



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

IDENTIFICACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE hTERT EN
DISPLASIAS EPITELIALES ORALES.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

LORENA MÁRQUEZ MARTÍNEZ

TUTOR: Mtro. EMILIANO JURADO CASTAÑEDA

ASESORA: Mtra. CARLA MONSERRAT RAMÍREZ MARTÍNEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Quiero dedicar este trabajo **a Dios**, por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para poder lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres, Celso y Marta, por ser pilar fundamental en mi vida, por trabajar duro para darnos lo mejor, por su apoyo incondicional a lo largo de mis años de vida y durante mis estudios, por sus enseñanzas y consejos, por inculcarme valores para poder ser una persona de bien, por su paciencia y motivación constante, pero sobre todo por su cariño y amor.

A mi padre, por ser mi ejemplo de perseverancia y constancia, por enseñarme a trabajar duro y a nunca darme por vencida. A mi madre, quien es mi más grande orgullo, por ser mi mayor ejemplo de una gran mujer.

Los amo papás. Todo este trabajo ha sido posible gracias a ustedes.

A mis hermanos, César y Sandra, porque a pesar de nuestras diferencias, hemos salido adelante juntos.

Gracias por todo hermanos.

A mi Cookie, por siempre acompañarme las noches en que me desvelé, por ser mi fiel compañera, por llegar a mi vida y llenarla de alegría.

A mi novio Sebastián, por todos estos años a mi lado, por escucharme, comprenderme y apoyarme en todo momento y en cada decisión que he tomado, por tantas cosas vividas, por los regaños y motivaciones para seguir adelante, por nunca dejarme caer, por consentirme y estar junto a mí incondicionalmente. Gracias por todo tu amor, te amo.

Quiero agradecer a la **Universidad Nacional Autónoma de México**, y a mi querida **Facultad de Odontología** por abrirme sus puertas para mi formación profesional, a todos los maestros partícipes de mi desarrollo profesional, por todas sus enseñanzas; estoy orgullosa de llevar el nombre de la Facultad en alto, gracias por la oportunidad de pertenecer a esta máxima casa de estudios.

A mi tutor y a mi asesora de tesina, el Maestro Emiliano y la Maestra Carla, por ser pacientes y compartir conmigo su tiempo y sus conocimientos, por guiarme y ayudarme en la elaboración de este trabajo.

Al Maestro Luis Fernando Jacinto Alemán, por su apoyo y sobre todo paciencia, por aclarar cada duda presente y siempre mostrarse tolerante y comprensivo.

Gracias a mis grandes amigos, **Adriana, Ximena, Joseline, Enrique, Juan José, Kandy, Scanda, Karina y Diana**, porque nos apoyamos mutuamente durante nuestra formación profesional, con ellos reí, lloré, disfruté, canté y bailé. Sin ustedes no sería nada igual, gracias por todo su apoyo, consejos y ayuda, sé que contaré con ustedes en todo momento, los amo amigos.

“Por mi raza hablará el espíritu”



ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	6
II.	MARCO TEÓRICO	7
	2.1 GENERALIDADES DE LOS TEJIDOS	7
	2.1.1 Epitelio.....	8
	2.2 EPITELIO EN LA CAVIDAD BUCAL	14
	2.2.1 Mucosa de revestimiento	15
	2.2.2 Mucosa masticatoria	15
	2.2.3 Mucosa especializada o sensitiva	15
	2.3 CAMBIOS ADAPTATIVOS EN EL EPITELIO	16
	2.3.1 Hiperplasia	16
	2.3.2 Atrofia	18
	2.3.3 Metaplasia	19
	2.4 CAMBIOS REACTIVOS EPITELIALES ASOCIADOS A INFLAMACIÓN	20
	2.4.1 Acantosis	20
	2.4.2 Edema intra e intercelular	21
	2.4.3 Exocitosis leucocitaria	21
	2.5 DISPLASIA EPITELIAL	22
	2.5.1 Definición	22
	2.5.2 Características histológicas	22
	2.5.2.1 Displasia leve	25
	2.5.2.2 Displasia moderada	25
	2.5.2.3 Displasia severa	25
	2.5.2.4 Carcinoma in situ	26
	2.6 DESÓRDENES POTENCIALMENTE CANCERIZABLES	27
	2.6.1 Leucoplasia	27
	2.6.2 Eritroplasia	32
	2.6.3 Liquen plano	35
	2.6.4 Disqueratosis congénita	38



2.7	BIOMARCADORES COMO PREDICTORES DE PROGRESIÓN MALIGNA.....	41
2.8	TELÓMEROS.....	41
2.8.1	Estructura y función del telómero.....	42
2.9	TELOMERASA.....	43
2.9.1	Estructura y función.....	43
2.9.2	Subunidad hTERT.....	45
2.9.3	Asociación de la telomerasa y hTERT en displasias epiteliales.....	45
III.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	48
IV.	JUSTIFICACIÓN.....	49
V.	OBJETIVO.....	49
VI.	MATERIAL Y MÉTODO.....	50
VII.	RESULTADOS.....	55
VIII.	DISCUSIÓN.....	57
IX.	CONCLUSIONES.....	59
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60



I. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo está dirigido a investigar las displasias epiteliales orales desde una perspectiva molecular, enfocándose a una enzima en particular. Para ello es necesario saber que la célula es considerada la unidad de funcionamiento del organismo y constantemente se ve sometida a estímulos que pueden alterarla morfológica y funcionalmente, debido a esto responde con diferentes adaptaciones celulares. La característica principal de la displasia epitelial es la presencia microscópica de cambios y desórdenes en la maduración del epitelio que conducen a alteraciones en la proliferación celular. Las displasias epiteliales se encuentran estrechamente relacionadas con hábitos nocivos, principalmente consumo de tabaco y alcohol; estos factores de riesgo han comenzado a homogeneizarse entre ambos sexos, por lo tanto, se tiene conocimiento de que las displasias epiteliales no presentan predilección de género.

Dentro de las diversas moléculas que pueden participar en la displasia epitelial, la que fue de interés para la presente investigación es la telomerasa y su subunidad hTERT, esta enzima tiene un papel importante en la preservación de la longitud de los extremos de los cromosomas, llamados telómeros, su principal función es la protección de los mismos y en determinado momento marcar la apoptosis celular, no obstante, existen células capaces de sobrevivir volviéndose inmortales y mutando en consecuencia de la inestabilidad genómica lo que facilitará la progresión maligna.

Para investigar la presencia de la actividad de la subunidad hTERT en las displasias epiteliales, en la presente investigación se obtuvieron seis muestras de displasias epiteliales orales, dos de grado leve, dos moderadas y dos severas, siendo analizadas mediante PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa).



II. MARCO TEÓRICO

2.1 GENERALIDADES DE LOS TEJIDOS

La palabra tejido etimológicamente proviene del latín “*texere*” que significa tejer.¹ Un tejido es considerado un conjunto de células organizadas que funcionan de manera colectiva para realizar una o más funciones.² Para su clasificación se dividen en cuatro tipos de tejidos básicos:

- A. **Tejido epitelial:** se caracteriza por presentar células cúbicas, cilíndricas o columnares, poliédricas y planas, organizadas en capas simples o estratificadas.¹
- B. **Tejido conjuntivo:** constituye el estroma y brinda soporte, y nutrimentos, a su vez se clasifica en tejido conjuntivo propiamente dicho y tejido conjuntivo especializado.¹
- C. **Tejido muscular:** está compuesto por células contráctiles.²
- D. **Tejido nervioso:** participa en el sistema de relación y control de otros tejidos ya que es un tejido altamente especializado es por ello que recibe, transmite e integra información del medio externo y del medio interno para así controlar las actividades del organismo.^{1,2}

Cada uno de estos tejidos básicos está definido por características morfológicas generales o por sus diferentes propiedades fisiológicas; a su vez, cada uno de ellos puede subdividirse de acuerdo con las características de las diversas poblaciones celulares.²

Actualmente se establece a la sangre o tejido hematopoyético como el quinto tejido debido a que establece funciones muy específicas que lo diferencian de los demás.¹



2.1.1 Epitelio

En el siglo XVIII el anatomista holandés Ruysch introdujo el término epitelio, el cual proviene del griego *epi* que significa *sobre*, y *theleo*, que significa *papila*.¹

El epitelio es un tejido avascular que obtiene su nutrición gracias al tejido conectivo adyacente mediante difusión a través de la lámina basal. El epitelio se encuentra en dos formas, ya sea como hojas de células contiguas que tapizan la superficie externa e interna del cuerpo, y como glándulas que se originan en células epiteliales invaginadas.^{1,3,4} Histológicamente se define como un grupo de células similares en forma y función que de acuerdo a su localización están íntimamente unidas formando una o varias capas continuas.¹

Las células que integran los epitelios poseen tres características principales:

- Están dispuestas muy cerca unas de otras y se adhieren entre sí por moléculas de adhesión célula-célula, formando uniones celulares específicas.
- Tienen polaridad morfológica y funcional por lo que se asocian con tres regiones superficiales de morfología distinta: la superficie libre o región apical, la región lateral y la región basal.
- Su superficie basal está adherida a una membrana basal subyacente, se trata de una capa de material acelular con proteínas y polisacáridos abundantes.²



Desarrollo embrionario

A medida que se implanta en la pared uterina el embrión sufre modificaciones profundas en su organización; en su última instancia la subdivisión de la masa celular interna da lugar al cuerpo del embrión, el cual contiene las tres capas germinales primarias: el ectodermo, el mesodermo y el endodermo.⁵

Las tres capas germinativas dan lugar a las siguientes estructuras:

- De la capa ectodérmica deriva el sistema nervioso, epitelio sensorial de ojo, oído y nariz, la epidermis, pelo y uñas; las glándulas mamarias, cutáneas y bucales; el epitelio de los senos paranasales, epitelio para la cavidad bucal y nasal, y el esmalte dental.
- De la capa mesodérmica derivan los músculos y tejidos derivados del tejido conjuntivo, como lo son el hueso, cartílago, sangre, dentina, pulpa, cemento y ligamento periodontal.
- De la capa endodérmica deriva el epitelio del tracto gastrointestinal y glándulas asociadas. ⁶



Funciones

Las funciones epiteliales se dividen en dos tipos: las generales y las especiales. Por un lado, en las funciones generales se encuentra la protección, absorción y la secreción; por otro lado, en las funciones especiales se encuentra el transporte, la lubricación, función receptora, excreción, función inmunológica, función de sostén y nutrición. ^{2,3}

- Protección

Cuando se encuentra sobre la superficie libre el epitelio protege al cuerpo del daño; debido al espesor de cada epitelio éste protegerá contra el daño mecánico, químico, físico, biológico y osmótico. ^{1,3}

- Absorción

Es la función principal de aquellos epitelios que poseen microvellosidades mediante las cuales aumentan la superficie de contacto para así absorber nutrientes y de esta manera transportarlos hacia el TC adyacente y de ahí a los vasos sanguíneos. ³

- Secreción

Es una función de algunos epitelios simples en los que la célula epitelial secreta el producto, que puede ser proteico o mucoso, hacia la luz. ³

Funciones especiales

- Transporte

Es una función particular del epitelio respiratorio. Al inspirar aire se ingresan impurezas que pueden llegar hasta la tráquea y los bronquios. Desde allí, las impurezas se transportan desde sus epitelios hacia las vías respiratorias superiores, y son finalmente expectoradas o ingeridas. ³



- Lubricación

Es una función de algunas glándulas presentes en la mucosa y la submucosa del aparato digestivo.³

- Sensorial y sensitiva

Los epitelios están inervados, cumplen con esta función particularmente aquellos con funciones de tacto como el epitelio del pulpejo de los dedos, y sensitiva como el epitelio de la córnea.³

- Inmunológica

Los epitelios constituyen la primera barrera para la entrada de sustancias extrañas al organismo. Además, entre las células de un epitelio se pueden encontrar células con función inmunológica específica que forman parte del epitelio (células presentadoras de antígenos) y otras células no pertenecientes al epitelio que migraron desde el conectivo subyacente (linfocitos, neutrófilos).³

Clasificación

Los epitelios varían en su conformación debido a las funciones que deben cumplir. Su clasificación está dada de acuerdo a la cantidad de capas celulares y la forma de las células de la capa superficial. Si sólo hay una capa de células en el epitelio, se denomina simple. Si hay dos o más capas, el epitelio se denomina estratificado. De acuerdo con su altura, las células superficiales se clasifican en planas, cúbicas o cilíndricas.⁷

- Epitelio simple plano

Está constituido por una capa única de células planas que se adhieren unas a otras por sus bordes, su núcleo es oval y aplanado y se encuentra en el centro de la célula; en cortes perpendiculares estas células tienen una forma ahusada

y en estos cortes el núcleo sólo se encuentra en un pequeño número de células debido a que el citoplasma rodea a los núcleos.^{1,7}

- Epitelio cúbico simple

Está constituido por una sola capa de células de forma poligonal, cuyo núcleo es esférico y está ubicado en el centro.^{1,7} Cuando se observan en un corte perpendicular cada célula tiene un perfil cuadrado y un núcleo redondo. ¹

- Epitelio cilíndrico simple

Está constituido por células columnares, esto se debe a que su altura varía pudiendo ser desde algo mayor que las células cubicas hasta muy altas, cuando se observan en un corte perpendicular cada célula tiene un perfil rectangular; sus núcleos son ovoides y se ubican más cerca de la base de las células (figura 1). ^{1,7}

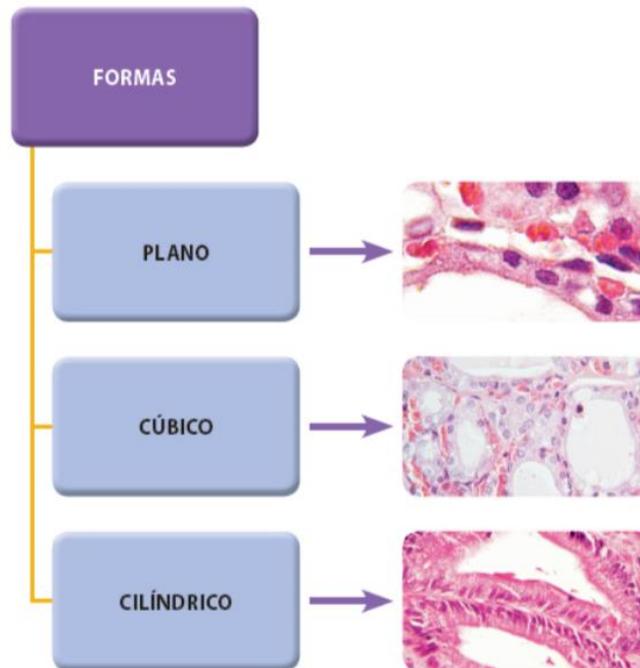


Figura 1 Diagrama de las formas de las células que constituyen los diferentes tipos de epitelio.



- Epitelio ciliado

En ocasiones la superficie libre del epitelio posee prolongaciones celulares móviles que tienen forma de pestaña y se denominan cilios; se encuentran en células especializadas cuyas funciones son transporte de líquido y película de moco.¹

- Epitelio no ciliado

Son células de forma cilíndrica, sus núcleos son ovales y se localizan en el centro de la célula o en la zona basal de la misma. ¹

- Epitelio pseudoestratificado

Se trata de un epitelio simple el cual tiene un aspecto estratificado, esto es consecuencia de un efecto de corte ya que las células no llegan a la superficie libre y se apoyan sobre la membrana basal.¹

- Epitelio estratificado

Hablamos de un epitelio grueso, el cual se caracteriza por tener un número de estratos celulares muy variados. La capa más próxima a la membrana basal está compuesta de células cúbicas o cilíndricas en empalizada, seguidas de varias capas poliédricas irregulares.¹

- Epitelio de transición

Algunos autores consideran al epitelio de transición como pseudoestratificado.¹ En un corte histológico se observan células grandes, globulosas, con un núcleo central y de cromatina muy densa en la capa apical; debajo de ésta se observan múltiples capas con núcleos redondos de cromatina más laxa, con un halo claro perinuclear y con citoplasmas ligeramente basófilos; las células adoptan una forma “de raqueta” ya que no pierden contacto con la membrana basal.³

- Epitelio cúbico y cilíndrico estratificado

Se trata de epitelios biestratificados, los cuales poseen núcleos redondos y ovalados.³ Figura 2

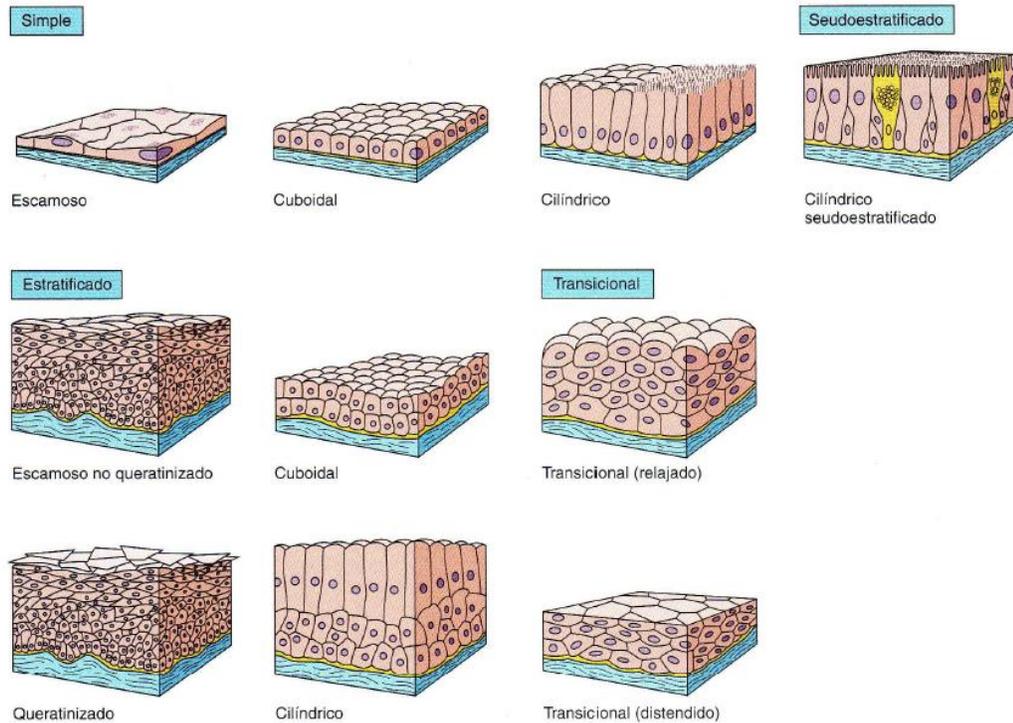


Figura 2 Tipos de epitelio.⁴

2.2 EPITELIO EN LA CAVIDAD BUCAL

Los tejidos blandos que revisten la cavidad bucal constituyen una membrana llamada mucosa, la cual está conformada por epitelio y un tejido conectivo subyacente denominado lámina propia; ambos están unidos por una membrana basal.⁸

Según su función y localización la mucosa de la cavidad bucal se clasifica en mucosa de revestimiento, mucosa masticatoria y mucosa especializada o sensitiva.⁸



2.2.1 Mucosa de revestimiento

Tapiza los carrillos, el paladar blando, las porciones laterales y la porción ventral de la lengua y la parte interna de la mucosa labial; por debajo de la lámina propia se encuentra otra capa conectiva submucosa, que le confiere gran movilidad.⁸

Por un lado, en la zona de los carrillos, vestíbulo de la boca y mucosa labial se trata de un epitelio no queratinizado de espesor grueso; por otro lado, en el paladar blando, las porciones laterales y la porción ventral de la lengua, en el piso de boca y en el surco gingival se habla de un epitelio no queratinizado delgado.^{8,9}

2.2.2 Mucosa masticatoria

Corresponde a la mucosa de la encía y el paladar duro. En este tipo de mucosa la lámina propia es fibrosa y la submucosa está ausente debido a que se fija fuertemente al hueso y carece de movilidad; se trata de un epitelio ortoqueratinizado de espesor grueso.^{8,9}

2.2.3 Mucosa especializada o sensitiva

Corresponde a la mucosa de la superficie dorsal de la lengua debido a que la mayoría de las papilas linguales poseen intraepitelialmente corpúsculos gustativos; se trata de un epitelio paraqueratinizado de espesor grueso.^{8,9}



2.3 CAMBIOS ADAPTATIVOS EN EL EPITELIO

Las adaptaciones son respuestas funcionales y estructurales reversibles a los cambios en los estados fisiológicos y a ciertos estímulos patológicos, frente a los cuales se desarrollan estados nuevos de equilibrio alterado, en los que la célula consigue sobrevivir y mantener su función.¹⁰

2.3.1 Hiperplasia

La hiperplasia se define como aumento del número de células en un órgano o tejido en respuesta a un estímulo endógeno o exógeno, debido a esto, la hiperplasia sólo tiene lugar cuando el tejido contiene células con capacidad de división o que contienen abundantes células troncales tisulares; sin embargo, es un fenómeno regulado que cesa al suspenderse el estímulo que lo desencadenó. Puede ser fisiológica o patológica.^{10,11}

- Hiperplasia fisiológica

La hiperplasia fisiológica se debe a la acción de factores de crecimiento y se registra en diversas circunstancias: cuando existe necesidad de aumentar la capacidad funcional de órganos sensibles a hormonas, o bien cuando hay necesidad de un aumento compensatorio tras una lesión o una resección.¹⁰

- Hiperplasia patológica

La mayoría de las formas de hiperplasia patológica son causadas por acciones excesivas o inapropiadas de hormonas o factores de crecimiento que actúan sobre células diana.¹⁰

En la cavidad bucal existen lesiones hiperplásicas llamadas proliferaciones reactivas, las cuales son provocadas por traumatismos o irritación crónica y se presentan autolimitadas al tejido conjuntivo (figura 3).¹¹



Figura 3 Proliferación reactiva en cavidad bucal asociada a traumatismo.

2.3.2 Atrofia

La atrofia se define como reducción del tamaño de un órgano o tejido por disminución de las dimensiones y el número de las células, se considera un proceso de adaptación gradual que puede ser fisiológico o patológico. Por un lado, la atrofia fisiológica es habitual durante el desarrollo normal ya que es frecuente la involución de distintos órganos y tejidos durante la vida; en cambio, la atrofia patológica tiene diversas causas y puede ser local o generalizada (figura 4). Entre las causas habituales están:^{10,11}

- Falta de actividad o atrofia por desuso.
- Atrofia por pérdida de inervación.
- Atrofia senil.
- Disminución del riego sanguíneo.
- Nutrición inadecuada.
- Pérdida de estimulación endócrina.
- Presión. La compresión de los tejidos durante cualquier periodo de tiempo puede ser causa de atrofia.^{10,11}

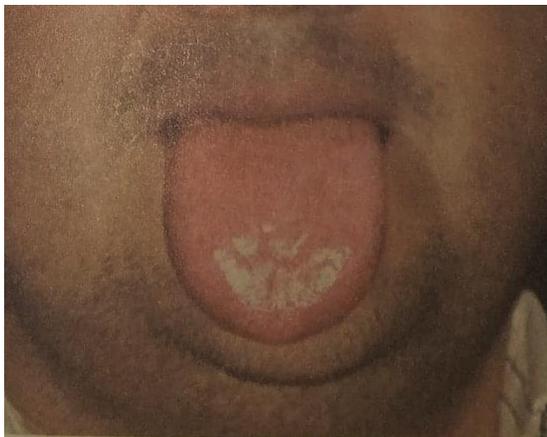


Figura 4 Atrofia de las papilas linguales.

2.3.3 Metaplasia

La metaplasia es un cambio reversible en el que un tipo celular diferenciado (epitelial o mesenquimatoso) es reemplazado por otro tipo de células de la misma extirpe.^{9,10} A menudo constituye una respuesta adaptativa en la que un tipo celular sensible a una determinada clase de agresión es sustituido por otra clase de células diferenciadas maduras que soporte mejor las condiciones adversas, no obstante, da lugar a disminución de las funciones o al incremento de la propensión a la transformación maligna.¹⁰

- Mecanismos de la metaplasia

La metaplasia no se debe a un cambio en el fenotipo de un tipo celular ya diferenciado, sino que es consecuencia de una reprogramación de células troncales que se sabe que existen en los tejidos normales, o de células mesenquimatosas no diferenciadas presentes en el tejido conjuntivo. En un cambio metaplásico estas células precursoras se diferencian siguiendo una nueva vía (figura 5).¹⁰

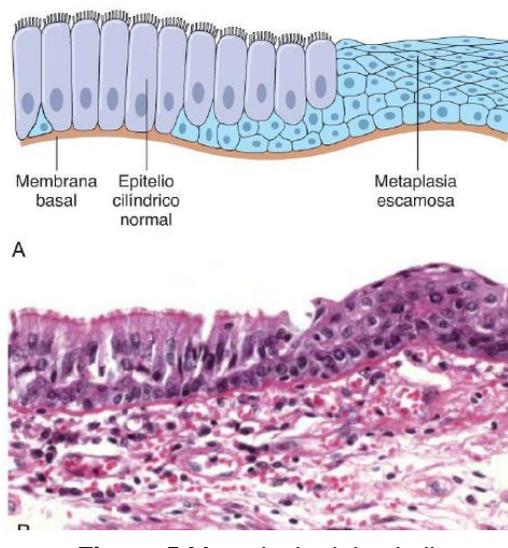


Figura 5 Metaplasia del epitelio cilíndrico a escamoso.

2.4 CAMBIOS REACTIVOS EPITELIALES ASOCIADOS A INFLAMACIÓN

2.4.1 Acantosis

Se trata de una lesión cutánea que se caracteriza por el engrosamiento del cuerpo mucoso de Malpighi, esto se debe a la multiplicación exagerada de células; clínicamente describe una piel con engrosamiento de pigmentación que comúnmente se manifiesta como parches o placas simétricas, hiperpigmentadas, oscuras y ásperas de aspecto aterciopelado; es un cambio cutáneo reactivo estrechamente asociado con la obesidad, resistencia a la insulina, diabetes tipo 2, hiperinsulinemia, endocrinopatía o malignidad, en particular adenocarcinoma gastrointestinal. Las áreas más comúnmente afectadas son: cuello, pliegues de la piel de las mamas, dorso de las manos, axilas, codos y rodillas (figura 6).^{11,12}

La histopatología se caracteriza principalmente por hiperqueratosis y papilomatosis epidérmica e hiperpigmentación basal con melanosis leve o melanocitosis discreta.¹²

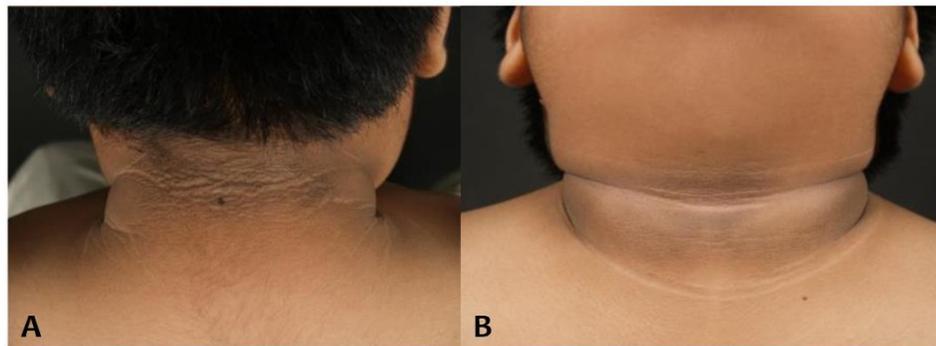


Figura 6 A) Acanthosis en la nuca B) acantosis en el cuello.



2.4.2 Edema intra e intercelular

El edema es el resultado del desplazamiento de líquido de los vasos al espacio intersticial; el líquido puede contener muy pocas proteínas (*trasudado*) o muchas (*exudado*); el edema se produce cuando la filtración capilar supera los límites del drenaje linfático, produciendo signos y síntomas clínicos notables.^{10,13} El líquido entre los espacios intersticial e intravascular está regulado por el gradiente de presión hidrostática capilar y el gradiente de presión oncótica a través del capilar. La acumulación de líquido ocurre cuando las condiciones locales o sistémicas interrumpen este equilibrio, lo que lleva a aumento de la presión hidrostática capilar, aumento del volumen de plasma, disminución de la presión oncótica del plasma, aumento de la permeabilidad capilar u obstrucción linfática.¹³

2.4.3 Exocitosis leucocitaria

La exocitosis se define como la infiltración de células inflamatorias en la epidermis.¹⁰



2.5 DISPLASIA EPITELIAL

2.5.1 Definición

El término displasia significa crecimiento desordenado; etimológicamente proviene del griego *sys* que significa mal y *plassein* que significa forma o modelo, de manera que cuando se aplica al epitelio hace referencia a alteraciones de volumen, forma y organización de las células.^{10,14}

El concepto actual de displasia epitelial es un concepto global que señala la existencia de una combinación variable de fenómenos microscópicos indicativos de un desorden de la maduración epitelial y de una alteración de la proliferación celular; es así que se utiliza el término para hacer referencia a los cambios durante la cronicidad, progresividad y premaglinización de una lesión.^{14,15}

2.5.2 Características histológicas

La displasia se da principalmente en los epitelios y se caracteriza por una serie de alteraciones tales como la pérdida de la uniformidad de cada célula y desorientación arquitectónica.¹⁴

Es posible encontrar displasia epitelial en la cavidad oral, en lesiones que clínicamente son diagnosticadas como *leucoplasia*, *eritroplasia* e incluso el *carcinoma in situ* o *carcinoma intraepitelial* y en el *epidermoide*.¹¹

Las células displásicas presentan mucho pleomorfismo y, con frecuencia, contienen grandes núcleos hipercromáticos con un elevado índice nucleocitoplásmico. El tejido presenta una arquitectura desordenada y en consecuencia un epitelio escamoso displásico; se pierde de forma parcial o completa la maduración progresiva normal de las células altas de la capa basal hacia escamas aplanadas de la superficie, y se aprecia el reemplazo de ese epitelio por células de apariencia basal con núcleos hipercromáticos.¹¹



Además, hay más figuras mitóticas que en el tejido sano y, en lugar de confinarse a la capa basal, se detectan en todos los planos, incluidas las células superficiales, sin embargo, las células mantienen semejanza con las células progenitoras basales al desplazarse hacia la superficie epitelial, debido a la falta de diferenciación.^{10,11}

En 1978 la Organización Mundial de la Salud (OMS) establece los criterios histológicos arquitectónicos y citológicos que ocurren en la displasia epitelial, los cuales son:

- Bordes epiteliales en forma de gota.
- Hiperplasia de la capa basal.
- Estratificación celular epitelial irregular.
- Alto número de mitosis y presencia de mitosis anormales.
- Queratinización individual "perlas epiteliales" en la capa espinosa.
- Queratinización prematura (disqueratosis).
- Pleomorfismo nuclear y celular.
- Hiperchromatismo nuclear.
- Alteración de la relación núcleo-citoplasma.
- Nucléolos aumentados de volumen.
- Pérdida de la polaridad de las células basales.
- Variación anormal en el tamaño del núcleo.
- Variación anormal en el tamaño de las células.
- Incremento en el número de los núcleos.
- Pérdida o reducción de la adherencia de las células epiteliales.^{14,16}

La displasia es un cambio cancerizable del epitelio que puede ser en algunos casos reversible cuando es leve o moderada, de ahí la importancia de un diagnóstico precoz (figura 7).¹⁷

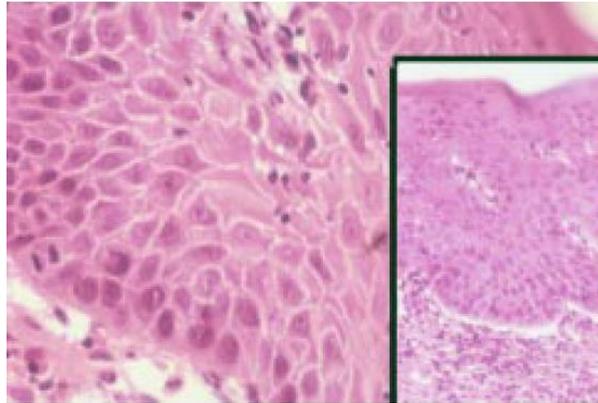


Figura 7 Displasia. El epitelio muestra cambios citológicos que indican una desorganización histológica y funcional. El recuadro ilustra cambios estructurales donde se observa pérdida de las digitaciones epiteliales y una ligera infiltración inflamatoria reactiva en el tejido conjuntivo.

La OMS en el 2017 mantiene un sistema de clasificación de 3 niveles para la Displasia Epitelial Oral: leve, moderada, y severa. El carcinoma in situ es sinónimo de una displasia severa en este sistema de clasificación. Existe también un sistema binario que clasifica a la displasia epitelial en displasia de bajo y alto riesgo.¹⁶

La mayoría de las displasias epiteliales orales son de tipo queratinizado, y el criterio de displasia de espesor total aplicado a las displasias no queratinizadas es inapropiado.¹⁶

2.5.2.1 Displasia leve

La displasia leve sucede cuando las alteraciones se producen en el tercio basal del epitelio, en las capas basal y parabasal, exhibiendo alteraciones en la citología y/o arquitectura.^{14,16} Figura 8

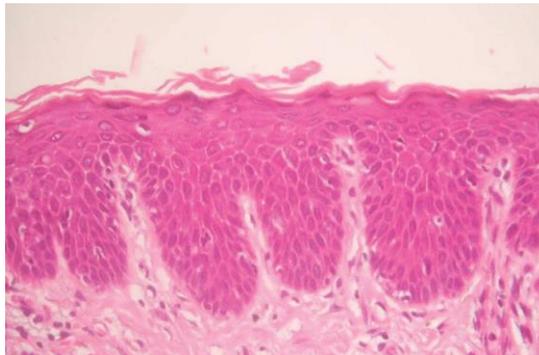


Figura 8 Displasia epitelial leve (H&E 40x).¹⁵

2.5.2.2 Displasia moderada

La displasia moderada ocurre cuando los cambios displásicos afectan a los dos tercios inferiores del epitelio.¹³ Presenta un desorden en la maduración de la capa basal extendiéndose hacia la parte media de la capa espinosa.¹⁶

2.5.2.3 Displasia severa

La displasia severa ocurre cuando los cambios afectan a más de dos tercios del espesor del epitelio sin llegar a involucrarlo por completo.¹⁴ Revela una maduración anormal extendiéndose desde la capa basal de células hacia un nivel menor de la totalidad del espesor epitelial.¹⁶ Figura 9

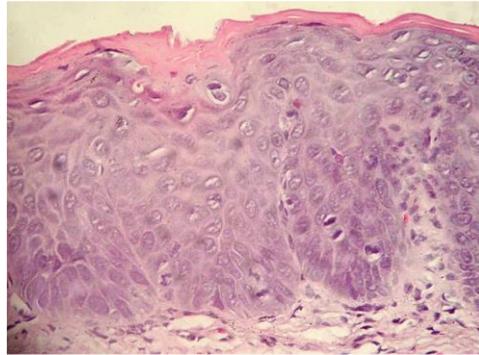


Figura 9 Displasia epitelial moderada-severa (H&E 40x).¹⁵

2.5.2.4 Carcinoma in situ

Esta lesión ya no se considera reversible, sin embargo, pueden transcurrir varios años hasta que se produzca la invasión. Cuando focos de células epiteliales sobrepasan la capa basal, invadiendo la lámina propia, ya se considera un carcinoma invasivo.¹⁸ Figura 10

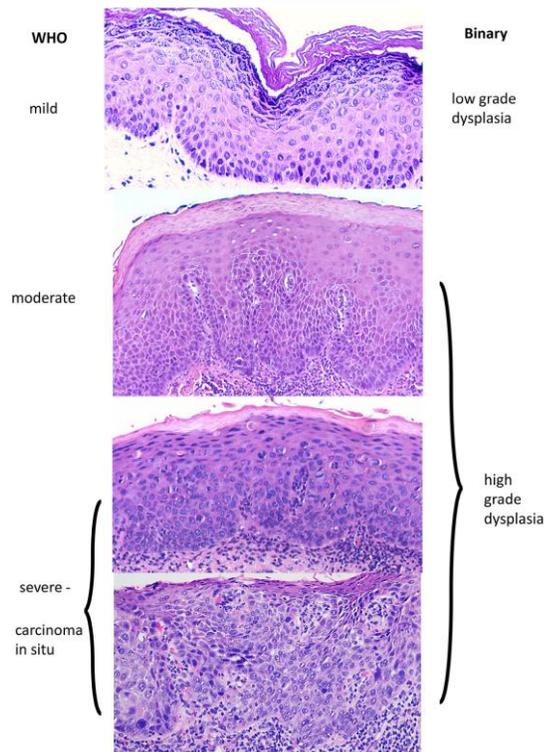


Figura 10 Comparación del sistema de clasificación de la OMS contra el sistema de clasificación binario para las displasias epiteliales orales.¹⁶



2.6 DESÓRDENES POTENCIALMENTE CANCERIZABLES

2.6.1 Leucoplasia

En 1877 el dermatólogo Ernst Schwimmer introduce el término leucoplasia, el cual proviene del griego *leuco* que significa blanco y *plakos* que significa placa.¹⁹ La leucoplasia es un término clínico, y la lesión se define como una placa blanca, firmemente adherida a la mucosa oral, que no puede ser clasificada como cualquier otra entidad. Es una lesión precancerígena; no obstante, la tasa de transformación maligna de la leucoplasia es relativamente baja, alrededor del 1-2% en 5 años, e incluso en los fumadores la gran mayoría de las leucoplasias histológicamente no muestran displasia y no tienen riesgo de transformación maligna.^{20,21,22}

Debido a su complejidad etiológica, clínica e histopatológica, algunos autores como Borello, en 1971, trataron de simplificar la situación, estableciendo las premisas conceptuales más importantes de la lesión:

- 1) Su etiología es múltiple.
- 2) Clínicamente se manifiesta por una placa de color más o menos blanco, delgada o gruesa, lisa o rugosa, plana o elevada, localizada o difusa, única o múltiple, íntegra o fragmentada, casi siempre asintomática, de evolución crónica.
- 3) Histológicamente muestra cambios muy variables, como son hiperplasia y queratinización del epitelio (ortoqueratosis, paraqueratosis, disqueratosis) con infiltración linfoplasmocitaria de la lámina basal y a veces con esclerosis variable.
- 4) Es susceptible de evolución con cambios tales que en una pequeña proporción de casos es capaz de malignizarse.¹⁹



Posteriormente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) acuñó el término leucoplasia y precisó su definición como: <<una placa blanca situada sobre la mucosa bucal que no puede ser eliminada mediante rascado *ni clasificada como ninguna otra enfermedad diagnosticable*>>. ²¹

No obstante, en 1983, un grupo de expertos modificó esta definición de la OMS, excluyendo aquellas lesiones en las que se pudiera determinar el agente etiológico que las originó, a excepción de las provocadas por el tabaco, por lo tanto, la definición de leucoplasia quedó como: “placas blancas que no se pueden caracterizar clínica o histopatológicamente como ninguna otra enfermedad y que no están asociadas con ningún agente etiológico físico o químico a excepción del consumo del tabaco”. ¹⁹

La definición usada más recientemente para referirse a la leucoplasia es: “placas predominantemente blancas de riesgo cuestionable, que han excluido otras enfermedades o trastornos conocidos que no conllevan un mayor riesgo de cáncer”. ²³

La leucoplasia oral puede ser asintomática o puede mostrar una apariencia clínica benigna haciendo que en ocasiones sea difícil diferenciarla de desórdenes reactivos o inflamatorios de la mucosa oral. ²³



Etiología

La etiología exacta sigue siendo desconocida, sin embargo, el consumo de tabaco, alcohol, la fricción local crónica, y *Candida albicans* son factores importantes predisponentes, así como el virus del papiloma humano (VPH) que también puede estar involucrado en la patogenia de la leucoplasia oral; sin embargo, algunas leucoplasias son idiopáticas por lo que se desconoce el factor de riesgo.^{20,23}

Características clínicas

Generalmente, las leucoplasias son diagnosticadas después de la cuarta década de vida; son más comunes en hombres, y es seis veces más común entre fumadores que entre los no fumadores.²³

Las leucoplasias idiopáticas y las lesiones displásicas no tienen una apariencia clínica específica, pero son resistentes y adherentes y, por lo general, forman placas cuya superficie está ligeramente elevada sobre la mucosa circundante; la superficie suele ser irregular. Las manchas blancas pequeñas y de aspecto inocente son tan probables de mostrar displasia epitelial como las grandes e irregulares; sin embargo, las lesiones con áreas rojas, nodulares o verrugosas deben considerarse con especial sospecha.²¹

Los sitios de afección más comunes son la mucosa bucal y alveolar y el labio inferior. Las lesiones en el piso de la boca, bordes laterales de la lengua y en el labio inferior, muestran más atipia epitelial o incluso crecimiento maligno.²⁴ En la práctica clínica existen dos tipos principales de leucoplasia: homogénea y no homogénea; la distinción entre ambas se basa en el color de la superficie y las características morfológicas (espesor y textura).²¹

Las leucoplasias homogéneas son generalmente planas y delgadas, con una superficie suave y presentan grietas poco profundas, en cambio, las

leucoplasias no homogéneas comprenden tres tipos clínicos y son usualmente sintomáticas.^{22,23}

- **Moteada** mezcla entre colores rojo y blanco, también llamada eritroleucoplasia, no obstante, en esta lesión predomina el color blanco.²³ Las áreas rojas corresponden a atrofia epitelial o a infección secundaria por *Candida albicans*.²⁵
- **Nodular** se trata de crecimientos polipoides pequeños, redondeados, con excrecencias rojas o blancas.
- **Verrucosa o exofítica** las cual posee una superficie de apariencia arrugada.²³ Figura 11

Generalmente, la mayoría de las leucoplasias son asintomáticas y se encuentran durante una examinación visual de rutina. Los síntomas, si los presenta, están asociados con la variante moteada no homogénea e incluyen incomodidad, hormigueo y sensibilidad al tacto, bebidas calientes o comidas picantes.²³

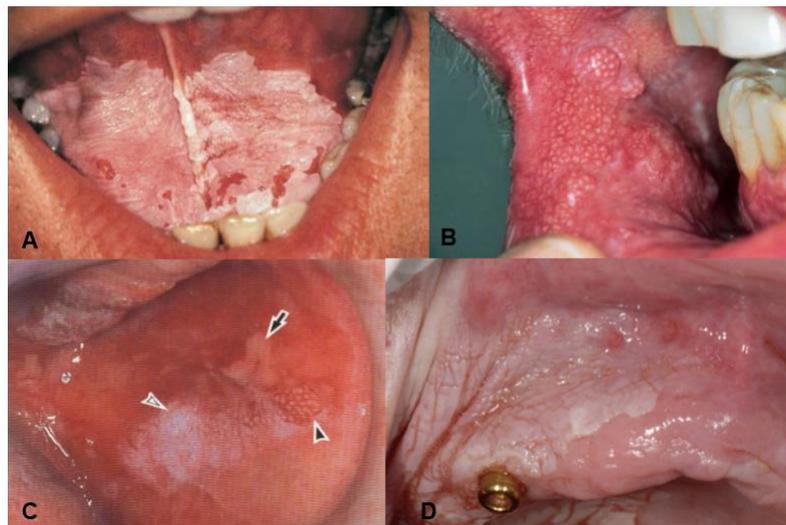


Figura 11 Aspecto clínico de la leucoplasia: A) leucoplasia homogénea B) leucoplasia moteada C) leucoplasia nodular (flechas) D) leucoplasia verrucosa.^{20,22,23}



Examen histopatológico

Las razones para realizar biopsia en este tipo de lesiones son:

- A. Para excluir otras patologías (incluyendo el carcinoma) que pudieran ser responsables del parche o placa blanca.
- B. Para evaluar la presencia y el grado de displasia epitelial.
- C. Para evaluar cualquier colonización de *Candida albicans* presente en el epitelio.²³

Diagnósticos diferenciales

Entre los diagnósticos diferenciales para la leucoplasia oral se encuentran: liquen plano, estomatitis por contacto con canela, candidiasis, leucoplasia vellosa, queratosis friccional (hábito de morderse los carrillos), queratosis de la cresta alveolar, leucoedema, queratosis por tabaco, estomatitis urémica, nevo esponjoso blanco, gránulos de Fordyce y lupus eritematoso discoide.^{20,25}

Tratamiento y pronóstico

La remoción quirúrgica es el tratamiento de elección, en conjunto con la eliminación de los factores predisponentes tales como hábitos o factores irritantes.^{20,25}

No hay evidencia de que un trauma menor continuo tenga potencial carcinogénico.²⁵



2.6.2 Eritroplasia

El término eritroplasia fue introducido por Queyrat en 1911 cuando describió las lesiones sifilíticas genitales, debido a esto se lo conoce también con el término eritroplasia de Queyrat; se trata de una lesión precancerígena que se presenta con frecuencia en el glande del pene y, rara vez, en la mucosa oral, sin embargo, cuando se presenta, conlleva el mayor riesgo de transformación maligna y las lesiones a menudo ya son malignas en la primera biopsia.^{20,21,26} La eritroplasia se define como “un parche rojo ardiente que no puede ser caracterizado clínicamente o patológicamente como ninguna otra enfermedad definible”.²³

Etiología

Por lo general, la eritroplasia oral se considera una variante roja de una lesión potencialmente cancerizable con etiología y patogénesis similar a la de la leucoplasia oral. Varios estudios han señalado que hábitos como fumar, masticar de tabaco, y masticar betel con o sin consumo de tabaco y alcohol son factores etiológicos importantes. Como cofactor etiológico de la eritroplasia, también se han mencionado las infecciones por el virus del papiloma humano (VPH), y en un estudio, 5 de 10 eritroplasias estudiadas demostraron ser positivas al VPH, y todas las lesiones que desarrollaron cáncer fueron igualmente positivas al VPH.²⁷

Características clínicas

La eritroplasia es una lesión potencialmente cancerizable asintomática, que aparece como una mancha o placa eritematosa, aislada, de superficie lisa y usualmente de contorno irregular a pesar de que son bien definidas, además tienen una brillante superficie aterciopelada, ocasionalmente la superficie es granular.^{23,26}

El epitelio es atrófico y esto, junto con la inflamación, explica el color rojo que se observa clínicamente.²⁷

Esta afección tiende a situarse profundamente en las superficies epiteliales, en cualquier sitio de la mucosa oral, y posee bordes bien circunscritos o definidos, con una extensión que varía desde milímetros a varios centímetros.²⁶

Las lesiones rojas pueden estar asociadas a manchas blancas o placas pequeñas. El piso de la boca, el área retromolar, el paladar blando y la lengua son los sitios de afección más comunes.¹⁶ Las lesiones aparecen en ambos sexos, pero muestran mayor incidencia en los hombres y en las edades comprendidas entre 40 y 60 años.²⁶ Figura 12

La mayoría de los casos de eritroplasia parecen tener cierto grado de displasia epitelial o carcinoma franco, esto significa que más del 91% de las eritroplasias muestran histológicamente displasia grave, carcinoma in situ o carcinoma de células escamosas temprano invasivo en el momento del diagnóstico.^{20,27}

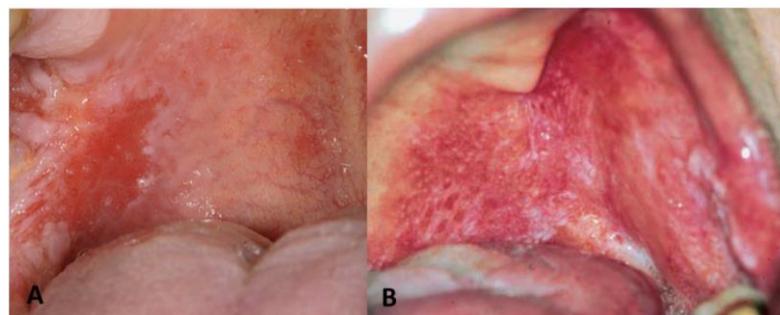


Figura 12 A) Eritroplasia en zona de paladar blando B) eritroplasia de la mucosa bucal.^{20,23}



Los cambios originados en el epitelio mucoso se deben a la acción del tabaco, ya sea por el calor causado durante su combustión o por las sustancias químicas incluidas.²⁶

Examen histopatológico

Establecer el diagnóstico por medio de la biopsia es esencial debido a que de esta forma se puede distinguir a la eritroplasia de cualquier otra alteración inflamatoria en la mucosa oral; la biopsia debe realizarse de manera urgente porque en muchos de los casos, la eritroplasia presenta mayor grado de displasia o puede albergar carcinoma in situ.²³

Diagnósticos diferenciales

Entre los diagnósticos diferenciales para la eritroplasia oral se encuentran: la candidiasis eritematosa, liquen plano atrófico y otras formas de mucositis, lupus eritematoso discoide, irritación local, carcinoma de células escamosas en etapa temprana; otras consideraciones son desórdenes erosivos, gingivitis descamativas, penfigoide y otras condiciones inflamatorias y/o infecciosas.^{20,22,23}

Tratamiento y pronóstico

El tratamiento consiste en la escisión quirúrgica.²⁰ Algunas lesiones pueden resolverse, mientras que otras desarrollan malignidad, esta última ocurre con tasas del 14% al 50%. Desafortunadamente, en la actualidad no existe una herramienta de diagnóstico confiable para identificar exactamente aquellas lesiones que progresarán a cáncer. Para obtener el mejor pronóstico posible, los pacientes con estas lesiones deben tener seguimiento a intervalos cortos independientemente de la posible relación con otras enfermedades o agentes irritantes.²⁷



2.6.3 Liquen plano

El liquen plano es una enfermedad inflamatoria crónica común de la piel y membranas mucosas, que también puede involucrar el cabello y las uñas.^{21,24} De acuerdo con Jungell, en 1991, el término liquen plano procede de la botánica, sin embargo, de trata de una enfermedad dermatológica con un amplio espectro de manifestaciones clínicas.²²

Etiología

La etiología aún es desconocida y se considera en su mayoría como un proceso multifactorial con diferentes factores desencadenantes, no obstante, debido al infiltrado existente predominantemente de linfocitos T, indica una alteración inmunológica del epitelio mediada por células; por lo tanto, se considera que el estrés, la ansiedad y otros factores relacionados con el sistema inmunitario pueden ser factores etiológicos que probablemente desencadenen esta enfermedad.^{22,28}

Características clínicas

Las manifestaciones orales del liquen plano varían de paciente a paciente, aunque generalmente se manifiesta con formas reticulares o atrófico-erosivas y potencialmente puede afectar a la piel, mucosas y anexos cutáneos, siendo frecuente que las lesiones bucales precedan a las cutáneas o que sea única la localización intraoral.^{23,29}

Las lesiones en la cavidad oral generalmente son múltiples y tienen una distribución simétrica, estas lesiones pueden ser asintomáticas o pueden causar dolor, especialmente si son de tipo atrófico; típicamente las lesiones son bilaterales, su localización más común es sobre la lengua y en los bordes laterales, en la mucosa bucal, el piso de la boca o la encía; suele ser rara en el paladar. En la mucosa bucal y en los bordes laterales de la lengua presentan

una red de encaje bilateral de estrías blancas, en ocasiones se puede presentar como placas, simulando leucoplasia.^{23,25}

La presentación clínica del liquen plano oral se puede dividir en varios subtipos clínicos: lineal, reticular, anular, papilar, atrófico y ulcerativo; los tipos bullosos y pigmentados son raros. Los pacientes algunas veces pueden tener manifestaciones orales simultáneas de más de un subtipo de liquen plano.^{20,23}

El liquen plano reticular es el más frecuente; son características las estrías de Wickham (pápulas blancas que se juntan para formar una red), en la mayoría de los casos afecta la mucosa yugal, seguida de la lengua, los labios y el paladar, igualmente las lesiones suelen ser simétricas y la mayoría de los pacientes se

refieren asintomáticos.^{20,22,23} Figura 13

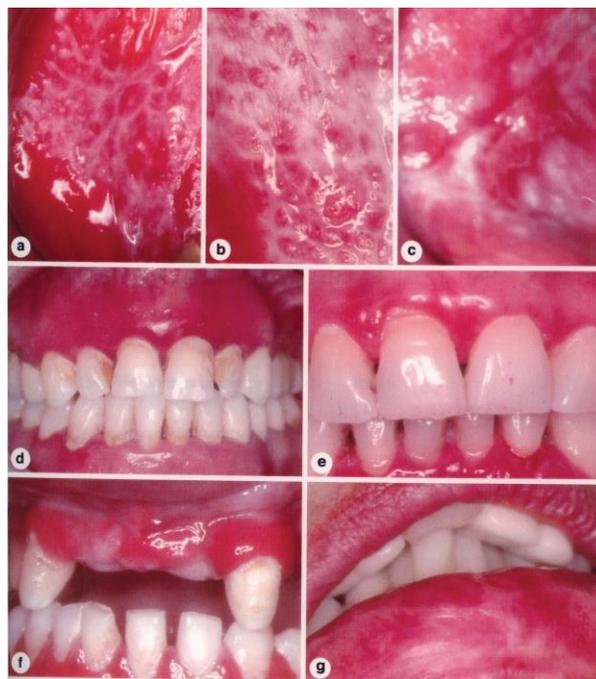


Figura 13 a) estrías de Wickham de un liquen plano reticular localizado en la mucosa yugal retrocomisural b) estrías de Wickham de un LPO reticular en el carrillo c) liquen erosivo ulcerado en carrillo d) gingivitis descamativa correspondiente a un LPO a nivel de encía e) gingivitis descamativa en un LPO en la encía f) gingivitis descamativa correspondiente a un LPO a nivel de encía g) LPO a nivel del labio inferior.²⁹



Examen histopatológico

El examen histopatológico es muy útil. Se debe tomar una biopsia, particularmente cuando las estrías están mal definidas, las placas están presentes o las lesiones son de alguna otra forma inusual; también se puede usar inmunofluorescencia directa, aunque las características no son específicas.^{20,21}

Diagnósticos diferenciales

Entre los diagnósticos diferenciales para el liquen plano oral podemos destacar: lupus eritematoso discoide, candidiasis, enfermedad de injerto contra huésped, lengua geográfica, leucoplasia, eritroplasia, penfigoide cicatrizal, pénfigo, penfigoide bulloso, estomatitis ulcerativa crónica, quemaduras químicas, hiperqueratosis, psoriasis y nevo esponjoso blanco.^{20,21, 29}

Tratamiento y pronóstico

No se necesita tratamiento en lesiones asintomáticas, sin embargo, cuando existe sintomatología, el tratamiento se enfoca en eliminar las úlceras, aliviar los síntomas y reducir el riesgo de una posible malignización.^{20,29} El primer paso es eliminar los factores traumáticos próximos a la lesión y los factores irritantes locales como el tabaco y alcohol. La higiene bucal debe incluir la eliminación los depósitos de cálculo dental y se debe modificar la dieta por una que sea rica en frutas y vegetales; igualmente se tratará de reequilibrar psicológicamente al paciente.^{25,29}

Los medicamentos utilizados son esteroides, retinoides y ciclosporinas; si existiera sobreinfección por *Candida albicans* se puede tratar con antimicóticos.^{22,29} Aunque la mayoría de los casos de afectación cutánea desaparecen dentro de 2-3 años, las lesiones orales pueden ser notablemente



persistentes y muchos casos nunca se resuelven; pueden dar lugar a lesiones blancas, zonas atróficas o úlceras superficiales.²⁴

2.6.4 Disqueratosis congénita

La disqueratosis congénita es un desorden raro causado por una falla en la médula ósea.³⁰

El primer reporte de esta enfermedad lo realizó Zinsser en 1910, seguido por Engman en 1926 y finalmente Cole en 1930, debido a esto, la disqueratosis congénita también se conoce como síndrome de Zinsser-Engman-Cole.^{30,31}

Se trata de una genodermatosis infrecuente que se distingue por presentar una triada característica compuesta por hiperpigmentación cutánea reticulada, distrofia ungueal y leucoplasia de las mucosas; presenta mayor disposición al desarrollo de neoplasias malignas.³⁰

La disqueratosis congénita es relativa a la disfunción de la telomerasa, enzima que participa en la replicación y mantenimiento de los telómeros; todos los genes asociados con este síndrome (CTC1, DKC1, TERC, TERT, TINF2, NHP2, NOP10 y WRAP53) codifican proteínas en la telomerasa, es por ello que si la actividad en dicha enzima se altera, se producen anomalías tanto en la síntesis proteica como en la división celular, lo que explica que se afecten los tejidos de más alto recambio celular y tengan una mayor disposición al desarrollo de neoplasias.^{30,32}

Etiología

Es un trastorno que predomina en el sexo masculino, se transmite por un patrón de herencia recesivo ligado al cromosoma X; no obstante, se han reportado casos de herencia autosómica recesiva y dominante.³³

Características clínicas

Se caracteriza por presentar hiperpigmentación, áreas atróficas de la piel, distrofia de las uñas de manos y pies, telangiectasia, hiperhidrosis, blefaritis y ectopión, anemia y manifestaciones orales que consisten en ampollas recurrentes, atrofia epitelial y leucoplasia; de igual manera puede presentarse carcinoma de células escamosas.²⁰ Figura 14

La disqueratosis congénita puede presentarse de distintas formas además de la triada clásica también pudiera presentar otros síntomas como la epífora, periodontitis, taurodontismo, enfermedades cardíacas congénitas y fibrosis pulmonar.³⁰

También se han observado alteraciones odontológicas con pérdida prematura de los dientes y anomalías en los mismos, así como alteraciones óseas manifestadas como osteoporosis, necrosis avascular e hipoplasia maxilar.³³



Figura 14 a) Hiperpigmentación cutánea reticulada b) leucoplasia en la lengua c) alteraciones ungueales.^{30,32,33}



Diagnósticos diferenciales

El diagnóstico de la disqueratosis congénita generalmente se hace en base de la triada clásica mucocutánea: leucoplasia oral, distrofia ungueal y pigmentación reticular.³⁰

Entre los diagnósticos diferenciales se encuentran la leucoplasia, liquen plano, epidermólisis bullosa y la pachionichia congénita.²⁰

Tratamiento y pronóstico

Como no existe tratamiento específico contra esta condición, se han prescrito esteroides, andrógenos y trasplante de médula ósea para mejorar las condiciones del paciente.³³

El pronóstico está condicionado por la insuficiencia de la médula ósea y sus complicaciones.³² La principal causa de muerte es consecuencia del fracaso medular en un 70%, alteraciones pulmonares en un 11% y aparición de tumores malignos o neoplasias en un 7%; debido a esto los pacientes no sobreviven más de 44 años.^{30,31,33}

Las lesiones de la leucoplasia oral son propensas a desarrollar carcinoma de células escamosas y el sitio de localización más común es la lengua, seguido por la mucosa bucal.³⁰



2.7 BIOMARCADORES COMO PREDICTORES DE PROGRESIÓN MALIGNA

Como la transformación maligna de la displasia es difícil de predecir, numerosos proyectos de investigación están dirigidos hacia la identificación de marcadores sustitutos de transformación maligna. Las posibilidades que se han explorado incluyen la aneuploidía del ADN, la pérdida de heterocigosidad por los marcadores microsatélite, las mutaciones en la proteína p53 y el aumento de la expresión de la actividad de la telomerasa.³⁴

La carcinogénesis oral es un proceso multifactorial que involucra una acumulación progresiva de alteraciones o mutaciones genéticas y anomalías cromosómicas. La transición del epitelio oral normal a la displasia oral y el cáncer resulta de alteraciones genéticas y epigenéticas acumuladas; sin embargo, las bases moleculares del cáncer son complejas y crean dificultades significativas en determinar la probabilidad de la transformación maligna de las lesiones epiteliales orales potencialmente cancerizables.^{35,36}

Las investigaciones están enfocadas principalmente en descifrar las vías moleculares de la carcinogénesis oral para descubrir marcadores pronósticos de confianza.³⁶

2.8 TELÓMEROS

Los telómeros fueron descubiertos en 1938 por el genetista Hermann Joseph Müller, el cual realizó estudios a través de los cuales observó los daños en el genoma de los cromosomas irradiados con rayos X y notó que no había cambios en los extremos cromosómicos gracias a la presencia de un casquete protector que él mismo inicialmente llamó “gen terminals” y después telómero.



Etimológicamente proviene del griego *telos* que significa fin y *emeros* que significa parte.³⁷

2.8.1 Estructura y función del telómero

Los telómeros son estructuras de proteínas de ADN especializadas que tapan los extremos de los cromosomas lineales, es por ello que su función más relevante es la de proteger la estructura terminal del cromosoma de la fusión, la degradación del ADN y la recombinación cromosómica aberrante, esto a su vez requiere del mantenimiento del DNA telomérico en una longitud crítica que permita el acople de proteínas teloméricas para la formación de la caperuza.^{37,38,39}

En los humanos, el DNA del telómero está constituido por repeticiones tándem hexaméricas no codificantes del tipo TTAGGG/AATCCC, las cuales están repetidas entre 150 y 2000 veces, encontrándose mayor número de repeticiones en el extremo terminal 3 el cual finaliza en repeticiones de cadena simple, haciendo que sobresalga de 12-15 nucleótidos y sea más rica en guanina que la hebra complementaria en el extremo 5; ese extremo saliente es reconocido por proteínas ligantes del telómero (TBP, telomere binding proteins) que actúan a modo de caperuza protectora.^{37,38,39}

Los telómeros también evitan que los extremos del cromosoma sean confundidos por DNA dañado o roto, de tal forma que un extremo dañado de DNA o la pérdida de la estructura telomérica en un cromosoma en la célula, tiene como consecuencia la generación de señales necesarias para la detención del ciclo celular; así mismo, cuando un telómero llega a ser demasiado corto también se induce la detención del ciclo celular y este a su vez induce una respuesta a daños en el DNA.³⁷



Actualmente, se sabe que la longitud de los telómeros varía dependiendo de la edad, teniendo una longitud aproximada de 15 kb al nacimiento hasta menos de 5 kb en edad avanzada.⁴⁰

Sin la protección de los telómeros, los cromosomas expuestos o críticamente cortos pueden dar lugar a una fusión cromosómica de extremo a extremo, la formación de cromosomas dicéntricos y, en última instancia, la aneuploidía.⁴¹

2.9 TELOMERASA

2.9.1 Estructura y función

La telomerasa es una polimerasa dependiente de ARN que sintetiza repeticiones cortas de secuencias de ADN teloméricas de TTAGGG, por lo cual mantiene la longitud de los extremos cromosómicos sintetizando secuencias teloméricas, en consecuencia, proporciona la base molecular para un potencial proliferativo ilimitado.^{36,38,42,43}

La telomerasa humana tiene un peso molecular de aproximadamente un megadalton, variando este valor según el método de purificación.³⁷

La telomerasa consta de dos componentes esenciales: uno es el componente de ARN funcional (hTR o hTERC) que sirve como plantilla para la síntesis de ADN telomérico en los extremos cromosómicos y el otro es la proteína catalítica (hTERT) con actividad de transcriptasa inversa.^{36,40,44}

Su estructura se divide en tres subunidades: hTERT, TP_1 y hTR:

- La subunidad *hTERT* es la transcriptasa reversa, que permite la síntesis de DNA a partir del RNA contenido en la subunidad hTR; hTERT se localiza en la banda cromosómica 5p15.3^{44,45}
- TP_1 es la proteína asociada a telomerasa. Consisten en un grupo de ribonucleoproteínas accesorias que están estrechamente involucradas en la regulación de la longitud del telómero.



- La subunidad *hTR* actúa como plantilla para unión y extensión de los telómeros.⁴⁵

La capacidad proliferativa de células somáticas normales está limitada por una pérdida gradual de las repeticiones de nucleótidos, llamados telómeros. El mantenimiento de los telómeros funcionales en los extremos del cromosoma es esencial para la supervivencia celular, por lo tanto, su acortamiento crítico impulsa la inestabilidad cromosómica en las células de los mamíferos, es por ello que la célula responde a los telómeros disfuncionales mediante senescencia, apoptosis o inestabilidad genómica.^{42,46,47}

Se ha demostrado que la telomerasa cura los cromosomas rotos mediante la adición de novo de secuencias teloméricas directamente sobre el ADN no telomérico para mantener la estabilidad del cromosoma, en adición a esto, hTERT mejora la estabilidad genómica y la reparación del ADN.⁴⁶

La regulación de la actividad de la telomerasa se produce a varios niveles, incluida la transcripción, el empalme del ARNm, la maduración y las modificaciones de la *hTR* y la *hTERT*, el transporte y la localización subcelular de cada componente, el ensamblaje de la telomerasa activa y la accesibilidad y función de la telomerasa en los telómeros, su expresión varía considerablemente con la edad y con el tipo celular.^{36,37}

A medida que los telómeros se acortan con cada ciclo de replicación y alcanzan un límite crítico, la mayoría de las células mueren o entran en la etapa de senescencia replicativa. El mantenimiento de la longitud de los telómeros por parte de la telomerasa es necesario para todas las células que presentan un potencial replicativo ilimitado, esto es porque se ha demostrado que la telomerasa alarga preferentemente los telómeros críticamente cortos, estabiliza sus longitudes y permite que la célula continúe su división, es por



ello que es útil para que la proliferación continua de células neoplásicas alcance la inmortalidad.^{36,43,46}

2.9.2 Subunidad hTERT

hTERT es la subunidad catalítica de la telomerasa humana, la enzima responsable del mantenimiento de la longitud del telómero, que contribuye a la estabilidad cromosómica.³⁸

En los humanos el gen hTERT presenta una sola copia localizada en la parte distal del cromosoma 5p15.33 y se extiende aproximadamente 40kb.

En los humanos el gen hTER se encuentra ubicado en el cromosoma 3q26.13 y la subunidad RNA es transcrita por una RNA polimerasa tipo II.³⁷

2.9.3 Asociación de la telomerasa y hTERT en displasias epiteliales

Diferentes estudios han demostrado que la telomerasa se encuentra inactiva en la mayoría de las células de los tejidos normales, sin embargo, se detecta cierta actividad en células pertenecientes a tejidos que sufren alto recambio o en células de líneas germinales.^{35,40}

La activación de la telomerasa ha sido reportada como un evento común en estadios tempranos de la carcinogénesis oral, ya que parece desempeñar un papel importante en el proceso de inmortalización celular debido a sus funciones antiapoptóticas y su capacidad de compensar la pérdida telomérica, favoreciendo el crecimiento celular desregulado y en consecuencia la expansión clonal de las células displásicas; igualmente se ha detectado la expresión intensa de hTERT en lesiones potencialmente premalignas y en moléculas epiteliales de la mucosa oral displásica, es por ello que el incremento en su expresión se asocia con la alta actividad de la telomerasa en

muchas entidades tumorales aumentando la inestabilidad genómica que contribuye a la transformación maligna (figura 15).^{34,36,37,40,43,44}

hTERT es una proteína nuclear generalmente reprimida en células normales y regulada por incremento en células inmortales, lo que sugiere que es el principal determinante de la actividad enzimática en células normales y cancerosas.³⁶

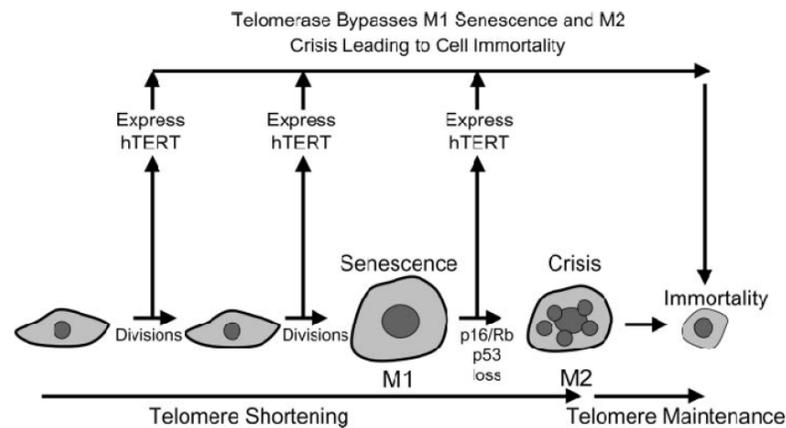


Figura 15 La expresión de hTERT resulta en la inmortalización celular.

A pesar de que el acortamiento de los telómeros parece limitar la vida útil replicativa de las células humanas y suprimir la transformación celular, también eventualmente conduce a presentar telómeros extremadamente cortos lo que marcará el inicio de la crisis, es en esta etapa cuando las células son eliminadas por apoptosis; no obstante, existen células esporádicas capaces de sobrevivir a la crisis, haciéndose inmortales, adquiriendo mutaciones adicionales como consecuencia de la inestabilidad genómica inducida por el acortamiento crítico de los telómeros y manteniendo las longitudes de los telómeros mediante la activación de la telomerasa o un mecanismo de telomerasa independiente del mantenimiento del telómero denominado Alargamiento Alternativo de los Telómeros (ALT). Esta estabilización de la

longitud del telómero permite la inmortalización y facilita la progresión maligna.^{42,46} Figura 16

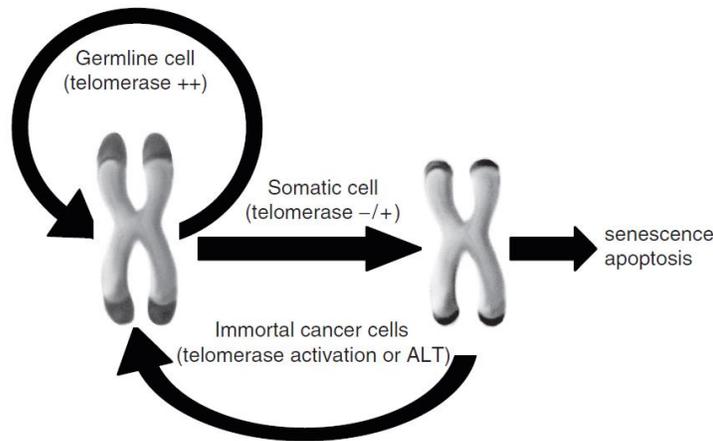


Figura 16 Telómero, telomerasa y vida útil celular. El mecanismo de Alargamiento Alternativo de los Telómeros puede compensar el acortamiento de los telómeros y prevenir la senescencia celular.³⁹

Aproximadamente el 90% de los cánceres humanos primarios muestran actividad en la telomerasa, evidenciada por la expresión de la subunidad catalítica de la enzima hTERT; la actividad de la telomerasa puede ser detectada de 0-35% en el epitelio oral normal, de 0-50% en el tejido epitelial oral hiperplásico, y en un 0-80% en displasias moderadas, y en un 42-100% de carcinomas orales.^{35,47}

Los componentes de la telomerasa y las proteínas asociadas se están convirtiendo no sólo en un marcador de diagnóstico del cáncer, sino también en los objetivos moleculares de las estrategias contra el cáncer.³⁹



III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Como consecuencia ante la dificultad en la predicción de transformación maligna en las displasias epiteliales orales, actualmente existen investigaciones enfocadas al estudio de biomarcadores como predictores de dicha transformación.

A pesar de que son pocos los estudios encaminados a la investigación de la presencia y expresión de la telomerasa y su subunidad hTERT en las displasias epiteliales, existe evidencia que sugiere que esta enzima influye de manera importante en la transformación maligna de las displasias epiteliales, por lo tanto al realizar la detección de la subunidad hTERT en muestras de displasias epiteliales orales de distintos grados de diferenciación histológica podremos describir si existe relación con su presencia y el desarrollo de la enfermedad.



IV. JUSTIFICACIÓN

Debido a la importancia de la posible transformación maligna de las displasias epiteliales orales como consecuencia de los hábitos nocivos que la favorecen, hoy en día se ha iniciado la búsqueda de la asociación, en este caso de la telomerasa y su subunidad hTERT, con el grado de diferenciación histológica de las displasias epiteliales orales, para así ser utilizada como biomarcador para la transformación maligna; es por ello que es importante detectar su presencia a través de métodos pertinentes.

V. OBJETIVO

Identificar la presencia y expresión de hTERT en seis muestras de displasias epiteliales orales: dos displasias leves, dos moderadas y dos severas mediante la técnica de PCR.



VI. MATERIAL Y MÉTODO

Materiales y equipo

- ReliaPrep™ FFPE RNA Mini prep System (Promega Cat A2531).
- Termobloque (Select Bioproducts Mod. SBD110).
- Campana (Edge Gard Mod. EG3252).
- Microcentrifuga (bio RAD Mod. 14K).
- Nanodroop 2000 (Thermo Fisher).

Ensayo de RT-PCR

- Access RT-PCR system (Promega Cat. A1250).
- Termociclador (Axygen Mod. Maxygene II).
- Agarosa al 4% (Sigma).
- Cámara de electroforesis frontal (Sigma techware Mod. P5254-1).
- Buffer TAE (Promega).
- Bromuro de etidio (Promega).
- Sistema de fotodocumentación (Axygen GDS).
- PCR Master Mix (Promega).

Población

La muestra estuvo conformada por seis biopsias con diagnóstico histológico de displasias epiteliales orales; se obtuvieron dos displasias leves, dos displasias moderadas y dos displasias severas; éstas fueron recolectadas en el servicio de diagnóstico histopatológico del Departamento de Patología y Medicina Bucal y Maxilofacial de la D.E.P.e.I, F.O, UNAM.

Las características y localización de las muestras tomadas fueron las siguientes (tabla 1):

MUESTRA	EDAD	GÉNERO	LOCALIZACIÓN	GRADO DE DIFERENCIACIÓN
051	62 años	Masculino	Borde lateral de la lengua	Leve
268	63 años	Masculino	Encía insertada	Leve
371	56 años	Femenino	Borde lateral de la lengua	Moderada
024	44 años	Femenino	Dorso de la lengua	Moderada
291	74 años	Masculino	Borde lateral de la lengua	Severa
870	54 años	Masculino	Dorso de la lengua	Severa

Tabla 1 Características y localización de las muestras tomadas.^{F.D.}

Se confirmó el diagnóstico histológico del reporte de un patólogo experimentado (CMRM).

La metodología empleada para comenzar la extracción del ARN para posterior análisis mediante PCR está descrita en los siguientes párrafos.

Extracción de ARN: Método

- Desparafinización usando aceite mineral

Para realizar la extracción de ARN, se siguió el protocolo según las recomendaciones del fabricante del kit ReliaPrep™ FFPE total RNA Miniprep System.

Se obtuvieron 6 cortes de 10 µm cada uno colectados en tubos Eppendorf estériles de 2 ml; posteriormente se agregaron 500 µl de aceite mineral a cada



tubo y se incubaron a 80° C por 1 minuto en termobloque; después se agitaron para mezclar.

- Lisis de la muestra

Se colocaron 100 µl de buffer de lisis en cada tubo y se centrifugaron a 10,000 revoluciones por 15 segundos a temperatura ambiente; se formaron dos fases: una acuosa inferior y una fase oleosa superior. Después se agregaron 10 µl de proteinasa K directamente en la fase inferior de cada tubo, mezclando por pipeteo, y se incubaron en el termobloque a 56° C durante 15 minutos, posteriormente se reajustó la temperatura a 80°C durante 1 hora; pasado ese tiempo, se retiraron los tubos del termobloque y se llevaron a refrigeración (4°C) durante 1 minuto.

- Tratamiento de DNasa

Una vez retirados los seis tubos de las muestras del congelador, se añadieron 30 µl por tubo del tratamiento de DNasa recién preparado (13 µl de MnCl₂, 0.09 M, 7 µl de Buffer de DNasa y 10 µl de enzima DNasa I) directamente en la fase inferior de la muestra mezclando por pipeteo; se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente.

- Unión al ácido nucleico

Pasado el tiempo de incubación, se añadieron 325 µl de Buffer BL y 200 µl de isopropanol al 100%, centrifugando a 10,000 revoluciones durante 15 segundos a temperatura ambiente, obteniendo así la separación de la fase acuosa y la fase oleosa en cada uno de los tubos; luego de eso se transfirió toda la parte acuosa de cada tubo a un tubo de recolección/ columna de ensamblaje y se desechó la parte oleosa de cada tubo. Se centrifugó a 10,000 revoluciones durante 30 segundos para posterior desecho de remanente y reinserción del tubo de colecta.

- Lavado de columna y elución

Se colocaron 500 μl de solución de lavado, centrifugado de 10,000 revoluciones durante 30 segundos, desechando el remanente; repitiendo este paso en 2 ocasiones más. Centrifugamos a 16,000 revoluciones durante 3 minutos con las tapas de los tubos abiertas para su secado; luego agregamos 30 - 50 μl de agua libre de nucleasas y centrifugamos a 16, 000 revoluciones durante 1 minuto a temperatura ambiente.

Se realizó la medición de RNA mediante el uso de Nanodroop obteniendo las cantidades y relación 260/280 nm del ácido ribonucleico presente en las muestras (tabla 2). Se almacenó a una temperatura de -20°C .

Muestra	Cantidad de ARN	Relación 260/280
051	43.9 ng/ μl	1.90
268	156.3 ng/ μl	1.55
371	74.3 ng/ μl	1.8
024	60.4 ng/ μl	1.74
291	569.3 ng/ μl	1.50
870	46 ng/ μl	1.85

Tabla 2 Resultados obtenidos del Nanodroop.^{F.D.}

Ensayo de PCR

Para realizar la identificación de hTERT, se siguió el protocolo según las recomendaciones del fabricante del kit Access RT-PCR system. Las secuencias empleadas de los primers para hTERT y GAPDH fueron las siguientes (tabla 3):

Nombre oligo	Secuencia de nucleótidos	Extensión aproximada
hTERTup	ACTTTGTCAAGGTGGATGTGACGG	214 bp
hTERTds	AAGAAATCATCCACCAAACGCAGG	
GAPDHus	ACCACAGTCCATGCCATCAC	200 bp
GAPDHds	TCCACCACCCTGTTGCTGTA	

Tabla 3 Secuencias de primers para hTERT y GAPDH. ^{F.D.}

Se realizaron 40 ciclos de amplificación, resolviendo en un gel de agarosa al 4 % con buffer TAE y bromuro de etidio como colorante. La visualización se realizó en el fotodocumentador Axygen GDS (figura 17).

La cuantificación se realizó mediante el software GelQuant Net, normalizando los resultados con GAPDH. También se realizó un análisis de multivarianza (ANOVA) considerando un $p < 0.05$ como significativo.

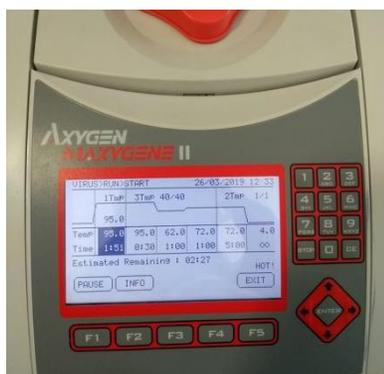


Figura 17 Sistema de fotodocumentación (Axygen GDS). ^{F.D.}

VII. RESULTADOS

La lectura del gel de agarosa al 4% proporcionó los siguientes resultados de la expresión de hTERT en displasias epiteliales orales leves, moderadas y severas (figuras 18-19).

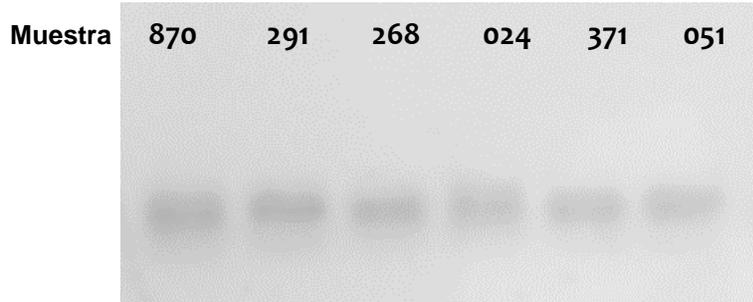


Figura 18 Gel de agarosa al 4% teñido con bromuro de etidio donde se observa la expresión de GAPDH. ^{F.D.}

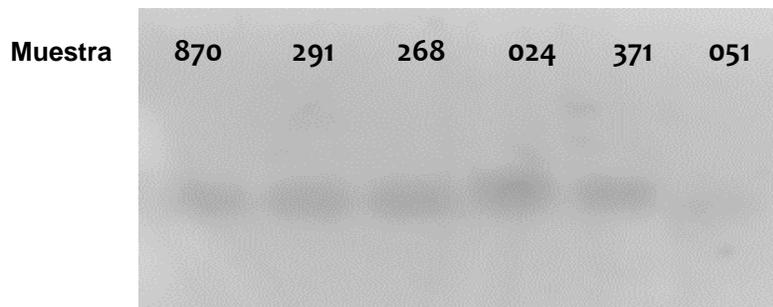


Figura 19 Gel de agarosa al 4% teñido con bromuro de etidio donde se observa la expresión de hTERT. ^{F.D.}

Se realizó un análisis comparativo con gliceraldehído-3 fosfato-deshidrogenasa (GAPDH), enzima constitutiva, presente en los tejidos en condiciones normales (tabla 4).

Se graficaron los valores comparativos de las displasias epiteliales orales leves moderadas y severas (figura 20).

Grado de displasia	Muestra	GAPDH	hTERT	hTERT Normalizado
Leve	051	0.10327	0.08539	0.82686162
Leve	268	0.17131	0.16456	0.96059775
Moderada	371	0.14537	0.25249	1.73687831
Moderada	024	0.13848	0.22698	1.63908146
Severa	291	0.23653	0.13399	0.56648205
Severa	870	0.20505	0.1366	0.66617898

Tabla 4 Resultados obtenidos de la lectura del gel de agarosa al 4%. F.D.

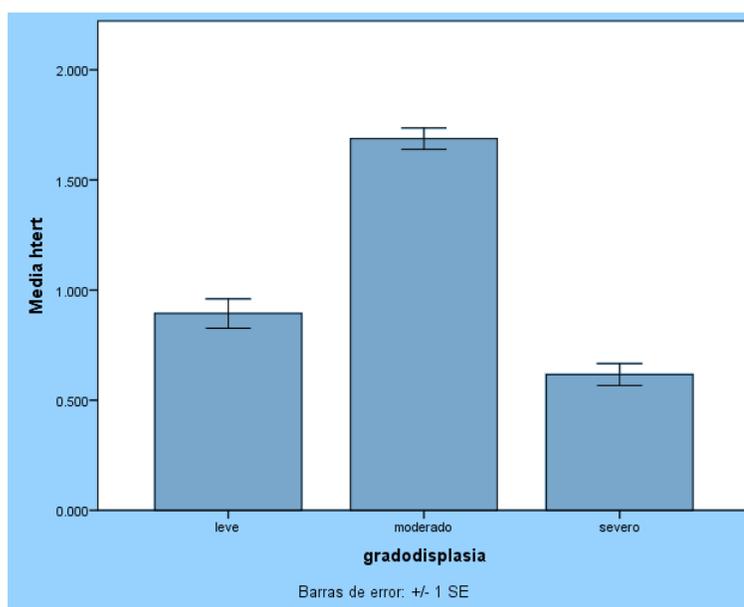


Figura 20 Gráfica comparativa de la expresión de hTERT en los tres diferentes grados de diferenciación histológica de las displasias epiteliales orales. F.D.

Se realizó análisis de multivarianza (ANOVA) para la diferencia entre grupos, donde se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.02$) entre las displasias leves, moderadas y severas. En el análisis post hoc Bonferroni para la comparación múltiple entre grupos, se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los valores de densidades ópticas de



hTERT de las displasias leves versus moderadas ($p=0.006$), y entre las displasias moderadas versus severas ($p=0.003$).

VIII. DISCUSIÓN

La alta actividad de la telomerasa, la cual está ausente en la mayoría de los tejidos en condiciones normales, es una característica común de muchos tumores, no obstante, son escasas las investigaciones encaminadas a la búsqueda de la participación de la telomerasa y su subunidad hTERT en las displasias epiteliales orales.

En el presente trabajo se recolectaron seis muestras de displasias epiteliales orales dos displasias leves, dos moderadas y dos severas.

La estrategia utilizada para determinar la expresión e intensidad de hTERT es el PCR (reacción en cadena de la polimerasa). El PCR consiste en extraer material genético (ARN) para su amplificación específica por medio de primers que son secuencias de nucleótidos que se unen específicamente al gen que se busca detectar y amplificar. Este método fue empleado para detectar la presencia de hTERT en los seis casos de displasias epiteliales orales. Nuestros resultados sugirieron que la expresión de hTERT es más frecuente en casos de displasia moderada (1.73687831 y 1.63908146) e incluso displasia leve (0.82686162 y 0.96059775) que en los casos de displasia severa (0.56648205 y 0.66617898); no obstante, nuestra población de estudio fue muy pequeña, por lo tanto, es necesario ampliar el número de muestras para poder realizar un mejor análisis comparativo.

La mayoría de las investigaciones están orientadas a identificar hTERT mediante inmunohistoquímica^{35,47,48,49} Autores como Raghunandan y col.⁴⁸ determinaron la expresión de hTERT por medio de inmunohistoquímica tanto



en displasias epiteliales como en COCE y la compararon con mucosa oral sana encontrando diferencias estadísticamente significativas en la expresión de hTERT entre la displasia epitelial y COCE. Dichos resultados muestran incremento de hTERT entre mucosa oral sana y displasia epitelial y posteriormente a COCE.

Por su parte, Correa y Col. ³⁵ compararon, mediante el mismo método, 50 casos de lesiones potencialmente cancerizables contra 30 muestras de COCE y obtuvieron que la molécula hTERT se encontraba presente en todas las capas epiteliales de las células, sin embargo, no se mostró aumento entre los grados de displasia y la positividad de hTERT ($p < 0.05$), como si lo fue en el estudio realizado por Raghunandan y Col.

De igual manera, Frost y Col. ⁴⁹ obtuvieron 55 muestras de cérvix donde se analizó la expresión inmunohistoquímica de hTERT, ésta se detectó en 20 de 25 secciones (80%) de mucosa cervical normal o benigna reactiva. En este estudio, hTERT se detectó confinado predominantemente a la porción suprabasal de la mucosa escamosa. En algunas secciones hTERT también se detectó en muchas células basales.

Al revisar de forma exhaustiva la literatura, nos encontramos con que es muy escasa la información referente al estudio de PCR para la presencia y expresión de la subunidad hTERT, por lo tanto, este trabajo puede formar parte del inicio para las investigaciones que aborden este método para la detección de dicha subunidad, teniendo en cuenta las limitantes que presenta.



IX. CONCLUSIONES

Al realizar la revisión de la literatura y compararla con los resultados obtenidos mediante el método de PCR, podemos concluir que a pesar de que este método ofrece una mayor perspectiva de la presencia y expresión de hTERT en las displasias epiteliales orales aún no se lleva a cabo como el método de rutina.

De acuerdo a los resultados obtenidos, notamos que la presencia de hTERT en las displasias epiteliales orales leves y moderadas es mayor que en las displasias epiteliales orales severas, cabe hacer mención que las displasias epiteliales orales moderadas fueron las únicas tomadas en pacientes de género femenino, es por ello que será necesario realizar nuevos estudios con poblaciones más grandes para continuar avanzando en el conocimiento de la relación y posible asociación de hTERT como biomarcador de progresión maligna en las lesiones potencialmente cancerizables y ver si existe relación de la transformación maligna y la predilección por el género; de este modo estos estudios podrían ser utilizados en la optimización de protocolos de salud en el tratamiento de pacientes con estas alteraciones.



X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ponce S. Histología Básica. Fundamentos de biología celular y del desarrollo humano. 1ª. ed. Cd. México: Editorial Médica Panamericana, 2016. Pp.3-6; 144-150, 152.
2. Ross M. Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular. 6ª. ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 2015. Pp. 98, 102, 106, 107.
3. Brusco HA., López JJ., Loidl CF. Histología médico-práctica. Barcelona, España: Editorial Elsevier, 2014. Pp. 65-69.
4. Gartner LP., Hiatt JL. Color Textbook of Histology. 2ª. ed. Chile Editorial McGraw-Hill Interamericana, 2002. Pp:83-86.
5. Carlson BM. Embriología humana y biología del desarrollo. 5ª. ed. Barcelona, España: Editorial Elsevier, 2014. Pp.75.
6. Chiego DJ. Principios de histología y embriología bucal: con orientación clínica. 4ª. ed. Barcelona, España: Editorial Elsevier, 2014. Pp.10-11.
7. Brüel A., Christensen EI., Trandum-Jensen J., Qvortrup K., Geneser F., Geneser histología. 4ª. ed. Cd. México: Editorial Médica Panamericana, 2015. Pp.
8. Gómez de Ferraris ME., Campos A. histología y embriología bucodental. 3ª. ed. Cd. México: Editorial Médica Panamericana, 2009. Pp. 113-115.
9. Sapp JP., Eversole LR., Wysocki GP. Patología oral y maxilofacial contemporánea. 2ª. ed. Madrid, España: Editorial Elsevier, 2005. Pp.
10. Kumar V., Abbas AK., Aster JC. Robbins y Cotran. Patología estructural y funcional. 9ª. ed. España: Editorial Elsevier, 2005. Pp. 34-38, 113-115, 270,271, 1143



11. Leyva ER., Gaitán LA., Patología general e inmunología. 1ª. ed. México: Editorial Trillas, 2008. Pp.68-72, 516.
12. Karadağ AS., You Y., Danarti R., Al-Khuzae S., Chen W. Acanthosis nigricans and metabolic syndrome, Clinics in Dermatology. [Internet] 2017; 36(1): 48-53.
13. Traves KP., Studdiford JS., Pickle S., Tully AS. Edema: diagnosis and management. Am Fam Physician. [Internet] 2013; 88(2):102-110.
14. Morat de González Y., López J., García M., Piñango V. Displasia Epitelial Bucal. Acta odontol. Venez. [Internet] 2008; 46(1):1-3.
15. Aguirre P., Aguirre JM. Displasia epitelial. Concepto y significación. Av Odontoestomatol [Internet] 2008;24(11):81-88.
16. Müller S. Oral epithelial dysplasia, atypical verrucous lesions and oral potentially malignant disorders: focus on histopathology. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol 2018; 125(6): 591-602.
17. Castellanos JL. Displasias y carcinomas de la mucosa bucal. Rev. ADM [Internet] 2002; 59(4): 155-156.
18. Martínez-Sahuquillo A, Gallardo I, Cobos MJ, Caballero J, Bullón P. La leucoplasia oral. Su implicación como lesión precancerosa. Av. Odontoestomatol [Internet] 2008; 24 (1): 33-44.
19. García-Pola MJ., García JM., Seoane J. Enfoque del diagnóstico y tratamiento de la leucoplasia oral. SIIC Art. Originales de Otorrinolaringología [Internet] 2015; 1(1): 1-8.
20. Laskaris G. Pocket Atlas of Oral Diseases. 2ª. ed. New York: Editorial Thieme, 2006. Pp. 2,4,6, 30,31,54.
21. Cawson A., Odell W. Cawson's essentials of oral pathology and oral medicine. 9ª. ed. Barcelona, España: Editorial Elsevier, 2018. Pp.230-232.
22. Reichart PA. Philipsen HP. Oralpathologie. Atlas de patologia oral. 1ª. ed. México: Editorial Masson, 2000. Pp. 74-77.



23. Warnakulasuriya S. Clinical features and presentation of oral potentially malignant disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2018; 125(6): 582-589.
24. Cardesa A., Slootweg PJ. *Pathology of the head and neck*. 2ª. ed. Alemania: Editorial Springer, 2006. Pp 6-7.
25. Scully P., Paes O., Bagan J., Diz D., Mosqueda A. *Oral Medicine and Pathology at a Glance*. 1ª. ed. Singapur: Editorial Wiley, 2010. Pp. 68-71.
26. Estrada GA., Zayas OP., González E., González C., Castellanos G. Diagnóstico clínico e histopatológico de la eritroplasia bucal. *Medisan* 2010; 14 (4): 433-438.
27. Holmstrup P. Oral erythroplakia-What is it? *Oral Dis*. [Internet] 2018; 24:138–143.
28. Nosratzahi T. Oral Lichen Planus: An Overview of Potential Risk Factors, Biomarkers and Treatments. *Asian Pac J Cancer Prev*. [Internet] 2018; 19 (5): 1161-1167.
29. Bascones C., González MA., Carrillo A. Bascones A. Liqueen plano oral (I). Aspectos clínicos, etiopatogénicos y epidemiológicos. *Av. Odontoestomatol* [Internet] 2006; 22 (1): 11-19.
30. Fatehi KS., Thiagarajan S., Dhar H., Chaukar D., DCruz AK. Squamous cell carcinoma of the tongue in a patient with dyskeratosis congenita: a rare entity. *Br J Oral Maxillo fac Surg* [Internet] 2018; YBJOM-5556: 3.
31. Rodrigo B., Pont M., Armengot M., Molés P., Gimeno E., Millán F. Disqueratosis congénita y tumor neuroendócrino. *Med Cutan Iber Lat Am* [Internet] 2012;40(5):158-161.
32. Sharma RK, Gupta M, Sood S. Dyskeratosis congenital: presentation of cutaneous triad in a sporadic case. *BMJ Case Rep* [Internet] 2018; 11: e226736.
33. Díaz DN., Navarrete G. Disqueratosis congénita. *Dermatol Rev Mex* [Internet] 2011; 55(5):296-300.



-
34. Nagarajachar B., Sanjai K., Kumaraswamy J., Papaiah L., Pandey B., MadhavaRao B. Expression of human telomerase reverse transcriptase protein in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma: An immunohistochemical study. *J Oral Maxillofac Pathol* [Internet] 2016; 20 (1): 96-101.
 35. Correa A., Venturi B., Daumas F., Pedra E., Grillo M. Immunohistochemical expression of p53, p16 and hTERT in oral squamous cell carcinoma and potentially malignant disorders. *Braz Oral Res* [Internet] 2011; 25(1): 34-41.
 36. Nikitakis NG., Rassidakis G., Tasoulas J., Gkouveris I., Kamperos G., Daskalopoulos A., Sklavounou. Alteration in the expression of DNA damage response-related molecules in potentially preneoplastic oral epithelial lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2018; 125(6): 637-649.
 37. Martínez O. Telómeros, Telomerasa e Integridad Cromosómica [Licenciatura]. Universidad Nacional Autónoma de México; 2008.
 38. Andrews LG., Tollefsbol TO. *Telomerase Inhibition Strategies and Protocols*. Totowa, New Jersey: Editorial Humana Press, 2007. Pp:1-3, 9-11.
 39. Hiyama K. *Telomeres and Telomerase in cancer*. Editorial Springer, 2009. Pp: 3,4,10,12,13.
 40. Suaste O. Expresión de Telomerasa, *c-myc* y *sp1* en biopsias gástricas humanas. [Maestría]. Universidad Nacional Autónoma de México; 2017.
 41. Songyang Z. *Telomeres and Telomerase Methods and Protocols*. 2a. ed. Houston TX: Editorial Humana Press, 2011. Pp:1-4.
 42. Masutomi K., Hahn WC. Telomerase and tumorigenesis. *Cancer letters* 2003; 194: 163-172.
 43. Raghunandan BN., Sanjai K., Kumaraswamy J., Papaiah L., Pandey B., Jyothi BM. Expression of human telomerase reverse transcriptase



- protein in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma: An immunohistochemical study. *J Oral Maxillofac Pathol* 2016; 20:96-101.
44. M Freier K., Pungs S., Flechtenmacher C., Bosch FX., Lichter P., Joos S., Hofele C. Frequent high telomerase reverse transcriptase expression in primary oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2007; 36: 267-272.
45. M Ripoll M. Cuantificación en tiempo real de la subunidad hTERT (Telomerase Reverse Transcriptase) del gen de la telomerasa en plasma de pacientes con cáncer colorrectal [Doctorado]. Universitat de Valencia;2007.
46. M Gilley D., Tanaka H., Herbert BS. Telomere dysfunction in aging and cancer. *IJBCB* 2005; 37: 1000-1013.
47. M Luzar B., Poljak M., Marin IJ., Eberlinc A., Klopčič., Gale N. Human telomerase catalytic subunit gene re-expression is an early event in oral carcinogenesis. *Blackwell Publishing Histopathology* 2004: 13-19.
48. Raghunandan BN, Sanjai K, Kumaraswamy J, Papaiah L, Pandey B, Jyothi BM. Expression of human telomerase reverse transcriptase protein in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma: An immunohistochemical study. *J Oral Maxillofac Pathol* 2016; 20:96-101.
49. Frost M., Bobak JB., Gianani R., Kim N., Weinrich S., Spalding DC., Cass LG., Thompson LC., Enomoto T., Uribe D., Shroyer K. Localization of Telomerase hTERT Protein and hTR in Benign Mucosa, Dysplasia, and Squamous Cell Carcinoma of the Cervix. *Am J Clin Pathol* 2000; 114:726-734.