



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

TÍTULO

EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS APOPTÓTICAS Y ANTIAPOPTÓTICAS EN  
QUEILITIS ACTÍNICA Y CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE LABIO

TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

PRESENTA

**C. D. E. CMF. ALEJANDRO ALONSO MOCTEZUMA**

TUTORES

**DRA. ELBA ROSA LEYVA HUERTA**

Coordinación del Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas  
Odontológicas y de la Salud.

**DRA. MA. ELISA VEGA MEMIJE**

Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas Odontológicas y  
de la Salud.

MÉXICO, D.F. ENERO 2015



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.

## ÍNDICE GENERAL

1. Resumen.....	1
2. Abstract.....	2
3. Introducción.....	3
4. Factores de riesgo.....	4
4.1 Radiación solar.....	5
4.2 Otros factores de riesgo.....	10
5. Epidemiología del cáncer de labio.....	13
6. Perfil demográfico del cáncer de labio.....	14
7. Carcinoma de células escamosas de labio.....	15
8. Lesiones premalignas.....	15
9. Queilitis actínica.....	16
10. Carcinogénesis.....	21
11. Ciclo celular y cáncer.....	22
12. Apoptosis.....	27
13. Análisis inmunohistoquímico.....	32
14. Planteamiento del problema.....	35
15. Justificación.....	35
16. Objetivo General.....	36
17. Hipótesis.....	37
18. Materiales y Métodos.....	38
19. Resultados.....	47
20. Discusión.....	54
21. Conclusión.....	57
22. Referencias.....	58

## ÍNDICE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Muestra la epidermis, dermis hipodermis de la piel y la profundidad de penetración de los rayos UVB y UVA.	6
<b>Figura 2.</b> Espectro visible por el ser humano.	8
<b>Figura 3.</b> Mecanismos de alteraciones genéticas y epigenéticas del cáncer oral.	13
<b>Figura 4.</b> Fases de la carcinogénesis.	22
<b>Figura 5.</b> Muestra las fases del ciclo celular y los puntos de control.	24
<b>Figura 6.</b> Muestra la vía intrínseca y extrínseca de la apoptosis.	31
<b>Figura 7. A</b> se muestra uno de los casos en estudio de queilitis actínica con elastosis y <b>B</b> a mayor aumento se observan cambios displásicos severos en la misma lesión.	48
<b>Figura 8. A</b> en la fotomicrografía a 10X se observan islas de células neoplásicas, invadiendo el tejido conectivo adyacente rodeado por un infiltrado inflamatorio crónico. <b>B</b> a mayor aumento se muestra el pleomorfismo celular en una isla de un carcinoma invasivo.	49
<b>Figura 9. A</b> se observa una QA con expresión de p53 a en la capa basal y suprabasal del epitelio. <b>B</b> expresión de Bcl-2 en células epiteliales, endoteliales y tejido conjuntivo. <b>C</b> expresión de Bax en capa basal y espinosa.	51
<b>Figura 10. A</b> Se observa un CCEL con positividad de p53 en las células neoplásicas, <b>B</b> positividad de Bcl-2 en células neoplásicas y tejido conjuntivo y, <b>C</b> positividad de Bax en células neoplásicas.	52

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Variables del estudio	40
<b>Tabla 2.</b> Criterios de malignidad de la OMS.	43
<b>Tabla 3.</b> Clasificación de Broders	43
<b>Tabla 4.</b> Frente de Invasión Tumoral	44
<b>Tabla 5.</b> Puntos de corte obtenidos para la evaluación de la inmunexpresión por Densidad Óptica para p53, Bcl-2 y Bax.	46
<b>Tabla 6.</b> Resultados de frecuencia de alteraciones epiteliales y del tejido conjuntivo de los casos revisados en el estudio.	47
<b>Tabla 7.</b> Resultados de frecuencias de elastosis en carcinomas de células escamosas estudiados.	49
<b>Tabla 8.</b> Resultados de inmunexpresión de los anticuerpos p53, Bcl-2 y Bax en queilitis actínica.	50
<b>Tabla 9.</b> Resultados de inmunexpresión de los anticuerpos p53, Bcl-2 y Bax en carcinoma de células escamosas de labio.	51
<b>Tabla 10.</b> Resultados del análisis de asociación entre la Densidad Óptica y las lesiones en estudio.	52
<b>Tabla 11.</b> Resultados del análisis de asociación entre células positivas y las lesiones en estudio.	53
<b>Tabla 12.</b> Resultados de la asociación entre la presencia de elastosis y la expresión de anticuerpos en queilitis actínica.	53
<b>Tabla 13.</b> Resultados de la asociación entre la presencia de elastosis y la expresión de anticuerpos en carcinoma de células escamosas de labio.	53

## 1. RESUMEN

### **Expresión de proteínas apoptóticas y antiapoptóticas en queilitis actínica y carcinoma de células escamosas de labio.**

**Introducción.** La queilitis actínica es una lesión premaligna asociada a la radiación ultravioleta que tiene un alto potencial de sufrir transformación maligna. Esta lesión se caracteriza por presentar cambios displásicos en un epitelio atrófico donde los cambios pueden ser desde una displasia leve hasta un carcinoma microinvasor. **Objetivo.** Determinar si existen diferencias en la expresión de p53 y bcl-2 en queilitis actínica (QA) y carcinoma de células escamosas de labio (CCEL) asociadas al crecimiento tumoral en casos del Hospital General Dr. Manuel Gea González y Departamento de Patología Bucal de la DEPEI de la UNAM de 1980 a 2013. **Método.** Se seleccionaron 18 casos de QA y 15 de CCEL. Se determinó el grado de displasia y grado de malignidad. Se realizó la técnica de inmunohistoquímica para identificar la expresión de las proteínas p53, Bcl-2 y Bax. **Resultados.** p53 se expresó en el 100% de los casos en ambas enfermedades con una Densidad Óptica de Inmunoexpresión (D) moderada en QA y severa en CCEL, Bcl-2 fue positivo en 61.1% de QA con un D moderada; en CCEL solo el 36% fueron positivas con una D leve. Bax fue positivo en QA en el 66.7% con una D leve; en el CCEL fue nula. La proteína p53 presentó relevancia estadística en el número de células marcadas ( $p=.010$ ) y con una D ( $p=.000$ ) en relación al CCE; indicando que el ADN esta dañado en estas células y pueden encontrarse en una fase de regulación entre la muerte y la supervivencia al ser encontrados expresados similarmente bcl-2 y Bax en ambas enfermedades.

## 2. ABSTRACT

### **Expression of apoptotic and antiapoptotic proteins in actinic cheilitis and squamous cell carcinoma of the lip.**

**Introduction.** Actinic cheilitis is a premalignant lesion associated to ultraviolet radiation, having a high potential to go through malignant transformation. This lesion is characterized by dysplastic changes in an atrophic epithelium where changes can be from mild dysplasia to a microinvasive carcinoma. **Objective.** To define whether there are differences in the expression of p53 and bcl-2 in actinic cheilitis (AC) and squamous cell carcinoma of the lip (SCCL) associated with tumor growth in cases of General Hospital Dr. Manuel Gea González and the Department of Oral Pathology Depei UNAM, from 1980 to 2013. **Method.** 18 cases of AC and 15 SCCL were selected. The degree of dysplasia and malignancy grade was determined. The immunohistochemistry was performed to identify the expression of p53 proteins, Bcl-2 and Bax. **Results.** p53 was expressed in 100% of cases in both diseases with Immunohistochemical Optical Density (D) moderate on AC and severe on SCCL, Bcl-2 was positive in 61.1% of AC with moderate D; in SCCL only 36% were positive with a slight D. Bax was positive in 66.7% AC with a slight D; in SCCL was null. The p53 protein present statistical significance in the number of labeled cells (68 cells per field ;  $p = .010$ ) and a D ( $674 \pm 2.6$ ;  $p = .000$ ) relative to SCCL; indicating that DNA is damaged in these cells and can be found in a regulation phase between death and survival when found similarly expressed bcl-2 and Bax in both diseases.

### 3. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a un factor de riesgo como cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumente su probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión.<sup>1</sup> Entre los factores de riesgo más importantes para el cáncer oral tenemos; el consumo de tabaco y alcohol, las prácticas sexuales de riesgo, la falta de higiene y para el caso de cáncer de labio la exposición a las radiaciones solares. Estos factores pueden ser tanto indicadores de riesgo como causas de daño a la salud.<sup>1,2,6,10,11,13</sup> En ocasiones, un factor de riesgo produce un resultado, pero la combinación de 2 o más factores aumenta la probabilidad de los resultados. Las personas con poca pigmentación en la piel que estén sometidas a la exposición solar ocupacional y prolongada presentan mayor riesgo de desarrollar carcinoma de células escamosas de labio (CCEL) que las no expuestas. El labio pasa por una serie de cambios pre-neoplásicos que progresan más intensamente cuando la dosis de radiación actínica se acumula y cuando se va envejeciendo. A estos cambios se le conoce con el nombre de queilitis actínica (QA). La radiación produce cambios en el ADN, como roturas o traslocaciones cromosómicas en las que segmentos rotos de dos cromosomas pueden intercambiarse. La radiación actúa como un iniciador de la carcinogénesis, induciendo alteraciones que progresan hasta convertirse en cáncer después de un periodo de latencia de varios años. Los rayos ultravioletas del sol y los rayos X aumentan la propensión a adquirir cáncer de piel y leucemia. La excesiva exposición a los rayos solares, en personas de piel blanca, aumenta el riesgo para el desarrollo de lesiones premalignas y malignas como la queilitis actínica y el carcinoma de células escamosas de labio; lesiones asociadas a la radiación UV del sol, cuyos resultados se presentan en este trabajo.<sup>1,6,10,11,13,17</sup>



#### 4. FACTORES DE RIESGO

El factor de riesgo es una característica, aspecto de la conducta o una exposición ambiental, asociado con la enfermedad, en donde su presencia hace que la probabilidad de padecer la enfermedad aumente y su eliminación la disminuye. Dentro de estos, existen aquellos factores de riesgo que no pueden ser modificados como la edad, sexo, raza o genética y se utilizan para identificar grupos de riesgo, a este tipo de factores se les denomina determinantes.<sup>2,3,9</sup>

Los llamados indicadores de riesgo, son aquellos factores causales biológicamente posibles, que solo han demostrado su asociación con la enfermedad en estudios transversales y casos y controles, como la presencia de determinados patógenos, entre otros.<sup>2,3,9</sup>

Por último los predictores o marcadores de riesgo, son aquellos factores que indican la presencia de la enfermedad, pero no son factores etiológicos.<sup>2,3,9</sup>

También los factores de riesgo se pueden dividir en iniciadores y promotores. Los **iniciadores** son capaces de comenzar la mutación del ADN celular de forma irreversible y dar como resultado una célula con potencial de desarrollarse en un clon de células malignas. Los **promotores** sin embargo no se pueden considerar carcinógenos, puesto que solo inducen neoplasias en las células ya iniciadas pero, por si solos, no inducen tumores ya que no producen lesión permanente del ADN.<sup>2,3,9</sup>

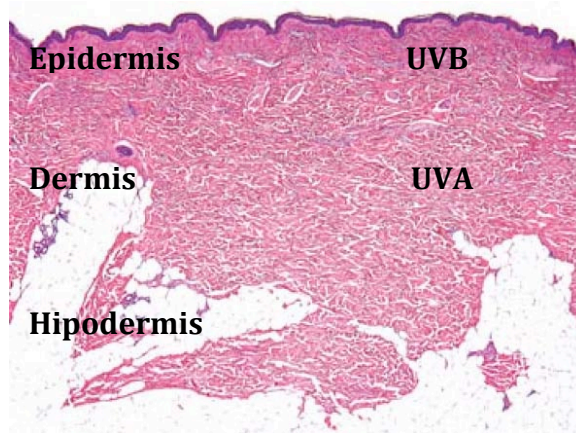
#### 4.1 Radiación solar

El sol es imprescindible para la vida. Es necesario para la síntesis de la vitamina D (con diez minutos es suficiente), regula los fenómenos fisiológicos neuroendocrinos y es un factor influyente en el psiquismo de las personas. Como se mencionó la introducción, la luz solar tienen indudables beneficios para la vida humana sin embargo en individuos susceptibles puede provocar cáncer de piel.<sup>4,5</sup>

La luz solar abarca el espectro de radiación electromagnética proveniente del sol, está formada por un conjunto continuado de ondas electromagnéticas cuyas longitudes de onda abarcan entre 10 a 1.500 nanómetros y se conocen como rayos cósmicos, rayos gamma, rayos X, ultravioleta (UV), luz visible, e infrarrojos (IR). No toda esta radiación llega a la atmósfera terrestre; una parte, los rayos cósmicos, gamma, X y luz ultravioleta de vacío (con longitudes de onda entre 10 y 200 nm) desaparecen en la estratosfera, que a su vez absorbe los rayos ultravioleta C (UVC) y parte de ultravioleta B (UVB) de longitud de onda más corta, gracias al sistema oxígeno ozono, e impide que esta radiación llegue a la superficie terrestre.<sup>4,5,9,10,11</sup>

La radiación solar que llega a la tierra está formada por UVB, Ultravioleta A (UVA), luz visible (violeta, añil, azul, verde, amarillo, anaranjado, rojo) e infrarrojos (IR). La intensidad de la radiación y su composición dependen de la latitud geográfica, siendo mayor en el Ecuador. Está relacionada con la estación del año, predominando a finales de la primavera y principios del verano, así como con la hora del día, la altura sobre el nivel del mar, por ejemplo, a 2000m de altitud la radiación es un 30% más activa, en relación la neblina y nubes estas no absorben la radiación UV pero si la IR que anula la sensación de calor. El viento por su efecto refrigerante; el tiempo de exposición solar y de forma indirecta; agua, nieve, arena de la playa y los edificios tienen un efecto de superficies reflejantes.<sup>4,5</sup>

Dentro de las funciones de la piel esta la protección frente a las radiaciones solares que llegan a la tierra, osea la UVB, UVA, luz visible e IR. Cuya protección es proporcionada por la formación de melanina y el engrosamiento de la capa córnea de la piel después de las exposiciones solares, reduciendo así su adsorción. A pesar de estas barreras, los UVB llegan a la parte superior de la dermis y los UVA alcanzan la dermis profunda. Siendo más penetrantes la luz visible y los IR. <sup>4,5,9</sup>



**Figura 1.** Muestra la epidermis, dermis hipodermis de la piel y la profundidad de penetración de los rayos UVB y UVA. Tomada de Elder D, 2010.

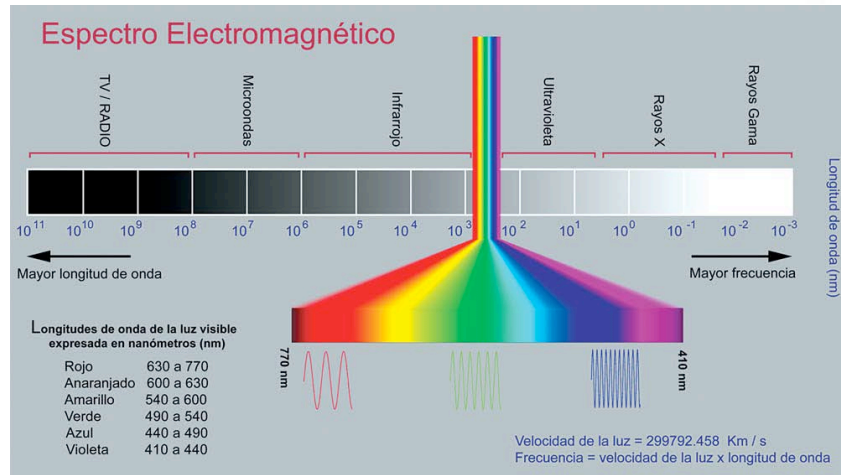
Las radiaciones que alcanzan la tierra y tienen interés en fotobiología son la UVB, UVA y la luz visible, que constituyen el espectro fotobiológico compuesto por:

1. Rango invisible: la radiación ultravioleta, que contiene la máxima actividad biológica y está formada por:
  - Ultravioleta vacío (10-200nm), retenida en la atmósfera.
  - Los UVC (200-290nm) son germicidas, llega muy poca radiación a la tierra porque es absorbida por el oxígeno y el ozono, son incompatibles con la vida. Se usan en lámparas germicidas.
  - Los UVB (290-320nm) son también absorbidos por la capa de ozono, son benéficos porque fotometabolizan la vitamina D son responsables del eritema solar y del bronceado persistente por síntesis de melanina. También del envejecimiento, de la fotocarcinogénesis y de la degeneración actínica cutánea.

- Los UVA (320-400nm) son menos eritematógenos que los UVB, estimulan una pigmentación poco intensa y fugaz, incrementan los efectos de los UVB y son responsables de muchas reacciones fototóxicas.<sup>4,5,9</sup>
- 2. El rango visible o luz (400-770nm) no es dañina para la piel salvo que intervengan sustancias fotosensibilizantes; impresiona la retina y está constituida por diferentes colores (del violeta al rojo).<sup>4,5,9</sup>
- 3. Rango infrarrojo (770nm a 1 mm).<sup>4,5,9</sup>
- 4. El espectro fotobiológico abarca el rango de los UVB hasta la luz visible (290-770nm). La proporción de las longitudes de onda más cortas está determinada también por la estación del año en que estemos la hora del día, la latitud y la altura.<sup>4,5,9</sup>

Es necesario recordar que la luz visible es un conjunto de ondas electromagnéticas con distintas longitudes de ondas, comprendidas entre los 400 y los 750nm, cada una de estas longitudes de onda es percibida por los ojos como un color diferente que va desde el violeta hasta el rojo.

Cuanto mayor es la longitud de onda de la radiación menor es su poder de penetración, así la luz roja es la primera en ser filtrada ya que solo puede penetrar una corta distancia. A medida que los rayos solares alcanzan una mayor profundidad, pierden sus rayos naranjas y amarillos y así sucesivamente con el resto de los colores del espectro visible. De todos ellos la luz azul y violeta es la que tiene un mayor poder de penetración por lo que se conoce con el nombre de luz actínica (longitud de onda que oscila entre los 500 y los 480nm).<sup>4, 5,9</sup>



**Figura 2.** Espectro electromagnético donde se evidencia la relación entre color y longitud de onda.

Tomada de: Zaratti, 2003.

Como se mencionó anteriormente la cantidad de luz ultravioleta que alcanza el suelo en cualquier lugar depende de un número de factores, incluyendo la hora del día, la temporada del año, la elevación, y la formación nubosa. El *National Weather Services* y la *Environmental Protection Agency* (EPA) han creado el índice de luz ultravioleta. Este índice proporciona la intensidad de la radiación ultravioleta en el área donde se habita en una escala de 1 al 11+. Un mayor número significa un riesgo más alto de exposición a los rayos UV, y una mayor probabilidad de quemadura solar y daño a la piel que podría en última instancia conducir a cáncer de piel.<sup>4,5,9</sup>

La exposición crónica a la radiación solar puede ocasionar elastosis actínica. La elastosis actínica se caracteriza por presentar cambios de color y textura de la piel, inducidos por el efecto acumulativo de las radiaciones ultravioleta. Afecta a áreas fotoexpuestas como la cara, cuello, antebrazos y dorso de las manos. En la porción cutánea del labio puede ocasionar queilitis actínica con la posterior progresión a carcinoma de células escamosas.<sup>6,8,11,18</sup>

En la piel no expuesta a la radiación solar, la dermis papilar pierde gradualmente tejido elástico con la edad; sin embargo a la piel expuesta a la radiación hay una

capa de fibras elásticas de color azul-grisáceo (elastosis) justo debajo de la dermis.<sup>6,10,11</sup>

Existen distintas formas clínicas de los cambios inducidos por el sol:

1. Elastoma difuso de Dubreuil.
2. Cuadros en las distintas zonas a) cuello: cutis romboidal de la nuca. b) Orbita: Elastoidosis senil a quistes y comedones de Favre-Racouchot. c) Extremidades superiores: pseudocicatrices estelares espontaneas. Púrpura senil de Bateman.

La afectación difusa de la cara (frente, mejillas) y zonas laterales del cuello con piel de tonalidad amarillento-anaranjada, arrugas marcadas y descolgamiento se ha denominado elastoma difuso de Dubreuilh. En la cara posterior del cuello las arrugas pueden ser más marcadas y presentar líneas que dibujan la llamada cutis romboidal de la nuca. En la zona orbitaria (nariz, zonas zigomáticas y temporales), es frecuente la formación de lesiones comedonianas y quísticas conocido como elastoidosis senil a quistes y comedones de Favre-Racouchot.<sup>8</sup>

Histológicamente se caracteriza por agregados gruesos, ondulados, fibras elásticas entrelazadas, mezcladas con áreas amorfas de colágeno degenerado. En los casos leves a moderados los cambios elastósicos se limitan a la dermis superficial y media, observándose abundantes fibras elásticas, con relativo cambio elastósico del colágeno en la dermis papilar; y en los casos severos la dermis papilar y reticular están remplazadas por fibras elásticas engrosadas y serpentiginosas, que confluyen formando masas amorfas basófilas, dejando una pequeña banda de colágeno normal debajo de la dermis. Focos de agregados de fibras elastósicas usualmente se tiñen de color plata. En el síndrome de Favre-Racouchot además de presentar una elastosis intensa, se observan comedones y folículos pilosebáceos dilatados, que contienen detritus de queratina, las glándulas sebáceas se encuentran atróficas. Los grados de elastosis han mostrado una correlación con la relativa cantidad de radiación UV a la cual la piel ha sido expuesta. Por lo tanto un signo objetivo del daño solar crónico puede ser la observación histológica de elastosis solar en la dermis. Corbalán-Vélez evaluaron

la elastosis como un signo de daño crónico por radiación solar; midiendo la intensidad y profundidad de la elastosis en carcinomas espinocelulares. En una muestra de 222 carcinomas espinocelulares encontraron en el 82% la presencia de elastosis, en 87 casos se observó en la dermis reticular y en 95 en la dermis reticular profunda. Encontrando significancia estadística entre la profundidad de la elastosis con la edad y sexo femenino. Concluyendo que la presencia de elastosis podría ser un indicador de daño solar severo crónico; sin embargo no se podría considerar como único factor; ya que existen otros factores como el tabaco y alcohol que pueden influir en la carcinogénesis.<sup>7,8</sup>

#### **4.2 Otros factores de riesgo.**

##### **Tabaco.**

Se considera a cualquier preparación derivada de las hojas de las plantas del genero Nicotiana y representa el principal factor de riesgo para el desarrollo de la mayoría de los cánceres en todo el mundo. Su forma de consumo principal es en cigarrillos, puros o pipas. El humo del tabaco contiene más de 60 carcinógenos conocidos, entre los que se destacan los hidrocarburos aromáticos policíclicos como benzopireno y benzantraceno, las nitrosaminas específicas del tabaco-4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridilo)-1-butanona (NNK) y N-nitrosornicotina (NNN), aminas aromáticas y aldehídos, como formaldehídos o acetaldehído, además de metales como el arsénico o el plomo. El consumo de tabaco está asociado principalmente a: cáncer oral, de faringe, laringe, pulmón, esófago, estómago, hígado, páncreas, medula ósea, uréteres y vejiga. En la cavidad bucal excepto los labios, es el principal factor de riesgo para el desarrollo de lesiones premalignas y de carcinomas. Los fumadores poseen un riesgo de 2 a 13 veces más alto de desarrollar un cáncer oral que los no fumadores. Este riesgo depende del número de cigarrillos diarios, aumentando significativamente con la cantidad, duración del hábito y el inicio a temprana edad. El riesgo aumenta cuando el consumo de cigarrillos es mayor a 20 al día, cuando se inicia con el hábito antes de los 15 años de edad y al fumar puro o pipas. También el tabaco negro aumenta más el riesgo

que el tabaco rubio. La eliminación o reducción del consumo de tabaco contribuye a la resolución de algunas de las lesiones premalignas de la cavidad oral. Para lograr la disminución del riesgo relativo se debe eliminar el consumo de tabaco por más de 10 años.<sup>1,2,3,9,13,18,21</sup>

**Alcohol.** El alcohol puede ser carcinogénico por varios mecanismos: puede actuar como disolvente facilitando el paso de los carcinógenos a través de las membranas celulares, también el etanol aumenta la actividad metabolizante del hígado y por lo tanto, puede activar determinadas sustancias carcinogénicas. También el etanol produce alteración del metabolismo intracelular de las células epiteliales que puede ser agravada por déficits nutricionales, finalmente también puede provocar una irritación local.<sup>9</sup>

Uno de los mecanismos más importantes por el cual el alcohol puede suponer un mayor riesgo de padecer cáncer oral es por su oxidación a un carcinógeno reconocido, el acetaldehído. Aunque la mayor parte del metabolismo del alcohol tiene lugar en el hígado, se ha demostrado que también existe un metabolismo extra-hepático en la que participa la mucosa oral. Existe evidencia en algunos países que el aumento de la incidencia de cáncer oral en jóvenes ha sido por el aumento del consumo de alcohol. También se ha encontrado que el riesgo de padecer cáncer de cabeza y cuello puede disminuir 40% después de 20 años de haber dejado el consumo.<sup>1,2,3,9,13,18,21</sup>

**Tabaco + Alcohol.** La conjunción de ambos factores contribuye a incrementar la incidencia de varias neoplasias, especialmente de cabeza y cuello, los grandes bebedores y fumadores tienen 38 veces más riesgo que los que se abstienen de ambos productos. Fumar aumenta la carga de acetaldehído consiguiente al consumo alcohol, y beber alcohol aumenta la activación de los pro-carcinógenos presentes en el tabaco. El alcohol y el tabaco tienen un efecto sinérgico y estos factores de riesgo a menudo coexisten como estilos de vida. Se estima que el riesgo de padecer cáncer oral atribuible al consumo de alcohol y tabaco es del 80%.<sup>1,2,3,9,13,18,21</sup>



**Dieta.** Diversos estudios epidemiológicos han demostrado una relación inversa entre el consumo de frutas y verduras, y el riesgo de padecer cáncer oral. Este efecto se atribuye a varios micronutrientes como los flavonoides, otros polifenoles y la fibra. Como ejemplo se ha demostrado que la dieta mediterránea está asociada con un bajo nivel de riesgo de padecer cáncer oral.<sup>1,2,3,9,13,18,21</sup>

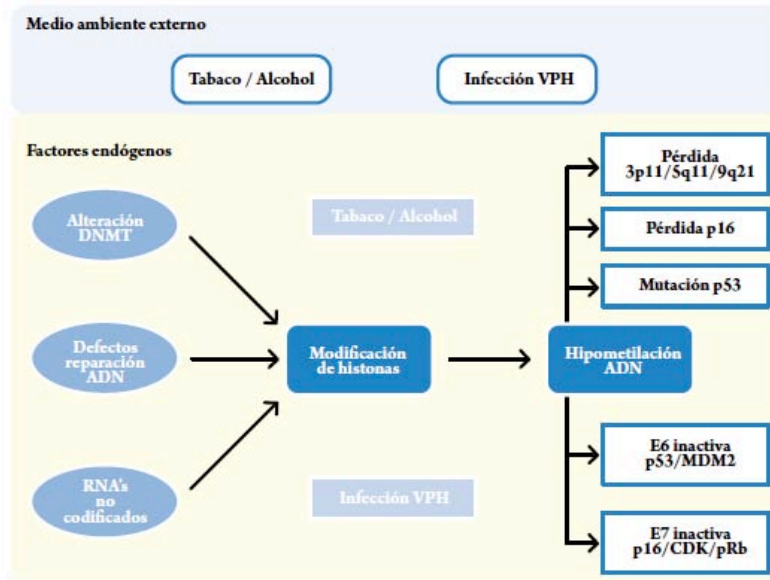
**Virus de Papiloma Humano (VPH).** Actualmente se considera un factor carcinogénico de la cavidad bucal y orofaríngea, como lo ha reconocido la Agencia Internacional para la investigación sobre el Cáncer (IARC).<sup>1,2,3,9,13,18,21</sup>

Se conocen más de 100 subtipos de VPH. En la cavidad oral, se han aislado los genotipos VPH-6, 11, 16, 18, 31, 33 y 42. Su prevalencia ha sido confirmada en lesiones benignas y malignas mediante diversas técnicas moleculares, siendo la técnica de detección más sensible el PCR.<sup>1,2,3,9,13,18,21</sup>

En el cáncer oral se consideran VPH de alto riesgo a los genotipos 16 y 18, ya que se consideran que tienen un papel importante en la carcinogénesis y la progresión del tumor, predominantemente a través de la acción de los oncogenes virales E6 y E7. Sin embargo estudios mencionan que los genotipos de alto riesgo de VPH en el Carcinoma de células escamosas de cavidad oral es muy bajo, inferior al 2%. Hasta el momento existe poca evidencia para sugerir que el CCE de cavidad oral este asociado con los tipos de alto riesgo de VPH.<sup>1,2,3,9,13,18,21</sup>

Existe una fuerte asociación del VPH con el CCE orofaríngeo y se considera que es debido a su microentorno único formado por la mucosa especializada y la mucosa asociada al tejido linfoide, que comprende las amígdalas faríngeas y la amígdala lingual. Este tejido linfoide facilitaría la infección de los queratinocitos basales del epitelio reticulado por VPH-16 y 18, lo que facilitaría una infección persistente, expresión estable de oncoproteínas y transformación a un carcinoma.

Mientras que en la cavidad oral no existe tejido linfóide asociado a mucosas, lo que justificaría la baja prevalencia por VPH.<sup>1,2,3,9,13,18,21</sup>



**Figura 3.** Mecanismos de alteraciones genéticas y epigenéticas del cáncer oral. Tomada de García-Cuellar, 2009.

## 5. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE LABIO

En el año 1923 fue la primera vez en que se relacionó el cáncer de labio a la exposición de la luz solar, particularmente en personas con piel delgada.<sup>10</sup> El cáncer de cabeza y cuello representa el 10% de todos los tumores malignos y aproximadamente el 40% de ellos corresponde a cáncer oral.<sup>10,11,21</sup> Así el CCEL corresponde entre 25% a 30%. De ellos el que tiene una mayor relevancia por su frecuencia es el carcinoma de células escamosas (CCE). A nivel mundial más de 300,000 nuevos casos de CCE son diagnosticados cada año, esta neoplasia representa 90% del cáncer oral.<sup>11</sup> Se desarrolla en la mayoría de los casos de lesiones leucoplásicas o eritroplásicas asintomáticas, que pueden ser placas, lesiones nodulares de consistencia firme o lesiones ulceradas. El cáncer oral se

estudia de acuerdo a la región anatómica, debido a que el comportamiento biológico, el pronóstico y el tratamiento varían de acuerdo a la ubicación, por lo que para su estudio deben ser utilizados diferentes criterios. En el labio inferior el cáncer puede ir precedido de QA con apariencia de una leucoplasia.<sup>12</sup> Es 20 veces más frecuente en el labio inferior que en el superior. Específicamente para el CCEL su prevalencia es mayor en hombres, en una razón 6:1 en relación a las mujeres y con daños primarios en personas mayores a 50 años, con piel clara y con profesiones, oficios o actividades que se relacionan a la exposición solar crónica. Es poco común en personas jóvenes, aunque ha sido observado en este grupo cuando presentan trasplantes de riñón o infectados con VIH (virus de inmunodeficiencia adquirida).<sup>11, 13.</sup> Cuando es diagnosticado en un estadio temprano tiene una curación de un 80% a 90% y una mortalidad de entre el 10% y 15%. Del 11% al 18% de los casos en estadio avanzado con metástasis la sobrevivencia de 5 años será en 25%.<sup>11, 13, 14, 15</sup>

## **6. PERFIL DEMOGRÁFICO DEL CÁNCER DE LABIO**

La incidencia de cáncer asociado a la radiación solar ha aumentado significativamente en la última década en las ciudades cercanas al agujero de la capa de ozono en la Antártica; así como en Chile.<sup>16, 17</sup> El ministro de salud de Brasil estimó 14,120 nuevos casos de cáncer en el país en 2010, con 10,330 casos en hombres. Siendo este el país con mayor número de casos reportados de QA y CCEL.<sup>11</sup> Un estudio epidemiológico en la ciudad de Sao Paulo mostró que la incidencia del carcinoma de células escamosas es de 20.88 por 100,000 habitantes (33.25 por 100,000 en hombres y 9.59 por 100,000 en mujeres). Con una incidencia en el labio de 3.2 por 100,000 habitantes.<sup>11</sup> Un estimado de 3500 nuevos casos de cáncer de labio es diagnosticado cada año en los Estados Unidos.<sup>10</sup>

## 7. CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE LABIO

El borde bermellón del labio inferior es el más afectado en un 95% en el tercio medio. Presentando con aspecto costroso, a veces ulcerado, con bordes indurados y puede tener un aspecto hemorrágico.<sup>18</sup>

El principal signo al momento del diagnóstico es la ulceración la cual puede presentarse de tres formas clínicas: **endofítica** con la presencia de una úlcera irregular con bordes evertidos y fondo sucio; **exofítico** de crecimiento tumoral vegetante, irregular e indurado a la palpación y **tipo mixto** formado por asociación de las dos patrones anteriores.<sup>18</sup> El aspecto de la mucosa adyacente se observa con cambios característicos de la QA, con disminución leve del ancho labial, límite mucocutáneo difuso y de coloración pálida. En la mucosa labial se pueden observar zonas leucoplásicas, especialmente en individuos con el hábito de masticar tabaco.<sup>19</sup>

## 8. LESIONES PREMALIGNAS

El CCE puede desarrollarse in “Novo” o siguiendo la secuencia de estado precanceroso-carcinoma.<sup>18</sup> Aproximadamente el 50% de los CCE se desarrollan sobre un epitelio previamente alterado. La OMS define como *lesión precancerosa* a un tejido morfológicamente alterado en la cual la aparición de cáncer es más probable que en su homólogo normal. Y una *condición precancerosa* es un estado sistémico generalizado que predispone a un riesgo mayor de padecer cáncer.<sup>18</sup>

Las **lesiones precancerosas** clínicamente corresponden a la leucoplasia, Eritroplasia, **queilitis actínica** y palatitis nicotínica; histológicamente pueden corresponder a displasia epitelial, carcinoma in situ o CCE invasor. Las **condiciones precancerosas** son: liquen plano, disfagia sideropénica, fibrosis oral submucosa, sífilis, lupus eritematoso discoide, xeroderma pigmentoso, inmunosupresión, epidermolisis bullosa y disqueratosis congénita.<sup>18</sup>

El potencial de malignización de estos estados llamados potencialmente cancerosos viene determinado por la presencia de displasia epitelial.<sup>18</sup>

## 9. QUEILITIS ACTÍNICA

La QA se define como un proceso crónico inflamatorio que afecta el labio inferior en un 95% con respecto al labio superior. Es causada por la exposición crónica a la luz solar o radiación ultravioleta artificial. Y es considerada una lesión potencialmente maligna de alta morbilidad de la cual se puede desarrollar un CCE.<sup>11</sup> El riesgo reportado de que una QA progrese a un carcinoma de células escamosas varía del 1% a 36% en un intervalo de 1 a 30 años de exposición solar. La metástasis en carcinoma es de 0.5% a 3%.<sup>14, 20</sup> Por lo que esta lesión es considerada precursora de carcinoma de labio.<sup>16, 21, 22, 33</sup> En la queilitis actínica como en otras lesiones orales el principal factor predictivo de malignidad es la severidad de la displasia epitelial.<sup>23</sup> La QA se caracteriza por alteraciones del epitelio y tejido conectivo con desarreglo de la arquitectura y morfología de los queratinocitos, inflamación y elastosis solar.<sup>17</sup> Además se ha encontrado un incremento en el número de células cebadas en la lámina propia comparada con un labio normal.<sup>16, 21, 22</sup> Es importante mencionar que las dos lesiones, la queilitis actínica y el carcinoma de células escamosas de labio comparten el mismo agente etiológico desencadenante, la radiación ultravioleta (UV). El proceso de carcinogénesis inducido por la radiación UV no está aún bien entendido, pero es bien conocido que la radiación UV promueve daños en el ADN conduciendo a mutaciones en los genes.<sup>24</sup>

Los rayos UVB son los responsables de causar la combustión superficial de la piel que conduce a quemaduras, y los principales responsables de inducir cambios en el labio. La epidermis de la piel proporciona una cierta protección natural contra los efectos dañinos de la radiación UV. Aproximadamente del 5% a 10% de la radiación UV es reflejada desde la piel, pero el 70% es absorbida. Cuanta más gruesa es la epidermis y más alto el nivel de melanina, mayor es la capacidad de absorber la radiación UV sin daño para las células epiteliales. Sin embargo el

labio, como submucosa, tiene menor protección que la piel por presentar su epitelio más delgado debido a que usualmente las capas de queratina que lo cubren son más delgadas que las de la piel, tienen menos melanina.<sup>10, 25, 26</sup>

La incidencia de la radiación UV en el mundo se ha ido incrementando progresivamente, considerándose el primer factor que induce cambios en las células y tejidos que conforman el labio inferior por su intensa absorción por los ácidos nucleicos. El mayor daño es causado por los rayos UVB que provoca cambios en la transcripción, alterando la información genética y bloqueando el mecanismo de replicación del ADN, el cual molecularmente inhibe la actividad mitótica manifestándose clínicamente como atrofia del epitelio y reducción de la capacidad fotoprotectora del labio.<sup>11, 27</sup>

Aunque la radiación solar es el factor de riesgo más importante para desarrollar lesiones en el labio, no es el único factor. Otros son el hábito tabáquico, abuso de alcohol, virus de papiloma humano, raza, predisposición familiar y genética, estados de inmunosupresión, dieta pobre en proteínas y situación socioeconómica.<sup>11, 14, 25, 28, 29</sup>

Los pacientes que presentan queilitis refieren una sensación de tener el “labio estirado”.<sup>26</sup>

Las principales características de la queilitis actínica son: Atrofia del borde bermellón, eliminación de la línea mucocutánea, áreas con textura áspera y escamosa, adelgazamiento de la mucosa principalmente en el bermellón húmedo, áreas blanquecinas, ulceración focal ocasional y son asintomáticas. También podemos encontrar episodios de exacerbación aguda seguidos por periodos de remisión de los signos y síntomas.<sup>11, 14</sup>

El diagnóstico clínico se apoya en el estudio histopatológico, por medio de una biopsia incisional o excisional.

Las características histológicas principales son: alteraciones a nivel epitelial y en tejido conectivo. El epitelio puede presentar acantosis o cambios displásicos. Por lo que en la QA podemos encontrar diferentes grados de displasia epitelial con atipia celular; con frecuencia esta atipia puede ser reactiva a respuestas inflamatorias severas o que una QA esté sufriendo transformación maligna.<sup>10, 11</sup>

En la QA el tejido conjuntivo se caracteriza por presentar una respuesta inflamatoria con degeneración basofílica del colágeno o elastosis el cual es uno de los hallazgos característicos de esta lesión. Siendo este un signo objetivo del daño solar. Las regiones de cambio basofílico usualmente tienen vasos sanguíneos dilatados.<sup>10,11</sup>

Pimentel y cols. estudiaron las características histológicas de la QA y CCEL para evaluar la susceptibilidad de transformación maligna, encontrando que el hallazgo más común de la QA fue la atipia epitelial, por lo que descartando que la atipia por si misma sea un indicador de malignidad. También sugiere que aunque la elastosis refleja el daño solar para el tejido, no es predictivo de la evolución a un CCEL. El infiltrado inflamatorio puede ser una respuesta inmunológica contra la invasión maligna.<sup>23</sup> Berhane y cols. estudiaron 50 pacientes con queratosis actínica y CCE de piel y encontraron que la inflamación se asocia con la progresión de la queratosis actínica a CCE de piel.<sup>30</sup>

Las células neoplásicas presentan variaciones a las cuales se les llaman heterotipia. No todas las características de heterotipia se hallan en todas las células o en todas las neoplasias malignas. Estos cambios morfológicos sugestivos de malignidad son:

**Pleomorfismo:** Son grandes diferencias entre la proporción volumen/forma.

**Hipercromatismo:** Esto indica que puede haber más cantidad (tetraploides) o menos de ADN (aneuploide).

**Aumento en la relación núcleo/citoplasma:** Las células normales tienen una relación núcleo/citoplasma 1:4. Mientras que las tumorales, al igual que en las células jóvenes sanas, la relación es de 1:1.

**Aumento del tamaño del nucléolo:** Por incremento en la actividad metabólica de la célula.

**Mitosis aumentadas y atípicas:** También puede ser que las mitosis sean más lentas y; por tanto, se vean más. Las mitosis atípicas son casi específicas de cada neoplasia.<sup>31</sup>

Los términos *diferenciación* y *anaplasia* son válidos para las células parenquimatosas de las neoplasias. La *diferenciación* se refiere a la medida en que las células neoplásicas se parecen a las células normales, tanto morfológica como funcionalmente. La *anaplasia* o falta de diferenciación se caracteriza por estar constituida por cierto número de alteraciones morfológicas y funcionales; además, tanto las células como sus núcleos muestran característicamente pleomorfismo, variabilidad del tamaño y forma. De manera característica los núcleos contienen abundante ADN y se tiñen de un tono muy oscuro y también son muy grandes. La relación núcleo/citoplasma puede acercarse a 1:1, la forma nuclear muy variable y la cromatina suele formar grumos y se distribuye a lo largo de la membrana nuclear en cuyos casos se ven nucléolos prominentes.<sup>31</sup>

El término displasia se utiliza para describir una proliferación desordenada. La displasia se describe en general para indicar cambios morfológicos principalmente en los epitelios y se define como pérdida de uniformidad de las células individuales, así como pérdida de su orientación arquitectónica. Las células displásicas muestran pleomorfismo y con frecuencia poseen núcleos teñidos de manera intensa y grandes para el tamaño de la célula.<sup>31</sup>



Cuando las células presentan todas las características de la anaplasia y afectan todo el espesor del epitelio, pero no han atravesado la membrana basal, se considera una neoplasia pre-invasora, denominada carcinoma *in situ* o carcinoma *intraepitelial*.<sup>31</sup>

La OMS define criterios específicos para el diagnóstico de la displasia, basándose en la arquitectura del epitelio y su citología.<sup>31</sup>

Dentro de los *arquitecturales* están la estratificación irregular del epitelio, pérdida de polaridad de las células basales, crestas interpapilares delgadas y alargadas, aumento en el número de mitosis, mitosis en capas superficiales, queratinización individual (disqueratosis) y globos córneos dentro de las crestas interpapilares.<sup>31</sup>

En los *citológicos* se evalúan la variación anormal del tamaño y forma nuclear, variación anómala y anormal del tamaño celular, aumento en la proporción núcleo/citoplasma, aumento en el tamaño nuclear, figuras de mitosis atípicas y aumento del tamaño y número de los nucléolos e hiperchromasia.<sup>31</sup>

Tomando en cuenta el número de criterios presentes, la displasia epitelial se clasifica en leve, moderada y severa. Siendo *leve* cuando presenta 2 criterios arquitecturales y 3 citológicos, *moderada* con 4 criterios arquitecturales y 6 citológicos y *severa* cuando se presenta 6 arquitecturales y 8 citológicos.<sup>31</sup>

Se ha demostrado que carcinomas del mismo sitio, tipo histológico y etapa de diseminación tienen diferente comportamiento, lo que está con el grado de anaplasia del tumor primario. Por lo que **Broders** clasificó los carcinomas escamosos en cuatro grados, según la proporción de células anaplásicas que tuvieran cada uno.<sup>31</sup>

Grado 1: no más de 25% de las células son inmaduras.

Grado 2: de 25 a 50% de las células son inmaduras.

Grado 3: de 50% a 75% de las células son inmaduras.

Grado 4: más de 75% de las células son inmaduras.<sup>31</sup>

La clasificación de **Frente de Invasión Tumoral (FIT)** analiza el frente de invasión tumoral o zona de avance del cáncer hacia los tejidos adyacentes, en base al grado de queratinización, polimorfismo nuclear, patrón de invasión e infiltración linfocitaria otorgando puntuaciones individuales, de 1 a 4 a cada uno de estos elementos morfológicos. Este sistema de graduación de malignidad solamente evalúa las partes más invasivas del tumor. El número obtenido para cada parámetro es sumado y permite tener un rango total de malignidad.<sup>31</sup>

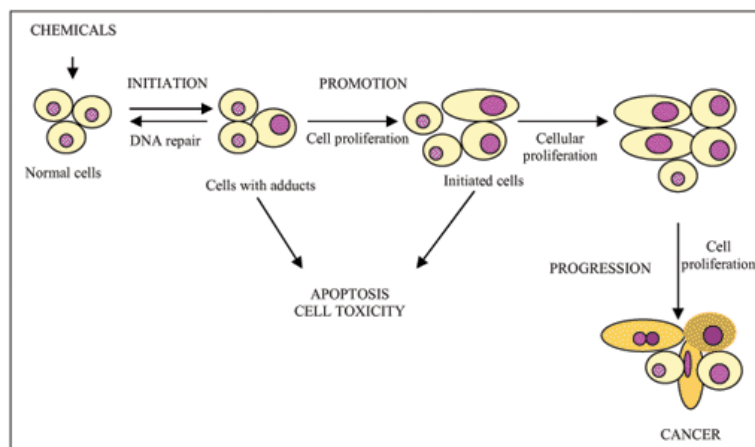
Clínicamente el cáncer es evaluado de acuerdo al sistema **TNM** basado en el tamaño de la lesión primaria, la propagación a los ganglios linfáticos regionales y la presencia o ausencia de metástasis. Se requiere de un examen clínico y estudios radiográficos. La letra T significa tumor primario, N ganglios y M es igual a metástasis. A la letra T se le añade un número del 1 al 4, lo cual indica el tamaño del tumor, a la letra N se agrega la numeración del 0 al 4, el cero indica que no hay ganglios evidentes y así progresivamente hasta el 4, lo cual significa que existen ganglios contralaterales o ipsilaterales afectados. M solo se designa con 0, que es ausencia y 1 presencia de metástasis.<sup>31</sup>

## 10. CARCINOGENÉISIS

La carcinogénesis es un proceso de múltiples etapas que involucra mutaciones genéticas y alteraciones cromosómicas. Consiste en la transición de un epitelio normal a displasia epitelial dando como resultado cambios malignos, por lo que el cáncer es el resultado de acumulaciones de daño genético y alteraciones epigenéticas, inducidas por una serie de señales químicas, físicas y biológicas durante una o varias fases del ciclo celular provocando modificaciones moleculares y estructurales que alteran el proceso vital de la célula. En la carcinogénesis existe multiplicación y crecimiento anormal e incontrolado de las

células, como consecuencia de múltiples mutaciones y expansión clonal, así las células inducidas por la carcinogénesis son resistentes a la apoptosis.<sup>31</sup>

Las características de las neoplasias malignas es que producen destrucción tanto local como en sitios alejados y trastornos metabólicos generales. La mayoría de las neoplasias malignas son mal diferenciadas debido a la atipia celular, el crecimiento infiltrativo y ocasionalmente la destrucción progresiva, que no permite relacionarlas con los tejidos o células normales.<sup>2</sup> Sin embargo existen neoplasias malignas bien y moderadamente diferenciadas y son aquellas que adquieren el potencial invasor o infiltrativo antes de prescindir de sus características celulares distintivas.<sup>31</sup>



**Figura 4.** Fases de la carcinogénesis. Tomada de Oliveira P, 2007.

## 11. CICLO CELULAR Y CÁNCER

En la génesis del cáncer están involucrados fenómenos complejos, así como la existencia de pasos múltiples caracterizados por alteraciones biomoleculares, en especial las relacionadas con el ciclo celular.

Los acontecimientos moleculares a través de los cuales una célula normal sufre un proceso de transformación maligna no son totalmente claros, pero para que una neoplasia se desarrolle es necesario que se produzca una acumulación de

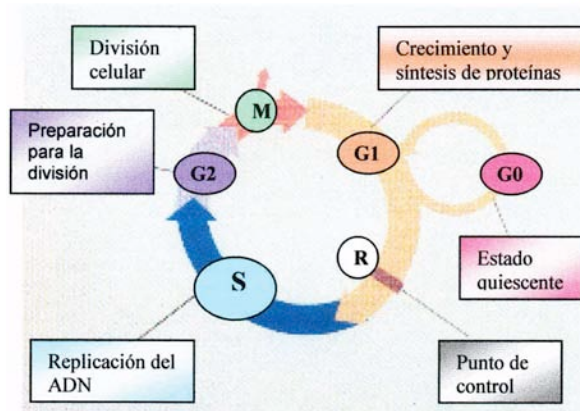
sucesos en el *genoma de las células* que en forma aditiva desencadenen el mecanismo de transformación y la consecuente pérdida del control de la división celular.<sup>31</sup>

Las mutaciones del genoma, a las que se atribuye la enfermedad, son producidas por agentes carcinógenos de diferente naturaleza y características como la radiación UV motivo de este estudio, sin dejar de mencionar la importancia en la génesis del cáncer los errores espontáneos o inducidos en la replicación y reparación del ADN. Hoy en día se conocen como causa del cáncer las mutaciones que afectan a los genes de dos tipos: los protooncogenes y los genes oncosupresores. El concepto de *oncogénesis* se basa en factores que regulan el crecimiento celular y el proceso de diferenciación, con interrelación entre los oncogenes y sus productos proteicos y el papel que desempeñan en la génesis de enfermedades premalignas y malignas.<sup>31</sup>

Como resultado de la mutación, los genes expresan proteínas alteradas, sobreexpresan las normales o no las expresan, modificando funciones básicas de la célula como el control de su división, lo que se manifiesta en una proliferación excesiva y continua o en una reducción de la muerte celular programada.<sup>31</sup>

El ciclo celular es un serie ordenada de procesos que permite a las células crecer, duplicar su material genético, secretar en dos juegos este material duplicado y dividirse para dar origen a dos células hijas con sus mismas características. La regulación del ciclo se ejerce en tres puntos bien definidos que dependen en su conjunto de condiciones ambientales favorables y de la presencia de factores de crecimiento celular.<sup>31</sup>

Los dos puntos de control principal se encuentran en la interfase. En la transición de G1 a S y de G2 a M el tercer punto se localiza en la mitosis y cada punto de control actúa como freno.<sup>31</sup>



**Figura 5.** Muestra las fases del ciclo celular y los puntos de control de G a S (R), de G2 a M.

Tomada de: García V, 2005

El primer punto de control, denominado de restricción, está regulado por las proteínas intracelulares llamadas *ciclinas de G1*, el segundo es controlado por las *ciclinas de G2 o mitóticas* y el tercero se encuentra entre la metafase y la anafase y posiblemente dependa de ciclinas mitóticas. En los puntos de control G1/S y G2 / M intervienen dos tipos de proteínas: las ciclinas y las proteínas cinasas, que se asocian y forman complejos Cdk-ciclina para controlar la actividad del ciclo celular.<sup>31</sup>

La síntesis de y degradación de ciclinas en G1 más la activación del complejo Dck-ciclina y las ciclinas de la fase G2 son mediadas a su vez por proteínas diana que estimulan la progresión del ciclo; además la mutación de *protooncogenes* que codifican estas proteínas estimuladoras y las convierten en oncogenes provocan desregulación del ciclo y las conducen a la proliferación celular excesiva característica del cáncer.<sup>31</sup>

### **Proliferación y muerte celular**

Las células mantienen controlada su capacidad de crecimiento desde la embriogénesis y el desarrollo hasta lo largo de la vida de un individuo, algunas de las cuales presentan proliferación constante mientras otras dejan de dividirse una vez diferenciadas.<sup>31</sup>

En condiciones fisiológicas se requiere una estricta regulación genética para mantener el equilibrio celular de acuerdo con la necesidades de cada tejido, mecanismo que se logra mediante la interacción de dos procesos: la proliferación, regulada por las señales extracelulares y la regulación del ciclo celular, y la apoptosis, mecanismo fisiológico de eliminación de células al final de su vida activa, fenómenos controlados por los protooncogenes y los genes supresores.<sup>31</sup>

### **Genes responsables del cáncer**

Un *protooncogén* codifica una proteína normal relacionada con la proliferación celular y la apoptosis que actúan cuando reciben señales reguladoras específicas, por lo que están presentes en todas las células en condiciones normales. Se nombra *oncogén* a la forma mutada de un gen normal o protooncogén. El oncogén expresa una proteína anormal llamada oncoproteína que se mantiene activa independientemente de las señales reguladoras; por ello los oncogenes son el resultado de una mutación de la función normal del protooncogén. Algunos protooncogenes son:

- Factores estimuladores del crecimiento celular
- Receptores de factores de crecimiento
- Proteínas citoplasmáticas trasductoras de señales.
- Factores de transcripción
- Proteínas responsables de la activación del ciclo celular.<sup>31</sup>

El *oncogén supresor* en condiciones normales codifica para una proteína normal denominada proteína *oncoprecursora* o *antioncogénica* que al actuar impide la proliferación o induce la apoptosis. Cuando la mutación de uno de estos genes conduce a la síntesis de una proteína no funcional, la proliferación deja de estar controlada o la apoptosis no se lleva a cabo.<sup>31</sup>

Los genes oncosupresores codifican proteínas que actúan en distintos puntos de las rutas de señalización, del control del ciclo celular y de la apoptosis. Entre estos genes se encuentran: Factores inhibidores de crecimiento celular, receptores de factores inhibidores o de hormonas que frenan el ciclo celular, proteínas citoplasmáticas que intervienen en los sistemas de transducción de señales, factores de transcripción y proteínas que frenan el ciclo celular o producen apoptosis.<sup>31</sup>

### **Control de proliferación celular**

El mecanismo de control de la proliferación celular se lleva a cabo por medio de señales de moléculas externas que activan moléculas intracelulares y desencadenan la regulación del ciclo celular por medio de un fenómeno llamado "*transducción*". Las señales que estimulan la actividad del ciclo celular se conocen como positivas o estimuladoras, las que presentan efecto puesto se llaman negativas o inhibidoras, entre las que se encuentran: los factores de crecimiento, hormonas y los neurotransmisores, denominadas en conjunto *moléculas señal*.<sup>31</sup>

### **Inhibición del ciclo celular**

La regulación del ciclo depende del balance entre los estímulos positivos y negativos que lo detienen en los tres puntos de control (G1/S, G2/M y M) con el fin de asegurar la correcta preparación de la célula para su división.<sup>31</sup>

El desarrollo del cáncer por alteración en el control negativo corresponde a *genes supresores de tumores* cuya función es frenar el ciclo celular y al mutarse dejan de hacerlo, por lo que la célula replica su ADN y comienza a dividirse con la subsecuente proliferación de la célula mutada. Los genes supresores de tumor mejor conocidos como Rb y p53.<sup>31</sup>

El gen p53 está relacionado con el control del ciclo celular mientras que su proteína normal sintetizada induce apoptosis y actúa como freno en el punto de control G1/S, y su concentración en células normales es baja y se incrementa cuando existe ADN dañado. Su forma fosforilada regula la expresión de algunos genes y reprime otros. Su función normal es la de frenar el ciclo celular y evita que la célula replique su ADN dañado y que posiblemente participe en su reparación. Su mutación conduce a una falta de control en el punto G1/S, con reducción de la apoptosis, lo cual da como resultado una proliferación celular descontrolada.<sup>31</sup>

## 12. APOPTOSIS

La apoptosis también llamada muerte celular programada o suicidio celular, es un proceso fisiológico controlado genéticamente, en el cual las células dañadas o que han cumplido su ciclo vital activan mecanismos que conducen a su propia muerte, se caracteriza por cambios morfológicos y bioquímicos irreversibles, con cambios citoplasmáticos y nucleares que provocan la autodestrucción activa de las células aisladas o pequeños grupos sin afectar células vecinas.<sup>31</sup>

La célula muerta se elimina rápidamente, antes de que su contenido sea liberado y por lo tanto la muerte celular por esta vía no suscita una reacción inflamatoria en el huésped.<sup>32</sup>

Ocurre normalmente en diferentes situaciones y sirve para eliminar células indeseadas o potencialmente dañinas y las células que ya no son útiles. Es un acontecimiento patológico cuando las células están dañadas sin remisión, especialmente cuando se afecta su ADN.<sup>32</sup>

En el cáncer se considera que la célula maligna tiene una proliferación incontrolada debido a la suma de la activación de la proliferación y el bloqueo de la apoptosis.<sup>31</sup>



## **Proteínas de la familia Bcl-2 (Bax y Bcl-2)**

Las proteínas de la familia de Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) son indispensables para que se lleve a cabo el proceso de apoptosis. El miembro prototipo de esta familia es Bcl-2 un acrónimo del linfoma de células B que fue descubierto por primera vez en el punto de interrupción de la t(14;18) en un linfoma folicular de células B No Hodgking. En esta translocación, el gen Bcl-2 es movido de su localización normal 18q21 en proximidad con elementos potentes en la cadena pesada de la inmunoglobulina (IgH) locus 14q32. La familia de Bcl-2 se compone de dos grupos opuestos de proteínas: antagonistas de muerte (Bcl-2, Bcl-x<sub>L</sub>, Bcl-w, Bfl-1, Brag-1, Mcl-1 y A-1) y agonistas de muerte (BAx, Bak, Bcl-X<sub>s</sub>, BAd, Bid y Hrk).<sup>33</sup> Estos difieren en sus patrones de activación y localización en el tejido así como en su estructura. Las proteínas codificadas por la familia de Bcl-2 están localizadas en membrana externa mitocondrial, en la membrana nuclear y en el retículo endoplásmico. Los productos de esta familia de genes se dividen en 2 BH1 y BH2 (Homólogos de Bcl 1 y 2), que regulan la heterodimerización entre los antagonistas así como Bcl-2 y los agonistas de muerte como Bax (bcl-2 associated X protein). La muerte celular esta inducida por esta familia de genes a través de dimerización. Por ejemplo si el nivel de la proteína Bcl-2, la cual inhibe la apoptosis, es más alto que la que induce la muerte como Bax, las células son protegidas. Por el otro lado si Bax aumenta el efecto opuesto ocurre y las células son susceptibles a la apoptosis. Entonces el radio (o nivel de expresión) de las proteínas que protegen o inducen la muerte celular determina el destino de la célula.<sup>34</sup>

## **Proteína p53**

Esta proteína es un gen supresor de tumores que se encuentra en el brazo corto del cromosoma 17 y está encargada del mantenimiento de la integridad genómica<sup>28,33</sup> bloqueando el paso de la célula dañada en su ADN de G1 a la fase S y activa la apoptosis a través de una baja regulación de bcl-2.<sup>21, 22, 29, 35</sup>

En la mayoría de los carcinomas, incluyendo el carcinoma de células escamosas, queratosis actínica y carcinomas de piel, el p53 ha sido encontrado sobre-expresado.<sup>17, 21, 27, 36</sup>

### **Mecanismo de la apoptosis**

El proceso de apoptosis puede dividirse en *fase inicial*, durante la cual las caspasas (proteasas cisteínicas con capacidad de escindir proteínas rompiendo el armazón nuclear y el citoesqueleto, activando las DNAsas que degradan el ADN) se hacen catalíticamente activas y la *fase de ejecución* donde esas enzimas actúan produciendo muerte celular.<sup>35</sup>

La **iniciación** de la apoptosis ocurre principalmente por señales procedentes de dos vías distintas pero convergentes: la vía extrínseca o iniciada en el receptor y la intrínseca o mitocondrial. Ambas vías convergen en la activación de caspasas.<sup>32</sup>

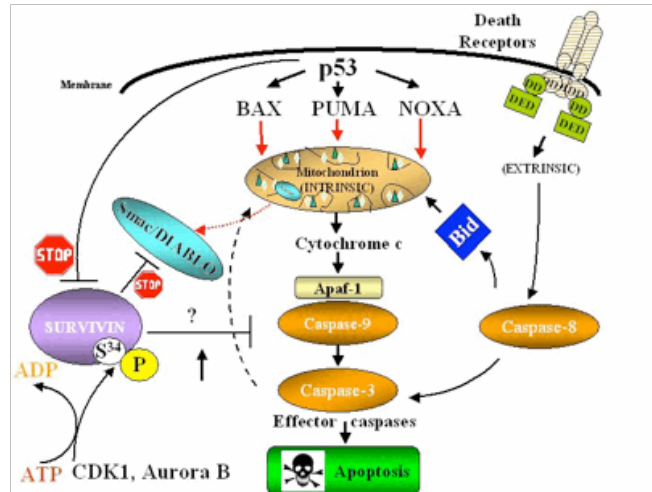
En la fase de **ejecución** está mediada por una cascada proteolítica. Las proteasas que median esta fase pertenecen a la familia de la caspasa. Son homólogas en mamíferos del gen ced-3 de *C elegans*. El término caspasa se basa en dos propiedades de esta familia de enzimas: “c” que se refiere a proteasa cisteínica (enzima con cisteína en su sitio activo) y “aspasa” se refiere a la capacidad de estas enzimas a escindir a residuos de ácido aspártico. Estas caspasas pueden dividirse en dos grupos básicos: iniciador y ejecutor. Las iniciadoras incluyen a las caspasa-8 y caspasa-9. Y ejecutoras como caspasa-3 y caspasa-6.<sup>32</sup>

### **Vías de la apoptosis**

La Vía extrínseca (receptor): Esta vía inicia por la implicación de un receptor de muerte de la superficie celular. Estos receptores son familia del receptor del factor de necrosis tumoral que contiene un dominio citoplasmático implicado en las interacciones proteína-proteína que se denomina *dominio de muerte*; ya que su

papel es esencial para mandar señales apoptóticas. Estos receptores de muerte más conocidos son el receptor TNF de tipo 1 (TNFR1) y una proteína llamada Fas (CD95), entre otros. Cuando el receptor Fas se une a su ligando FasL que se encuentra unido a la membrana, se adhieren tres o más moléculas de Fas para conformar un dominio de muerte denominado FADD (*Fas-associated death domain*). Este dominio FADD se une a los receptores de muerte y a una forma inactiva de la caspasa-8 también a través de un dominio de muerte. Muchas moléculas procaspasa-8 se aproximan y se escinden unas con otras para formar su forma activa. Esta vía puede inhibirse por una proteína llamada FLIP (FLICE-like inhibitory protein) que se une a la procaspasa-8 y evita que puede ser escindida.<sup>32</sup>

La vía intrínseca (mitocondrial): Es resultado del aumento de la permeabilidad mitocondrial y liberación de proteína proapoptóticas al citoplasma sin intervención de receptores de muerte. La familia de proteínas Bcl-2 se libera en esta vía y se encargan de inhibir la apoptosis. Las *antiapoptóticas principales son Bcl-2 y Bcl-x*. Cuando las células no reciben señales de supervivencia se liberan proteínas *proapoptóticas de la misma familia tales como Bak, Bax y Bim*. Cuando disminuye Bcl-2 y Bcl-x, la permeabilidad de la mitocondria aumenta y se liberan proteínas capaces de activar de la cascada de las caspasas. Una de estas proteínas es el “citocromo C” que se une a una proteína denominada Apaf-1 (*apoptosis activating factor-1*) y activa a la caspasa-9. Otras proteínas como el factor inductor de apoptosis (AIF), penetran en el citoplasma donde se unen y neutralizan, a diversos inhibidores de la apoptosis, cuya función normal es bloquear las caspasas. Esta vía es un equilibrio entre las moléculas proapoptóticas y protectoras que regulan la permeabilidad mitocondrial y la liberación de inductores de muerte que están normalmente secuestrados dentro de la mitocondria.<sup>32</sup>



**Figura 6:** Muestra la vía intrínseca y extrínseca de la apoptosis

Tomada de: Węsierska-Gądek, 2007

## Evasión de la apoptosis

La supervivencia de las células está condicionada por genes que facilitan e inhiben la apoptosis. Por lo tanto la acumulación de células neoplásicas puede ocurrir no solamente por la activación de oncogenes o la inactivación de genes supresores tumorales, sino también por mutaciones de genes que regulan la apoptosis tanto en las células normales como en las cancerosas. La eliminación del control normal de Bcl-2 da lugar al aumento de la transcripción y la sobreexpresión de la proteína Bcl-2 y por lo tanto permite la supervivencia de las células malignas y su proliferación incontrolada.<sup>32</sup>

Al menos existen otros dos genes asociados con cáncer y conectados íntimamente con la apoptosis: *p53* y *MYC*. Los mecanismos de muerte de estos dos genes confluyen con las vías de Bcl-2. El gen *p53* aumenta la transcripción de genes proapoptóticos tales como Bax. La falta de actividad de *p53* producida por mutaciones, disminuye la transcripción del gen proapoptótico Bax, reduce la actividad apoptótica. Estudios han demostrado que la expresión de Bax es necesaria para la respuesta apoptótica inducida por *p53*. Los genes Bcl-2 y *MYC* pueden colaborar en la génesis tumoral. *MYC* desencadena la proliferación y Bcl-2 evita la muerte celular.<sup>32</sup>

### 13. ANÁLISIS INMUNOHISTOQUÍMICO

El análisis inmunohistoquímico de las proteínas reguladoras del ciclo celular ha sido usado para distinguir neoplasias malignas de lesiones reactivas.<sup>21</sup>

Las proteínas familia Bcl-2 actúan por la vía dimerización proteica y su radio de expresión dentro de las células determina si la apoptosis se detiene o se induce. Por lo tanto altos niveles de Bcl-2 en las células conducen a incrementar los diámetros de Bcl-2 e inhibir la apoptosis; por lo contrario, los bajos niveles de Bcl-2 y altos niveles de Bax promovería la muerte celular.<sup>21</sup>

Se ha reconocido que la radiación UV induce falta de diferenciación de células alteradas por el sol, las cuales son proapoptóticas incrementando la expresión de proteínas como p53 y Bax, y disminuyen la expresión de proteínas anti-apoptóticas como Bcl-2.<sup>21</sup>

Existen pocos estudios de expresión de marcadores de apoptosis en casos de queilitis actínicas, uno de ellos es el de Martínez y cols. quienes realizaron un estudio de casos y controles en 13 casos de QA, 7 labios normales con exposición a radiación solar y 6 de mucosa oral, todos teñidos inmunohistoquímicamente para evaluar la expresión de las proteínas p53, Bax, Bcl-2 y Ki67,<sup>21</sup> encontrando una sobre-expresión de p53 en QA comparada con el labio normal y la mucosa oral con una significancia de  $P < 0.003$ , expresión alta de Bcl-2 en queilitis actínica comparada con la mucosa oral con una significancia de  $P < 0.002$ , observando una pobre expresión de bcl-2 en la QA comparada con el labio normal ( $P < 0.004$ ), permaneciendo bax sin cambios.<sup>21</sup> Con esto demostraron que el rol de P53 en pacientes con QA puede ser el inducir la muerte apoptótica de las células premalignas, encontrando que p53 fue expresado en los queratinocitos basales y no en células diferenciadas, soportando el rol potencial de p53 para la prevención temprana de la carcinogénesis. Cuando se encuentran en la capa suprabasal podría indicar un alto riesgo de transformación maligna en los casos de queilitis

actínica. En este estudio también Bcl-2 fue significativamente menor en la queilitis actínica comparado con un labio normal. Esto sugiere que la radiación UV puede modular la expresión de Bcl-2.<sup>21</sup>

Otro estudio sobre el uso de estos marcadores es de Ravi y cols. quienes investigaron la expresión por inmunohistoquímica de p53 y Bcl-2 en mucosa oral hiperplásica, mucosa oral displásica y cáncer oral invasivo, los pacientes presentaron una historia uniforme de consumo de betel y tabaco. En su estudio encontraron una sobre-expresión de p53 en comparación con Bcl-2 en lesiones leucoplásicas hiperplásicas, sin embargo hallaron una sobre-expresión de ambas en leucoplasias con presencia de displasia y también una mayor expresión de p53 y Bcl-2 en los carcinomas.<sup>37, 38, 39</sup>

Popovic y colaboradores estudiaron la expresión de Bcl-2 en carcinoma de células escamosas de la cavidad oral, en este estudio revisaron 26 series de laminillas fijadas en formalina con diagnóstico de carcinoma de células escamosas, analizaron los tumores de diferentes sitios de la cavidad oral. Midieron la inmunoreactividad de acuerdo al porcentaje e intensidad de la tinción citoplasmática de Bcl-2. Las laminillas fueron clasificadas en estadios II, III y IV. Encontrando que los casos con bajos niveles de Bcl-2 estaban asociados a una alta sobrevivencia (5 años) en un 77%. No encontraron diferencias significativas en la asociación de factores de riesgo y características clínicopatológicas. Sin embargo, con este estudio se puede sugerir que el nivel de expresión de Bcl-2 puede ser un valor predictor del comportamiento tumoral o de una enfermedad.<sup>37, 38, 39</sup>

La sobre expresión de Bcl-2 resulta de una alteración de la muerte celular programada con persistencia de la supervivencia las células. En la proliferación de epitelio normal se expresa en las células madre tales como en las capas basales, donde actúa para prevenir la muerte de la capa regenerativa. La expresión de este marcador se ha encontrado en una fase temprana de la carcinogénesis del epitelio. Bcl-2 se ha expresado principalmente en carcinomas bien diferenciados

de células transicionales, mientras que está ausente en el de alto grado. Esto puede deberse a la pérdida de los mecanismos de la regulación de Bcl-2.<sup>35,43</sup>

La mutación de p53 es común en los carcinomas.<sup>40, 41,42</sup> El epitelio del labio puede estar expuesto a varios carcinógenos que pueden ocasionar la mutación de p53. Ostwald y cols encontraron el factor de riesgo del tabaco estaba asociado en un 83% al carcinoma intraoral y a un 61% en carcinoma de células escamosas de labio.<sup>40</sup>

En estudios previos p53 tuvo una expresión del 80% en carcinomas orales de células escamosas mientras que en labio ha sido reportado un marcaje del 88% lo que indica que este gen juega un papel fundamental en las enfermedades malignas en estas regiones anatómicas.<sup>35, 36</sup>

Se ha demostrado que la mutación de p53 es diferente en carcinomas de células escamosas de labio y los de otros sitios de la cavidad oral. Mientras que en los tumores intraorales los daños en el ADN se dan por tabaco, en el labio se presentan por radiación UV.<sup>41</sup>

La expresión aberrante de este gen a menudo resulta por acumulación en las células afectadas por lo que puede ser detectado con la inmunohistoquímica. Por lo tanto, una tinción positiva de p53 es un indicativo de una mutación de este gen.<sup>23, 36</sup> Las expresiones de p53 probablemente pueden presentarse en una fase temprana de la patogénesis del cáncer de labio y esta expresión pueden estar relacionada a la exposición solar si se observa elastosis en el área peritumoral, por lo que se sugiere dar seguimiento a estas lesiones.<sup>35, 36</sup>

#### **14. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Se han utilizado marcadores para valorar la asociación de lesiones malignas, premalignas y reactivas por medio de técnicas inmunohistoquímicas específicas para proteínas proapoptóticas y anti-apoptóticas que nos permitan entender los múltiples mecanismos que se activan e inhiben durante la regulación del ciclo celular y la apoptosis; orientada específicamente a marcadores apoptóticos con el objetivo de lograr comprender la relación de la promoción o inhibición de la muerte celular en la queilitis actínica y su progresión a carcinoma; por lo que nos planteamos:

¿Existe asociación entre la inmunoexpresión de las proteínas P53, Bcl2 y Bax con la presencia de elastosis en queilitis actínica y carcinoma de células escamosas de labio?

#### **15. JUSTIFICACIÓN**

La queilitis actínica ha sido descrita como precursora del carcinoma de células escamosas en labio; ambas, compartiendo como causa principal la exposición crónica a la luz solar, en específico la radiación ultravioleta que ha ido incrementando progresivamente en todo el mundo; y que se ha convertido en la principal factor que induce cambios en el labio. En el mundo más de 300, 000 casos nuevos de carcinoma de células escamosas son diagnosticados cada año; de los cuales el 90% son orales y de éstos del 25 al 30 % se presentan en el labio. Por lo que en este trabajo consideramos necesario evaluar la activación de los mecanismos que controlan la regulación del ciclo celular y determinar si existe una asociación en la expresión de marcadores de apoptosis y la presencia de daño celular por radiación en ambas lesiones. Con esto posiblemente podremos inferir la posibilidad que tiene la queilitis actínica a progresar a un carcinoma de células escamosas.



## **16. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la expresión de las proteínas p53, Bax proapoptótica y Bcl-2 anti-apoptótica y su asociación con la presencia o ausencia de elastosis en queilitis actínica y carcinoma de células escamosas de labio obtenidos del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” y en el Laboratorio de Patología Bucal Clínica Experimental de la Facultad de Odontología de la UNAM de 1980 a 2013.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Describir las características histopatológicas de casos de queilitis actínica y carcinoma de células escamosas de labio del Hospital General “Dr. Manuel GEA González” y en el de 1980 a 2013.
2. Identificar la presencia de elastosis actínica en casos de queilitis actínica y en zonas adyacentes al carcinoma de células escamosas de labio del Laboratorio de Patología Bucal Clínica y Experimental de la Facultad de Odontología de la UNAM.
3. Comparar la inmunexpresión de los marcadores proapoptóticos y antiapoptóticos en casos con queilitis actínica y carcinoma de células escamosas.

## 17. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

La expresión de los marcadores Bax, Bcl-2 y p53 en la queilitis actínica y carcinoma de células escamosas de labio son diferentes.

Ha1: La presencia de elastosis actínica en queilitis actínica y en zonas adyacentes al crecimiento tumoral de carcinoma de células escamosas de labio estará asociada a mayor expresión de marcadores proapoptóticos.

Ho1: La presencia de elastosis actínica en queilitis actínica y en zonas adyacentes al crecimiento tumoral de carcinoma de células escamosas estará con menor o igual expresión de marcadores proapoptóticos.

Ha2: Los marcadores antiapoptóticos se observarán sobre-expresados en casos con carcinoma de células escamosas de labio comparados con casos con queilitis actínica.

H02: Los marcadores antiapoptóticos en el carcinoma de células escamosas tendrán una expresión menor o igual en comparación con casos con queilitis.

## 18. MATERIAL Y MÉTODOS

### Diseño de estudio

Transversal

### Población en estudio

18 Bloques con tejido incluido en parafina con diagnóstico de queilitis actínica y 15 de carcinoma de células escamosas de labio del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” y del “Laboratorio de Patología Bucal Clínica y Experimental, FO, UNAM ” seleccionados de los archivos obtenidos de 1980 a 2013.

### Tamaño de la muestra

Se seleccionaron casos disponibles diagnosticados con queilitis actínica y carcinoma de células escamosas de labio disponibles en la base de datos del Hospital General Dr. Manuel Gea González y del Laboratorio de Patología Bucal Clínica y Experimental, FO, UNAM de 1980 al 2013.

El cálculo de tamaño de muestra se realizó para estimar la diferencia de dos proporciones de grupos independientes, con los siguientes supuestos:

- Proporción del grupo 1: 0.6 (Queilitis actínica)
- Proporción del grupo 2: 0.5 (Carcinoma de células escamosas de labio)
- Diferencia de proporción de dos grupos: 0.5
- Alfa: 0.05
- Z: 1.96
- Poder: 0.81

Obteniendo 12 casos en cada grupo

**Criterios de inclusión:**

- Casos diagnosticados histopatológicamente como queilitis actínica
- Casos diagnosticados histopatológicamente como carcinoma de células escamosas de labio.

**Criterios de exclusión:**

- Bloques de parafina que no contaron con tejido suficiente.

**Criterios de eliminación:**

- Casos que durante el procesamiento se perdió el tejido.

Tabla 1. VARIABLES	CONCEPTUAL	OPERACIONAL	CATEGORÍAS	ESCALA DE MEDICIÓN
<p><b>Queilitis Actínica</b> Independiente</p>	<p>Histológico: Alteración premaligna del labio inferior caracterizada por hiperqueratosis, epitelio escamoso estratificado atrófico, desarreglo en la arquitectura y morfología de los queratinocitos y en corion elastosis actínica.<sup>21</sup></p>	<p>Se diagnosticó como queilitis actínica cuando los casos cumplan todos los indicadores histológicos descritos. Se tomaron en cuenta los criterios de displasia epitelial de la OMS.<sup>31</sup></p> <p>INDICADORES</p> <p>Histológicamente:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Acantosis o Atrofia de epitelio.</li> <li>• Hiperqueratosis.</li> <li>• Atipias celulares.</li> <li>• Respuesta inflamatoria en tejido conectivo subyacente.</li> <li>• Elastosis actínica.<sup>21</sup></li> </ul> <p style="text-align: right;">Neville Brad 2009</p> <p>Grados de Displasia epitelial de acuerdo a la OMS:</p> <p>Leve: Proliferación de células basales inmaduras o atípicas sobre la región parabasal, pero no se extiende a más del tercio inferior del epitelio.</p> <p>Moderada: Demuestra una proliferación similar de células atípicas extendiéndose al segundo tercio del epitelio.</p> <p>Severa: Se observa una proliferación anormal de la capa basal en el tercio superior del epitelio.</p>	<p>Grados de displasia epitelial:</p> <p>1. LEVE</p> <p>2. MODERADO</p> <p>3.-SEVERO</p>	<p>ORDINAL</p>
<p><b>Elastosis actínica</b> Independiente</p>	<p>Alteraciones amórficas, acelulares y basofílicas de las fibras colágenas y elásticas; inducidas por la radiación solar ultravioleta.<sup>21</sup></p>	<p>Se diagnosticó como elastosis cuando se observó histológicamente fibras elásticas y colágenas engrosadas, amorfas, de aspecto basofílico ubicadas en la dermis reticular. Se clasificó de acuerdo a su profundidad en la dermis siendo:</p> <p>Nula: Cuando no existió elastosis.</p> <p>Leve: Cuando la elastosis existió en la parte superficial de la dermis reticular.</p> <p>Moderada: Cuando existió elastosis en la dermis reticular media.</p> <p>Severa: Cuando se presentó elastosis en la dermis reticular profunda.</p>	<p>1. NULA</p> <p>2. LEVE</p> <p>3. MODERADA</p> <p>4. SEVERA</p>	<p>ORDINAL</p>
<p><b>Carcinoma de células escamosas</b> Independiente</p>	<p>Neoplasia maligna derivada de los queratinocitos epidérmicos suprabasales.<sup>9</sup></p>	<p>Cuando se observó histológicamente la presencia de atipias, células inmaduras, áreas de necrosis, mitosis atípicas, poca o nula producción de queratina en el epitelio escamoso.</p> <p>Se tomaron en cuenta los criterios de malignidad de la OMS 2005, clasificación de Broders y Frente de invasión tumoral.<sup>31</sup></p> <p>INDICADORES</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Estratificación irregular</li> <li>• Pérdida de polaridad de las células basales</li> <li>• Crestas epiteliales en forma de gota</li> <li>• Aumento en el número de mitosis</li> <li>• Mitosis anormales superficiales</li> <li>• Queratinización individual</li> <li>• Perlas de queratina</li> <li>• Variación en forma y tamaño de núcleo</li> <li>• Variación en forma y tamaño celular</li> <li>• Aumento en la proporción núcleo citoplasma</li> <li>• Aumento en el número de nucléolos</li> <li>• Hiperchromatismo.</li> </ul>	<p>Criterios de Malignidad de la OMS</p> <p>1.- Leve 2.- Moderada 3. Severa</p> <p>Clasificación de Broders</p> <p>1. Grado 1 2. Grado 2 3. Grado 3</p> <p>Frente de invasión tumoral</p> <p>1. Nula 0 2. Leve 0-1 3. Moderado 2-5 4. Severo + de 5</p>	<p>ORDINAL</p>

<p><b>Elastosis actínica en CEC</b> Independiente</p>	<p>Alteraciones amórficas, acelulares y basofílicas de las fibras colágenas y elásticas; inducidas por la radiación solar ultravioleta. Su disposición es en corion, superficial, medio y/o peritumoral.<sup>21</sup></p>	<p>Se diagnosticó como elastosis cuando se observe histológicamente fibras colágenas y elásticas engrosadas, amorfas, de aspecto basofílico ubicadas en corion, superficial, medio y/o peritumoral en la dermis reticular a diferentes profundidades siendo:</p> <p>Nula: Cuando no esté presente la elastosis.</p> <p>Leve: Cuando haya elastosis hasta la parte superficial de la dermis reticular.</p> <p>Moderada: Cuando exista elastosis en la dermis reticular media.</p> <p>Severa: Cuando se presente elastosis en la dermis reticular profunda.</p>	<p>1. NULA 2. LEVE 3. MODERADA 4. SEVERA</p>	<p>ORDINAL</p>
<p><b>Bcl-2</b> Dependiente</p>	<p>Proteína de la familia bcl-2, inhibidora de la activación de las caspasas y la apoptosis, impidiendo la liberación de citocromo C por las mitocondrias.<sup>23</sup></p>	<p>Se tomaron como células positivas las que presenten tinción de color marrón, categorizándolas de acuerdo a su intensidad de expresión. Se tomaran en cuenta tres parámetros para su análisis:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Porcentaje de células positivas.</li> <li>• Intensidad digital de la inmunomarcaje.</li> <li>• Índice digital de la expresión.</li> </ul>	<p>1. Nula= 0 2. Tinción leve=+ 3. Tinción moderada=++ 4. Tinción severa=+++</p>	<p>ORDINAL</p>
<p><b>Bax</b> Dependiente</p>	<p>Proteína promotora de la muerte celular de la familia bcl-2 con capacidad de desencadenar la apoptosis liberando citocromo C de las mitocondrias y activar las caspasas.<sup>23</sup></p>	<p>Se tomaron como células positivas las que presenten tinción de color marrón, categorizándolas de acuerdo a su intensidad de expresión. Se tomaran en cuenta tres parámetros para su análisis:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Porcentaje de células positivas.</li> <li>• Intensidad digital de la inmunomarcaje.</li> <li>• Índice digital de la expresión.</li> </ul>	<p>1. Nula= 0 2. Tinción leve=+ 3. Tinción moderada=++ 4. Tinción severa=+++</p>	<p>ORDINAL</p>
<p><b>P53</b> Dependiente</p>	<p>Proteína codificada por un gen represor de tumor que cumple una función determinante en el ciclo celular, permitiendo proseguir con el ciclo, detenerlo o inducir apoptosis.<sup>24</sup></p>	<p>Se tomaron como células positivas las que presenten tinción de color marrón, categorizándolas de acuerdo a su intensidad de expresión. Se tomaran en cuenta tres parámetros para su análisis:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Porcentaje de células positivas.</li> <li>• Intensidad digital de la inmunomarcaje.</li> <li>• Índice digital de la expresión.</li> </ul>	<p>1. Nula= 0 2. Tinción leve=+ 3. Tinción moderada=++ 4. Tinción severa=+++</p>	<p>ORDINAL</p>

## **Metodología**

Se solicitó autorización del Departamento de Dermatología del Hospital General Dr. Manuel Gea González y del Laboratorio de Patología Bucal Clínica Experimental de la Facultad de Odontología de la UNAM para utilizar los casos diagnosticados como queilitis actínica y carcinoma de células escamosas de 1980 al 2013. Se obtuvo la aprobación del comité de ética y de investigación del Hospital General Dr. Gea González para trabajar con los casos del departamento de Dermatología.

Se realizó la búsqueda en libretas de registro y base de datos electrónica, la selección de la muestra fue la total disponible y se recopilaron solo los casos que contaban con laminillas teñidas con HyE para su diagnóstico y con suficiente tejido incluido en bloques de parafina para su posterior procesamiento. Previo al análisis histopatológico se realizó mi estandarización. Primero las tutoras realizaron las observaciones de 5 laminillas al microscopio registrando los datos obtenidos en una cédula de registro, posteriormente realice la observación de las mismas laminillas en 3 ocasiones distintas (una vez por semana). Al final de cada observación se compararon los datos hasta obtener resultados similares.

### **Describir cómo se estandarizó al examinador**

Los diagnósticos fueron confirmados por medio de la observación de las laminillas al microscopio. Se obtuvo un número mayor de tejidos calculados para este estudio incluyendo 18 casos de queilitis actínica y 15 casos de carcinoma de células escamosas de labio de acuerdo a los criterios de selección; de los casos seleccionados se realizaron cortes a 4 micras de los tejidos incluidos en parafina obteniendo un total de 4 laminillas por bloque, para HyE, p53, Bax y Bcl-2 respectivamente.

Las laminillas teñidas con HyE fueron revisadas microscópicamente para determinar las características histopatológicas, tomando en consideración: el

grado de displasia epitelial, presencia de elastosis, crecimiento tumoral y patrón de invasión siguiendo los Criterios de Malignidad de la OMS del 2005, la Clasificación de Broders y Frente de Invasión Tumoral (Tablas 2, 3 Y 4).<sup>31</sup>

**Tabla 2.** Criterios de malignidad de la OMS 2005 <sup>31</sup>

DATOS ARQUITECTURALES	DATOS CITOLÓGICOS
1. Estratificación irregular	1. Variación anormal del tamaño celular
2. Pérdida de polaridad de las células basales	2. Variación anormal en la forma nuclear
3. Crestas epiteliales anómalas	3. Variación anormal en el tamaño celular
4. Aumento en el número de mitosis	4. Variación anormal de la forma celular
5. Mitosis superficiales	5. Aumento en la proporción núcleo citoplasma
6. Queratinización prematura de las células aisladas	6. Aumento en el tamaño nuclear
7. Perlas de queratina dentro de las crestas	7. Mitosis atípicas
	8. Aumento del número y tamaño de nucléolos
	9. Hiperchromasia nuclear

Tomando en cuenta estos criterios, la displasia epitelial se clasificó en leve, moderada y severa. Para determinar la severidad se consideró un número determinado de criterios, de tal forma que la displasia leve debía presentar 2 criterios arquitecturales y 3 citológicos, la moderada 4 criterios arquitecturales y 6 citológicos y la displasia severa 6 arquitecturales y 8 citológicos.

**Tabla 3.** Clasificación de Broders <sup>31</sup>

GRADO	PORCENTAJE DE CÉLULAS MALIGNAS
I	25% de las células malignas están indiferenciadas.
II	50% de las células malignas están indiferenciadas.
III	75% o más de las células malignas están indiferenciadas.



**Tabla 4 . Frente de Invasión Tumoral (FIT) <sup>31</sup>**

Número de mitosis	Nulo= 0	Leve de 0-1	Moderado de 2-5	Severo más de 5
Patrón de invasión		Cercana al vaso	Rodea vasos y nervios	Infiltra vasos y nervios
Profundidad tumoral de invasión		Lamina propia	Músculo y glándula	Invade hueso
Grado de queratinización		Más el 75%	Hasta un 50%	Menos del 25%
Pleomorfismo nuclear		Menos del 25%	Del 75 al 50%	Más del 75%
Infiltrado inflamatorio		Intenso	Moderado	Leve

### **Técnica de inmunohistoquímica (IHQ)**

Se estandarizó la técnica de inmunohistoquímica para cada anticuerpo en estudio. Los tejidos se desparafinaron en xilol y se rehidrataron en alcoholes a diferentes concentraciones, se hizo la recuperación antigénica con citrato de sodio al 0.1% pH6.2 durante 10 min en un horno de alto poder. Se lava con PBS por 5min y se inactiva la peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno al 0.9% incubandola por 5 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se realizaron los lavados con agua destilada y se dejaron en reposo por 5 minutos en PBS.

Los tejidos se incubaron durante 45 minutos con los anticuerpos primarios p53(Dako) policlonal a una dilución de 1:300, Bcl-2 (Dako) DO-7 a una dilución 1:100 y Bax (Dako) policlonal a una dilución de 1:100; se lavaron con PBS se les agregó de 2 o 3 gotas del anticuerpo secundario antimouse/antirabbit y el complejo estreptavidina/peroxidasa por 30 minutos a cada uno de ellos. La reacción se visualizó con Diaminobencidina (Dako) para después contrateñirse en hematoxilina de Hills. El control positivo para p53 fue carcinoma de tiroides, para Bax carcinoma de colón y para Bcl-2 apéndice.

Se analizó el inmunomarcaje en un microscopio de campo claro utilizando el programa ImageJ® versión 1.46, en los párrafos siguientes se menciona el procedimiento realizado.

## **Análisis por ImageJ® versión 1.46**

El inmunomarcaje de las células se analizó por medio del programa ImageJ® versión 1.46 ajustado a la escala micrométrica  $\mu\text{m}$ . en un microscopio óptico Nikon Modelo Eclipse E600 con una Cámara Digital Nikon Sight DS-Fi1 para el análisis de imagen por computadora seleccionando para fines de este estudio, el número total de células por campo, el porcentaje de células positivas, la densidad óptica del inmunomarcaje y el Índice digital de la expresión. Para la obtención de los resultados utilizamos las especificaciones del uso y utilidad del programa.

Así, de cada caso se tomaron fotomicrografías en 5 campos consecutivos iniciando de derecha a izquierda en las zonas de transición entre el epitelio y tejido conjuntivo con un objetivo de 40X. Las imágenes fueron guardadas en formato JPG para su análisis. Fueron fotografiadas las células marcadas de color marrón cerca de zonas de displasia, acantosis o elastosis en el caso de la QA. En el CCEL se tomaron los campos que presentaron positividad en las células tumorales y cuando estas se encontraron adyacentes a zonas de elastosis.

Se contó el número de células totales por campo. Esto se realizó convirtiendo la imagen a 3 niveles de grises, posteriormente se suavizó la imagen a 2.0 píxeles y se seleccionó la herramienta "Threshold" que permite la selección automática de los núcleos sin tener que seleccionarlos manualmente; posteriormente con la herramienta "Binary" se seleccionó "Fill Holes" para que el programa resalte los núcleos que no se hayan marcado y posteriormente se utilizó la herramienta "Watershed" para separar automáticamente los núcleos que se encontraron juntos, posteriormente se seleccionó el set de mediciones ("Set Measurements") para elegir el área y forma, hasta lograr un área mayor a 220 píxeles con una circularidad mayor a 0.55, esto se hace para que el programa discrimine de forma automática las estructuras que no sean núcleos. Finalmente se seleccionó medir las partículas "Measure" donde al final nos proporciona el número total de células contadas por campo.

La inmunexpresión de los marcadores fue evaluada por medio de la “densidad óptica”, a esta densidad también se le conoce como absorbancia óptica. La densidad óptica se define como el logaritmo del cociente entre la intensidad de luz que incide sobre una imagen o una película translúcida y la intensidad de luz que se refleja de la imagen o que se transmite a través de dicha película (intensidad emergente). En este programa se evalúa el nivel de gris medio sobre cada célula.<sup>44</sup>

Se realizó la calibración del programa utilizando los controles positivos y negativos, obteniendo los valores que se muestran en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Puntos de corte para la evaluación de la inmunexpresión por Densidad Óptica (D) para p53, Bcl-2 y Bax; cuando la densidad óptica de expresión fue mayor a .5 se consideraba como parte de la siguiente categoría (>.6 Leve, >1.6 Moderada, > 2.6 Severa).

Categorías		p53 (D)	bcl-2 (D)	Bax (D)
0	Nula	>176	>110	>87
1	Leve	127-175	75-109	46-86
2	Moderada	79-126	45-74	32-45
3	Severa	0-78	0-44	0-31

Las células positivas fueron contadas con la herramienta “Multi.point”, donde se seleccionaron todas aquellas células que se observaron color marrón por cada campo. Posteriormente ya calibrado el programa de acuerdo a los niveles de grises de los controles se obtuvo la densidad óptica por campo.

El análisis estadístico consistió en una prueba de Chi cuadrada evaluar la asociación entre la presencia de elastosis y el número de casos positivos para cada anticuerpo en ambas enfermedades. También se realizó una T-Student para muestras independientes para identificar asociación entre la Densidad Óptica de los anticuerpos con el número de células marcadas en cada caso de ambas enfermedades.

## 19. RESULTADOS

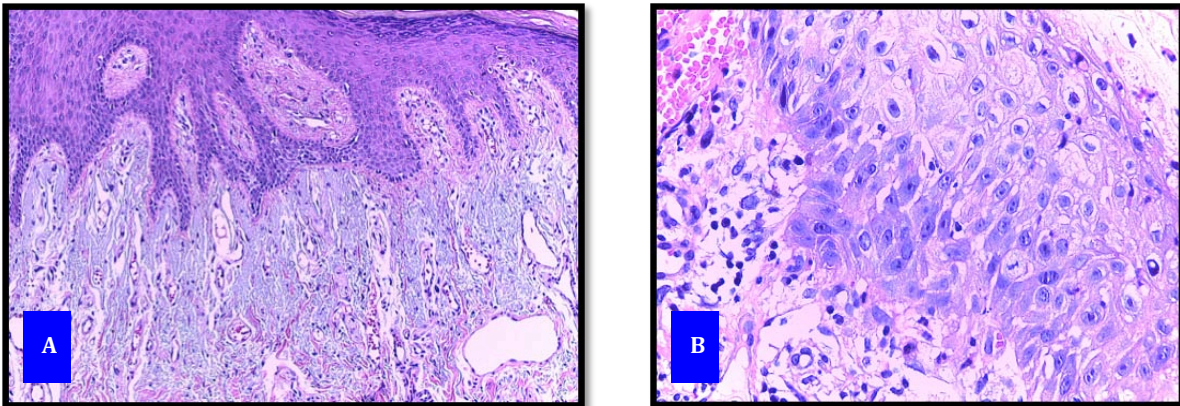
De la base de datos de los se reviso la muestra total disponible por cada institución obteniendo 24,467 casos de lesiones del piel y mucosas de todo el cuerpo humano en el Hospital General Dr. Manuel Gea González y 19,362 casos de lesiones en cabeza y cuello del Laboratorio de Patología Bucal Clínica y Experimental, FO, UNAM con un total de 43,829 casos de 1980 al 2013; del total obtuvimos 57 queilitis y 39 carcinomas de labio. Se descartaron 39 queilitis y 24 carcinomas por no cumplir con los criterios de inclusión. Incluyendo en el estudio 18 y 15 casos respectivamente para su análisis.

En la revisión microscópica con HyE de queilitis actínica encontramos en el epitelio; paraqueratosis en el 50% (9) de los casos, ortoqueratosis 38.8% (7); acantosis en 61% (11), atrofia en 16.7% (3); displasia leve en 50% (9), moderada 5.6% (1) y severa en 11.1% (2). En tejido conjuntivo observamos elastosis actínica en 88.8% (16); de estos 16 casos la elastosis estaba localizada superficialmente en la dermis papilar en el 43.7% (7), con una intensidad basofílica también en el 43.7%. En la **Tabla 6** se muestran las características histopatológicas de las 18 queilitis incluidas en el estudio y en **la figura 7 A Y B** un ejemplo de queilitis actínica con una zona de displasia epitelial severa.

**Tabla 6.** Frecuencia de alteraciones epiteliales y en tejido conjuntivo la queilitis actínica.

QUEILITIS ACTÍNICA	n=18	%
PARAQUERATOSIS	(9)	50%
ORTOQUERATOSIS	(7)	38.9%
ORTO/PARA	(2)	11.1%
ACANTOSIS	(11)	61.1%
ATROFIA	(3)	16.7%
ACANTOSIS/ATROFIA	(4)	22.2%
<b>DISPLASIA</b>		
Nula	(6)	33.3%
Leve	(9)	50%
Moderada	(1)	5.6%
Severa	(2)	11.1%

ELASTOSIS SOLAR		
Presencia	(16)	88.8%
Ausencia	(2)	11.2%
<b>Profundidad</b>		
Superficial	7 (16)	43.7%
Media	4 (16)	25%
Profunda	5 (16)	31.3%
<b>Intensidad</b>		
Leve	7 (16)	43.7%
Moderada	3 (16)	18.8%
Severa	6 (16)	18.8%

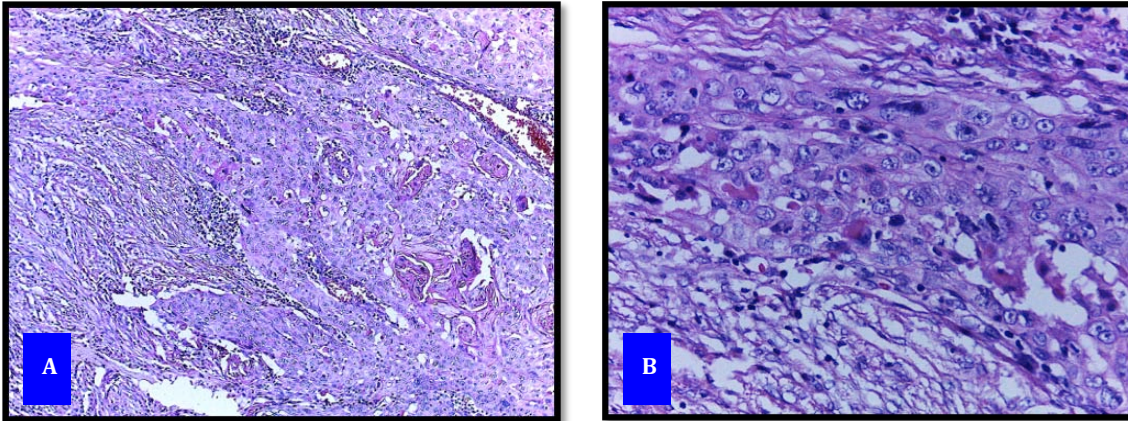


Fuente directa

**Figura 7.** **A** se muestra uno de los casos en estudio de queilitis actínica con elastosis y **B** a mayor aumento se observan cambios displásicos severos en la misma lesión.

La revisión microscópica de los carcinomas mostró que de acuerdo a la clasificación de Broders<sup>31</sup> el 60% (9) fueron carcinomas bien diferenciados y el 40% (6) moderadamente diferenciados. Se observó elastosis en la periferia tumoral en 46.6% de los casos (7), ubicándose superficialmente en el 71.4% (7). 13 casos (86%) tenían un grado de queratinización mayor al 50% y 10 casos (66%) presentaba pleomorfismo nuclear; 8 casos, (53.3%) tenían un patrón invasivo a músculo y glándulas y 6 (40%) presentaron crecimiento tumoral cercano a los vasos y el 40% (6) lo rodeaban. El 66.6% de los casos presentaban un infiltrado inflamatorio severo En las **Figuras 8 A y B** se presenta el patrón de crecimiento e invasión del carcinoma hacia el tejido conectivo adyacente y al

mismo tiempo se puede observar el pleomorfismo celular de las células malignas y en la **Tabla 7**, presentamos los casos de carcinomas y la distribución de elastosis actínica.



Fuente directa

**Figura 8. A.** En la fotomicrografía a 10X se observan islas de células neoplásicas, invadiendo el tejido conectivo adyacente rodeado por un infiltrado inflamatorio crónico. En la **figura B** a mayor aumento se muestra el pleomorfismo celular en una isla de un carcinoma invasivo.

**Tabla 7.** Frecuencia de elastosis en los carcinomas de células escamosas

ELASTOSIS ACTÍNICA EN CCEL	CASOS (no.)	%
<b>Presencia</b>	<b>7 ( 15)</b>	<b>46.6%</b>
<b>Ausencia</b>	<b>8(15)</b>	<b>53.4%</b>
<b>Profundidad</b>		
Superficial	5 (7)	71.4%
Media	2 (7)	28.6
Profunda	0	0
<b>Intensidad</b>		
Leve	1 (7)	14.2%
Moderada	5 (7)	71.4%
Severa	1(7)	14.2%

## INMUNOEXPRESIÓN DE MARCADORES

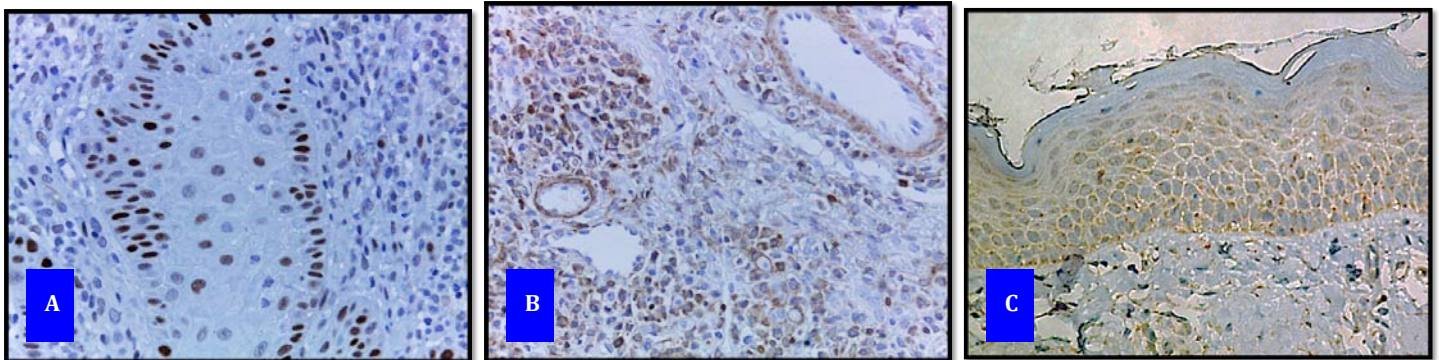
Durante el proceso inmunohistoquímico se eliminaron 4 casos de CCE por desprendimiento de los tejidos durante su procesamiento. Incluyendo para el estudio un total de 11 carcinomas de células escamosas y 18 queilitis actínica.

### Queilitis Actínica

Los 18 casos de QA (100%) fueron positivos a p53,  $\bar{x}=340\pm148.9$  de células positivas por campo, con una Densidad Óptica (D) moderada  $\bar{x}=1.8\pm.466$  En relación a Bcl-2 11 casos (61.1%) fueron positivos  $\bar{x}238.3\pm289.7$  por campo, con una D en  $\bar{x}=1.5\pm1.29$ . Bax fue positivo en 12 casos  $\bar{x} =151\pm139.04$  (15.9%) de células positivas por campo y una D Leve con  $\bar{x}=.912\pm.762$ . En la **Tabla 13** se muestra el análisis realizado y los resultados de la expresión de las tres proteínas utilizando el programa ImageJ versión 1.46 y en la **figuras 9 A, B Y C** la expresión nuclear de p53, la membranal de Bcl-2 y en relación a Bax la expresión intracitoplasmática

**Tabla 8.** Inmunoexpresión de p53, Bcl-2 y Bax en queilitis actínica.

QUEILITIS ACTÍNICA	n	CASOS POSITIVOS (no.)	CÉLULAS CONTADAS (no.)	CÉLULAS POSITIVAS (no.)	PORCENTAJE DE CÉLULAS POSITIVAS (%)	DENSIDAD ÓPTICA DE INMUNOEXPRESIÓN (D)
Anticuerpo	n (%)	n Media (DE)	n Media (DE)	n Media (DE)	n Media (DE)	n Media (DE)
p53	18	18 (100%)	18 945 (234)	18 340 (148.9)	18 36.1 (13.9)	18 1.89 (.466)
Bcl-2	18	11 (61.1%)	18 892 (914.6)	11 238.3 (289.7)	11 15.8 (15.03)	11 1.5 (1.29)
Bax	18	12 (66.7%)	18 689 (583.4)	12 151.3 (139.04)	12 15.9 (14.4)	12 .912 (.762)



Fuente Directa

**Figura 9.** **A** se observa una QA con expresión de p53 a en la capa basal y suprabasal del epitelio. **B** expresión de Bcl-2 en células epiteliales, endoteliales y tejido conjuntivo. **C** expresión de Bax en capa basal y espinosa.

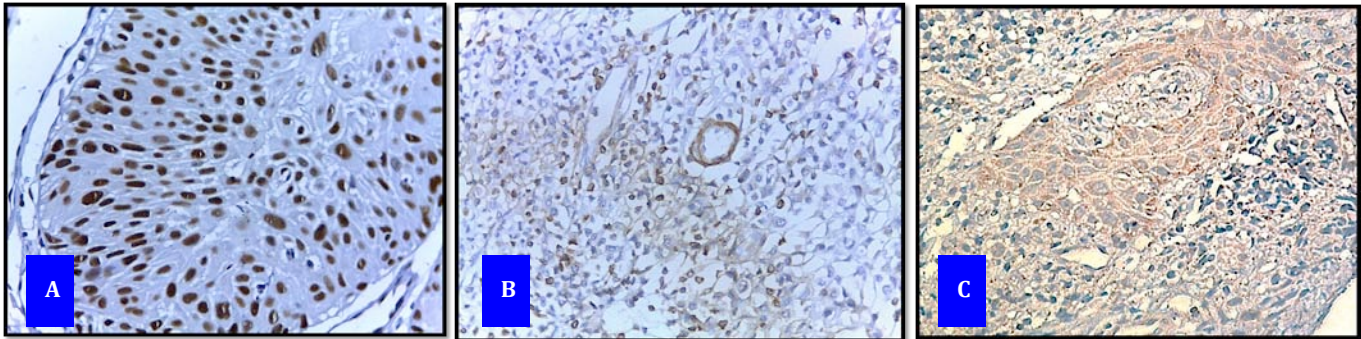
### Carcinoma de Células Escamosas

Los 11 casos (100%) de CCEL fueron positivos a p53, con una  $\bar{x}=622\pm390.5$  (39.1%) con una D Severa ( $2.6\pm674$ ). Bcl-2 fue positivo en 4 (36.3%) con una  $\bar{x}=179.7\pm269.7$  (15%) y una D leve ( $.912\pm1.27$ ). Para Bax fueron positivos 4 (36.3%) con  $\bar{x}=65.1\pm92.9$  (4.4%) con una D Nula ( $.480\pm.730$ ). En la **Tabla 9** se presentan los resultados y en las **Figuras 10 A, B Y C** presentamos los patrones de expresión de las proteínas en los carcinomas.

**Tabla 9.** Inmunoexpresión de p53, Bcl-2 y Bax en carcinoma de células escamosas de labio

CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS	n	CASOS POSITIVOS (no.)	CÉLULAS CONTADAS (no.)	CÉLULAS POSITIVAS (no.)	PORCENTAJE DE CÉLULAS POSITIVAS (%)	DENSIDAD ÓPTICA DE INMUNOEXPRESIÓN (D)
Anticuerpo	n (%)	n (%)	n Media (DE)	n Media (DE)	n Media (DE)	n Media (DE)
p53	11	11 (100%)	11 1566 (389.5)	11 622 (390.5)	11 39.1 (22.1)	11 2.6 (.674)
bcl-2	11	4 (36.3%)	4 7422 (1097.5)	4 179.7 (269.7)	4 8.6 (15.03)	4 .912 (1.27)
bax	11	4 (36.3%)	4 534.6 (764.05)	4 65.1 (92.9)	4 4.4 (6.2)	4 .480 (.730)





Fuente Directa

**Figura 10.** **A** Se observa un CCEL con positividad de p53 en las células neoplásicas, **B** positividad de Bcl-2 en células neoplásicas y tejido conjuntivo y, **C** positividad de Bax en células neoplásicas.

Se realizó T-Student para muestras independientes buscando asociar la Densidad Óptica con la expresión de los anticuerpos en ambas lesiones. Donde se encontró una significancia estadística en la D de p53 con una p .000; lo que podía sugerir que a mayor densidad de p53 mayor alteración celular; con respecto a Bax y Bcl-2 no se encontró significancia estadística por lo que no se puede determinar si existe mayor o menor apoptosis en ambas enfermedades. También se realizó la misma prueba para evaluar la asociación de la expresión de los marcadores con la media de células positivas encontrando una significancia con una p.010 para p53; lo que nos podría indicar que el gen se encuentra mutado. Mientras que Bcl-2 y Bax no presentaron relevancia estadística por lo que tampoco se puede determinar el grado de apoptosis (**tablas 10 y 11**).

**Tabla 10.** Asociación de la Densidad Óptica de los anticuerpos en ambas lesiones

Anticuerpo	Media de Densidad óptica QA (D)	Media de Densidad Óptica CCE (D)	t	P
p53	1.8	2.6	-5.138	.000
bcl-2	1.5	.9	1.200	.241
bax	.9	.4	1.505	.144

**Tabla 11.** Asociación de células positivas en ambas lesiones

Anticuerpo	Media de células marcadas QA (no.)	Media de células positivas CCE (no.)	t	P
<b>p53</b>	340	622	-2.777	<b>.010</b>
<b>bcl-2</b>	238.3	179.7	.542	.592
<b>bax</b>	151.3	65.1	1.815	.081

### Inmunoexpresión con presencia de elastosis

Se realizó chi-cuadrada para evaluar la asociación entre la presencia de elastosis y la inmunoexpresión, sin embargo no se encontró significancia estadística (**tablas 12 y 13**). Estos resultados sugieren que la radiación UV no influye en la positividad de los anticuerpos estudiados y por lo tanto en el proceso de apoptosis en la QA y el CCEL.

**Tabla 12.** Asociación entre la presencia de elastosis y la expresión de anticuerpos.

Anticuerpo QA	Casos Positivos (no.)	Ausencia de elastosis n (%)	Presencia de elastosis	Total	X <sup>2</sup>	p
<b>p53</b>	18	2 (11.2.5%)	16 (88.8%)	18	.132	0.716
<b>Bcl-2</b>	11	2(11.5%)	16 (88.8%)	18	3.536	.060
<b>Bax</b>	12	2(11.5%)	16 (88.8%)	18	.281	.596

**Tabla 13.** Asociación entre la presencia de elastosis y la expresión de anticuerpos.

Anticuerpo CECL	Casos Positivos (no.)	Ausencia de elastosis n (%)	Presencia de elastosis	Total	X <sup>2</sup>	p
<b>P53</b>	11	6 (54.5%)	5 (45.5%)	11	.413	.814
<b>Bcl-2</b>	4	6 (54.5%)	5 (45.5%)	11	1.061	.303
<b>Bax</b>	4	6 (54.5%)	5 (45.5%)	11	.052	.819

## 20. DISCUSIÓN

La QA ha sido descrita como precursora del carcinoma de células escamosas en labio; ambas, compartiendo como causa principal la exposición crónica a la luz solar, en específico la radiación ultravioleta que ha ido incrementando progresivamente en todo el mundo; y que se ha convertido en el principal factor que induce cambios en el labio. Así la luz ultravioleta es conocida por ser responsable de inducir genotoxicidad, pero su papel como detonador de la apoptosis no ha sido completamente comprendido. Uno de los cambios sugestivos provocados por la radiación solar es la presencia de elastosis actínica, nosotros la encontramos en el 88.8% de todos los casos, cifras similares a datos reportados en otros estudios<sup>10,27</sup>. La alta frecuencia de degeneración basofílica del colágeno en nuestros casos sugiere que la radiación UV es el principal factor de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad. También se evaluó el grado de displasia epitelial en las QA y su asociación con la presencia de elastosis sin encontrar significancia estadística; lo que sugiere que la radiación solar no determina los cambios displásicos de las células en la QA.

En los CCEL la elastosis actínica se presentó en el 46.6% de los casos. Por lo que no podemos considerar que la radiación UV sea el principal factor de riesgo para desarrollar CCEL como lo concluyó Corbalán-Vélez en su estudio con 222 carcinomas espinocelulares donde encontró en el 82% de sus casos elastosis actínica.<sup>35,42</sup> La diferencia de nuestros resultados puede deberse al tamaño de nuestra población y a la baja prevalencia de las enfermedades en los institutos donde se llevó a cabo el estudio. También se asoció con el grado de diferenciación celular sin encontrar significancia estadística. Por lo que no se puede determinar si la radiación UV es la causa principal de cambios neoplásicos en las células.

En cuanto a las proteínas p53, Bax y Bcl-2 se ha reconocido que su expresión se ve aumentada por acción de la radiación UV. La eliminación del control normal de

Bcl-2 da lugar al aumento de la transcripción y la sobreexpresión de la proteína Bcl-2 y por lo tanto permite la supervivencia de las células malignas y su proliferación incontrolada. El gen p53 aumenta la transcripción de genes proapoptóticos tales como Bax. La falta de actividad de p53 producida por mutaciones como en el carcinoma de labio, disminuye la transcripción del gen proapoptótico Bax, por lo tanto, reduce la actividad apoptótica.<sup>32</sup> Por lo tanto altos niveles de Bcl-2 en las células conducen a incrementar los diámetros de Bcl-2 e inhibir la apoptosis; por lo contrario, los bajos niveles de Bcl-2 y altos niveles de Bax promovería la muerte celular.<sup>21, 44</sup> En la queilitis actínica la expresión de p53 reportada en la literatura ha sido muy variable en rangos que van desde 27 a 74%.<sup>36</sup>

La proteína p53 se ha reportado su expresión en carcinomas de cavidad oral en un 80% y en labio en un 88%.<sup>35,42</sup> En nuestro estudio tuvimos un inmunomarcaje del 100% de los casos tanto en QA como en CCEL al igual que Crosthwaite.<sup>42</sup> Por lo que consideramos que la radiación UV y la localización anatómica juega un papel fundamental ser una región expuesta a la luz solar.<sup>35, 36</sup>

En la QA la proteína Bcl-2 fue positiva en 61.1% de los casos con una D leve ( $1.5 \pm 1.29$ ) y Bax positivo en el 66% de los casos con una D leve ( $.912 \pm .762$ ). No se encontró diferencia estadística en la expresión de estos anticuerpos. Se evaluó la asociación de p53, Bcl-2 y Bax entre ambas enfermedades obteniendo que p53 presentó una  $p=.010$  en el número de células marcadas y una  $p=.000$  en la D; sugiriendo que a mayor grado de alteraciones estructurales aumentara el número de células positivas y la D de p53.<sup>37,38, 39</sup> Bcl-2 y Bax no presentaron diferencias significativas; posiblemente por el tamaño de muestra de nuestro estudio como se había comentado anteriormente; sin embargo Bax tuvo una tendencia a la sobreexpresión en la QA en comparación con el CCEL<sup>27</sup>, lo que podría indicar un balance positivo a favor de la apoptosis en la QA. Por otro lado Bcl-2 se encontró más expresado en la QA que en el CECL lo que podría sugerir que en nuestros casos de QA tienen más probabilidad de progresar a un CCEL al estar favorecida

la supervivencia de las células alteradas. Ravi concluye al igual que nosotros que las lesiones que tienen mayor expresión de Bcl-2 y p53 tienen mayor probabilidad de una transformación maligna.<sup>37</sup> Conociendo que p53 regula la función anti-apoptótica de bcl-2, puede presumirse que la proteína detectada en las queilitis con displasia y en el tejido maligno es mutada. Esto sugiere la posibilidad de que alteraciones en p53 seguidas de la sobre-expresión de Bcl-2 ocurren de manera temprana en la carcinogénesis oral resultando en una ineficaz apoptosis y una subsecuente progresión a un carcinoma de células escamosas de labio.<sup>37,38,39</sup> Respecto a la asociación entre la presencia de elastosis con la expresión anticuerpos no se encontraron hallazgos significativos; por lo que no podemos concluir si radiación UV determina la expresión de estos marcadores.

Es de suma importancia conocer el papel que juega la apoptosis como un predictor de progresión de esta lesión premaligna a un carcinoma. Considerando así la necesidad de realizar más estudios de inmuno-reactividad en especial cuando se encuentren cambios displásicos severos en las queilitis actínicas.

## 21. CONCLUSIÓN

La expresión de Bax tiene una tendencia a la sobreexpresión en la queilitis actínica en comparación con el CCEL, podría indicar un balance positivo a favor de la apoptosis en la QA; sin embargo Bcl-2 se encontró más expresado en la QA que en el CEC. Lo que podría sugerir que en nuestros casos de QA tienen más probabilidad de progresar a un CCEL al estar favorecida la supervivencia celular de las células alteradas. La elastosis puede ser considerada como indicador de daño solar severo crónico; sin embargo es necesario mayor investigación para determinar su papel en la expresión de los marcadores de apoptosis.

## 22. REFERENCIAS

1. Bascones A. Aguado A. Cáncer y precáncer oral. Bases clínico-quirúrgicas y moleculares. 1ª Edición. Ediciones Avances; 2003.
2. Cuevas B. Identificación de factores y marcadores moleculares de riesgo para el cáncer oral. Instituto de Salud Pública.
3. Chimenos Küstner. Aspectos prácticos de la prevención del cáncer oral. Av. Odontoestomatol. 2008; 24(1): 61-67.
4. Gallego M. Como prevenir el daño solar. Riesgos y beneficios del sol en la piel. 1-5.
5. Méndez A. Fotosensibilidad. Trastornos inducidos por la luz. Jano. 2009. 1741: 21-24.
6. Carey F. The relationship of sun exposure and solar elastosis to skin cancer in a high risk population. Irish Journal of Medical Science. 1990; 159 (2): 44-47.
7. Corbalán-Vélez R, Ruiz Macia J. Elastosis solar en carcinomas espinocelulares cutáneos. Actas dermo-siliográficas. 2010; 101 (6): 517-523.
8. Herrera E, Bosch R. Elastosis actínica y envejecimiento cutáneo. Enfermedad de Favre-Racouchot. 31: 134-136.
9. López-Andrade. Factores de riesgo y prevención del cáncer oral. RCOE. 2013; 18 (2): 73-83.
10. Kaugars G, Actinic cheilitis. A review of 152 cases. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1999; 88:181-6.
11. Martínez R, Minicucci E. Alencar M. Marques S. Actinic cheilitis and squamous cell carcinoma of the lip: clinical, histopathological and immunogenetic aspects. An Bras Dermatol. 2012; 87(1):105-14.
12. Goldsmith L, Katz S. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine, 8<sup>th</sup> Ed. Mc Graw Hill; 2012. 737-746.
13. Milanez M, Panboca O, Neto P. Actinic cheilitis adjacent squamous carcinoma of the lips as an indicator of prognosis. Rev Bras Otorrinolaringology. 2006; 72(6): 767-71.
14. Hyun N, Yong S. Case of Metastatic Squamous Cell Carcinoma Arising from Actinic Cheilitis. Ann Dermatol. 2011; 23(1): 101-103.
15. Tsuneo E, Tebcherani A. Actinic cheilitis: aesthetic and functional comparative evaluation of vermilionectomy using the classic and W-plasty techniques. An Bras Dermatol. 2011; 86(1): 65-73.
16. Rojas G, Martínez A, Brethauer U. Actinic cheilitis. Epithelial expression of COX-2 and its association with mast cell tryptase and PAR-2. Oral Oncology. 2009; 45: 284– 290.
17. Martínez A, Brethauer U, Borlando J, Epithelial expression of p53, mdm-2 and p21 in normal lip am actinic cheilitis. Oral Oncology 2008; 44, 878–883.
18. García-García V, Bascones Martínez A. Cáncer oral: Puesta al día. Av. Odontoestomatol 2009; 25 (5): 239-248.

19. Neville B. Oral and Maxillofacial Pathology. 3rd rev. ed. United States of America: .Elsevier; 2009. 405.
20. Mcintyre W, Pharmd. Treatment Options for Actinic Keratoses Am Fam Physician. 2007; 76: 667-672.
21. Martínez A, Brethauer U. Expression of apoptotic and cell proliferation regulatory proteins in actinic cheilitis. J Oral Pathol Med. 2005; 34: 257–62.
22. Andrade de Freitas M., Pedreira L., Aquino F. p53 and MDM2 protein expression in actinic cheilitis. J Appl Oral Sci. 2008;16(6):414-9.
23. Pimentel D. Actinic Cheilitis: histopathology and p53. J Cutan Pathol. 2006; 33: 539–544.
24. Schussel J. Altered  $\beta$ -catenin expression related to cancer progression on actinic cheilitis and squamous cell carcinoma of the lip. Annals of Diagnostic Pathology 2011; 15: 1–5.
25. Stoff B, Salisbury C. Dermatopathology of skin cancer in solid organ transplant recipients. Transplantation Reviews. 2010; 24: 172–189.
26. Wood N., Khammissa R., Meyerov R. Actinic cheilitis: A case report and a review of the literature. Eur J Dent 2011;5:101-106.
27. Rodríguez A, Anbinder A, Rodarte Y. Actinic Cheilitis: Clinical and Histological Features; J Oral Maxillofac Surg. 2008; 66: 498-503.
28. Scully C, Bagan J. Oral squamous cell carcinoma overview. Oral Oncology. 2009; 45: 301–308.
29. Brennan M, Migliorati C. Management of oral epithelial dysplasia: a review. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007; 103 (suppl 1): S19.e1-S19.e12.
30. Berhane T. Inflammation is associated with progression of actinic keratoses to squamous cell carcinomas in humans. British Journal of Dermatology 2002; 146: 810–815.
31. Leyva E. Gaitan L. Patología General e Inmunología. 1a Edición. México: Trillas; 2008. 247-288.
32. Robbiins. Patología estructural y funcional. 8a Edición. España: Elsevier: 2010. 259-330.
33. Kato K, Kawashiri S. Apoptosis-associated markers and clinical outcome in human oral squamous cell carcinomas. J Oral Pathol Med. 2008; 37: 364–371.
34. Polverini P. Apoptosis and Predisposition to Oral Cancer. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 1999; 10(2) 139-152.
35. Piattelli A. Prevalence of p53, bcl-2, and Ki-67 Immunoreactivity and of Apoptosis in Normal Oral Epithelium and in Premalignant and Malignant Lesions of the Oral Cavity. J Oral Maxillofac Surg. 2002; 60:532-540.
36. Crosthwaite N, Teale D. p53 protein expression in malignant, pre-malignant and non-malignant lesions of the lip. Clin Pathol 1996; 49: 648-653.



37. Ravi D, Nalinakumari K. Expression of programmed cell death regulatory p53 and bcl-2 proteins in oral lesions. *Cancer Letters*. 1996; 105: 139- 146.
38. Popovic B, Jekic I. Bcl-2 Expression in Oral Squamous Cell Carcinoma. New York Academy of Sciences. 2007; 1095: 19–25.
39. Correa A., Venturi B. Immunohistochemical expression of p53, p16 and hTERT in oral squamous cell carcinoma and potentially malignant disorders. *Braz Oral Res*. 2011 Jan-Feb; 25(1): 34-41.
40. Ostwald C, Gogacz P. p53 mutational spectra different between squamous-cell carcinoma of the lip and the oral cavity *Int. J. Cancer*. 2000; 88: 82–86.
41. Robello M, Prandini de Assis. p53 and p21 overexpression at the invasive front of lower lip squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2007; 36: 88–92.
42. Piffko` J, Molecular assessment of p53 abnormalities at the invasive front of oral squamous cell carcinomas. *Head Neck* 1998; 20: 8–15.
43. Zhang M, Zhang P. Prognostic significance of Bcl-2 and Bax protein expression in the patients with oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2009; 38: 307–313.
44. González, R.C., Woods, R.E. *Digital Image Processing*. 2 Ed. (Addison-Wesley). 2002.