

INDICADORES PRONÓSTICOS, CLÍNICOS Y MOLECULARES, EN EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DEL CÁNCER BUCAL

Autora: Dra Maritza Canto Pérez. Especialista de primer grado en Cirugía maxilofacial, profesora Auxiliar, Máster en Educación Médica.

Coautores: Dra Tairí Borges García, Dra Lianet Bermúdez Sánchez

RESUMEN

Introducción: El aspecto clínico y el grado de displasia que pueden presentar las lesiones precancerosas de la cavidad oral, sugieren su capacidad potencial de malignización, actualmente es cada vez más frecuente encontrar investigaciones en búsqueda de nuevos marcadores, que permitan una mayor aproximación al conocimiento al grado de degeneración maligna. **Objetivo:** Actualizar información sobre los Indicadores pronósticos moleculares, en el diagnóstico y tratamiento del cáncer bucal. **Material y métodos:** Entre septiembre del 2014 y Marzo del 2015 se realizó una revisión de publicaciones impresas, clásicas y frecuentes, así como a través de Buscadores de Información Científica Especializados, sobre indicadores pronósticos, clínicos y moleculares, en el diagnóstico y tratamiento del cáncer bucal. El material encontrado se revisó y estudió para seleccionar la información útil. **Resultados:** Existen diferentes tipos de marcadores celulares y titulares que desde una perspectiva molecular proporcionan información adicional a la recopilada en el examen clínico y en el estudio histopatológico. Estos se agrupan en: marcadores de crecimiento tumoral; marcadores de supresión tumoral y de respuesta antitumoral; marcadores de angiogénesis; marcadores de invasión tumoral y de potencial metastizante; marcadores celulares de superficie; marcadores intracelulares; marcadores derivados del ácido araquidónico y marcadores enzimáticos. **Conclusiones:** los marcadores de evolución de las lesiones premalignas y malignas sirven también para evaluar su pronóstico o la eficacia de los tratamientos. Deben continuar las investigaciones para conseguir que el estudio del genoma y los factores relacionados pueda llevarse a cabo mediante

técnicas más sencillas y más baratas, que puedan aplicarse en los protocolos diagnósticos rutinarios.

Palabras Clave: Cáncer bucal, Marcadores moleculares, Factores pronósticos

INTRODUCCIÓN

Las neoplasias de cabeza y cuello constituyen una de las neoplasias malignas más frecuentes en el mundo, de modo que muchos registros las sitúan en segundo lugar de incidencia.

El intenso estudio del que han sido objeto estas neoplasias responde, no solo a su elevada incidencia, sino al hecho de asentar en una encrucijada anatómica importante en las funciones digestivas, respiratorias, de fonación y de relación, (además de su papel estético). Sin embargo, a pesar de múltiples estudios, las curvas de supervivencia apenas se han modificado en las últimas décadas.

El carcinoma de células escamosas (CCE) de cabeza y cuello es el sexto cáncer sólido más frecuente en el mundo, diagnosticándose anualmente 500 000 nuevos casos ¹ El carcinoma de la cavidad oral constituye el 30% de todos los cánceres de cabeza y cuello ² y se origina a partir de una población clonal de células que acumulan numerosas alteraciones genéticas (entre seis y diez) a lo largo de un proceso multiescalonado ³

De forma característica, los carcinomas de células escamosas orales, que son similares desde un punto de vista histopatológicos, exhiben cursos clínicos muy diferentes en diversos pacientes. Es por ello importante encontrar nuevos indicadores clínicos o moleculares que puedan ser utilizados con fines diagnósticos o pronósticos. ⁴

En los últimos años se ha ahondado en conocimientos de la biología molecular de estos tumores y ello ha abierto campo en el estudio de factores pronósticos y en el planteamiento de posibilidades futuras de tratamiento.

El aspecto clínico y en especial el grado de displasia que pueden presentar las lesiones pre cancerosas de la cavidad oral, sugieren su capacidad potencial de malignización, pero en la actualidad es cada vez más frecuente encontrar investigaciones orientadas hacia la búsqueda de nuevos marcadores, más específicos, que contribuyan a

determinar el grado de alteración celular y permitan una mayor aproximación al conocimiento al grado de degeneración maligna.

Existen, descritos en la literatura revisada, diferentes tipos de marcadores celulares y tisulares que, desde una perspectiva molecular, pueden proporcionar información adicional a la recopilada en el examen clínico y en el estudio histopatológico, el presente trabajo tiene como propósito proporcionar un acercamiento a los más conocidos y a sus aspectos más relevantes.

El objetivo es recopilar información actualizada sobre marcadores moleculares pronósticos del cáncer bucal,

MATERIAL Y METODOS

En el periodo comprendido entre septiembre de 2007 y marzo de 2008 se realizó una revisión bibliográfica sobre el tema objeto de estudio. Para desarrollar esta tarea se adiestraron previamente los investigadores involucrados, en el uso del Programa Gestor de base de datos EndNote X con el objetivo de acceder, a través de buscadores especializados, a sitios de reconocido prestigio internacional contentores de publicaciones biomédicas realizadas sobre factores de riesgo en los últimos años. Simultáneamente se realizó una búsqueda a través de publicaciones impresas relacionadas con la materia estudiada en las bibliotecas de la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara y la Clínica Estomatológica Docente del municipio de Santa Clara. Se realizaron intercambios personales y electrónicos con investigadores del tema como otra fuente de obtención de bibliografía relacionada.

La información que se obtuvo conformó una base de datos digitalizada, atendiendo al año de su publicación.

Un análisis individual y colectivo de la información significativa recopilada (Considerada como tal aquella respaldada por análisis estadísticos y bibliografía actualizada.) permitió determinar los aspectos, que atendiendo a los tópicos más repetidos, se describen. En el presente trabajo de revisión se repasan los conceptos más actuales de estos marcadores, agrupados por familias: marcadores de crecimiento tumoral; marcadores de supresión tumoral y de respuesta antitumoral; marcadores de angiogénesis; marcadores de invasión tumoral y de potencial metastizante; marcadores celulares de

superficie; marcadores intracelulares; marcadores derivados del ácido araquidónico y marcadores enzimáticos.

DESARROLLO:

Se postula que el desarrollo del cáncer es el resultado de la acumulación de errores genéticos en un mismo tejido, ^{1,2} donde también se encuentran implicadas la activación de oncogenes y la inactivación de genes supresores de tumores. Estudios estadísticos de aspectos moleculares sugieren que hacen falta entre 6 y 10 alteraciones genéticas, para que se produzca una transformación maligna de la mucosa oral. Existen diferentes tipos de marcadores celulares y tisulares, que, desde una perspectiva molecular, pueden proporcionar información adicional a la recopilada en el examen clínico y en el estudio histopatológico. Se describen a continuación los más conocidos, así como los aspectos más relevantes de los mismos.

Durante los últimos años, la Citometría de flujo se ha incorporado al estudio de todas las neoplasias. Básicamente ofrece información sobre la ploidía y sobre la tasa de división celular, factores directamente mencionados con la velocidad de crecimiento tumoral. En general un tumor es más agresivo, y tiene peor pronóstico cuanto mayor proporción de células aneuploides tiene, y cuando mayor es su tasa de proliferación. Este segundo parámetro, determinado por la proporción de células en fase S del ciclo celular parece relacionarse mejor que la ploidía con la respuesta al tratamiento y con la supervivencia. Estos son más desfavorables a medida que crece dicha proporción.

Marcadores de queratinización anómala

Actualmente se está prestando atención a otros datos obtenidos mediante observación directa de las células neoplásicas, concretamente, la medición del volumen nuclear. Esta medida se relaciona con la supervivencia libre de enfermedad y con la probabilidad de recaída. (4)

-Análisis nuclear:

El trabajo de Sudbo y Cols ⁵ expone que se ha producido un avance importante en la valoración del riesgo de cáncer oral en pacientes que tienen leucoplasias mediante el

análisis del ADN. Por tanto el ADN es un potente predictor de riesgo de la transformación maligna de una lesión.

En el análisis nuclear se valoran diferentes parámetros:

- Estado ploide del ADN (de apareamiento cromosómico) que refleja el riesgo de Cáncer Oral
 - Anaploide: riesgo alto
 - Tetraploide: riesgo intermedio
 - Diploide: riesgo bajo.

A modo de orientación, el 32% de los leucoplasias orales y el 45% de los Carcinomas de células escamosas tienen núcleo anaploides. Un 29 % de núcleos anaploides se encuentran en neoplasias sin displasia, un 22% en leucoplasias con displasia leve y un 67% en leucoplasias con displasia grave.⁵⁻⁸ Por tanto se puede decir que la información molecular permite redefinir la valoración de riesgo de Cáncer oral y sirve de guía de tratamiento frente a lesiones como la leucoplaquia. Es decir, que las leucoplasias orales anaploides requieren tratamientos, más agresivos para prevenir su evolución hacia la malignidad.

Marcadores celulares de superficie

Antígeno de histocompatibilidad. (HLA) La presencia del antígeno de histocompatibilidad B14 aumenta la probabilidad de padecer de un carcinoma de cabeza y cuello. Las moléculas que forman el complejo de inmunohistocompatibilidad clase I tienen un papel muy importante en la inmunidad. El antígeno HLA de clase II se expresa en algunos carcinomas orales y con más frecuencia en los que están poco diferenciados. Por el contrario los antígenos DR3 y DR4 ejercen un papel protector; son los primeros HLA conocidos, cuya presencia presupone un factor favorable.⁹

-*Antígeno CD57*: Se encuentra en la membrana de las células linfoides y neurales. En leucoplasias orales con displasia moderada o severa existe un aumento del porcentaje de linfocitos CD57, respecto a los tejidos normales.¹⁰

Amplificación de oncogenes.

Se ha observado que en algunas neoplasias de cabeza y cuello están ampliados genes situados en la región 11q13. Se encuentran dos genes de interés: Por una parte el oncogen int-2 está relacionado con la producción de un factor de crecimiento que

interviene en la angiogénesis. Es bien conocido que, en el proceso de metastización, las células tumorales tienen que asegurar su viabilidad mediante la secreción de sustancias que promueven el crecimiento de vasos sanguíneos encargados de transportar los nutrientes necesarios para que el tumor crezca con éxito. ⁶⁻⁹

Marcadores de angiogenesis

VEGF/VEGFR (vascular endothelial growth factor/receptor: es una citoquina multifuncional que controla la angiogénesis y también actúa como factor de supervivencia de las células endoteliales. ¹⁰ Los EGFR o el C-erbB-2 son importantes en la transducción de la diferenciación, el desarrollo y la emisión de la señal mitogénica en las células normales. En diferentes estadios de transformación maligna de los tejidos se produce un aumento anómalo del oncogén erbB-1. Según Werkmeister y cols. ⁶ se encuentra sobreexpresado en un 20,2% de los carcinomas orales. Se ha localizado una sobreexpresión del gen EGFR en diferentes tumores humanos, incluido el carcinoma oral de células escamosas, y la razón no es bien conocida ^{5,6}. El oncogén erbB-2 se localiza en el brazo corto del cromosoma 17 y su sobreexpresión, en un 14,7% de los carcinomas orales, incrementa el potencial de metástasis. Según Werkmeister, las aberraciones de erbB-1 y erbB-2 son marcas que indican que en la lesión puede producirse un proceso de carcinogénesis y conviene recordar que son muy comunes las alteraciones genéticas en lesiones orales premalignas histológicamente no displásicas. ⁶

Gen GST-pi. Se encarga de la síntesis de glutatión transferasa. Esta enzima ayuda a la célula a eliminar sustancias tóxicas, entre ellas el Cisplatino. Cuando el gen se encuentra amplificado, la célula se torna resistente al tratamiento con este fármaco que es uno de los más empleados en las neoplasias de cabeza y cuello. ^{5, 6, 11}

Marcadores de supresión tumoral y de respuesta antitumoral

Proteína P53: El P53 es una fosfoproteína de 53kDA formada por 393 aminoácidos, descubierta en 1970. Está sintetizada por un oncogén recesivo situado en el cromosoma 17. El término, “recesivo” indica que la proteína normal protege contra la aparición de tumores. La proteína P53 normal está involucrada en el control del ciclo celular, la reparación y síntesis del ADN, la diferenciación celular, la plasticidad del genoma y la muerte celular programada (apoptosis). ^{2, 5, 7, 8,11,12}

Las aberraciones del gen p53 son las alteraciones genéticas más frecuentes en el cáncer oral. Las alteraciones de este gen se han observado hasta en un 50% de todos los tumores humanos. En algunos casos como el cáncer de mama el trastorno posee un valor pronóstico adverso, sin embargo en los Carcinomas de cabeza y cuello no suele tener relación con las variables pronósticas (estadio, diferenciación, grado de infiltración, posibilidad de recidiva).^{8,11,12}

La detección de esta proteína suele indicar una pérdida de la función pre apoptótica que da lugar a un crecimiento continuo tumoral.¹² Este gen no se detecta en el estudio inmunohistoquímico de las células normales. La detección de p53 en áreas adyacentes preinvasivas de carcinomas escamosos y de lesiones displásicas, sugiere que puede constituir un avance en la historia natural del cáncer oral. Pero no es posible concluir que se trate de un biomarcador intermedio de riesgo, ya que su mutación es relativamente tardía en el proceso carcinogénico.^{12,13}

Marcadores de crecimiento tumoral.

Recientemente se ha intensificado el interés de los investigadores en la expresión de receptores de factores de crecimiento codificados por proto-oncogenes c erb B en el desarrollo del CCE y tumores de glándulas salivales.^{6,13-15}

Los receptores tirosin quinasa tipo I, codificados por los protooncogenes ErbB HER incluyen el receptor para el factor de crecimiento epidérmico (EGFR, HER 1 o ERBB-1; Erb-2 (HER-2 o neu) (Erb B-3 (HER-3) y ErbB-4 (HER-4) El factor de crecimiento epidérmico neural (NDF) es el ligando preferentemente para Erb-3 y Erb-4.¹³

La sobreexpresión de Erb-B-1 ha sido referida como indicativa de mal pronóstico en carcinomas adenoideos quísticos, habiendo sido considerado el ErbB- 2 como indicador pronóstico en carcinomas adenoideos quísticos y mucoepidermoides.

Los receptores tirosinquinasa tipo ErbB están involucrados en la proliferación y diferenciación celular y su activación aberrante o sobreexpresión puede contribuir al desarrollo y progresión tumoral.^{13, 15}

La relevancia pronóstica de la sobreexpresión de ErbB es controvertida. La expresión de ErbB-3 en el CCE de la cavidad oral ha sido correlacionada con metástasis ganglionares, modo de invasión e índice de supervivencia, pero parece ser independiente del tamaño tumoral o del grado histológico de diferenciación. Sin

embargo en otras series de CCE de la cavidad oral no se ha encontrado correlación entre la ocurrencia de las proteínas codificadas por los oncogenes ErbB-1 Erb-2 y ErbB-3 y factores pronósticos comunes (tamaño del tumor, estado de los ganglios linfáticos, metástasis estadio y grado de diferenciación).^{13,14}

Sin embargo puede existir una correlación estadísticamente significativa entre el periodo de supervivencia libre de enfermedad y el número de copias promedio de los genes que codifican ErbB-2 y Erb-3, pero no de ErbB-1.^{4,15} En contraste con estos resultados Field et al. 16 no encontraron correlación entre la amplificación de Erb B y las variables clínico patológicas y de supervivencia.

Ag nor . (Regiones organizadoras del nucléolo con afinidad por plata).

Las proteínas Ag NOR se han definido como anillos de ADN nuclear que codifican para el ADN Ribosomal. Son argirofílicas y constituyen un indicador de proliferación nuclear.^{4, 6, 11, 17}

Las NORs o regiones organizadoras del nucléolo son porciones de DNA ubicadas en las cromosomas 11, 15 y 21 que codifican para la producción de RNA ribosomal¹⁷ Asociadas a estos NORs encontramos proteínas ácidas no histónicas con afinidad por plata llamadas AgNORs. El número de AgNORs por núcleo se ha correlacionado con la tasa de transcripción del ARN ribosomal, proliferación celular y ploidía del ADN.^{9, 11, 18} La cuantificación y distribución de AgNORs son parámetros subjetivos y no diagnósticos de lesiones específicas, pero son útiles como complemento al estudio histológico para conocer el grado de alteraciones celulares y nucleares existente. A este marcador se le se le confiere una importante asociación con el pronóstico y podría ser indicativo del grado de malignidad.^{4,18, 19, 20}

Marcadores intracelulares

-Citoqueratinas: Son estructuras proteicas de las células epiteliales. Existen 19 citoqueratinas, que se dividen en 2 subfamilias. Los cambios en la expresión de estas proteínas no se pueden considerar predictores del desarrollo de displasia. La malignización de las lesiones orales se asocia con la desaparición de las citoqueratinas. Se ha visto que la expresión de CK19 en la capa de células suprabasal de la mucosa oral puede utilizarse como marcador diagnóstico de lesiones precancerosas orales. Y la expresión de CK19 se ha localizado en las fases iniciales de la carcinogénesis.^{19, 21}

CONCLUSIONES

Las investigaciones bioquímicas y de biología molecular que definen los marcadores de evolución de las lesiones premalignas y malignas sirven también para evaluar su pronóstico o la eficacia de los tratamientos.

Deben continuar y ampliarse las investigaciones en todos los ámbitos mencionados, o en otros nuevos, para conseguir que el estudio del genoma y de los factores relacionados pueda llevarse a cabo mediante técnicas más sencillas y más baratas, que puedan aplicarse en los protocolos diagnósticos rutinarios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kim J, Shin DM, El-Naggar A, Lee JS, Corrales C, Lippman SM et al. Chromosome polysomy and histological characteristics in oral premalignant lesions. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;10:319-25.
2. Sudbo J, Bryne M, Johannessen AC, Kildal W, Danielsen HE, Reith A. Comparison of histological grading and large-scale genomic status (DNA ploidy) as prognostic tools in oral dysplasia. *J Pathol* 2011;194:303-13.
3. Santana JG. Prevención y diagnóstico del cáncer bucal. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2002
4. Werkmeister R, Brandt B, Joos V. Clinical relevance of erbB-1 and -2 oncogenes in oral carcinomas. *Oral Oncol* 2012;36:100-5.
5. Sudbo E. et Al : Risk factors for oral cancer in Brazil *Int J. Cancer*.2005; 43:99
6. Werkmeister R, Brandt B, Joos V. Clinical relevance of erbB-1 and -2 oncogenes in oral carcinomas. *Oral Oncol* 2010;36:100
7. Kulasegaran R. et. Al: Cases-control study of oral dysplasias and risk habits among patients of a dental hospital. *Eur J. Cancer B: Oral Oncol*. 2001 231: 227.
8. Walker DM. The pathology of oral cancer. *Pathology*. 2010 Oct;35(5):376-83
9. Leclerc A. Type of alcoholism and cancer of the upper respiratory and digestive tract. *Eur J. cancer Clin. Oncol*. 2011; 23:259
10. De Vicente JC, Esteban I, Germanà A, Vega JA. Expresión de las proteínas de los proto-oncogenes ErbB-3 y ErbB-4 en el carcinoma oral de células escamosas: estudio piloto. *Med Oral* 2011;8:374-81.
11. Bhurgri Y. Cancer of the oral cavity and pharynx in Karachi-identification of potential risk factors. *Asian Pac Prev*. 2008 Apr-Jun;4(2):125-30
12. Cano LC, Álvarez GJ, Valencia WA, Ramírez JA, Prada CA. Análisis del marcador tisular AgNOR en leucoplasia y carcinoma escamocelular oral. *Medicina Oral* 2012; 7:17-25.
13. Schliephake H. Prognostic relevance of molecular markers of oral cancer -A review. *J Oral Maxillofac Surg* 2013;32:233-
14. Zhang L, Cheung K-J, Lam WL, Cheng X, Poh C, Priddy R et al. Increased genetic damage in oral leukoplakia from high risk sites. *Cancer* 2011;91:2148-55.

15. Piattelli A, Rubini C, Fioroni M, Iezzi G, Santinelli A. Prevalence of p53, bcl-2 and ki-67 immunoreactivity and of apoptosis in normal epithelium and in premalignant and malignant lesions of the oral cavity. *J Oral Maxillofac Surg* 2012;60:532-40.
16. Field et Al: Risk factors for multipli oral premalignant lesions, *Int J. Cancer* 2008 Nov. 107(2):285-91
17. Sudbo J, Kildal W, Risberg B, Koppang HS, Danielsen HE, Reith A. DNA content as a prognostic marker in patient with oral leukoplakia. *N Engl J Med* 2011; 344:1270-8.
18. Kim J, Shin DM, El-Naggar A, Lee JS, Corrales C, Lippman SM et al. Chromosome polysomy and histological characteristics in oral premalignant lesions. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 10:319-25.
19. Whyte DA, Broton CE, Shillitoe EJ. The unexplained survival of cells in oral cancer: what is the role of p53?. *J Oral Pathol Med* 2012;31:25-33.
20. Mineta H, Miura K, Takebayashi S, Ueda Y, Misawa K, Haida H et al. Cyclin D1 overexpression correlates with poor prognosis in patients with tongue squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2010;36:194-8
21. Koontongkaew S, Chareonkitkajorn A, Chavitan A, Leelakriangsak M, Amornphimoltham P. Alterations of p53, pBb, cyclin D1 and cdk4 in human oral and pharyngeal squamous cell carcinomas. *Oral Oncol* 2010;36:334-9.
22. Tumuluri V, Thomas GA, Fraser IS. Analysis of the Ki-67 antigen at the invasive tumour front of human oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2012;31:598-9