociados a la presencia de labio y paladar hendido?

¿La presencia de labio y paladar hendido se encuentran asociados con los niveles de los factores FCE y FCT- β 3?

H. JUSTIFICACIÓN

La incidencia de las alteraciones, aunada a la falta de atención médica de forma oportuna e integral hace necesario establecer las características de expresión en estas para poder vincular la expresión de los factores de crecimiento con la presencia y nivel del defecto.

Es de suma importancia el conocimiento de las funciones que aporta cada factor de crecimiento, enfocándose el presente sólo en los FCE y FCT- β 3, debido a que éstos participan de forma directa sobre la fusión de la sutura epitelial, logrando así una correcta fusión palatal.

I. OBJETIVOS

Objetivo General

- ✓ Establecer la presencia y tipo de expresión (según la escala ordinal) de los factores de crecimiento FCE y FCT- β 3 en la mucosa de las hendiduras labiales y del paladar hendido de pacientes de ambos géneros de cualquier edad sometidos a cirugía para el cierre de estos defectos.

Objetivos Específicos

- ✓ Determinar la presencia de los factores de crecimiento FCE y FCT- β 3 en la mucosa de las hendiduras labiales.

- ✓ Determinar la presencia de los factores de crecimiento FCE y FCT- β 3 en la mucosa de las hendiduras palatinas.
- ✓ Determinar el tipo de respuesta de los factores de crecimiento FCE y FCT- β 3 según la escala ordinal.
- ✓ Correlacionar el tipo de respuesta de los factores con el tipo de alteración del desarrollo presente.

J. HIPÓTESIS

La presencia de los diversos factores estimulantes (EGF y FCT- β 3) en los diferentes tipos de expresión (leve, moderado o intenso), está directamente relacionada con la falta de fusión de los pliegues palatales y la hendidura labial.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

1. TIPO DE ESTUDIO

Transversal.

2. VARIABLES

2.1. VARIABLES DEPENDIENTES

- ✓ Tipo de expresión de los factores de crecimiento (según la escala ordinal).

2.2. VARIABLE INDEPENDIENTE

- ✓ Hendidura labial completa
- ✓ Hendidura palatina incompleta
- ✓ Hendidura palatina completa
- ✓ Labio hendido y paladar hendido combinados

2.3. DEFINICIÓN DE VARIABLES

Hendidura labial completa

El labio hendido se define como una hendidura en la piel del labio superior que se extiende hacia arriba hasta la base de la nariz.⁽¹⁵⁾

Hendidura palatina incompleta

El paladar hendido se presenta como una hendidura entre el techo del paladar y la cavidad nasal. Si se presentan solamente hendiduras parciales en el velo del paladar y una parte del paladar duro, pero no se extiende hasta el agujero incisivo, se trata de una hendidura palatina incompleta.⁽¹⁶⁾

Hendidura palatina completa

Si el paladar hendido se presenta como una hendidura entre el techo del paladar y la cavidad nasal que se extiende a lo largo de todo el paladar, incluyendo paladar blando y duro hasta el agujero incisivo, se trata de una hendidura palatina completa.⁽¹⁶⁾

Labio y paladar hendido combinado

Estas anomalías congénitas ocurren cuando los tejidos del labio y del paladar del embrión no crecen a la par y no se

fusionan correctamente durante las primeras etapas del embarazo.⁽¹⁸⁾

Tipo de expresión de los factores de crecimiento

El grado de expresión de los factores de crecimiento se llevará a cabo mediante escalas de medición del tipo ordinal.

Principales escalas de medición

Moreno (2000), ha clasificado las escalas de medición en cualitativas (nominal y ordinal) y cuantitativas (de intervalo y de razón). Un requisito indispensable en todas las escalas es que las categorías deben ser exhaustivas y mutuamente excluyentes. En otras palabras, debe existir una categoría para cada caso que se presente y cada caso debe poder colocarse en una sola categoría.⁽²³⁾

Escala ordinal

En este tipo de medición las observaciones se clasifican y ordenan por categorías según el grado en que los objetos o eventos poseen una determinada característica. Por ejemplo, se puede clasificar a las personas con respecto al grado de una enfermedad en leve, moderado o intenso. Si se llega a utilizar números en este tipo de escalas su única significación consiste en indicar la posición de las distintas categorías de la serie y no la magnitud de la diferencia entre las categorías. Para la variable antes mencionada, por ejemplo, sabemos que existe una diferencia de grado entre leve y intenso, pero no es posible establecer con exactitud la magnitud de la diferencia en las enfermedades de una u otra personas.⁽²³⁾

- De acuerdo a la escala ordinal, se graficó por medio del programa Microsoft Excel.

3. CRITERIOS

3.1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- ✓ Pacientes con diagnóstico de labio hendido completo e incompleto, unilateral o bilateral sin distinción de género.
- ✓ Pacientes con diagnóstico de labio hendido completo e incompleto, unilateral o bilateral sin distinción de edad.
- ✓ Pacientes con diagnóstico de paladar hendido completo e incompleto, unilateral o bilateral sin distinción de género.
- ✓ Pacientes con diagnóstico de paladar hendido completo e incompleto, unilateral o bilateral sin distinción de edad.
- ✓ Pacientes con diagnóstico de labio y paladar hendido que no han sido sometidos a cirugías previas.
- ✓ Pacientes con diagnóstico de labio y paladar hendido que presenten hemoglobina de 10g/dl o superior a esta.

3.2. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- ✓ Pacientes con labio hendido sindrómicos.
- ✓ Pacientes con paladar hendido sindrómicos.
- ✓ Pacientes con labio hendido que han sido sometidos a cirugías previas.
- ✓ Pacientes con paladar hendido que han sido sometidos a cirugías previas.
- ✓ Pacientes con hendidura labial o palatina que presenten enfermedades sistémicas como diabetes insípida nefrogénica o desnutrición infantil.

4. MATERIAL.

4.1. Equipo

- ✓ Refrigerador
- ✓ Microscopio
- ✓ Cronómetro
- ✓ Histokinette (Leyca Jung)
- ✓ Microtomo semiautomático
- ✓ Horno de Microondas
- ✓ Baño María
- ✓ Plumón hidrofóbico
- ✓ Micropipetas

4.2. Cristalería

- ✓ Matraces
- ✓ Probetas
- ✓ Pipetas
- ✓ Embudos

-
- ✓ Frascos Köplin de plástico
 - ✓ Cámara Köplin
 - ✓ Cajas de Petri
 - ✓ Frasco gotero para las tinciones
 - ✓ Frascos para reactivos

4.3. Reactivos

- ✓ Paraformaldehido
- ✓ Agua bidestilada
- ✓ Tinción hematoxilina- eosina
- ✓ Hematoxilina de Gill
- ✓ Eosina
- ✓ Xilol
- ✓ Alcohol absoluto
- ✓ Alcohol 96°
- ✓ Buffer de fosfatos
- ✓ Buffer de citratos
- ✓ Fosfato de sodio dibásico
- ✓ Fosfato de sodio básico
- ✓ Solución de albúmina
- ✓ Solución proteína bloqueadora (BSA) 2%
- ✓ PBS
- ✓ Resina (Entelan)

4.4. Anticuerpos

Anticuerpos primarios contra:

- ✓ Factor de crecimiento Epidérmico (EGF) Santa Cruz
- ✓ Factor de crecimiento Transformante β 3 (FCT- β 3) Santa Cruz

Anticuerpo secundario LSAB+ SYS HRP Lg (Marca DAKO)

Suero libre de proteína bloqueadora (Marca DAKO)

Cromógeno DBA+Lg (Marca DAKO)

4.5. Consumibles

- ✓ Portaobjetos
- ✓ Cubreobjetos
- ✓ Cartón o tabla para sostener las laminillas de 40x40cm
- ✓ Gasas estériles de 20x20cm
- ✓ Papel filtro
- ✓ Parafina
- ✓ Aros de inclusión
- ✓ Navajas desechables (hoja #15)
- ✓ Reglas flexibles de 10cm

5. METODOLOGÍA.

Obtención de tejidos.

Se obtuvieron:

- ✓ 16 Muestras de tejido blando provenientes de pacientes con diagnóstico de labio hendido, de tejido sobrante de la zona quirúrgica de unión.
- ✓ 1 Muestra de tejido blando obtenida de pacientes con paladar hendido completo unilateral, de la zona quirúrgica de unión.
- ✓ 5 Muestras de tejido blando obtenida de pacientes con paladar hendido completo bilateral, de la zona quirúrgica de unión.
- ✓ 3 Muestras de tejido blando obtenida de pacientes con paladar hendido incompleto unilateral, de la zona quirúrgica de unión.
- ✓ 24 Muestras provenientes de cirugías para el cierre del defecto de labio y paladar hendido completo obtenidas del tejido sobrante de la zona quirúrgica de unión.

Al obtener estos tejidos de las hendiduras en las cirugías para el cierre del defecto de aproximadamente 0.5 a 1cm, se fijó en paraformaldehído al 3% conservado a 4°C. Una vez obtenida la muestra se mantuvo a temperatura de 4°C hasta que se procesó el tejido.

Procesamiento de los tejidos. Se lavó en agua corriente durante 30 minutos para eliminar el paraformaldehído, y procesó de forma automatizada en un histokinette Leyca Jung (deshidratación, clarificación, emulsificación y embebido en parafina). Se orientó para obtener mucosa y submucosa de la muestra, se incluyó el tejido en parafina, haciendo cortes de 3 μ m en un microtomo semiautomático (Leyca). Colocando 3 cortes por laminilla (se obtuvieron 5 laminillas por bloque).

Procedimiento para tinción de rutina con Hematoxilina y Eosina (H&E).

Una vez que se obtuvieron las laminillas se tiñeron con H&E, desparafinaron y rehidrataron los cortes de tejidos pasando los especímenes por soluciones de xilol (2 veces), xilol-alcohol (50:50), alcohol 96°, alcohol 100° y agua bidestilada, en ese orden, con inmersiones de 10 min en cada solución se emplea Hematoxilina de Gil y Eosina para contrastar (núcleos basófilos y citoplasma eosinófilo)

Preparación de laminillas para la inmunohistoquímica.

Una vez obtenidas las laminillas se desparafinaron y rehidrataron los cortes de tejidos pasando los especímenes por soluciones de xilol (2 veces), xilol-alcohol (50:50), alcohol 96°, alcohol 100° y agua bidestilada, en ese orden, con inmersiones de 10 min en cada solución. Se lavó con buffer de fosfatos pH 7.4 (PBS 1X) tres veces, 5' c/u.

Procedimiento inmunohistoquímico para identificar FCE Y FCT β 3

Recuperación antigénica. Se realizó la recuperación de componentes antigénicos mediante buffer de citratos en caliente, dejando atemperar por un periodo de 10 a 15 min. Se lava con PBS 1X tres veces, 5' c/u.

Eliminación de peroxidasa tisular. Se colocaron los cortes en frascos Köplin y añadieron 50 mL de solución de peróxido de hidrógeno por 15 min. Se lavó con PBS 1X tres veces, 5' c/u. posterior a ello se coloca solución de albumina al 20 min a temperatura ambiente. Se colocó la solución necesaria de albúmina para cubrir todo el tejido. Se colocó la laminilla dentro de la cámara húmeda. Lavando con PBS 1X tres veces, 5' c/u. Se sumergieron las laminillas en 50 mL de solución de Tritón 0.2% por 15 min, y se lavaron con PBS 1X tres veces, 5' c/u.

Procedimiento inmunohistoquímico. Se incubaron los tejidos con los anticuerpos primario contra EGF (anticuerpo policlonal) y FCT $\beta 3$ (anticuerpo policlonal), depositando el anticuerpo sobre la superficie de la muestra para cubrir todo el tejido, se incubaron a 4° C por 12 hrs. Se realizó la recuperación de los anticuerpos, se secaron las laminillas con papel filtro. Se lavaron las muestras con PBS 1X tres veces, 5' c/u.

Secando cuidadosamente las laminillas, se incubó con el anticuerpo secundario biotinilado cubriendo todo el tejido previa colocación de las laminillas dentro de la cámara húmeda y se incubó a 36.5° C por 60 min. Se lavó con PBS 1X tres veces, 5' c/u. Se secaron nuevamente las laminillas.

Revelado con DAB (CROMÓGENO)

Se colocó sobre cada laminilla la solución de DAB necesaria para cubrir todo el tejido iniciando el cronómetro. Pasados 5 minutos se enjuagó con PBS 1X, colocando el espécimen en PBS 1X manteniéndole allí hasta completar la totalidad de las muestras para finalmente sumergirlas en agua desionizada.

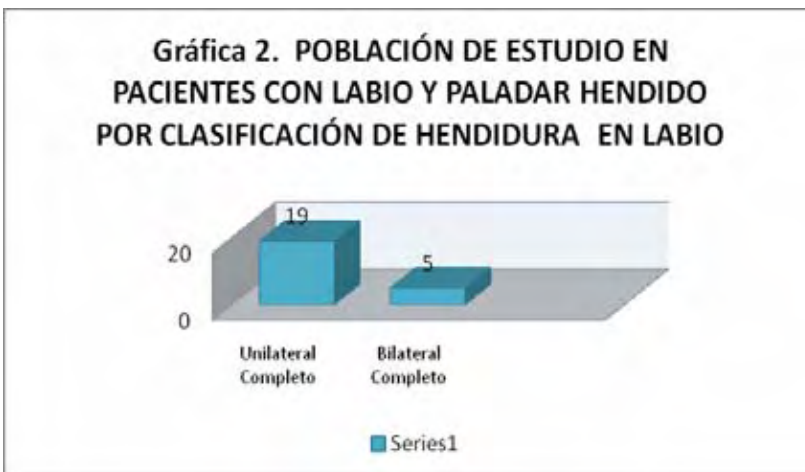
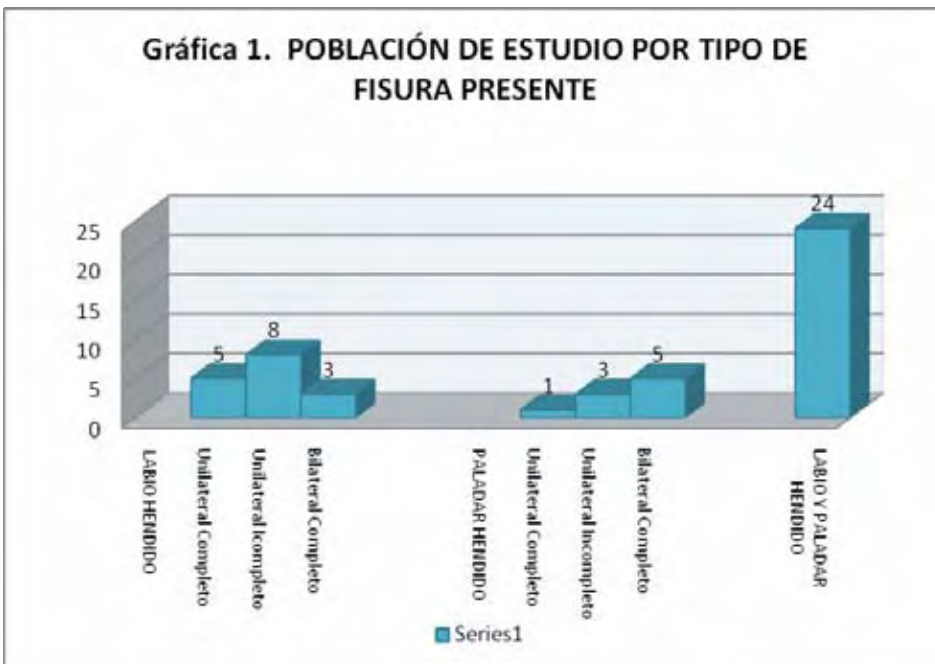
Contratinción. La contratinción se realizó con hematoxilina de Gill (para contraste de núcleos). Se lavó con agua corriente las laminillas por 5 minutos. Se deshidrataron los cortes de tejidos pasándolos por soluciones de alcohol de 96° (2 veces, 3' c/u), alcohol 100° (3'), xilol-alcohol, 50:50 (5') y xilol (2 veces) por 10', en ese orden.

Montaje de los tejidos.

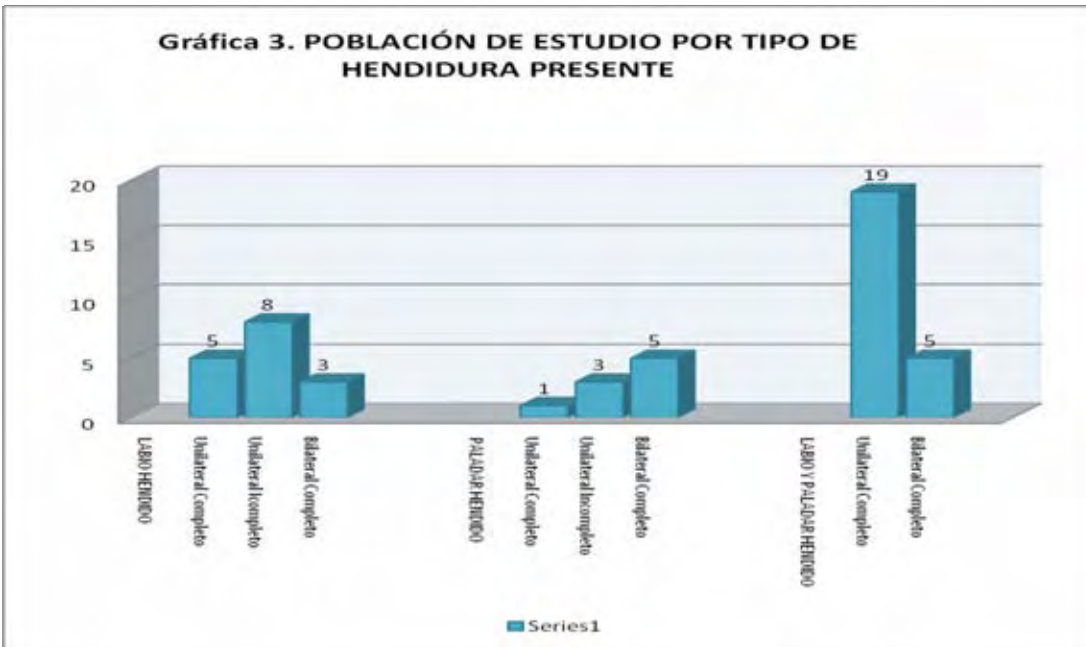
Se sacaron cada una de las laminillas de la solución de Xilol, se procedió a colocar en la porción lateral del portaobjeto una línea de resina de montaje dejando descansar el cubreobjeto en el portaobjeto, iniciando en la zona con resina, evitando la formación de burbujas y eliminando aquellas presentes junto con el exceso de resina. Se colocaron las laminillas en posición horizontal en un cartón por 24 h (para asegurar la solidificación de la resina) y se realizó la observación de los tejidos al microscopio para su catalogación, fotografiando las zonas representativas.

V. RESULTADOS.

MUESTRAS. Se obtuvieron 49 muestras de tejidos blandos de la zona de la hendidura o cercana a la hendidura de pacientes labio y paladar hendido, correspondiendo a 16 muestras de labio hendido (33%), 1 muestra de paladar hendido completo unilateral (2%), 5 muestras de paladar hendido completo bilateral (10%), 3 muestras de paladar hendido incompleto unilateral (6%) y 24 especímenes de labio y paladar hendido completo (49%), (Gráficas 1, 2 y 3). Los rangos de edad fueron de 1 mes hasta 14 años con una media de 12.02 meses (Gráfica 4), correspondiendo a 18 mujeres y 31 hombres (Gráfica 5 y 6). En cuanto al género, los pacientes del género masculino presentaron mayor incidencia que los pacientes del género femenino (Gráfica 6).



En cuanto al tipo de hendidura, se observaron las cifras más altas del 48.98% en pacientes con labio y paladar hendido combinado, seguido con 32.65% por labio hendido, de la cual las más frecuentes son el labio hendido unilateral incompleto, unilateral completo y bilateral completo; en cambio al referirnos a las hendiduras de paladar 18.37%, encontramos que la mayor frecuencia se presenta en paladar hendido bilateral completo, seguido por paladar hendido unilateral incompleto y unilateral completo (Gráficas 1,2 y 3).



Los pacientes participantes en el proyecto fueron en su mayoría infantes de meses a 1 año de edad (Gráfica 4 y 5).

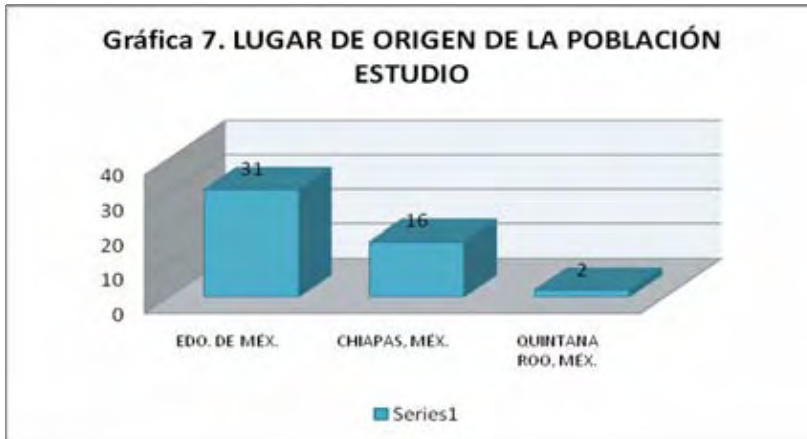


Al comparar entre el género (Gráfica 6), y la edad de la población con hendiduras de distinta clase, se observó que hay una mayor incidencia en pacientes del género masculino, encontrando en ambos géneros que la cirugía se lleva a cabo con mayor frecuencia a la edad de tres meses (Gráfica 5).



Las muestras se obtuvieron de las cirugías realizadas dentro de programas de Cirugía encaminados a la corrección de Labio y Paladar Hendido en los estados de, Comitán, Chiapas (17 casos), (35%); Playa del Carmen, Quintana Roo (2 casos), (4%); Ecatepec (2 casos), (4%); Estado de México. Otras muestras fueron obtenidas en el Hospital para el Niño DIF, Toluca (23 casos), (47%), y en el Hospital General de Atizapán (5 casos, 10%; Gráfica 7), Estado de México.

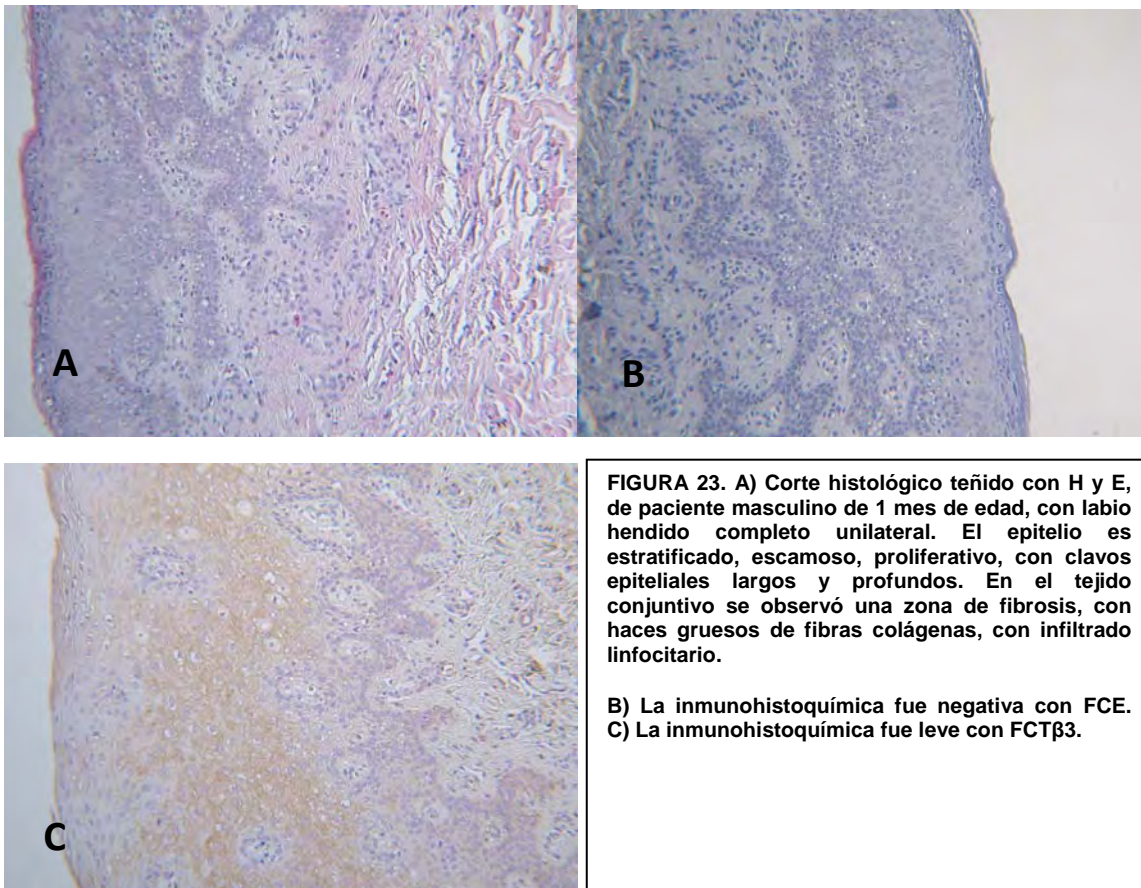
La mayor parte de la población de estudio afectada por este tipo de defectos se encontró en el Estado de México con un porcentaje de 63.27%, en zonas como Toluca, Ecatepec y Atizapán (Gráfica 7).

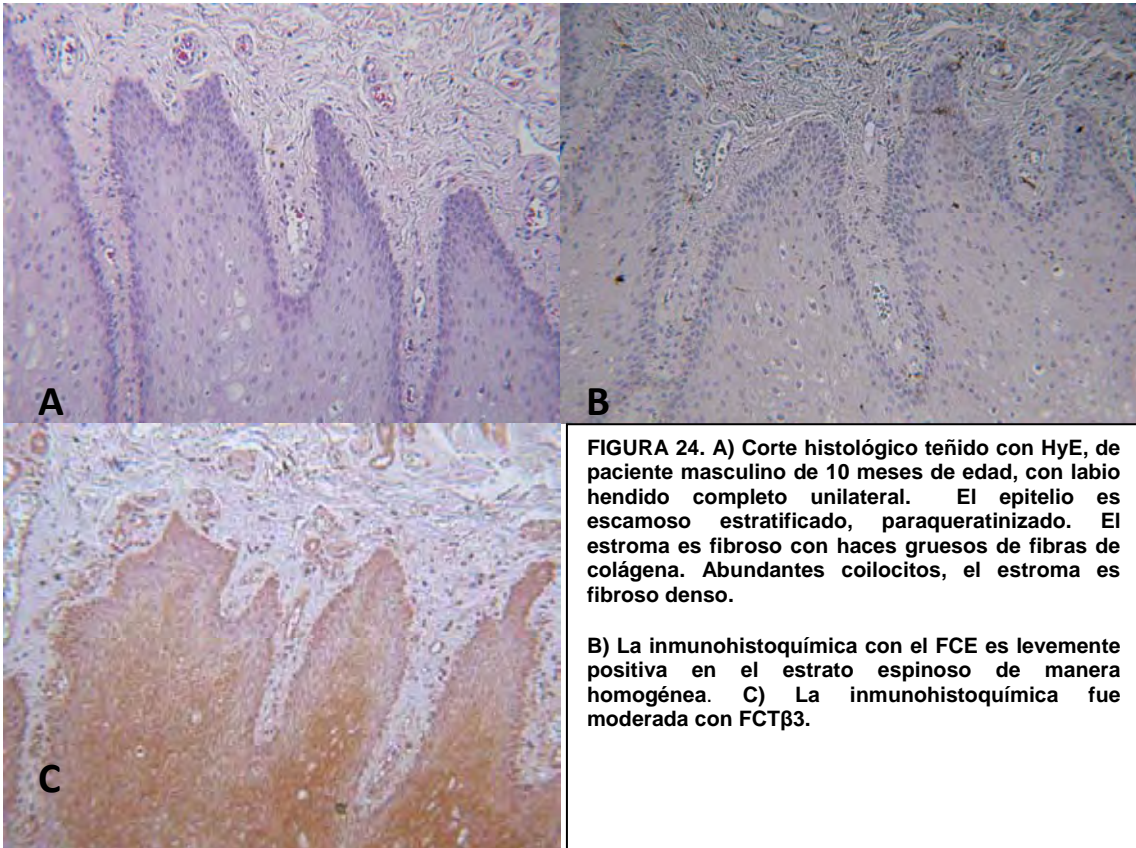


RESULTADOS HISTOLÓGICOS.

1. LABIO HENDIDO COMPLETO UNILATERAL.

Los hallazgos histopatológicos en este tipo de hendidura, demostraron la presencia de recubrimiento epitelial, de tipo estratificado, escamoso, paraqueratinizado, en la mayoría de los casos, los clavos epiteliales fueron profundos, anchos y proliferativos. También se observaron cuerpos de inclusión, edema intracelular y espongirosis en otros cortes. El estroma fue fibroso denso en unos casos, en otros laxo y en otros hialino. Los haces de fibras colágenas anchas, infiltrado inflamatorio de leve a moderado, de tipo linfocitario y plasmocitario, abundantes glándulas sebáceas, así como folículos pilosos y haces musculares densos. Lo que más llamo la atención fueron los cuerpos de inclusión. La reacción inmunohistoquímica con FCE fue en la mayoría de las muestras negativa, con FCT $\beta 3$ fue moderada (Figuras 23, 24), (Tablas 1 y 2).





2. LABIO HENDIDO INCOMPLETO UNILATERAL

En los cortes histológicos teñidos con H y E, se observó que en los casos de labio hendido unilateral incompleto.

El epitelio fue estratificado, escamoso paraqueratinizado, en el estrato basal se encontraron zonas hiperplásicas, en la zona del estrato espinoso en las capas más profundas se encontraron de tipo poliédricas, hacia la superficie de forma ovalada con edema intracelular y vacuolas, el estrato granuloso es escaso, pocos clavos epiteliales, el estroma adyacente es laxo, en sitios cercanos a la hendidura el epitelio se encontró atrófico con estroma fibroso denso, se encontraron abundantes vasos sanguíneos en la zona cercana a la hendidura.

La reacción inmunohistoquímica con el FCE fue de leve a moderado y con FCT $\beta 3$ fue en la mayor cantidad de casos de moderada a intensa (Figuras 25 y 26), (Tablas 1 y 2).

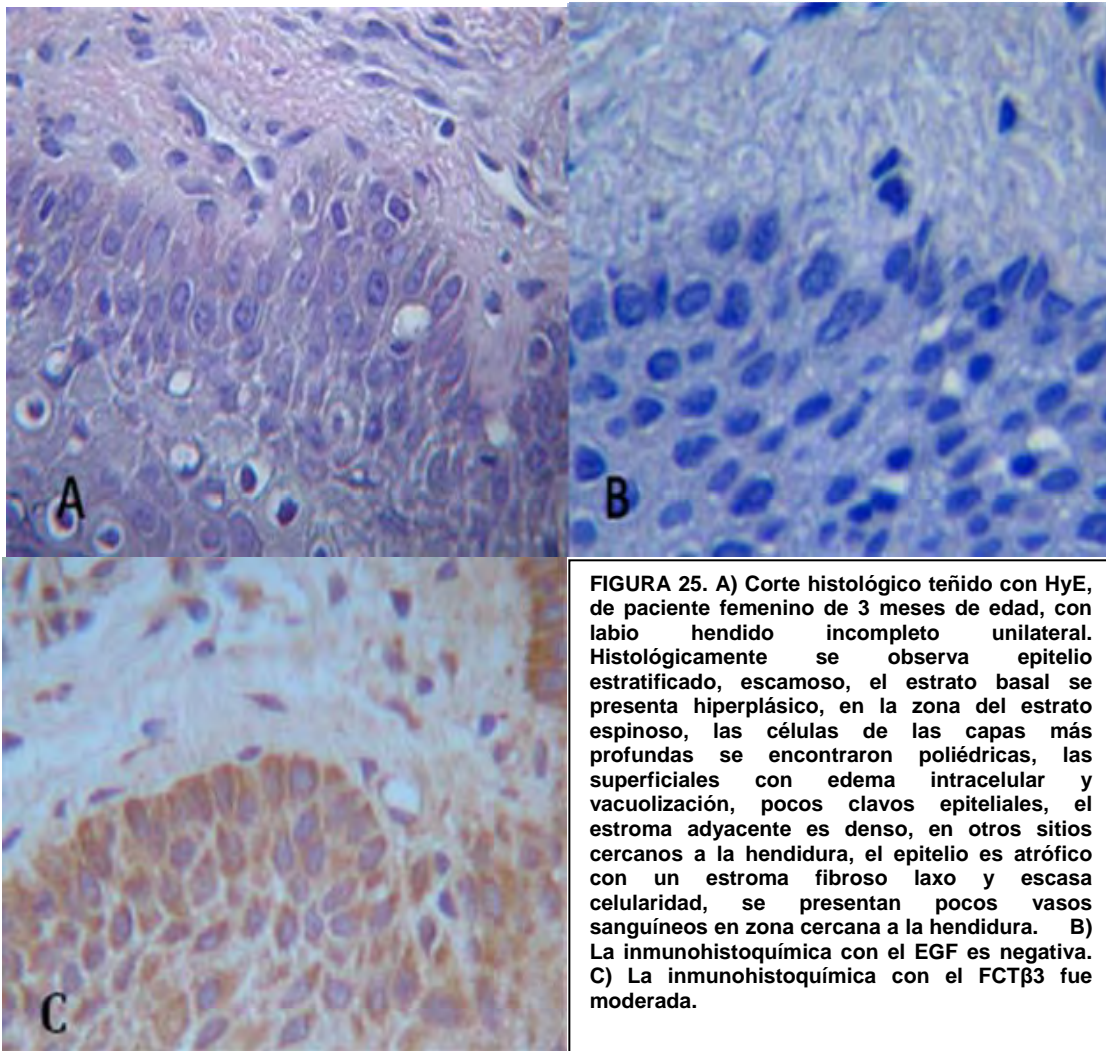
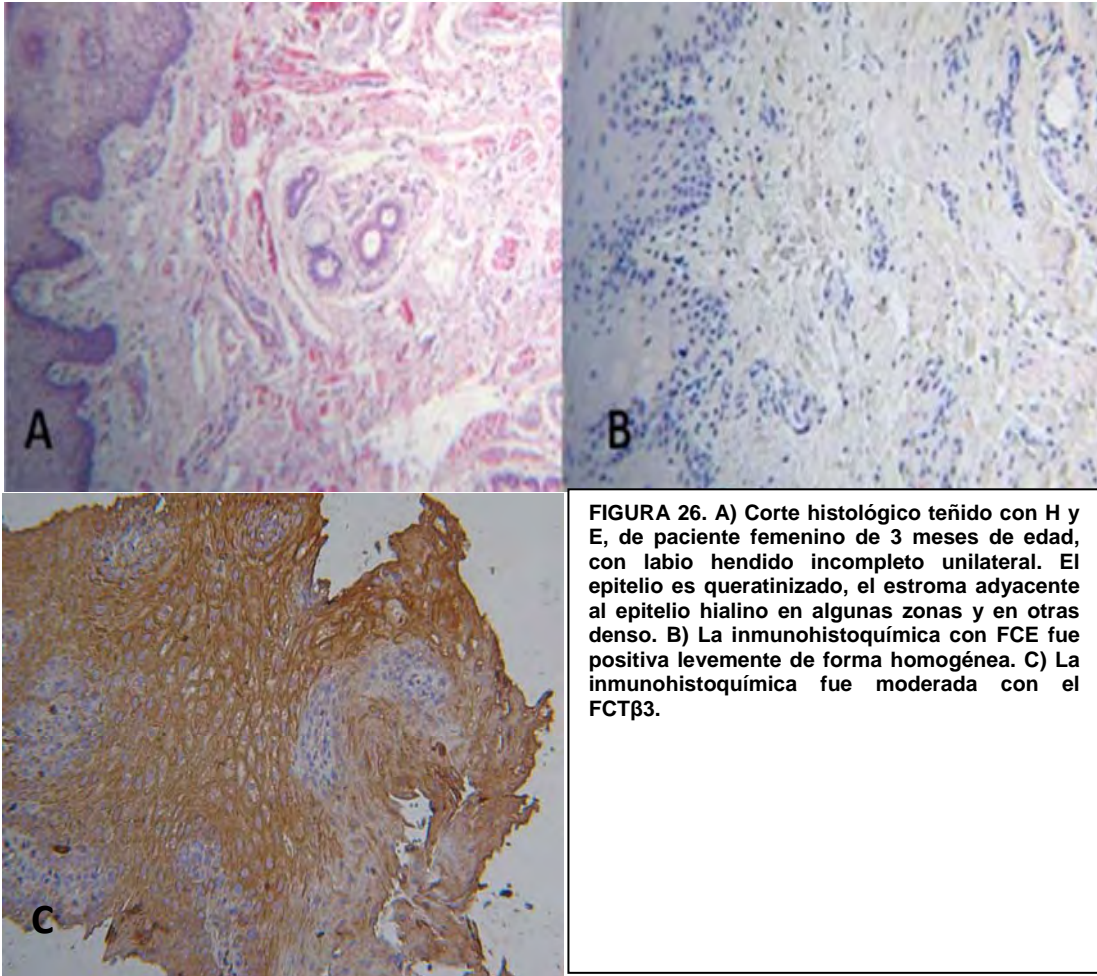
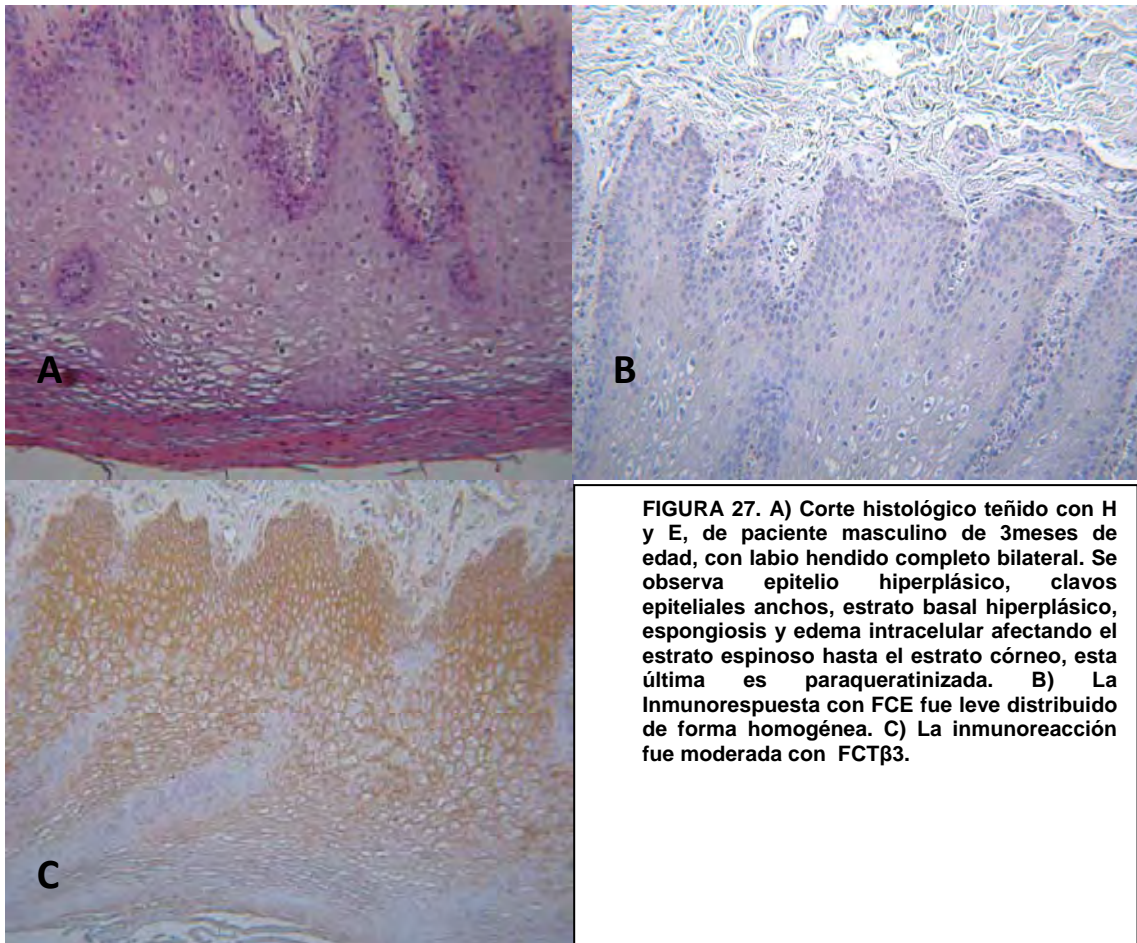


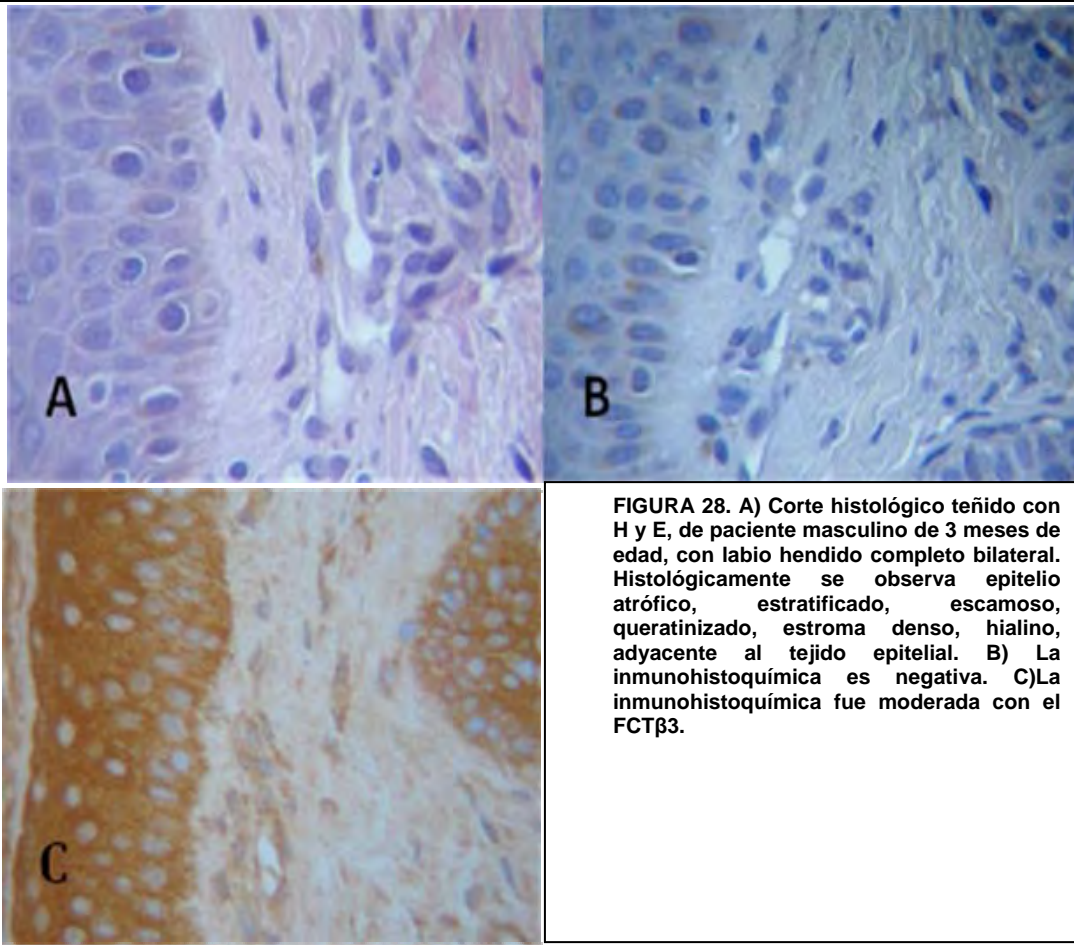
FIGURA 25. A) Corte histológico teñido con HyE, de paciente femenino de 3 meses de edad, con labio hendido incompleto unilateral. Histológicamente se observa epitelio estratificado, escamoso, el estrato basal se presenta hiperplásico, en la zona del estrato espinoso, las células de las capas más profundas se encontraron poliédricas, las superficiales con edema intracelular y vacuolización, pocos clavos epiteliales, el estroma adyacente es denso, en otros sitios cercanos a la hendidura, el epitelio es atrófico con un estroma fibroso laxo y escasa celularidad, se presentan pocos vasos sanguíneos en zona cercana a la hendidura. B) La inmunohistoquímica con el EGF es negativa. C) La inmunohistoquímica con el FCT $\beta 3$ fue moderada.



3. LABIO HENDIDO COMPLETO BILATERAL

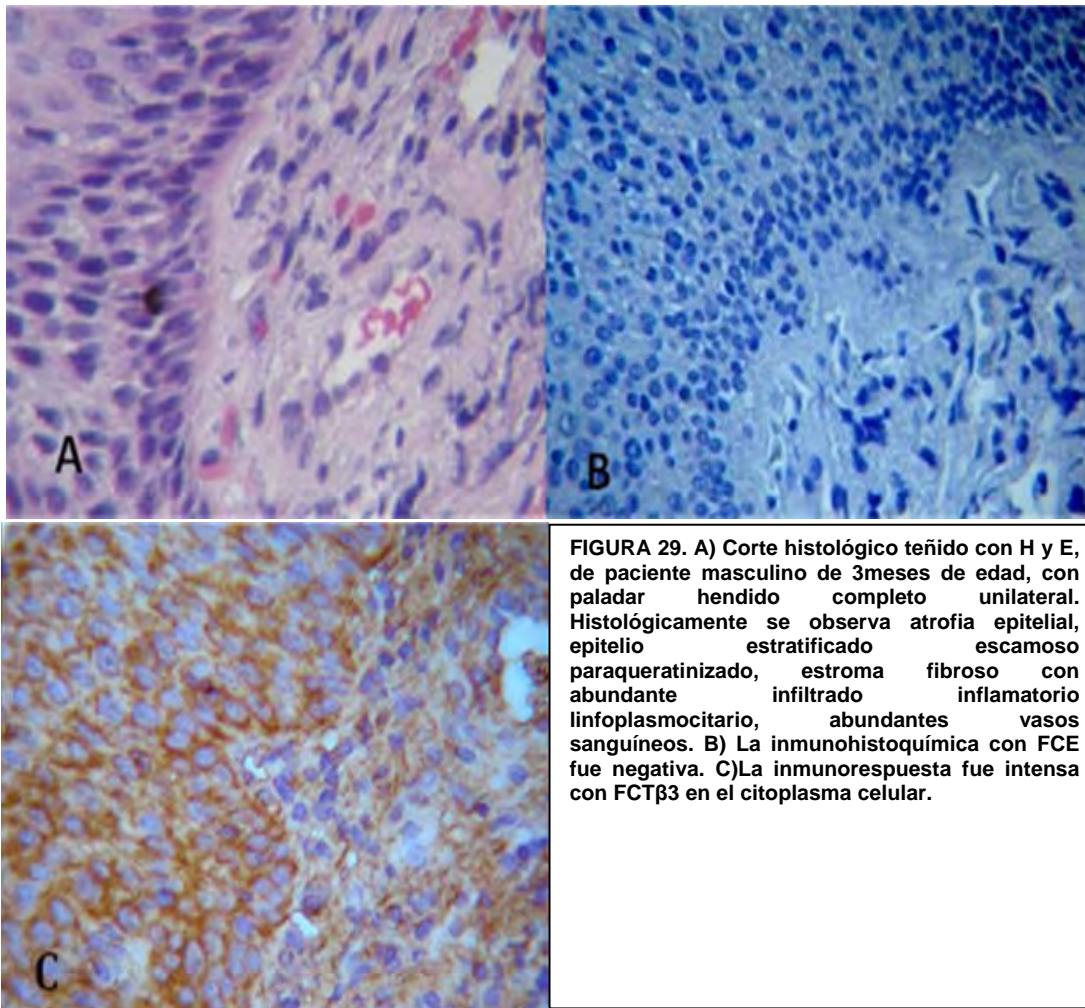
En los cortes histológicos teñidos con HyE, se observó en su mayoría epitelio estratificado, escamoso, paraqueratinizado con espongiosis y edema intracelular que abarca estrato espinoso y granuloso, cuerpos de inclusión en los queratinocitos cercanos a la hendidura, los clavos epiteliales fueron anchos. El estroma fibroso laxo en algunas zonas y en otros fue denso, no se encontró respuesta inflamatoria. La inmunohistoquímica realizada con el FCE leve en la mayoría de los casos (Figuras 27 y 28), (Tablas 1 y 2).

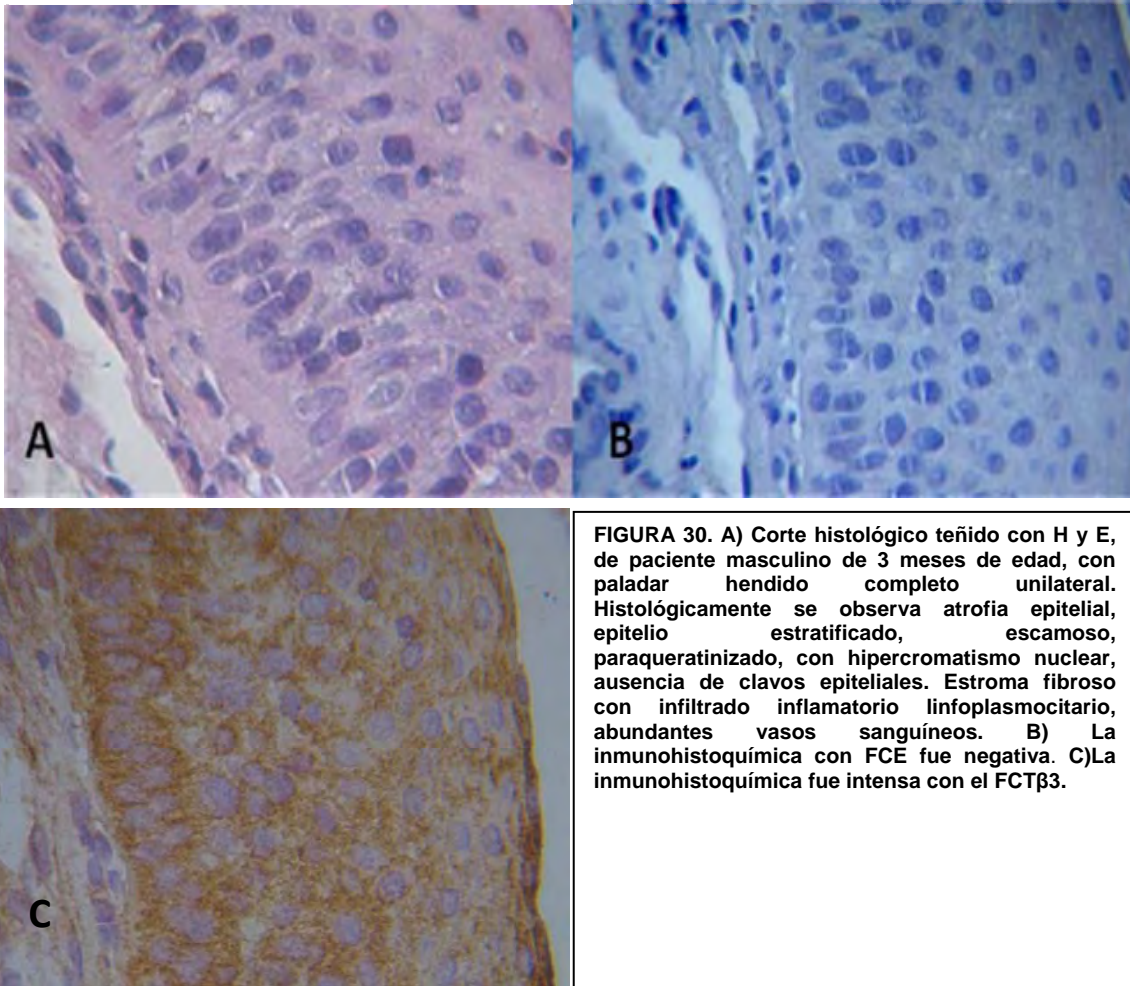




4. PALADAR HENDIDO UNILATERAL COMPLETO

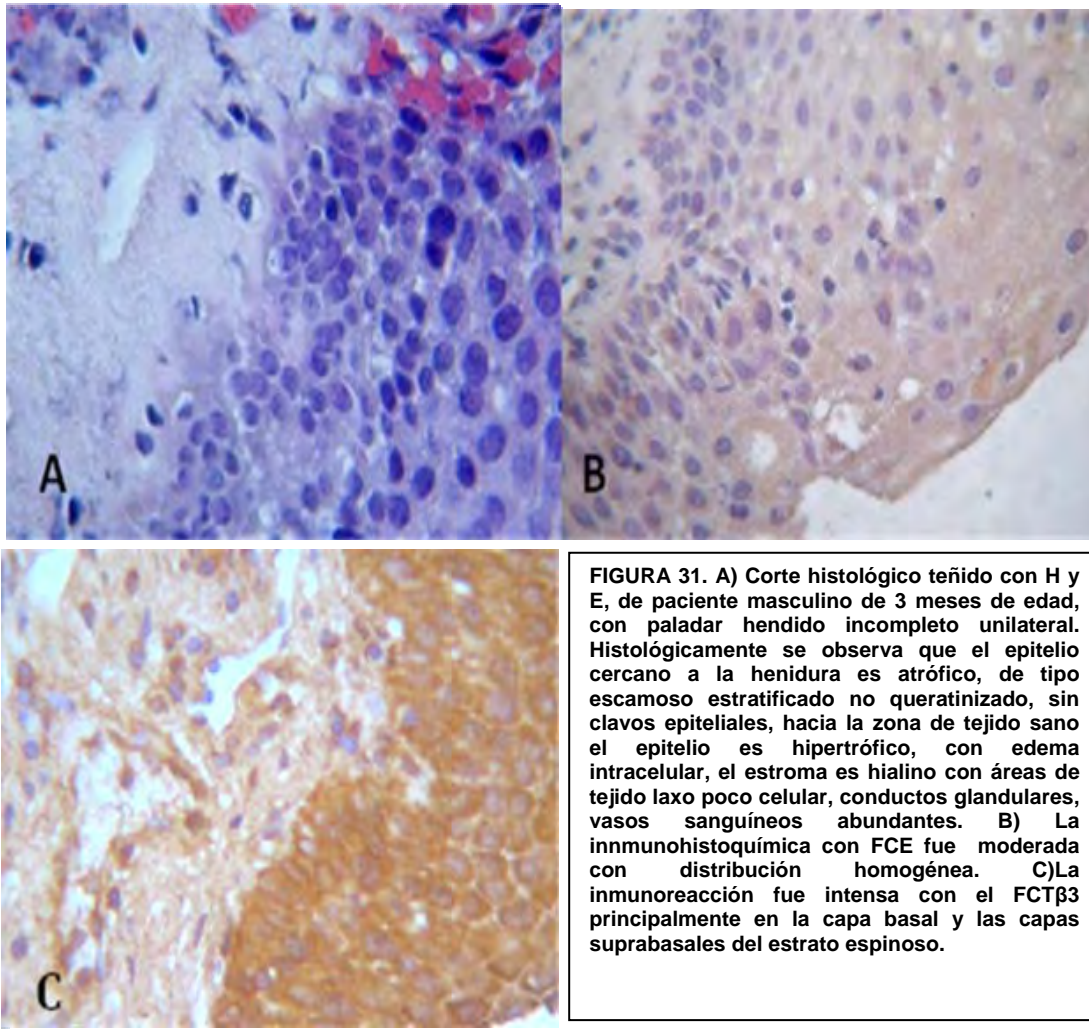
Histopatológicamente se observó en los cortes teñidos con H y E atrofia epitelial, el epitelio de tipo estratificado, escamoso, paraqueratinizado, con hiperplasia en la capa basal e hiper cromatismo nuclear, cuerpos de inclusión en los queratinocitos del estrato espinoso, ausencia de clavos epiteliales. El estroma fibroso, con abundante infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario en la mayoría de los casos, abundantes vasos sanguíneos. La respuesta inmunohistoquímica con el factor FCE fue negativa en la mayoría de los casos, mientras que con FCT- $\beta 3$ fue intensa la respuesta mostrándose en el citoplasma celular de los queratinocitos (Figuras 29 y 30), (Tablas 1 y 2).





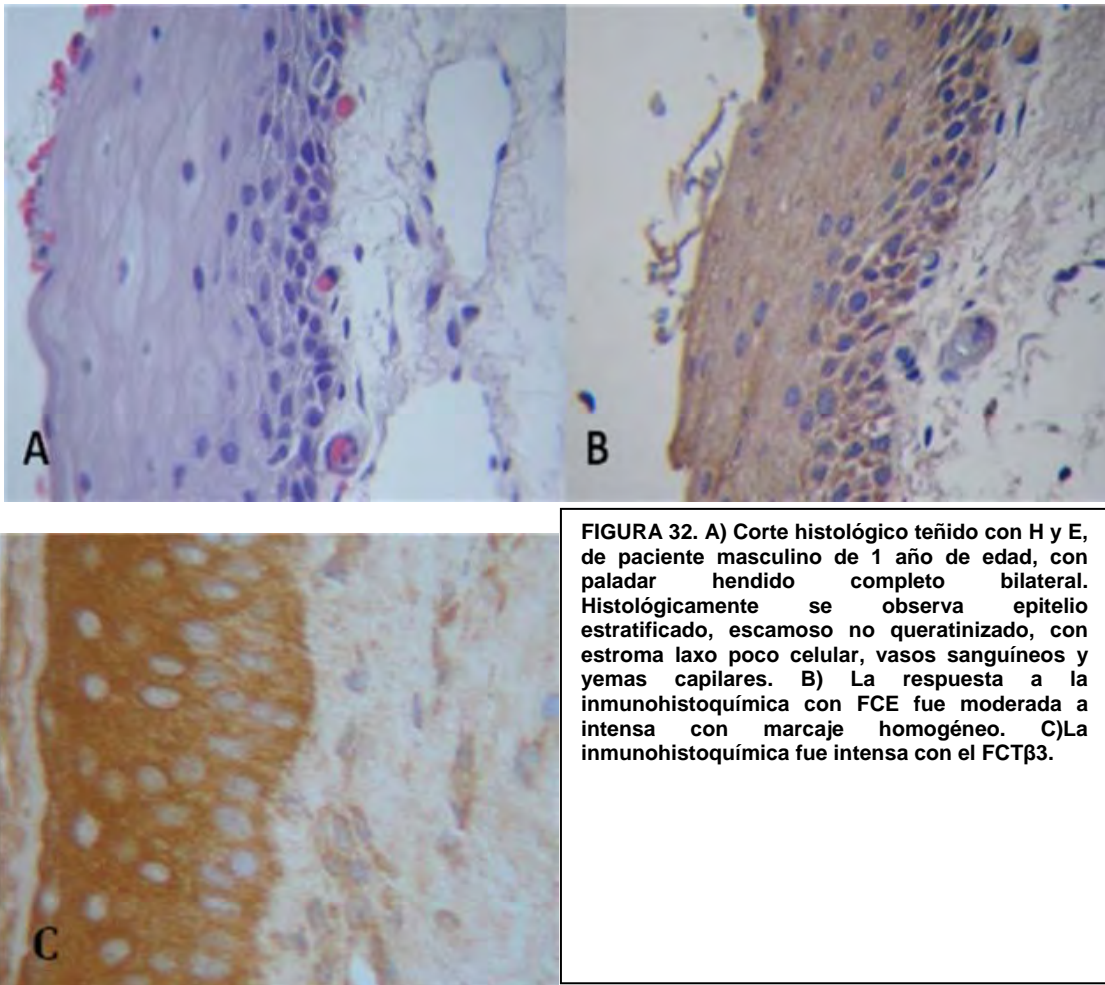
5. PALADAR UNILATERAL INCOMPLETO

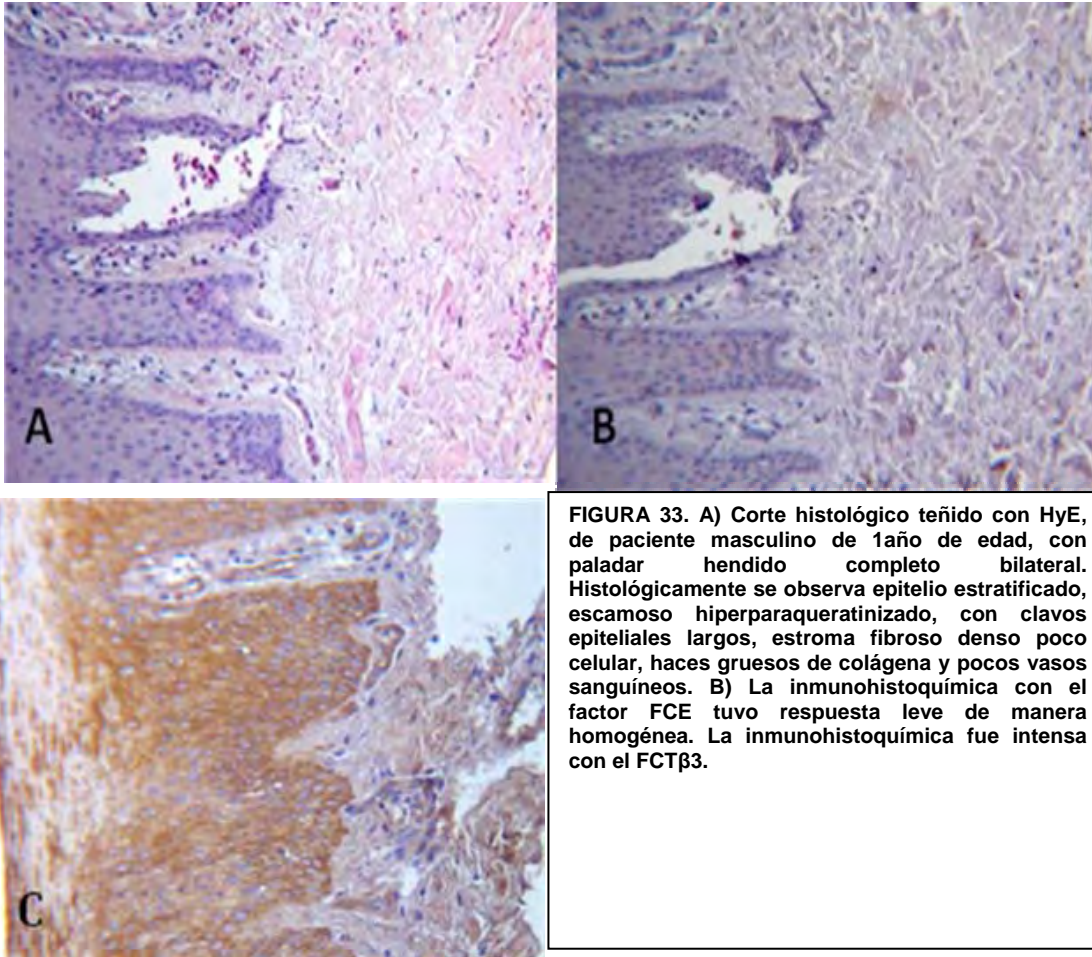
En los cortes histológicos teñidos con H y E, se observó atrofia epitelial cerca de la zona de la hendidura, el epitelio fue estratificado, escamoso, paraqueratinizado, con áreas de hiperplasia en la capa basal, ausencia de clavos epiteliales. El estroma fibroso presentó infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario, abundantes vasos sanguíneos y yemas capilares y zonas de hemorragia antigua. La reacción inmunohistoquímica con FCE en la mayoría de los casos con este tipo de alteración fue moderada, la respuesta inmunológica con el FCT- $\beta 3$ fue intensa de forma homogénea en el citoplasma celular de las células queratinocitos desde la capa basal hasta el estrato granular (Figura 31), (Tablas 1 y 2).



6. PALADAR HENDIDO COMPLETO BILATERAL

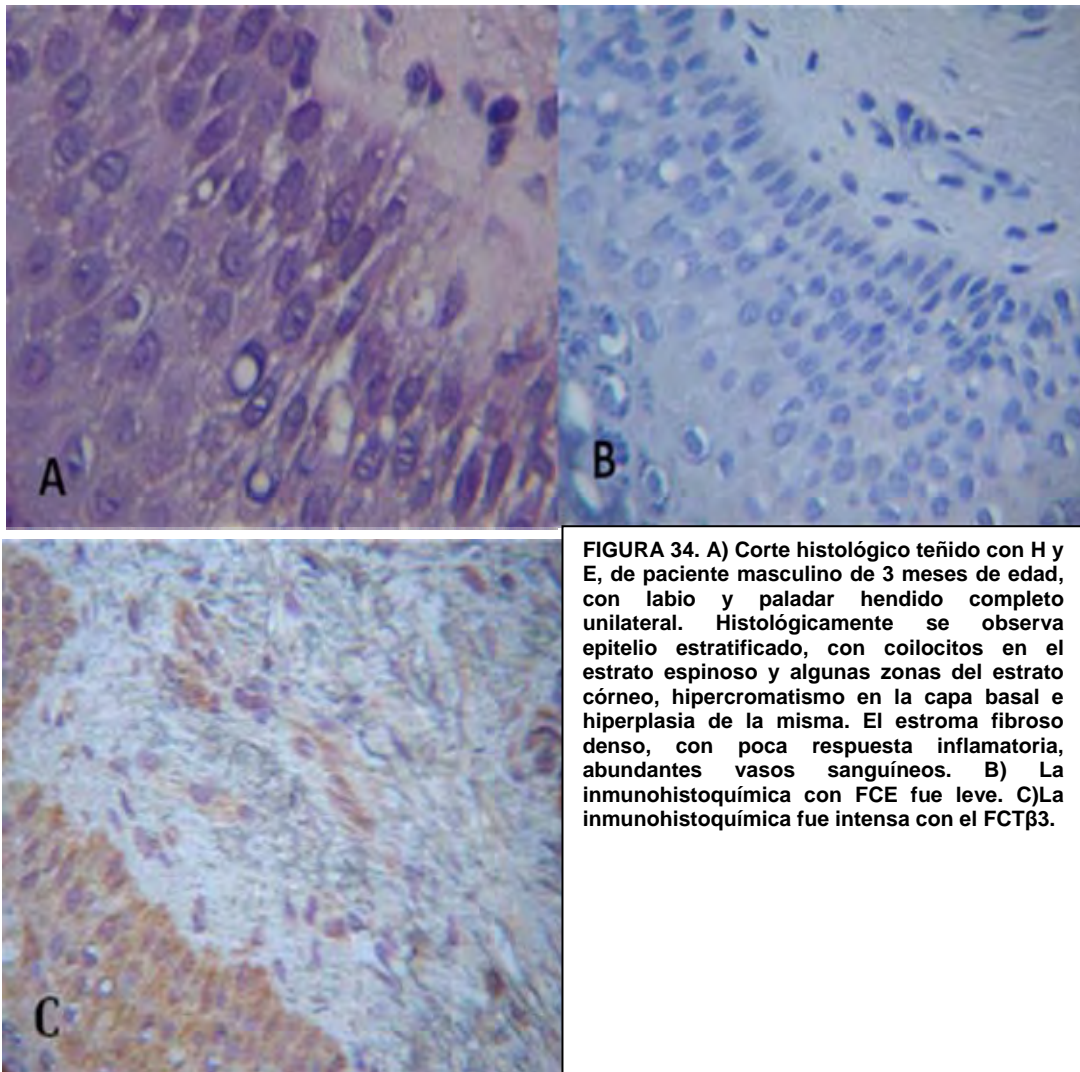
En la muestra teñida con H y E, se observó que el revestimiento epitelial estaba constituido por epitelio escamoso, estratificado, queratinizado, no se observaron clavos epiteliales. El estroma fibroso laxo y denso poco celular en diferentes zonas, haces gruesos de colágena y vasos sanguíneos abundantes, infiltrado inflamatorio en la mayoría de los casos y lisis celular. La respuesta inmunológica a FCE fue en la mayoría de los casos de tipo moderada con distribución uniforme en todas las capas epiteliales, observándose en la capa basal y córnea una reacción más intensa. La reacción observada con FCT- $\beta 3$ al igual que en los demás casos fue intensa (Figuras 32 y 33), (Tablas 1 y 2).

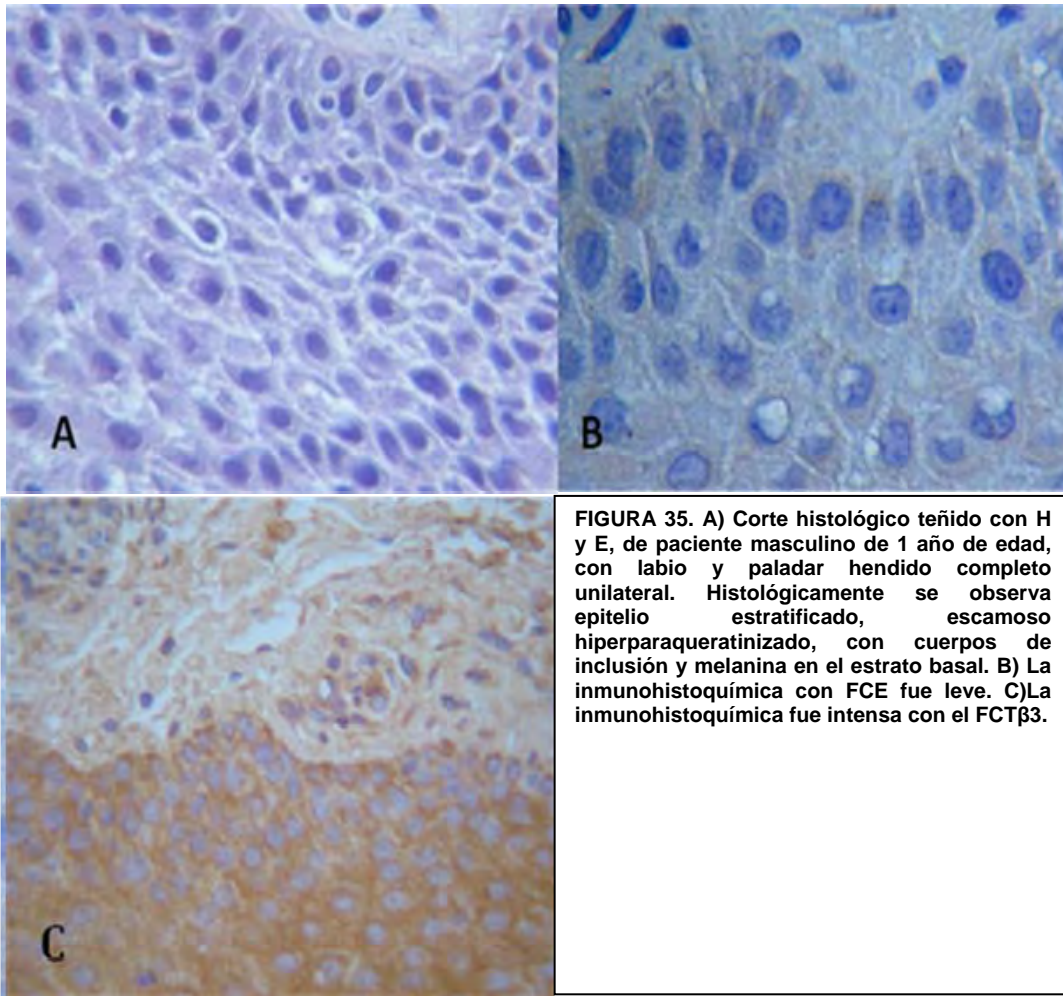


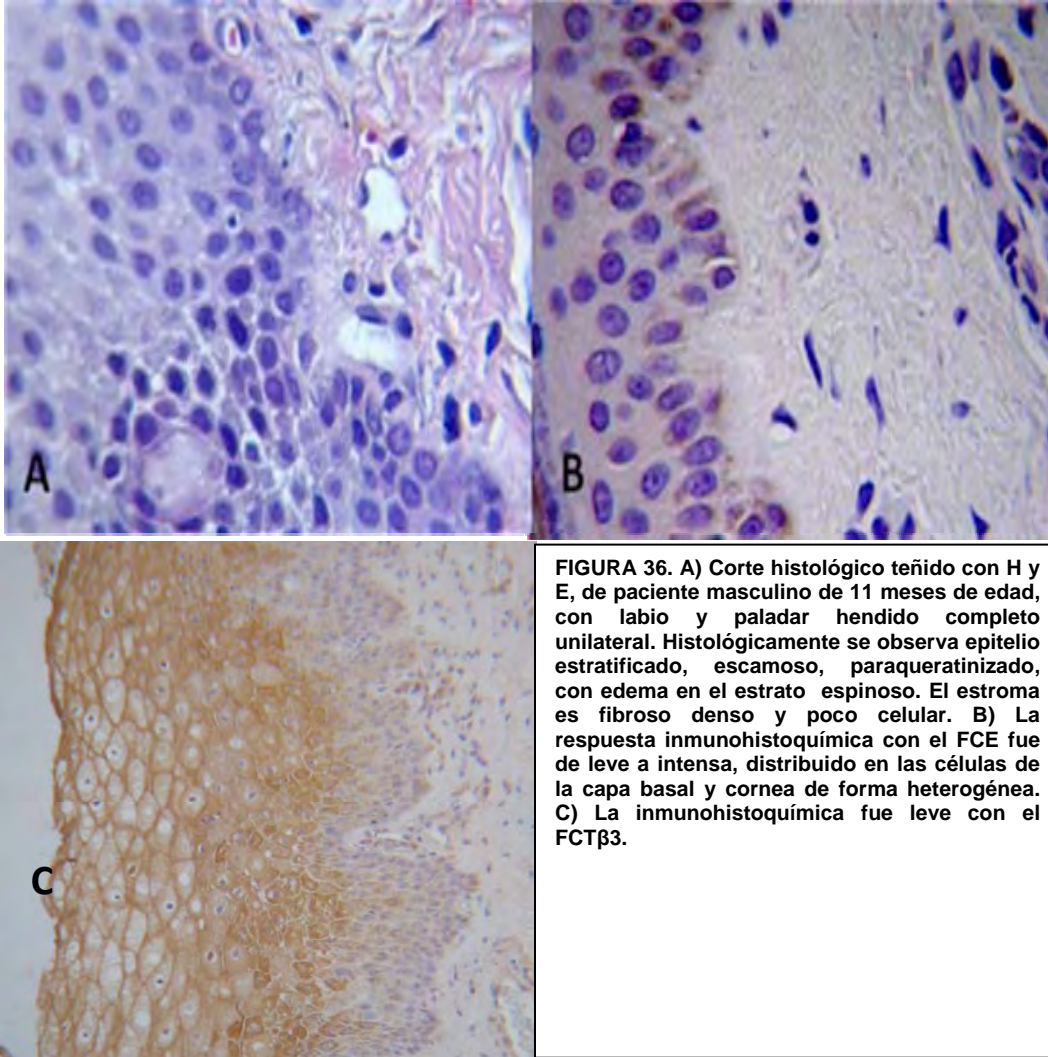


7. LABIO Y PALADAR COMPLETO UNILATERAL

El estudio histopatológico de la muestra de labio reveló la presencia de epitelio estratificado, escamoso, paraqueratinizado hacia la zona de la mucosa bucal y queratinizado hacia la zona del bermellón con queratinización individual, clavos epiteliales profundos, anchos y zonas de espongirosis, en el epitelio bucal se encontró una zona de epitelio hiperplásico. El estroma fue fibroso denso, con abundantes vasos sanguíneos y yemas capilares. Hacia la cavidad bucal el epitelio es hiperparaqueratinizado hiperplásico. Presencia de glándulas accesorias de secreción mixta. La inmunohistoquímica realizada con FCE tuvo respuesta leve de forma homogénea a intensa en algunos casos con distribución heterogénea (Figuras 34 – 39), (Tablas 1 y 2).







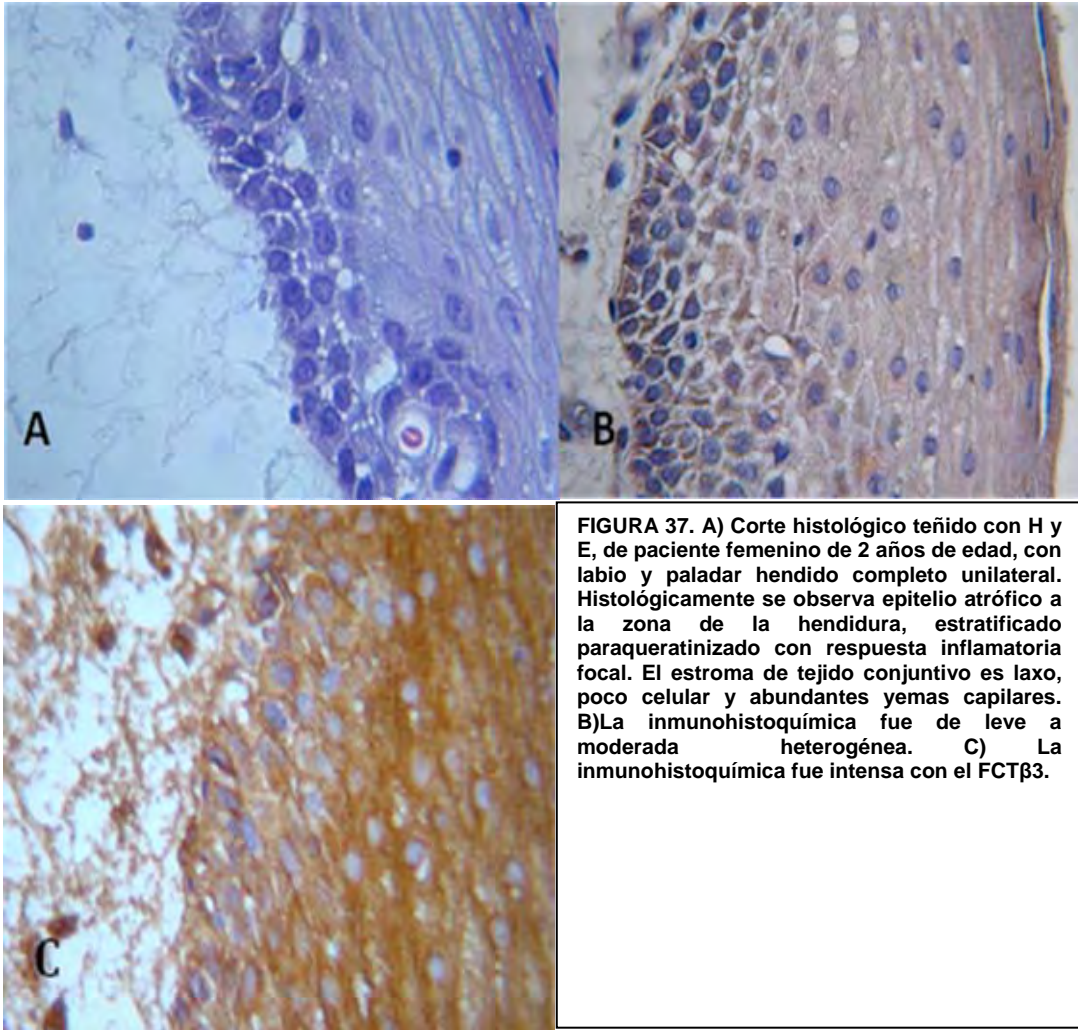
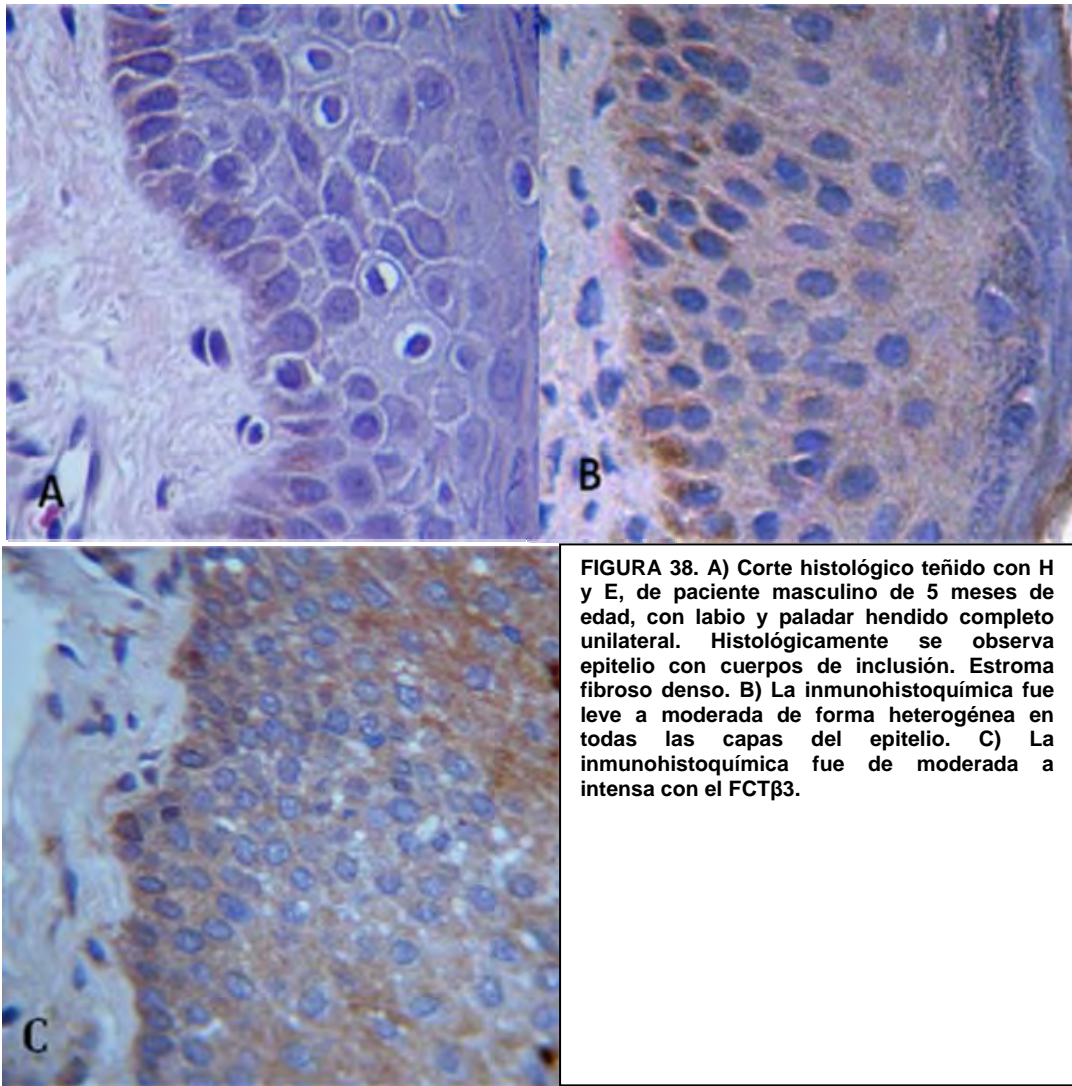


FIGURA 37. A) Corte histológico teñido con H y E, de paciente femenino de 2 años de edad, con labio y paladar hendido completo unilateral. Histológicamente se observa epitelio atrófico a la zona de la hendidura, estratificado paraqueratinizado con respuesta inflamatoria focal. El estroma de tejido conjuntivo es laxo, poco celular y abundantes yemas capilares. B) La inmunohistoquímica fue de leve a moderada heterogénea. C) La inmunohistoquímica fue intensa con el FCT $\beta 3$.



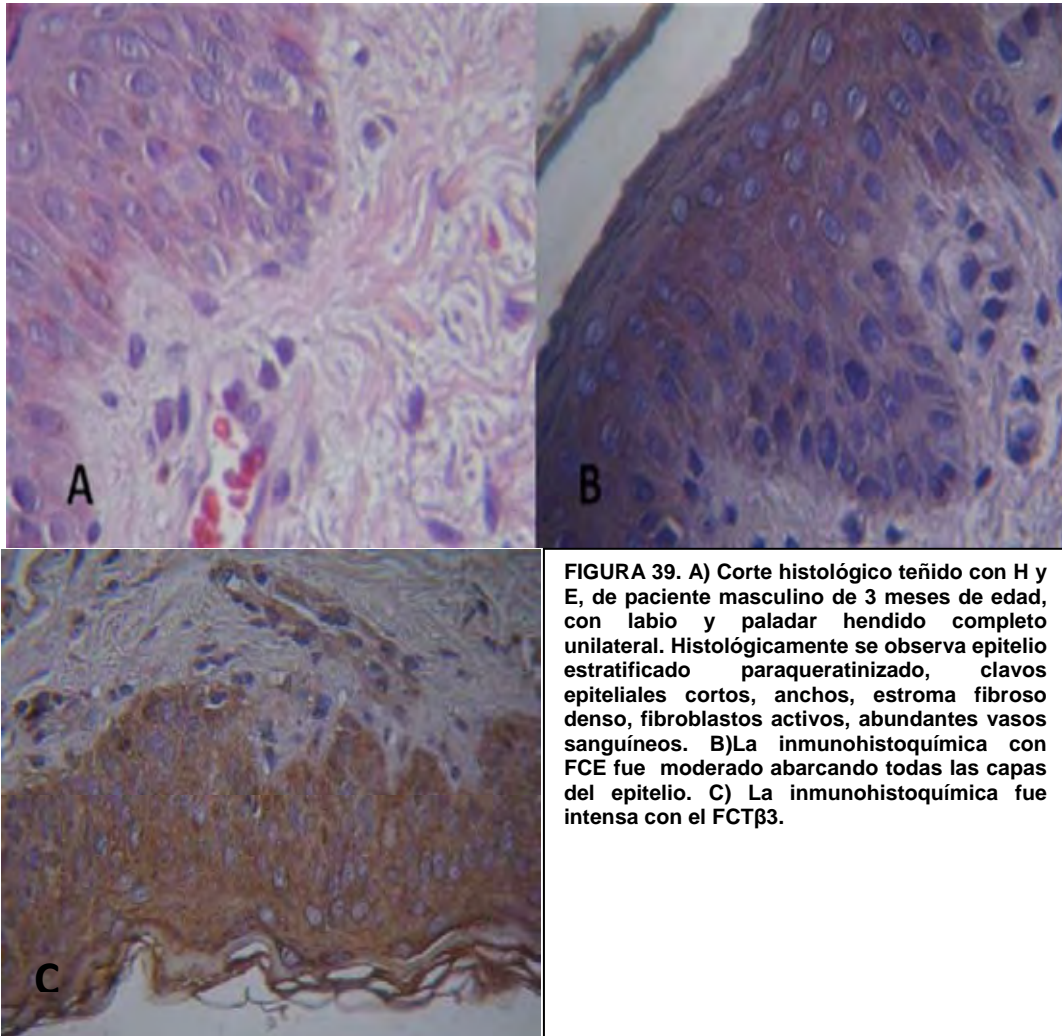
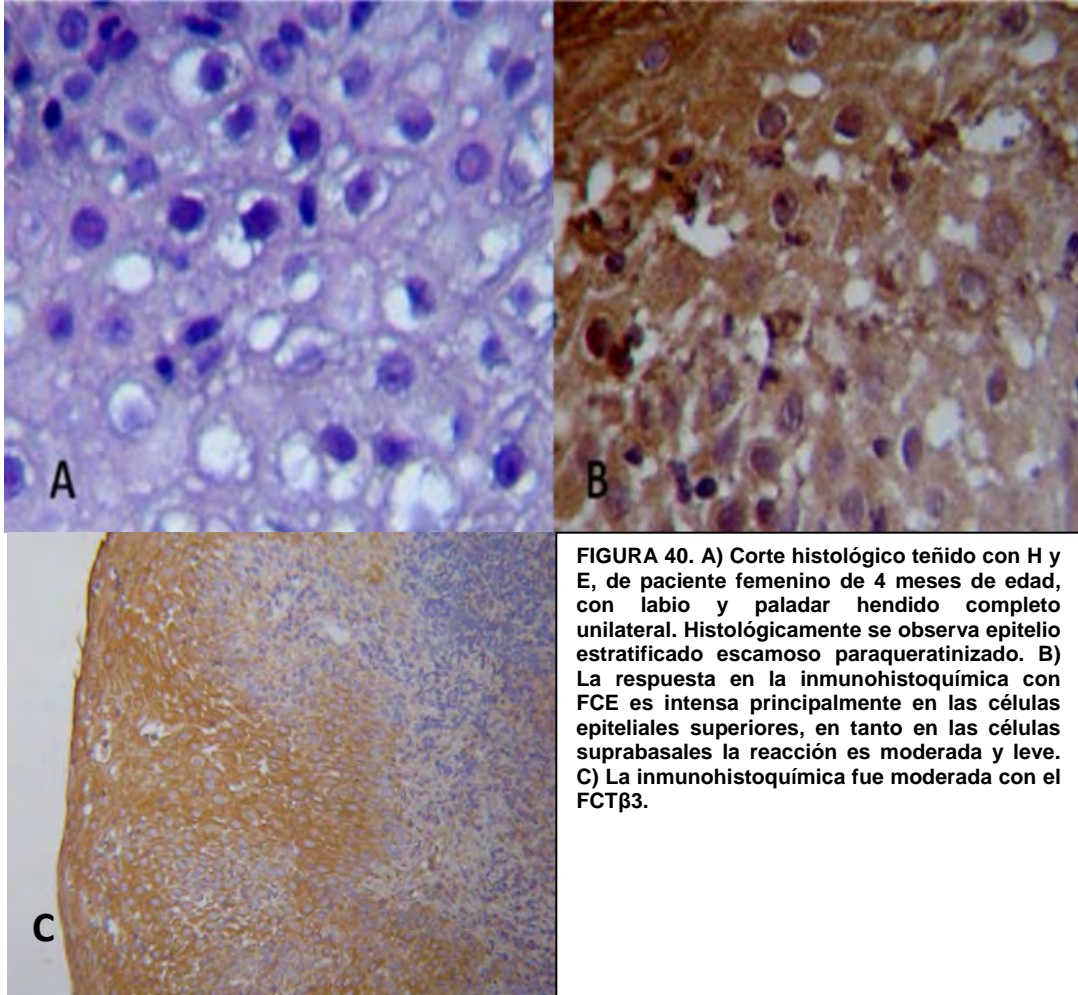
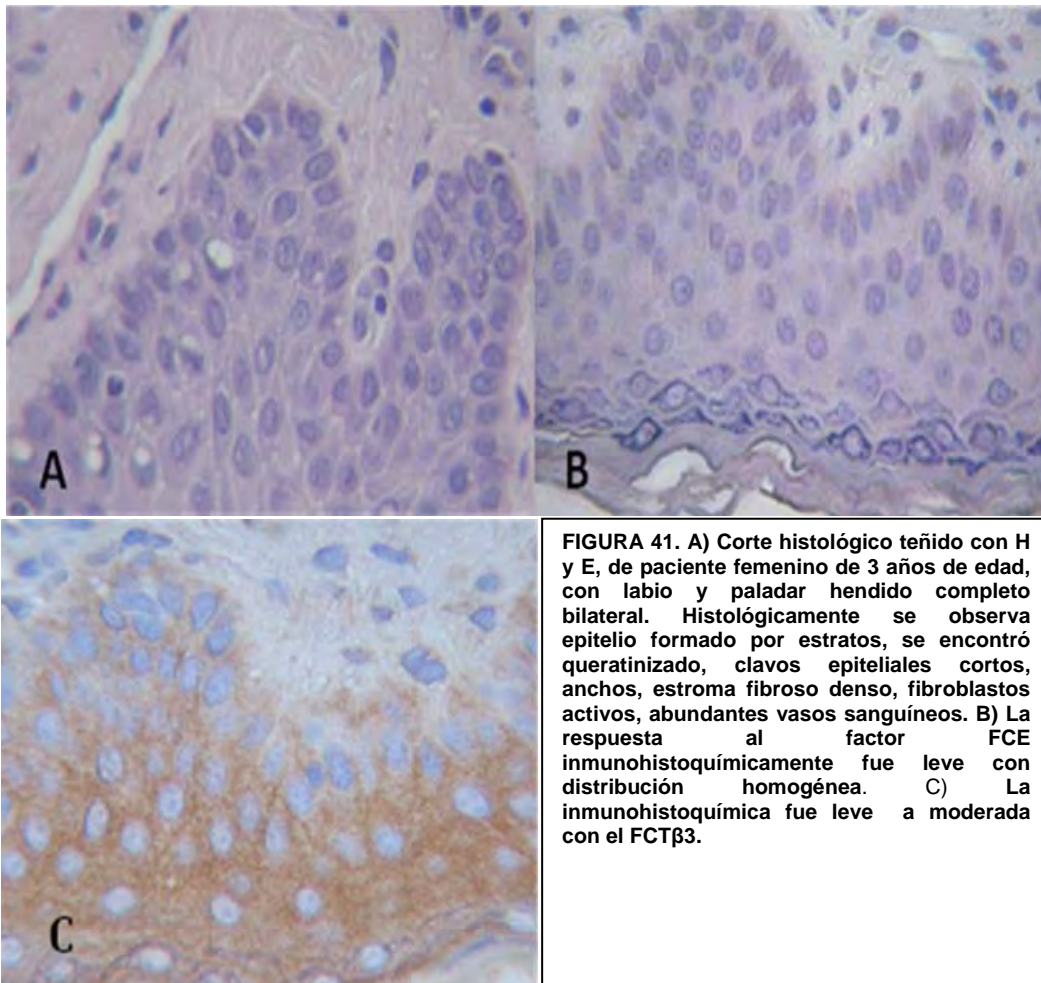


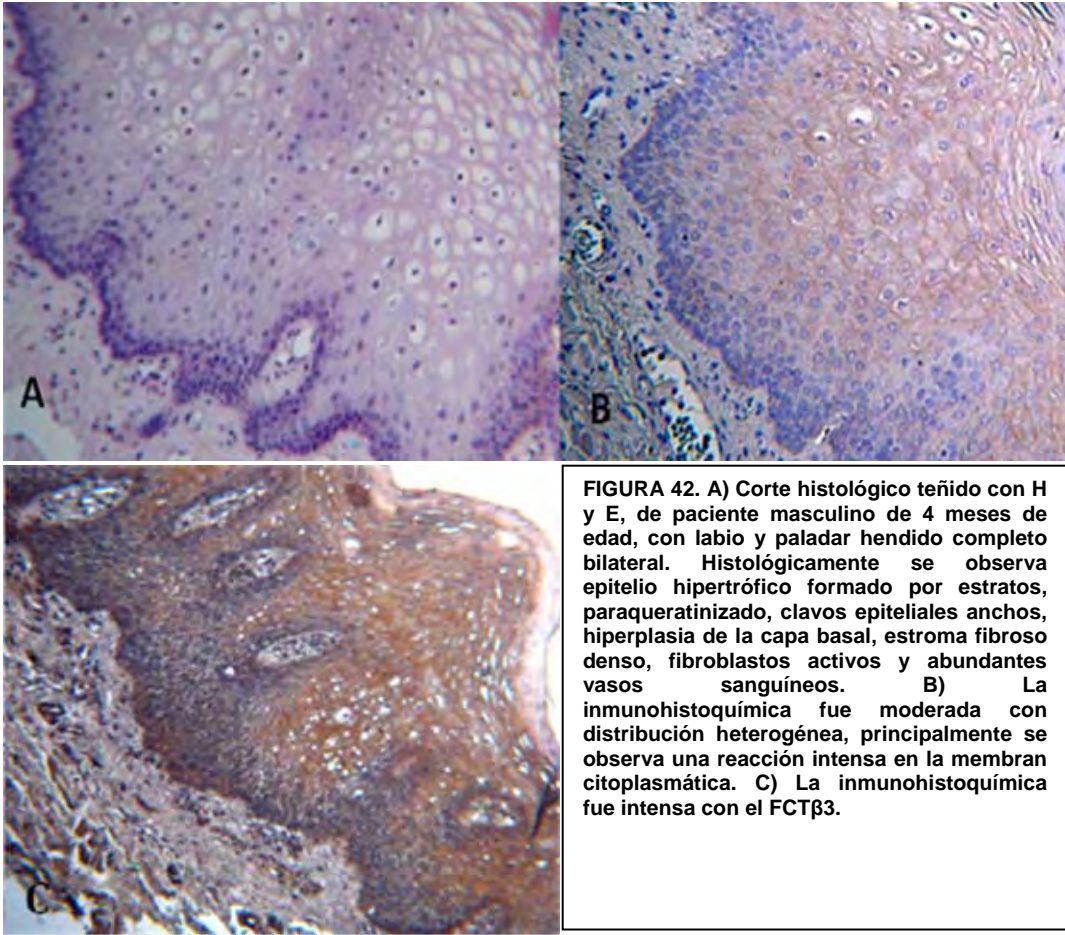
FIGURA 39. A) Corte histológico teñido con H y E, de paciente masculino de 3 meses de edad, con labio y paladar hendido completo unilateral. Histológicamente se observa epitelio estratificado paraqueratinizado, clavos epiteliales cortos, anchos, estroma fibroso denso, fibroblastos activos, abundantes vasos sanguíneos. B) La inmunohistoquímica con FCE fue moderado abarcando todas las capas del epitelio. C) La inmunohistoquímica fue intensa con el FCT $\beta 3$.

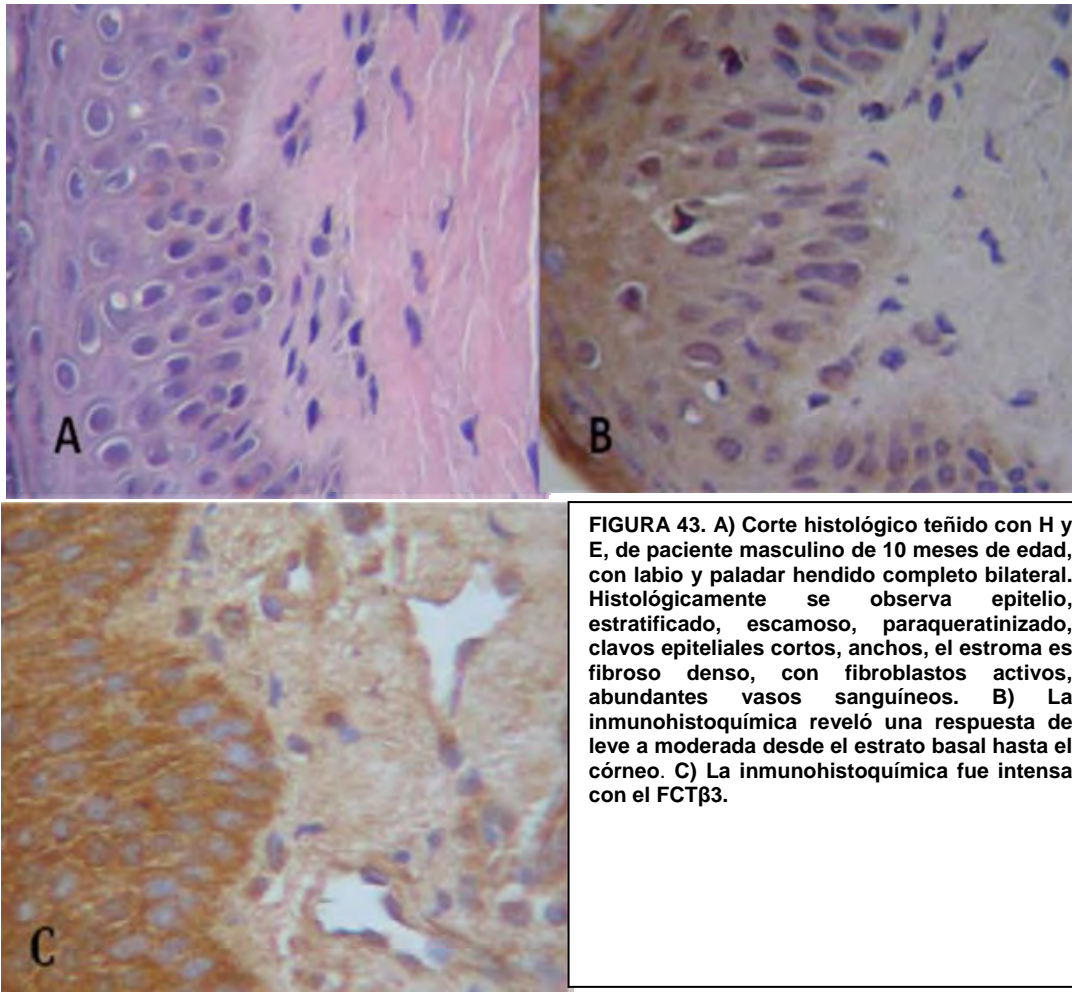


8. LABIO Y PALADAR HENDIDO BILATERAL COMPLETO

La revisión microscópica de los cortes teñidos con H y E, reveló que el epitelio se encontró formado por estratos, el estrato corneo es paraqueratinizado hacia la zona de la mucosa bucal y queratinizado hacia la zona del bermellón, con la presencia de queratinización individual, clavos epiteliales anchos y profundos. En Algunos casos presentaron hacia la cavidad bucal epitelio estratificado, escamoso hiperparaqueratinizado, con zonas hipertróficas, en tanto que el epitelio del bermellón se encontró atrófico y en zonas de transición hiperplásico. El estroma en general fue fibroso denso, con abundantes vasos sanguíneos y capilares, con zonas focales de respuesta inflamatoria crónica, algunos pacientes presentaron colonias bacterianas adyacentes a la zona de hendidura. La reacción de inmunohistoquímica con el factor FCE fue de leve a moderada, al igual que con FCT- $\beta 3$ (Figuras 41 -44), (Tablas 1, 2 y 3).







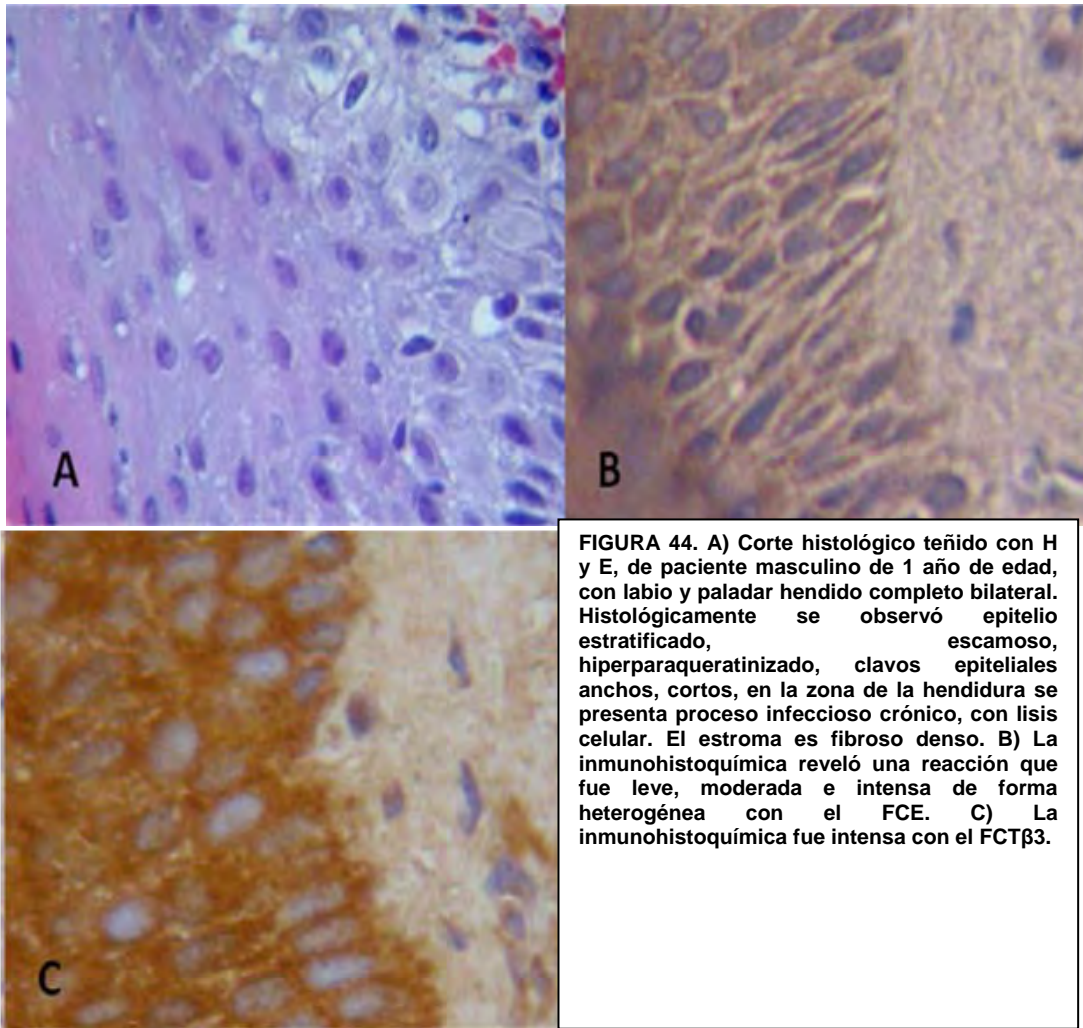


TABLA 1. RESULTADOS DE LA INMUNOHISTOQUÍMICA CON FCE POR TIPO DE HENDIDURA Y NÚMERO DE CASOS.

Tipo de hendidura	LEVE	MODERADO	INTENSO	NEGATIVO
LABIO COMPLETO UNILATERAL	2	0	0	3
LABIO INCOMPLETO UNILATERAL	3	1	0	4
LABIO COMPLETO BILATERAL	1	0	0	2
PALADAR COMPLETO UNILATERAL	0	0	0	1
PALADAR INCOMPLETO UNILATERAL	1	2	0	0
PALADAR COMPLETO BILATERAL	0	3	0	2
L Y P COMPLETO UNILATERAL	5	5	2	4
L Y P COMPLETO BILATERAL	3	2	1	2
TOTAL	15 (31%)	13 (26%)	3 (6%)	18 (37)

TABLA 2. RESULTADOS DE LA INMUNOHISTOQUÍMICA CON FCT- $\beta 3$ POR TIPO DE HENDIDURA Y NÚMERO DE CASOS.

Tipo de hendidura	LEVE	MODERADO	INTENSO	NEGATIVO
LABIO COMPLETO UNILATERAL	1	3	1	0
LABIO INCOMPLETO UNILATERAL	2	5	2	0
LABIO COMPLETO BILATERAL	0	2	2	0
PALADAR COMPLETO UNILATERAL	0	0	1	0
PALADAR INCOMPLETO UNILATERAL	0	1	2	0
PALADAR COMPLETO BILATERAL	0	1	2	0
L Y P COMPLETO UNILATERAL	5	5	9	0
L Y P COMPLETO BILATERAL	1	0	4	0
TOTAL	9 (18%)	17 (35%)	23 (47%)	0

VI. DISCUSIÓN

Muchos estudios clínicos reportan la prevalencia de defectos en el cierre de los procesos labiales y palatinos, siendo el más frecuente la de labio y paladar combinado completo unilateral izquierdo⁽¹⁸⁾, lo cual coincide con los hallazgos encontrados en el presente trabajo y que en base a la experiencia clínica y a la comunicación directa de la C.D. CMF María Luisa López Salgado en el Hospital para el Niño DIF Toluca concuerda con lo identificado en el presente estudio (Gráficas 1-3).

Dentro de la población estudiada, la mayor cantidad de niños sometidos a procedimientos quirúrgicos para el cierre de los defectos de hendidura es a temprana edad, esto, gracias a la campaña de concientización hacia la población afectada y por la experiencia de los Cirujanos Maxilofaciales, además de lo reportado en la literatura y así como por la misma respuesta del paciente, por tales motivos, los pacientes sometidos a cirugía para el cierre del defecto, se registró un mayor porcentaje entre las edades de 1 mes hasta 14 años de edad. Las edades con mayor predominio fueron de 1 mes a 11 meses de edad (67%), obteniendo la mayor incidencia en infantes con labio y paladar hendido de 3 meses de edad. Como se mencionó anteriormente, en edades tempranas se pueden reducir en gran medida los problemas como la desnutrición del infante afectado con hendiduras de labio y paladar e inadecuada fonación, además de contribuir en su tratamiento ortopédico⁽¹⁸⁾.

Es importante señalar que las muestras obtenidas dentro del universo de trabajo no resultaron iguales en número en cada uno de los tipos de hendidura, esto es debido a que la mayor cantidad de la población que sufre este tipo de defecto corresponde a los de labio y paladar hendido completo como lo marca la literatura enfocándose a pacientes de género femenino⁽¹⁰⁾, a diferencia de este estudio en donde la mayor cantidad de niños atendidos fueron varones, esto no puede inferirse debido a que en las brigadas de atención que se realizan en los estados, la mayor de cantidad son varones, debido a la ideología que prevalece dentro de las zonas de atención. Un alto número de pacientes pertenecen a las instituciones dedicadas a la atención infantil, como es el caso del Hospital para el Niño DIF, de Toluca, Estado de México, seguido por brigadas encaminadas al cierre de la hendidura labial y palatal, que son del conocimiento público en estados como Chiapas, Estado de México y Quintana Roo, principalmente, estados que cuentan con un alto número de pacientes con defectos de hendidura.

Bien se sabe que este problema de salud es multifactorial, en la mayoría de las circunstancias es de origen genético, en otras es de tipo adquirido, las observaciones realizadas por la Dra. López Salgado han permitido asociar otro factor como el humo, pero no el humo del cigarro por parte de los padres, sino por el humo de la leña que emplean para la elaboración de sus alimentos, la gran mayoría de los pacientes se encuentran expuestos a esta situación.

También la posibilidad de encontrar una menor cantidad de factores de crecimiento, aunado a la cirugía realizada puede marcar la diferencia entre el éxito y el fracaso o el desarrollo de una fístula en el proceso de cicatrización, con recidivas constantes, en este estudio se encontró que la presencia y tipo de expresión (según la escala ordinal) de los factores de crecimiento FCE y FCT- $\beta 3$ en la mucosa de las hendiduras labiales y del paladar hendido de pacientes de ambos géneros de cualquier edad que fueron sometidos a cirugía para el cierre de estos defectos, mostraron inmunohistoquímicamente diferentes valores. La presencia de los factores de crecimiento FCE y FCT- $\beta 3$ en la mucosa de las hendiduras labiales fue de menor intensidad con el FCE, que el otro factor, el cual presentó una mayor intensidad en la respuesta. A diferencia de la presencia de los factores de crecimiento FCE y FCT- $\beta 3$ en la mucosa de las hendiduras palatinas, se encontró una mayor reacción con ambos factores, FCT- $\beta 3$ en estudios realizados en modelos experimentales se encontró en menor expresión, esto no concuerda con lo encontrado en este estudio, debido a que se encontró una inmuno-respuesta intensa en las muestras de mucosa palatina. Los resultados en relación a FCE concuerdan con lo expresado por Alappat⁽⁴⁾ y Dudas⁽⁵⁾ quienes señalan la inhibición de la señalización para la activación de algunos factores, en este estudio se encontró inhibición del factor FCE no así el del FCT $\beta 3$.

La presencia de los diversos factores estimulantes (EGF y FCT- $\beta 3$) en los distintos tipos de expresión (leve, moderado o intenso), está directamente relacionada con la falta de fusión de los pliegues palatales y la hendidura labial y el tamaño de los mismos, a menor hendidura mayor reacción e inversamente con las otras hendiduras. En lo referente a la reacción de inmunohistoquímica es importante señalar que el FCE tuvo en un mayor número de casos con reacciones de tipo negativo encontrando 19 muestras sin reacción (37%), 2 muestras con respuesta inmunológica intensa (6%), 13 casos con respuesta moderada (26%) y 15 fueron leve (31%), (Tabla 1) mientras que el FCT $\beta 3$ presentó una respuesta inmunohistoquímica más intensa con 23 casos (47%), 17 casos de tipo moderado (35%) y 9 muestras con reacción leve (18%), (Tabla 2), posible que la acción de

uno de los factores en este caso el FCT β 3 no se encontró inhibido, no así FCE que mostró poca respuesta del FCE en la mayor parte de las muestras.

Histológicamente un hallazgo importante fue la presencia de coilocitos que se encontraron distribuidos en todas las capas del epitelio, así como la presencia de respuesta inflamatoria en 5 casos con la presencia de colonias bacterianas adyacentes a la zona de la hendidura, otro hecho fue la característica del epitelio atrófico cercano a la hendidura y en la parte distal al mismo la reacción hiperplásica en algunos casos y en la mayoría el epitelio se observó hipertrófico, así como también la espongirosis, el edema intracelular que abarcaban las capas espinosa, granulosa y córnea.

VII. CONCLUSIONES

1. Es importante difundir la información sobre los cuidados que debe de tener cualquier mujer embarazada durante el periodo de desarrollo embrionario.
1. Estos defectos de desarrollo se observaron principalmente en personas de escasos recursos, ya que muchos de los factores como la desnutrición en conjunto con la predisposición genética, son causa de la presencia de labio y paladar hendido.
2. La mayor incidencia de hendiduras se encuentra en pacientes con hendiduras de labio y paladar combinado completo unilateral, siendo más frecuente encontrar la hendidura del lado izquierdo.
3. Es muy poco frecuente encontrar pacientes con hendidura de labio o paladar aislada, ya que según nuestro estudio detectamos que de 49 pacientes afectados con hendiduras de labio y paladar, únicamente se lograron manejar porcentajes como el 2% en hendiduras aisladas como la de paladar hendido unilateral incompleto.
4. En cuanto a los resultados detectados con la inmunohistoquímica del EGF, se logró detectar que las mayores reacciones encontradas establecidas como reacción leve, se observan en las hendiduras más pequeñas, como es el caso de labio hendido incompleto unilateral, reacción moderada con el paladar hendido unilateral incompleto y reacción fuerte con el labio y paladar hendido unilateral incompleto. En cambio, las hendiduras más grandes como son las hendiduras bilaterales completas, se observaron con un menor grado de tinción, que va de negativo a leve o moderado.
5. Respecto a la inmunohistoquímica del FCT $\beta 3$, se observó una gran reacción en todas las muestras. Detectando una tinción intensa en paladar, principalmente paladar hendido incompleto unilateral, seguido por paladar hendido completo unilateral y finalizando con paladar hendido completo bilateral. Es menos marcada la reacción en el labio, ya que se detectaron grados desde leve a moderado, encontrando una mayor reacción en el labio hendido completo bilateral.
6. Por lo que analizando ambos resultados, concluimos que se detecta un mayor grado de tinción mientras más pequeña es la hendidura de labio o paladar.

-
7. Se observó que en el labio, el factor que menos presenta tinción, manejándose en reacción leve, es el EGF, y en el paladar presenta mayor reacción.
 8. En cuanto a la reacción que se presenta con el FCT β 3, la tinción que más predomina en el labio hendido, es la moderada, manejándose una reacción bastante intensa en paladar hendido.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Corbo M. y Marimón M. 2 Factores Contribuyentes En La Incidencia De Fisuras Labiopalatinas. Rev. Cubana de Medicina General Integral. 2001:17 (4).
2. Coiffman. Cirugía Plástica, Reconstructiva y Estética, Vol II. Ed. Masson Salvat. Barcelona, 1994.
3. Gómez G. Breve Diccionario Etimológico De La Lengua Española. 2da. ed. Ed. Fondo de Cultura Económica. México, D.F.1998.
4. Alappat S., Zhang Z., Suzuki K., Zhang X., Liu H., Jiang R., Yamada G., Chen Y. The Cellular And Molecular Etiology Of The Secondary Palate In Fgf10 Mutant Mice. Developmental Biology. Jan, 2005:277. (1).
5. Dudas M., Kim J., Li W., Nagy A., Larsson J., Karlsson S., Chai Y., Kaartinen V. Epithelial And Ectomesenchymal Role Of The Type I FCT-B Receptor Alk5 During Facial Morphogenesis And Palatal Fusion. Develop. Biol. August, 2006:296. (2).
6. Machida J., Yoshiura K., Funkhauser C., Natsume N., Kawai T., Murray J. Transforming Growth Factor- α (FCTA): Genomic Structure, Boundary Sequences, and Mutation Analysis in Nonsyndromic Cleft Lip /Palate and Cleft Palate Only. Genomics. August, 1999: 61.
7. Carpenter G., COHEN S. Epidermal Growth Factor. Annual Reviews. April, 2007: 48.
8. Nawshad A., LaGamba D., Hay E. Transforming Growth Factor- β (FCT β) signaling in palatal growth, apoptosis and epithelial mesenchymal transformation (EMT). Archives of Oral Biology. May, 2004: 49.
9. <http://www.histopat.es/tec-inm-histoq.htm>. August, 2007
10. Sadler T. Embriología Médica. Ed. Médica Panamericana. 2002.
11. <http://mcghi.org/internet/printer/internet/Greystone/speds/craniofacial/cleft.html>/ August, 2007.
12. http://www.bioldes.fmed.edu.uy/materiales/faringe_cara_05.pdf/2007.
13. Neville, D., Allen y Bouquet. Oral and Maxillofacial Pathology. 2da.Ed. Editorial W.B. Saunders Company. United States of America, 2002.

14. http://www.kidshealth.org/parent/en_espanol/medicos/cleft_lip_palateesp.html/
August, 2007
15. Sapp, Eversole y Wysocki. Patología Oral y Maxilofacial Contemporánea.
Ed. Harcourt. España, 2003.
16. Regezi J. Patología Bucal. Ed. Interamericana Mc. Graw-Hill. 1995.
17. Ibáñez J, Ruiz MI, Cagigal L, Lara JS, Rus JA. Labio Leporino Unilateral Y
Bilateral. Manual de Cirugía Plástica. Tema 23. Jan, 2007.
18. Rozen I. Labio y Pladar Hendido. Conceptos Básicos. Compuedición y
Cuidado Editorial. México, 2000.
19. http://es.wikipedia.org/wiki/Factor_de_crecimiento/ September, 2007
20. Arquero P. Factores De Crecimiento Y Rejuvenecimiento Facial. Rev. de
Medicina Estética. 2003:7.
21. Cui X., Shiomi N., Chen J, Saito T., Yamamoto T., Ito Y., Bringas P.,Chai Y.,
Shuler C. Overexpression Of Smad2 In FCT-B3-Null Mutant Mice Rescues Cleft
Palate. Developmental Biology. Feb, 2005:278 (1).
22. Sasaki Y., O'Kane S., Dixon J., Dixon M., Ferguson M. Temporal and
spatial expression of Pax9 and Sonic hedgehog during development of normal
mouse palates and cleft palates in FCT- β 3 null embryos. Archives of Oral Biology.
September, 2007: 52.
23. Moreno A., López S. y Corcho A. Principales medidas en epidemiología.
Salud pública. July/Aug, 2000: 42(4)