

Artículo Original

ISSN:1315 2823
INDICE REVENY:RV0003
LATINDEX: 18219
PERIODICA**Evaluación del infiltrado inflamatorio en leucoplasias y carcinomas bucales: estudio clínico transversal****Evaluation of inflammatory infiltrate in leukoplakia and oral carcinomas: cross-sectional study**Villarroel-Dorrego Mariana, Snijder María Alejandra
Instituto de Investigaciones Odontológicas.
Universidad Central de Venezuela
mariana.villarroel@ucv.ve

Recibido: 16/01/2013

Aceptado: 15/03/2013

Resumen

El objetivo del presente estudio fue caracterizar y comparar el infiltrado inflamatorio (IIF) de leucoplasias y carcinomas bucales (CBCE). Métodos: Fueron incluidos 140 casos bucales diagnosticados histopatológicamente como hiperqueratosis sin displasia epitelial (SDE) (n=20), displasias epiteliales (DE) (n=100) y CBCE (n=20). El IIF fue caracterizado bajo microscopio de luz. Las variables fueron comparadas mediante la prueba Mann-Whitney usando SPSS versión 17.0. El nivel de significancia fue establecido en un 5% ($\alpha=0.05$) y los valores p menores a 0.05 considerados estadísticamente significativos. Resultados: Todos los casos que mostraron inflamación fue de tipo crónico, conformado principalmente por linfocitos y en menor proporción plasmocitos. En el grupo SDE se observó la presencia de IIF leve en 16 casos (80%). Las DE mostraron un incremento de IIF comparado con las SDE ($p=0.005$), el cual fue leve en 76 casos (76%), moderado en 21 casos (21%), denso en 2 casos (2%). Los CBCE mostraron un incremento aun mayor del IIF ($p=0.0001$) el cual fue denso en la mayoría de los casos (95 %). Conclusiones: La presencia de IIF es un indicador de defensa inmunológica, la cual está dada por una respuesta celular que se incrementa a medida que se aumentan los cambios de malignidad.

Palabras clave: respuesta inmunológica, carcinomas bucales, displasia epitelial, leucoplasia.

Summary. Evaluation of inflammatory infiltrate in leukoplakia and oral carcinomas: cross-sectional study

The aim of this study was to characterise and compare the inflammatory infiltrate (IIF) of oral leukoplakias and oral carcinomas (CBCE). Methods: 140 cases microscopically diagnosed as hyperkeratosis without epithelial dysplasia (SDE) (n=20), epithelial dysplasia (n=100) and CBCE (n=20) were included. IIF was described and characterised under light microscope. Variables were analysed and compared by Mann-Whitney test using SPSS software 17.0 version. Significance level was set to 5% ($\alpha=0.05$) and any p value < 0.05 was considered statistically significant. Results: Chronic inflammation was observed in all cases that showed inflammation, composed by lymphocytes and plasmocytes. Mild IIF was found in 16 cases (80%) of SDE. Increased IIF was observed among DE compared to SDE ($p=0.005$). CBCE showed augmented IIF ($p=0.0001$) compared to SDE and DE. IIF in this group was mainly dense (95% cases). Conclusions: Presence of IIF may constitute an immunological defence indicator. Cellular response seems to increase proportionally to malignant changes of the epithelia. Although number of inflammatory cells increases, their immunological capacity against the carcinogenesis process is diminished.

Key words: immunological response, oral carcinoma, epithelial dysplasia, leukoplakia.

Introducción

La carcinogénesis bucal implica múltiples cambios genéticos, producidos por exposiciones repetidas a productos genotóxicos, principalmente derivados del tabaco. Durante esta transformación, algunos mecanismos son activados para detener esta progresión, muchos de ellos genéticos, otros inmunológicos y otros propios del tejido epitelial de revestimiento y de las células que lo conforman.

Algunos carcinomas bucales de células escamosas (CBCE), son reconocidos y destruidos por el sistema inmune, pero otros lo evaden invadiendo los tejidos conjuntivos subyacentes. Se ha demostrado un aumento del infiltrado inflamatorio de linfocitos CD4+ y CD8+, en desórdenes potencialmente malignos y carcinomas bucales. Este aumento del infiltrado inflamatorio crónico ha sido relacionado con altos grados de transformación maligna, es decir, a medida que progresa la transformación tumoral del epitelio, pareciera existir un ascenso en el número de linfocitos presentes.¹⁻³

Otras células del sistema inmunológico, que se incrementan en displasias epiteliales y carcinomas bucales, son las células *natural killer* (NK), consideradas como un factor indicativo de la presencia de células con transformación temprana maligna.⁴

El objetivo del presente trabajo fue evaluar histológicamente el infiltrado inflamatorio presente en leucoplasias y CBCE.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio clínico transversal de tipo observacional. La muestra estuvo conformada por un grupo de individuos con leucoplasia y CBCE (n=140), de los cuales 20 pacientes presentaron CBCE con confirmación histopatológica y 120 pacientes con diagnóstico clínico de leucoplasia bucal, de los cuales 20 presentaron hiperqueratosis sin displasia epitelial (SDE) y 100 pacientes evidenciaron diferentes grados de displasia epitelial (DE), leve, moderada y severa. Para la realización del presente estudio se obtuvo el consentimiento informado de los pacientes que participaron y se realizó una historia

clínica-odontológica exhaustiva que permitió el diagnóstico clínico de las lesiones.

La cuantificación y caracterización histológica del infiltrado inflamatorio de las leucoplasias y CBCE, se realizó a partir de biopsias de las lesiones de cada paciente, tomadas bajo anestesia local. Las biopsias o muestras biológicas, fueron lavadas con solución fisiológica y posteriormente colocadas en una solución fijadora de formol al 10%, para posteriormente incluirlas en parafina (Paraplast). Se realizaron cortes con un micrótopo de desplazamiento (Heidelberg) a un espesor de 4µm y se tiñeron con hematoxilina y eosina.

La observación histológica de cada tejido incluido y teñido con hematoxilina-eosina, fue realizada por 2 investigadores expertos en patología bucal previamente calibrados. Cada investigador observó 10 campos no repetidos de cada muestra. El diagnóstico histopatológico y grado de DE, fue determinado usando los criterios de la Organización Mundial de la Salud y la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer.⁵

El infiltrado inflamatorio fue clasificado usando la escala modificada de De Matos y col⁶. Como infiltrado inflamatorio denso, fue asignado cuando las células inflamatorias mostraban un patrón denso continuo; moderado cuando se observaban zonas densas de linfocitos en forma de focos y de manera discontinua y finalmente leve, cuando la presencia de células linfocitarias era limitada, escasa o ausente.

Las variables analizadas en el presente estudio fueron la edad y género, la displasia epitelial (ausencia-presencia), los grados de severidad de la displasia (leve, moderada, severa), la diferenciación histológica de los carcinomas (grados: bien, moderadamente, pobremente diferenciado) y el infiltrado inflamatorio: tipo de células presentes (linfocitos, plasmocitos, otros) y cantidad (leve, moderado, intenso).

Se describieron los datos estadísticamente, usando medias±desviación estándar y rangos para las variables cuantitativas y porcentajes para las variables categóricas. El infiltrado inflamatorio fue comparado entre los grupos de estudio, usando la prueba no paramétrica U de Mann- Withney

con nivel de significancia de 5% ($\alpha=0.05$) y los valores de p menores a 0.05 fueron considerados estadísticamente significativos.

Resultados

En relación a la edad, el grado de severidad de la lesión epitelial fue incrementándose con la

edad (Figura 1). El grupo SDE presentó la media de edad más baja $47,3 \pm 3,6$ años (rango entre 21 y 70 años), los casos de DE mostraron una media de $51,03 \pm 1,4$ años (18 a 80 años), y finalmente los pacientes con CBCE, mostraron la media de edad más alta $61,75 \pm 3,55$ años en un rango entre 22 y 82 años.

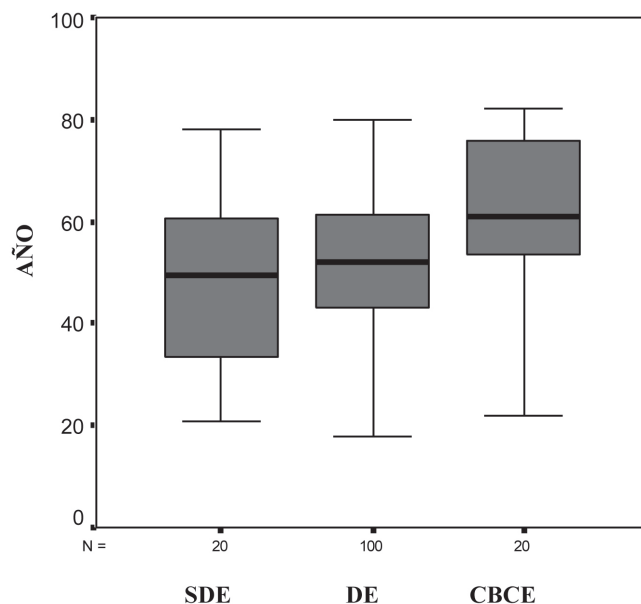


Figura 1. Distribución etaria de SDE, DE y CBCE. Comparación de medias de edad de cada grupo y desviación estándar.

Con respecto al género, la población total estudiada estuvo integrada por 83 hombres (59%) y 57 mujeres (41%). En general, fue el género masculino el mayormente afectado,

sin embargo, fueron más prevalentes en las mujeres las formas pobremente diferenciadas de carcinoma (Figura 2).

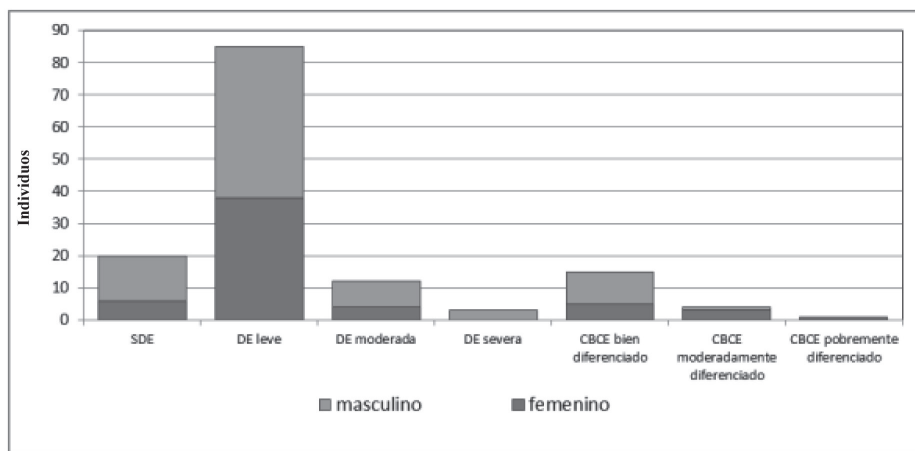


Figura 2. Distribución por género de SDE, DE y CBCE

Displasia epitelial y diferenciación histológica de CBCE

De los 100 pacientes estudiados con DE, 61% (85 casos) presentaban DE leve, 8% (12 casos)

presentaron DE moderada y 2% de los pacientes (3 casos) DE severa (DES) (Figura 3).

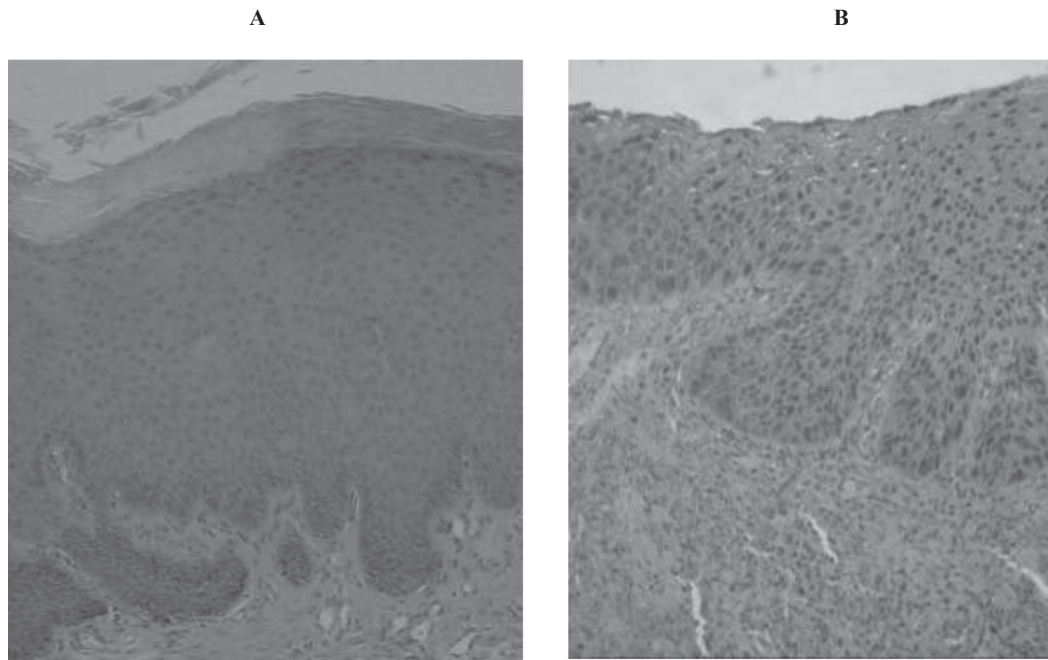


Figura 3. Microfotografías 40X de (A) DE leve y (B) DE severa. Nótese la diferencia entre el infiltrado inflamatorio de cada fotografía.

Del grupo de 20 pacientes con CBCE, 11% (15 casos) presentaron CBCE bien diferenciado, 3% (4 casos) presentaron CBCE moderadamente diferenciado y sólo 1% (1 caso) presentó CBCE pobremente diferenciado (Figura 4).

Infiltrado inflamatorio

El infiltrado inflamatorio observado, fue conformado principalmente por linfocitos y plasmocitos. No se apreció la presencia de polimorfonucleares neutrófilos, eosinófilos ni de otras células como mastocitos.

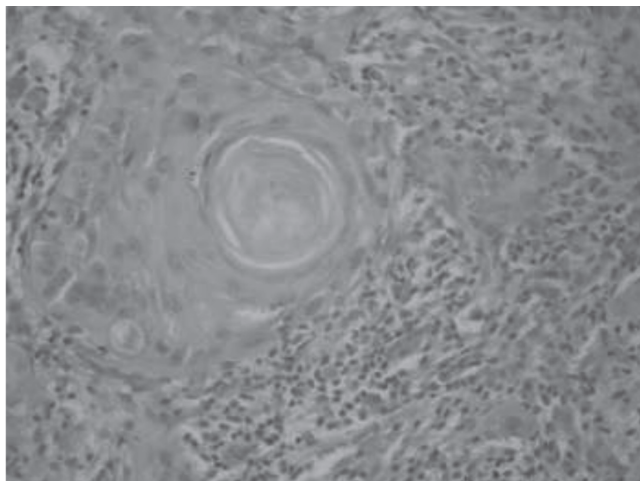


Figura 4. Microfotografía 100X de isla de CBCE rodeada de un intenso infiltrado inflamatorio linfo-plasmocitario.

La intensidad de la inflamación, fue en ascenso proporcional a los cambios displásicos epiteliales. La inflamación más intensa fue observada en los CBCE.

En el grupo de SDE, en ausencia de displasia epitelial, 3 casos no mostraron infiltrado inflamatorio alguno. Cuando plasmocitos y linfocitos fueron apreciados, fue de carácter leve en la mayoría de los casos (16 pacientes).

En presencia de DE, el infiltrado inflamatorio fue estadísticamente mayor que las lesiones SDE ($p= 0.005$). Las DE leves presentaron inflamación leve en 81,17% de los casos, en las DE moderadas, en 6 casos (50%) se presentó un infiltrado inflamatorio leve y 6 casos (50%)

infiltrado inflamatorio moderado. Finalmente la DE severa mostró en 33.3% de los casos, infiltrado inflamatorio denso (Figura 5).

En el grupo de pacientes con CBCE, se evidenció un incremento significativo de infiltrado inflamatorio denso en 95 % de los pacientes (19 casos). El infiltrado inflamatorio fue

estadísticamente mayor en este grupo, comparado con los anteriores ($p \leq 0.0001$). En los pacientes con CBCE bien diferenciados, 14 casos (93,33%) presentaron infiltrado inflamatorio denso y 1 solo caso un infiltrado inflamatorio moderado. En los CBCE moderada y pobremente diferenciados, el infiltrado fue siempre denso (Figura 5).

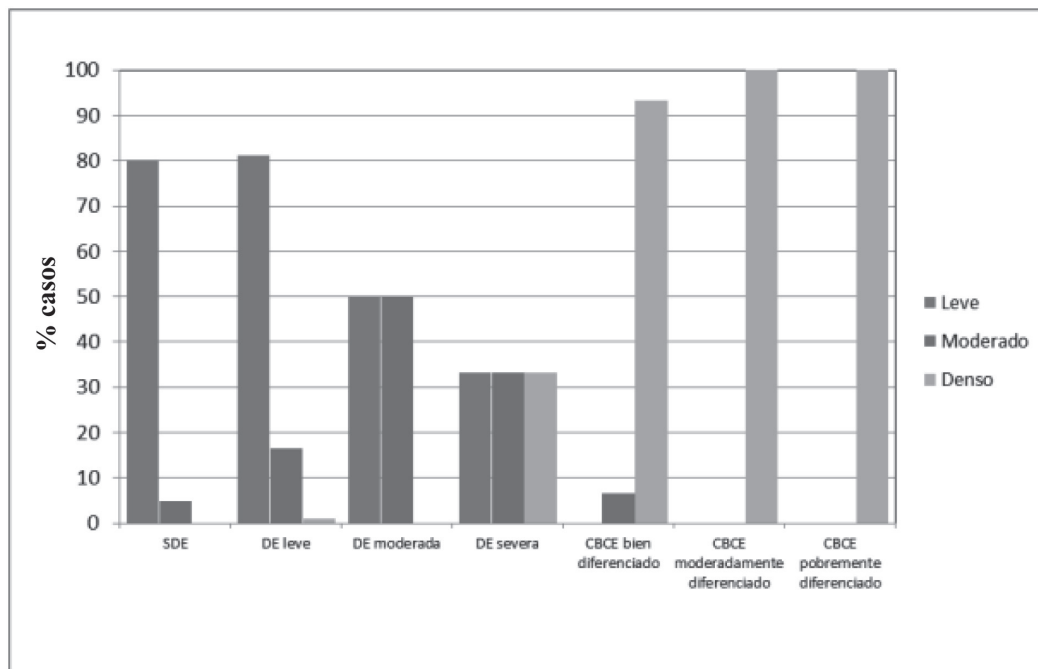


Figura 5. Intensidad del infiltrado inflamatorio según la lesión

Discusión

Los resultados del presente estudio, muestran un aumento considerable en el número de células inflamatorias, a medida que los grados de displasia epitelial van avanzando hasta el estadio de cáncer. Estas observaciones han sido reportadas anteriormente en la literatura^{1,2,7}; sin embargo, otros trabajos han comprobado una disminución en la respuesta inmunológica^{3,4}. La disminución de linfocitos en displasias epiteliales severas, observadas en estos trabajos, pudiera representar un estadio transitorio de inmunosupresión local, el cual es crítico para la progresión hacia carcinoma.

La razón por la cual, los carcinomas bucales tienen la habilidad de eludir el sistema inmunológico es aún desconocida, pero los factores que controlan la activación linfocitaria parecieran los más involucrados. El argumento más fuerte de

la existencia de una “inmuno-vigilancia tumoral”, es el aumento de la frecuencia de tumores malignos en pacientes inmunosuprimidos¹. Además se ha observado, que individuos que presentan mayor cantidad de linfocitos CD8+ alrededor del tumor, tienen mayor tendencia a una larga tasa de supervivencia.^{7,8}

Se ha sugerido, que el sistema inmune es suprimido por un estímulo carcinogénico, mediante el cual el tumor produce factores supresores que inhiben la activación, pero no la migración linfocitaria. De esta forma, el tumor escapa del reconocimiento inmunológico en presencia de linfocitos, posiblemente a través de la pérdida de moléculas co-estimuladoras como CD80, CD86 y CD40⁹⁻¹¹. Más aun, se han estudiado las variaciones en las poblaciones leucocitarias circulantes, en pacientes con leucoplasia y carcinomas bucales, encontrando una variación importante en los

fenotipos, que pudieran estar asociados al estatus y progresión tumoral.^{12,13}

Conclusiones

La presencia de linfocitos y plasmocitos en procesos de displasia epitelial y carcinomas bucales, es uno de los indicadores de defensa inmunológica, la cual está dada por una respuesta celular que se incrementa a medida que se aumentan los cambios de malignidad. A pesar que el número de células inflamatorias se incrementan, la capacidad inmunológica de detener el proceso de carcinogénesis epitelial se deteriora, y se observa mayor número de células inflamatorias directamente proporcional a la invasión tumoral, incapaces de detener el proceso.

Referencias

- Gannot G, Gannot I, Vered H, Buchner A, Keisari Y. Increase in immune cell infiltration with progression of oral epithelium from hyperkeratosis to dysplasia and carcinoma. *Br J Cancer*. 2002; 86(9):1444-8.
- Öhman J, Magnusson B, Telemo E, Jontell M, Hasséus B. Langerhans cells and T cells sense cell dysplasia in oral leukoplakias and oral squamous cell carcinomas--evidence for immunosurveillance. *Scand J Immunol*. 2012; 76(1):39-48.
- Migliorati CA, Migliorati EK, Silverman S Jr, Greenspan D, Greenspan JS. Phenotypic identification of mononuclear cells in oral premalignant lesions and cancer by monoclonal antibodies. *J Oral Pathol*. 1986; 15(6):352-8.
- Bondad-Palmario GG. Histological and immunochemical studies of oral leukoplakia: phenotype and distribution of immunocompetent cells. *J Philipp Dent Assoc*. 1995; 47(1):3-18.
- Barnes L, Eveson J, Reichart P, Sidransky D. World Health Organization classification of tumours: Pathology and genetics of head and neck tumours. Lyon: IARC Press; 2005.
- De Matos FR, Lima Ed, Queiroz LM, Da Silveira EJ. Analysis of inflammatory infiltrate, perineural invasion, and risk score can indicate concurrent metastasis in squamous cell carcinoma of the tongue. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012; 70(7):1703-10.
- Zancope E, Costa NL, Junqueira-Kipnis AP, Valadares MC, Silva TA, Leles CR, et al. Differential infiltration of CD8+ and NK cells in lip and oral cavity squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2010; 39(2):162-7
- Chomette G, Auriol M, Labrousse F. The value of a study of the microvascularization and the cellular immunosurveillance of precancerous states and micro-cancers of the oral cavity. *Rev Stomatol Chir Maxillo Fac*. 1990; 91(4):262-5.
- Villarroel-Dorrego M, Whawell SA, Speight PM, Barrett AW. Transfection and ligation of CD40 in human oral keratinocytes affect proliferation, adhesion and migration but not apoptosis in vitro. *Clin Exp Dermatol*. 2006; 31(2):266-71.
- Villarroel-Dorrego M, Whawell SA, Speight PM, Barrett AW. Transfection of CD40 in a human oral squamous cell carcinoma keratinocyte line upregulates immune potency and costimulatory molecules. *Br J Dermatol*. 2006; 154(2):231-8.
- Villarroel-Dorrego M, Speight PM, Barrett AW. Expression of major histocompatibility complex class II and costimulatory molecules in oral carcinomas in vitro. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005; 10(3):188-95.
- Lee JJ, Lin CL, Chen TH, Kok SH, Chang MC, Jeng JH. Changes in peripheral blood lymphocyte phenotypes distribution in patients with oral cancer/oral leukoplakia in Taiwan. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2010; 39(8):806-14.
- Gaur P, Qadir GA, Upadhyay S, Singh AK, Shukla NK, Das SN. Skewed immunological balance between Th17 (CD4(+))IL17A (+) and Treg (CD4 (+)CD25 (+)FOXP3 (+)) cells in human oral squamous cell carcinoma. *Cell Oncol (Dordr)*. 2012; 35(5):335-43.