

247



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

CUANTIFICACION DE ORGANIZADORES NUCLEOLARES EN VERRUGA VULGAR, QUERATOSIS FRICCIONAL Y DISPLASIA EPITELIAL

TESIS DE LICENCIATURA

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

CIRUJANO DENTISTA

PRESENTA:

ZARATE DAZA, ARITH NALLELY



TUTORA: DRA. LEYVA HUERTA ELBA

Handwritten signature: Uo Bo Leyva Huerta Elba

MEXICO, D. F.

2000

277173



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.

Agradecimientos

Mamá y papá les agradezco infinitamente todo el apoyo moral, económico y sus consejos que siempre me han brindado y que me han impulsado a salir adelante y ser mejor persona, nunca dejaré de estarles agradecida, los quiero muchísimo.

Gracias, Dra. Elba por compartir conmigo sus conocimientos, por brindarme su amistad, por integrarme en su equipo de trabajo cuando más lo necesitaba, por su hospitalidad y atenciones que me ha brindado en su casa, la quiero mucho.

Gracias, a mis tíos Neri y Cuauhtémoc por compartir sus conocimientos conmigo, por ayudarme cada vez que se los pedía, sin su ayuda quizá no hubiera salido bien en algunas materias, eso nunca lo voy a olvidar, siempre se los agradeceré, los quiero mucho y admiro como profesionistas y como personas.

A mis amigas (os) Marcela, Ivonne, Angy, Ale, Vero, Oscar y Marco que no sólo me dieron su amistad y compartido conmigo momentos muy importantes de mi vida, que me han apoyado en la escuela cuando lo necesitaba, muchas gracias, los quiero mucho.

Denis, esta Tesis también te la dedicó, te quiero mucho.

Gracias, Teo por su amistad, ayuda y hospitalidad.

ÍNDICE.

RESUMEN.	1
INTRODUCCIÓN.	2
ANTECEDENTES.	4
MUCOSA BUCAL.	4
Funciones de la mucosa bucal.	4
Organización de la mucosa bucal.	5
Epitelio bucal.	8
Unión del epitelio y la lámina propia.	12
Lámina propia.	13
Variaciones estructurales.	16
Desarrollo de la mucosa bucal.	18
NEOPLASIAS.	19
VERRUGA VULGAR Y/O PAPILOMA ESCAMOSO BUCAL.	21
QUERATOSIS FRICCIONAL.	23
LESIONES PREMALIGNAS. PRECÁNCER.	25
LEUCOPLASIA.	25
DISPLASIA EPITELIAL.	28
CICLO CELULAR.	30
DIVISIÓN CELULAR.	32
PROLIFERACIÓN CELULAR.	34
DIFERENCIACIÓN CELULAR.	35
NÚCLEO.	36
NUCLÉOLO.	36
REGIONES DE ORGANIZADORES NUCLEOLARES.	40
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	46
JUSTIFICACIÓN.	46
HIPÓTESIS DE TRABAJO.	46
HIPÓTESIS NULA.	46
OBJETIVO GENERAL.	47
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	47

UNIVERSO DE ESTUDIO.	47
CRITERIOS DE INCLUSIÓN.	47
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.	48
VARIABLES INDEPENDIENTES.	48
VARIABLES DEPENDIENTES.	48
TIPO DE ESTUDIO.	48
MATERIAL.	49
METODOLOGÍA.	50
RESULTADOS.	53
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	57
DISCUSIÓN.	61
CONCLUSIONES.	64
BIBLIOGRAFÍA.	65

ÍNDICE DE TABLAS.

TABLA 1. Conteo total de AgNORs en Verruga vulgar.	53
TABLA 2. Conteo total de AgNORs en Queratosis friccional.	54
TABLA 3. Conteo total de AgNORs en Displasia epitelial.	55
TABLA 4. Conteo global de casos en verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial.	56
TABLA 5. Coeficiente de correlación de Spearman.	57

ÍNDICE DE FIGURAS.

FIGURA 1. Estructuras de la mucosa bucal.	8
FIGURA 2. Estratos del epitelio de la mucosa bucal.	11
FIGURA 3. Visualización de AgNORs en el ciclo celular.	31
FIGURA 4. Fases de la mitosis.	33
FIGURA 5. Función del nucléolo en la síntesis de ribosomas.	39
FIGURA 6. Métodos de identificación de Regiones de Organizadores Nucleolares.	43
FIGURA 7. Verruga vulgar. Teñida con AgNOR, H y E.	58
FIGURA 8. Queratosis friccional. Teñida con AgNOR, H y E.	59
FIGURA 9. Displasia epitelial. Teñida con AgNOR, H y E.	60

ÍNDICE DE GRÁFICAS.

GRÁFICA 1. Promedio de AgNORs	56
-------------------------------	----

RESUMEN.

Un método que puede indicar el grado de malignidad de una lesión es la cuantificación de Regiones de Organizadores Nucleolares, ya que ha sido sugerido como un indicador indirecto de la proliferación celular. Tomando en cuenta lo anterior el objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de Regiones de Organizadores Nucleolares en 6 casos de verruga vulgar, 11 casos de queratosis friccional y 4 casos de displasia epitelial, utilizando la tinción de plata coloidal descrita por Ploton en 1986.

Los resultados obtenidos fueron: en verruga vulgar un promedio de 9 AgNORs por célula y $sd \pm 2.24$, en queratosis friccional un promedio de 5.5 AgNORs por célula y $sd \pm 1.16$ y en displasia epitelial 8 AgNORs $sd \pm 2.12$ por célula.

La correlación de Spearman obtenida entre displasia epitelial y el grado de severidad nos dio r_s de = 0.9; con un nivel de confiabilidad de $p=0.05$, por lo cual el resultado indica que es directamente proporcional, al aumentar el número de AgNORs en la displasia aumenta el grado de severidad de ésta.

De acuerdo a los resultados anteriores se concluye que el número de regiones de organizadores nucleolares refleja la actividad proliferativa de las lesiones en este estudio, y es necesario seguir estudiando este indicador de la proliferación celular en estudios prospectivos.

De acuerdo a los resultados, consideramos que la etiología viral de la verruga vulgar tiene relación con el número de Regiones de Organizadores encontrados en este estudio debido a las alteraciones nucleares que existen en esta lesión; ya que no se esperaba encontrar mayor número de AgNORs que en la displasia epitelial.

INTRODUCCIÓN.

El ciclo celular es el periodo que va desde el principio de una división hasta el inicio de la siguiente, por lo cual el crecimiento y desarrollo de los organismos dependen del crecimiento y multiplicación de sus células; la alteración de ellas, son características de las células malignas considerándose el tipo y la forma de alteraciones como criterio de malignidad^{38,39}; cuando el nucléolo se fragmenta y desaparece durante la división celular y se reorganiza después de la división se le denomina Región de Organizador Nucleolar (NOR)⁴⁰, NORs se encuentran asociados con la actividad de RNAr, síntesis de proteínas y proliferación celular^{41,42,43}. El número de nucléolos por célula generalmente es de uno o dos, siendo una característica fija de cada especie^{37,40}.

La verruga vulgar, la queratosis friccional y displasia epitelial son lesiones de diferente etiología y comportamiento biológico; debido a esto el objetivo de este estudio fue cuantificar las Regiones de Organizadores Nucleolares para correlacionarlos con la proliferación de estas lesiones. Para llevar a cabo este estudio se tiñeron con H y E y con sales de plata coloidal para Regiones de Organizadores Nucleolares (AgNORs). Basándonos en que la actividad transcripcional de los NORs identificados por medio de esta técnica sugiere que el número de AgNORs en la interfase nucleolar puede reflejar el estado de actividad y/o el grado de transformación maligna de ciertos tejidos y que estos resultados pueden ser usados como un marcador para cuantificar los cambios incipientes en la actividad celular antes de que el patrón histológico de malignidad pueda ser detectado.

La verruga vulgar o papiloma escamoso bucal es la lesión papilar más frecuente de la mucosa bucal incluyendo los labios y corresponde a cerca de 2.5% de las lesiones bucales. Actualmente no se sabe si todos los papilomas escamosos intrabucales se relacionan de modo etiológico con el mismo subtipo de virus del papiloma humano (VPH) que causa las verrugas vulgares cutáneas y en otros tienen que ver con subtipos diferentes del mismo virus¹¹.

La queratosis local (friccional) es una lesión blanca que suele clasificarse bajo el término general leucoplasia; sin embargo se discute separada de las leucoplasias idiopáticas ya que tiene una relación causa efecto evidente, cuando se frota o fricciona la superficie de la manera crónica se produce una lesión hiperqueratósica análoga a las callosidades cutáneas^{10,11}.

La displasia epitelial bucal es el término diagnóstico usado periódicamente para describir cambios histológicos vistos en desórdenes crónicos progresivos y premalignos de la mucosa bucal. Clínicamente pueden presentarlo las leucoplasias, eritropasias y/o leucoeritropasia¹⁹.

ANTECEDENTES.

MUCOSA BUCAL.

El término membrana mucosa se emplea para describir el revestimiento húmedo del tracto intestinal, el pasaje nasal y otras cavidades corporales que se comunican con el exterior. En la cavidad bucal, este revestimiento se llama membrana mucosa oral, o mucosa bucal. A nivel de los labios la mucosa se continúa con la piel, una capa de protección seca, con una estructura que recuerda al revestimiento bucal en algunos aspectos, mientras que en la faringe se continúa con la mucosa húmeda que recubre el resto del intestino. La piel, la mucosa bucal y el revestimiento intestinal constan de dos componentes tisulares separados, un epitelio de revestimiento y un tejido conectivo subyacente. Como estos dos tejidos realizan una función común, la mucosa bucal, al igual que la piel y el revestimiento intestinal, deberían ser considerados como un solo órgano ^{1,2}.

FUNCIONES DE LA MUCOSA BUCAL.

La mucosa bucal cumple varias funciones. La más importante de ellas es la protección que otorga a los tejidos más profundos de la cavidad bucal. Es un órgano sensorial, un regulador de la temperatura corporal y un medio a través del cual se segrega la saliva ^{1,2}.

Protección. Como cubierta superficial, la mucosa bucal separa y protege los tejidos profundos y órganos de la región del medio ambiente bucal. Las actividades normales de tomar comida (prehensión), morderla y masticarla, exponen los tejidos blandos de la boca a fuerzas mecánicas tales como la compresión, distensión y desgarró, y al desgaste superficial por las partículas duras de la dieta. El epitelio de la mucosa bucal actúa como principal barrera a estas amenazas.

Sensación. En la boca hay receptores que responden a la temperatura, al tacto y al dolor, al igual que corpúsculos gustativos que no se hallan en ninguna otra parte del organismo. Ciertos receptores de la mucosa bucal responden probablemente al "gusto" del agua y señalan una satisfacción que debe ser cumplida: la sed. Reflejos tales como la deglución, el vómito y la salivación son también iniciados por receptores de la mucosa bucal.

Regulación térmica. La mucosa bucal humana, juega probablemente una participación escasa en la regulación de la temperatura corporal, dado que no existen especializaciones obvias de los vasos sanguíneos para controlar la transferencia de calor.

Secreción. La secreción principal asociada con la mucosa bucal es la saliva producida por las glándulas salivales, la que contribuye al mantenimiento de una superficie húmeda. Las glándulas salivales principales están situadas lejos de la mucosa y se abren en ella por medio de largos conductos; pero, las glándulas salivales menores, más numerosas, están asociadas con la mucosa bucal.

Permeabilidad y absorción. La función del epitelio bucal es la de formar una barrera impermeable, puesto que no tiene funciones de absorción. Sin embargo, hay diferencias de permeabilidad en las diferentes regiones de la boca, dependiendo del espesor de la barrera epitelial que ha de ser atravesada. Parece que una de las regiones epiteliales más delgadas, el piso de la boca, puede ser más permeable que otras zonas ¹.

ORGANIZACIÓN DE LA MUCOSA BUCAL.

La cavidad bucal consta de dos partes, un vestíbulo, limitado por los labios y las mejillas; y la cavidad bucal propiamente dicha, la cual está separada del vestíbulo por los rebordes alveolares, portadores de los dientes y sus encías. El límite superior de la cavidad bucal está formado por el paladar blando y duro, mientras que el piso de la boca y la base de la lengua forman el límite inferior. Por atrás, la cavidad bucal está limitada por los pilares de las fauces y las amígdalas. La mucosa bucal muestra diferencias estructurales, reconociéndose tres tipos principales de mucosa. Se identifican, de acuerdo con su función primaria como: mucosa masticatoria, mucosa de revestimiento y mucosa especializada ^{1,2,3,4}.

Características clínicas.

La mucosa bucal, generalmente, tiene un color más intenso, que es más obvio a nivel de los labios donde el borde rojo, brillante, contrasta con el tono más pálido de la piel. Esta coloración representa los efectos combinados de una serie de factores, tales como el espesor, el grado de queratinización y la cantidad de pigmento melánico del epitelio. La concentración y el estado de dilatación de los pequeños vasos sanguíneos del tejido conectivo subyacente también contribuye. El color es un indicador de la condición clínica de la mucosa; los tejidos inflamados son rojos, mientras que los tejidos sanos y normales son de color rosa pálido.

Otras características por las cuales la mucosa bucal difiere de la piel son su superficie húmeda y la ausencia de apéndices o anexos. La piel contiene numerosos folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas, mientras que los componentes glandulares de la mucosa están representados principalmente por las glándulas salivales menores. Éstas se concentran en varias regiones de la cavidad bucal donde las aberturas de sus conductos en la superficie de la mucosa son a veces evidentes al examen clínico. Las glándulas sebáceas están presentes en el labio superior y la mucosa bucal, en alrededor de las tres cuartas partes de los adultos, habiendo sido descritas ocasionalmente en la mucosa alveolar y en el dorso de la lengua. Aparecen como puntos amarillo-pálidos y se les denomina puntos de Fordyce o gránulos de Fordyce, aunque no representan una condición patológica^{1,3}.

La mucosa bucal varía considerablemente en cuanto a su firmeza y textura. La mucosa de revestimiento de los labios y carrillos, por ejemplo es blanda y extensible, mientras que la encía y el paladar duro están cubiertos por una capa firme e inmóvil.

Tejidos componentes y glándulas

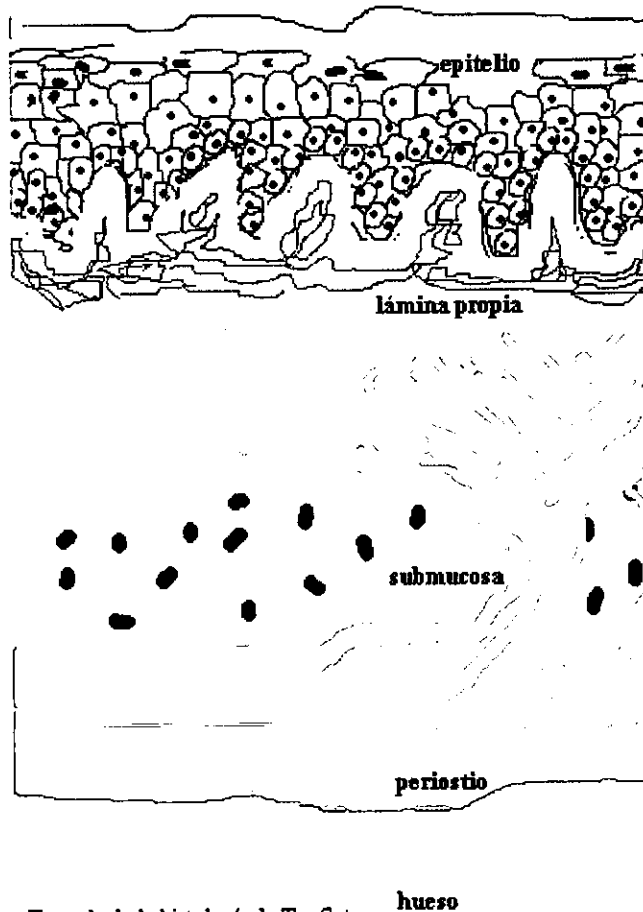
Los dos tejidos principales de la mucosa bucal son un epitelio escamoso estratificado, llamado epitelio bucal, y un tejido conectivo subyacente, llamado lámina propia o corion. En la piel, los dos tejidos se conocen bajo terminologías ligeramente diferentes: la epidermis y la dermis, respectivamente. La interfase que se encuentra entre el epitelio y el tejido conectivo es usualmente irregular; existen proyecciones hacia arriba del tejido conectivo, las papilas de tejido conectivo, las cuales se interdigitan con cordones o clavos epiteliales, llamadas a veces la red de cordones o papilas. En un típico corte

teñido con hematoxilina-eosina la interfase existente entre el epitelio y el tejido conectivo aparece como una línea amorfa de unos 1 a 2 micrómetros de espesor llamada membrana basal ^{1,2}.

Aunque la unión entre el epitelio bucal y la lámina propia es evidente, la que existe entre la mucosa bucal y la submucosa subyacente es menos fácil de reconocer. La mucosa bucal no tiene una capa muscular (*muscularis mucosae*) como el tracto gastrointestinal que separe claramente la mucosa de la submucosa que está por debajo, que pueda permitir en términos funcionales cierto aislamiento del revestimiento interno, de los movimientos de las capas musculares externas del tracto intestinal. En muchas regiones, tales como los carrillos, los labios y zonas del paladar duro, una capa de tejido adiposo laxo o tejido conectivo glandular, que contiene los vasos sanguíneos principales y los nervios de la mucosa, separa la mucosa bucal del hueso o del músculo subyacente. Ésta es la submucosa de la cavidad bucal y su composición determina la flexibilidad de la¹ unión de la mucosa bucal a las estructuras subyacentes. En regiones tales como la encía y zonas del paladar duro, la mucosa bucal está adosada directamente al periostio y al hueso subyacente, sin submucosa de por medio. Esta disposición se llama mucoperiostio y provee de un adosamiento firme e inelástico.

Las glándulas salivales menores están situadas en la lámina propia de la mucosa o justo por debajo de ella. Las glándulas sebáceas son menos frecuentes que las salivales; están en la lámina propia y tienen la misma estructura que las de la piel.

En varias regiones de la cavidad bucal hay nódulos de tejido linfático consistentes en criptas formadas por invaginaciones del epitelio en la lámina propia. Estas zonas están extensamente infiltradas de linfocitos y células plasmáticas. Debido a su capacidad inmunológica, esas células tienen un papel importante para combatir las infecciones de la boca. Las acumulaciones más grandes de tejido linfático se encuentran en la zona posterior de la cavidad bucal, donde forman las amígdalas lingual, palatina y faríngea, llamadas a veces colectivamente anillo peribucal de Waldeyer. También hay pequeños nódulos linfáticos en la mucosa del paladar blando, la superficie ventral de la lengua y el piso de la boca ¹.



Tomado de la histología de TenCate
 página 404

hueso

Figura 1. Estructuras de la mucosa bucal.

EPITELIO BUCAL.

El epitelio representa la barrera primaria entre el medio bucal y los tejidos más profundos. Es un epitelio escamoso estratificado y consta de células estrechamente adosadas entre sí y dispuestas en una serie de capas distintas o estratos. El epitelio bucal mantiene su integridad estructural mediante un sistema de renovación celular continua, por la cual las células, producidas por divisiones mitóticas en las capas más profundas, migran hacia la superficie para reemplazar a aquellas que se descaman. Puede entonces considerarse que las células epiteliales pertenecen a dos poblaciones celulares

funcionales, una población progenitora cuya función es la de proveer nuevas células y una población en maduración, cuyas células sufren continuamente un proceso de diferenciación o maduración para formar una capa protectora superficial. Estos dos procesos son: la proliferación y maduración ^{1,2}.

Proliferación epitelial.

Las células progenitoras están situadas en la capa basal en los epitelios delgados, tales como los del piso de la boca, y en las dos o tres capas celulares inferiores en epitelios más gruesos, tales como los de los carrillos o el paladar. Las células en división tienden a agruparse, de tal modo que, por ejemplo, hay más en el fondo de los surcos epiteliales que en la punta, éstas son una pequeña población de células progenitoras que se recicla muy lentamente y se considera compuesta por células germinales cuya función es la de reproducir células basales y que retienen el potencial proliferativo del tejido. La mayor parte del compartimiento progenitor se compone de células de ampliación cuya función es la de aumentar el número de células disponibles para una maduración posterior ¹. Esto se conoce como tiempo de recambio del epitelio y deriva de conocer el tiempo que le lleva a una célula dividirse y atravesar todo el epitelio, el tiempo de recambio en la encía es de 41 a 57 días y en el carrillo de 25 días (el epitelio bucal no queratinizado se recambia más rápido que el epitelio gingival queratinizado) ¹.

El control de la proliferación epitelial y la maduración se cree que es mediado por sustancias producidas por las células epiteliales en maduración llamadas chalonas, éstas chalonas actúan mediante un mecanismo de retroalimentación negativa, a menor concentración local de chalonas, mayor actividad mitótica y menor velocidad de maduración, factores sistémicos como la adrenalina y los glucocorticoides parecen ser necesarios para que las chalonas ejerzan su efecto.

La actividad mitótica puede verse afectada por una serie de factores, tales como el stress y la respuesta inflamatoria. La presencia de infiltrado leve de células inflamatorias a nivel subepitelial estimula la mitosis, mientras que la inflamación severa ocasiona una marcada reducción de la actividad proliferativa. El mecanismo de tal acción no se conoce, pero este efecto puede ser importante en el epitelio bucal, donde la respuesta inflamatoria está presente a menudo ¹.

Maduración epitelial.

En diferentes regiones de la cavidad bucal, la maduración sigue dos patrones principales. El aspecto histológico de estos patrones se describirá a continuación.

En la mucosa masticatoria, tal como la que existe en el paladar duro, en la encía y en las regiones de mucosa especializada del dorso de la lengua, la superficie epitelial es inflexible, dura y resistente a la abrasión; esto se debe a la formación de una capa superficial de queratina debido al proceso de maduración conocido bajo el nombre de queratinización ¹.

Un epitelio queratinizado muestra una serie de diferentes capas celulares o estratos ¹.

La capa basal (a la cual frecuentemente se le da el nombre latino de stratum basale) es una capa de células cúbicas o cilíndricas adyacentes a la membrana basal. Ocasionalmente, se usa el término de capa proliferativa o germinativa (stratum geminativum) para describir las células de la región basal capaces de dividirse, pero ésta es una clasificación funcional no discernible de los aspectos que se observan en los cortes histológicos comunes.

Por encima de la capa basal, hay varias capas de células más grandes, esféricas o elípticas, conocidas como capa de células espinosas o stratum spinosum. Este término se basa en el aspecto de las células preparadas en cortes histológicos, dado que frecuentemente se retraen y separan entre sí, permaneciendo en contacto sólo a nivel de puntos conocidos como puentes intercelulares o desmosomas. Esta disposición da a las células un perfil espinoso. La palabra griega para espina, acanthe, se usa frecuentemente en las descripciones anatomopatológicas del espesor aumentado (acantosis) o de la separación de los puentes intercelulares (acantólisis) en esa capa. La capa basal y/o espinosa juntas comprenden de la mitad a los dos tercios del espesor del epitelio.

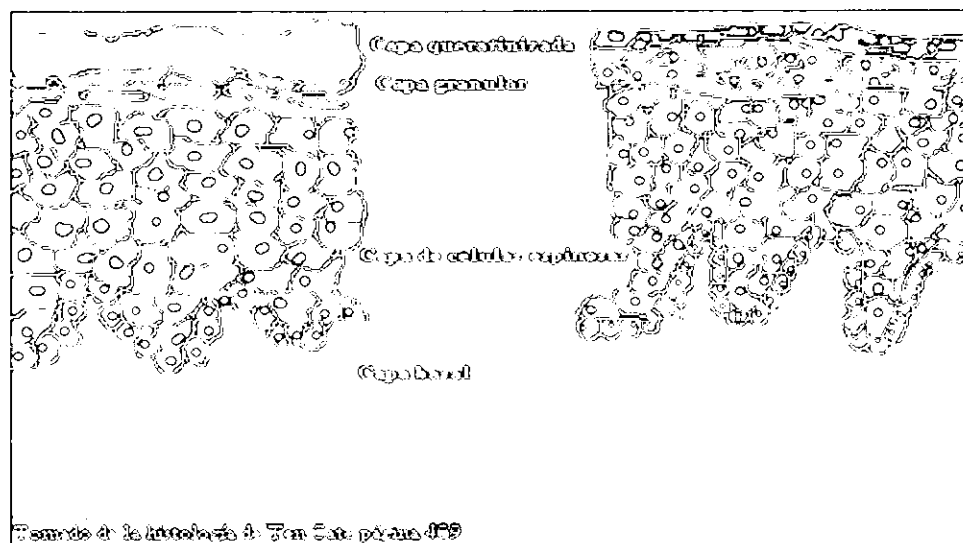
La siguiente capa consta de células más grandes y aplanadas que contiene una serie de pequeños gránulos intensamente basófilos. Esta capa es la granular, o stratum granulosum, y los gránulos son conocidos como gránulos de queratohialina. En la encía, por ejemplo, es difícil de ver estos gránulos claramente con el microscopio óptico.

La capa superficial está compuesta por células eosinófilas muy aplanadas; es la capa queratinizada o stratum corneum. Otras denominaciones son las de estrato cornificado o córneo. Con el fin de distinguir el patrón de maduración de éstas células del de la paraqueratinización, se usa a menudo el término ortoqueratinización; en el cual la capa granular se tiñe intensamente.

No es usual que la mucosa masticatoria, tal como la que hay en zonas del paladar duro y a menudo de la encía, muestre una variación de la queratinización llamada paraqueratinización ¹. En el epitelio paraqueratinizado, las escamas de queratina retienen núcleos picnóticos o retraídos en muchas capas, o en todas y la capa granular contiene sólo unos pocos gránulos de queratohialina dispersos; pero usualmente son menos que en las zonas ortoqueratinizadas, de modo que la capa granulosa es difícil de distinguir en las preparaciones histológicas.

La mucosa de revestimiento de la cavidad bucal, presente en labios, carrillos, mucosa alveolar y piso de boca, tiene un epitelio habitualmente no queratinizado ^{1,2}.

Figura 2. Estratos del epitelio de la mucosa bucal.



Características de los no queratinocitos del epitelio bucal.

Melanocito, se ubica en la capa basal, se observan en reacciones argénticas; es de morfología dendrítica, no hay desmosomas o tonofilamentos; hay premelanosomas y melanosomas. Su función es la síntesis de gránulos de melanina (melanosomas) y su transferencia a los queratinocitos circundantes.

Célula de Langerhans, es predominantemente suprabasal, son células dendríticas, no hay desmosomas o tonofilamentos, se caracterizan por la presencia de un corpúsculo pequeño bastoniforme, o con forma de botella, llamado corpúsculo de Langerhans; el papel que se ha propuesto a esta célula han incluido al de un melanocito efector, elemento neural, célula reguladora, macrófago o trompa antigénica, que penetra en el epitelio desde el medio externo, y su presentación a las células de la serie linfoide.

Célula de Merkel, se localiza en la capa basal, no es dendrítica, y tiene algunos tonofilamentos y ocasionales desmosomas, vesículas electrodensas características y un axón nervioso asociado; es una célula táctil sensorial.

Linfocito, su ubicación en el epitelio es variable. Posee un núcleo grande y circular, citoplasma escaso con pocos organelos; no hay desmosomas o tonofilamentos, están asociados con la respuesta inflamatoria de la mucosa bucal ^{1,2,3}.

UNIÓN DEL EPITELIO Y LA LÁMINA PROPIA.

La región donde el tejido conectivo de la lámina propia contacta con el epitelio bucal suprayacente es una interfase ondulante en la cual las papilas del tejido conectivo se interdigitan con los cordones o clavos epiteliales. La interfase está compuesta por cordones de tejido conectivo o papilas cónicas (o combinaciones de ambos) que se proyectan en el epitelio; esta disposición hace que la superficie de la interfase sea mayor que los que formaría una simple unión plana y es capaz de dar una mejor unión, permitiendo que las fuerzas aplicadas en la superficie del epitelio se dispersen en una zona de tejido conectivo mucho más grande ¹. La unión representa también un área mayor para el intercambio metabólico entre el epitelio y el tejido conectivo. Ya que no hay vasos sanguíneos en el epitelio..

En los cortes histológicos de la mucosa bucal, se encuentra la membrana basal entre el epitelio y el tejido conectivo ²; desde el punto de vista

ultraestructural, esta región se describe como lámina basal y se halla altamente organizada. Consta de una capa de material finamente granular o filamentoso, de alrededor de 50 nm de espesor, llamado lámina densa. Este material corre paralelo a las membranas basales, pero está separado de ellas por una zona clara, de alrededor de 45 nm de ancho llamada lámina lúcida. Hay ligeras condensaciones de material en la lámina lúcida, en la región que enfrenta a los hemidesmosomas de la membrana de la célula epitelial; insertadas en la lámina densa se hallan pequeñas asas de fibrillas finamente bandeadas llamadas fibrillas de anclaje; las fibrillas colágenas corren entre esas asas y de esta manera se interconectan con la lámina densa para formar un adosamiento flexible ^{2,5}.

Desde el punto de vista bioquímico la lámina lúcida contiene una proteína llamada laminina, y la lámina densa está casi enteramente compuesta por colágeno de tipo IV; hay probablemente complejos de hidratos de carbono, proteínas, tales como la fibronectina, incorporados a estas estructuras.

Desde el punto de vista ultraestructural esta compleja disposición de láminas y fibrillas no es claramente una membrana, por lo que se le llama más exactamente lámina basal o complejo basal ^{2,5}.

En la actualidad no existe acuerdo acerca de hasta que punto la lámina basal se corresponda con la membrana basal de la microscopia óptica. Algunos investigadores afirman que la membrana basal no sólo incluye la lámina basal sino también una segunda capa, la lámina reticular, que se compone de pequeñas unidades fibrilares de colágeno tipo III dispuestos por debajo de la lámina basal ⁴.

LÁMINA PROPIA.

El tejido conectivo en el cual se apoya el epitelio bucal se llama lámina propia que con propósitos descriptivos puede dividirse en dos capas: la capa papilar superficial asociada con los cordones o clavos epiteliales, y la capa reticular, más profunda, que está entre la capa papilar y las estructuras subyacentes. El término reticular quiere decir en red y se refiere a la disposición de las fibras colágenas, no tiene nada que ver con la presencia de fibras de reticulina situadas por debajo de la lámina basal. La diferencia entre estas dos capas está pobremente definida, pero se basa en esencia en la concentración relativa y disposición de las fibras colágenas ¹. En la capa papilar, las fibras colágenas son delgadas y laxamente dispuestas, y hay muchas asas capilares. En contraste, la capa reticular se halla formada por

colágeno dispuesto en haces gruesos que tienden a correr paralelos al plano superficial.

La lámina propia consta de células, vasos sanguíneos, elementos nerviosos y fibras inmersos en un material amorfo³. La lámina propia contiene diferentes células: fibroblastos, macrófagos, célula cebada y células inflamatorias^{2,3}.

Fibroblastos. Célula principal de la lámina propia de la mucosa bucal, es responsable de la elaboración y recambio de los precursores de las fibras y la sustancia fundamental, juega un papel clave en el mantenimiento de la integridad tisular. Es una célula fusiforme o estrellada con largas prolongaciones que tiende a disponerse paralelamente a los haces de fibras colágenas. Su núcleo contiene uno o más nucléolos. Los fibroblastos tienen una baja velocidad de proliferación en la mucosa bucal adulta, excepto durante la cicatrización de las heridas, cuando el número de fibroblastos aumenta como resultado de la división de los fibroblastos de los tejidos adyacentes no dañados. Los fibroblastos pueden hacerse "contráctiles" y participar en la contracción de las heridas.

Macrófagos. Los macrófagos fijos o histiocitos son también células estrelladas o fusiformes y, a menos que se encuentren en estado de fagocitosis activa, se los distingue con dificultad de un fibroblasto; al microscopio electrónico, la distinción entre las dos células es menos difícil dado que el macrófago tiene un núcleo más pequeño y más denso, un retículo endoplasmático menos granular y el citoplasma contiene lisosomas. El papel del macrófago es el de ingerir tejido dañado o material extraño con sus vacuolas fagocíticas que se fusionan intracitoplásmicamente, con los lisosomas para iniciar la degradación de esos materiales. El procesamiento del material ingerido por parte del histiocito puede ser importante para aumentar su antigenicidad antes de que sea presentado a las células de la serie linfóide para el establecimiento de la respuesta inmunológica posterior.

Dos tipos de macrófagos que pueden reconocerse en la lámina propia de la mucosa bucal son el melanófago y el siderófago; el melanófago, es común en la mucosa bucal pigmentada, es un macrófago que ha ingerido gránulos de melanina extraídos de los melanocitos dentro del epitelio y el siderófago es una célula fagocítica que contiene hemosiderina derivada de los eritrocitos que se han extravasado a los tejidos; este material puede persistir dentro de las células durante un tiempo y el color castaño resultante puede aparecer clínicamente como un hematoma.

Célula cebada. Es una célula mononuclear esférica o elíptica grande, el núcleo es relativamente pequeño respecto del tamaño de la célula y en las preparaciones histológicas se halla con frecuencia enmascarado por el gran número de gránulos intensamente teñidos que ocupan el citoplasma; estos gránulos se tiñen metacromáticamente con ciertos colorantes básicos, tales como el azul de metileno, debido a la presencia de proteoglucanos fuertemente ácidos ubicados dentro de los gránulos; en los seres humanos el contenido principal de los gránulos es histamina y heparina. Estas células se hallan frecuentemente asociadas con vasos sanguíneos pequeños, se ha sugerido que juegan un papel en mantener la estabilidad tisular normal y la homeostasis vascular.

Células inflamatorias. Histológicamente pueden observarse linfocitos y células plasmáticas en pequeño número y dispersos en la lámina propia¹; en procesos agudos, el leucocito polimorfonuclear es la célula dominante, mientras que en condiciones crónicas, tales como la enfermedad periodontal, se asocian con linfocitos, células plasmáticas, monocitos y macrófagos.

Fibras y sustancia fundamental. La matriz intercelular de la lámina propia consta de dos tipos principales de fibras; colágenas y elásticas inmersas en una sustancia fundamental compuesta de proteoglucanos, ácido hialurónico y proteínas derivadas del suero, todas las cuales se hallan altamente hidratadas.

Colágeno. El colágeno de la lámina propia es principalmente del tipo I, mientras que el de la lámina basal es del tipo IV; las fibras elásticas están formadas por dos proteínas, la proteína principal de la fibra madura es la elastina, que es la responsable de las propiedades elásticas de la fibra y el segundo componente es una glucoproteína con su morfología microfibrilar¹. También contiene las fibras de oxitalán ultraestructuralmente se parecen a las fibras elásticas inmaduras. Tienen fibrillas de alrededor de 15 a 16 nm de espesor rodeando sólo una pequeña cantidad de material amorfo. Estas fibras han sido observadas en el ligamento periodontal y por debajo de la epidermis de la piel.

La sustancia fundamental en la lámina propia de la mucosa bucal está representada por proteoglucanos (cadena polipeptídica con residuos de hexosa y ácido hialurónico, siendo estos últimos los responsables de la capacidad fijadora de agua del tejido conectivo) y glucoproteínas (cadena polipeptídica con pocas hexosas, los ácidos urónicos están ausentes). En la lámina propia de

la mucosa bucal están representados por el ácido hialurónico, y en menor grado, por el condroitín sulfato ¹.

VARIACIONES ESTRUCTURALES.

Es posible dividir la mucosa bucal en tres tipos principales: mucosa masticatoria, mucosa de revestimiento y mucosa especializada.

Mucosa masticatoria.

Cubre aquellas zonas de la cavidad bucal tales como el paladar duro y la encía que se hallan expuestas a fuerzas compresivas y de desgaste y a la abrasión durante la masticación de los alimentos. El dorso de la lengua tiene el mismo papel funcional que otras mucosas masticatorias, pero debido a sus estructura especializada, se consideran por separado.

El epitelio es moderadamente grueso cuando se lo compara con el de otras regiones. Está frecuentemente ortoqueratinizado, aunque es frecuente encontrar zonas paraqueratinizadas en encía y paladar. La unión entre el epitelio y la lámina propia subyacente tiene pliegues y las numerosas papilas alargadas proveen probablemente un buen adosamiento mecánico. La lámina propia es gruesa, conteniendo una densa red de fibras colágenas en forma de haces grandes y estrechamente empaquetados ¹. (En las regiones laterales del paladar esta submucosa fibrosa se halla entremezclada con zonas de tejido graso y glandular ^{2,3,4}).

Mucosa de revestimiento.

Recubre la cara ventral de la lengua, la cara interna de los labios, los carrillos, el piso de la boca y los procesos alveolares hasta la encía está sujeta a movimiento; el epitelio es más grueso que el de la mucosa masticatoria, y no está queratinizado, su superficie es flexible y capaz de soportar estiramientos y la interfase con el tejido conectivo es relativamente lisa aunque papilas delgadas de tejido conectivo penetran a menudo el epitelio.

La lámina propia es generalmente más gruesa que en la mucosa masticatoria y contiene menos fibras colágenas que siguen un curso más

irregular entre puntos de anclaje. Asociadas con las fibras colágenas se hallan las fibras elásticas que tienden a controlar la extensión de la mucosa ^{1,2,3,4}.

Mucosa especializada.

La mucosa de la cara dorsal de la lengua es distinta a la de cualquier otra parte de la cavidad bucal puesto que, es también un revestimiento altamente extensible, y además posee diferentes tipos de papilas linguales. Algunas de éstas tienen función mecánica mientras que otras tienen corpúsculos gustativos y por lo tanto cumplen una función sensorial.

La lengua está dividida en dos partes, cada una con un origen embriológico distinto, mediante el surco en forma de V conocido como sulcus terminalis o V lingual; los dos tercios anteriores de la lengua se llaman a menudo cuerpo y el tercio posterior, base, la mucosa que cubre la base de la lengua contiene extensos nódulos de tejido linfoide, las amígdalas linguales; adyacente, y anterior respecto del sulcus terminalis se hallan de 8 a 12 papilas circunvaladas o caliciformes, que son papilas grandes cada una rodeada por un profundo surco circular dentro del cual se abren los conductos de las glándulas salivales menores, conocidas como de von Ebner. Estas papilas tienen un centro de tejido conectivo, que se halla cubierto en la cara superior por epitelio queratinizado. El epitelio que cubre las paredes laterales no está queratinizado y contiene corpúsculos gustativos, las papilas foliadas se encuentran presentes, a veces, sobre los márgenes laterales de la parte posterior de la lengua; estas papilas forman 4 a 11 cordones paralelos que alternan con profundos surcos de la mucosa, y se encuentran unos pocos corpúsculos gustativos presentes en el epitelio de las paredes laterales de los cordones.

La zona anterior de la lengua contiene las papilas fungiformes y las filiformes. Las papilas fungiformes se hallan dispersas entre las numerosas papilas filiformes ubicadas en la punta de la lengua. Son estructuras lisas, redondeadas, que aparecen como rojas debido a su alta vascularidad, que es visible a través de un epitelio de revestimiento delgado y no queratinizado. Hay corpúsculos gustativos presentes en el epitelio de la superficie superior.

Las papilas filiformes cubren toda la parte anterior de la lengua y constan de estructuras cónicas en las cuales un núcleo de tejido conectivo se halla cubierto por un epitelio queratinizado ^{1,2,3,4}.

DESARROLLO DE LA MUCOSA BUCAL.

La cavidad bucal primitiva se desarrolla por la fusión del estomodeo embrionario con el intestino anterior, después de la ruptura de la membrana bucofaríngea a los 26 días de vida intrauterina, y de esta manera se reviste de epitelio derivado del ectodermo y del endodermo. El límite preciso entre estos dos tejidos embrionarios están pobremente definidos, pero las estructuras que se desarrollan en los arcos branquiales, tales como la lengua, la epiglotis y la faringe, se hallan cubiertas por epitelio derivado del endodermo, mientras que el epitelio que cubre el paladar, los carrillos y las encías es de origen ectodérmico; a las 5 o 6 semanas in útero, la capa única de células que revisten la cavidad bucal primitiva ha formado dos capas celulares, y a las 8 semanas hay un marcado engrosamiento en la región del complejo de la lámina dental vestibular, en la región central de este engrosamiento, hay degeneración celular entre la 10^a y 14^a semana, dando por resultado la separación de las células que cubren la zona del carrillo y la mucosa alveolar, formando de esta manera el vestíbulo de la boca. En este momento (8 a 11 semanas), los procesos palatinos se elevan y se aproximan, de modo que la futura morfología de la cavidad bucal del adulto se hace evidente, el epitelio lingual muestra especialización alrededor de las 7 semanas, cuando las papilas foliadas y las caliciformes aparecen seguidas por las fungiformes, dentro de estas papilas, se desarrollan al poco tiempo los corpúsculos gustativos. Las papilas filiformes que cubren la mayor parte de dos tercios anteriores de la lengua se hacen evidentes a las 10 semanas.

Entre la 10^a y 12^a semana las futuras mucosas de revestimiento y masticatoria muestran cierta estratificación, y aunque las células superficiales están aún formadas por las células hexagonales primitivas, estas dos zonas ya muestran estructuras diferentes. Aquellas áreas destinadas a queratinizarse poseen células basales cilíndricas que están separadas del tejido conectivo subyacente por una prominente membrana basal; también son evidentes las papilas conectivas, el epitelio que formará las zonas de la mucosa de revestimiento retiene células basales cúbicas, y la interfase de epitelio y de tejido conectivo permanece relativamente plana.

Entre las 13^a a 20^a semana de vida intrauterina, todos los epitelios bucales se engruesan, y con la aparición de gránulos dispersos de queratohialina se puede hacer una distinción entre la capa granulosa y la de células espinosas. Durante este período aparecen células de Langerhans y melanocitos en el epitelio. Las capas superficiales del epitelio muestran

paraqueratosis; la ortoqueratinización de la mucosa la masticatoria no se verifica hasta la erupción de los dientes durante el período posnatal ¹.

Mientras ocurren estos cambios en el epitelio bucal, el ectomesénquima subyacente muestra cambios progresivos. Inicialmente, el ectomesénquima consta de células estrelladas, espaciadas en la matriz amorfa, pero entre la 6ª y 8ª semana las fibras reticulares extracelulares comienzan a acumularse ¹; el tejido conectivo de la mucosa de revestimiento contiene menos células y fibras que el de la futura mucosa masticatoria. Entre la 8ª y 12ª semana, se pueden detectar capilares y fibras colágenas; inmediatamente subyacente al epitelio, estos haces se disponen perpendicularmente respecto de la membrana basal donde tienden a esparcirse; las fibras elásticas se hacen prominentes, sólo en el tejido conectivo de la mucosa de revestimiento, entre la 17ª y 20ª semana ¹.

NEOPLASIAS.

Definición.

Neoplasia significa, literalmente, “nuevo crecimiento” y el nuevo crecimiento es la “neoplasia”. La oncología (del griego “oncos”, tumor) es el estudio de los tumores o neoplasias. Cáncer es la forma común de designar a todos los tumores malignos ⁵.

La definición más aceptada es la siguiente: Una neoplasia es una masa anormal de tejido, con un crecimiento que sobrepasa al de los tejidos normales no coordinado con él, que persiste con el mismo carácter excesivo una vez concluido el estímulo que provocó el cambio; a esta definición podríamos añadir que la masa anormal carece de objeto, ataca al huésped y es prácticamente autónoma. Ataca al huésped en la medida en que el crecimiento del tejido neoplásico compite con los tejidos y células normales por el suministro de energía y el sustrato nutritivo. Es autónoma en tanto que florece en un tejido que está perdiendo vitalidad, aunque más adelante se verá que esta autonomía no es total, ya que todas las neoplasias dependen del huésped en última instancia, para obtener su nutrición y aporte vascular; muchas de ellas precisan, además, un soporte endocrino.

Todos los tumores, benignos o malignos, tienen dos componentes básicos: las células neoplásicas proliferantes que constituyen su parénquima y su estroma de sostén, constituido por tejido conectivo y vasos sanguíneos.

paraqueratosis; la ortoqueratinización de la mucosa la masticatoria no se verifica hasta la erupción de los dientes durante el período posnatal ¹.

Mientras ocurren estos cambios en el epitelio bucal, el ectomesénquima subyacente muestra cambios progresivos. Inicialmente, el ectomesénquima consta de células estrelladas, espaciadas en la matriz amorfa, pero entre la 6ª y 8ª semana las fibras reticulares extracelulares comienzan a acumularse ¹; el tejido conectivo de la mucosa de revestimiento contiene menos células y fibras que el de la futura mucosa masticatoria. Entre la 8ª y 12ª semana, se pueden detectar capilares y fibras colágenas; inmediatamente subyacente al epitelio, estos haces se disponen perpendicularmente respecto de la membrana basal donde tienden a esparcirse; las fibras elásticas se hacen prominentes, sólo en el tejido conectivo de la mucosa de revestimiento, entre la 17ª y 20ª semana ¹.

NEOPLASIAS.

Definición.

Neoplasia significa, literalmente, “nuevo crecimiento” y el nuevo crecimiento es la “neoplasia”. La oncología (del griego “oncos”, tumor) es el estudio de los tumores o neoplasias. Cáncer es la forma común de designar a todos los tumores malignos ⁵.

La definición más aceptada es la siguiente: Una neoplasia es una masa anormal de tejido, con un crecimiento que sobrepasa al de los tejidos normales no coordinado con él, que persiste con el mismo carácter excesivo una vez concluido el estímulo que provocó el cambio; a esta definición podríamos añadir que la masa anormal carece de objeto, ataca al huésped y es prácticamente autónoma. Ataca al huésped en la medida en que el crecimiento del tejido neoplásico compite con los tejidos y células normales por el suministro de energía y el sustrato nutritivo. Es autónoma en tanto que florece en un tejido que está perdiendo vitalidad, aunque más adelante se verá que esta autonomía no es total, ya que todas las neoplasias dependen del huésped en última instancia, para obtener su nutrición y aporte vascular; muchas de ellas precisan, además, un soporte endocrino.

Todos los tumores, benignos o malignos, tienen dos componentes básicos: las células neoplásicas proliferantes que constituyen su parénquima y su estroma de sostén, constituido por tejido conectivo y vasos sanguíneos.

tejido adyacente normal y falta un plano de separación bien definido. Sin embargo, los tumores malignos de crecimiento lento pueden desarrollar una aparente cápsula fibrosa y desplazar a las estructuras normales adyacentes, el estudio histológico de estos tumores aparentemente encapsulados ponen de manifiesto casi siempre delicadas prolongaciones a modo de patas de cangrejo que penetran en infiltran las estructuras vecinas.

Junto al desarrollo de metástasis, la infiltración es la característica más fiable para diferenciar a los tumores malignos de los benignos ⁵.

La metástasis son implantes tumorales que no guardan continuidad con el tumor primario. La metástasis definen claramente a un tumor maligno. Con pocas excepciones, todos los tumores pueden metastatizar. Las principales excepciones son las neoplasias malignas de las células gliales del sistema nervioso central, llamadas gliomas, y los carcinomas basocelulares de la piel. Cuanto más agresivo es un tumor, más rápido es su crecimiento y mayor su tamaño; mayores son las probabilidades de que metastatice o haya ya metastatizado ⁵.

VERRUGA VULGAR Y/O PAPILOMA ESCAMOSO BUCAL.

El término papiloma escamoso bucal es la lesión papilar más frecuente de la mucosa bucal (se incluyen los labios) y corresponde a cerca de 2.5% de las lesiones bucales ⁵. Fue considerada una neoplasia epitelial benigna que crece formada por estructuras en forma de dedo de guante o verrucosas que protruyen de la superficie epitelial; compuestos de epitelio y pequeñas cantidades de tejido conectivo ^{5,9,10,11}; se presenta a cualquier edad, sin predilección por ningún sexo; el color de la lesión va de blanco a gris ¹⁰. La transmisión de la enfermedad suele ser por contacto directo o por autoinoculación, habitualmente se curan espontáneamente en un período de tiempo que oscila entre seis y dos años y curan sin dejar huella ^{5,10}.

Actualmente no se sabe si todos los papilomas escamosos intrabucuales se relacionan de modo etiológico con la verruga vulgar; sin embargo, al menos en algunos de ellos se demostró que se asocian con el mismo subtipo de virus del papiloma humano (VPH) que causa las verrugas cutáneas y en otros tienen

tejido adyacente normal y falta un plano de separación bien definido. Sin embargo, los tumores malignos de crecimiento lento pueden desarrollar una aparente cápsula fibrosa y desplazar a las estructuras normales adyacentes, el estudio histológico de estos tumores aparentemente encapsulados ponen de manifiesto casi siempre delicadas prolongaciones a modo de patas de cangrejo que penetran en infiltran las estructuras vecinas.

Junto al desarrollo de metástasis, la infiltración es la característica más fiable para diferenciar a los tumores malignos de los benignos ⁵.

La metástasis son implantes tumorales que no guardan continuidad con el tumor primario. La metástasis definen claramente a un tumor maligno. Con pocas excepciones, todos los tumores pueden metastatizar. Las principales excepciones son las neoplasias malignas de las células gliales del sistema nervioso central, llamadas gliomas, y los carcinomas basocelulares de la piel. Cuanto más agresivo es un tumor, más rápido es su crecimiento y mayor su tamaño; mayores son las probabilidades de que metastatice o haya ya metastatizado ⁵.

VERRUGA VULGAR Y/O PAPILOMA ESCAMOSO BUCAL.

El término papiloma escamoso bucal es la lesión papilar más frecuente de la mucosa bucal (se incluyen los labios) y corresponde a cerca de 2.5% de las lesiones bucales ⁵. Fue considerada una neoplasia epitelial benigna que crece formada por estructuras en forma de dedo de guante o verrucosas que protruyen de la superficie epitelial; compuestos de epitelio y pequeñas cantidades de tejido conectivo ^{5,9,10,11}; se presenta a cualquier edad, sin predilección por ningún sexo; el color de la lesión va de blanco a gris ¹⁰. La transmisión de la enfermedad suele ser por contacto directo o por autoinoculación, habitualmente se curan espontáneamente en un período de tiempo que oscila entre seis y dos años y curan sin dejar huella ^{5,10}.

Actualmente no se sabe si todos los papilomas escamosos intrabucales se relacionan de modo etiológico con la verruga vulgar; sin embargo, al menos en algunos de ellos se demostró que se asocian con el mismo subtipo de virus del papiloma humano (VPH) que causa las verrugas cutáneas y en otros tienen

Aunque las células parenquimatosas constituyen el borde agresivo de las neoplasias y, en consecuencia, determinan la naturaleza de éstas, el crecimiento y la evolución de las mismas dependen de su estroma, es indispensable un adecuado aporte sanguíneo, y el tejido conectivo les proporciona el soporte necesario ⁵

El subfijo oma se aplica a las neoplasias benignas; los tumores mesenquimatosos benignos se clasifican histogenéticamente según la célula parenquimatosas de origen y las neoplasias epiteliales benignas se clasifican de varias formas, algunas según la célula de origen, otras por su arquitectura microscópica y otra aún por sus patrones de crecimiento macroscópicos ⁵.

Características.

En general, todos los tumores benignos están bien diferenciados ⁵, la mayoría crecen de forma lenta a lo largo de los años ⁵ formando masas cohesivas y expansivas que permanecen localizadas en su lugar de origen y que no tienen capacidad de infiltrar, invadir o metastatizar a lugares lejanos de tal forma como lo hacen los malignos; como crecen y se expanden lentamente, suelen desarrollar un ribete de tejido conectivo al que se le llama cápsula fibrosa y que los separa del tejido donde se asientan. Esa encapsulación tiende a mantener limitadas a las neoplasias benignas, dando lugar a masas aisladas, fácilmente palpables y móviles que pueden ser enucleadas en una intervención quirúrgica ⁵.

La nomenclatura de los tumores malignos sigue, en gran medida, el esquema utilizado en las neoplasias benignas, con algunas adiciones. Los tumores malignos que nacen de los tejidos mesenquimatosos se denominan sarcomas porque, en general, poseen muy poco estroma conectivo, y en consecuencia, son de consistencia blanda. Las neoplasias malignas de origen epitelial, derivadas de cualquiera de las dos capas germinales del embrión, (ectodermo y endodermo) se denominan carcinomas ⁵.

Las neoplasias malignas, varían desde bien diferenciadas a indiferenciadas ⁵, la mayoría de las neoplasias malignas crecen rápidamente, a veces con un ritmo errático y acaban por diseminarse y matar al paciente ⁵.

La velocidad de crecimiento de los tumores es proporcional a su nivel de diferenciación, por lo que los tumores más malignos crecen de forma más rápida que los benignos ⁵; crecen por infiltración, invasión y destrucción progresiva del tejido que los rodea, en general; suelen estar mal delimitados del

que ver con subtipos diferentes del mismo virus ¹¹. El período de incubación es de varios meses ¹².

Aún se discute si todos los papilomas bucales tienen etiología viral, pero hace poco tiempo se demostró que existe un gran número de subtipos de virus del papiloma humano (más de 60) que pueden asociarse con muchas enfermedades del epitelio escamoso. Por ejemplo, se aislaron y demostraron los subtipos de VPH 2 y 4 en las verrugas cutáneas, los subtipos 3 y 10 en las verrugas planas de la piel y el subtipo 2,6,11,57 en papilomas de la región seronasal y de la cavidad bucal. Los subtipos 16 y 18 se relacionan con alteraciones neoplásicas del epitelio escamoso. De los subtipos reconocidos se encuentran los tipos 1,2,6,7,11,13,16,18, 30,32,40 y 57 en lesiones del epitelio escamoso bucal ^{10,11}.

Más de 75 diferentes tipos de genotipos de VPH han sido clonados y caracterizados. 16 genotipos VPH DNA (1,2,3,4,6,7,10, 11,13,16,18,31,32,33,35,37) han sido aislados de las lesiones bucales. La mayoría son de bajo riesgo; VPHs (6, 11, 13, 32) asociados con lesiones benignas papilomatosas de la cavidad bucal; se encuentran en (papiloma escamoso, condiloma acuminatum, ¹³ e hiperplasia epitelial focal) y han tenido poco potencial para una progresión maligna. En contraste, el alto riesgo se tiene con VPH 16, 18, 31, 33, 35, que han incrementado su potencial maligno y son frecuentemente asociados con la displasia epitelial y carcinomas de células escamosas y diferentes sitios anatómicos incluyendo la cavidad oral ¹³.

Clínicamente son similares a los condilomas acuminados y a las verrugas cutáneas de la piel, en la boca se presentan en la mucosa bucal, la encía, el paladar, los labios y la lengua ¹⁴. Éstas lesiones aparecen como crecimientos papilomatosos exofíticos, generalmente de menos de 1.5 cm de diámetro ^{5,9,10}. Clínicamente un papiloma de la boca forma una tumefacción verrugosa, blanca si está queratinizada o rosa si no lo está ¹⁵. Pueden ser únicos o múltiples se pueden desarrollar rápidamente y constituir un cuadro conocido como papilomatosis oral florida; por lo general asintomática ^{8,11}.

Los rasgos histológicos comunes a todas las verrugas son hiperplasia epidérmica (crecimiento exagerado del epitelio escamoso normal) ¹² que suele tener un carácter ondulado, por lo que se la denomina hiperplasia epidérmica verrucosa o papilomatosa y vacuolización citoplasmática (coilocitosis) que afecta preferentemente a las capas epidérmicas más superficiales produciendo halos pálidos alrededor de los núcleos infectados ^{5,11}.

Están constituidos por epitelio escamoso estratificado con numerosas papilas delicadas, o proyecciones dactiliformes largas y delgadas que se extienden sobre la superficie de la mucosa, poseen un eje fibrovascular, a veces se sobrepone ulceración e infección superficial, provocando una hiperplasia epitelial más activa, con mitosis frecuentes, pero los cambios displásicos son raros y más raro aún la transformación maligna ^{5,9,15}. Algunos papilomas presentan hiperqueratosis, pero la característica esencial es una proliferación de las células espinosas en estructura papilar; el tejido conectivo es nada más que estroma de sostén y no es considerado como parte del elemento neoplásico. La actividad mitótica de las células epiteliales algunas veces tiene una prevalencia anormal. En el tejido conectivo, la presencia de células inflamatorias crónicas es variable ⁹.

Muchos papilomas escamosos bucales demuestran una atipia celular ligera, en especial aquellos que afectan el paladar blando y áreas más posteriores en la cavidad bucal. Cuando se presenta atipia, parece de poca importancia y toda probabilidad representa una expresión de un cambio celular rápido ^{5,11}.

El diagnóstico diferencial deberá realizarse con el carcinoma verrucoso, enfermedad de Bowen, xantoma verruciforme, sialoadenoma papilífero, condiloma lata, condiloma acuminado, acantosis nigricans, pénfigo vegetante, molusco contagioso, enfermedad de Heck e hiperplasia papilar ^{5,9,16}.

QUERATOSIS FRICCIONAL.

La hiperqueratosis local (friccional) es una lesión blanca que suele clasificarse bajo el término general leucoplasia. Sin embargo se discute separada de las leucoplasias idiopáticas (de etiología desconocida) ya que tiene una relación causa-efecto evidente.

Cuando se frota o fricciona la superficie de la manera crónica se produce una lesión hiperqueratósica de color blanco análoga a las callosidades cutáneas.

La hiperqueratosis o leucoplasias inducidas por fricción se presentan en áreas que se traumatizan con frecuencia como labios, márgenes laterales de la lengua, mucosa bucal a lo largo de la línea oclusal y rebordes edéntulos. La mordedura crónica de la mucosa de los carrillos o los labios a veces causa

Están constituidos por epitelio escamoso estratificado con numerosas papilas delicadas, o proyecciones dactiliformes largas y delgadas que se extienden sobre la superficie de la mucosa, poseen un eje fibrovascular, a veces se sobrepone ulceración e infección superficial, provocando una hiperplasia epitelial más activa, con mitosis frecuentes, pero los cambios displásicos son raros y más raro aún la transformación maligna ^{5,9,15}. Algunos papilomas presentan hiperqueratosis, pero la característica esencial es una proliferación de las células espinosas en estructura papilar; el tejido conectivo es nada más que estroma de sostén y no es considerado como parte del elemento neoplásico. La actividad mitótica de las células epiteliales algunas veces tiene una prevalencia anormal. En el tejido conectivo, la presencia de células inflamatorias crónicas es variable ⁹.

Muchos papilomas escamosos bucales demuestran una atipia celular ligera, en especial aquellos que afectan el paladar blando y áreas más posteriores en la cavidad bucal. Cuando se presenta atipia, parece de poca importancia y toda probabilidad representa una expresión de un cambio celular rápido ^{5,11}.

El diagnóstico diferencial deberá realizarse con el carcinoma verrucoso, enfermedad de Bowen, xantoma verruciforme, sialoadenoma papilífero, condiloma lata, condiloma acuminado, acantosis nigricans, pénfigo vegetante, molusco contagioso, enfermedad de Heck e hiperplasia papilar ^{5,9,16}.

QUERATOSIS FRICCIONAL.

La hiperqueratosis local (friccional) es una lesión blanca que suele clasificarse bajo el término general leucoplasia. Sin embargo se discute separada de las leucoplasias idiopáticas (de etiología desconocida) ya que tiene una relación causa-efecto evidente.

Cuando se frota o fricciona la superficie de la manera crónica se produce una lesión hiperqueratósica de color blanco análoga a las callosidades cutáneas.

La hiperqueratosis o leucoplasias inducidas por fricción se presentan en áreas que se traumatizan con frecuencia como labios, márgenes laterales de la lengua, mucosa bucal a lo largo de la línea oclusal y rebordes edéntulos. La mordedura crónica de la mucosa de los carrillos o los labios a veces causa

opacificación (queratinización) del área, lo mismo ocurre durante la masticación en pacientes con proceso edéntulo ^{10,11}.

El cambio microscópico primario es una hiperqueratosis. Pueden observarse pocas células inflamatorias en el tejido conectivo subyacente. El epitelio escamoso presenta una estratificación y orientación normal. No se encuentran cambios epiteliales displásicos en la lesión hiperqueratósica friccional simple.

Si se duda de la etiología de una lesión blanca se tiene que realizar una biopsia.

La lesión se tiene que resolver o por lo menos reducir en intensidad con el tiempo ^{10,11}. Cawson ¹⁵ menciona que en la biopsia por lo general demuestran un epitelio moderadamente hiperplásico con una capa de células granulosa prominente y obviamente queratina gruesa sobre la superficie. Suele haber un infiltrado difuso de células inflamatorias crónicas en el corium.

En la HIPERORTOQUERATOSIS, hay una moderada cantidad de ortoqueratina en la superficie del epitelio bucal normal, lo que variará levemente de una zona a otra de la cavidad bucal, según la irritación proveniente de la fricción, por el cepillado o la masticación. Hiperortoqueratosis se refiere al aumento anormal del espesor de esta capa de ortoqueratina en el estrato córneo en una localización particular. Aunque una capa de ortoqueratina de cierto espesor pueda ser normal para una zona, una capa del mismo espesor llega a ser decididamente anormal para otra.

En la HIPERPARAQUERATOSIS, la paraqueratina se diferencia de la ortoqueratina en la persistencia de los núcleos o restos nucleares en la capa de queratina. Esto también es un hallazgo normal en ciertos sectores de la cavidad bucal. La presencia de paraqueratina en zonas donde no se la halla normalmente o, más particularmente, el engrosamiento de la capa de paraqueratina se denomina hiperparaqueratosis. No es raro observar en la cavidad bucal zonas alternadas de ortoqueratina y paraqueratina en el mismo corte histológico.

La presencia de una capa granular o estrato granuloso es obvio únicamente en el epitelio bucal ortoqueratinizado. La granular suele aparecer engrosada y extremadamente prominente en los casos de hiperqueratosis, pero se ve raras veces en casos avanzados de hiperqueratosis.

En la ACANTOSIS, el espesor de la capa espinosa también varía considerablemente de una a otra zona de la cavidad bucal. La acantosis se

refiere al engrosamiento anormal de la capa espinosa en una localización particular. Puede ser intensa, con alargamiento, engrosamiento, redondeamiento y confluencia de los brotes epiteliales o consistir solamente en el alargamiento de éstos. La acantosis puede o no estar asociada con hiperortoqueratosis o hiperparaqueratosis, que a veces existe independientemente de las alteraciones de la capa suprayacente ⁹.

LESIONES PREMALIGNAS. PRECÁNCER.

A la lesión precancerosa se la define como un tejido de morfología alterada, más propensa a cancerizarse que el tejido equivalente de apariencia normal (informe de una Reunión de Investigadores sobre la Definición Histológica de las Lesiones Precancerosas, OMS 1972. En la boca existen dos lesiones precancerosas: leucoplasia y eritroplasia ^{6,7}.

Etiopatogenia.

Son procesos reactivos celulares que pueden llevar a alteraciones anaplásicas, infiltración de tejidos cercanos y metástasis, de evolución progresiva y favorecidos por factores físicos, químicos o biológicos ⁸.

LEUCOPLASIA.

Definición.

Leucoplasia es un término clínico que significa parche o placa blanca de la mucosa bucal que no se desprende al frotar y no posee características de alguna otra enfermedad, esta definición es similar a la empleada por la Organización Mundial de la Salud y se refiere a las lesiones que no pueden considerarse como parte de algún padecimiento después de descartar la presencia de trastornos, como liquen plano, candidiasis, leucoedema o nevo esponjoso blanco; desde el punto de vista clínico las leucoplasias presentan patrones similares, pero poseen un grado considerable de heterogeneidad

refiere al engrosamiento anormal de la capa espinosa en una localización particular. Puede ser intensa, con alargamiento, engrosamiento, redondeamiento y confluencia de los brotes epiteliales o consistir solamente en el alargamiento de éstos. La acantosis puede o no estar asociada con hiperortokeratosis o hiperparaqueratosis, que a veces existe independientemente de las alteraciones de la capa suprayacente ⁹.

LESIONES PREMALIGNAS. PRECÁNCER.

A la lesión precancerosa se la define como un tejido de morfología alterada, más propensa a cancerizarse que el tejido equivalente de apariencia normal (informe de una Reunión de Investigadores sobre la Definición Histológica de las Lesiones Precancerosas, OMS 1972. En la boca existen dos lesiones precancerosas: leucoplasia y eritroplasia ^{6,7}.

Etiopatogenia.

Son procesos reactivos celulares que pueden llevar a alteraciones anaplásicas, infiltración de tejidos cercanos y metástasis, de evolución progresiva y favorecidos por factores físicos, químicos o biológicos ⁸.

LEUCOPLASIA.

Definición.

Leucoplasia es un término clínico que significa parche o placa blanca de la mucosa bucal que no se desprende al frotar y no posee características de alguna otra enfermedad, esta definición es similar a la empleada por la Organización Mundial de la Salud y se refiere a las lesiones que no pueden considerarse como parte de algún padecimiento después de descartar la presencia de trastornos, como liquen plano, candidiasis, leucoedema o nevo esponjoso blanco; desde el punto de vista clínico las leucoplasias presentan patrones similares, pero poseen un grado considerable de heterogeneidad

microscópica. Las lesiones premalignas no siempre son blancas y la leucoplasia persistente con poca frecuencia es premaligna o maligna^{10,11}.

Cada vez más el término leucoplasia se restringe a zonas de engrosamiento epitelial (por ello son blancas), que pueden ser totalmente benignas o corresponder a cambios celulares muy atípicos y precancerosos²¹. Eritroplasia es el término que se aplica a las zonas rojizas y aterciopeladas, generalmente no elevadas con respecto a la mucosa adyacente o incluso ligeramente deprimidas, pero que tienden a mostrar mayor atipia celular y tienen un riesgo mayor de transformación maligna. Ocasionalmente se encuentran lesiones intermedias con características de ambas, leucoplasia y eritroplasia a las que se denomina leucoplasia moteada^{5,19}.

Etiología.

Se desconoce la causa de la leucoplasia y eritroplasia, aunque se piensa que son contributorios la irritación crónica como ocurre con las dentaduras mal ajustadas o los dientes fracturados, el tabaco^{22,23}, abuso del alcohol^{24,25} y la exposición persistente a irritantes potenciales^{5,11} así como posiblemente la infección por *Cándida albicans*, tiene una función en la etiología de la leucoplasia. En algunas poblaciones, se considera importante la presencia de lesiones en relación con deficiencias nutricionales, en especial, anemia por falta de hierro y disfgia sideropénica. La leucoplasia tiene un riesgo de transformación maligna del 1 al 15%^{5,26}; efectos electrogalvánicos también pueden ser responsables de su desarrollo¹⁶, los no fumadores tienen menos probabilidad de transformación maligna que los fumadores; cambios displásicos incrementan el riesgo de transformación maligna²².

Los genotipos VPH de alto riesgo son el 16,18,31,33 y 35 y son considerados que presentan un potencial maligno; frecuentemente están asociados con displasia epitelial y carcinoma de células escamosas en diferentes sitios anatómicos incluyendo cavidad bucal¹³.

Los genotipos VPH 2, 6 y 11 fueron detectados en el 10.6 % de leucoplasias; el 55.8% de las leucoplasias fueron positivas a los tipos 6 y 11 al compararlas con los VPH 16 y 18 (28.8%) y VPH 2 (15,4%) ($p < 0.01$); los autores mencionan que 7 de 13 leucoplasias VPH positivas progresan a carcinoma bucal en un periodo de 10 años^{13,24}.

La leucoplasia es un trastorno que se asocia con la población de edad promedio 40 años^{11,16}, puede aparecer en cualquier localización de la mucosa

bucal, se presenta como una placa (o placas) blanquecina amarillenta o grisácea, bien circunscrita ⁸ ligeramente elevada en relación con la mucosa adyacente no afectada; el tamaño de las lesiones oscila entre menos de 1 cm a lesiones grandes de varios centímetros de dimensión mayor. La superficie puede ser lisa o rugosa, no puede eliminarse con raspado y puede ulcerarse ⁸.

La localización más común de la leucoplasia es mucosa labial (30.8%), labios (24-21%), proceso alveolar (14.1%) y lengua (13.8%).

La leucoplasia simple es una callosidad de la mucosa bucal por fricciones o pequeños traumatismos repetidos ⁸.

El riesgo relativo de transformación neoplásica varía de una región a otra. Mientras que el piso de boca se encuentra en un porcentaje relativamente pequeño de las leucoplasias, (10%), un gran porcentaje son displásicas, carcinoma in situ o lesiones invasivas cuando se examinan a nivel microscópico. La leucoplasia de los labios y lengua también presenta un porcentaje relativamente alto de cambio displásico o neoplásico. El área retromolar presenta estos cambios en sólo cerca de 10% de los casos ¹¹.

Los pacientes con leucoplasia son usualmente asintomáticos, la lesión es frecuentemente descubierta en un examen de rutina ²².

Los cambios histológicos van desde la hiperqueratosis, acantosis, displasia y carcinoma in situ a un carcinoma de células escamosas invasivo ^{5,16,19}.

Pueden corresponder a dos categorías generales: aquella en la que el engrosamiento mucoso se debe a una hiperplasia ordenada, acompañada de hiperqueratosis en su superficie y la hiperplasia desordenada (displasia de grado variable a carcinoma in situ). Generalmente, existe infiltrado inflamatorio en el tejido subepitelial, (conectivo) constituido en gran parte por linfocitos y algunos macrófagos ⁵.

La variedad de lesiones que se presentan en la clínica como placas blancas disminuye de manera importante al raspar la superficie de la lesión con un instrumento o una gasa. Si la lesión no se desprende pueden descartarse muchos trastornos que se caracterizan por formación de una seudomembrana (candidiasis). Por tanto, lo que permanece es un grupo de lesiones que incluyen queratosis friccional, queratosis galvánica, hiperplasia verrugosa, carcinoma verrugoso, liquen plano, lupus eritematoso discoide (LED), nevo esponjoso blanco, leucoplasia idiopática, leucodema, leucoplasia de los fumadores, enfermedad de Bowen, placas opalinas, líneas intercalares, trasplantes de

mucosa, liquen esclerosante atrófico, verruga vulgar, quemaduras por sustancias químicas ^{5,6,11,16,27}.

DISPLASIA EPITELIAL.

Estrictamente hablando, displasia significa alteración del desarrollo; sin embargo, habitualmente se usa aplicado a células epiteliales, principalmente a las, que han experimentado proliferación y alteraciones citológicas atípicas, que afectan al tamaño, forma y organización celular. A veces se denomina hiperplasia atípica por estar en estrecha relación con la hiperplasia ⁵.

La displasia epitelial representa una pérdida de la orientación normal de las células, acompañada de alteraciones de la forma y tamaño celular, así como de las características tintoriales. Se da con más frecuencia en los epitelios de revestimiento, principalmente en los escamosos, por ejemplo, en el cuello uterino. El epitelio estratificado escamoso displásico está aumentado de tamaño por hiperplasia de las células basales, lo que se acompaña de una maduración desordenada de las células basales a medida que se aproximan a las capas superficiales.

El aumento de la actividad proliferativa produce mayor cantidad de ADN y por lo tanto una mayor basofilia de los núcleos. Aunque hay un incremento del número de mitosis no suelen ser anormales como ocurre en el cáncer. Frecuentemente se encuentran cambios displásicos en las proximidades de un foco de transformación carcinomatosa; sin embargo la displasia no conduce obligatoriamente al cáncer. Los cambios pueden ser reversibles ya que al cesar la causa inductora, el epitelio puede volver a la normalidad ⁵.

El diagnóstico de displasia epitelial ha causado controversia entre los patólogos por la ambigüedad del criterio diagnóstico y diferencia de opinión acerca de la constitución de la displasia epitelial ¹⁷.

Antiguamente era frecuente utilizar como sinónimos los términos displasia epitelial, atipia epitelial, pero por atipia se entienden las alteraciones celulares individuales y por displasia las alteraciones generales del epitelio. El centro de Referencia Colaborativo para Lesiones Precancerosas Bucales de la OMS (1978) menciona la posibilidad de que en la displasia epitelial ocurran las siguientes alteraciones:

mucosa, liquen esclerosante atrófico, verruga vulgar, quemaduras por sustancias químicas ^{5,6,11,16,27}.

DISPLASIA EPITELIAL.

Estrictamente hablando, displasia significa alteración del desarrollo; sin embargo, habitualmente se usa aplicado a células epiteliales, principalmente a las, que han experimentado proliferación y alteraciones citológicas atípicas, que afectan al tamaño, forma y organización celular. A veces se denomina hiperplasia atípica por estar en estrecha relación con la hiperplasia ⁵.

La displasia epitelial representa una pérdida de la orientación normal de las células, acompañada de alteraciones de la forma y tamaño celular, así como de las características tintoriales. Se da con más frecuencia en los epitelios de revestimiento, principalmente en los escamosos, por ejemplo, en el cuello uterino. El epitelio estratificado escamoso displásico está aumentado de tamaño por hiperplasia de las células basales, lo que se acompaña de una maduración desordenada de las células basales a medida que se aproximan a las capas superficiales.

El aumento de la actividad proliferativa produce mayor cantidad de ADN y por lo tanto una mayor basofilia de los núcleos. Aunque hay un incremento del número de mitosis no suelen ser anormales como ocurre en el cáncer. Frecuentemente se encuentran cambios displásicos en las proximidades de un foco de transformación carcinomatosa; sin embargo la displasia no conduce obligatoriamente al cáncer. Los cambios pueden ser reversibles ya que al cesar la causa inductora, el epitelio puede volver a la normalidad ⁵.

El diagnóstico de displasia epitelial ha causado controversia entre los patólogos por la ambigüedad del criterio diagnóstico y diferencia de opinión acerca de la constitución de la displasia epitelial ¹⁷.

Antiguamente era frecuente utilizar como sinónimos los términos displasia epitelial, atipia epitelial, pero por atipia se entienden las alteraciones celulares individuales y por displasia las alteraciones generales del epitelio. El centro de Referencia Colaborativo para Lesiones Precancerosas Bucales de la OMS (1978) menciona la posibilidad de que en la displasia epitelial ocurran las siguientes alteraciones:

Pérdida de la polaridad de las células basales.

Presencia de más de una capa de células de aspecto basaloide.

Pérdida de la relación entre núcleo y citoplasma.

Papilas de la rete en forma de gotas.

Estratificación irregular del epitelio.

Excesiva cantidad de figuras mitóticas. Pueden encontrarse algunas mitosis anormales.

Presencia de figuras mitóticas en la mitad superficial del epitelio.

Pleomorfismo celular.

Hipercromatismo nuclear.

Nucléolos agrandados.

Menor cohesión celular.

Queratinización de células aisladas o de grupos celulares en el estrato de células espinosas.

No todos estos cambios se observan necesariamente en un caso dado por lo que muchas veces a la displasia epitelial se la divide arbitrariamente en tres categorías: leve, moderada y severa. La elección de la categoría se basa en la interpretación que hace el histopatólogo de la presencia, grado y significación de los rasgos atípicos ^{6,9,18}.

La displasia leve incluye hiperplasia de las células basales, pérdida de la polaridad de las células basales.

La displasia moderada incluye hiperplasia de las células basales, pérdida de la polaridad de las células basales, moderado incremento de polimorfismo celular, leve incremento en mitosis aberrantes, disqueratosis ocasionales.

La displasia severa incluye hiperplasia de células basales, pérdida de la polaridad de las células basales, marcado polimorfismo celular, incremento en las mitosis aberrantes, numerosas disqueratosis, estratificación anormal del epitelio ⁷.

La displasia epitelial bucal es el diagnóstico usado periódicamente para describir cambios histológicos vistos en desórdenes crónicos progresivos y premalignos de la mucosa bucal. Clínicamente pueden presentarlo las leucoplasias, eritroplasia y/o leucoeritroplasia ¹⁹. La displasia epitelial puede verse también en verrugas o leucoplasias papilares o en los márgenes de las úlceras de las mucosas. También en la mucosa adyacente de los tumores en pacientes con carcinomas invasivos de células escamosas ²⁰.

CICLO CELULAR.

La actividad celular de crecimiento y división pueden describirse en términos del ciclo celular. En las células capaces de dividirse, el ciclo celular es el período que va desde el principio de una división hasta el inicio de la siguiente ²⁸; por lo cual el crecimiento y el desarrollo de los organismos vivientes dependen del crecimiento y la multiplicación de sus células ²⁹.

En el caso de una célula en particular, su vida se inicia por la división celular de una célula madre y termina con la formación de las células hijas o con su muerte. Puesto que el mismo proceso, de división celular, es el causante tanto de la ganancia como de la pérdida de la identidad de las células, se puede hablar del ciclo de vida de la célula, o del ciclo celular ³⁰.

La división de las células somáticas es un proceso cíclico dividido en 2 fases, mitosis e interfase o reposo ⁴; y de tres fases adicionales, subdivisiones de la interfase: G1, S, G2 ^{4,31}. Antes de entrar en la mitosis, las células duplican su DNA. Esta fase del ciclo celular se denomina fase S o fase de síntesis. Al comenzar esta fase, la cantidad de cromosomas es $2n$ y el contenido de DNA es $2n$, al finalizar la fase el número cromosómico es $4n$ y el contenido de DNA es $4n$. La mitosis ocurre después de la fase S ⁴. La mitosis dura cerca de una hora y suele incluir siempre una cariocinesis (división del núcleo en 2) y una citocinesis (división de la célula en 2 células hijas). Por lo general le sigue la fase G1 o fase gap 1 (del inglés gap, brecha o espacio), en la cual no hay síntesis de DNA. La fase G1 suele ser un período de crecimiento

La displasia severa incluye hiperplasia de células basales, pérdida de la polaridad de las células basales, marcado polimorfismo celular, incremento en las mitosis aberrantes, numerosas disqueratosis, estratificación anormal del epitelio ⁷.

La displasia epitelial bucal es el diagnóstico usado periódicamente para describir cambios histológicos vistos en desórdenes crónicos progresivos y premalignos de la mucosa bucal. Clínicamente pueden presentarlo las leucoplasias, eritroplasia y/o leucoeritroplasia ¹⁹. La displasia epitelial puede verse también en verrugas o leucoplasias papilares o en los márgenes de las úlceras de las mucosas. También en la mucosa adyacente de los tumores en pacientes con carcinomas invasivos de células escamosas ²⁰.

CICLO CELULAR.

La actividad celular de crecimiento y división pueden describirse en términos del ciclo celular. En las células capaces de dividirse, el ciclo celular es el período que va desde el principio de una división hasta el inicio de la siguiente ²⁸; por lo cual el crecimiento y el desarrollo de los organismos vivientes dependen del crecimiento y la multiplicación de sus células ²⁹.

En el caso de una célula en particular, su vida se inicia por la división celular de una célula madre y termina con la formación de las células hijas o con su muerte. Puesto que el mismo proceso, de división celular, es el causante tanto de la ganancia como de la pérdida de la identidad de las células, se puede hablar del ciclo de vida de la célula, o del ciclo celular ³⁰.

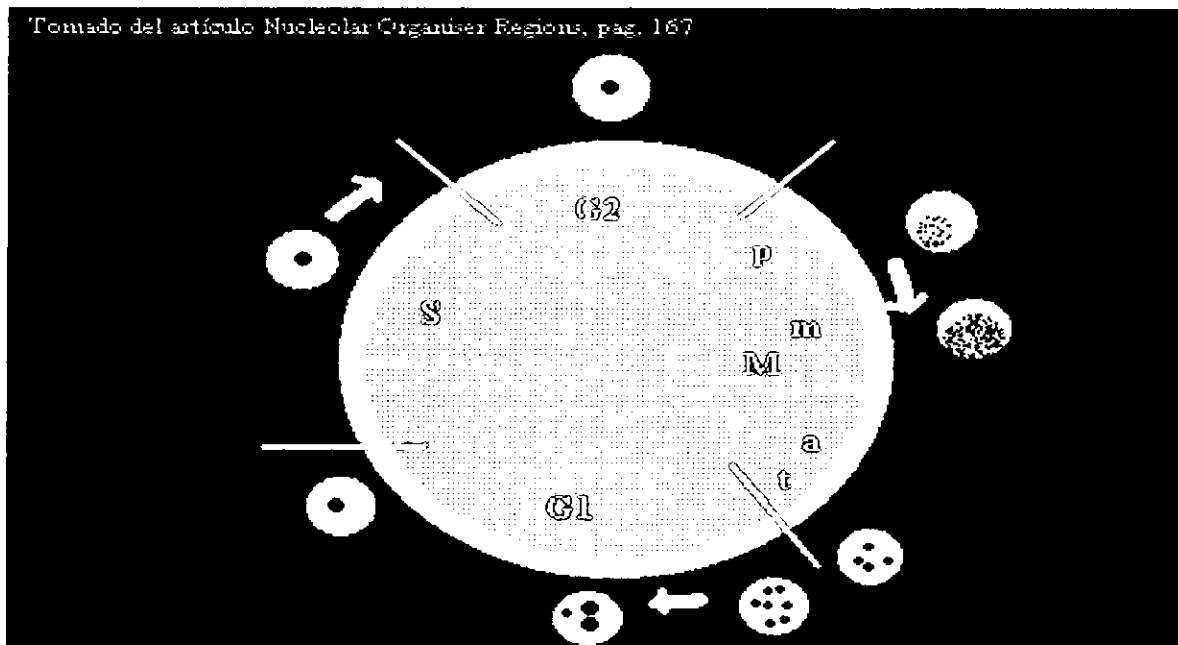
La división de las células somáticas es un proceso cíclico dividido en 2 fases, mitosis e interfase o reposo ⁴; y de tres fases adicionales, subdivisiones de la interfase: G1, S, G2 ^{4,31}. Antes de entrar en la mitosis, las células duplican su DNA. Esta fase del ciclo celular se denomina fase S o fase de síntesis. Al comenzar esta fase, la cantidad de cromosomas es $2n$ y el contenido de DNA es $2n$, al finalizar la fase el número cromosómico es $4n$ y el contenido de DNA es $4n$. La mitosis ocurre después de la fase S ⁴. La mitosis dura cerca de una hora y suele incluir siempre una cariocinesis (división del núcleo en 2) y una citocinesis (división de la célula en 2 células hijas). Por lo general le sigue la fase G1 o fase gap 1 (del inglés gap, brecha o espacio), en la cual no hay síntesis de DNA. La fase G1 suele ser un período de crecimiento

celular que dura sólo unas pocas horas en las células de división rápida y toda la vida en las células que no se dividen . Las células que abandonan el ciclo en G1 para iniciar la diferenciación terminal. Se consideran en fase Go, (fuera del ciclo).

A la fase G1 le sigue la fase S o fase de síntesis de DNA, que por lo general dura unas 7 horas, en la cual se duplica la cantidad de DNA y se forman nuevas cromátides que serán visibles en la profase y en la metafase de la fase M siguiente.

Después de la fase S hay un período de síntesis de DNA, una segunda fase G2 o gap, que dura 1 hora en las células de división rápida o tienen duración indefinida en algunas células poliploides y en células como el ovocito primario, que puede abandonar el ciclo celular en la fase G2 durante períodos prolongados ⁴.

Figura 3. Visualización de AgNORs en el ciclo celular.



DIVISIÓN CELULAR.

Implica 2 procesos principales, la mitosis y la citocinesis. La mitosis, proceso complejo en el que participa el núcleo, asegura que cada nuevo núcleo reciba el mismo número y los mismos tipos de cromosomas característicos del núcleo original, debido a esto la mitosis es el proceso por el cual las células eucariontes separan a los cromosomas replicados en 2 núcleos hijos; ésta se divide en estadios distintos: profase, prometafase, metafase, anafase, telofase²⁸. No incluyen prometafase^{4,30,32}.

La profase comienza cuando se hacen visibles los cromosomas. A medida que los cromosomas se condensan se pueden observar que cada uno está compuesto por dos cadenas denominadas cromátides, unidas por un centrómero o cinetocoro. Además, desaparece el nucléolo, se replican los centriolos y se desintegra el envoltorio nuclear.

La metafase comienza con la organización del huso mitótico, formado por microtúbulos, alrededor de los centriolos ubicados en polos opuestos de la célula, que dirige los movimientos de los cromosomas hacia el plano medial celular, la placa ecuatorial o placa de metafase.

La anafase comienza cuando se separan las cromátides, que son atraídas hacia los polos opuestos de la célula por los microtúbulos del huso acromático fijados a los centrómeros.

La telofase se caracteriza por la constitución de un envoltorio nuclear alrededor de los cromosomas en cada polo. Los cromosomas pierden su estructura helicoidal y se hacen distinguibles, a excepción de ciertas regiones que permanecen condensadas en el núcleo en interfase. Reaparecen los nucléolos y el citoplasma se divide para formar 2 células hijas (son 2 en contenido de DNA y 2 en número de cromosomas)⁴.

La citocinesis, que suele comenzar antes de que se complete la mitosis, es la división del citoplasma celular para formar 2 células, por ejemplo se producen células multinucleadas, si la mitosis no es seguida de la citocinesis, ésta es una condición normal en algunos tipos celulares. La interfase es el período que media entre divisiones e incluye la duplicación de cromosomas²⁸.

Cuando una célula en interfase empieza a dividirse por el proceso denominado mitosis, hay un cambio espectacular en el aspecto de la cromatina nuclear. Cuando la mitosis empieza, el proceso normalmente es continuo, cada etapa se fusiona imperceptiblemente con la siguiente. Todo el proceso requiere de una a 2 horas y media según el tipo celular³².

El intervalo de tiempo para la reparación del DNA durante la mitosis es corto; por lo tanto algunos agentes genotóxicos endógenos y exógenos son más sensibles., puede hacer brecha a mutaciones en genes ³³.

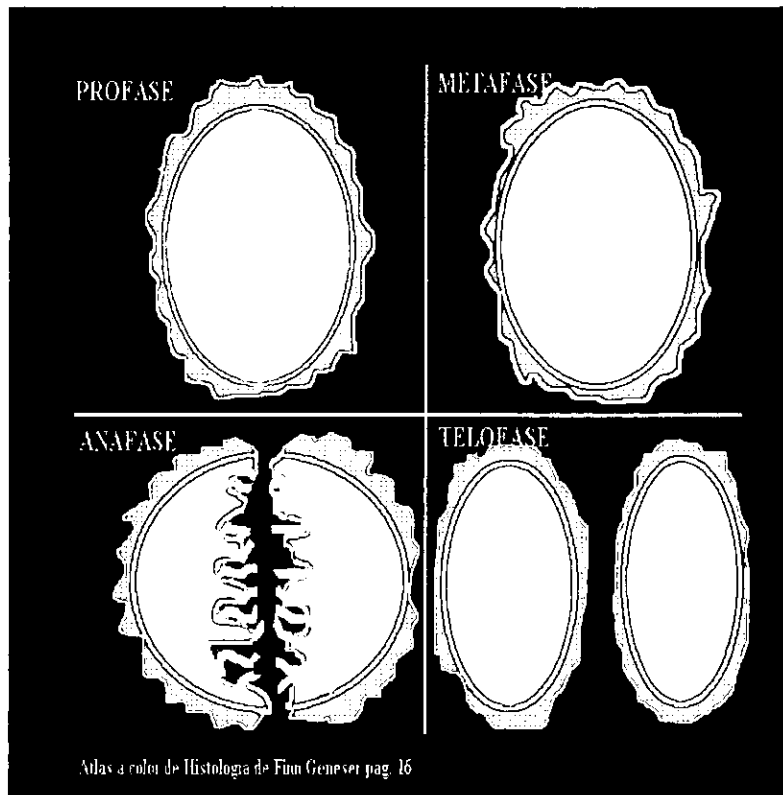


Figura 4. Fases de la mitosis.

PROLIFERACIÓN CELULAR.

Es el término para describir el aumento en el número de células. Aunque la presencia de proliferación se puede demostrar de forma muy gráfica; por ejemplo, el hígado de un mamífero es un órgano con una actividad mitótica de índice muy bajo, sus células se caracterizan por tener una vida relativamente larga; sin embargo, si se extirpa en forma quirúrgica una gran parte del hígado (hepatectomía parcial), se inicia todo un nuevo programa de funciones hepática; las células empiezan a crecer y dividirse en una forma extremadamente rápida, y en un corto tiempo, la masa del hígado queda reconstituida por completo. Conforme el número de células de un órgano se aproxima a sus valores normales, su índice de proliferación disminuye en forma considerable, hasta que alcanza el bajo índice que caracteriza al tejido intacto. De la misma manera, en condiciones normales, las células de la epidermis del cuerpo proliferan, se dividen y se diferencian en un índice que le proporciona al organismo un suplemento continuo de células epiteliales para reemplazar a las que mueren y se pierden; el índice de proliferación se encuentra muy regulado. Si la epidermis llega a dañarse, el tejido cambia de actividad todavía mayor³⁰. El proceso de cicatrización inicia una actividad mitótica a un nivel muy elevado y el daño se repara con rapidez, después de lo cual se reinstala el índice normal de proliferación.

Las células malignas de alguna manera se liberan de los mecanismos de control del organismo proliferan y se dividen de una manera irrefenable. Afortunadamente, la conducta aberrante de las células malignas se puede observar con facilidad en cultivos celulares, lo que da a los investigadores la oportunidad de estudiar las bases de la condición maligna *in vitro*³⁰.

El tipo celular de un organismo multicelular es estrictamente controlado por el balance de signos complejos, los cuales estimulan o inhiben la proliferación, diferenciación, y supervivencia de las células. Disturbios en el espacio intra y extracelular que son reguladas por esas funciones celulares pueden resultar en cambios en el número de células en un tejido particular. Tales cambios ocurren muy frecuentemente bajo eventos patológicos³³. Hay evidencias que sugieren que la excesiva proliferación de células contribuyen más a la expansión del crecimiento potencial de un tumor maligno; por lo que ha sido propuesto que una actividad proliferativa incrementada está ligada a la carcinogénesis y progresión tumoral³³. Donde observaciones clínicas sugieren

una posible contribución en el papel del incremento en la proliferación celular hacia la génesis y/o progresión de un tumor maligno ³³.

La proliferación confiere un pequeño, pero claro riesgo para la mutagénesis, sobre células no divididas por diversos mecanismos. La proliferación celular detectada por el incremento de la actividad mitótica, síntesis de DNA, han mostrado estar asociada con cambios en la diferenciación tales como paraqueratinización en lesiones displásicas bucales ³⁴.

DIFERENCIACIÓN CELULAR.

Es el paso final que conduce a la especialización celular ^{28,30}, donde una célula diferenciada puede ser reconocida por su aspecto y actividades características ²⁸.

Se puede definir como el proceso por el cual existen diferencias en un individuo; consiste en la progresión dentro de especialización estructural y funcional de las células. ²⁸ Cuando existe rompimiento o interrupción de la diferenciación celular, se produce actividad secretoria anormal, rutas metabólicas alteradas, cambios en el citoesqueleto y organización nuclear, así como alteraciones en la química de la membrana celular son frecuentemente encontrada ³³.

En cuanto a la diferenciación parcial de células tumorales, se ha encontrado que en muchos tumores sólidos, hay células diferenciadas, comparando los tipos celulares especializados del tejido normal correspondiente. Mucho del andamiaje diagnóstico de tumores malignos depende del reconocimiento y cuantificación de la proporción de esas células parcialmente diferenciadas; sin embargo la base celular de esta diversidad no es completamente entendida. Distintos clones de células neoplásicas generadas por cambios genéticos al azar, para una célula ancestral puede existir dentro de un tumor, alternativamente, ciertas células pueden ser inducidas a diferenciación parcial por muchos factores o mutaciones. Estudios han mostrado que la capacidad de proliferación de células tumorales es frecuentemente perdida como células diferenciadas, en otras palabras, la diferenciación parcial de células neoplásicas puede agotar constantemente la proliferación lagunar de la población de células neoplásicas ³³.

una posible contribución en el papel del incremento en la proliferación celular hacia la génesis y/o progresión de un tumor maligno ³³.

La proliferación confiere una pequeño, pero claro riesgo para la mutagénesis, sobre células no divididas por diversos mecanismos. La proliferación celular detectada por el incremento de la actividad mitótica, síntesis de DNA, han mostrado estar asociada con cambios en la diferenciación tales como paraqueratinización en lesiones displásicas bucales ³⁴.

DIFERENCIACIÓN CELULAR.

Es el paso final que conduce a la especialización celular ^{28,30}, donde una célula diferenciada puede ser reconocida por su aspecto y actividades características ²⁸.

Se puede definir como el proceso por el cual existen diferencias en un individuo; consiste en la progresión dentro de especialización estructural y funcional de las células. ²⁸. Cuando existe rompimiento o interrupción de la diferenciación celular, se produce actividad secretoria anormal, rutas metabólicas alteradas, cambios en el citoesqueleto y organización nuclear, así como alteraciones en la química de la membrana celular son frecuentemente encontrada ³³.

En cuanto a la diferenciación parcial de células tumorales, se ha encontrado que en muchos tumores sólidos, hay células diferenciadas, comparando los tipos celulares especializados del tejido normal correspondiente. Mucho del andamiaje diagnóstico de tumores malignos depende del reconocimiento y cuantificación de la proporción de esas células parcialmente diferenciadas; sin embargo la base celular de esta diversidad no es completamente entendida. Distintos clones de células neoplásicas generadas por cambios genéticos al azar, para una célula ancestral puede existir dentro de un tumor, alternativamente, ciertas células pueden ser inducidas a diferenciación parcial por muchos factores o mutaciones. Estudios han mostrado que la capacidad de proliferación de células tumorales es frecuentemente perdida como células diferenciadas, en otras palabras, la diferenciación parcial de células neoplásicas puede agotar constantemente la proliferación lagunar de la población de células neoplásicas ³³.

NÚCLEO.

Es un organelo prominente, esférico u oval con una magnitud promedio de 5 micrometros de diámetro ²⁸, está relacionado a veces con la forma de la célula, pero puede ser completamente irregular ²⁹, ocupa una posición relativamente fija cerca del centro de las células. Muchas células poseen un núcleo, si bien hay algunas excepciones ²⁸, en el material fijado y teñido, la estructura del núcleo se distingue por su gran complejidad y varía de acuerdo con el tipo de célula y el fijador empleado, la posición varía, pero en general es característica y constante para cada tipo celular ²⁹.

Es el compartimiento celular más evidente y alberga los cromosomas, cada cromosoma está compuesto de una molécula de DNA íntimamente asociada a varias proteínas ^{4,35} limitado por una membrana que contiene el genoma en las células eucariotas.

El contenido del núcleo consiste en una masa viscosa, amorfa de material rodeado por una envoltura nuclear compleja, dentro del núcleo de una típica célula en interfase (no mitótica) se encuentran incluidos: los cromosomas, la matriz nuclear, uno o más nucléolos y el nucleoplasma ³⁰, es el centro de control de las células eucariotas ^{28,35}; las instrucciones genéticas para el crecimiento y desarrollo están codificadas en el DNA, que constituye parte de la fibra cromosómica de nucleoproteína, de la replicación del DNA y su transcripción en RNA ³⁵. La reducción en el diámetro de la célula y el incremento en el diámetro del núcleo puede indicar cambios malignos ³⁶.

NUCLÉOLO.

Es la estructura visible en el núcleo que por lo general se tiñe de color diferente que la cromatina circundante ²⁸, puede ser único o múltiple, es clasicamente acidófilo y contiene ribonucleoproteínas ²⁹.

Morfológicamente consiste en una estructura compacta no limitada por una membrana ²⁸, generalmente esféricos y voluminosos en células diferenciadas (nerviosas por ejemplo) ^{29,30,35}.

Rodeado por nucleoplasma pero no separado de éste por una membrana ³⁵, por lo que se define como estructura intranuclear no membranosa formada

por material filamentoso y granular ⁴, su tamaño varía y está especialmente desarrollado en las células con activa síntesis de proteínas, tanto el material granular, pars granulosa como el fibrilar, pars fibrosa, del nucléolo se componen de RNA. En el primer caso, el RNA está organizado en forma de gránulos y el segundo, como filamentos extremadamente delgados muy condensados. La pars fibrosa es el compartimiento de coloración más condensada que se observa con el microscopio electrónico de transmisión. La red formada por la pars granulosa y la pars fibrosa se denomina nucleolonema, en los intersticios de esta red se localiza el DNA responsable de la síntesis de las subunidades ribosómicas ⁴.

Se trata de estructuras constituidas a base de ARN ribosómico y proteínas, formadas como consecuencia de la actividad transcripcional de determinados genes, que en conjunto constituyen el organizador nucleolar.

El número de nucléolos generalmente suele ser de 1 por núcleo, aunque muchos tipos celulares suelen presentar 2, como en el caso de neuronas y hepatocitos; ciertos tipos celulares carecen de nucléolo (esto normalmente suele deberse a defectos genéticos o a casos de extrema diferenciación celular), la forma del nucléolo es frecuentemente esférica, aunque se dan casos de nucléolos con formas irregulares, como el caso del alga *Acetabularia* y su posición suele ser más o menos centrada dentro de la esfera nuclear.

El ARN ribosómico presente en el nucléolo se origina por transcripción a partir de ciertas regiones de ADN del cromosoma denominados Organizadores Nucleolares ³⁷.

Se ha determinado que el organizador nucleolar está constituido por un elevado número de genes (unidades de transcripción) todos ellos con la misma información genética cuyo ADN es abundante en pares C/G. Estos genes, repetidos a lo largo de toda la secuencia fibrilar, están separados por zonas de material genético que no se transcriben (espaciadores).

Cada unidad de transcripción contiene la información para la síntesis de un ARN 45s, que posteriormente madurará, fragmentándose en varias moléculas de ARNr, concretamente una de 18s, otras de 5.8s y finalmente una de 28 s, todas ellas integrantes de los ribosomas, estas cadenas de ARNr sufren de una serie de cambios postranscripcionales que implican pérdida de nucleótidos, metilaciones de otros y unión a proteínas; finalmente se originarán las 2 partículas ribonucleoproteicas 40s y 60s, constituyentes de los ribosomas eucarióticos.

Dependiendo del estado metabólico y tipo celular, el nucléolo puede presentarse bajo 2 formas estructurales. La forma laxa, caracterizada por la alternancia de regiones fibrilares y granulosas a nivel de toda la estructura y la forma condensada, que muestra una estructura mucho más densa, caracterizada por la disposición de la región granular en la periférica, mientras que la fibrilar ocupa el centro, en este caso disminuye e incluso desaparece la región amorfa³⁷.

La organización estructural del nucléolo refleja su adhesión cromosómica y sus funciones en la producción de la subunidad del ribosoma, en microfotografía electrónica de cortes delgados de células pueden distinguirse 4 componentes : una zona granular, que contiene partículas difusas de alrededor de 15 nm de ancho, los cuales representan subunidades ribosómicas próximas a completarse; una zona fibrilar, con fibrillas mal definidas de transcritos de RNA en forma de nucleoproteínas que miden 5 nm de diámetro; de una zona de cromatina nucleolar, que consta de asas cromosómicas de 10nm de ancho que se extienden fuera de su punto de adhesión en la NOR del cromosoma, y una matriz nucleolar sin estructura en la cual están distribuidos todos estos materiales; el nucléolo puede agrandarse en células activas y reducirse en células inactivas, debido principalmente a expansión o reducción de la zona granular³⁵. Se puede observar con claridad al microscopio de luz; relacionado con el ciclo de división celular; se dispersa de manera característica durante la profase de la mitosis y reaparece durante la siguiente telofase³⁰.

Su función estriba en ser el sitio de transcripción, síntesis de RNA ribosómico y de ensamblaje inicial de los ribosomas^{4,28,37}. Produce casi todo, o quizá todo, el RNA ribosómico (RNAr) de la célula, y es el lugar en el cual se producen 2 tipos de partículas de ribonucleoproteínas denominadas partículas prerribosómicas que más tarde y en otro lugar se reúnen para formar ribosomas completos.

Los cambios morfológicos de los nucléolos y el aumento de estos son característicos frecuentemente de células malignas, y muchos patólogos consideran el tipo y forma de las alteraciones como un importante criterio de diagnóstico de malignidad^{39,40}.

Función del nucléolo en la síntesis de ribosomas
(Tomado de Molecular Biology of the cell, 1992, pp 433)

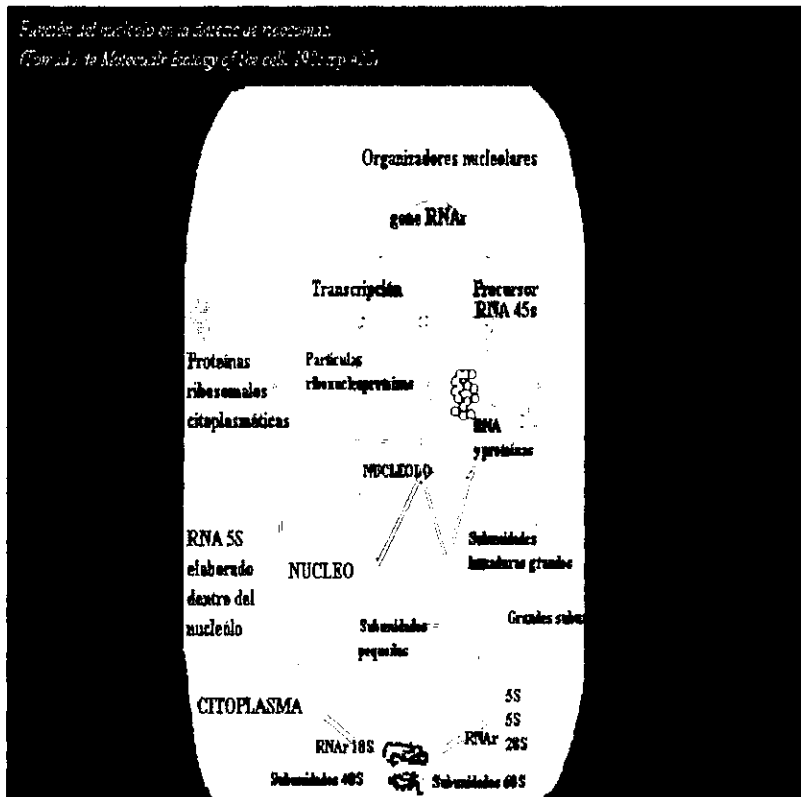


Figura 5. Función del nucléolo en la síntesis de ribosomas.

REGIONES DE ORGANIZADORES NUCLEOLARES (NOR).

El nucléolo está conectado directamente a un segmento de los cromosomas llamado Organizador Nucleolar ⁴⁰. Los NORs son hebras de DNA en los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos (se localizan en la zona granular del nucléolo) que están presumiblemente asociados con la actividad de RNAr, síntesis de proteínas y proliferación celular ^{41,42,43}, los genes que integran estas regiones suelen situarse a nivel de las constricciones secundarias de algunos cromosomas, a partir de cada cromosoma se forma un nucléolo; el Organizador Nucleolar está constituido por un elevado número de genes (unidades de transcripción) todos ellos con la misma información genética cuyo ADN es abundante en pares ^{37,39}, esta conexión no es aparente en las células en interfase, el punto de contacto se hace visible cuando la cromatina se condensa en cromosomas diferenciados durante la división del núcleo. En la mayor parte de tipos celulares, el organizador nucleolar se encuentra en ambos miembros de un par de cromosomas homólogos, estos pueden permanecer separados en la interfase para formar múltiples nucléolos o juntarse entre sí para formar un solo nucléolo de mayor tamaño ⁴⁰.

En la mayoría de los organismos, el nucléolo se fragmenta y desaparece durante la división celular y se reorganiza después de la división celular en uno o más lugares en los cromosomas, a este lugar se le denomina Organizador Nucleolar ⁴⁰.

En muchos casos puede observarse una constricción (que recibe el nombre de constricción secundaria con una perilla satélite que sobresale del cromosoma, para diferenciarla de la constricción de la centrómera) en el o los cromosomas en el sitio donde el nucléolo está en contacto con el cromosoma (en realidad lo rodea) ^{30,35,37}; esta región del cromosoma se denomina región Organizadora Nucleolar en la literatura citológica. Las regiones organizadoras de los cromosomas se han identificado como los sitios que contienen el DNA ribosomal ³⁰.

Como ya hemos mencionado el nucléolo es una estructura esférica rodeada por nucleoplasma pero no separada de éste por una membrana, cada nucléolo es producido por una Región Organizadora de Nucléolo (NOR) u organizador específico localizada en un sitio particular de un cromosoma organizador del nucléolo específico. Un genoma puede incluir uno o más cromosomas organizadores del nucléolo y, por tanto, puede haber uno o más nucléolos en el mismo núcleo; sin embargo, los nucléolos se fusionan, de modo que un recuento nucleolar no es una indicación del número de cromosomas organizadores del nucléolo en un complemento de cromosomas.

En muchos casos los NORs están localizados cerca del extremo de un cromosoma, y una pequeña perilla o satélite del cromosoma se proyecta más allá de los NORs³⁷, los sitios NOR son localizados en los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos 13, 14, 15, 21,22^{34,39,42}. El centro fibrilar denso que forma una de las cuatro zonas que integran al nucléolo (centro fibrilar, zona fibrilar densa, zona granular, cromatina) contiene a los AgNOR condensados, en estado de reposo pueden observarse variaciones en el tamaño de los mismos, estos cambios se hacen más notables en casos de alteraciones de la transcripción del RNAr como sucede en la transformación neoplásica⁴³.

Los RNAr sintetizados en el núcleo se transcriben de los genes de RNAr (DNAr) agrupados repetidamente en los NORs^{35,37}.

En la telofase, el núcleo va tomando forma, se reorganiza el nucléolo en la zona de los organizadores nucleolares⁴⁰.

Durante la telofase, el nucléolo se reorganiza a partir de uno o más cromosomas, apareciendo primero como un cuerpo esférico que aumenta gradualmente de tamaño hasta alcanzar su forma interfásica típica. El número de nucléolos que se formaban en este estadio (normalmente uno o dos) es una característica fija de cada especie^{37,40}, por lo que es necesaria la intervención de una zona específica del cromosoma para la reaparición del nucléolo en la telofase⁴⁰.

La zona nucleolar, cuando está presente, funciona organizando el material nucleolar disperso para dar lugar al nucléolo compacto en la telofase; ésta zona organizadora nucleolar se puede reconocer en la metafase de la mayoría de las especies como una constricción secundaria prominente; comúnmente en cada núcleo existen dos cromosomas, denominados cromosomas nucleolares que tienen esa característica especial^{29,40}.

En algunos organismos, incluyendo el hombre, se encuentran zonas adicionales distribuidas entre los cromosomas, que pueden llegar a formar, en algunos casos, diez nucléolos independientes como máximo. Incluso en estas especies, por fusión se reduce el número de nucléolos⁴⁰.

En la telofase, la sustancia nucleolar puede provenir de la fusión de pequeños cuerpos prenucleolares que están agrupados junto al Organizador Nucleolar.

En el comienzo y hasta promediar la telofase, el nucléolo está constituido por un ovillo de cromatina que se desenrosca desde el Organizador Nucleolar y es rodeado de material fibrilar y granular. Al concluir la telofase, el nucléolo presenta ya la morfología característica de la interfase; estos hechos sugieren que el único componente constante del nucléolo es el asa cromatínica, que contiene la información genética para la síntesis del material nucleolar²⁹.

Representa el Organizador Nucleolar el lugar de transcripción y maduración de los ARN ribosómicos ³⁷.

En las últimas tres décadas el empleo de algunos procedimientos como la microscopia electrónica, la inmunohistoquímica y los procedimientos para aislar ácidos nucleicos, han facilitado el estudio del nucléolo, los NORs son identificados principalmente a través de hibridización "in situ", sin embargo por razones de simplicidad; pueden identificarse con tinciones de plata coloidal debido a la argirofilia de las proteínas asociadas a NOR. Por medio de microscopia de luz además de la tinción con plata coloidal se pueden observar los NORs con sulfato de amonio y Giemsa ⁴³.

La reacción de AgNOR fue descrita en 1975 por Goopasteure y Blomm utilizando una tinción con nitrato de plata con hidróxido de amonio a 60 grados Celsius, ellos lograron demostrar la presencia de AgNOR en cromosomas de *Macaca mulatta* y *Carollia perspicillata*, este hecho fue posteriormente corroborado a través de hibridación "in situ" por Pardue y Tsue, la concordancia entre los dos métodos condujo a la estandarización de la técnica AgNOR.

Ploton en 1986 demostró que esta técnica podía ser llevada a cabo en cromosomas en interfase a 20 grados Celsius estabilizándola con ácido fórmico, existen otros factores capaces de modificar la técnica de AgNOR en especial el pH del material procesado en parafina histológica; a un pH alto de 11.5-11.7 las muestras se tiñen adecuadamente sin embargo a un pH intermedio o bajo la tinción suele verse disminuida o ausente, este factor demuestra que el pH es un factor importante para poder correr la tinción satisfactoriamente ⁴³.

La visualización de los AgNORs pueden realizarse mediante una técnica de tinción de plata coloidal, en la cual los AgNORs se ven como puntos negros; la cantidad de plata en el nucléolo en esta reacción citoquímica es un reflejo de la actividad transcripcional de los genes ribosomales, la tinción con plata revela la posición de la actividad transcripcional de los NORs dentro de la interfase nuclear o figuras mitóticas. Han sido sugeridos que el número de AgNORs en el nucléolo pueden reflejar su estado de activación o inducción o grado de malignidad de la lesión involucrada ^{34,38,39,42,44}.

Como hemos mencionado esta técnica argirofílica permite precisar la localización de los sitios NOR; el número de AgNORs visualizados dependen de el número de NORs transportados en el cariotipo de los cromosomas, el nivel de RNA actividad transcripcional, y la etapa de ciclo celular, así como la dispersión de los nucléolos antes de la mitosis y su reorganización posterior ³⁴;

también el tamaño y posición del nucléolo, varían en función del grado de diferenciación, influencias cronobiológicas, estado metabólico de la célula ⁴³.

Las dos principales proteínas de AgNORs son las llamadas C23 o nucleolin (105KDa) y B23 o numatrin o nuclofosmin (39KDa) ³⁹. Pero también están asociadas a NOR la RNA polimerasa 1, topoisomerasa, proteína 100 k, proteína 80 k, y fosfoproteínas ⁴³.

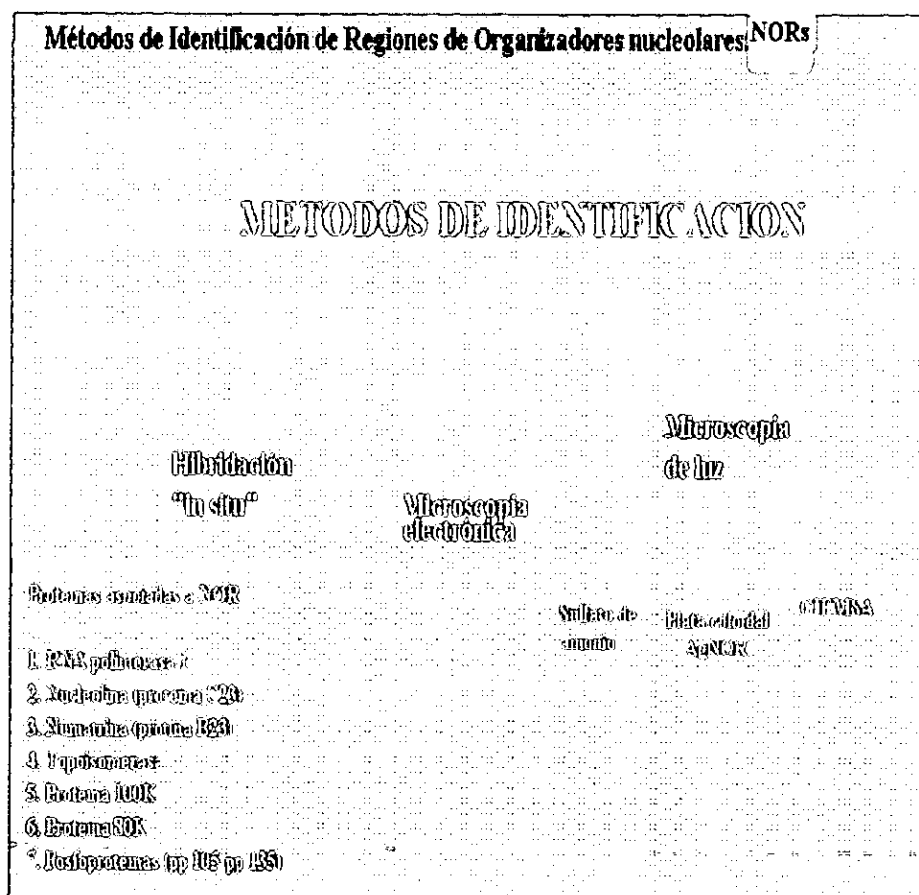


Figura 6. Métodos de identificación.

El método más frecuentemente empleado para el conteo del número de AgNOR de la interfase por célula, evaluando la muestra directamente con microscopio de luz con un enfoque cuidadoso por toda la laminilla con una alta magnificación (100x con aceite de inmersión), aunque éste método es muy simple y necesita sólo un microscopio para alcanzar observar todos los campos; presenta muchos inconvenientes, porque la interfase AgNOR no es

fácilmente identificada, por estar agrupada, junto o parcialmente superposicionada, además el conteo hecho no toma en consideración la diferencia en el tipo de interfase AgNOR; usando el método de conteo, significa una variación en la inter-observación en el número de AgNORs de la interfase. Esos inconvenientes son eliminados por la evaluación morfométrica del área de la interfase AgNOR, usando una computadora con imagen asistida en la que se hace un análisis morfométrico que es influenciado por factores que condicionan la estabilidad de la interfase NOR en muestras histológicas; tales como el tipo de fijador, la temperatura y el tiempo de reacción de la tinción. Las muestras fijadas y teñidas con plata con soluciones con alcohol en comparación con las que contienen formol, muestran mejor la interfase NOR. La temperatura y tiempo de la reacción de la tinción debe ser chequeada por la visualización selectiva de la interfase NOR; el incremento del valor de uno o ambos parámetros causa una tinción inespecífica de las estructuras nucleolares. Para obtener resultados comparables entre laboratorios, deben ser usados el mismo protocolo de tinciones ³⁹.

La actividad transcripcional de los NORs identificados por medio de la tinción, sugiere que el número de AgNORs en la interfase nucleolar puede reflejar el estado de actividad y/o el grado de transformación maligna de ciertos tejidos y que estos resultados pueden ser usados como un marcador para cuantificar los cambios incipientes en la actividad celular antes de que el patrón histológico de cambios neoplásicos puedan ser detectados ^{42,45,46}.

El incremento en el número de AgNORs está asociado con la presencia de tumores agresivos, el promedio de AgNORs por núcleo fue alto en tejidos malignos en comparación con los benignos. También fue elevado en los tejidos con alto grado de malignidad en comparación con los de bajo grado y fue mayor el número de AgNORs en las lesiones con peor pronóstico en contraste con los de buen pronóstico ^{34,41,42,44}.

En el epitelio normal, 70% de los nucléolos mostraron sólo 2 AgNORs, y en los carcinomas por ejemplo en los de células escamosas tenían más de 4. Los tejidos displásicos mostraron una frecuencia en la distribución de AgNORs entre el epitelio normal y algún tumor maligno ⁴¹.

AgNORs fueron cuantificados en 40 biopsias de mucosa bucal que consistían en lesiones benignas, reactivas, displásicas y carcinomatosas. El conteo promedio fue mayor en carcinomas (8.37+-6.11), comparado con displasia epitelial (5.61+-4.63), queratosis benignas (4.51+-2.57). Además las lesiones displásicas con alto y más disperso conteo representaban un gran riesgo de transformación maligna ³⁴.

Considerando el papel central interfase AgNOR en la síntesis de RNAr, la respuesta a la pregunta de los cambios de la interfase NOR en la distribución en las células cancerosas puede ser consecuencia del incremento de la demanda de la biogénesis ribosomal de la que se caracterizan las células en división ³⁹. Otra posible explicación de la alta cantidad de AgNOR en la interfase en las células cancerosas es la variación de el número de cromosomas acrocéntricos que llevan NOR. Otra de las características de las células cancerosas, es su estado de continua división que puede ser responsable de un alto número de AgNOR en la interfase comparado con las células normales e hiperplásicas. La explicación del incremento de la interfase AgNOR en la proliferación de células puede ser que encontraron cambios estructurales de la cromatina ribosomal ocurrida en el nucléolo de las células en mitosis ³⁹.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La verruga vulgar, la queratosis friccional y displasia epitelial son lesiones de cavidad bucal; de diferente etiología que involucran alteraciones a nivel epitelial, con diferente pronóstico y tratamiento. Debido a esto cada una de ellas presentan diferencias en su arquitectura celular por lo que se pretende cuantificar las Regiones de Organizadores Nucleolares para correlacionarlos con su proliferación.

JUSTIFICACIÓN.

La investigación se realiza con el fin de poder establecer factores de diagnóstico y pronóstico de verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial ya que es el tejido epitelial el sitio más frecuente de desarrollo de estas lesiones y sea posible establecer un método de diagnóstico de fácil manejo y reproductibilidad así como de bajo costo, en base a la utilización de tinciones de plata, evaluando la diferencia de AgNORs en lesiones que presentan diferente comportamiento clínico y que son de diferente etiología.

HIPÓTESIS DE TRABAJO.

El número de Regiones de Organizadores Nucleolares es diferente en la verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial.

HIPÓTESIS NULA.

El número de Regiones de Organizadores Nucleolares es igual en la verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La verruga vulgar, la queratosis friccional y displasia epitelial son lesiones de cavidad bucal; de diferente etiología que involucran alteraciones a nivel epitelial, con diferente pronóstico y tratamiento. Debido a esto cada una de ellas presentan diferencias en su arquitectura celular por lo que se pretende cuantificar las Regiones de Organizadores Nucleolares para correlacionarlos con su proliferación.

JUSTIFICACIÓN.

La investigación se realiza con el fin de poder establecer factores de diagnóstico y pronóstico de verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial ya que es el tejido epitelial el sitio más frecuente de desarrollo de estas lesiones y sea posible establecer un método de diagnóstico de fácil manejo y reproductibilidad así como de bajo costo, en base a la utilización de tinciones de plata, evaluando la diferencia de AgNORs en lesiones que presentan diferente comportamiento clínico y que son de diferente etiología.

HIPÓTESIS DE TRABAJO.

El número de Regiones de Organizadores Nucleolares es diferente en la verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial.

HIPÓTESIS NULA.

El número de Regiones de Organizadores Nucleolares es igual en la verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La verruga vulgar, la queratosis friccional y displasia epitelial son lesiones de cavidad bucal; de diferente etiología que involucran alteraciones a nivel epitelial, con diferente pronóstico y tratamiento. Debido a esto cada una de ellas presentan diferencias en su arquitectura celular por lo que se pretende cuantificar las Regiones de Organizadores Nucleolares para correlacionarlos con su proliferación.

JUSTIFICACIÓN.

La investigación se realiza con el fin de poder establecer factores de diagnóstico y pronóstico de verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial ya que es el tejido epitelial el sitio más frecuente de desarrollo de estas lesiones y sea posible establecer un método de diagnóstico de fácil manejo y reproductibilidad así como de bajo costo, en base a la utilización de tinciones de plata, evaluando la diferencia de AgNORs en lesiones que presentan diferente comportamiento clínico y que son de diferente etiología.

HIPÓTESIS DE TRABAJO.

El número de Regiones de Organizadores Nucleolares es diferente en la verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial.

HIPÓTESIS NULA.

El número de Regiones de Organizadores Nucleolares es igual en la verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial.

OBJETIVO GENERAL.

*Cuantificar la presencia de AgNORs en tres lesiones que presentan diferente comportamiento clínico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Determinar la presencia de Organizadores Nucleolares en verruga vulgar.
- Determinar la presencia de Organizadores Nucleolares en queratosis friccional.
- Determinar la presencia de Organizadores Nucleolares en displasia epitelial.
- Correlacionar el número de Organizadores Nucleolares con el diagnóstico histopatológico de las lesiones en estudio.
- Comparar el número de Organizadores Nucleolares entre las tres lesiones estudiadas.

UNIVERSO DE ESTUDIO.

Se seleccionaron casos de verruga vulgar, de queratosis friccional y de displasia epitelial del archivo del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la División de estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología, UNAM.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

Todos aquellos casos diagnosticados clínica e histopatológicamente como verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial.

OBJETIVO GENERAL.

*Cuantificar la presencia de AgNORs en tres lesiones que presentan diferente comportamiento clínico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Determinar la presencia de Organizadores Nucleolares en verruga vulgar.
- Determinar la presencia de Organizadores Nucleolares en queratosis friccional.
- Determinar la presencia de Organizadores Nucleolares en displasia epitelial.
- Correlacionar el número de Organizadores Nucleolares con el diagnóstico histopatológico de las lesiones en estudio.
- Comparar el número de Organizadores Nucleolares entre las tres lesiones estudiadas.

UNIVERSO DE ESTUDIO.

Se seleccionaron casos de verruga vulgar, de queratosis friccional y de displasia epitelial del archivo del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la División de estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología, UNAM.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

Todos aquellos casos diagnosticados clínica e histopatológicamente como verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

Todos los especímenes los cuales histopatológicamente no sean verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial.

VARIABLES INDEPENDIENTES.

- Verruga vulgar.
- Queratosis friccional.
- Displasia epitelial.

VARIABLES DEPENDIENTES.

Características generales de las Regiones de Organizadores Nucleolares en número por célula (promedio), número de células, número de nucléolos por célula.

TIPO DE ESTUDIO.

Retrospectivo

Cualitativo

Transversal

Comparativo

Observacional

Descriptivo

MATERIAL.

Material

- Matraz
- Vasos de Coplin
- Pipetas de 5 y 10 ml
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Balanza analítica
- Microtomo
- Histokinette
- Microscopio de campo claro
- Fotomicroscopio

Reactivos

- Nitrato de plata
- Gelatina bacteriológica
- Ácido fórmico al 1%
- Agua bidestilada

- Formalina amortiguada 10%
- Xilol
- Alcohol
- Hematoxilina de Gill
- Eosina
- Solución de Scott
- Resina sintética

METODOLOGÍA.

Para llevar a cabo este estudio se seleccionaron casos de verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial del archivo de Laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología, UNAM.

Los casos seleccionados se revisaron al microscopio por un Patólogo para confirmar el Diagnóstico Histopatológico y a los que no se corroboró el diagnóstico de verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial fueron eliminados del estudio.

Se utilizaron únicamente los bloques de tejidos en los que se realizaron 4 cortes histológicos a 4 micras de espesor, 2 de las laminillas se tiñeron con la técnica convencional de H y E se revisaron con microscopia de campo claro.

Se desparafinaron e hidrataron las laminillas en agua destilada después se pasaron en:

- Xilol 1, durante 10 minutos
- Xilol 2, durante 10 minutos

-Formalina amortiguada 10%

-Xilol

-Alcohol

-Hematoxilina de Gill

-Eosina

-Solución de Scott

-Resina sintética

METODOLOGÍA.

Para llevar a cabo este estudio se seleccionaron casos de verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial del archivo de Laboratorio de Patología Clínica y Experimental de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología, UNAM.

Los casos seleccionados se revisaron al microscopio por un Patólogo para confirmar el Diagnóstico Histopatológico y a los que no se corroboró el diagnóstico de verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial fueron eliminados del estudio.

Se utilizaron únicamente los bloques de tejidos en los que se realizaron 4 cortes histológicos a 4 micras de espesor, 2 de las laminillas se tiñeron con la técnica convencional de H y E se revisaron con microscopía de campo claro.

Se desparafinaron e hidrataron las laminillas en agua destilada después se pasaron en:

-Xilol 1, durante 10 minutos

-Xilol 2, durante 10 minutos

-Alcohol xilol	10 a 15 baños
-Alcohol 100% (1)	10 a 15 baños
-Alcohol 100% (2)	10 a 15 baños
-Alcohol 96% (1)	10 a 15 baños
-Alcohol 96% (2)	10 a 15 baños

Se colocaron las laminillas en vasos de Coplin y se hidrataron durante 1 minuto, mientras se preparó la solución de trabajo, que constó de 2% de gelatina en un litro de ácido fórmico acuoso al 1%. Después se mezcló una parte de la anterior solución con dos partes de Nitrato de Plata acuosa al 50%, la cual fue la solución de trabajo. (La solución de trabajo debió ser preparada justo antes de teñir).

La solución de trabajo se manejó en un cuarto oscuro a una temperatura de 20 a 25 grados celsius. Se colocó la solución de trabajo en vasos de Coplin y se sumergieron las laminillas, dejándose durante 45 minutos.

Después se lavaron con agua bidestilada y se deshidrataron en:

-Alcohol 96% (2)	10 a 15 baños
-Alcohol 96% (1)	10 a 15 baños
-Alcohol 100% (2)	10 a 15 baños
-Alcohol 100% (1)	10 a 15 baños
-Alcohol xilol	10 a 15 baños
-Xilol 1	10 a 15 baños
-Xilol 2	10 a 15 baños

Una vez realizada la técnica se montaron las laminillas para su observación al microscopio.

La observación y la cuantificación de las manchas nucleolares se realizaron a doble ciego por un Patólogo bucal y la alumna tesista utilizando un objetivo de 100x y aceite de inmersión. Se elaboró una cédula para recolección de datos en la cual se estableció la observación de 5 campos por caso, con los siguientes datos: número de células por caso, número de AgNORs por célula y número de nucleólos por célula.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A los resultados de cada lesión se les sacó el número total de células, nucleólos número total de AgNORs; se les aplicó porcentaje, promedio, desviación estándar y el coeficiente de correlación de Spearman.

RESULTADOS.

Resultados obtenidos con H y E.

Del total de muestras teñidas con H y E obtuvimos 6 casos de verruga vulgar, 11 casos de queratosis friccional, 4 casos de displasia epitelial; de las cuales 2 fueron leves, una moderada y una severa.

En la tabla 1 se muestran los 6 casos de Verruga vulgar estudiados, en los cuales se incluyen: número de células, promedio de AgNORs por célula, así como el promedio de nucléolos por caso.

TABLA 1. Conteo total de AgNORs en Verruga vulgar.

VERRUGA VULGAR	CÉLULAS	AgNORs	NUCLÉOLOS
FO 29998	573	5.58	1.64
FO 30098	590	9.98	2.04
FO 30198	769	7.89	1.67
FO 30298	243	10.34	1.84
FO 30498	442	11.28	1.80
FO 30998	460	10.22	1.82

En la tabla 2 se muestran los 11 casos de Queratosis friccional estudiados, en los cuales se incluyen: número de células, promedio de AgNORs por célula, así como el promedio de nucléolos por caso.

TABLA 2. Conteo total de AgNORs en Queratosis friccional.

QUERATOSIS FRICCIONAL	CÉLULAS	AgNORs	NUCLÉOLOS
FO 26298	445	5.95	1.53
FO 26498	484	5.42	1.61
FO 26598-A	622	6.23	1.66
FO 26598-B	594	4.58	1.55
FO 26698	663	6.72	1.62
FO 27198	855	5.19	1.55
FO 27798	671	6.65	1.34
FO 28398	396	9.70	1.84
FO 28798	631	6.26	1.68
FO 29098	755	6.31	1.83
FO 29198	550	7.70	1.69

En la tabla 3 se muestran los 4 casos de Displasia epitelial estudiados, en los cuales se incluyen: número de células, promedio de AgNORs por célula, así como el promedio de nucléolos por caso.

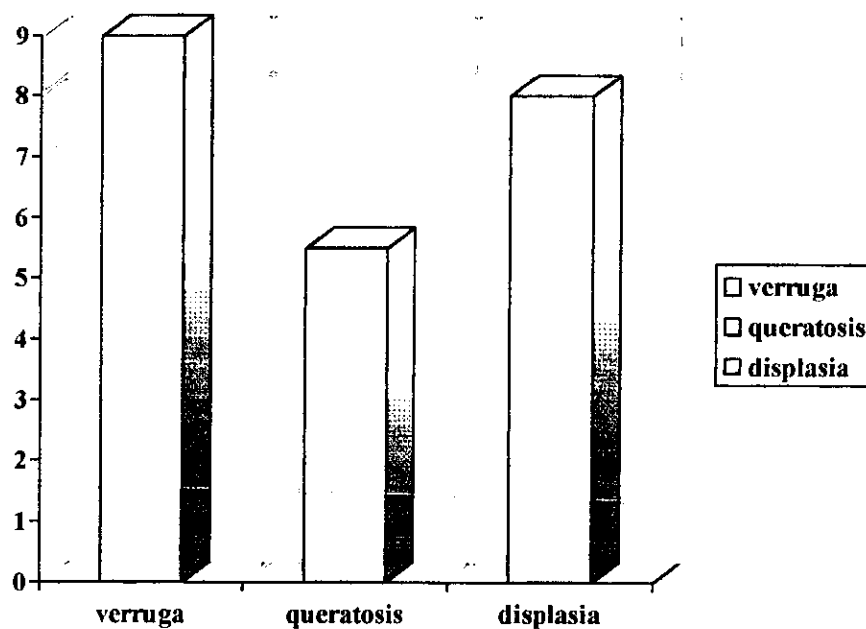
TABLA 3. Conteo total de AgNORs en Displasia epitelial.

DISPLASIA EPITELIAL	CÉLULAS	AgNORs	NUCLÉOLOS
FO29298 Leve	139	12.03	1.81
FO 29398 Leve	412	8.01	1.41
FO 2959 Severa	500	7.93	1.69
FO29798 Moderada	485	6.32	1.39

En la tabla 4 se muestra el promedio global de casos en estudio: verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial, en los cuales se incluyen: el rango de edad, el sexo, número de células, número de AgNORs, nucléolos, y desviación estándar. La verruga vulgar tuvo una edad promedio de 39 años, el sexo femenino representaba el 53% y el masculino 47%, el promedio de AgNORs fue de 9 ± 2.24 y 1.8 nucléolos. La queratosis friccional presentó una edad promedio de 39 años, 53% correspondía al sexo femenino y 47% al sexo masculino, el promedio de AgNORs fue de 5.55 ± 1.16 y 1.63 nucléolos. La displasia epitelial presentó una edad promedio de 59 años, 67% corresponde al sexo femenino y 33% al masculino, el promedio de AgNORs fue de 8 ± 2.12 y 1.57 nucléolos.

TABLA 4. Conteo global de casos en verruga vulgar, queratosis friccional y displasia epitelial.

LESIÓN	EDAD	SEXO	CÉLULAS	AgNORs	NUCLEÓLOS	Sal.
V.VULGAR	39	F 53%, M 47%	512.83	9	1.80	2.24
Q.FRICCIONAL	39	F 53%, M 47%	606	5.55	1.63	1.16
D.EPITELIAL	59	F 67%, M 33%	429	8	1.57	2.12



GRÁFICA 1. PROMEDIO DE AgNORs

En la gráfica anterior muestra el promedio de AgNORs por célula en cada lesión estudiada. La verruga vulgar tuvo un promedio de 9 AgNORs, la queratosis friccional 5.5 AgNORs y la displasia epitelial 8 AgNORs.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Debido a la naturaleza de esta investigación se utilizó el método de correlación de rangos de Spearman ya que es una medida no paramétrica cuando se tienen dos variables diferentes, en este caso la cuantificación de Organizadores Nucleolares en la displasia epitelial y el grado de severidad (malignidad).

En la tabla 5 se muestra el coeficiente de correlación de Spearman, en la cual se correlacionan los 4 casos de displasia epitelial y su correspondiente porcentaje de severidad, y su $r_s = .9$ Teniendo una significancia de $p = .05$, siendo directamente proporcional, ya que al aumentar el número de AgNORs aumentaba la severidad de la displasia.

Tabla 5 Coeficiente de correlación de Spearman.

Casos	X_i	Y_i	R_{X_i}	R_{Y_i}	d_i	d_i^2
FO 29298	12.03	0.5	4	3.5	0.5	0.25
FO 29398	8.01	0.5	3	3.5	-0.5	0.25
FO 29598	7.93	0.25	2	1.5	0.5	0.25
FO 29798	6.32	0.25	1	1.5	-0.5	0.25

Fórmula de Spearman

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum d_i^2}{n(n^2 - 1)} \quad r_s = 0.9$$

**Figura 7. Verruga vulgar teñida con H y E 40x, AgNORs 100x.
AgNORs 40x, H y E 100x.**

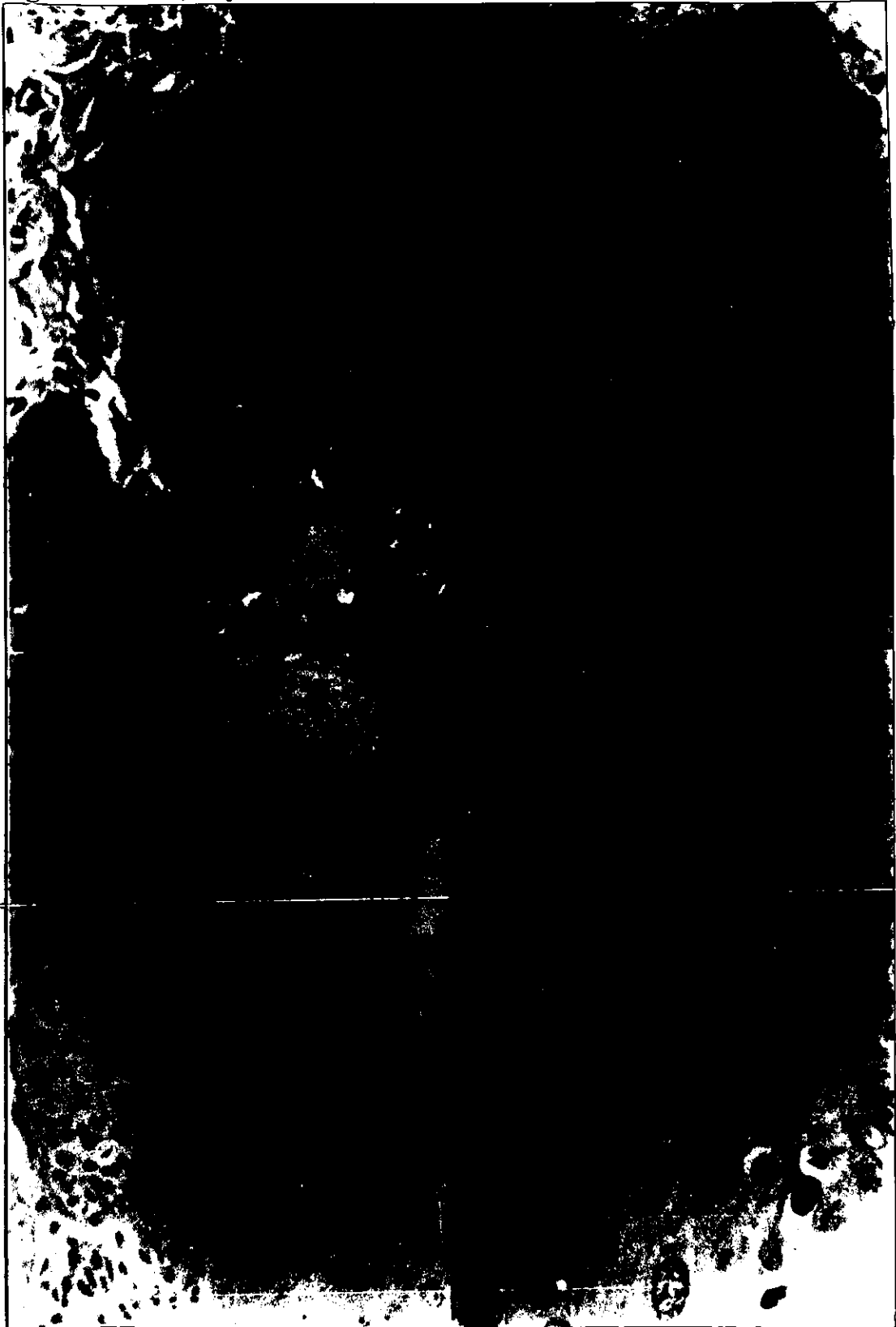
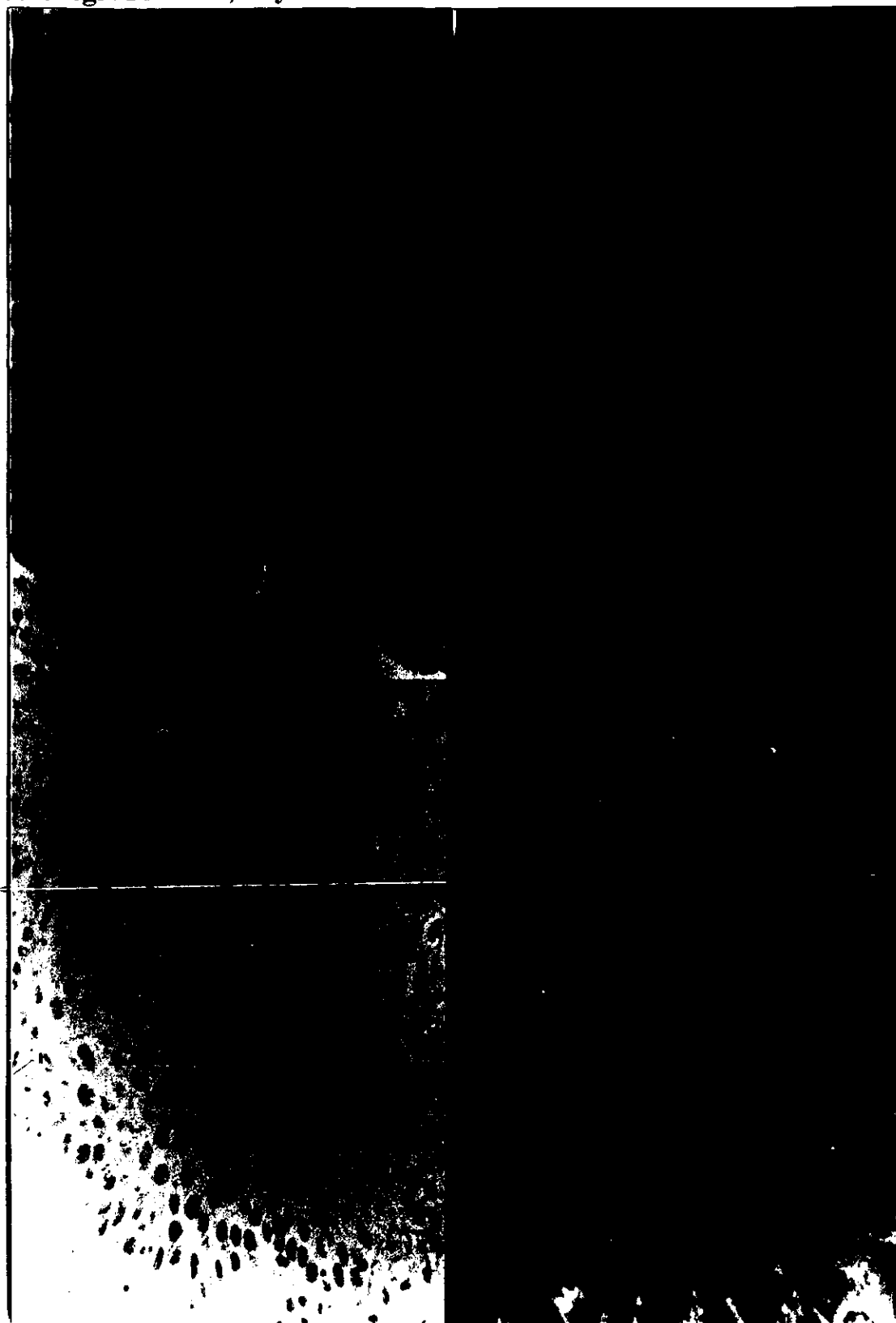
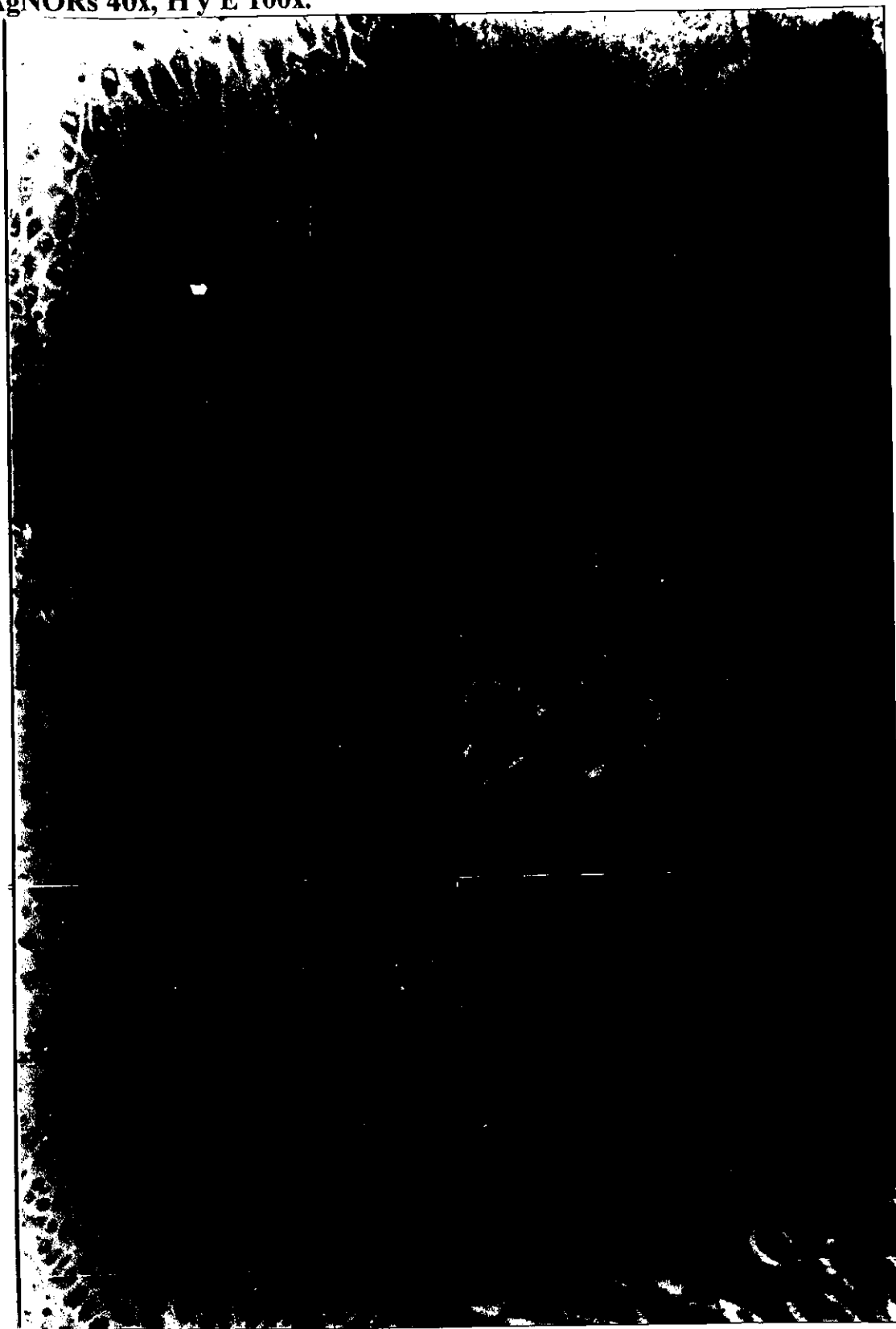


Figura 8. Queratosis friccional teñido con H y E 40x, AgNORs 100x. AgNORs 40x, H y E 100x.



ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

**Figura 9. Displasia epitelial teñida con H y E 40X, AgNORs 100X.
AgNORs 40x, H y E 100x.**



DISCUSIÓN.

El diagnóstico de displasia epitelial ha causado controversia entre los patólogos por la ambigüedad del criterio diagnóstico y diferencia de opinión acerca de la constitución de la displasia epitelial ¹⁷.

Ciertos estudios indican que el número de AgNORs refleja el grado de proliferación celular, activación y diferenciación. El conteo de éstos puede contribuir al diagnóstico si los cambios observados están asociados con el grado de transformación maligna.

Crossen y Goodwin ⁴³ en 1985 demostraron que las células neoplásicas no sólo tienen arreglo para los genes NOR sino también amplificación y en algunas células malignas los NORs pueden estar amplificados en relación con el aumento de tamaño de los mismos, se sabe que el tamaño de las zonas teñidas para NORs está en relación con su grado de transcripción, la importancia de la transcripción del gene RNAr por sí misma no es muy clara, sin embargo puede ser un indicador importante del tiempo de replicación de un tumor dado.

Arora ⁴⁷ indica que la tinción AgNOR es simple y puede ser usada como método para la estimación de la proliferación celular de un tumor, haciendo diferenciación del tejido blando normal del crecimiento proliferativo no neoplásico, benigno y tumores malignos de tejidos blandos

Xin Xie ⁴¹ menciona que cuando en la cuantificación de AgNORs se encuentra una cantidad mayor a 1, puede ser una herramienta útil para distinguir entre epitelio normal, de displasia y carcinoma de células escamosas de cavidad bucal.

Podría decirse que existen cambios cualitativos o cuantitativos predecibles en la interfase NOR-cromosoma; esos cambios están relacionados con un aumento de la actividad metabólica o proliferativa de la célula que se está transformando ⁴³.

La mayoría de las células en reposo poseen uno o dos nucléolos; estos últimos son visibles con microscopia de luz, empleando las tinciones convencionales para cortes histológicos de tejido incluido en parafina. Con el aumento ocular obtenido con un microscopio de luz, el nucléolo se identifica como una estructura eosinófila, sin embargo con el microscopio electrónico resalta su composición estructural ⁴³. En este estudio encontramos que la verruga vulgar, la queratosis friccional y la displasia epitelial mostraban ± 1.6

nucléolos promedio por célula, contrario a lo que esperábamos encontrar, ya que al ser la displasia una lesión premaligna esperábamos observar más nucléolos que en verruga vulgar y queratosis friccional que son dos lesiones benignas.

El análisis de AgNORs sugiere que el tabaco tiene influencia sobre la actividad proliferativa de las células de la mucosa bucal normal, ya que los fumadores presentaron en pruebas de citología exfoliativa un mayor número de AgNORs que los no fumadores ⁴⁸, en este trabajo no se valoró el hábito como posible factor.

El tamaño, número y la distribución de AgNOR ha sido analizado en tumores benignos y malignos, un decremento en el tamaño, un incremento en el número y una distribución irregular han sido reportadas en lesiones malignas contrario a las benignas, siendo propuesto como un marcador de la replicación celular ⁴³.

Chattopadhyay y cols ⁴⁹ demostraron que existe un incremento en el promedio de conteo de AgNOR en leucoplasias y carcinoma epidermoide de cavidad bucal comparado con el epitelio normal sugiriendo que entre más displásico es el epitelio la cantidad de AgNOR se incrementa y el tamaño de los puntos nucleolares decrece. El conteo de AgNORs que observó en epitelio normal fue 2.26 ± 0.324 , en leucoplasia 2.69 ± 0.494 y en carcinoma de células escamosas 3.48 ± 0.42 .

Warnakulasuriya y colaboradores ³⁴ observó que el número de AgNORs en carcinoma fue 8.37 ± 6.11 , displasia epitelial 5.61 ± 4.63 y queratosis 4.51 ± 2.57 ³⁴. Nosotros en nuestro estudio obtuvimos en la displasia epitelial 8 ± 2.12 y en queratosis 5.5 ± 1.16 , consideramos que esta diferencia de resultados puede deberse a el número de casos observados y/o a que la técnica de la tinción es diferente en cada uno de los trabajos revisados sobre los NORs.

Cabrini ⁴⁴ observó el número de AgNORs en mucosa bucal 2.95 ± 1.42 , papilloma 4.53 ± 2.37 y carcinoma de células escamosas 8.04 ± 2.44 . Nosotros en nuestro estudio obtuvimos 9 ± 2.24 en verruga vulgar, considerando que éste resultado contrario al observado por Cabrini se debe al número de casos observados y/o a la etiología viral de la lesión, ya que al estar alterado el DNA nuclear por la información viral agregada, también existe una mayor producción de RNAr con un número elevado de NORs.

Lo Muzio ⁵⁰ observó que valores elevados de AgNORs, en displasias moderadas y severas, podrían ser un signo de alarma de un pobre pronóstico, y una posible indicación de un estricto manejo y/o un fuerte tratamiento de algunas lesiones preneoplásicas asociadas a VPH severo.

Chartteje ⁵¹ cuantificó AgNORs en carcinomas de cavidad bucal con o sin infección de VPH. El número de AgNORs en las muestras VPH+ 7.15 ± 2.13 y las muestras VPH- 6.16 ± 1.89 . Significantes diferencias fueron observadas entre los conteos de carcinomas pobremente 10.5 ± 0.54 , moderadamente 7.31 ± 1.07 y bien 5.12 ± 0.85 diferenciados.

De acuerdo a los resultados obtenidos, podemos considerar que el número de regiones de organizadores nucleolares en displasia epitelial se correlaciona con un mal pronóstico de la enfermedad, ya que al aplicar el coeficiente de correlación de Spearman a la displasia epitelial con sus diferentes grados obtuvimos un $r_s = .9$; con un nivel de significancia de $p = .05$; por lo que los resultados fueron directamente proporcionales, ya que al aumentar el número de AgNORs aumentaba la severidad de la displasia. Es necesario unificar criterios en la realización de la técnica con la tinción de plata, ya que no se pueden obtener resultados lo más confiables posibles si no hay un estándar a seguir.

CONCLUSIONES.

La verruga vulgar presentó mayor número de Regiones de Organizadores Nucleolares que la displasia epitelial.

La displasia epitelial presentó mayor número de Regiones de Organizadores Nucleolares que la queratosis friccional.

No se esperaba que la verruga vulgar mostrara más AgNORs que la displasia epitelial.

Existe una correlación significativa entre el grado de diferenciación de las lesiones en estudio y la cuantificación de AgNORs, exceptuando a la verruga vulgar.

El número de AgNORs por célula es directamente proporcional a su capacidad proliferativa, exceptuando a la verruga vulgar. Por lo tanto consideramos necesario estudiar con más detalle este indicador de la proliferación celular en estudios prospectivos.

La técnica AgNOR nos proporciona un parámetro reproducible, accesible y comparable que se podría usar en forma rutinaria para predecir la conducta biológica de la queratosis friccional y displasia epitelial.

Consideramos de acuerdo a los resultados que la etiología viral de la verruga vulgar tiene relación con el número de AgNORs por célula encontrados en este estudio debido a las alteraciones nucleares que existen en esta lesión.

BIBLIOGRAFÍA.

- 1.- Ten Cate AR. Histología oral. 2ª ed. Editorial Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 1986, pp 431, 342, 437, 446, 445, 400, 402, 420, 404, 405, 407, 410, 413, 414, 428, 429, 430.
- 2.- Bhaskar N. Histología y embriología bucal de Orban. 9ª ed. Ed. El ateneo. Argentina. 1986, pp 289, 292, 298, 294, 293, 305, 313, 329, 233, 239.
- 3.- Sicher H. Histología y embriología bucal. 4ª ed. Ed. La prensa médica mexicana. México. 1981, pp 403, 212, 214, 211, 245, 248, 250, 252, 253, 254.
- 4.- Ross M. Histología, texto y atlas color. 3ª ed. Ed. Panamericana. México. 1997, pp 404, 61, 403, 404, 405, ñ49, 46, 50, 52, 51, 43, 47.
- 5.- Robbins CK. Patología estructural y funcional. Vol. I y II. 4ª ed. Ed. Interamericana Mc Graw Hill. Madrid, España. 1990, pp 247, 248, 251, 253, 254, 255, 256, 135, 1376-7, 862-4, 865, 35.
- 6.- Pindborg J. Cáncer y precáncer bucal. Ed. Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 1981, pp 29, 30.
- 7.- Burkhard A. Maerker R. A colour atlas of oral cancers: diagnosis and clasification of leukoplacions precancerous conditions and carcinomas. Year book medical publishers. Chicago, Illinois. 1985, pp 23,33.
- 8.- Arenas R. Dermatología, atlas, diagnóstico y tratamiento. Ed. Mc Graw Hill. México. 1987, pp 541-2, 609-10, 544.
- 9.- Shafer WG. Tratado de Patología bucal. 3ª ed. Ed. Interamericana. México. 1984, pp82, 84, 94, 95, 95.
- 10.- Manfred S. Knolle G. Diseases of the oral mucosa, a colour atlas. 2nd ed. Ed. Quintessence book. Chicago, Illinois. 1994, pp449, 233, 347, 345, 448.
- 11.- Regezi JA. Patología bucal. 2ª ed. Ed. Interamericana. México. 1996, 186-8, 103, 109, 110, 112.
- 12.- Verbov J. Consultant paediatric dermatologist, Alder hey children's hospital, Liverpool. Arch dis child. January. 1994. 80(1) 97-99.
- 13.- Craig MS. White DK. Human papilloma virus expresion in oral mucosa premalignant conditions and squamous cell carcinoma. Oral surg oral med, oral pathol, oral radiol, endod. 1996. 82: 57-68.
- 14.- Tyler MT. Ficarra G. Silverman S. Odam RB. Regezi JA. Malignant acanthosis nigricans with florid papillary oral. Oral surg, oral med, oral pathol, oral radiol, endod. 1996. 85: 445-9.

- 15.- Cawson RA. Oral pathology and diagnosis, atlas color with integrated text. Gower medical. New York. 1992, pp 394, 368.
- 16.- Bengel V. Loevy T. Differential diagnosis of diseases of the oral mucosa. Quintessence publishing. 1989 pp 77-8.
- 17.- Abbey LM. E George. Kaugars JC. Gursolley JC. Burns DG. Page JA. Svirsky E. Einsenberg E. Krutchkoff DJ. Intraexaminer and interexaminer reliability in the diagnosis of oral epithelial dysplasia. Oral surg, oral med, oral pathol, oral radiol, endod. 1995. 80: 188-91.
- 18.- Abbey LM. E. George. Kaugars JCV. Gursolley JC. Burns DG. Page JA. Svirsky E. Einsenberg E. Krutchkoff DJ. The effect of clinical information on the histopatologic diagnosis of the oral epithelial. Oral surg, oral med, oral pathol, oral radiol, endod. 1998. 85: 74-77.
- 19.- Ichiro O. Teruo A. Eiji F. Hidemi Y. Quantitative evaluation of consistency of normal mucosa, leucoplakia and squamous cell carcinoma of the tongue. Journal of cranio maxillofacial surgery. 1998. 26: 107-11.
- 20.- Lumerman H. Freedman P. Kerpel S. Flushing . Oral epithelial dysplasia and the development of invasive squamous cell carcinoma. Oral surg, oral med, oral pathol, oral radiol, endod. 1995. 79: 321-9-
- 21.- Saito T. Mizuno S. Notani K. Fukuda H. Kobayashi I. Schindoin M. Kongo T. Flow cytometric analysis of cell cycle fractions in oral leukoplakia. Journal oral maxillofacial surg. 27(3) June 1998. 217 –222.
- 22.- Silverman Sol Jr. Oral cancer. Ed. The american cancer society. USA. 1981, pp15-6.
- 23.- Schepman KP. Vander EH. Meijk LE. Smeele. Vander Waal I. Prevalence study of oral white lesions with special reference to a new definition of oral leucoplakia. Oral oncol Eur J cancer. Vol 32B. No. 6. 1996 416-419.
- 24.- Nielsen H. Norrild B. Vedtofte P. Praetorious F. Reibel J. Pholmstrup. HPV in oral premalignant lesions. Oral oncol, Eur J cancer. 1996. Vol 32 B No. 264-270.
- 25.- Jaber MA. Porter SR. Gilthorpe MS. Bedi R. Scully C. Risk factors for oral epithelial dysplasia- the role of smokers and alcohol. Oral oncology. 1999 35(2): 151-6.
- 26.- Bahar R. Kunish M. Kayado Y. Yoshiga K. CD44 variant 6 expression as a progression marker inn bening, premalignant and malignant oral epithelial tissues. International journal of oral and maxillofacial surgery. 26(6). 1997 443-6.
- 27.- Wood G. Diferential diagnosis of oral lesions. 4^a ed. Ed. Mosby year book. USA. 1995, pp 130-7

- 28.- Ville C. Solomon EP. Berg LR. Martin DW. *Biología de Ville*. 3ª ed. Ed. Interamericana McGraw Hill. México. 1996, pp 198, 336, 79, 81.
- 29.- Robertis EDP. Saenz FA. De Robertis EMF. *Biología celular*. 9ª ed. Ed. El ateneo. Argentina. 1978; pp19, 20, 22, 233.
- 30.- Karp G. *Biología celular*. 2ª ed. Ed. Mc Graw Hill. México 1987; pp 717, 723, 706, 707, 522, 564, 565.
- 31.- Flores FG. *Patología oncológica*. Ed. Interamericana Mc Graw Hill. México. 1997; pp 7.
- 32.- Ham A. *Tratado de histología*. 7ª ed. Ed. Interamericana. México. 1980; pp 555, 583, 33, 34.
- 33.- Pusztaí L. Lewis Ce. Yap E. Cell proliferatgion in cancer. *Regulatory mechanisms of neoplastic cell growth*. University press. Great Britain. 1996; 3,6,7,4.
- 34.- Warnakulasuriya K. Johnson N. Nucleolar organiser region (Nor) distribution as a diagnostic marker in oral keratosis, dysplasia and squamous cell carcinoma. *J oral pathol med*. 1993. 22: 77-81.
- 35.- Avers CJ . *Biología celular*. 2ª ed. Ed. Iberoamericana. México. 1991; pp 13, 533, 538, 539, 540, 553.
- 36.- Ramaesh Mendis BRRN. Ratnatunga N. Thattil RO. Cytomorphometric analysis of squames obtaines from normal oral mucosa and lesions of oral leukoplakia and squamous cell carcinoma. *J oral pathol med*. 1998. 27: 83-6.
- 37.- Peinado HMA. Pedrosa RJM. Ríos GA. *Biología celular*. 1ª ed. Jaen universidad, servicio de publicaciones e intercambio científico. 1994; pp 235- 239, 29, 26.
- 38.- Migaldi M. Criscuolo M. Zunarelli E. Lo Branco L. Martinelli AM. Barbolini G. P 120 and AgNOR nucleolar protein expression. *Oral surg, oral med, oral pathol, oral radiol, endod*. 1998. 85: 189-96.
- 39.- Derenzani M. Sirri V. Treere D. Nucleolar organizer regions in tumor cells. *The cancer journal*. 7(2): 1-10.
- 40.- Wolfe SL. *Biología de la célula*. Ed. Omega. España. 1977; pp 17, 215, 211, 367.
- 41.- Xie X. Frass COP. Subdo J. Boysen M. Diagnostic and pronostic value of nucleolar organizer regions in normal epithelium, dysplasia and squamous cell carcinoma of the oral cavity. *American cancer society*. 1997. 79: 2200-8.
- 42.- Rosa G. Pronostic evaluation of HPV associated precancerous and microinvasive carcinoma of the oral cavity: combined use of nucleolar

organiser regions (AgNOR) and proliferating cell nuclear antigen (PCNA). *Oral oncol, eur j cancer*. 1995. 31B (3): 174-80.

43.- Leyva HER, Flores G. Barrera R: Aldape BB. Regiones de organizadores nucleolares y examen por PCR de RNAr 18s en 19 casos de carcinoma epidermoide de cavidad bucal. Departamento de estudios de posgrado e investigación. Año 2. Núm. 7. Jul-Sept. 1998. 17-25.

44.- Cabrini RL. Schwint AE. Mendez A. Femopase F. Lanfranchini H. Itoiz ME. Morphometric study of nucleolar organizer regions in human oral normal mucosa, papilloma and squamous cell carcinoma. *J oral pathol med* . 1992. 21: 275-79.

45.- Schwint AE. Gómez E. Itoiz ME. Cabrini RL. Nucleolar organizer regions as markers of incipient cellular alterations in squamous epithelium. *J dent res*. 1993. 72(8): 1233-6.

46.- Schwint AE. Savino TM: Lanfranchini HE. Marschoff E. Cabrini RL. Itoiz ME. Nucleolar organizer regions in lining epithelium adjacent to squamous cell carcinoma or human oral mucosa. *Cancer*. June 1. 1994. 73(11): 2674-9.

47.- Arora HL. Arora N. Solanki RL. Argyrophilic nucleolar organizer regions in soft tissue tumors. *Indian journal of pathology and microbiology*. 39(4): 257-63, 1996 Oct. (Abstract)

48.- Sampaio H de C. Loyola AM. Gómez RS. Mesquita RA. AgNOR count in exfoliative cytology of normal buccal mucosa. Effect of smoking. *Acta cytologica*. 43(2):117-20, 1999 Mar-Apr.

49 Chatopadhyay A. Chawda JG. Doshi JJ. Silver binding nucleolar organizing region: a study of oral leukoplakia and squamous cell carcinoma. *Int j oral maxillofacial surg*. 1994. 23: 374-7.

50 Lo Muzio L. Mignogna MD. Staibano S. De Vico G. Salvatore G. Bucci E. Procaccini M: Mezza E. De Rosa G. Morphometric study of nucleolar organiser regions (AgNOR) in HPV associated precancerous lesions and microinvasive carcinoma of the oral cavity. *Oral oncology*. 33(4): 247-59, 1997 Jul. (Abstract)

51.- Chatterjee R. Mukhopadhyay D. Chakraborty RN. Mitra RB. Evaluation of argyrophilic nucleolar organizer regions (AgNORs) in oral carcinomas in relation to human papillomavirus infection and cytokinetics. *Journal of oral pathology and medicine*. 26(7): 310-4, 1997 Aug. (Abstract)

52.- Wayne WD. Estadística con aplicaciones de las ciencias sociales y a la educación. Editorial McGraw Hill Latinoamericana. Colombia. 1981.

ANEXO. Figuras 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Diseñadas por Ivonne Díaz Sierra.