



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EXPRESIÓN GÉNICA DE LAS MMP 1, 2 Y 9 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:

MELISSA QUINTANA LEÓN

TUTOR: Mtro. ALEJANDRO ALONSO MOCTEZUMA

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.



Gracias a mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

Mi tío por ser un apoyo incondicional en todo momento, quererme y aconsejarme.

Mi familia y amigos por estar en las buenas y en las malas y siempre creer en mí.

Agradezco al Departamento de Patología y Medicina bucal DEPEl de la facultad de Odontología UNAM por su apoyo y en especial a mi tutor el Mtro. Alejandro Alonso Moctezuma, al Dr. Luis Fernando Jacinto Alemán, a la Mtra. Carla Ramírez Martínez por su dedicación, apoyo, tiempo y paciencia.

Gracias a la Facultad de Odontología que fue mi segunda casa.

Por mi raza hablara el espíritu.

ÍNDICE



1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1 Lesiones potencialmente malignas.....	6
2.2 Displasias epiteliales.....	7
2.3 Leucoplasia.....	11
2.4 Eritroplasia.....	14
2.5 Liquen plano.....	16
2.6 Matriz extracelular.....	18
2.7 Metaloproteinasas de matriz (MMPs).....	19
2.8 MMP 1, 2 y 9.....	28
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	31
4. JUSTIFICACIÓN.....	31
5. HIPÓTESIS.....	32
6. OBJETIVO.....	32
7. METODOLOGÍA.....	33
a) Tipo de estudio	
b) Población	
c) Muestra	
d) Material y método	
8. RESULTADOS	40
9. DISCUSIÓN.....	41
10. CONCLUSIONES.....	43
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45



1. INTRODUCCIÓN

Se definen como lesiones potencialmente malignas aquellas lesiones que, habiendo sido identificadas inicialmente como lesiones precancerosas, se ha podido observar su malignización, se han detectado alteraciones morfológicas y citológicas similares a las observadas en lesiones epiteliales malignas pero sin haber invadido el tejido conectivo y se han podido identificar algunas de las alteraciones cromosómicas, genómicas y moleculares encontradas en carcinomas orales claramente invasivos. Las lesiones orales potencialmente malignas más comunes son las displasias orales como; leucoplasia, y liquen plano oral (algunos subtipos), y también destaca eritroplasia debido a su alta tasa de malignización.

La displasia epitelial es la alteración definitiva por la cual se considera que el epitelio normal adquiere una situación de enfermedad y es un factor de riesgo importante para el cáncer oral. El concepto de displasia epitelial hace referencia al conjunto de alteraciones arquitectónicas (estratificación alterada) y celulares (atipia celular) que sufre el epitelio tendiendo a la malignización. Se ha determinado que a mayor grado de displasia, mayor riesgo de malignización, aunque también malignizan lesiones sin presencia de displasia; y si la presencia de displasia epitelial oral se observa junto a factores como: apariencia clínica no homogénea de la lesión, ausencia de hábito tabáquico del paciente y localización de la lesión en el lateral de la lengua; la tasa de malignización aumentaría hasta un 40%. La Organización Mundial de la Salud (World Health Organization; WHO) reconoce 5 estadios histopatológicos en lesiones epiteliales de displasia: hiperplasia escamosa, displasia leve, displasia moderada, displasia severa y carcinoma in situ. La displasia epitelial es un concepto meramente histológico de forma que para detectarlo es necesario realizar una biopsia. La técnica de referencia, gold standard, para la toma de muestras tisulares orales y posterior análisis histopatológico es la biopsia convencional con bisturí, de esta manera



podemos realizar pruebas con marcadores biológicos, como la de reacción en Cadena de la Polimerasa Reactiva PCR, para tomar la expresión de MMPs como un factor predictivo de malignización.

Las metaloproteinasas (MMPs) intervienen en diversos procesos fisiológicos y patológicos del organismo. Regulan, por ejemplo, las vías de señalización que controlan el crecimiento celular, la inflamación y la angiogénesis. Cumplen funciones moduladoras en el complejo microambiente tumoral interviniendo en las etapas tempranas de la carcinogénesis, en la invasión y la producción de metástasis tumorales. Participan en el procesamiento de moléculas bioactivas como citoquinas, quemoquinas y factores de crecimiento. Las MMPs tienen como substrato a las proteínas de la matriz extracelular (MEC) y su actividad es regulada por inhibidores endógenos (TIMPs). El adecuado balance entre ambas moléculas es fundamental para mantener la homeostasis. Debido al papel que desempeñan en diferentes etapas de la biología del cáncer, son un blanco potencial para futuras estrategias en la terapéutica de esta enfermedad.



2. MARCO TEÓRICO

2.1 Lesiones potencialmente malignas

El término trastornos o lesiones orales potencialmente malignos (OPMDs) surgió en la Organización Mundial de la Salud (OMS) celebrada en 2005.^{1, 2} Donde se discutió la diferente terminología, las definiciones y las clasificaciones previas de las lesiones orales con predisposición a una transformación maligna. Para evitar la confusión con la distinta nomenclatura existente (pre-cáncer, lesiones precursoras de cáncer o premalignas) se concluyó que el término adecuado era “lesiones potencialmente malignas”.³ Una lesión potencialmente maligna, es definida como cualquier lesión o afección de la mucosa oral que tiene el potencial de transformación maligna.² También surgió un nuevo término “lesiones epiteliales orales potencialmente malignas” (PPOELs) y ha sido utilizada para definir un amplio término tanto lesiones histológicas como clínicas que tienen potencial maligno. Esto abarca una gran serie de lesiones, tales como, leucoplasia, eritroplasia, eritroleucoplasia, liquen plano, fibrosis submucosa oral y la Displasia Epitelial Oral.^{1,3}

La prevalencia en todo el mundo informado de OPMDs, varía a partir del 1% al 5%. Esta prevalencia variable es dependiente en el país de origen de las diferencias de estilo de vida y que influyen en los tipos de factores de riesgo a que están expuestos los pacientes. Al igual que en COCE, OPMDs se asocian predominantemente con el uso de tabaco, el consumo excesivo de alcohol aunque aproximadamente el 10% parecen no tener causa conocida y son referidos como idiopática. La edad media de los pacientes con OPMDs es de 50 años a 69 años, y la relación macho a hembra es de aproximadamente 3: 1. Las tasas de incidencia para OPMDs con un rango entre 0,6 / 1000 y 30,2 / 1000. OPMDs tienen un reporte de (MTR) de 0,13% a 36,4% a un ritmo anual de 1,36%.²



La detección precoz de las lesiones orales potencialmente malignas, el diagnóstico y el tratamiento puede prevenir su transformación a Carcinoma Oral de Células Escamosas, y se han propuesto para ello una gran diversidad de métodos diagnósticos: examen oral, medios de tinción directa, citología oral, espectroscopía, tomografía, espectroscopía fluorescente, expresión de algunos marcadores y se han propuesto para ello una gran diversidad de métodos diagnósticos: examen oral, medios de tinción directa, citología oral, espectroscopía, tomografía, espectroscopía fluorescente y debe tomarse en cuenta algunos criterios:^{1,3}

1. Presencia o no de sintomatología en lesiones persistentes de la cavidad oral.
2. Tabaco, tabaco de mascar, consumo de alcohol, infección por virus del papiloma humano (VPH), drogadicción.
3. Edad avanzada.
4. Inmunodeficiencia.
5. Antecedentes genéticos.
6. Mal control de la higiene oral.

2.2 Displasias epiteliales

La Displasia Epitelial (DE) de la mucosa oral constituye un conjunto de alteraciones arquitectónicas (estratificación alterada) y celulares (atipia celular) y que se correlaciona con la capacidad de malignización de su epitelio escamoso, la gravedad de la lesión depende del mayor o menor número de trastornos epiteliales verificados.^{3, 4}

Los criterios usados para diagnosticar el grado de displasia se muestran en la siguiente tabla: ⁴ (Tabla 1)



Tabla 1. DATOS HISTOPATOLÓGICOS DE LA DISPLASIA EPITELIAL EN LA MUCOSA ORAL. ²

Datos arquitecturales	Datos citológicos
<ol style="list-style-type: none">1. Estratificación irregular.2. Pérdida de polaridad de las células basales.3. Crestas epiteliales anómalas (en gota, bulbosas)4. Aumento del número de mitosis.5. Mitosis anormales superficiales.6. Queratinización prematura de células aisladas.7. Perlas de queratina dentro de las crestas.	<ol style="list-style-type: none">1. Variación anormal en el tamaño nuclear.2. Variación anormal en la forma nuclear.3. Variación anormal en el tamaño celular.4. Variación anormal en la forma celular.5. Aumento en la proporción núcleo/citoplasma.6. Aumento del tamaño nuclear.7. Mitosis atípicas.8. Aumento del número/tamaño nucléolos.9. Hiperchromatismo.

Clasificación de las displasias

La Organización Mundial de la Salud (WHO) reconoce 5 estadios histopatológicos en lesiones epiteliales:

1. Hiperplasia escamosa: Suele producirse en el estrato espinoso (acantosis) y/ o en el estrato basal/parabasal (hiperplasia de las células basales); la arquitectura muestra una estratificación normal sin presencia de atipia celular.

2. Displasia Leve: Alteración en la arquitectura epitelial que queda limitada al tercio inferior del epitelio acompañada de atipia citológica. Fig.1

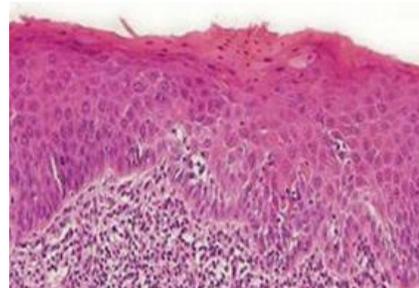


Fig. 1 Displasia epitelial oral leve (H/E – 100x)⁸

3. Displasia moderada: Alteración en la arquitectura epitelial que se extiende hasta el tercio medio del epitelio. El grado de atipia celular podría requerir encuadrar la lesión en un grado superior de displasia. Fig.2

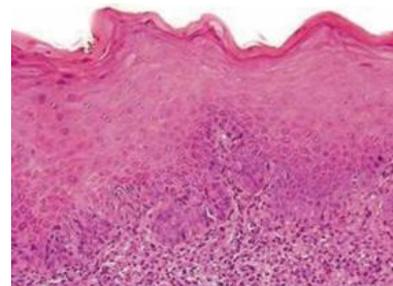


Fig. 2 Displasia epitelial oral moderada (H/E – 100x)⁸

4. Displasia severa: La alteración en la arquitectura epitelial y atipia celular afectan a más de dos tercios del epitelio. Aquellos casos en los que el estrato medio presenta un nivel elevado de atipia celular podrían pasar de ser considerados como displasia moderada a displasia severa. Fig.3

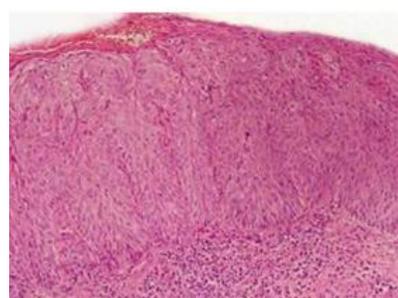


Fig.3 Displasia epitelial oral severa (H/E – 100x)⁸

5. Carcinoma in situ: La alteración en la arquitectura epitelial, casi completa junto con atipia celular muy pronunciada, se encuentra en todo el grosor del epitelio. En este caso la lesión ha sufrido una transformación maligna pero todavía no ha habido invasión del conectivo.⁹ Fig 4

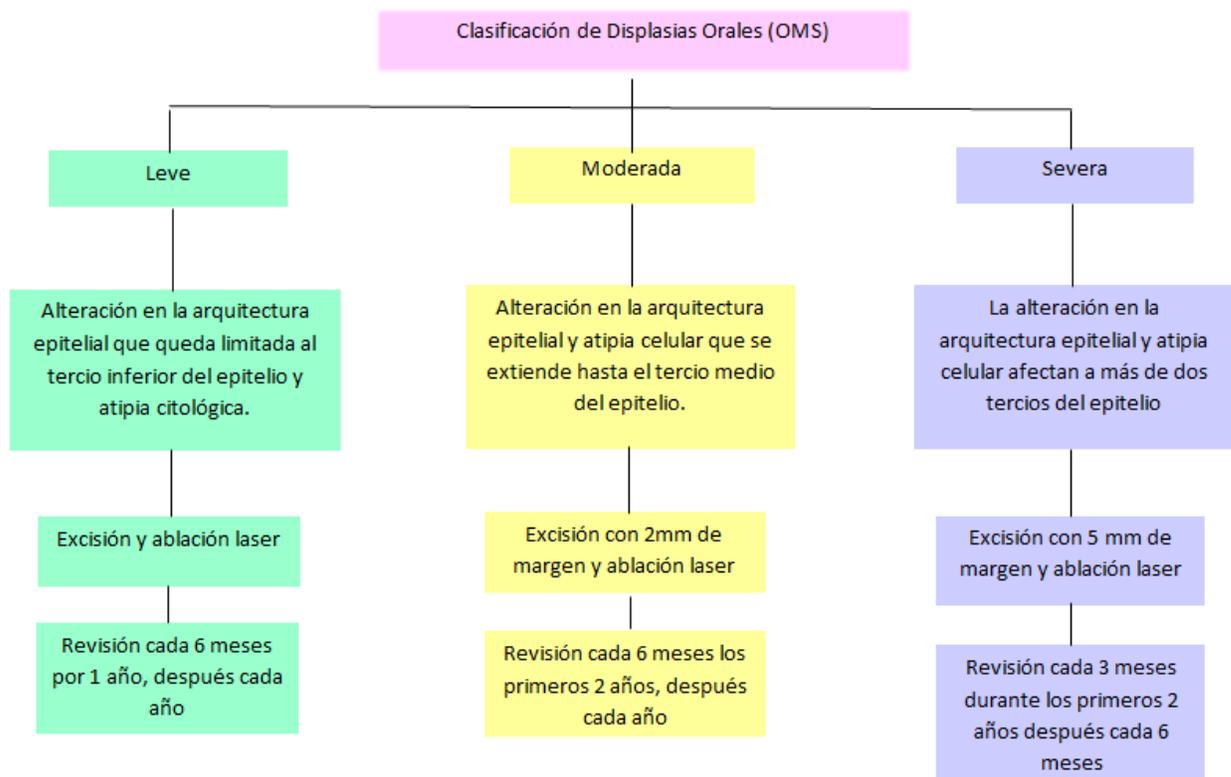


Fig. 4 Cuadro de displasias ^{F.D}

Previamente habían surgido otras clasificaciones histopatológicas tales como la clasificación SIN (Neoplasia Intraepitelial Escamosa) de Kuffer y Lombardi en 2002. La clasificación SIN es similar a la clasificación de WHO pero engloba en una misma categoría el grado de displasia severa y el carcinoma in situ. Tabla 2



TABLA 2. CLASIFICACIONES DE DISPLASIA ⁴

Clasificación de OMS	Clasificación SIN
Hiperplasia escamosa	-----
Displasia Leve	SIN 1
Displasia Moderada	SIN 2
Displasia Severa	SIN 3
Carcinoma in situ	

Otra clasificación de acuerdo a los parámetros de la OMS para la DE es la de Kujan y cols. Realizar una valoración definiendo 2 situaciones.

Una de "Bajo riesgo" para aquellas lesiones displásicas que presenten menos de 4 datos arquitecturales y menos de 5 citológicos. Y de "Alto riesgo" para las lesiones displásicas que presenten más de 4 datos arquitecturales y más de 5 citológicos. ⁴

2.3 Leucoplasia oral

La leucoplasia Oral está definida por la OMS como una mancha blanca que no puede ser raspada o borrada y no puede ser clasificada como ninguna otra enfermedad diagnosticable.¹ La leucoplasia oral puede ser asintomática o mostrar un aspecto clínico benigno por lo que es difícil para el clínico a veces diferenciarla de trastornos comunes reactivos o en inflamatoria (benignos) de la mucosa oral.⁶ Es importante tener en cuenta que la LO es un diagnóstico clínico y no uno histológico.¹

Clínica

Clínicamente existen dos tipos principales de leucoplasia: La leucoplasia homogénea y no homogénea. La distinción se basa en las características de color y morfología de la superficie (espesor y textura).

Las **leucoplasias homogéneas** son uniformes y delgadas, tienen una superficie lisa, y pueden presentar grietas poco profundas. Fig.5



Fig. 5 Leucoplasia homogénea. ²

Las **leucoplasias no homogéneas** comprenden 3 tipos clínicos y son generalmente sintomático: ⁶

- Moteado-mezclado, blanco y de color rojo (también denominada eritroleucoplasia), pero conservando coloración predominantemente blanca. Fig.6



Fig. 6 Eritroleucoplasia afectando el borde lateral de la lengua, con bordes irregulares ⁶

- Excrecencias polipoides nodulares-pequeño, redondeado, excrecencias rojas o blancos. Fig.7



Fig. 7 Leucoplasia verrugosa en encía ⁶

- Verrugoso o apariencia de la superficie-exofítico arrugado u ondulado. Fig.8



Fig. 8 Leucoplasia verrugosa proliferativa ⁶



En general, la mayoría de las leucoplasias son asintomáticos y se detectan durante un examen visual de rutina odontológica. ^{1, 6}

Epidemiología

La prevalencia mundial de la leucoplasia oral es de entre 0.5-3.4%, aunque en estudios realizados en los últimos años se muestran prevalencias de leucoplasias de entre 1.1-11,7%, con un valor medio de 2.9% ⁸. Sin embargo la leucoplasia no homogénea, específicamente la proliferativa verrugosa es la que mayor rango de transformación maligna tiene entre 40-75%.¹ Las leucoplasias suelen encontrarse en personas de mediana edad, sobre todo entre la cuarta y séptima década de la vida, mientras que en los países en desarrollo, suelen detectarse de 5 a 10 años antes. En relación con el sexo, se confirma que la leucoplasia afecta a los hombres al menos tres veces más que a las mujeres sin que se encuentren diferencias geográficas.⁶

Etiología

Las leucoplasias generalmente son 6 veces más comunes entre los fumadores que entre los no fumadores. El consumo de alcohol es un factor de riesgo independiente. La leucoplasia no está asociada con ningún agente causante químico o físico excepto tabaco, alcohol. En una minoría de las leucoplasias, virus del papiloma humano pueden tener un papel potencial. Algunos leucoplasias son idiopática y pueden no tener un factor de riesgo conocido. ⁶

Histopatología

Las alteraciones epiteliales más comunes son un aumento de espesor de la capa de queratina (hiperortoqueratosis o hiperparaqueratosis) y un aumento de espesor del estrato espinoso (acantosis). La hiperortoqueratosis es el

hallazgo microscópico más constante en una lesión de leucoplasia y existe en muchas lesiones epiteliales potencialmente malignas y malignas.

Una serie de alteraciones tisulares contribuye al aspecto blanco del epitelio. Dado que el epitelio plano estratificado es un tejido avascular, sus constituyentes (queratina y células espinosas) tienden a ser blancos. La presencia de una capa engrosada de hiperortoqueratosis, hiperparaqueratosis o acantosis actúa como una barrera óptica añadida que oculta los vasos sanguíneos del tejido conjuntivo subyacente. El desarrollo de una proliferación maligna en una o más de las capas epiteliales también produce un aspecto clínico similar. Los cambios del tejido conjuntivo subyacente también dan un aspecto blanquecino a la mucosa oral. Éste se debe por lo general a una reducción de la vascularización ya un aumento del contenido de colágeno del tejido conjuntivo subyacente, como el que tiene lugar en la formación de una cicatriz y en las áreas de hiperplasia fibrosa focal (fibroma traumático).⁷

Tratamiento

Dependiendo de la lesión y los factores de riesgo el tratamiento actual para LO puede ir desde la observación cuidadosa a la intervención quirúrgica, biopsia incisional, seguido por diagnóstico histopatológico, es el estándar de oro para el tratamiento inicial de LO.^{1,6}

2.4 Eritroplasia

La Eritroplasia Oral EO es una mancha o placa roja aterciopelada. El término se usa para describir lesiones mucosas sin causa aparente. Puede estar



Fig. 9 Eritroplasia²



solo o estar asociado a LO, en este caso se denominaría eritroleucoplasia. ¹

Fig.9

Epidemiología

La prevalencia mundial de eritroplasia está entre 0.02-0.83%, es mucho menor que la de LO sin embargo la eritroplasia tiene un rango de transformación maligna (RTM) hasta del 50% de todas las PPOELs, suele aparecer en la edad adulta hacia la vejez y los hombres son más afectados que las mujeres, muchos consideran la EO como primer signo clínico hacia un carcinoma oral de células escamosas (COCE). ^{1,6}

Etiología

La etiopatogénesis de esta lesión no es del todo conocida. Se ha observado que el tabaco de mascar, tabaco de fumar y alcohol son los factores predisponentes más importantes para el desarrollo de la eritroplasia, llegando a considerarse el tabaco de mascar y el consumo de alcohol como factores etiológicos. ¹⁵

dHistopatología

La evaluación microscópica de las eritroplasias revela que del 60 al 90% son displasias epiteliales, carcinomas in situ o carcinomas de células planas. En consecuencia, las eritroplasias orales deberían considerarse con un alto grado de sospecha y ser sometidas rutinariamente a biopsia para evaluación histopatológica.

Tres características microscópicas de las eritroplasias explican la intensa coloración roja de las lesiones. En primer lugar, las eritroplasias carecen de la cantidad normal de queratina de la capa superficial que normalmente difunde el color rojo que procede de la vascularización subyacente. Segundo, las capas epiteliales restantes que cubren normalmente las papilas del tejido

conjuntivo situadas entre las crestas epiteliales tienen muchas veces un espesor menor; por ello, los vasos sanguíneos presentes normalmente en las papilas resultan más visibles desde la superficie que en la mucosa normal. Tercero, en la mayoría de las eritroplasias, el tamaño y el número de las estructuras vasculares aumenta en respuesta a la inflamación asociada al epitelio adelgazado y neoplásico ⁷

Tratamiento

Dependiendo de la lesión y los factores de riesgo el tratamiento actual para EO puede ir desde la observación cuidadosa a la intervención quirúrgica, biopsia incisional, seguido por diagnóstico histopatológico, es el estándar de oro para el tratamiento inicial de EO. ^{1, 6}

2.5 Liquen plano

El Liquen Plano Oral (LPO) es una enfermedad mucocutánea crónica, autoinmune e inflamatoria sistémica que comúnmente afecta a la mucosa oral pero también puede afectar a la piel, las uñas, el cuero cabelludo, y la mucosa vaginal. ^{1, 3, 6}

Clínica

Intraoralmente, la mucosa bucal, la lengua y encía son los sitios más comunes. Las lesiones suelen ser bilaterales y simétricas. Hay diversas formas morfológicas de la enfermedad como la papilar, la bullosa, las atróficas formas erosivas y más comúnmente la reticular, ésta se presenta como un encaje de líneas blancas ligeramente levantadas y



Fig. 10 Liquen Plano Reticular ⁸



delgadas, llamadas estrías de Wickham, que son patognomónicas para la LPO. ¹ Fig 10

Epidemiología

LPO afecta al 1% a 4% de la población en todo el mundo de todas las razas. Ambos sexos pueden verse afectados con una frecuencia mayor en las mujeres con un 70% de las mujeres afectadas entre las edades de 30 años a 60 años. ⁹ para la transformación maligna, con una tasa de transformación anual que van desde 0,36% a 0,69%. La lengua fue la ubicación más común en que se produjo la transformación maligna. A más adelante meta-análisis de 57 estudios que incluía 19.676 pacientes reportó una tasa de transformación maligna de 1,1% con el consumo de tabaco, consumo de alcohol, y la infección por HPV siendo posibles factores de riesgo de transformación maligna. ^{10,12}

Etiología

Aunque se ha determinado que el LPO es una enfermedad autoinmune mediada por los linfocitos T, la causa de esta enfermedad es parcialmente conocida. Hoy día se acepta que existe una interacción linfocito-epitelio dirigida contra antígenos de los queratinocitos basales del epitelio que culmina con la degeneración del estrato basal del epitelio.

Se han propuesto numerosos factores causantes de esta enfermedad: antecedentes genéticos, reacción a materiales (tales como amalgamas, oro, restauraciones de composite), medicamentos (antimaláricos, sal de oro, antiinflamatorios no esteroideos, hipoglucémicos), agentes infecciosos (virus del herpes simple, virus de Epstein-Barr, citomegalovirus, virus del herpes tipo 6, virus de hepatitis C, virus del papiloma humano), autoinmunidad,



insuficiencia inmunológica, alergia alimentaria, estrés, trauma, diabetes e hipertensión, neoplasias malignas. ¹¹

Histopatología

La apariencia al microscopio de un liquen plano es patognomónico del trastorno: Hiperqueratosis con engrosamiento de la capa celular granular; Desarrollo de una apariencia de dientes de Serrucho con tres dientes (rete pegs) Degeneración de la lámina basal celular. Infiltración de la capa subepitelial del tejido conjuntivo por células inflamatorias mononucleares.

Tratamiento

El tratamiento primario para LPO son corticosteroides tópicos, tales como el acetónido de triamcinolona y beclometasona, las terapias de segunda línea incluyen otros agentes tópicos tales como retinoides, ciclosporina, inhibidores de la calcineurina y terapia fotodinámica posible. ¹

2.6 Matriz extracelular

La matriz extracelular (MEC) es una unidad estructuralmente compleja que proporciona soporte a la célula está formada por grandes biomoléculas entre los que se encuentran:

- Proteínas estructurales tales como colágeno y elastina.
- Proteínas de adhesión como fibronectina y laminina.
- Proteoglicanos, glucosaminoglicanos.
- Una familia de proteasas denominadas metaloproteinasas (MMPs)^{18, 21}



La MEC no cumple solo un papel de soporte de los órganos y tejidos, sino que interviene activamente en otras funciones como la regulación del ciclo celular, motilidad, supervivencia o apoptosis de las células. ^{16, 21}

Los componentes de la MEC requieren de una familia de proteasas denominadas Metaloproteasas de Matriz (MMPs) para el mantenimiento de la homeostasis vascular, cuya misión es degradar las proteínas integrantes de la MEC en su medio ambiente y activar factores de crecimiento, receptores de superficie y moléculas de adhesión.¹⁶

Los cambios en la composición de la MEC contribuyen al proceso carcinogénico, la proliferación celular y el desarrollo de tumores. ^{18, 19}

2.7 Metaloproteinasas

Las Metaloproteinasas de Matriz (MMPs) son a una familia de enzimas extracelulares que participan en el recambio y la degradación de la matriz extracelular. ^{17, 18, 21}

Son endopeptidasas zinc-dependientes que se expresan en niveles bajos en los procesos fisiológicos ¹⁷ de organogénesis, ¹⁶ cicatrización, ^{16,17, 21} en el mantenimiento de los tejidos, angiogénesis, proliferación y migración celular, ²¹ crecimiento y el desarrollo ¹⁷. Sin embargo su expresión inapropiada se ha relacionado con una serie de condiciones patológicas, como la inflamación, enfermedades autoinmunes, carcinogénesis ^{16, 21} y también la formación y progresión de los tumores derivados del epitelio ¹⁷. Se pueden detectar niveles elevados de MMPs en displasias ¹⁶ y cánceres humanos. ¹⁹

Estructura

La estructura de las MMPs comprende varios dominios comunes a la mayoría de ellas. ^{16,17, 20, 21}

- Péptido señal o predominio, dirige a las MMP en el retículo endoplasmático durante su síntesis.
- Dominio propeptídico, que mantiene la latencia de la enzima hasta ser eliminada.
- Dominio catalítico carboxiterminal que contiene un átomo de zinc y es la que ejerce la actividad enzimática.
- Dominio tipo hemopexina, determina la especificidad del sustrato y cuenta con una zona de bisagra que le permite presentar el sustrato a la zona activa del dominio catalítico.
- Dominio transmembrana, en el caso de las MMPs asociadas a la membrana plasmática. Fig 11

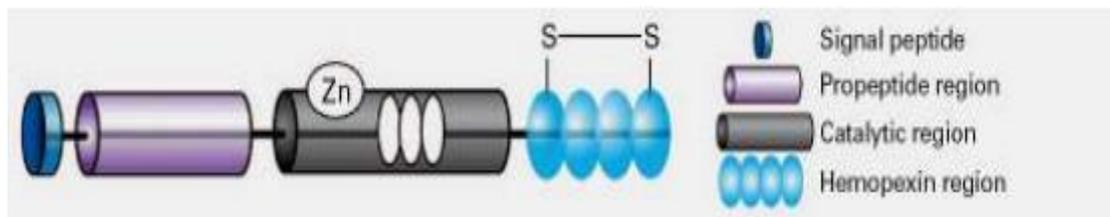


Fig.11 Estructura de las Metaloproteinasas ¹²

Clasificación

Las metaloproteasas constituyen una familia de proteasas dependiente del zinc ^{16, 17, 21}, y en el hombre se conocen hasta el momento 24 MMPs, con una homología entre ellas del 30 al 50% ¹⁶. Se les agrupa en parte en función de la especificidad del sustrato en el que actúan y en parte en la función de la localización celular que ocupan ^{17, 20}

- Colagenasas, MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18: son capaces de escindir el colágeno intersticial I, II y III dando lugar a colágeno



desnaturalizado o gelatina. También digieren otras moléculas de la MEC. ¹⁶

- Gelatinasas, MMP-2, MMP-9: degradan el colágeno desnaturalizado o gelatina. MMP-2 también digiere colágenos I, II y III y es expresada en condiciones normales por las células del estroma de la mayoría de los tejidos. La MMP-9, en cambio, está casi ausente en tejidos normales y se encuentra limitada a monocitos y macrófagos.
- Estromalisinas, MMP-3, MMP-10, MMP-11: digieren diversos componentes de la MEC. Son elaboradas por fibroblastos del estroma al ser activados por una glicoproteína de membrana llamada EMMPRIN (Inductor Extracelular de Metaloproteinasas de Matriz) producida por las células tumorales. Esta interacción lleva a la degradación de la membrana basal y de la MEC. Otra función de la MMP-3 es activar varias proMMPs. ¹⁶
- Matrilisinas, MMP-7, MMP-26: estructuralmente son las más simples debido a que carecen del dominio hemopexina. Actúan sobre moléculas de la superficie celular y son expresadas específicamente por células tumorales de origen epitelial. ¹⁶
- Metaloproteasas asociadas a membrana denominadas MT-MMP (metaloproteinasas de matriz de membrana), forman parte de las membranas basales e intervienen en la actividad proteolítica de otras MMPs. Estas a su vez pueden ser de dos tipos: - Proteínas transmembrana: unidas a la misma por un sitio hidrófobo: MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-24 - Proteínas que poseen glicofosfatidilinositol (GPI): MMP-17 y MMP-25. ^{16, 17}
- Enamelisina MMP 20 tiene actividad específica a nivel dentario, se expresa durante las fases iniciales del desarrollo dental. ¹⁷
- Otras MMP 19, 21, 22, 23, 27, 28. ^{17, 21}



Regulación de la actividad de las MMPs

La actividad proteolítica de las MMP se regula a tres niveles: transcripción, activación del proenzima y la inhibición ^{18, 19, 20, 21}. Existen también otros mecanismos implicados como: estabilidad del ARNm, la eficacia transcripcional, secreción enzimática, selección del sustrato, liberación, y finalmente la autólisis. ²⁰

La finalidad de estos mecanismos es asegurar la expresión y la actividad en aquellos sitios en los que es necesaria su actividad proteolítica. Sin embargo los tumores malignos han desarrollado mecanismos reguladores de actividad proteolítica descontrolada, que acompaña al desarrollo tumoral y su diseminación. ^{20, 21}

Control de la transcripción

La transcripción de MMP es específica en diferentes tipos celulares de tal manera que cada tipo de célula muestra un tipo fenotipo proteolítico en respuesta a los estímulos. Existen diferentes mecanismos en las células que regulan a transcripción de los genes de MMP: ^{19, 20, 21}

Regulación por citoquinas

Muchas MMP no se expresan en condiciones de normalidad; sin embargo su transcripción puede ser inducida por citoquinas ^{18, 19}, factores de crecimiento y productos de oncogenes que son liberados por el estroma, tanto por células tumorales como por células del sistema inmune. ²⁰

Existen también otras situaciones que pueden inducir la transcripción como el estrés mecánico o alteraciones en la forma celular ²⁰. Dos de los factores que estimulan la expresión de la MMP los implicados son: el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y la interleucina 1 (IL-1). ^{16, 20}



Algunos otros factores como el factor transformante de crecimiento beta (TGF β) o los retinoides, funcionan como reguladores de la transcripción de las MMP en células normales y tumorales. ^{19, 20, 22}

Además, la expresión de las MMP cuenta con componentes de expresión constitutivos e inducibles, por ejemplo; la MMP-1 y -2 se encuentran expresadas de forma constitutiva en muchos tipos celulares, mientras que la MMP-9 es altamente inducible, su sobre expresión se asocia con la actividad del óxido nítrico-sintasa inducible, el estado del p53 y la angiogénesis de cabeza y cuello. ^{17, 18, 20}

Regulación por transducción de señales y factores nucleares

Existen diversas vías de transducción de señales que median la activación transcripcional de las MMP. Como las vías de las MAPKS (significado) que constituyen una familia de kinasas que ejecuta a transmisión de señales de la membrana al núcleo, y utilizan 3 rutas: EPK 1/2, p38 y JNK (significado). En general las MAPKS activan genes tempranos inmediatos (GTI) involucrados en activar la transcripción, expresión y genes tardíos (GT) ^{20, 21, 23}

La AP1 consiste en una familia de oncoproteínas FOS y JUN, la familia de oncoproteínas ETS y el factor nuclear kappa B (NF κ B), que proporcionan un mecanismo para la trans-activación de la expresión de las MMP en tumores malignos. ^{15, 20}

El factor 4 de las células T (TCF4) y la proteína dedo de zinc asociada a CAS (CIZ), que activa y regula transcripción y la expresión de las MMP-1, 3 y 7. ^{20, 22}

La proteína p53, que modula la transcripción de MMP-1, 2 y 13; y el factor A1 de unión al núcleo (CBFA1), que forma parte de la cascada reguladora que

controla la expresión de las MMP en células normales y tumorales.^{19,20} Fig 12

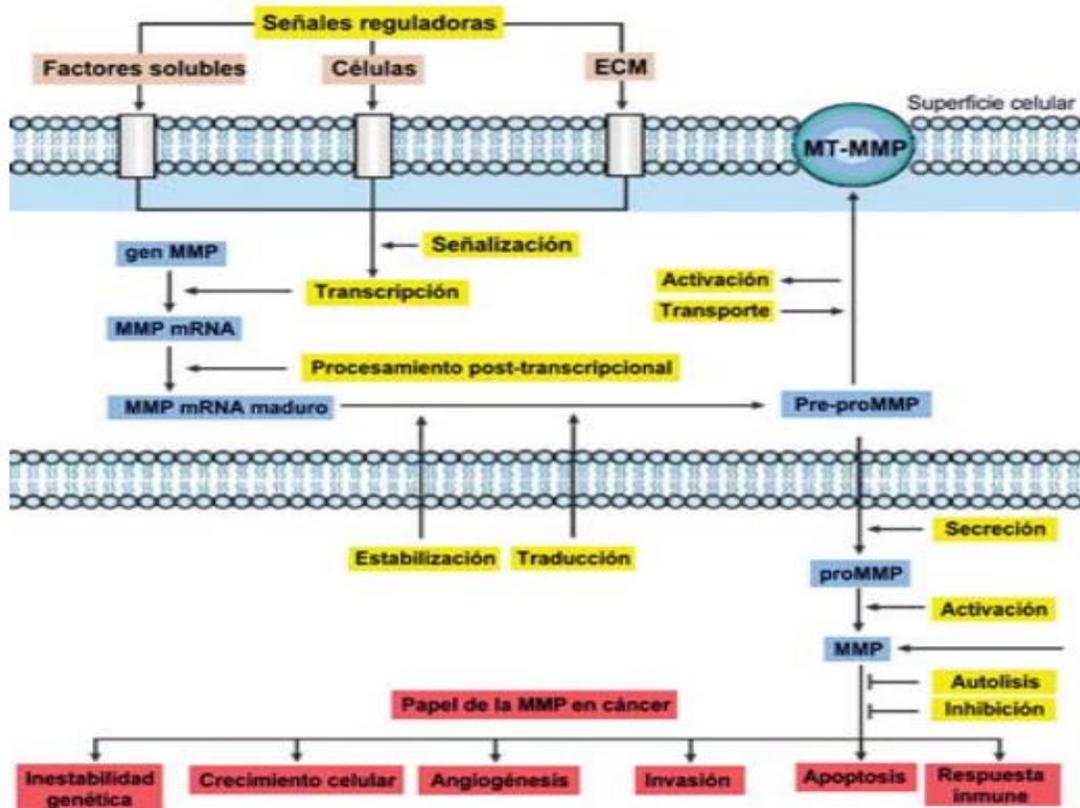


Fig. 12 Niveles de regulación de la expresión y actividad de las MMPs.¹¹

Regulación por polimorfismos de un nucleótido

Otro mecanismo a través del cual existe variabilidad en la expresión de MMP deriva en la variabilidad de polimorfismos en un único nucleótido en los genes promotores de las MMPs que modifican la actividad transcripcional.^{17,}

20



Activación

La activación de las MMP se da por síntesis, inician como pre-proenzimas o zimógenos inactivos y el péptido señal se elimina durante la traducción para generar proMMPs.^{20, 21} Las proMMPs tienen un interruptor de cisteína en la que el residuo de cisteína se coordina con el ion cinc en el dominio catalítico, manteniendo la proMMP en la forma inactiva.²¹ La activación de proMMPs menudo se lleva a cabo de forma extracelular por otras MMP u otras proteasas.^{16, 21}

Otro mecanismo de activación de las MMP incluye la actividad de una MMP asociada a la membrana.^{20, 21}

Actividad biológica

Las proteasas actúan como moléculas de señalización y pueden modular otras moléculas de señalización celular. Forman cascadas y circuitos, están interconectadas de manera dinámica en una red de señales¹⁶ y como interruptores moleculares generales en el microambiente.¹⁷

La función de las MMP es como principales reguladores del crecimiento tumoral por catalizar la liberación o la activación de factores de crecimiento y otras biomoléculas como:¹⁷

- El PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas) produce aumento de expresión de MMP-1 y cuando actúa conjuntamente con TGF- β produce sobreexpresión de MMP-3 y TIMP-1.¹⁶
- Los receptores de membrana activados, o la escisión de matriz de sustratos, unida a la membrana participan en la proliferación celular.¹⁷ Modulan a los mediadores de la inflamación como citoquinas y quemoquinas, estableciendo los gradientes de quemoquinas necesarias para la quimiotaxis de las células inflamatorias.¹⁶



- El VEGF (factor de crecimiento de endotelio vascular) influencia la migración y proliferación de células endoteliales (17) y FGF-2 (factor de crecimiento de fibroblastos), influyen en la vasculatura la migración, proliferación y apoptosis del músculo liso vascular son factores angiogénicos que pueden inducir la expresión de MMPs y facilitar la diseminación metastásica.¹⁶
- El EGF (factor de crecimiento epidérmico) Interviene en la remodelación de los tejidos durante la cicatrización de las heridas¹⁶, induce la expresión de MMP-1 en fibroblastos de piel humana. La cicatrización, la migración de queratinocitos y la reepitelialización son favorecidas al ser clivado el colágeno tipo I y III por MMP-1. Cuando EGF se une a su receptor EGR-1 inhibe la expresión de MMP-9, debido a que reprime la activación transcripcional de los genes de esta enzima en las células estromales.
- El TNF α (factor de necrosis tumoral alfa) es una citoquina proinflamatoria liberada por macrófagos, linfocitos T y mastocitos. Provoca sobreexpresión de MMP-2, 3, 7 y 9 en el microambiente tumoral, aumentando la capacidad invasora de las células malignas.
- IL-1 β induce la expresión de genes de MMP-13 en los fibroblastos de la sinovial y aumento de la expresión de MMP-12

Debido a la capacidad que tienen las MMPs de intervenir en el desarrollo y destino de las células del organismo durante la embriogénesis, están sujetas a un estricto control por inhibidores endógenos denominados TIMPs (Inhibidores Tisulares de Metaloproteinasas de Matriz).¹⁶



Inhibición de MMPs

Los inhibidores endógenos específicos de MMPs son los TIMPs (Inhibidores Tisulares de Metaloproteinasas de Matriz).²¹ Se unen a las MMPs de manera no covalente, formando un complejo reversible 1:1 y de alta afinidad con dichas proenzimas.^{16, 17} La molécula de TIMP consta de 184-194 aminoácidos subdivididos en un subdominio N-terminal y uno C-terminal.¹⁸

En humanos han sido identificados 4 TIMPs que son secretados extracelularmente.¹⁸ Entre las cuatro, inhiben todas las MMPs conocidas hasta el momento difiriendo entre ellas en cuanto a su solubilidad, regulación y en su interacción específica con la proenzima. No actúan con la misma efectividad frente a todas las MMPs.¹⁶

- TIMP-1 inhibe preferentemente la proMMP-9.
- TIMP-2 inhibe la proMMP-2.
- TIMP-3 inhibe preferentemente a ADAMs 24-26.
- TIMP-4 inhibiría MMP-1 y 2. Los TIMPs son proteínas multifactoriales involucradas en varias actividades biológicas independientes.

Estructura básica de las metaloproteasas del efecto inhibitorio sobre las MMPs. Intervienen en la inducción de la proliferación celular, inhibición de la apoptosis, migración celular, invasión y angiogénesis.¹⁶ Otros factores como TGF α e IL-4 también inhiben su expresión.¹⁶

El bloqueo del MAPKs, del factor Kappa y de la proteína AP-1 ha demostrado la reducción en la expresión de las MMP.²¹

También, los agentes biológicos pueden bloquear citoquinas inflamatorias y reducir la expresión de MMP en diferentes tejidos. Las estatinas pueden inhibir MMPs a través de efectos pleiotrópicos.²¹

La degradación de la MEC y consecuentemente el potencial invasivo y metastásico de las células tumorales es entonces el resultado de un desbalance entre las actividades de las MMPs y sus inhibidores.^{16, 18} Fig 13

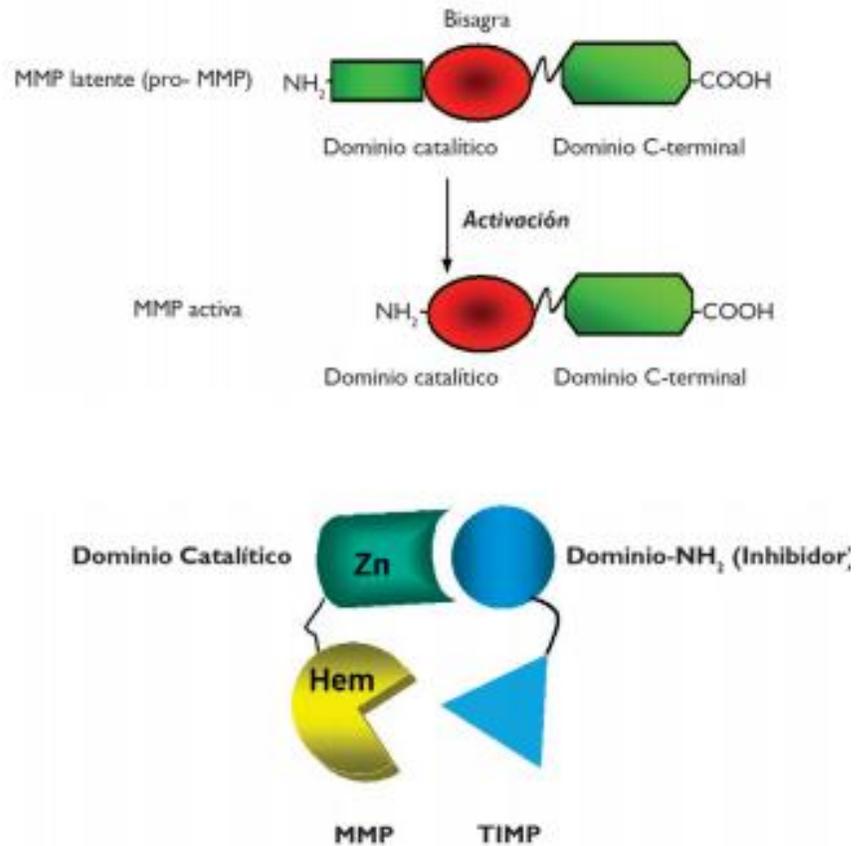


Fig.13 Activación e Inhibición de MMP⁹

2.8 MMP 1, 2 y 9.

MMP 1

Conocida como colagenasa intersticial,^{18, 20} se encuentra relacionada con procesos de degradación fisiológica de la matriz extracelular en el desarrollo embrionario o la remodelación tisular, participa en la degradación de fibras de colágeno I, II, III, V, VII, y VIII y de la gelatina,^{16,18, 20} el gen responsable de



su codificación forma parte de un grupo de genes para las MMP, localizados en el cromosoma 11q22.3.¹⁸ La MMP 1 también dirige otras moléculas de la MEC y esta asociada a ganglios linfáticos positivos, como se expresa en las displasias.¹⁶

MMP 2

Conocida como gelatinasa A o gelatinasa 72kDa,¹⁸ ejerce su actividad proteolítica sobre las fibras de colágeno tipo IV, que es el componente estructural más importante de las membranas basales. Y es expresada en condiciones normales por las células del estroma en la mayoría de los tejidos.¹⁶ El gen que la codifica se encuentra en el cromosoma 16q13q21¹⁸. Su actividad está íntimamente regulada por TIMP, en concreto TIMP-2, TIMP-3 y TIMP-4. Se sobreexpresa en estadios tempranos del tumor¹⁶ y puede ser promovida por hipoxia.²¹ En las fases iniciales, MMP-2 es crucial en el desarrollo de un microambiente favorable para el crecimiento de las células tumorales y contribuye a la transición epitelio-mesénquima. MMP-2 también activa citocinas, factores de crecimiento, modula el metabolismo de las células tumorales, la resistencia celular a la apoptosis, angiogénesis, participa en el desarrollo embrionario, la ovulación y la cicatrización.¹⁸

MMP 9

Conocida como la gelatinasa B o gelatinasa 92-kDa,¹⁸ participa en la degradación de fibras de colágeno IV, V, XI y XIV. Es secretada por células como neutrófilos, macrófagos, células T, mastocitos y odontoblastos.^{16, 22} También cuenta con la acción activadora de factores de crecimiento como pro-TGF β o el pro-TNF α .¹⁸ Participa en la remodelación tisular esta involucrada en la formación osteoblástica y en la inhibición de la reabsorción osteoclástica, el gen responsable de su codificación está en el cromosoma 20q11,2-q13.1. Los niveles séricos de MMP-9 son casi indetectables en condiciones fisiológicas, lo que hace que el valor diagnóstico y pronóstico de



cuantificación de la enzima, tenga un valor significativo, por lo tanto, concentraciones elevadas de MMP-9 se asocian generalmente a peor pronóstico de la enfermedad tumoral. ^{18, 21}



3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar de que existen criterios histopatológicos que permiten clasificar a las displasias en leve, moderada y severa, hasta la fecha no se ha podido predecir el comportamiento biológico o cuantificar el riesgo de progresión de la severidad de estas lesiones displásicas, que les permita involucionar, progresar de leve a severa o transformarse en carcinoma oral de células escamosas. Sin embargo, de acuerdo a lo reportado por la literatura, los marcadores moleculares podrían ayudar a determinar el curso probable o predicción del aumento en la severidad de estas lesiones.

Por lo que nuestra pregunta de investigación es, ¿Cuál es la expresión génica de las MMP 1, 2 y 9 en las displasias epiteliales orales leves, moderadas y severas?

4. JUSTIFICACIÓN

Las displasias epiteliales orales son lesiones de comportamientos bastante heterogéneos; por lo cual no se puede predecir, por esta misma razón, muchas de ellas terminan evolucionando a carcinomas de células escamosas. Sin embargo existen marcadores moleculares como las Metaloproteinasas que son de utilidad para orientar hacia el curso de una lesión displásica. Yo propongo analizar la expresión de MMP 1, 2 y 9 en displasias de diferentes grados y evaluar que tanta utilidad tienen como marcadores de progresión.



5. HIPÓTESIS

La expresión de las MMP 1, 2, 9 será mayor en las displasias epiteliales severas en comparación con las leves y moderadas.

6. OBJETIVO

6.1 Objetivo general

Determinar si existe diferencia en la expresión génica de las MMP 1, 2 y 9 en los diferentes grados de displasias epiteliales orales.

6.2 Objetivo específico

Identificar edad, sexo y localización

Identificar la expresión génica de MMP1, 2 y 9 en los diferentes grados de displasia.

Comparar la expresión génica de las MMP 1, 2 y 9 en los diferentes grados de displasia.



7. METODOLOGÍA

Tipo de estudio

Este estudio se basa en un análisis retrospectivo experimental transversal?

Población

Seis tejidos obtenidos de pacientes con diagnósticos clínicos de leucoplasia o eritroplasias y con diagnósticos histológicos de displasia oral del Departamento de Patología y Medicina Oral de la División de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Odontología, UNAM en un periodo de 2014 a 2018.

Muestra

Se seleccionó por conveniencia dos casos leves, dos moderados y dos severos. Todos los casos se revisaron histológicamente basados en criterios establecidos por la OMS.

Material y equipo

Extracción de ARN

- Relia Prep FFPE RNA Mini prep System (Promega Cat A2351)
- Termobloque (select bioproducts Mod. SBD110)
- Campana (Edge Gard Mod. EG3252)
- Microcentrifuga (bio RAD Mod. 14k)
- Nanodroop 2000 (Thermo Fisher)

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)

Método

Extracción de ARN

Para realizar la extracción del ARN, se siguió el protocolo según las recomendaciones del fabricante del kit Relia Prep FFPE RNA Mini prep System.

Desparafinización

Se obtuvieron 6 cortes de 10 μm cada uno colectados en un tubo de Eppendorf estéril de 2ml; posteriormente se agregaron 500 μl de aceite mineral y se incubó a 80°C por 1 minuto en termobloque para desparafinizarlo

Lisis de la muestra

Se colocaron 100 μl de Buffer de lisis y se centrifugó a 10,000 revoluciones por 15 segundos a temperatura ambiente. Se agregaron 10 μl de proteinasa K y se volvió a colocar en el termobloque a 56°C durante 15 minutos y se reajustó a 80°C durante 1 hora, se pusieron en refrigeración durante 1 minuto y posteriormente a temperatura ambiente por 2 minutos.

Tratamiento con DNasa



Se le agregaron 10µl de DNasa, 13µl de MnCl₂ y 7µl de Buffer DNasa en cada uno de los 6 tubos.

Unión al ácido nucleico

Posteriormente se le añadió 325µl de Buffer BL, 200µl de isopropanol al 100% y centrifugamos a 10, 000 revoluciones por 15 segundos a temperatura ambiente, obteniendo así la separación de la fase acuosa y la fase oleosa en cada uno de los tubos, la fase acuosa se recolecto se transfirió a tubos de filtrado y columna de colecta, centrifugando a 10, 000 rpm por 30 segundos a temperatura ambiente

Columna de lavado y elusión

Se agregaron 500µl de solución limpiadora y se centrifuga a 10,000 revoluciones por 30 segundos a temperatura ambiente, desechando el remanente y repitiendo este paso una ocasión más. Se centrifugo a 16000 rpm por 3 min con la tapa abierta para secar el buffer de limpieza, posteriormente se transfirió el tubo de filtrado a un tubo de elusión limpio, agregamos 50µl de agua libre de nucleasa y centrifugamos a 16,000 revoluciones por 1 minuto a temperatura ambiente. Se realizó la medición de RNA total mediante el equipo nanodrop 2000, obteniendo cantidad y relación 260/280 nm. Se refrigera a una temperatura de -20°C hasta su empleo.

RT- PCR

Para realizarla identificación de las MMP, se siguió el protocolo según las recomendaciones del fabricante del kit Access RT-PCR system. Las secuencias empleadas de los primers fueron las siguientes: (Tabla 3)



Tabla 3. Peso molecular de los primers de gliceraldehido y MMP 1, 2, 9

Nombre Oligo	Secuencia	Tamaño estimado del producto
GAPDH US GAPDH DS	ACCACAGTCCATGCCATCAC TCCACCACCCTGTTGCTGTA	200bp
MMP1 US MMP1 DS	GGTCTCTGAGGGTCAAGCAG AGTTCATGAGCTGCAACACG	207bp
MMP2 US MMP2 DS	ACAGCAGGTCTCAGCCTCAT TGAAGCCAAGCGGTCTAAAGT	151bp
MMP9 US MMP DS	TTGACAGCGACAAGAAGTGG GCCATTCACGTCGTCCTTAT	179bp

Ensamblar la reacción

Se preparó reacción para las 6 muestras en un tubo de Eppendorf utilizando el kit Access RT- PCR. Se realizaron 40 ciclos de amplificación, resolviendo en un gel de agarosa al 2%, con buffer TAE y bromuro de etidio como colorante, la visualización se realizó en un fotodocumentador Axygen GDS.

Contabilización de expresión de MMPs con densidad óptica

Para poder Evaluar y determinar la expresión incrementada o disminuida de las metaloproteinasas se tuvieron que normalizar los valores y para este propósito se compararon los valores con los de un gen constitutivo que fue el Gliceraldehido deshidrogenasa. Estos valores se obtuvieron con el programa GelQuantNET, el cual mide los la densidad óptica (DO) a través de los geles de Agarosa.



8. RESULTADOS

De las 6 muestras incluidas 4 fueron hombres y 2 mujeres, el promedio de edad fue 58 años, de acuerdo a su localización 5 se presentaron en lengua y una en encía (tabla 4).

Tabla 4. Muestras del Estudio				
Muestra	Edad	Género	Grado	Localización
051	62 años	M	Leve	Borde lateral de la lengua
268	63 años	M	Leve	Encía Insertada
024	44 años	F	Moderada	Dorso lingual
371	56 años	F	Moderada	Borde lingual derecho
291	74 años	M	Severa	Borde lateral de la lengua
870	54 años	M	Severa	Dorso lingual

En el análisis génico con los dos geles de agarosa se observó expresión de todas las metaloproteinasas (fig14-16).

Ensayo de PCR

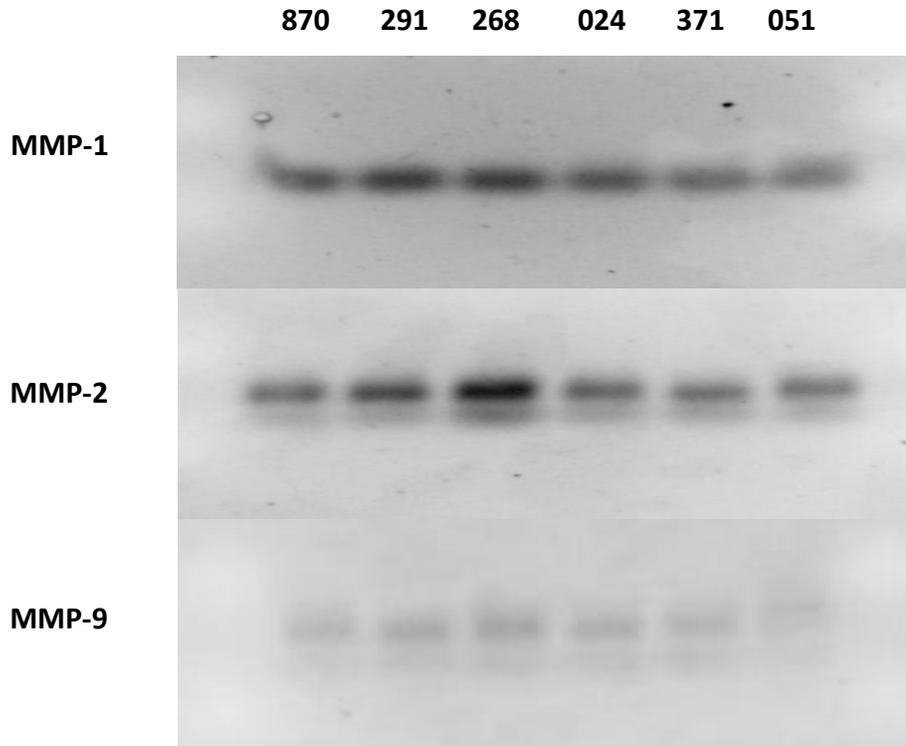


Fig. 14 Expresión en gel de agarosa de MMP1. ^{F.D.}

Fig. 15 Expresión de MMP2. ^{F.D.}

Fig.16 Expresión de MMP9 ^{F.D.}

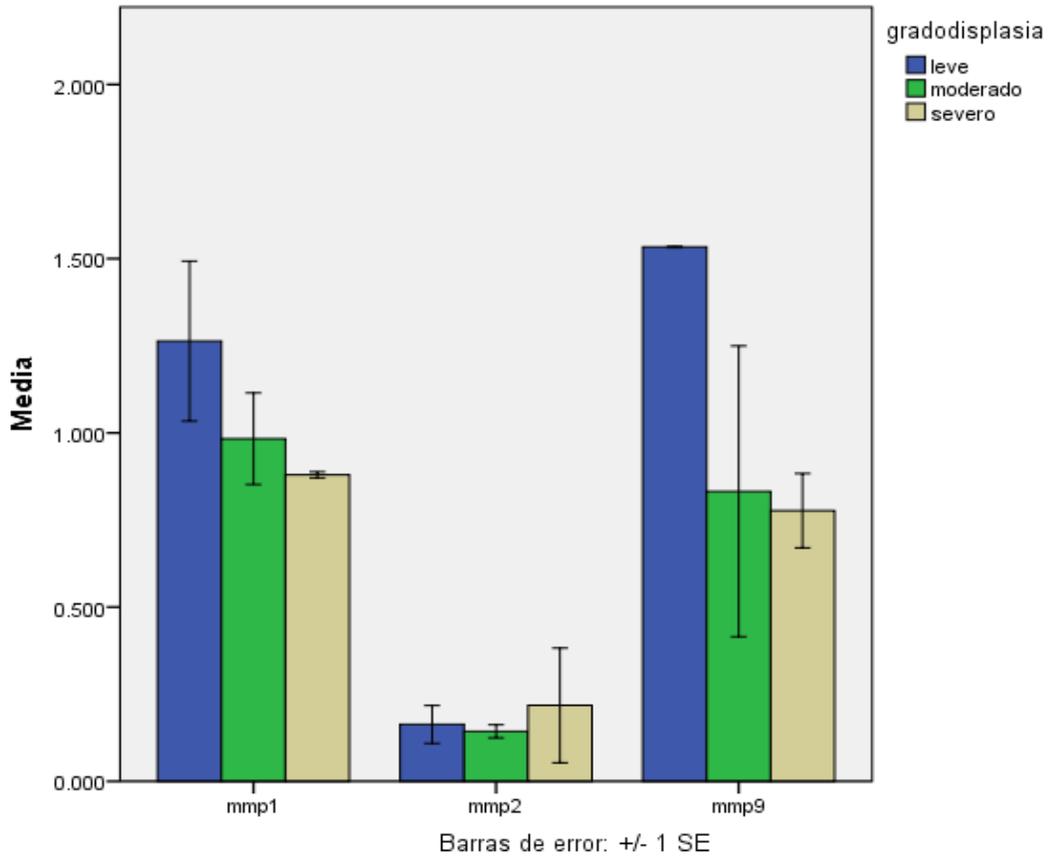


Los valores de densidad óptica (DO) para los dos casos leves de MMP1 normalizado fueron de 1.492 y 1.034, de MMP2 0.217 y 0.108 y para MMP9 1.531 y 1.535. En los dos casos moderados los valores normalizados de MMP1 fueron 1.114 y 0.851, los de MMP2 fueron 0.162 y 0.124 y de MMP9 1.249 y 0.414. Para los dos casos severos los valores normalizados fueron; MMP1 0.888 y 0.870 los de MMP2 0.053 y 0.382 y de MMP9 0.670 y 0.883.

Tabla 5

Tabla 5. Densidad Óptica para las Metaloproteinasas 1, 2 y 9							
Muestra	GAPDH DO	MM1 DO	MMP1 normalizado	MMP2 DO	MMP2 normalizado	MMP9 DO	MMP9 normalizado
LEVES							
51	0.103	0.154	1.492	0.022	0.217	0.158	1.531
268	0.171	0.177	1.034	0.018	0.108	0.263	1.535
MODERADOS							
371	0.145	0.162	1.114	0.023	0.162	0.181	1.249
24	0.138	0.117	0.851	0.017	0.124	0.057	0.414
SEVEROS							
291	0.236	0.210	0.888	0.012	0.053	0.158	0.670
870	0.205	0.178	0.870	0.078	0.382	0.181	0.883

En esta gráfica podemos observar la expresión de las metaloproteinasas normalizadas con el gen de gliceraldehido. Gráfica 1



Gráfica 1 Medias de densidad óptica



9. DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos en nuestro estudio, existieron diferencias en la expresión de las MMP 1, 2 y 9. Se observó mayor expresión de estas moléculas en las displasias leves y moderadas en comparación con las severas.

Existen diversos estudios que han analizado la expresión de los genes responsables de la codificación de MMPs mediante técnicas de PCR. Jordan y cols, en 2004 evaluaron la expresión de MMP 1 y 9 en las displasias leves moderadas, severas y en carcinomas orales de células escamosas. Ellos encontraron una mayor expresión de estas MMPs en las displasias severas y leves en comparación de las displasias moderadas. También reportaron que no todas las displasias que expresan MMP 9 progresan a un grado de mayor severidad.¹⁸ En otro estudio Jelena y cols, en el 2018 demostraron que la relación entre la expresión de MMP 9 se asocia significativamente con displasias orales que se convierten en cáncer oral en comparación con aquellos que no progresan, se encontró esta metaloproteinasa predominantemente en displasias severas y carcinomas. Mientras que la MMP 1 se descubrió que se activa en COCE invasivos. Por tanto los altos niveles de estas proteasas se han asociado a factores de mal pronóstico.¹⁷ Vicente y cols, en 2007 encontraron que las MMP 2 y 9 estaban presentes en lesiones neoplásicas, su mecanismo de acción de éstas proteasas es digerir la membrana basal lo cual promueve la diseminación de lesiones, estas metaloproteinasas se relacionan con otros marcadores presentes con lo cual no queda claro si la expresión de una MMP en particular refleja un papel funcional en el proceso maligno.¹⁹ En nuestro estudio encontramos que la expresión de las MMP 1 y 9 fue mayor en las displasias leves en comparación con las moderadas, esto podría sugerir que estos casos tiene mayor riesgo de progresar a una displasia severa o un carcinoma; por lo que



podríamos considerar a la MMP 9 como un indicador de riesgo en el aumento en la severidad en lesiones displásicas.

Se requieren más estudios complementarios con otros marcadores para poder determinar el riesgo de progresión de las displasias. Esto ayudaría a mejorar los protocolos de prevención y atención de los pacientes con lesiones potencialmente malignas.



10. CONCLUSIONES

La zona anatómica de predilección de las displasias orales es la lengua con un promedio de edad de 58 años. Las MMP 1 y 9 se expresan más en displasias de grado leve que en severas. La expresión de MMP 9 sugiere una progresión más acelerada de displasias debajo grado a grados más severos e incluso un carcinoma.

.

.



GLOSARIO

OMS Organización Mundial de la Salud
DE Displasia Epitelial
MMPs Metaloproteinasas
TIMPs Inhibidores Tisulares de Metaloproteinasas
ARNm Ácido Ribonucleico mensajero
TGF α Factor de Crecimiento Tumoral Alfa
EGF Factor de Crecimiento Epidémico
OPMDs Trastornos Potencialmente Malignos
LO Leucoplasia Oral
EO Eritroplasia Oral
COCE Carcinoma Oral de Células Escamosas
RTM Rango de Transformación Maligno
SIN Neoplasia Intraepitelial Escamosa
LPO Liquen Plano Oral
PPOELs Lesiones epiteliales potencialmente malignos
MAPKS Proteínas kinasas activadas por mitógenos
EPK Proteína Kinasa de Eucariotas
JNK Kinasa Jun N- terminal
FOS Proto- oncogén (factor de transcripción de genes rápida)
JUN Oncogén
ETS factor de transcripción
AP1 Proteína Activadora 1 (factor de Transcripción)
CIZ Proteína dedo de Zinc
CAS Crisp proteína asociada 9



11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Michael A, Matthew I, Ketan P, Deepak K, Management update of potentially premalignant oral epithelial lesions, *Oral and maxillofacial pathology*. June 2018; Vol.(125) no 6: 2212-4403.
2. Christine N, Alexander R, Evaluation and Management of Oral Potentially Malignant Disorders. *Dent Clin N Am* (2018) Vol.62, 1–27.
3. Steele, T.O., and Meyers, A. (2011) Early detection of premalignant lesions and oral cancer. *Otolaryngol Clin North Am*, 44, 221-229.
4. Aguirre E, Aguirre U. Displasia Epitelial. Concepto y significación. *Av. Odontostomatol* 2008; 24 (1): 81-88.
5. Warnakulasuriya, S., Johnson, N.W., van der Waal, I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. *J Oral Pathol Med*, 2007; vol (36), 575-580.
6. Saman W, et al. Clinical features and presentation of oral potentially malignant disorders. *Oral and maxillofacial pathology*, june 2018, Volume 125, Number 6.
7. Sapp J, Eversole L, Wysocki G. *Patología Oral y Maxilofacial Contemporánea*. Harcourt Brace.1998.
8. Stephen P, Luiz A, Jair C, Stefano F. Risk factors and etiopathogenesis of potentially premalignant oral epithelial lesions. *Oral and maxillofacial pathology* ,2018, vol 125. No 6.
9. Kuffer, R., and Lombardi, T. Premalignant lesions of the oral mucosa. A discussion about the place of oral intraepithelial neoplasia (OIN). *Oral Oncol*, 2002; vol 38 (2): 125- 130.



10. Goodson M, Sloan P, Robinson C, Cocks K, et al. Oral precursor lesions and malignant transformation – who, where, what, and when?, *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2015, vol.53. 831–835.
11. Bascones, A. (2004) Liquen bucal y otras lesiones blancas. En: *Medicina bucal*. Ed. por Bascones A. 3a ed. Madrid: Avances-ariel, 123-159.
12. Paul M, Syed A, Omar K, Oral potentially malignant disorders: risk of progression to malignancy, *Oral and maxillofacial pathology*, 2018. Vol.125.no 6.
13. Alessandro V, Anita G. Oral potentially malignant disorders in a large dental population. *J Appl Oral Sci*. 2014;22(6):473-6.
14. Mohamed A. Oral epithelial dysplasia in non-users of tobacco and alcohol: an analysis of clinicopatologic characteristics and treatment outcome. *Journal of Oral Science*, 2010, Vol.52, No.1 , 13-21.
15. Hashibe, M., Jacob, B.J., Thomas, G., Ramadas, K., Mathew, B., Sankaranarayanan, R. and Zhang, Z.F. (2003) Socioeconomic status, lifestyle factors and oral premalignant lesions. *Oral Oncol*, 39 (7), 664–671.
16. Silvia C, Graciela L, Vanda G. Rol de las metaloproteinasas y sus inhibidores en patología tumoral. *Medicina* 2012; Vol (72); 495-502.
17. Jelena R, Ilona D, Sonja S, Jelena J. et al. MMP-9-1562 C/T single nucleotide polymorphism associates with increased MMP-9 level and activity during papillary thyroid carcinoma progression, *Pathology* (January 2019) 51(1), pp. 55–61



-
18. Jordan R, Macabeo-Ong M, Shiboski C, Dekker N, et al. Overexpression of matrix metalloproteinases-1 and 9 mRNA is associated with progression of oral dysplasia to cancer. *Clin Cancer Res.* 2004; vol (19): 6460-5.
 19. Vicente J, Lequerica P, Santamaria J, Fresno M. Expression of MMP-7 and MT1-MMP in oral squamous cell carcinoma as predictive indicator for tumor invasion and prognosis. *J Oral Pathol Med* (2007) 36: 415–24.
 20. María C, Juan A. Metaloproteinasas, matriz extracelular y cáncer. *An. R. Acad. Nac. Farm.*, 2010, 76 (1): 59-84.
 21. Liu J, Raouf A. Matrix Metalloproteinase Inhibitors as Investigational and Therapeutic Tools in Unrestrained Tissue Remodeling and Pathological Disorders. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017; 148: 355–420.
 22. M
 23. Sampieri C, Nuttall R, Young D, Goldspink D, et al. Regulación genética de matrix metaloproteasas y sus inhibidores. *Revista médica de la universidad veracruzana*, 2008; vol 8: num 1.
 24. Pamella R, Jose A, Leorik P, George J, et al. Immunohistochemical expression of TGF- β 1 and MMP-9 in periapical lesions, 2017 Vol 31. E51.
 25. Brothwell D, Lewis D, Bradley G, Leong I, et al. Observer agreement in the grading of oral epithelial displasia, *Community Dent Oral Epidemiol* 2003; 31: 300–5.
 26. Mayumi H, Jun C, Satoshi M, Manabu Y. Differential immunohistochemical expression profiles of perlecan-binding growth



factors in epithelial dysplasia, carcinoma in situ, and squamous cell carcinoma of the oral mucosa. *Pathology – Research and Practice*, 2016. Vol.212. 426–436

27. Paul M, Timothy J, Martin H, Craig M, et al. Interobserver agreement in dysplasia grading: toward an enhanced gold standard for clinical pathology trials. *Oral and maxillofacial pathology* 2015; Vol. (23): 2212-4403.
28. Joabe S, Marianne V, Águida C, Tiago H, et al. Epidemiology and correlation of the clinicopathological features in oral epithelial dysplasia: analysis of 173 cases. *Annals of Diagnostic Pathology* 2011; Vol (15): 98–102.
29. Ga- Eon K, Ji S, Yoo-Duk C, Kyung-Hwa L, et al. Expression of matrix Metalloproteinases and their inhibitors in different immunohistochemical-based molecular subtypes of breast cancer. *Bio Med Central* 2014; vol (14): 1471-2407.
30. Gordon N, Silva J, Lucena H, Galvao H, et al. Análisis Clínico e Histomorfológico de la Mucosa Oral Normal, Hiperplasia Fibroepitelial Inflamatoria Oral y Displasia Epitelial Oral. *Int. J. Morphol* 2008; 26(2):345-352.