

Expresión de la HSP70 en carcinoma escamocelular bien diferenciado y mal diferenciado de cavidad oral*

Heat Shock Protein 70 expression in well- and poorly-differentiated oral Squamous Cell Carcinoma of oral cavity

Adriana Loaiza Pinzón**
 María Fernanda Morantes Espinosa**
 Luisa Fernanda Suárez Nieto**
 Gloria Cristina Moreno Abello***
 Jairo Alberto Bustillo Rojas****

Univ Odontol 2004 Jun-Dic; 24(54-55):63-68

RESUMEN

ANTECEDENTES: en el estudio de la respuesta inmune contra el cáncer, las proteínas de choque térmico (HSP) han sido implicadas en el control del crecimiento tumoral, al inducir una respuesta inmune en el huésped. Entre las familias de HSP que han presentado fuerte asociación con el cáncer se encuentra HSP70, la cual ha mostrado un comportamiento diferente en cada tipo de tumor. En carcinoma colorrectal y cáncer de seno, se correlacionó con baja diferenciación y pobre pronóstico, y en cáncer renal con buen pronóstico. Sin embargo, alteraciones en la expresión de HSP70 en lesiones de cavidad oral han sido poco estudiadas. **OBJETIVO:** determinar la expresión de la proteína HSP70 en carcinomas escamocelulares (CEC) bien diferenciados y mal diferenciados de cavidad oral, para correlacionar su grado de expresión con la diferenciación celular. **MÉ-**

TODOS: por medio de técnicas de inmunohistoquímica, se llevó a cabo el análisis de la expresión de HSP70 en 10 biopsias de CEC bien diferenciados de cavidad oral y 10 de mal diferenciados. **RESULTADOS:** en 7 de las 10 biopsias de CEC bien diferenciado se encontró alta expresión de HSP70, y en las tres restantes, moderada expresión. En CEC mal diferenciados, en general, no se presentó expresión de HSP70. La inexpressión de HSP70 en CEC mal diferenciados podría sugerir un mecanismo de evasión de la respuesta inmune, debido a su grado de indiferenciación.

PALABRAS CLAVE

Carcinoma escamocelular oral, proteínas de choque térmico, HSP70

ÁREA TEMÁTICA

Patología oral

ABSTRACT

BACKGROUND: When studying the immune response against cancer, the Heat Shock Proteins (HSP) have been related to the tumorous growing by inducing an immune response in the host. Among the HSP families, which have shown a strong association with cancer, HSP70 can be identified; it has exhibited a different expression in some kinds of tumors. For instance, in breast and colon rectal carcinomas, a low differentiation and poor prognosis were observed, but a good prognosis in kidney tumor was found. However, alterations in the expression of HSP70 in oral cavity injuries have received little attention. **OBJECTIVE:** To determine the expressions of HSP70 in well-differentiated and poorly-differentiated Squamous Cell Carcinomas (SCC) of oral cavity, in order to correlate its degree of expression with its cellular differentiation. **METHODS:** By using immunohistochemical techniques, the expression of the HSP70 in 10 well differentiated and 10 poorly differentiated SCC biopsies of oral cavity were analyzed. **RESULTS:** A high expression of HSP70 was observed in 7 of 10 well-differentiated SCC biopsies and a mild expression in the rest of them. In the poorly differentiated SCC, there was not expression of HSP70. **CONCLUSIONS:** The lack of expression of HSP70 in poorly differentiated SCC could suggest an elusion system of the immune response, due to its degree of indifferenciación.

* Trabajo para optar al título de especialista en patología y cirugía oral. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D. C., Colombia.

** Odontóloga, Universidad El Bosque. Escuela Colombiana de Medicina. Patóloga y Cirujana Oral, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D. C., Colombia.

*** Odontóloga, Pontificia Universidad Javeriana. Magistra Microbiología, profesora asistente, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D. C., Colombia. Directora del trabajo

**** Odontólogo, Universidad de Cartagena. Coordinador posgrado de Patología y Cirugía Oral, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D. C., Colombia. Director del trabajo.

KEY WORDS

Oral squamous cell carcinoma, heat shock proteins, HSP70

THEMATIC FIELD

Oral Pathology

INTRODUCCIÓN

El cáncer oral es la sexta causa de cáncer en el mundo y representa el 30% de los tumores malignos de cabeza y cuello. En el Instituto Nacional de Cancerología, de Bogotá Colombia, se presentan anualmente entre 100 y 120 casos nuevos de cáncer en cavidad oral, siendo más frecuentes en hombres (75%) que en mujeres (35%).¹⁻³

Se ha estimado que el 75% de todos los cánceres intraorales en países occidentales puede ser atribuido al uso de tabaco y alcohol. Otros factores asociados incluyen deficiencias metabólicas, desnutrición y exposición a microorganismos como *Candida albicans* o el virus del papiloma humano (detectado en diferentes concentraciones en displasias de cavidad oral), aunque su papel exacto en la producción del cáncer no ha sido del todo establecido.²⁻⁷

En la distribución de los cánceres orales por áreas, la lengua y el labio inferior representan el principal sitio seguido por el piso de boca, el triángulo retromolar y la mucosa bucal.³ El 90% de las neoplasias de cavidad oral corresponde a carcinoma escamocelular (CEC) seguido por los adenocarcinomas.^{2,3}

El CEC está caracterizado histopatológicamente por una proliferación de células malignas del epitelio escamoso, en forma de islas o cordones, hacia el tejido conjuntivo subyacente. Las células tumorales muestran un abundante citoplasma eosinófilo, hiperromatismo e incremento en la

relación núcleo-citoplasma, al igual que grados variables de pleomorfismo celular y nuclear. Pueden encontrarse focos de queratinización (denominados perlas de queratina) que son producidos por las células tumorales.

La variedad histológica de los CEC se relaciona con la magnitud o grado de diferenciación que presentan las células tumorales y su similitud entre la arquitectura del tejido y el epitelio normal. Se ha denominado *carcinomas bien diferenciados* a los que producen importantes cantidades de queratina y presentan algunos rasgos de maduración que semejan al tejido de origen; en contraste, se han denominado *mal diferenciados* los que presentan abundante pleomorfismo celular y nuclear, poca o ninguna producción de queratina, escaso parecido con el epitelio de origen y una falta de patrón estructural normal.⁵

El avance del cáncer oral está relacionado con la mortalidad, desfiguramiento y disfunción concerniente al tratamiento. La reducción a la exposición a agentes carcinógenos y una rápida detección del cáncer son los mecanismos principales de prevención; sin embargo, la mayoría está moderadamente avanzada y tiene compromiso regional de ganglios linfáticos en el momento del diagnóstico.⁷

El estudio de la respuesta inmune ante tumores en los últimos años incluye lo referente a las proteínas de choque térmico (HSP), también denominadas proteínas de estrés, las cuales han sido encontradas en todos los organismos y en todos los tipos de células.⁸ Son inducidas en situaciones de estrés ambiental (calor, irradiación ultravioleta, metales pesados u oxidantes), estrés fisiológico (infecciones, inflamación o isquemia) o en condiciones libres de estrés, como en el ciclo celular y en las etapas de desarrollo y diferenciación.⁹

La expresión de las HSP en células tumorales es considerada importante en la respuesta inmune contra el cáncer, como posible vía para aumentar el reconocimiento inmunológico.⁸ En el proceso de la carcinogénesis, las HSP han mostrado alteración en sus niveles de expresión, ya sea aumentándolos o disminuyéndolos. Al parecer, la expresión de las HSP puede reflejar el grado de oncogenicidad de las células malignas y así proveer información relacionada con el comportamiento de las neoplasias de cavidad oral.⁸

La expresión de estas proteínas en la fase temprana de la oncogénesis podría favorecer al control del crecimiento tumoral, induciendo una respuesta mediada principalmente por elementos de la inmunidad innata como las células NK o los linfocitos T (TCR $\gamma\delta$), los cuales son poblaciones celulares de características morfológicas dendríticas, conocidas como las células T dendríticas epidérmicas (DETEC), que expresan el receptor TCR $\gamma\delta$. Este tipo de células no expresa CD4, CD8, ni moléculas clase II del complejo mayor de histocompatibilidad, pero son capaces de reconocer una serie de epítopes que incluyen las proteínas del choque térmico.^{10,11}

Entre las familias de HSP que han presentado fuerte asociación con el cáncer, se encuentra la HSP70.⁹ Se ha reportado que se encuentran en núcleo, citosol y en la superficie de algunas células tumorales.¹⁰

La expresión de la HSP70 ha sido reconocida como factor pronóstico en ciertos tumores, como en carcinoma colorrectal y cáncer de seno, en los que se correlacionó con baja diferenciación y pobre pronóstico.⁹ Aún así, alteraciones en la expresión de HSP en lesiones de cavidad oral ha sido poco estudiada.^{8,12,13} El objetivo del presente estudio fue determinar la expresión de la proteína HSP70 en CEC bien di-

ferenciados y mal diferenciados de cavidad oral, para correlacionar su grado de expresión con la diferenciación celular.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio fue observacional comparativo *in vitro*. Se estudiaron 20 bloques de parafina, correspondientes a biopsias con diagnóstico de CEC de cavidad oral, recolectadas en el Instituto Nacional de Cancerología, el Hospital Universitario San Ignacio y las Clínicas de Cirugía de la Facultad de Odontología Pontificia Universidad Javeriana, en Bogotá Colombia.

Las biopsias fueron divididas en dos grupos para lo cual: 10 fueron clasificadas con diagnóstico de CEC bien diferenciado y 10 con diagnóstico de CEC mal diferenciado. Adicionalmente, se utilizó una biopsia de cáncer de seno como control externo en el estudio, para observar la reactividad del anticuerpo empleado, al igual que una biopsia de mucosa oral normal.

El estadio clínico de los tumores fue evaluado de acuerdo con la clasificación propuesta por Sapp, donde se describe la variedad histológica relacionada con la magnitud o grado de diferenciación que presentan las células tumorales y la similitud entre la arquitectura del tejido y el epitelio plano estratificado normal.¹⁴

El desarrollo de la prueba se llevó a cabo en un laboratorio especializado en técnicas de inmunohistoquímica (Novocastra-Novo, Bogotá, Colombia), para la cual fue utilizado el compuesto de inmunoperoxidasa avidina-biotina.¹⁵ Se realizaron cortes de tejido embebidos en parafina de 4 mm de espesor utilizando micrótopo. Los cortes de tejido fueron desparafinados e hidratados para luego ser fijados a las láminas (previamente tratadas) con Novobond® (adhesivo tisular), usando formaldehído al 4%.

Para iniciar la técnica de inmunohistoquímica, se fijaron las láminas, utilizando acetona por 5 minutos y solución buffer citrato, con el fin de desenmascarar el antígeno. Se aplicó peróxido de hidrógeno al 0.3% por 30 minutos, para bloquear la peroxidasa endógena presente en el tejido.

Posteriormente, se aplicó suero normal (100/μl) sin lavar (Super ABCu® Novocastra NCL-ABCu) sobre el tejido, y se unió el anticuerpo primario HSP70 (anticuerpo monoclonal de ratón, laboratorios Novocastra, Colombia). Se incubó con anti-IgG de ratón marcado con biotina (anticuerpo secundario "Unión" Novocastra Super ABCu®). Nuevamente se incubó el complejo estreptavidina - biotina - peroxidasa por 1 hora (Novocastra Super ABCu®). Luego, se adicionó sustrato cromógeno, diaminobencidina 1 mg/ml más peróxido de hidrógeno (Líquido DAB® Novocastra Sustrato cromógeno NNCL-L-DAB), obteniendo una coloración café.

Posteriormente a este procedimiento, se realizó contratinción, con el fin de evidenciar las demás estructuras presentes, utilizando coloración de Hematoxilina de Harris. Se utilizó sulfato de cobre al 0.5% por 5 minutos para fijar la diaminobencidina. Se realizó contraste con agua amoniacal por 2 segundos, deshidratación del tejido con etanol al 90, 95 y 100%, aclarando con xilol puro, finalizando la fijación con laminilla cubreobjetos. Para ser observado al microscopio de luz en aumentos de 4x, 10x y 40x.

RESULTADOS

El análisis de inmunohistoquímica se llevó a cabo, valorando la expresión de HSP70, su distribución e intensidad sobre las células tumorales.

Expresión de la HSP70 en CEC de cavidad oral

Al observar la expresión de HSP70 en mucosa oral normal, ésta se presentó

en forma difusa, en el estrato basal del epitelio. En CEC bien diferenciado, se presentó una alta expresión de HSP70 en 7 de las 10 biopsias analizadas y en las 3 restantes se presentó una moderada expresión. Al observar la expresión de HSP70 en CEC mal diferenciado, se encontró que sólo 1 de las 10 biopsias presentó baja expresión y las 9 restantes no mostraron expresión.

Distribución de la expresión de HSP70

Bajo aumentos de 10x y 40x se observó que la distribución de la expresión de HSP70 en mucosa normal se presentó solo en el estrato basal, y la tinción era de menor intensidad que la observada en CEC bien diferenciado.

También se observó, en las biopsias de CEC bien diferenciado, que la distribución de la tinción se presentó de forma homogénea en la membrana celular de las células epiteliales tumorales. Como hallazgo adicional, se pudo observar que hubo un leve incremento en la tinción, de forma focal, en la periferia de algunos islotes tumorales. En general, para las muestras de CEC mal diferenciado, no se observó expresión de la HSP70 en ninguna zona del espesor tumoral; sin embargo, en la biopsia N.1 se presentó una expresión baja de la HSP70 en algunas células dispersas entre los islotes tumorales.

Intensidad de la expresión de HSP70

Se observó mayor intensidad de expresión de HSP70 en los CEC bien diferenciados que en mucosa oral normal.

Relación entre la expresión de HSP70 e infiltrado inflamatorio

Como hallazgo adicional en CEC bien diferenciado, se observó abundante infiltrado leucocitario, a diferencia de lo encontrado en CEC mal diferenciado, en donde no se presentó. Al comparar la expresión de HSP70 con la presen-

cia de infiltrado leucocitario, se presentó una relación directa entre la cantidad de infiltrado leucocitario y la expresión de HSP70. A mayor infiltrado linfocitario, mayor expresión de HSP70.

DISCUSIÓN

El papel de las HSP en cáncer está bajo constante investigación; varios estudios recientes han evidenciado el incremento de la expresión en diversas neoplasias como leucemia, carcinoma de seno e histiocitoma fibroso maligno.¹⁶

El mecanismo específico por el cual la HSP70 participa en la inmunidad antitumoral es básicamente la respuesta a la proliferación celular, donde la HSP70 se expresa en la membrana, dándose una interacción con diferentes moléculas que van a causar la supresión e inactivación de la proliferación anómala; por esto, se han postulado como "chaperonas moleculares" en la interacción de proteínas. La HSP70 es una proteína de alto peso molecular, que se encuentra en la superficie de células tumorales como determinantes antigénicos, cuando se encuentra en forma inducida.¹⁶

El papel de la HSP70 en cáncer de cabeza y cuello ha recibido poca atención, pero algunos investigadores, como Sugerman y colaboradores (1995), examinaron la inmunolocalización de la HSP70 en algunas de las lesiones de la mucosa oral; reportaron una coloración difusa en todas las capas epiteliales (estrato basal espinoso granuloso y córneo) de la mucosa normal y de lesiones benignas, mientras que en CEC bien diferenciados la coloración se observó en todo el espesor tumoral.¹² Boehncke y colaboradores tuvieron hallazgos similares en CEC de piel bien diferenciados, mientras que en los mal diferenciados no se presentó coloración.¹⁷ En esta investigación se pudo encontrar que en la mucosa nor-

mal de cavidad oral hay una baja expresión de HSP70 en el estrato basal que corresponde con una coloración más clara y difusa. Con todo lo observado en el presente estudio y en comparación con la literatura, se puede ver que las HSP70 están presentes en células de mucosa oral normal (estrato basal) y que son constituyentes de este tipo de tejido en condiciones fisiológicas y su presencia en células tumorales puede representar solamente una expresión de la respuesta al incremento de la proliferación.¹²

Por otro lado, en las biopsias de CEC bien diferenciado, se observó reactividad de la proteína HSP70 en todo el espesor tumoral con mayor expresión en pequeños focos localizados hacia la periferia de algunos islotes tumorales, en tanto que en las muestras de CEC mal diferenciado no se observó reactividad. Una posible explicación de la diferencia en los hallazgos reportados por Sugerman y Boehncke, es que en esos estudios utilizaron anticuerpos policlonales contra HSP70 y en el presente estudio el anticuerpo utilizado fue monoclonal, lo que permite mayor especificidad en la marcación.^{12, 17}

En esta investigación, se analizó además la intensidad de la expresión de HSP70 en CEC bien y mal diferenciado, encontrando que 7 de las 10 biopsias presentaron una alta intensidad de expresión de la HSP70, mientras que en las biopsias restantes se observó una moderada reactividad. En CEC mal diferenciados, solamente una biopsia de las 10 analizadas fue reactiva para la HSP70 y la marcación fue de baja intensidad.

Al contrastar los hallazgos reportados por Ciocca y colaboradores (1993), quienes asocian la mayor expresión de la HSP70 en CEC mal diferenciados de seno, con los de esta investigación en los CEC mal diferenciados de cavidad

oral, no se evidenció expresión de la proteína. Una de las posibles explicaciones de esta diferencia puede ser la clase de tumor que estudió este investigador, ya que fue de tipo glandular (adenocarcinoma) y hay que tener en cuenta que las HSP presentan un comportamiento diferente frente a cada tipo de tumor.¹⁸

Es de resaltar que la regulación de la proliferación se da cuando las células NK y los linfocitos $T\chi\delta$ reconocen los epítopes de la HSP70, controlando el crecimiento tumoral e induciendo una respuesta mediada por elementos de inmunidad innata.¹¹

Al relacionar la expresión de la HSP70 con la presencia de infiltrado inflamatorio, es claro que estas dos observaciones se dieron solamente en los CEC bien diferenciados, mientras que en los CEC mal diferenciados ni se expresó HSP70 ni se presentó infiltrado inflamatorio; ello está en contraposición con el estudio realizado por Fiorentino quien mostró que en CEC la expresión de HSP70 tenía una relación inversamente proporcional con la cantidad de infiltrado linfocitario, es decir, a mayor infiltrado, menor expresión de la HSP70.¹⁹ Ferrarini y colaboradores, así como Multhoff y colaboradores, afirman que la expresión de la HSP70 está relacionada con la cantidad de infiltrado inflamatorio en células tumorales.¹⁰⁻¹¹ Además, Broders, y Regezi y Scuibba establecieron que en CEC bien diferenciados se observa una reacción inflamatoria importante, lo que fundamenta aun más la asociación del infiltrado inflamatorio y la expresión de HSP70.^{6, 20}

A partir de lo anterior, surgen las siguientes preguntas de investigación:

- ¿ Servirá la HSP70 como factor pronóstico en la enfermedad?
- ¿Podría la HSP70, como marcador tumoral, constituirse en un mecanis-

mo de evasión de la respuesta inmune?

CONCLUSIONES

La presencia de HSP70 en el CEC bien diferenciado (menos agresivo), así como su ausencia en el mal diferenciado (más agresivo), sugiere que la inexpressión en estos tumores podría constituirse en un mecanismo de evasión de la respuesta inmune. En este momento, las células tumorales pierden su forma y función, o sea que son indiferenciadas, y se podría esperar que una proteína como la HSP70 que cumple funciones como determinante antigénico regulando la proliferación celular, no se expresara permitiendo así un crecimiento incontrolado de las células tumorales.

Además, por medio de la técnica de inmunohistoquímica, se pudo encontrar que la HSP70 se expresa en el estrato basal de la mucosa oral, explicándose como la zona proliferativa del epitelio; en CEC bien diferenciados se expresó en todo el espesor tumoral, mientras que en mal diferenciados no hubo expresión.

Frente a la intensidad de la expresión de HSP70 en mucosa oral, ésta fue más baja que en CEC bien diferenciados y la asociación de la expresión de la proteína con el infiltrado se observó en CEC bien diferenciados.

RECOMENDACIONES

Las recomendaciones que se pueden dar para futuras investigaciones es eva-

luar la importancia, como factor pronóstico de la HSP70 en pacientes con diagnóstico de CEC de cavidad oral; esto, teniendo en cuenta parámetros como historia clínica, edad, género, ocupación, patologías anteriores, tamaño, ubicación de la lesión, clasificación TNM (American Joint Committee on Cancer), para ayudar a ofrecer un adecuado tratamiento y ofrecer una mejor calidad de vida a los pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. República de Colombia, Ministerio de Salud. Guías de práctica clínica en enfermedades neoplásicas. Bogotá, D. C., Colombia: Instituto Nacional de Cancerología, 2001; 121-35
2. Sociedad Mexicana de Estudios Oncológicos. Mondragón D. Tumores de cabeza y cuello, diagnóstico y tratamiento. México DF, México: McGraw-Hill Interamericana, 2000; 29-38
3. Shah J. Atlas of clinical Oncology cancer of the head and neck. London, UK: BC Decker, 2001; 100-26
4. Neville B, Damm D, Allen C, Bouquot J. Oral and maxillofacial pathology, 2nd ed. Philadelphia, PA, USA: Saunders, 2002; 356-76
5. Sapp J, Eversol R, Wysock G. Patología oral y maxilofacial contemporánea. Madrid, España: Harcourt, 1998; 174-86
6. Regezi J, Sciubba J. Patología Bucal, correlaciones clinicopatológicas, 3^a ed. México DF, México: McGraw-Hill Interamericana, 2000; 71-85
7. Sugerman PB, Savage NW. Current concepts in oral cancer. *Aust Dent J* 1999 Sep; 44(3): 147-56
8. Kawanishi K, Shiozaki H, Doki Y, Sakita I, Inoue M et al. Prognostic significance of heat shock protein 27 and 70 in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer* 1999 Apr 15; 85(8): 1649-57
9. Multhoff G, Botzler C, Jennen L, Schmidt J, Ellwart J, Issels R. Heat shock protein 72 on tumor cell: A recognition structure for natural killer cells. *J Immunol* 1997 May; 158(9): 4341-50
10. Ferrarini M, Heltai S, Zocchi MR, Rugarli C. Unusual expression and localization of heat-shock proteins in human tumor cells. *Int J Cancer* 1992 Jun 19; 51(4): 613-9
11. Sugerman PB, Savage NW, Xu LJ, Walsh LJ, Seymour GJ. Heat shock protein expression in oral epithelial dysplasia and squamous cell carcinoma. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1995 Jan; 31B (1): 63-7
12. Sugerman PB, Savage NW, Xu LJ, Walsh LJ, Seymour GJ. Heat shock protein expression in oral lichen planus. *J Oral Pathol Med* 1995 Jan; 24(1): 1-8
13. Kaur J, Ralhan R. Differential expression of 70-kDa heat shock-protein in human oral tumorigenesis. *Int J Cancer* 1995 Dec 11; 63(6): 774-9
14. Anneroth G, Batsakis J, Luna M. Review of the literature and a recommended system of malignance grading in oral squamous cell carcinomas. *Scand J Den Res* 1987 Jun; 95(3): 229-49
15. García del Moral R. Laboratorio de anatomía patológica, 1^a ed. Bogotá, D. C., Colombia: McGraw-Hill Interamericana, 1993; 341-68
16. Gandour-Edwards R, Tock BJ, Gumerlock P, Donald PJ. Heat shock protein and p53 expression in head and neck squamous cell carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998 May; 118(5): 610-5
17. Boehncke WH, Dahlke A, Zollner TM, Sterry W. Differential expression of heat shock protein 70 (HSP70) and heat shock cognate protein (HSCP70) in human epidermis. *Arch Dermatol Res* 1994; 287(1): 68-71
18. Ciocca DR, Clark GM, Tandon AK, Fuqua SA, Welch WJ et al. Heat shock protein HSP70 in patients with axillary lymph node-negative breast cancer: Prognostic implications. *J Natl Cancer Inst* 1993 Apr 7; 85(7): 570-4
19. Martínez MC. Análisis por inmunohistoquímica de la expresión de HSP70 en biopsias de carcinomas de células basales (BCC) y carcinoma de células escamosas (SCC). Trabajo de pregrado en biología. Directora: Fiorentino S. Bogotá, D. C., Colombia: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, 1999
20. Broders AC. The microscopic grading of cancer. *Surg Clin North Am* 1941; 21: 947-62

CORRESPONDENCIA

Adriana Loaiza Pinzón.
Carrera 34 No. 158-23,
apartamento 101.
Bogotá, D. C., Colombia.
Teléfono: + 57-1-6268264.
Correo electrónico:
adlopi@latinmail.com

María Fernanda Morantes
Espinosa.
Calle 153 A No. 13-70,
apartamento 204.
Bogotá, D. C., Colombia.
Teléfono +57-1-6772892.
Correo electrónico:
mfme75@hotmail.com

Luisa Fernanda Suárez Nieto.
Diagonal 122B No. 48-25 interior 8.
Bogotá, D. C., Colombia.
Teléfono: +57-1-6139499.
Correo electrónico:
luisasuareznieto@hotmail.com

Gloria Cristina Moreno Abello.
Carrera 7 No. 40-62 edificio 26.
Bogotá D. C. Colombia.
Teléfono: + 57-1-3208320,
extensión 2876.
Correo electrónico:
gcm@javeriana.edu.co

Jairo Alberto Bustillo Rojas.
Carrera 7 No. 53-18
apartamento 1801.
Bogotá D. C. Colombia.
Teléfono: + 57-1-5422627.
Correo electrónico:
bustillo@javeriana.edu.co

Recibido para publicación:
diciembre 4 de 2002.

Aceptado para publicación:
agosto 28 de 2004.