

Expresión de E-cadherina y células de Langerhans en verruga vulgar y papiloma bucal.

Expression of E-cadherin and Langerhans cells in verruca vulgaris and oral papilloma.

Perla Cháirez-Atienzo,* María Elisa Vega-Memije,** Francisco Javier García-Vázquez,*** Juan Carlos Cuevas-González[†]

RESUMEN

Introducción: La verruga vulgar y el papiloma bucal son lesiones provocadas por el virus papiloma humano, se pueden encontrar presentes en la mayoría de las superficies cutáneas y mucosas, su comportamiento biológico es benigno. Las proteínas de adhesión como la E-cadherina, se encargan de mantener la organización y morfología celular, disminuyen su expresión epitelial en ciertas lesiones potencialmente cancerizables, y favorecen la migración e invasión celular ocasionando posibles metástasis. Las células de Langerhans, son células presentadoras de antígeno que activan el sistema inmunológico para proteger al organismo contra patógenos o sustancias extrañas. **Objetivo:** Determinar el grado de expresión de E-cadherina y de células de Langerhans en verruga vulgar y papiloma bucal. **Material y métodos:** Se realizó un estudio descriptivo y retrospectivo, en el cual se incluyeron 16 bloques con tejido incluido en parafina con diagnóstico de verruga vulgar, y cuatro diagnosticados como papiloma bucal, todos los casos fueron corroborados con la tinción de hematoxilina y eosina. La determinación del grado de expresión de las células de Langerhans y E-cadherina se realizó por medio de la técnica de inmunohistoquímica, la valoración se llevó a cabo de manera semicuantitativa, y se realizó estadística descriptiva. **Resultados:** La expresión de E-cadherina en verruga vulgar fue intensa tanto en cantidad como intensidad, mientras que en papiloma bucal fue moderada también en ambos casos; las células de Langerhans mostraron una inmunotinción moderada en las lesiones de verruga vulgar en intensidad y cantidad; en el caso de papiloma bucal esta inmunotinción en intensidad y cantidad fue leve. **Conclusiones:** Los resultados mostraron que las proteínas de adhesión E-cadherina no pierden su expresión en la verruga vulgar y papiloma bucal, lo cual confirma su benignidad. La expresión de las células de Langerhans nos indica que la piel es más reactiva que la mucosa bucal al tener mayor cantidad de estas células.

Palabras clave: Virus papiloma humano, papiloma bucal, verruga vulgar, E-cadherina, células de Langerhans, inmunohistoquímica.

ABSTRACT

Introduction: Verruca vulgaris and oral papilloma are lesions caused by the human papillomavirus. They can be found on most skin and mucosal surfaces, and their biological behavior is benign. Adhesion proteins such as E-cadherins are responsible for maintaining cell morphology and organization; they decrease the expression in certain potentially cancerous epithelial lesions and promote cell migration and invasion, causing possible metastasis. Langerhans cells are antigen-presenting cells that activate the immune system to protect the body against pathogens or foreign substances. **Objective:** To determine the degree of expression of E-cadherin and Langerhans cells in verruca vulgaris and oral papilloma. **Material and methods:** We performed a descriptive and retrospective study involving 16 paraffin-embedded tissue blocks of diagnosed cases of verruca vulgaris and 4 paraffin-embedded tissue blocks identified as oral papilloma. The diagnosis was previously confirmed by hematoxylin and eosin staining. The degree of expression of Langerhans cells and E-Cadherin was determined by immunohistochemistry, while the evaluation was carried out semiquantitatively, with descriptive statistics being performed. **Results:** The expression of E-cadherin in verruca vulgaris was strong in terms of both quantity and intensity, whereas in the case of oral papilloma it was moderate for both. Langerhans cells showed moderate immunostaining for both intensity and quantity in verruca vulgaris-type lesions, while for oral papilloma, the immunostaining was also mild in both cases. **Conclusions:** The results suggest that the expression of E-cadherin adhesion proteins does not diminish in verruca vulgaris and oral papilloma, which confirms their benignity. Langerhans cell expression suggests that the skin—which shows a greater presence of these cells—is more reactive than the oral mucosa.

Key words: Human papillomavirus, oral papilloma, verruca vulgaris, E-cadherin, Langerhans cells, immunohistochemistry.

* Alumna de la Maestría en Ciencias Estomatológicas, Facultad de Odontología, Universidad Juárez del Estado de Durango. Durango, Dgo., México.

** Departamento de Dermatología, Hospital General «Dr. Manuel Gea González», Ciudad de México.

*** Laboratorio de Patología Molecular, Instituto Nacional de Pediatría, Ciudad de México.

[†] Laboratorio de Patología, Facultad de Odontología, Universidad Juárez del Estado de Durango. Durango, Dgo., México.

Recibido: Junio 2016. Aceptado para publicación: Agosto 2016.

INTRODUCCIÓN

El virus papiloma humano (VPH) es un virus perteneciente a la gran familia *Papillomaviridae*, mide aproximadamente 55 nm de diámetro, y presenta un núcleo de ácido desoxirribonucleico (ADN) de doble cadena circular.¹ Su genoma está conformado de 7,200 a 8,000 pares de bases y tiene un peso molecular de 5.2×10^6 Daltons, se encuentra envuelto por una cápside icosaédrica conformada por 72 capsómeros.² Este tipo de virus infecta a las células epiteliales basales tanto de piel y mucosa; las infecciones por VPH en boca pueden ocasionar lesiones como: papilomas bucales (PB) y verrugas vulgares (VV), condilomas, e hiperplasia epitelial focal.³

La frecuencia de VPH en la cavidad bucal es controversial, si bien algunos estudios muestran sólo una pequeña cifra de pacientes con esta infección;⁴ se han podido identificar algunos de los subtipos de bajo riesgo de VPH en algunas lesiones bucales (VPH-1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 13, 16, 18, 31, 32, 33, 35, 40, 45, 52, 55, 57, 58, 59, 69, 72 y 73).⁵ Y en otras lesiones la presencia de VPH con subtipos de alto riesgo está asociado con carcinomas de lengua, labio, laringe, etc.⁴

El papiloma bucal es considerado uno de los tumores epiteliales benignos más comunes de la mucosa bucal, se presentan de igual manera tanto en el sexo femenino como en el masculino; clínicamente estas lesiones exhiben una superficie rugosa en forma de coliflor, con una coloración del blanco al grisáceo, dependiendo de su grado de queratinización; de manera más frecuente las podemos encontrar en lengua y paladar.⁶ Histológicamente el papiloma bucal presenta proyecciones digitiformes de epitelio escamoso, hiperqueratosis, núcleos picnóticos con un halo pálido nuclear, dando lugar a las células coilocíticas,⁷ son causados por los subtipos de VPH 6 y 11 principalmente.⁵

En la piel la verruga vulgar es la infección más frecuente y se caracteriza por una proliferación epidérmica que rara vez se torna en una lesión maligna,⁸ excepto en regiones periungueales y con determinados subtipos virales. Se puede definir como una excrecencia circunscrita con una coloración similar a la piel, de superficie córnea y áspera.⁹ Es una lesión contagiosa, puede ser transmitida por autoinoculación y por contacto directo e indirecto, y los sitios donde se presentan con más frecuencia son las manos, pies y cara,⁸ aunque también se pueden encontrar en cuello y piel cabelluda, de manera solitaria o agrupada.⁹ Histológicamente la verruga vulgar presenta características como hiperqueratosis, papilomatosis, paraqueratosis, acantosis y células coilocíticas.¹⁰ Los subtipos

de VPH que más comúnmente inducen a la aparición de la VV son el 2, 4 y 40.⁸

Las cadherinas son una familia de proteínas de tipo 1 transmembrana.¹¹ Es la proteína encargada de la adhesión célula-célula dependiente del Ca^{2+} en tejidos epiteliales de vertebrados,¹² además desempeña un papel muy importante en el mantenimiento de la polaridad celular y la adhesión en los tejidos, así como de la morfología de las células epiteliales y la integridad de los tejidos; disminuyen su expresión epitelial en ciertas lesiones potencialmente cancerizables, lo cual da lugar a la migración e invasión celular provocando posibles metástasis. La E-cadherina juega un rol muy importante en la carcinogénesis, ya que una expresión disminuida de esta proteína se va a reflejar en un aumento en la invasividad y migración celular, lo que facilita el crecimiento y proliferación de las células tumorales metastásicas para formar así nuevas lesiones.¹³

Las células de Langerhans participan en la inmunidad, una respuesta inmune disminuida resulta en lesiones bucales asociadas al VPH de mayor gravedad;¹⁴ algunos estudios han demostrado la reducción en el número de células presentadoras de antígenos en infecciones por VPH en neoplasias epiteliales cervicales.¹⁵

La expresión de E-cadherina y de células de Langerhans ha sido estudiada en distintos tipos de lesiones, no siendo así el caso de las localizadas en boca, por lo que el objetivo de este trabajo fue el de determinar la expresión de E-cadherina y células de Langerhans en verruga vulgar y papiloma bucal, para contribuir así al conocimiento fisiopatológico de estas lesiones tan comunes en la consulta dermatológica y odontológica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo donde la muestra fue por cuota y conveniencia ($N = 20$). Se tomaron bloques de parafina casos diagnosticados como verruga vulgar ($n = 16$) y papiloma bucal ($n = 4$). El diagnóstico de los casos fue realizado con hematoxilina y eosina (H y E) por parte de dos examinadores previamente estandarizados (Kappa .90 inter e intraobservador). Se realizaron cortes histológicos de aproximadamente 2μ , con un total de tres laminillas por bloque (una laminilla para H y E, una para E-cadherina y una para CD1-a), para realizar posteriormente la técnica de inmunohistoquímica. La recuperación antigénica se realizó con un buffer de citrato de sodio al 0.1% en horno de microondas de alto poder por cinco minutos; el bloqueo de la peroxidasa endógena se efectuó con peróxido de hidrógeno al 3% dejando en

reposo por cinco minutos y lavando con agua destilada; se procedió a bloquear sitios inespecíficos o cargados con suero normal durante aproximadamente 10 minutos. Se incubaron los tejidos con el anticuerpo primario (CD1-a: DAKO, clona 010; 1:100; E-cadherina: DAKO, clona NCH-38; 1:100) por 45 minutos. De igual manera se utilizó el sistema MACH 1 durante aproximadamente 15 minutos para revisar la reacción al microscopio utilizando 3,3'-diaminobenzidina- H_2O_2 como sustrato. Para realizar la técnica de inmunohistoquímica se utilizó como control positivo para CD1-a histiocitosis de células de Langerhans, y para E-cadherina piel sin alteraciones histológicas. Se filtró hematoxilina Lillie-Mayer's (Biocare Medical) en las laminillas para realizar la contratinción.

El análisis de resultados se efectuó de manera semicuantitativa con el registro en cantidad e intensidad en la inmunexpresión de los anticuerpos y se realizó estadística descriptiva.

RESULTADOS

De una muestra de 20 casos, 16 casos (80%) correspondieron a verruga vulgar y cuatro casos (20%) a papiloma bucal. De los 16 casos de verruga vulgar, 10 correspondieron al sexo femenino (62.5%) presentando una media de edad de 39.5 años; mientras que seis casos corres-

pondieron al sexo masculino (37.5%) con una media de edad de 37 años. De los cuatro casos de papiloma bucal, tres correspondieron al sexo femenino representando un 75%, teniendo una media de edad de 38 años; sólo se presentó un caso del sexo masculino para papiloma bucal, con una edad de 25 años.

En las muestras de verruga vulgar (*Figura 1*), la expresión de E-cadherina presentó una intensidad y cantidad intensa (43.8 y 100% respectivamente). La expresión de CD1-a se encontró de manera moderada en intensidad y cantidad (50 y 43.8% respectivamente), como se puede apreciar en la *figura 2*.

En el caso de las muestras de papiloma bucal (*Figura 3*), la expresión de E-cadherina presentó una intensidad y cantidad moderada (75 y 50% respectivamente). La expresión de CD1-a se encontró en intensidad y cantidad de manera leve (75%), como se puede observar en la *figura 2*.

DISCUSIÓN

Las proteínas de adhesión como la E-cadherina, las cuales se encargan de mantener la organización y morfología celular, disminuyen su expresión epitelial en ciertas lesiones potencialmente cancerizables, lo cual da lugar a la migración e invasión celular ocasionando posibles metástasis.¹⁶ En los controles positivos que nosotros utilizamos

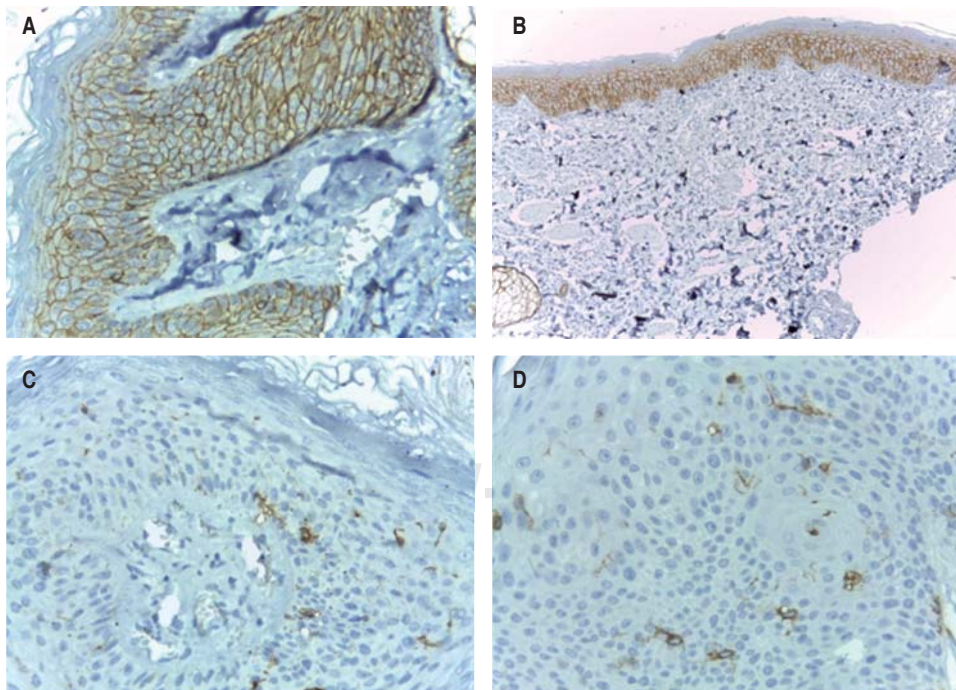


Figura 1.

A (400x), B (100x) expresión intensa de E-cadherina en el epitelio de verrugas vulgares. **C y D (400x)** Marcaje intenso de CD1-a en el epitelio de lesiones correspondientes a verruga vulgar.

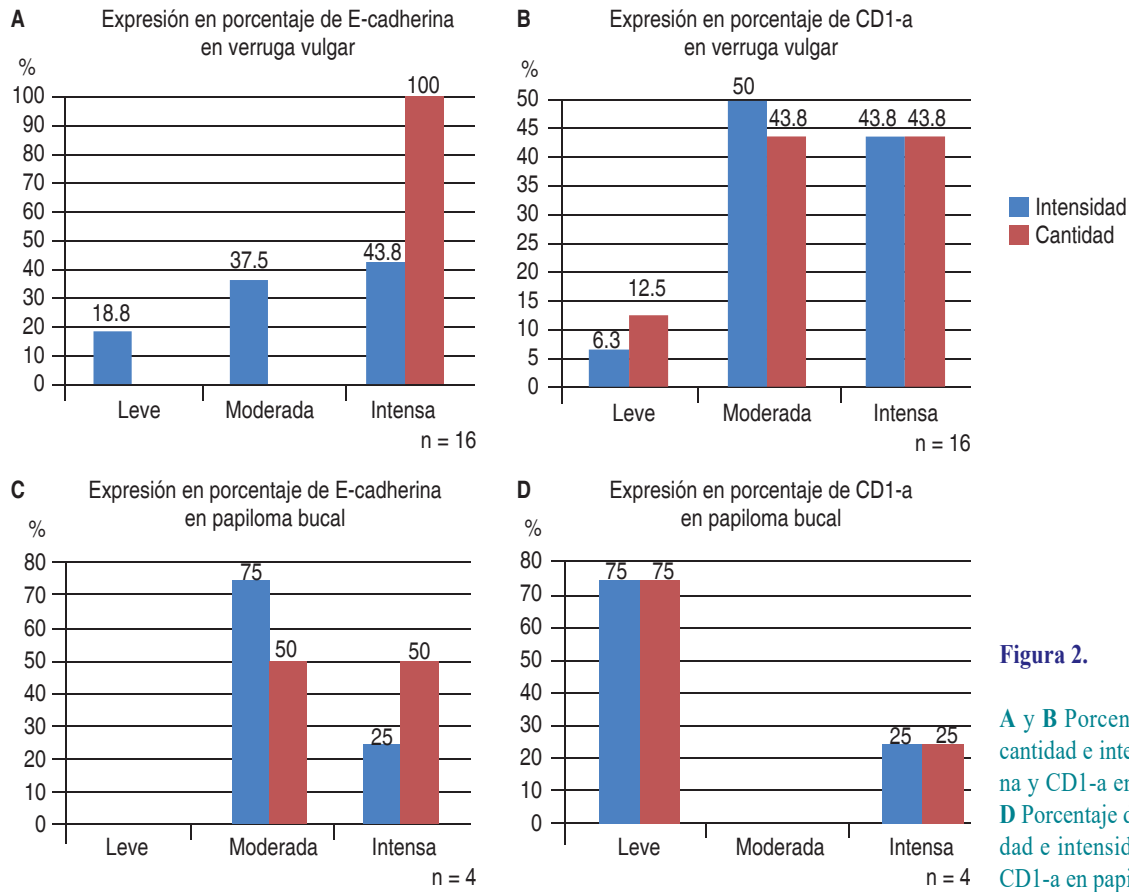


Figura 2.

A y B Porcentaje de expresión en cantidad e intensidad de E-cadherina y CD1-a en verruga vulgar. **C y D** Porcentaje de expresión en cantidad e intensidad de E-cadherina y CD1-a en papiloma bucal.

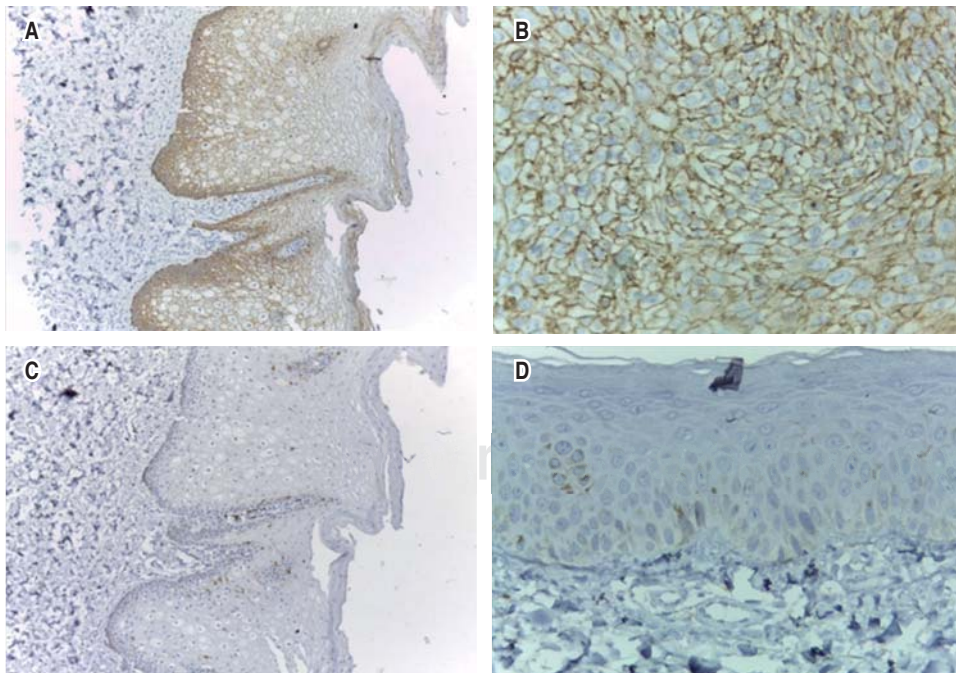


Figura 3.

A (100x), **B** (400x) Inmunotinción moderada e intensa de E-cadherina en tejido correspondiente a papiloma bucal. **C** (100x), **D** (400x) Expresión leve en intensidad y cantidad de CD1-a en tejido correspondiente a papiloma bucal.

(piel sin alteraciones histológicas), y en las 20 muestras que trabajamos se observó la expresión íntegra entre las células epiteliales de la E-cadherina lo cual coincide con lo reportado en la literatura, y nos da la certeza de que la técnica de inmunohistoquímica que utilizamos está bien realizada y que la lesión no tiene datos de malignidad.

La piel es un órgano afectado de manera frecuente por infecciones de tipo viral, siendo así también el caso de las mucosas. En las lesiones cutáneas o mucosas los agentes infecciosos se encuentran en un estado de replicación continuo en las células, permaneciendo en ellas, alterando su ciclo celular y provocando un daño epitelial,¹⁷ lo cual explica la positividad del anticuerpo CD1-a tanto en los controles positivos como en las muestras de verrugas vulgares y papilomas bucales incluidas en nuestro estudio. El rol que desempeñan determinados subtipos de VPH en la oncogénesis está bien esclarecido en lesiones de tipo genital, pero no es así el caso de las lesiones originadas en la cavidad bucal.¹⁸

Algunos autores consideran que aunque la VV corresponde a una lesión benigna, existen evidencias de que algunos de los subtipos de VPH que las originan pueden estar en estrecha relación con transformaciones a lesiones potencialmente cancerizables.¹⁹ En nuestro estudio, pudimos observar las características histológicas de estas lesiones, las cuales describimos como proyecciones digitiformes, de base pediculada, cada una presentaba una superficie queratinizada, con presencia marcada de vascularidad, lo cual concuerda con lo que se reporta en la literatura.

El papiloma bucal se presenta como una lesión de crecimiento exofítico, de base sésil o pediculada, de color blanco debido a su grado de queratinización, tienen un tamaño aproximado de 1 cm de diámetro, muchas veces pueden llegar a recidivar una vez eliminadas de manera quirúrgica, ya que el virus puede permanecer en el epitelio de manera latente y formar nuevas lesiones.²⁰ Cabe mencionar que debido a la similitud de las características histopatológicas en ocasiones es difícil realizar un diagnóstico con H y E de la verruga vulgar y del papiloma bucal, por lo que se puede llegar a requerir la identificación del subtipo de VPH implicado.

Sridevi *et al.*, en un estudio realizado en la India en el 2015, en muestras de lesiones de leucoplasia, líquen plano, fibrosis submucosa, carcinoma oral de células escamosas y un grupo de mucosa bucal normal, determinaron la expresión de E-cadherina por medio de inmunohistoquímica, la expresión de este anticuerpo en las lesiones se mostró de manera leve a moderada en la mayoría de las muestras, contrario a la mucosa bucal normal en donde

la expresión fue intensa, lo cual sugirió una disminución del marcaje de este anticuerpo en células displásicas, en comparación con las células de mucosa bucal normal.²¹ En nuestro trabajo la expresión de la E-cadherina en la verruga vulgar se encontró de manera intensa, mientras que en el papiloma bucal su expresión fue en su mayoría moderada. En nuestro estudio pudimos observar que el inmunomarcaje de E-cadherina en el estrato basal era intenso, y este marcaje se fue degradando a medida que avanzaba al estrato córneo, este hecho cabe dentro del proceso normal de exfoliación de las células epidérmicas, estos resultados nos indican que la expresión de la proteína E-cadherina se encuentra conservada tanto en papilomas como en verrugas vulgares.

En un estudio llevado a cabo en China en el 2015, Jiang & Xue investigaron la correlación de las proteínas E6 y E7 con las células de Langerhans, en 43 lesiones de pacientes tratados quirúrgicamente por presentar lesiones cervicales por VPH tipo 16, y la expresión del CD1-a se encontró distribuida principalmente en las membranas y en el citoplasma de células del estrato basal, con protuberancias dendríticas irregulares, esta expresión se encontró reducida sobre todo en las lesiones cervicales que presentaron una intensidad mayor. Se confirmó que la disminución en la expresión de CD1-a es un factor muy importante en lesiones cervicouterinas VPH positivas de alto riesgo.²² Las células de Langerhans presentes en nuestras muestras de verruga vulgar y papiloma se encontraron en su mayoría distribuidas en el estrato espinoso y granular, presentaban una morfología estrellada irregular, con un núcleo plegado, con estos resultados podemos sugerir que el inmunomarcaje de las células de Langerhans no presentó alteraciones en cuanto a su localización epitelial y morfología, lo que va de acuerdo con la benignidad de las lesiones.

Dentro de las limitaciones de este estudio se encuentra una muestra pequeña, sin embargo, es el inicio para la realización de estudios posteriores referentes a estas patologías, ya que en la literatura actual no existen trabajos que profundicen sobre este tema y ayuden a dilucidar la fisiopatogenia de estas lesiones.

CONCLUSIONES

La expresión de la E-cadherina en verruga vulgar fue intensa, mientras que en papiloma bucal fue moderada, sugiriéndonos que esta proteína de adhesión no pierde su expresión en este tipo de lesiones. El anticuerpo CD1-a mostró una inmunotinción moderada en las verrugas vulgares; en el caso de papiloma bucal esta reacción

fue leve, lo cual indica que la piel es más reactiva que la mucosa bucal al tener mayor cantidad de células de Langerhans.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chaudhary AK, Pandya S, Mehrotra R, Bharti AC, Singh M, Singh M. Comparative study between the Hybrid Capture II test and PCR based assay for the detection of human papillomavirus DNA in oral submucous fibrosis and oral squamous cell carcinoma. *Viral J.* 2010; 7: 253.
2. Castro TP, Bussoloti-Filho I. Prevalence of human papillomavirus (HPV) in oral cavity and oropharynx. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2006; 72 (2): 272-282.
3. Sabeena S, Pallade SR, Kamath N, Mathew M, Arunkumar G. Papilloma of lip associated with human papilloma viruses-32 infection in a child. *Indian J Med Microbiol.* 2016; 34 (1): 97-99.
4. Smith EM, Hoffman HT, Summersgill KS, Kirchner HL, Turek LP, Haugen TH. Human papillomavirus and risk of oral cancer. *Laryngoscope.* 1998; 108 (7): 1098-1103.
5. Syrjänen S. Human papillomavirus infections and oral tumors. *Med Microbiol Immunol.* 2003; 192 (3): 123-128.
6. Pérez-Salcedo L, Bascones-Martínez A. Tumores benignos de la mucosa oral. *Av Odontostomatol.* 2010; 26 (1): 11-18.
7. Carneiro TE, Marinho SA, Verli FD, Mesquita AT, Lima NL, Miranda JL. Oral squamous papilloma: clinical, histologic and immunohistochemical analyses. *J Oral Sci.* 2009; 51 (3): 367-372.
8. Ural A, Arslan S, Ersoz S, Değer B. Verruca vulgaris of the tongue: a case report with a literature review. *Bosn J Basic Med Sci.* 2014; 14 (3): 136-138.
9. Guerra-Tapia A, González-Guerra E. El virus del papiloma humano. Repercusión en la patología dermatológica de las nuevas vacunas. *Más Dermatol.* 2008; 5: 4-13.
10. Requena L, Requena C. Histopatología de las infecciones víricas cutáneas más frecuentes. *Actas Dermosifiliogr.* 2010; 101 (3): 201-216.
11. Li S, Qin X, Chai S, Qu C, Wang X, Zhang H. Modulation of E-cadherin expression promotes migration ability of esophageal cancer cells. *Sci Rep.* 2016; 6: 21713. doi: 10.1038/srep21713.
12. Chen D, Wu Z, Luo LJ, Huang X, Quian WQ, Wang H et al. E-cadherin maintains the activity of neural stem cells and inhibits the migration. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8 (11): 14247-14251.
13. Du Y, Li H. Expression of E-cadherin in oral lichen planus. *Exp Ther Med.* 2015; 10 (4): 1544-1548.
14. Pereira KM, Soares RC, Oliveira MC, Pinto LP, Costa-Adé L. Immunohistochemical staining of Langerhans cells in HPV-positive and HPV-negative cases of oral squamous cells carcinoma. *J Appl Oral Sci.* 2011; 19 (4): 378-383.
15. Hughes RC, Norval M, Howie SEM. Expression of major histocompatibility class II antigens by Langerhans' cells in cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Pathol.* 1988; 41 (3): 253-259.
16. Zúñiga-Cerón LF, Freyre-Bernal SI, Navia-Amézquita CA, Saavedra-Torres JS. Adhesión celular: el ensamblaje de la vía al cáncer. *Morfología.* 2014; 6 (2): 3-19.
17. Martínez GMJ. Infecciones virales en piel y mucosas. *Rev Med Clin Condes.* 2011; 22 (6): 795-803.
18. Ruiz G, Ojeda P, Di Giampietro L. Determinación del VPH en cavidad oral. *Rev Venez Oncol.* 2009; 21 (2): 70-76.
19. Arteaga F, Velazco N, Quiñónez B, Corredor A. Verrugas vulgares bucales múltiples. Reporte de un caso. *Acta Odontol Venez.* 2008; 46 (1): 92-93.
20. Cháirez-Atienzo P, Vega-Memije ME, Zambrano-Galván G, García-Calderón AG, Maya-García IA, Cuevas-González JC. Presencia del virus papiloma humano en la cavidad bucal: revisión y actualización de la literatura. *Int J Odontostomat.* 2015; 9 (2): 233-238.
21. Sridevi U, Jain A, Nagalaxmi V, Kumar UV, Goyal S. Expression of E-cadherin in normal oral mucosa, in oral precancerous lesions and in oral carcinomas. *Eur J Dent.* 2015; 9 (3): 364-372.
22. Jiang B, Xue M. Correlation of E6 and E7 levels in high-risk HPV16 type cervical lesions with CCL20 and Langerhans cells. *Genet Mol Res.* 2015; 14 (3): 10473-19481.

Correspondencia:

Dr. Juan Carlos Cuevas González

Av. Predio Canoas S/N,
Col. Los Ángeles, 34000,
Durango, Dgo., México.
E-mail: cuevas_gonzalez@hotmail.com