



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES
UNIDAD LEÓN**

TÍTULO:

ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA HISTOLOGÍA DEL PALADAR EN
UN GRUPO DE 10 PACIENTES CON PALADAR HENDIDO EN EL
ESTADO DE GUANAJUATO

FORMA DE TITULACIÓN:

ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA

P R E S E N T A:

FUENTES ANDRADE JOSÉ VALENTE

TUTOR: COMF BENJAMÍN SÁNCHEZ TROCINO

ASESOR: COMF JACINTO ARMANDO DÍAZ ACEVEDO

LEÓN, GUANAJUATO. SEPTIEMBRE 2015.





Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

A mi mamá, Gabriela Andrade Baena, por su cariño, amor y apoyo incondicional.

Índice General

Agradecimientos	6
Resumen	7
Introducción	8
Capítulo 1.	
1.1 Desarrollo embrionario de la cabeza	9
1.2 Aparato faríngeo, cara y cuello	13
1.3 Embriología del paladar normal	19
1.4 Biología del desarrollo del paladar	20
1.5 Embriología e histología en la hendidura palatina	23
1.6 Anatomía del macizo facial, en las hendiduras labiales y palatinas	26
1.7 Histología del paladar hendido	28
1.8 Biología del paladar	30
1.9 Procesos del laboratorio para determinar la histología	31
1.10 Antecedentes	41
Capítulo 2.	
2.1 Planteamiento del problema	43
2.2 Justificación	43
2.3 Delimitación de la investigación	44
2.4 Objetivo General	44
2.5 Objetivos específicos	44
2.6 Pregunta de investigación	45
2.7 Hipótesis	45
Capítulo 3.	
3.1 <i>Metodología</i>	46
3.1.1 Diseño de la investigación	46
3.1.2 Selección de la muestra	46
3.1.3 Variables	46

3.1.4 Tamaño de la muestra	47
3.1.5 Procesamiento de las muestras	47
3.1.6 Recolección de datos	49
3.1.7 Análisis de resultados	49
3.1.8 Infraestructura	50
3.1.9 Recursos humanos	50
3.2 <i>Consideraciones éticas</i>	51
Capítulo 4.	
4.1 Resultados	52
4.2 Discusión	57
4.3 Conclusiones	58
4.4 Cronograma	59
4.5 Referencias bibliográficas	60

Agradecimientos

Quiero agradecer a mis maestros Mtra. Gabriela Vilar Pineda, Mtro. Benjamín Sánchez Trocino y Mtro. Jacinto Armando Díaz Acevedo por creer en este proyecto y poderme hacer parte de él. Por sus grandes enseñanzas a mi formación académica y por su constante apoyo.

Agradezco a la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León de la UNAM por permitirme llevar a cabo este sueño que empezó como una utopía. Al Mtro. Javier de la Fuente Hernández por todo lo que ha hecho para hacer de esta escuela mi segunda casa.

Quiero agradecer especialmente a mi familia que me motivaron a a seguir estudiando. En particular a mi madre por alentarme cada día a saltar cada obstáculo, ha sido un ejemplo de vida, trabajo y amor.

Agradezco a mis compañeros Mayra Acevedo Alejandrí, Yuliana del Águila Cabrera y a Yosef González de la Rosa por vivir este proyecto juntos y por el trabajo arduo que realizamos.

Agradecimiento especial por su apoyo a:

El Mtro. Fernando Tenorio, a la Esp. Karla Mayela Avelar Juárez, a la Esp. Ana Lilia Guerra y a la Esp. Nancy Pérez Cornejo.

Resumen

El Labio y Paladar Hendido (LPH) es la anomalía congénita que ocurre con más frecuencia en la región de cabeza y cuello, en México se estima que ocurre en 1 de cada 750 nacimiento. En el estado de Guanajuato, se ha calculado que ocurren 14.6 casos por cada 10000 nacimientos. La ENES-León, desde el mes de mayo de 2013 ha creado un Programa para la Atención Integral de Pacientes con LPH asumiendo una gran responsabilidad que contribuye al desarrollo integral de los pacientes.

El Objetivo de esta investigación fue describir las características histológicas de la mucosa palatina adyacente a la hendidura palatina en un grupo de 10 pacientes con PH que pertenecen al programa “TiENES que sonreír, UNAMos esfuerzos”.

El diseño de la investigación es un análisis descriptivo, la cual tuvo una muestra por conveniencia de diez pacientes con diagnóstico de PH, que presenten dehiscencia de la herida de palatoplastia, a los cuales se les tomo una muestra de tejido cerca de la hendidura palatina durante la intervención quirúrgica. Estas muestras se procesaron para observarlas y poder describirlas al microscopio.

El estudio realizado nos permitió identificar y describir la atrofia del epitelio en los tejidos adyacentes a la hendidura palatina como una respuesta a la cicatrización de las heridas y la manipulación continúa de estos tejidos. Con respecto a los hallazgos observados en el tejido conjuntivo podemos mencionar que la hialinización de los tejidos, el tipo y grado de infiltrado inflamatorio, la vascularización de las muestras y algunos otros hallazgos observados en los tejidos.

Palabras Clave:

Epitelio; Tejido Conectivo; Vascularización; Colonias Bacterianas; Hialinización.

Introducción

En mayo del año 2013 se comenzó a brindar atención a pacientes con Labio y paladar Hendido (LPH) del Estado de Guanajuato en la Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León (ENES-León) de la Universidad Nacional Autónoma de México a través del programa “TiENES que sonreír, UNAMos esfuerzos”.

Durante el tratamiento integral que se les brinda a estos pacientes se ha observado frecuentemente el fenómeno de que existe dehiscencia de la herida del paladar en pacientes que han sido intervenidos de palatoplastía. El análisis del fenómeno previamente expuesto nos ha llevado a plantear que pudiera existir alguna alteración estructural de los tejidos de la mucosa palatina en este grupo de pacientes con paladar hendido (PH).

El objetivo de este análisis descriptivo es describir las características histológicas de la mucosa palatina adyacente a la hendidura palatina en un grupo de 10 pacientes con PH que pertenecen al programa “TiENES que sonreír, UNAMos esfuerzos”.



CAPITULO 1.

Marco teórico

1.1 Desarrollo embrionario de la cabeza

La formación y desarrollo de la cabeza comprende dos porciones.

Porción neurocraneana: Morfológicamente es la más visible del embrión y a partir de ella se formarán las estructuras óseas o de sostén (calota craneal), el sistema nervioso cefálico, los ojos, los oídos y la porción nerviosa de los órganos olfatorios (Gómez de Ferraris, 2010).

Porción visceral: Visible en la etapa fetal y postnatal, dará origen a la porción inicial de los aparatos digestivo (la boca o cavidad bucal y sus anexos), respiratorio (la nariz y las fosas nasales), las estructuras faciales, que se forman a partir de los arcos branquiales (originados, a su vez, de la faringe primitiva) con sus tejidos duros y blandos (Gómez de Ferraris, 2010).



Fig 1. Vista lateral de un embrión aproximadamente 32 días (Moore, 2008)

La porción neurocraneana es más precoz y muy visible en la etapa embrionaria, mientras que la visceral se desarrolla y crece más rápidamente en la etapa fetal y postnatal (Gómez de Ferraris, 2010).

1.1.1 Porción neurocraneana

Formación del tubo neural medular y encefálico

El origen y desarrollo del tubo neural presenta al comienzo de su organización tres vesículas y dos curvaturas en su extremo cefálico:

Las vesículas:

- a) prosencefálica, cerebro anterior.
- b) mesencefálica, cerebro medio.
- c) rombencefálica, cerebro posterior.

Las curvaturas:

- a) cefálica (a nivel del cerebro medio)
- b) cervical (entre el cerebro posterior y la médula espinal) (Gómez de Ferraris, 2010).

Al progresar el desarrollo, en embriones de cinco semanas las vesículas prosencefálica y rombencefálica se dividen en dos; de modo que, a partir de ese momento, el encéfalo está compuesto por cinco vesículas: a) telencefálica y diencefálica (derivadas de la prosencefálica); b) mesencefálica y c) metencefálica y mielencefálica (derivadas de la rombencefálica), separadas entre sí por la aparición de una nueva curvatura, denominada curvatura del puente o protuberancia (Gómez de Ferraris, 2010).

La luz del tubo medular (futura médula espinal) denominada conducto central o del epéndimo se continúa con la de las distintas vesículas encefálicas que está organizando los futuros ventrículos laterales derecho e izquierdo (luz de las vesículas telencefálicas), III ventrículo (luz de la vesícula diencefálica), acueducto de Silvio (angosta luz de la vesícula mesencefálica) y IV ventrículo (luz de la vesícula rombencefálica). La regulación molecular

del desarrollo está en relación con el sistema de señalización Sonic hedgehog (Shh), secretado por la placa precordial y notocorda que ventraliza las áreas del tubo neural medular y de los cerebros anterior y medio y las proteínas BMP-4 y BMP-7, secretadas por el ectodermo no neural que son las que inducen y mantienen la expresión de genes que producen dorsalización. Algunas células neuroectodérmicas que se encuentran en los bordes laterales del canal neural no se incorporan a la pared del tubo neural y forman las crestas neurales que originan entre otras estructuras, la mayor parte del sistema nervioso periférico. Éste, está constituido por los ganglios y nervios craneales, raquídeos y autónomos a través de los cuales el sistema nervioso central (SNC) se relaciona con los demás sistemas orgánicos. El sistema nervioso autónomo (SNA) a su vez deriva de las células de las crestas neurales llamadas simpatogonias, células que emigran lateralmente con respecto a la notocorda y forman la cadena ganglionar simpática y parasimpática en el transcurso de la quinta semana de vida intrauterina (VIU). A expensas de estas células, se forma también la porción medular de las glándulas suprarrenales (glándulas de secreción interna) (Gómez de Ferraris, 2010).

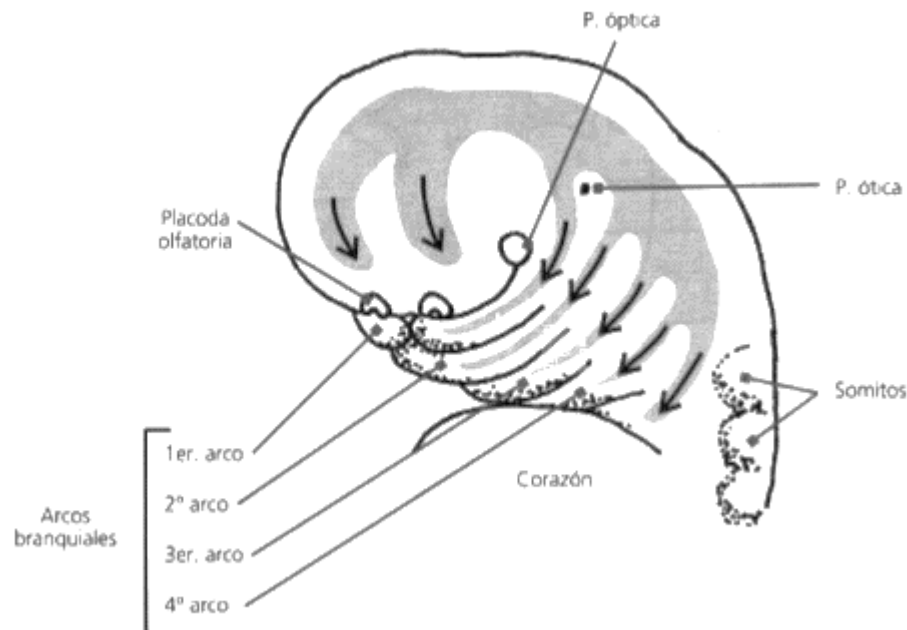


Fig 2. Migración de las células de las crestas neurales en las regiones cefálica y cervical, embrión de 25 días (Gómez de Ferraris, 2010).

1.1.2 Porción Visceral

Formación del macizo facial

En este participan 5 procesos ubicados alrededor de la boca primitiva. Los procesos pares corresponden a las prominencias maxilares y mandibulares y el proceso impar es el proceso frontonasal medio. Algunos autores incluyen además dos procesos más a la cara que son los dos procesos nasales laterales. Para constituir el macizo facial los procesos se fusionan entre sí.

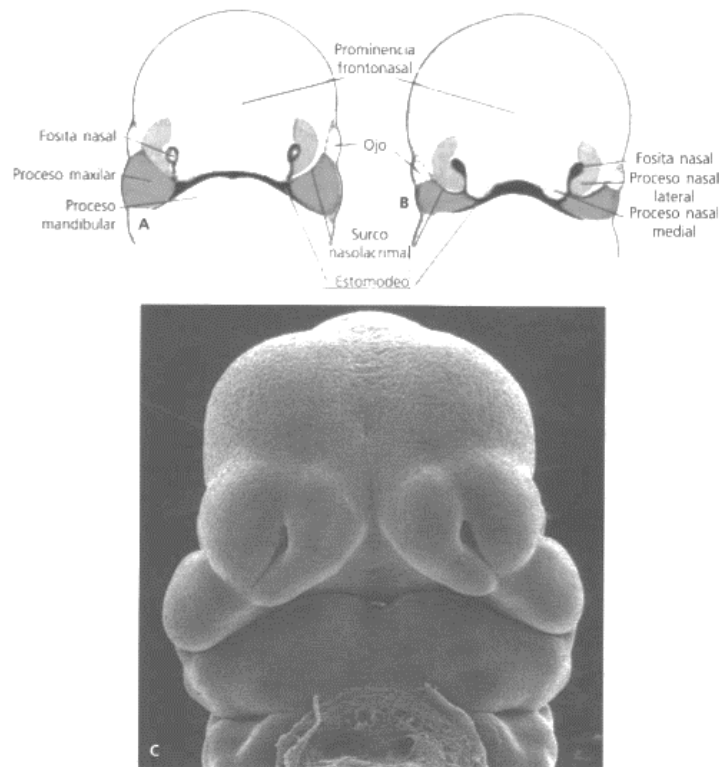


Fig 3. Aspecto de la cara vista de frente. A. Embrión de 5 semanas. B. Embrión de 6 semanas. Los procesos nasales se separan gradualmente del proceso maxilar por medio de surcos pequeños. C. Micrografía electrónica de barrido de un embrión de ratón (Gómez de Ferraris, 2010).

La fusión de los diferentes procesos puede realizarse a través de dos mecanismos:

- a) La fusión aparente o consolidación remodeladora
- b) La fusión real o mesodermización.

La **fusión aparente** es consecuencia de que los procesos faciales crecen de modo desigual. Los surcos existentes no existen como tal, sino que representan áreas de

menor crecimiento con respecto a las estructuras vecinas. Cuando las áreas deprimidas crecen y alcanzan el mismo nivel que sus bordes (nivelación) se dice que existe una consolidación remodeladora (Gómez de Ferraris, 2010).

La **fusión real o mesodermización**, consiste en la unión simultánea del mesénquima de procesos que se han desarrollado previamente de forma independiente, para que los epitelios se aproximen entre sí primero y luego se desintegren, para que finalmente el mesénquima de un mamelón se funda con el otro. Simultáneamente se produce la reepitelización superficial quedando así constituido un único mamelón (Gómez de Ferraris, 2010).

1.2 Aparato faríngeo, cara y cuello

El aparato faríngeo está constituido por los arcos, bolsas, surcos y membranas faríngeas la cuales contribuirán a la formación de la cara y el cuello (Moore, 2013).

Arcos faríngeos

Los arcos faríngeos comienzan a desarrollarse en la cuarta semana de VIU cuando las cepas de la cresta neural migran hacia las futuras regiones de la cabeza y cuello. El sistema de señalización Sonic hedgehog (Shh) desempeña una función importante en la formación de los primeros arcos faríngeos (Moore, 2013).

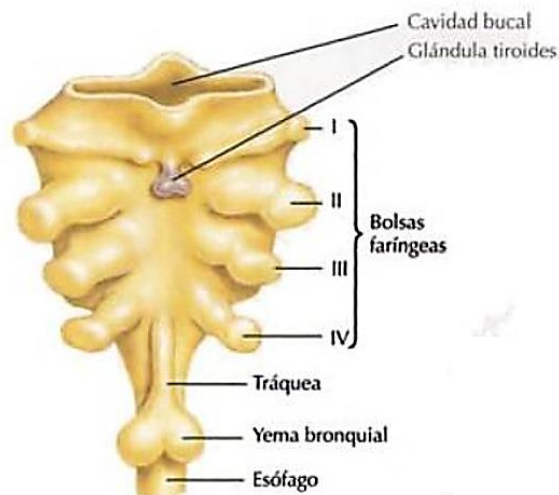


Fig 4. Representación de las bolsas faríngeas (Norton, 2008).

Primer arco faríngeo

El primer par de arcos faríngeos, el primordio de la mandíbula, aparece como unas elevaciones superficiales en la zona lateral de la faringe en desarrollo. Al poco tiempo, a cada lado de las regiones de la futura cabeza y cuello aparecen otros arcos en forma de crestas redondeadas que se disponen oblicuamente. Hacia el final de la cuarta semana de VIU se pueden ver cuatro pares de arcos faríngeos. Los arcos quinto y sexto son rudimentarios y no son visibles en la superficie del embrión, los arcos faríngeos están separados unos de otros por los surcos (hendiduras) faríngeas. Tal como ocurre con los arcos, los surcos se enumeran en una secuencia craneocaudal. El primer arco faríngeo se divide en dos prominencias, la maxilar, la cual da lugar al maxilar, el hueso cigomático y una porción del vómer y, la mandibular, que forma la mandíbula y la porción escamosa del hueso temporal (Moore, 2013).

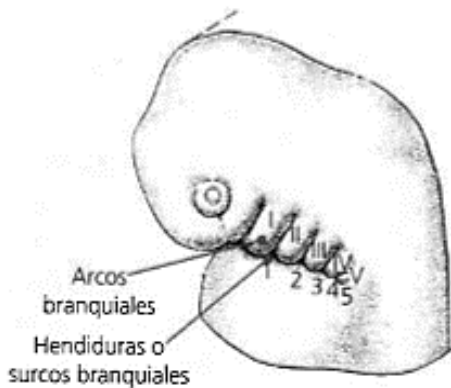


Fig 5. Arcos braquiales de un embrión al comienzo de la quinta semana (Gómez de Ferraris, 2010).

Segundo arco faríngeo (arco hioides)

Contribuye a la formación del hueso hioides junto con diversas partes de los arcos tercero y cuarto. Los arcos faríngeos sostienen las paredes laterales de la faringe primitiva que deriva de la parte craneal del intestino primitivo anterior. La boca primitiva aparece inicialmente como una ligera depresión en el ectodermo de superficie. Éste, está separado de la cavidad de la faringe primitiva por una membrana orofaríngea, constituida por ectodermo en su parte externa y por endodermo por su parte interna. La membrana orofaríngea se rompe hacia los 26 días de VIU poniendo en comunicación la faringe y el intestino primitivo anterior a la cavidad amniótica. El revestimiento ectodérmico del primer arco da lugar al epitelio oral (Moore, 2013).

Componentes de los arcos faríngeos

Cada arco está formado por un núcleo de mesénquima revestido externamente por ectodermo e internamente por endodermo. Este mesénquima se origina a partir del mesodermo durante la tercera semana de VIU. A lo largo de la cuarta semana de VIU la mayor parte del mesénquima procede de las células de la cresta neural que migran hacia los arcos faríngeos. Es precisamente la migración de las células de la cresta neural hacia los arcos y su diferenciación hacia la formación de mesénquima lo que origina las prominencias maxilar y mandibular además de todo el tejido conjuntivo incluyendo la dermis y el músculo liso (Moore, 2013).

La migración de las células de la cresta neural del mesodermo miogénico de las regiones paraaxiales penetra en cada uno de los arcos faríngeos formando el núcleo central del primordio muscular. Las células endoteliales de los arcos proceden del mesodermo lateral y de los angioblastos invasivos que se desplazan hacia el interior de los arcos. El endodermo faríngeo desempeña una función esencial en la regulación del desarrollo de los arcos faríngeos (Moore, 2013).

Un arco faríngeo consta de:

- Una arteria que se origina a partir del tronco arterioso del corazón primitivo y que rodea la faringe primitiva hasta alcanzar la aorta dorsal.
- Un vástago cartilaginoso que forma el esqueleto de un arco.
- Un componente muscular del que se forman los músculos de la cabeza y cuello.
- Nervios sensitivos y motores que inervan la mucosa y los músculos derivados del arco.

Destino de los arcos faríngeos

Estos contribuyen en gran medida a la formación de la cara, las cavidades nasales, la boca, la laringe y el cuello. Durante la quinta semana de VIU, el segundo arco faríngeo aumenta de tamaño y llega a cubrir los arcos tercero y cuarto formando una depresión endodérmica llamada seno cervical. Hacia el final de la semana 5 de VIU, las hendiduras faríngeas segunda cuarta y el seno cervical han desaparecido con lo que el cuello presenta un contorno liso (Moore, 2013).

Derivados de los cartílagos de los arcos faríngeos

El extremo dorsal del primer arco faríngeo es el cartílago de Meckel. Durante las fases iniciales del desarrollo, se desprenden de la parte proximal de este cartílago pequeños nódulos que forman dos de los huesos del oído medio, el martillo y el yunque. La parte media del cartílago regresa, pero su pericardio forma el ligamento anterior del martillo y el ligamento esfenomandibular. Las porciones ventrales de los cartílagos del primer arco constituyen al primordio de la mandíbula con forma de herradura y al mantener el mismo ritmo de crecimiento, lo guían en su morfogénesis inicial. Cada mitad de la mandíbula se forma en situación lateral a su cartílago y en estrecha asociación con éste. El cartílago desaparece a medida que la mandíbula se desarrolla a su alrededor, debido a un proceso de osificación intramembranosa. La morfogénesis de la mandíbula está regulada por múltiples sistemas señalizadores como lo son: la expresión de los genes homeobox (BMP, Prx1 y Prx2) y de Factores de Crecimiento de Fibroblasto (FGF, fibroblast growth factors) (Moore, 2013).

Un rudimento cartilaginoso independiente (primordio) situado cerca del extremo dorsal del cartílago del segundo arco faríngeo (cartílago de Reichert), está relacionado con el oído en desarrollo. Su osificación da lugar a la formación del estribo del oído medio y de la apófisis estiloides del hueso temporal. La parte del cartílago situada entre la apófisis estiloides y el hueso hioides regresa, pero su pericondrio (membrana de tejido conjuntivo) forma el ligamento estilohioideo. El extremo ventral del cartílago del segundo arco se osifica formando el asta menor y una parte del cuerpo del hueso hioides (Moore, 2013).

El cartílago del tercer arco faríngeo, localizado en la porción ventral de este último, se osifica para formar el asta mayor y la parte inferior del cuerpo del hueso hioides. Los cartílagos de los arcos faríngeos cuarto y sexto se fusionan formando los cartílagos laríngeos, salvo la epiglotis. El cartílago de la epiglotis se desarrolla a partir del mesénquima de la eminencia hipofaríngea, una prominencia del suelo de la faringe embrionaria que procede del tercer y cuarto arco faríngeo. El quinto arco faríngeo si existe es rudimentario y no origina ninguna estructura (Moore, 2013).

Derivados de los músculos de los arcos faríngeos

Los componentes musculares de los arcos procedentes del mesodermo paraaxial no segmentado y de la placa precordial forman diversos músculos de la cabeza y cuello. La musculatura del primer arco faríngeo forma, entre otros músculos, los de la masticación, la musculatura del segundo arco faríngeo forma los músculos estapedio, estilohioideo, vientre posterior del digástrico, los músculos auriculares y los músculos de la expresión facial. La musculatura del tercer arco faríngeo forma el músculo estilofaríngeo. La musculatura del cuarto arco faríngeo forma los músculos cricotiroideo, elevador del velo del paladar y constrictor de la faringe. Por último, la musculatura del sexto arco faríngeo forma los músculos intrínsecos de la laringe (Moore, 2013).

Derivados de los nervios de los arcos faríngeos

Cada arco está inervado por su propio par craneal. Dado que el mesénquima procedente de los arcos faríngeos contribuye a la formación de la dermis y de las mucosas de la cabeza y el cuello, estas áreas están inervadas por nervios aferentes viscerales especiales. La piel facial está inervada por el V par craneal, el nervio trigémino. Este es el principal nervio sensitivo de cabeza y cuello, además de ser nervio motor de los músculos de la masticación. Sus ramas sensitivas inervan la cara, los dientes y las mucosas de las cavidades nasales, el paladar, la boca y la lengua. Los pares craneales VII, IX y X inervan el segundo y tercer arco faríngeo, así como el caudal (cuarto y sexto). El cuarto arco faríngeo está inervado por la rama laríngea superior del nervio vago y por su rama laríngea recurrente. La distribución cutánea de los nervios de los arcos faríngeos segundo a sexto es escasa, pero inervan las mucosas de la lengua, la faringe y la laringe (Moore, 2013).

Bolsas faríngeas

La faringe primitiva, deriva del intestino primitivo anterior. Se amplía en sentido craneal donde se une con la boca primitiva y se estrecha en sentido caudal para unirse con el esófago. El endodermo de la faringe reviste las porciones internas de los arcos faríngeos y se introduce en las bolsas faríngeas. Estas se desarrollan entre los arcos en una

secuencia craneocaudal. El revestimiento epitelial endodérmico de las bolsas faríngeas origina órganos importantes de la cabeza y cuello (Moore, 2013).

Primera bolsa faríngea

Se expande formando el tubo timpánico. La porción distal de esta, hace contacto con la primera hendidura faríngea y más adelante contribuye a la formación de la membrana timpánica. La cavidad de dicho tubo se convierte en la cavidad timpánica y en el antro mastoideo. Cuando este tubo hace conexión con la faringe, este se alarga y forma la trompa auditiva (Moore, 2013).

Segunda bolsa faríngea

Parte de la cavidad de esta bolsa faríngea forma el seno amigdalario, cuyas partes centrales se fragmentan formando las criptas amigdalares (Moore, 2013).

Tercera bolsa faríngea

Se expande y desarrolla una parte bulbar dorsal sólida y una parte hueca ventral y alargada. En esta tercera bolsa se forma el timo y las glándulas paratiroides inferiores (Moore, 2013).

Cuarta bolsa faríngea

Hacia la sexta semana de VIU se forman las glándulas paratiroides superiores derivadas de esta cuarta bolsa faríngea (Moore, 2013).

1.3 Embriología del paladar normal

El paladar es la estructura que separa las cavidades nasales y de la bucal. Se desarrolla de una parte medial anterior y dos procesos palatinos laterales. A la parte medial anterior se le conoce como paladar primario y constituye el suelo de las fosas nasales. En cambio los procesos palatinos laterales se desarrollan lateralmente a partir de las estructuras maxilares y crecen hacia la línea media. Más tarde estos limitan la cavidad bucal desde la cavidad nasal en sentido posterior hasta la nasofaringe. Cuando los procesos palatinos contactan con la lengua descienden hacia ambos lados de la lengua (Murray and Schuttle, 2004).

Elevación y cierre de los procesos palatinos

En sus límites posteriores la lengua está por debajo de los procesos palatinos durante la octava semana de VIU, las porciones posteriores de los procesos palatinos presionan conjuntamente empujando la lengua hacia abajo y hacia adelante. Esta acción provoca que los procesos palatinos se deslicen por encima de la lengua. A este fenómeno se le conoce como elevación de los procesos palatinos. Los procesos presentan un crecimiento hasta que contactan en la línea media llamada fusión de los procesos palatinos como se muestra en la figura 5. El primer punto de contacto es justamente posterior al proceso palatino medial anterior, desde este punto de contacto inicial, los procesos se fusionan anterior y posteriormente (Avery and Chiego, 2007).

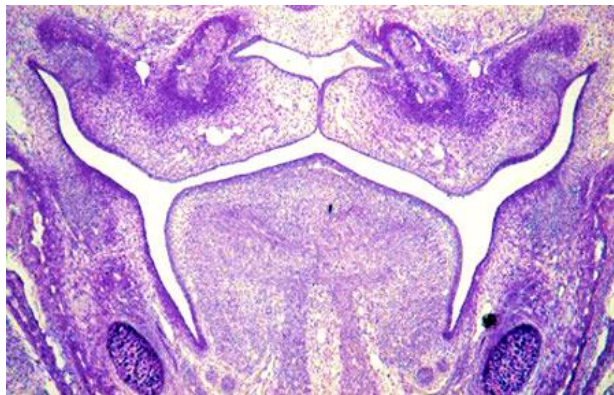


Fig 6. Fotomicrografía donde se observa el cierre de los procesos palatinos (Montenegro M and Rosas M, 2005).

1.4 Biología del desarrollo del Paladar

La génesis del paladar se inicia en la sexta semana y termina hasta la doceava semana. Este se desarrolla en dos fases: Paladar primario y paladar secundario.

Paladar primario: Comienza en la sexta semana de VIU, inicialmente este segmento formado por la fusión de las prominencias nasales mediales, es una masa de mesénquima en forma de cuña que se localiza entre las superficies internas de las prominencias maxilares que están en desarrollo. Forma la parte anterior y la línea media del maxilar y la premaxila (Moore and Persaud, 2013).

En relación con la formación del paladar primario los procesos nasales medios se unen no solo en su superficie sino también en profundidad y surge así una estructura embrionaria especial el segmento intermaxilar que está constituida por 3 componentes:

- *Componente labial:* forma la parte media o filtrum del labio superior.
- *Componente maxilar:* comprende la zona anterior del maxilar, los cuatro incisivos superiores y su mucosa.
- *Componente palatino:* es de forma triangular con el vértice dirigido hacia atrás y da origen al paladar primario.

El segmento intermaxilar se continúa en dirección craneal para unirse al tabique nasal que proviene de la eminencia frontal y que se forma a partir de la sexta semana de VIU (Gómez de Ferraris, 2010).

Paladar secundario: Es el primordio de las partes duras y blandas del paladar. Se desarrolla durante la sexta semana de VIU a partir de dos proyecciones mesenquimales que se extienden desde las partes internas de los procesos maxilares. Inicialmente los procesos palatinos se proyectan en dirección inferior y medial a cada lado de la lengua. A medida que los maxilares y la mandíbula se alargan, empujan a la lengua hacia abajo y esto hace que se aleje respecto a su raíz. Este fenómeno propicia que la lengua quede en una posición más inferior en la boca. Durante la séptima y octava semana de VIU, los

procesos palatinos asumen una posición horizontal por encima de la lengua. Este cambio de orientación se produce como consecuencia de un proceso de desplazamiento intrínseco facilitado parcialmente por la presencia de *ácido hialurónico* en el mesénquima de los procesos palatinos (Moore and Persaud, 2013).

En el paladar primario se desarrolla gradualmente tejido óseo con la formación de la premaxila en la que al final quedarán alojados los dientes incisivos. Al mismo tiempo, el hueso se extiende desde el maxilar hacia los procesos palatinos formando el paladar duro. Las partes posteriores de estos procesos no muestran osificación. Se extienden en dirección posterior hasta más allá del tabique nasal y se fusionan formando el paladar blando incluyendo su proyección cónica blanda de la línea media, la úvula (Moore and Persaud, 2013).

El rafe palatino medio indica la línea de fusión de los procesos palatinos. Un pequeño canal nasopalatino o agujero incisivo que comunica la cavidad nasal con la cavidad bucal persiste en el plano medio del paladar entre la parte anterior del maxilar y los procesos palatinos de este mismo a la altura de la fusión del proceso maxilar anterior y el resto del paladar (Moore and Persaud, 2013).

El tabique nasal se desarrolla en forma de un crecimiento en dirección inferior de las partes internas de las prominencias nasales mediales fusionadas. La fusión anterior del tabique nasal y los procesos palatinos comienza en la novena semana de VIU y finaliza en con su parte posterior hacia la doceava semana de VIU, por encima del primordio del paladar duro (Moore and Persaud, 2013).

El mecanismo de la palatogenesis que produce la elevación de las crestas palatinas es muy complejo y aún no está bien dilucidado. Se postula que en el sector anterior se producirían movimientos de rotación mientras que la región posterior se formaría mediante una remodelación por elementos contráctiles. Así mismo, se han propuesto transformaciones bioquímicas en la que la matriz del tejido conectivo de los procesos, variaciones en su vascularización, incrementos de la turgencia del tejido, elevado índice

mitótico y movimientos musculares asociados podrían estar implicados (Gómez de Ferraris, 2010).

Los mecanismos de elevación, horizontalización y fusión posterior, involucran una serie de movimientos (descenso y ascenso), modificaciones estructurales, crecimiento y fusión posterior. El interés y la importancia de las numerosas investigaciones, reside en que *una falla a nivel de algunos de los mecanismos intervinientes en la palatogenesis conlleva a una malformación conocida como hendidura palatina* (Gómez de Ferraris, 2010).

Para que se produzca la fusión de las láminas palatinas laterales, el epitelio de los bordes experimenta modificaciones, como pérdida de células y producción de glicoproteínas extracelulares que favorecen la adherencia de los bordes de las crestas entre sí y con el borde inferior del tabique nasal. Parte de los epitelios se desintegran y son reemplazados por mesénquima, a veces pueden quedar incluidos restos de células epiteliales a lo largo de la línea de fusión originando posteriormente quistes (Gómez de Ferraris, 2010).

A la décima semana de VIU, el paladar secundario se fusiona con el paladar primario. Como vestigio de esta unión queda el agujero incisivo o palatino anterior. Estas estructuras se unen hacia arriba con el tabique nasal formando el piso de las fosas nasales dando lugar a la fosa nasal derecha e izquierda. Previamente, en las paredes laterales de las fosas nasales se forman repliegues que constituirán los cornetes superiores medio e inferior (Gómez de Ferraris, 2010).

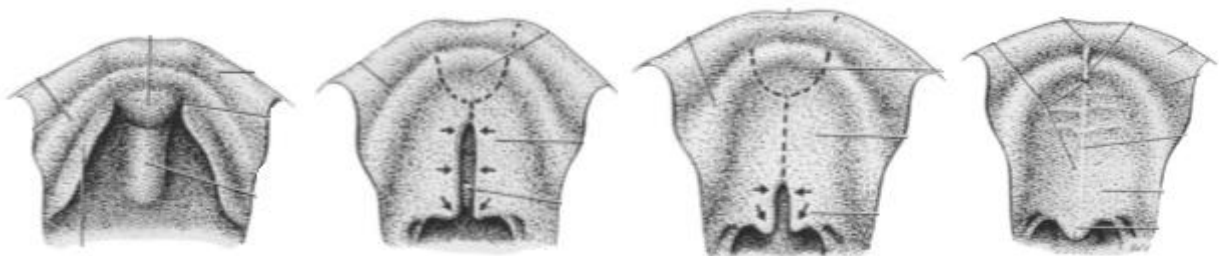


Fig 7. Desarrollo embrionario del paladar secundario (Oneida y cols, 2007).

1.5 Embriología e histología en la hendidura palatina

El desarrollo del Paladar Hendido (PH) implica una serie compleja de eventos integrados que están perturbados con frecuencia, lo que resulta en una malformación congénita. Esta condición tiene una incidencia según el origen geográfico, variación racial y étnico, y la situación socioeconómica (Murray, 1997) (Vanderas, 1987).

En aproximadamente el 50% de los casos, el PH se presenta como un hecho aislado o entidad aislada; el resto surgen como parte de un síndrome en el que otras estructuras al igual que el paladar se ven afectadas (Jones, 1988).

El defecto de nacimiento, paladar hendido aparece como una falla en múltiples procesos en el desarrollo del paladar. Estos procesos incluyen crecimiento dentro de los procesos palatinos, elevación y fusión de los mismos y una desaparición de la sutura media del epitelio del paladar al fusionar con una migración y diferenciación de células mesenquimales (Ferguson et al, 1984) (Ferguson, 1988) (Ferguson, 1994).

Mecanismos moleculares que subyacen a estos acontecimientos están siendo dilucidados para entender la aparición de paladar hendido y resultados probables de defectos de múltiples genes. Investigaciones recientes que utilizan ratones transgénicos han dado lugar a la producción de paladar hendido y por lo tanto la implicación de un número de genes en el desarrollo del paladar, incluyendo citoquinas y sus receptores (Taya et al, 1999) (Miettinen et al, 1999).

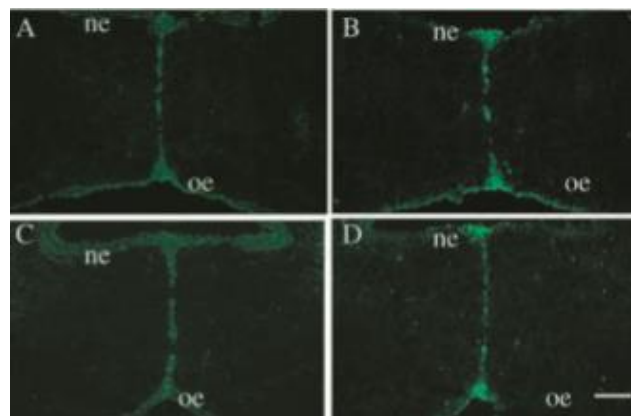


Fig 8. Inmunohistoquímica con marcadores para identificar citoquinas en paladar de ratón (Taya et al, 1999).

La embriogénesis es un proceso balanceado complicado y delicado; alteraciones en las funciones pueden producir defectos congénitos. Los factores genéticos, ambientales y teratogénicos han sido considerados para la aparición de Labio y Paladar Hendido (LPH) (Nancy, 2013).

Los factores ambientales que afectan el proceso embriológico pueden ser clasificados en 5 grupos: (1) agentes infecciosos, (2) radiación por rayos X, (3) toxicomanías, (4) hormonas, y (5) deficiencias nutricionales (Nancy, 2013).

El tiempo de exposición a los factores ambientales cuando tienen contacto con el feto puede llegar a ser crítico. Si un efecto teratogénico ejerce su acción durante las primeras 4 semanas de VIU, cuando el embrión se está desarrollando rápidamente, usualmente llega a dañar muchas células lo que, por consecuencia, ocurre la muerte del embrión. Sin embargo, Si solo algunas células son dañadas, la proliferación normal de células puede llegar a reparar el daño causado. Se cree que algunos agentes teratogénicos que actúan durante la cuarta y octava semana de VIU, cuando la histodiferenciación toma lugar, producen malformación (Fitchett and Hay, 1989) (Nancy, 2013).

La etiología de la hendidura del paladar es compleja, tanto con los factores genéticos como ambientales implicados. Las mutaciones en el gen de transcripción codificador p63 y el interferón factor regulador 6 (IRF6) individualmente han sido identificados como causas de la hendidura palatina; sin embargo, no se ha determinado una relación entre estos dos factores reguladores (Thomason et al, 2010).

La base genética de hendidura no sindrómica es compleja, ya que las variaciones en numerosos genes, junto con los factores ambientales, se sabe que desempeñan un papel en su etiología (Murray, 2002) (Mossey, et al, 2009).

Las malformaciones que se pueden incluir son: diferentes tipos de hendiduras (hendidura oblicua nasal, labio y paladar hendido unilateral o bilateral, hendidura mandibular o displasia frontonasal) (Nancy, 2013).

En ocasiones cuando las hendiduras de labio o premaxila ocurren, la distorsión del desarrollo facial previene que las crestas palatinas hagan contacto cuando ellas se

posicionan en forma horizontal. Así, el paladar hendido primario siempre estará acompañado por hendiduras secundarias tanto del paladar duro y blando (Nancy, 2013).

Las hendiduras palatinas pueden resultar de:(1) Fracaso del contacto entre las crestas palatinas y el septum debido a la falta de crecimiento o alguna alteración en los mecanismos de la elevación palatina, (2) Fracaso en la fusión de las crestas palatinas y septum nasal después de su contacto debido a que el epitelio que lo recubre no se desintegra o no es reabsorbido, (3) Ruptura de las crestas palatinas después de que la fusión ha ocurrido y (4) Fusión y consolidación defectuosa del mesénquima de las crestas palatinas (Nancy, 2013).

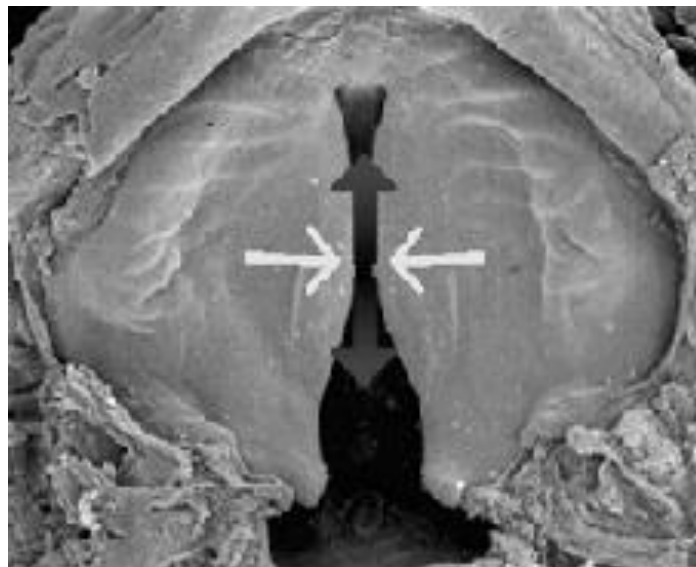


Fig 9. Micrografía electrónica de barrido donde se observa falta de contacto entre las crestas palatinas (Langman, 2001).

1.6 Anatomía del macizo facial, en las hendiduras labiales y palatinas

Como antecedentes históricos Veau (1935), fue uno de los personajes que se encargaron de la búsqueda de información acerca de la patogénesis que conlleva al LPH. Veau reconoció que existen características distintas en las hendiduras, tanto labiales como palatinas, que son distintas en cada tipo de hendidura como resultado de un crecimiento anormal subsecuente a una falla en la formación embriológica del paladar. En sus escritos Veau hizo referencia en la protrusión del segmento premaxilar, ya sea en su condición lateral o bilateral causada por la falta de crecimiento en dicha parte de la cara donde se encuentra afectado o con falta de formación del septum nasal, el vómer y la premaxila (Veau, 1935).

Hendidura bilateral labio y columnela

La formación normal del labio superior, en particular la del filtrum nasal y el surco del filtrum, así como el arco de cupido están determinados por los músculos faciales que los rodean. Las fibras labiales musculares se insertan en la piel lateral al filtrum. El borde inferior del músculo orbicular de los labios se inserta cerca del borde Bermellón y en conjunto con los otros músculos labiales dan lugar al tubérculo situado en la parte inferior del filtrum nasal. La musculatura labial se inserta ligeramente en la piel en la base de la columnela, la parte medial de la hendidura labial superior se encontrará invertida, esto da una impresión errónea de que el segmento premaxilar se encuentra rotado anterosuperiormente sobre el septum nasal (Latham, 1973).

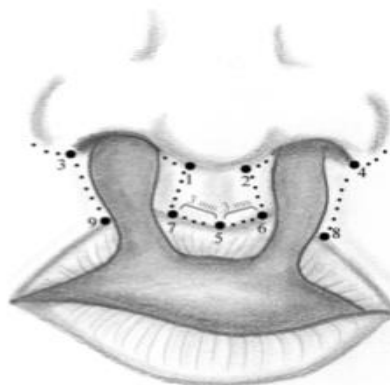


Fig 10. Hendidura Bilateral Labio y Columnela (Robert J, 2009).

Hendidura bilateral: septum nasal, premaxila y vómer

La condición en la que el paciente se presenta hendidura bilateral abarcando las estructuras tales como el septum nasal, la premaxila y el vómer, encontramos que el borde inferior del cartílago del septum nasal se ve reforzado por hueso que le da soporte al segmento premaxilar. Dicha porción consiste en el hueso vómer y su porción anterior formada por la premaxila. La sutura premaxilovomerale está localizada a un tercio de la longitud del septum posterior al proceso alveolar premaxilar. El segmento premaxilar consiste en un par de huesos premaxilares unidos por la sutura interpremaxilar que representa el tercio anterior de la sutura palatina media normal. Posterior al segmento premaxilar se encuentran un par de procesos unidos por la sutura y denominados como procesos infravomerianos de la premaxila. El vómer se adapta al borde inferior del cartílago del septum nasal y se articula posteriormente con el hueso esfenoides. El hueso vómer en el feto tiene una forma de "U" pero después del nacimiento ocurre una reabsorción en su superficie lateral lo que lo lleva a formar una forma de V muy notable. Las fístulas se presentan frecuentemente en el borde inferior del septum nasal justo posterior al proceso alveolar en la posición correspondiente a la ubicación de la sutura premaxilovomerale. La razón principal a esto es porque existen cartílagos paraseptales bilaterales que se articulan con el borde inferior del cartílago septal y divergen inferiormente en relación a la parte lateral del vómer (Latham, 1971).

Hendidura bilateral: Segmentos maxilar

La encía de los segmentos maxilares del niño con hendidura bilateral está cubierta de mucosa gingival. Se encuentran delimitadas por la mucosa palatina que en su aspecto medial se distinguen por un surco correspondiente a la posición del proceso alveolar palatino en la que el epitelio oral tiende a ser muy fibroso. El desarrollo dental se encuentra lateral a este surco y la zona medial a ésta, corresponde a los procesos horizontales del maxilar y los huesos palatinos, las cuales están cubiertas por la mucosa palatina (Töndury, 1961).

1.7 Histología del Paladar Hendido

Un problema común que se presenta en pacientes con labio y paladar hendido es la hipoplasia de la premaxila, aun en casos de éxito después de la cirugía (Ross and Johnston, 1978).

Las hendiduras palatinas ocurren dentro del periodo de morfogénesis después del término de la organogénesis cuando comienza la vida fetal pasando la octava o novena semana de VIU. La premaxila del lado afectado se encuentra severamente afectada e hipoplásica debido a una deficiencia dismórfica dentro del desarrollo en VIU (Mooney and Siegel, 1991).

Mooney et al (1991), sugirió que el crecimiento de la hendidura palatina resulta de un déficit en el crecimiento, ocurriendo dentro de la décima cuarta semana hasta vigésima primera semana de VIU. También, existe evidencia que hay una anomalía cuantitativa dentro de la morfogénesis dependiendo de una deficiencia en la migración o diferenciación de las células de la cresta neural (Mooney and Siegel, 1991).

En los pacientes con paladar hendido, la aponeurosis del músculo tensor del velo del paladar se inserta dentro del escaso hueso dentro de los límites de la hendidura, en lugar de la normal inserción sobre el borde posterior del paladar duro (Oneida and Arosarena, 2007).

Stark (1954), describe tres embriones con paladar hendido unilateral y encontró que existe una deficiencia de mesodermo sobre el lado afectado en la región de paladar primario. Los mecanismos de hiperplasia e hipertrofia de la premaxila han sido relacionando por Stark a una deficiencia mesenquimal inicial. Avery y Devine (1959), por su cuenta, encuentra una deficiencia en la formación de cartílago del lado afectado (Stark, 1954) (Avery and Devine, 1959).

La premaxila del lado afectado se ve reducido en tamaño y está desplazado hacia adelante. Desviaciones en el hueso y cartílago en especímenes estudiados por Atherton, pueden ser vistos en cortes histológicos. El septum nasal se ve desviado anteriormente hacia la región de la espina nasal anterior (Atherton, 1967) (Atherton, 1974).

En especímenes con hendidura palatina, los cartílagos paraseptales están dispuestos casi horizontalmente extendiéndose del borde inferior del septum nasal. Estos cartílagos paranasales son los que participan en la formación del paladar (Atherton, 1967).

En la zona anterior de la premaxila y en las crestas palatinas se ve una reducción importante de tejido óseo y también, una reducción en anchura de las crestas palatinas. Los huesos palatinos se ven afectados en el área de las crestas mostrando una reducción en su desarrollo predominando en un sentido vertical (Atherton, 1967).

Ross (1977), en su estudio refiere que en fetos no existe una deficiencia mesenquimal inicial, una disrupción en la diferenciación en el sustrato de la matriz o un retraso en la aparición de los centros de osificación (Ross, 1977).

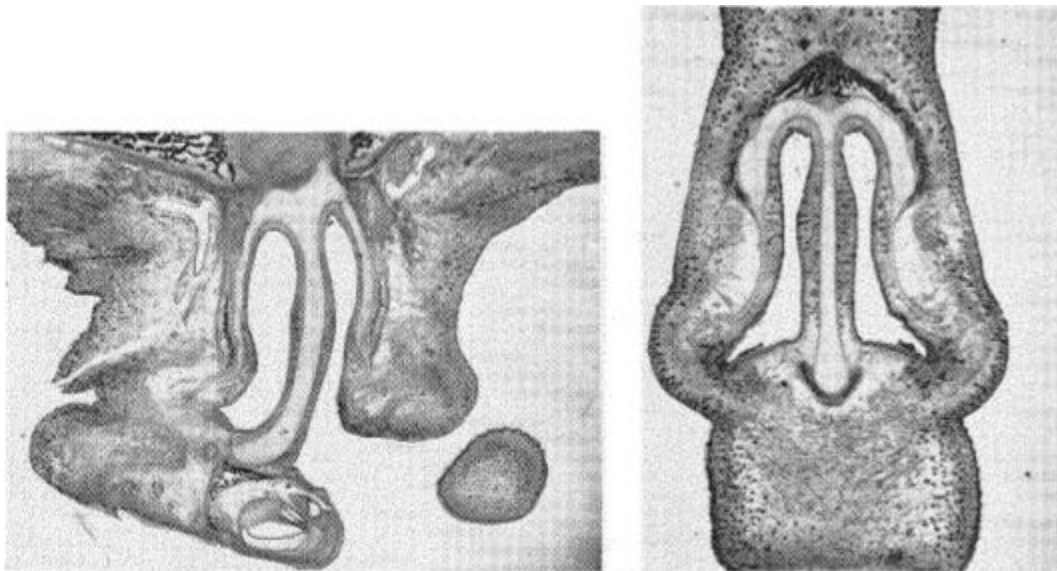


Fig 11. A la izquierda, un feto con paladar hendido unilateral y en la derecha, un feto de 17 semanas sin paladar hendido (Atherton, 1967).

1.8 Biología del Paladar

Paladar Duro

El paladar está formado por paladar duro (fijo) en la porción anterior y muscular (móvil) en el paladar blando. El paladar duro está cubierto por una mucosa masticatoria (queratinizada) unida de manera firme por su lámina propia al periostio de los huesos palatinos y maxilares situados en la parte superior, su epitelio es queratinizado plano estratificado cuyo tejido conectivo posee tejido adiposo en la parte anterior y en la parte posterior glándulas salivales menores (Gartner and Hiatt, 2011) (Cormack, 1988).

A lo largo de la línea media del paladar se encuentra un reborde óseo al cual se inserta el epitelio de una lámina propia muy delgada, conocido como rafe. Existen arrugas transversas con centros de tejido conectivo que se extienden en el paladar duro a partir de este rafe (Cormack, 1988).

Hacia los lados, la mucosa no se adhiere de manera uniforme al techo óseo, sino que está fijada por haces resistentes de tejido conectivo separados en sentido anterior por tejido adiposo y en posterior por glándulas. El paladar duro incluye músculo estriado y tejido conjuntivo dispuesto de manera semejante a una aponeurosis (Cormack, 1988).

Paladar blando

El paladar blando, debe de tener resistencia y movilidad adecuada para que se retraiga hacia arriba durante algunos procesos fisiológicos, con lo que cierra la nasofaringe y se evita que los alimentos pasen hacia la cavidad nasal (Cormack, 1988).

La mucosa del paladar blando se continúa hacia la nasofaringe y orofaringe. En sentido superior, el paladar blando está cubierto por epitelio cilíndrico ciliado, pseudoestratificado o plano estratificado. La lámina propia situada en el plano subyacente contiene glándulas y tiene forma de aponeurosis en el extremo cercano al paladar duro (Cormack, 1988).

En la parte más posterior del paladar blando, hay una capa muscular central. La superficie bucal del paladar blando está cubierta por epitelio no queratinizado plano estratificado que recibe el sostén de una lámina propia gruesa, esta contiene numerosas glándulas salivales menores (Cormack, 1988).

1.9 Procesos de laboratorio para determinar histología

Preparación del Tejido

Tinción con hematoxilina y eosina de muestras fijadas en formalina

El corte de rutina teñido con hematoxilina y eosina es la muestra que más frecuentemente se estudia. El primer paso en la preparación de una muestra de tejido u órgano es la fijación para conservar la estructura (Ross and Wojciech, 2012).

La fijación, en general obtenida mediante el empleo de sustancias químicas individuales o mezclas de estas sustancias, conserva la estructura del tejido en forma permanente para permitir el tratamiento ulterior. Las muestras tienen que sumergirse en el fijador inmediatamente después de extraerse del organismo (Ross and Wojciech, 2012).

La fijación se utiliza para:

- Abolir el metabolismo celular.
- Impedir la degradación enzimática de las células y los tejidos por autólisis (autodigestión).
- Destruir los microorganismos patógenos como las bacterias, los hongos o los virus.
- Endurecer el tejido como consecuencia de la formación de enlaces cruzados o la desnaturalización de las moléculas proteicas.

El fijador de uso más común es la formalina, una solución acuosa de formaldehído al 37%, en diluciones variadas y en combinación con otras sustancias químicas y amortiguadores (buffers). El formaldehído preserva la estructura general de la célula y de los componentes extracelulares al reaccionar con los grupos amino de las proteínas

(con mucha frecuencia forma enlaces cruzados entre residuos de lisina). Dado que el formaldehído no altera en forma significativa su estructura tridimensional, las proteínas mantienen su capacidad de reaccionar con anticuerpos específicos. Esta propiedad es importante en los métodos de tinción inmunocitoquímica. La solución comercial estándar de formaldehído amortiguado con fosfatos (pH 7) actúa con bastante lentitud pero penetra bien en el tejido. Sin embargo, el formaldehído no reacciona con los lípidos y, por lo tanto, es un mal fijador de las membranas (Ross and Wojciech, 2012).

En el segundo paso la muestra se dispone para su inclusión en parafina con el fin de permitir su corte. Para poder examinar la muestra hay que infiltrarla con un medio de inclusión que permita realizar cortes muy delgados, típicamente de 5 a 15 μm (1 micrómetro [μm] equivale a la milésima parte de un milímetro). Luego de la fijación la muestra se lava y se deshidrata en una serie de soluciones alcohólicas de concentración creciente hasta alcanzar alcohol al 100%. En el paso siguiente, el aclarado, se utilizan solventes orgánicos como xileno o tolueno, que son miscibles tanto en alcohol como en parafina, para extraer el alcohol al 100% antes de la infiltración de la muestra con parafina fundida (Ross and Wojciech, 2012).

Cuando la parafina fundida se ha enfriado y endurecido se empareja para formar un bloque de tamaño adecuado. Este bloque, llamado taco, se coloca entonces en una máquina cortadora especial, el micrótomo, que lo corta en rebanadas finas con una cuchilla de acero. Luego los cortes obtenidos se montan sobre portaobjetos de vidrio a los que antes se les habrá añadido una pequeña cantidad de albúmina para que sirva de adhesivo (Ross and Wojciech, 2012).

En el tercer paso, la muestra se tiñe para permitir su examinación, dado que los cortes en parafina son incoloros, la muestra todavía no está lista para su examen bajo el microscopio óptico. Para colorear o teñir los cortes histológicos la parafina debe disolverse y extraerse, de nuevo con xileno o tolueno, y los tejidos deben rehidratarse mediante el uso de una serie de alcoholes de concentración decreciente. Luego el tejido colocado sobre los portaobjetos se tiñen con hematoxilina en agua. Como el colorante

de contraste, eosina, es más soluble en alcohol que en agua, se vuelve a deshidratar la muestra en soluciones alcohólicas de concentración creciente y después se tiñe con eosina en alcohol. Los resultados de la tinción con hematoxilina sola, con eosina sola y con ambos colorantes. Luego de la coloración la muestra se hace pasar por xileno o tolueno y se le coloca un medio de montaje no acuoso antes de cubrirla con un cubreobjetos para lograr un preparado permanente (Ross and Wojciech, 2012).

Composición bioquímica de las muestras procesadas

La composición química de un tejido listo para una coloración de rutina es muy diferente de la del tejido vivo. Los componentes que perduran luego de la fijación son principalmente moléculas grandes que no se disuelven con facilidad, en especial después de aplicar el fijador. Estas moléculas grandes, en particular las que reaccionan con otras moléculas semejantes para formar complejos macromoleculares, son las que suelen conservarse en un corte histológico (Ross and Wojciech, 2012).

Los siguientes son ejemplos de estos complejos macromoleculares grandes:

- Nucleoproteínas, formadas por ácidos nucleicos unidos a proteínas.
- Proteínas intracelulares del citoesqueleto en complejo con otras proteínas.
- Proteínas extracelulares en grandes aglomeraciones insolubles, en las que moléculas vecinas semejantes se unen a través de enlaces cruzados, como ocurre en la formación de las fibras colágenas.
- Complejos de fosfolípidos y proteínas (o carbohidratos) en las membranas.

En su mayor parte estas moléculas constituyen la estructura de las células y los tejidos, dado que son los elementos morfogénicos hísticos. Constituyen la base de la organización de los tejidos visible con el microscopio (Ross and Wojciech, 2012).

En muchos casos un elemento estructural es al mismo tiempo una unidad funcional. Por ejemplo, en el caso de las proteínas que forman los filamentos contráctiles de las células musculares, estos filamentos son los componentes estructurales visibles y además participan en el proceso de contracción. El Ácido Ribonucleico (ARN) del citoplasma

aparece como parte de un componente estructural (ergastoplasma de las células glandulares, sustancia de Nissl⁸⁰ de las neuronas) y al mismo tiempo es un participante activo en la síntesis de proteínas (Ross and Wojciech, 2012).

Fundamentos químicos de la coloración

Colorantes ácidos y básicos

La hematoxilina y la eosina son los colorantes de uso más frecuente en la histología.

Un colorante ácido, como la eosina, tiene una carga neta negativa en su parte coloreada y se describe con la fórmula general (Na⁺anilina⁻). Un colorante básico tiene una carga neta positiva en su parte coloreada y se describe con la fórmula general (anilina⁺Cl⁻) (Ross and Wojciech, 2012).

Desde el punto de vista estructural la hematoxilina no es un colorante básico, pero tiene propiedades tintoriales muy semejantes a las de las anilinas básicas. El color de una anilina no se relaciona con el hecho de que sea ácida o básica (Ross and Wojciech, 2012).

Los colorantes básicos reaccionan con los componentes aniónicos de las células y los tejidos (componentes que tienen una carga neta negativa) Entre los componentes aniónicos se encuentran los grupos fosfato de los ácidos nucleicos, los grupos sulfato de los glucosaminoglucanos y los grupos carboxilo de las proteínas. La capacidad de estos grupos aniónicos de reaccionar con una anilina o colorante básico se denomina basofilia (gr. basis + philein, amar, es decir que tiene afinidad por lo básico). Los componentes del tejido que se tiñen con la hematoxilina también exhiben basofilia (Ross and Wojciech, 2012).

La reacción de los grupos aniónicos varía según el pH así:

- Con un pH alto (de cerca de 10) los tres grupos se ionizan y quedan disponibles para la reacción con el colorante básico por medio de uniones electrostáticas.

- Con un pH ligeramente ácido a neutro (de 5 a 7) se ionizan los grupos fosfato y sulfato y quedan disponibles para reaccionar con la anilina básica a través de uniones electrostáticas.
- Con un pH bajo (inferior a 4) sólo se mantienen ionizados los grupos sulfato para reaccionar con los colorantes básicos.

En consecuencia, la tinción con colorantes básicos en un pH determinado puede utilizarse para centrar el estudio en grupos aniónicos específicos y cómo estos aniones específicos predominan en ciertas macromoléculas, la tinción sirve como indicador de estas macromoléculas (Ross and Wojciech, 2012).

Como ya se mencionó, la hematoxilina no es un colorante básico en sentido estricto. Se usa con un mordiente (es decir un intermediario entre el componente del tejido y la anilina) y es por la acción del mordiente que la coloración con hematoxilina se parece a la tinción que produce un colorante básico. La unión en el complejo tejido-mordiente-hematoxilina no consiste en un simple enlace electrostático y cuando la hematoxilina se coloca en agua no se disocia del tejido. Por eso la hematoxilina se presta para aquellos procedimientos tintoriales en los que es seguida por soluciones acuosas de colorantes ácidos. Los colorantes básicos verdaderos, a diferencia de la hematoxilina, no suelen usarse en secuencias en las que la anilina básica es seguida por una anilina ácida. Entonces la anilina básica tiende a disociarse del tejido durante los lavados en soluciones acuosas que se realizan entre la aplicación de ambas soluciones colorantes (Ross and Wojciech, 2012).

Los colorantes ácidos reaccionan con los grupos catiónicos de las células y los tejidos, en particular con los grupos amino ionizados de las proteínas. La reacción de los grupos catiónicos con un colorante ácido recibe el nombre de acidofilia. Las reacciones de los componentes celulares e hísticos con los colorantes ácidos no son tan específicas ni tan precisas como las reacciones con los colorantes básicos. Aunque el enlace electrostático es el factor principal en la unión primaria de un colorante ácido con el tejido, no es el único. Por ejemplo, en la técnica tricrómica de Mallory se usan tres colorantes ácidos: azul de anilina, fucsina ácida y naranja G. Estos colorantes tiñen con selectividad el

colágeno, el citoplasma en general y los eritrocitos, respectivamente. La fucsina ácida también tiñe los núcleos (Ross and Wojciech, 2012).

En otras técnicas con anilinas ácidas múltiples se emplea la hematoxilina para teñir primero los núcleos y luego se aplican los colorantes ácidos con el fin de teñir selectivamente el citoplasma y las fibras extracelulares. La tinción selectiva de los componentes de los tejidos por los colorantes ácidos se debe a factores relativos, como el tamaño y el grado de acumulación de las moléculas del colorante y la permeabilidad y densidad del tejido (Ross and Wojciech, 2012).

Metacromasia

Ciertos colorantes básicos reaccionan con componentes hísticos que hacen cambiar su color normal del azul al rojo o al púrpura; esta modificación de la absorbancia se denomina metacromasia. El mecanismo básico de la metacromasia es la presencia de polianiones en el tejido. Cuando estos tejidos se tiñen con una solución colorante básica concentrada, como la de azul de toluidina, las moléculas de la anilina están lo suficientemente cerca como para formar aglomeraciones diméricas y poliméricas. Las propiedades de absorción de estas aglomeraciones son diferentes de las de las moléculas de colorante individuales no aglomeradas (Ross and Wojciech, 2012).

Las estructuras de las células y los tejidos con una alta concentración de grupos sulfato y fosfato ionizados, como la sustancia fundamental del cartílago, los gránulos de heparina de los mastocitos y el retículo endoplasmático rugoso de los plasmocitos, muestran metacromasia. En consecuencia, el azul de toluidina se verá púrpura o rojo cuando tiña estos componentes (Ross and Wojciech, 2012).

Coloración Hematoxilina-Eosina

Protocolo. Preparación de los colorantes

Hematoxilina

La hematoxilina es un colorante natural y de naturaleza química básica que se extrae de la corteza del árbol *Haematoxylon campechianum*, oriundo de Centroamérica. En el comercio se encuentra en forma de cristales rosados o amarillentos solubles en agua o en alcohol. Tradicionalmente se ha mantenido que la hematoxilina en su forma natural no es un colorante, para ser empleada como tal, ha de ser oxidada previamente a hemateína (Ross and Wojciech, 2012).

Tras el proceso de oxidación, normalmente se debe incrementar su capacidad tintorial agregándole determinados grupos auxocromos que, además, le confieren un carácter fuertemente básico y son los responsables de su especificidad por los núcleos celulares. Como auxocromos se emplean sales metálicas bivalentes o trivalentes, por lo general en forma de alumbres de tal forma que se forman diversas laca de hematoxilina de carácter catiónico y tonalidad azulada o negruzca, dependiendo de la sal metálica utilizada (Ross and Wojciech, 2012).

La laca de hematoxilina más utilizada es la producida a partir del alumbre alumínico-potásico, conocida también en forma genérica como hemalumbre. (Ross and Wojciech, 2012).

Reactivos:

Alumbre de Amonio o de Potasio (mordiente) 50 g

Cristales de hematoxilina 1 g

Yodato de Sodio 0,2 g

Ácido cítrico 1 g

Hidrato de cloral (bactericida) 50 g

Agua destilada 1000 mL

Procedimiento:

- Calentar la mitad del volumen de agua destilada a una temperatura por debajo del punto de ebullición.
- Pesar el alumbre de amonio o de potasio y agregarlo al agua que se está calentando hasta que se disuelva.
- Pesar los cristales de hematoxilina y agregarlos hasta que se disuelvan (aproximadamente en 20 minutos).
- Agregar el resto del agua destilada.
- Pesar y agregar el ácido cítrico, dejar reposar por 10 minutos.
- Pesar y agregar el yodato de sodio, dejar reposar por 10 minutos.
- Pesar y agregar el hidrato de cloral, dejar reposar por 10 minutos.
- Envasar en frasco ámbar y almacenar en la oscuridad. Mientras más tiempo permanezca en depósito, el proceso de maduración del colorante será mejor y se obtendrán mejores resultados (Ross and Wojciech, 2012).

Eosina

La eosina es un colorante xanténico artificial y de naturaleza química ácida, es un derivado hidroxianténico halogenado con tres grupos arilo. Las diferencias de coloración que existen entre ellos están motivadas por el tipo y número de átomos de halógeno que contienen (eosina Y: cuatro átomos de bromo y la eosina B: dos átomos de bromo). En general, los colorantes xanténicos tienen autofluorescencia espontánea y colorean los tejidos de diversas tonalidades entre rojo y rosado. Por lo común, se difunden fácilmente en las estructuras hísticas, sobre todo en las más compactas, a las cuales tiñen debido a que, por su carácter ácido, son atraídos fuertemente hacia los radicales básicos de la histidina, lisina y arginina presentes en las proteínas citoplasmáticas y tisulares (Ross and Wojciech, 2012).

Para la preparación de la eosina (solución madre), el procedimiento es el siguiente:

Solución "A"

Reactivos Cantidad

Eosina amarillenta (Y) 3 g

Alcohol etílico o isopropílico 300 mL

Agua destilada 200 mL

Solución "B"

Reactivo Cantidad

Biebrich escarlata 1 g

Agua destilada 100 mL

Procedimiento:

- Preparar las 2 soluciones por separado. Las dos soluciones constituyen la solución madre.
- Tomar 1 parte de la solución madre y 3 partes de alcohol al 70 %.
- Agregar 3 –6 gotas de ácido acético.

Método de la Hematoxilina-Eosina

Existen múltiples variantes, según se emplee un tipo u otro de eosina y de hematoxilina (generalmente se emplea la de Harris, aunque también se emplean la de Mayer y la de Ehrlich). Por lo común, este método siempre consta de una etapa inicial, en la que se colorean los núcleos celulares con la hematoxilina, y una fase ulterior de contraste citoplasmático y de los componentes extracelulares con la eosina (Ross and Wojciech, 2012).

Procedimiento Técnico:

Soluciones:

- Xilol
- Alcohol isopropílico al 95 %
- Agua corriente
- Hematoxilina
- Eosina
- Xilol/Alcohol

Protocolo:

- Después del desparafinado, 3 baños en alcohol isopropílico al 95 % (3 recipientes distintos), el último baño debe ser el más prolongado (5 minutos).
- Baño en agua corriente durante 2-3 minutos, agitar suavemente.
- Baño en hematoxilina por 5 minutos
- Baño en agua corriente por 5 minutos.
- Baño en eosina, sumergir la lámina portaobjetos y sacarla inmediatamente.
- 3 baños rápidos en alcohol isopropílico al 95 %.
- 1 baño rápido en la solución de xilol/alcohol.
- 2 baños rápidos en xilol.

1.10 Antecedentes

Stark durante su investigación en 1954, describe tres embriones con paladar hendido unilateral y encontró que existe una deficiencia en el mesodermo en el lado afectado a la hendidura en el paladar primario (Stark, 1954).

Avery en 1959 en su estudio comparativo, identifica una deficiencia de formación de cartílago en fetos con Paladar Hendido y describe también una falta de organización dentro de los centros de osificación (Avery, 1959).

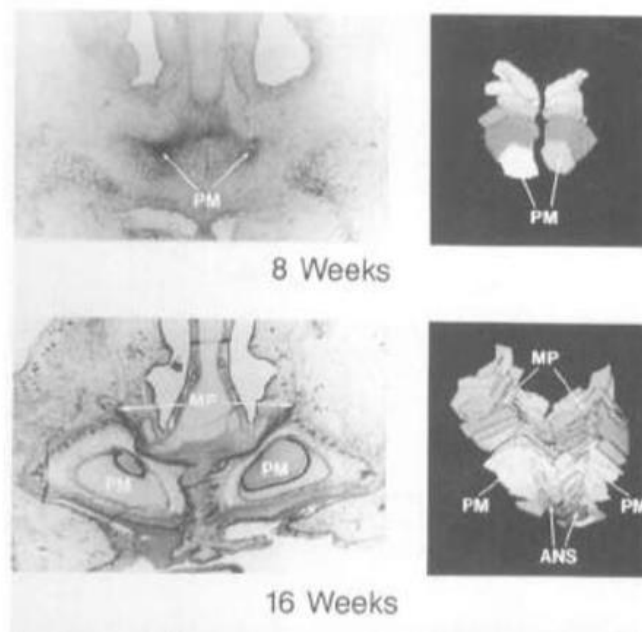


Fig 12. El estudio de la histología del paladar hendido se ha realizado conforme a la embriología y anatomía de estos durante VIU (Mooney and Siegel, 1991).

Atherton en 1964 realizó un análisis descriptivo de las características anatómicas y morfológicas de los huesos de la cara y de los cartílagos que componen la misma en fetos con labio y paladar hendido unilateral. Este estudio, en la mayoría de su contenido, se basa en la posición de la premaxila en el lado afectado de la hendidura (Atherton, 1964).

Por otro lado, Atherton en 1974 realizó de nuevo un estudio comparativo de 14 pacientes pediátricos, todos con 2 meses de edad y con Labio y Paladar Hendido completo bilateral. Este estudio se basó para obtener las características cefalométricas de cada paciente mediante proyecciones radiográficas (Atherton, 1974).

Taya, O'kane y Ferguson en 1999 describieron los mecanismos por el cual ocurre una supresión del factor de crecimiento transformante $\beta 3$ en ratones con paladar hendido secundario (Taya et al, 1999).

Thomason y Zhou en Mayo del 2010, con el propósito de encontrar la etiología de Labio y Paladar Hendido, identificaron una mutación en los factores de transcripción p63 y el factor de regulación del interferón 6 en ratones y humanos sobre los queratinocitos primarios (Thomason et al, 2010).

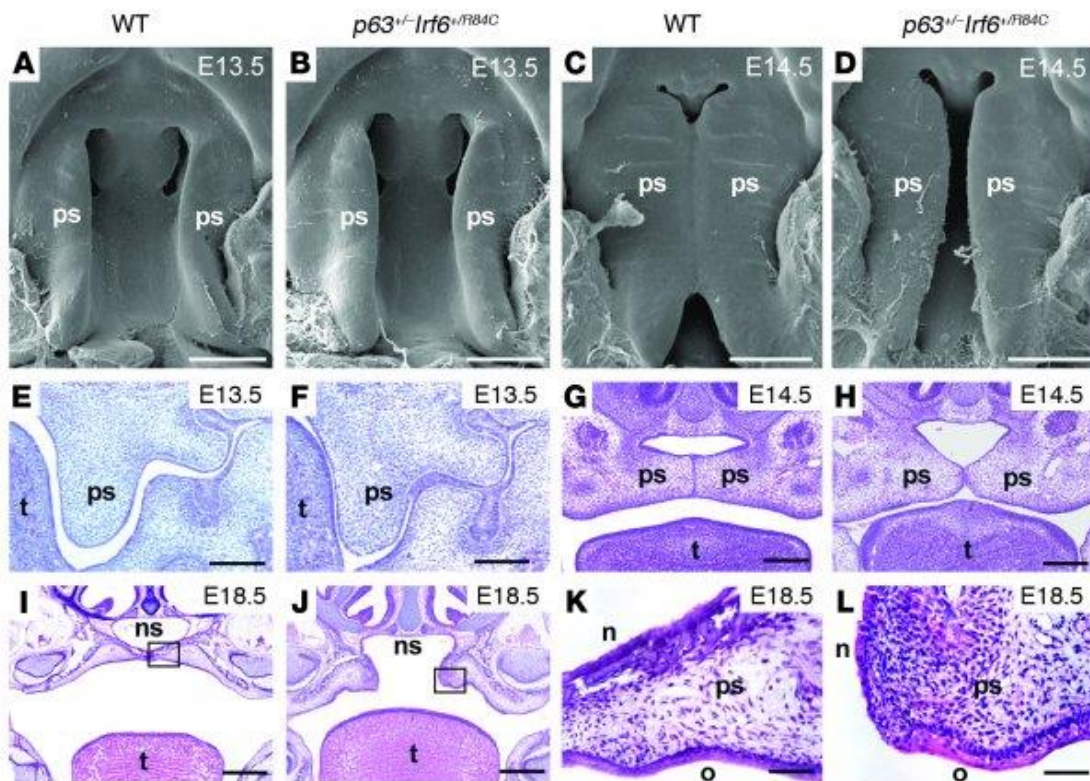


Fig 13. Microscopias del estudio de Thomason acerca de la identificación de p63 sobre los queratinocitos primarios (Thomason et al, 2010).

CAPITULO 2.

2.1 Planteamiento del problema

El LPH es la anomalía congénita que ocurre con más frecuencia en la región de cabeza y cuello, en México se estima que ocurre en 1 de cada 750 nacimientos (Trigos y Guzmán, 2003). En el estado de Guanajuato, se ha calculado que ocurren 14.6 casos por cada 10000 nacimientos (Cordero, 2007) (Programa Nuevo Amanecer, 2005). La ENES-León, desde el mes de mayo de 2013 ha creado un Programa para la Atención Integral de Pacientes con LPH asumiendo una gran responsabilidad que contribuye al desarrollo integral de los pacientes.

En el protocolo de registro de los pacientes que son ingresados al Programa, han sido detectados un gran número de pacientes con PH sin antecedente quirúrgico o una dehiscencia de la herida del paladar en pacientes con antecedente quirúrgico de palatoplastía (que van desde una sola intervención previa hasta pacientes que han sido intervenidos quirúrgicamente del paladar hasta en seis ocasiones) y que por lo tanto, siguen presentando la hendidura del paladar.

Conocer si existe alguna característica histológica particular en los tejidos de la mucosa palatina adyacentes a la hendidura palatina en un grupo de diez pacientes con paladar hendido originarios del estado de Guanajuato.

2.2 Justificación

Realizar este estudio de describir las características histológicas del paladar en un grupo de diez pacientes con paladar hendido, nos ayudará a conocer si existe alguna anomalía que esté dando lugar a las dehiscencias de las heridas palatinas. Así mismo, esta investigación creará oportunidades para futuras investigaciones que contribuyan a mejorar la atención integral de los pacientes con Paladar Hendido (PH).

Estos resultados brindarán la posibilidad de hacer modificaciones al protocolo estándar de tratamiento y personalizarlo para la obtención de mejores resultados quirúrgicos y funcionales en beneficio del paciente.

No realizar este estudio, nos mantendrá observando un fenómeno que es muy común sin permitirnos entender por qué ocurre, limitando nuestra intervención de atención integral.

2.3 Delimitación de la investigación

El presente proyecto de investigación es de tipo **cuantitativo** y **descriptivo**. Con respecto al alcance descriptivo, al final de la investigación podremos analizar los resultados.

2.4 Objetivo general

Describir las características histológicas de la mucosa palatina en un grupo de 10 pacientes con paladar hendido del estado de Guanajuato que pertenezcan al programa de Atención Integral de Pacientes con LPH “TiENES que sonreír, UNAMos esfuerzos”.

2.5 Objetivos específicos

- Describir el grado de hialinización de mucosa palatina adyacente a la hendidura palatina.
- Describir la cantidad de troncos nerviosos dentro del campo de visión de la muestra de la mucosa palatina.
- Describir vascularidad que tiene la muestra del tejido.
- Describir las características del epitelio y si existen algunos otros hallazgos importantes.

2.6 Pregunta de investigación

Existen características histológicas particulares en los tejidos de la mucosa palatina adyacentes a la hendidura palatina en los pacientes con paladar hendido originarios del estado de Guanajuato.

2.7 Hipótesis

Existen alteraciones histológicas en los tejidos del paladar adyacente a la hendidura palatina en pacientes con hendidura palatina que permiten la dehiscencia de las heridas de palatoplastia.

CAPITULO 3.

3.1 Metodología

3.1.1 Diseño de la investigación

Análisis descriptivo.

3.1.2 Selección de la muestra

Es una muestra por conveniencia de diez pacientes con diagnóstico de PH, que presenten dehiscencia de la herida de palatoplastia.

La muestra será obtenida de los pacientes que pertenecen al Programa de Atención Integral a Pacientes con LPH de la ENES-León, que sean sometidos a un tratamiento quirúrgico de palatoplastia secundaria.

3.1.3 Variables

VARIABLE	DEPENDIENTES	INDEPENDIENTES	DEFINICIÓN OPERACIONAL
EDAD		X	Rango de edad 1año hasta 7 años
GENERO		X	Masculino o femenino
EPITELIO (PARAQUERATINIZADO, ORTOQUERATINIZADO, HIPERPARAQUERATINIZADO)	X		Tipo de epitelio que se encuentra en la muestra de tejido fijada. Clasificación del tipo de epitelio
VASCULARIZACIÓN	X		Cantidad de vasos sanguíneos que encontramos en la muestra de tejido.
TRONCOS NERVIOSOS	X		Cantidad de tejido nervioso que está presente
HALINIZACIÓN	X		Aumento de la fibrosis del tejido conjuntivo de las muestras
CALCIFICACIONES	X		Presencia de material calcificado
INFILTRADO INFLAMATORIO	X		Tipo de células inflamatorias que se encuentran presentes en la muestra
DIAGNÓSTICO INTEGRAL		X	Diagnóstico que presenta el paciente al ser ingresado a la clínica
MUESTRA POSTOPERADO (PO)	X		Muestra del tejido que ya ha sido intervenido quirúrgicamente

3.1.4 Tamaño de la muestra

10 muestras de tejido de la mucosa palatina adyacente a la hendidura del paladar en pacientes que presentan dehiscencia de la herida de palatoplastia.

3.1.5 Procesamiento de las muestras

El registro de los pacientes se realiza en la Clínica de Atención Integral de Pacientes con LPH de la ENES-León, este registro cuenta con una historia clínica que incluye ficha de identificación, antecedentes prenatales, antecedentes perinatales, antecedentes personales patológicos, antecedentes personales no patológicos, padecimiento actual y un examen físico.

Las muestras de tejido de la mucosa palatina serán obtenidas durante la intervención quirúrgica de palatoplastía secundaria (que se refiere a las intervenciones quirúrgicas subsecuentes en el paladar a la que los pacientes son sometidos).

Las muestras se obtendrán de la mucosa palatina con un bisturí frío a través de una incisión de espesor total en una zona que no exceda los 5 mm a partir del margen de la dehiscencia de la herida de la palatoplastia previa. Las muestras serán fijadas en formalina al 10% y serán rotuladas con el nombre del paciente y la fecha de obtención de la muestra.

Las muestras serán analizadas en el Laboratorio de Histopatología de la ENES-León mediante un estudio histopatológico y microscopia de luz para describir las características histológicas de la mucosa palatina de los pacientes con PH que son sometidos a palatoplastía secundaria.

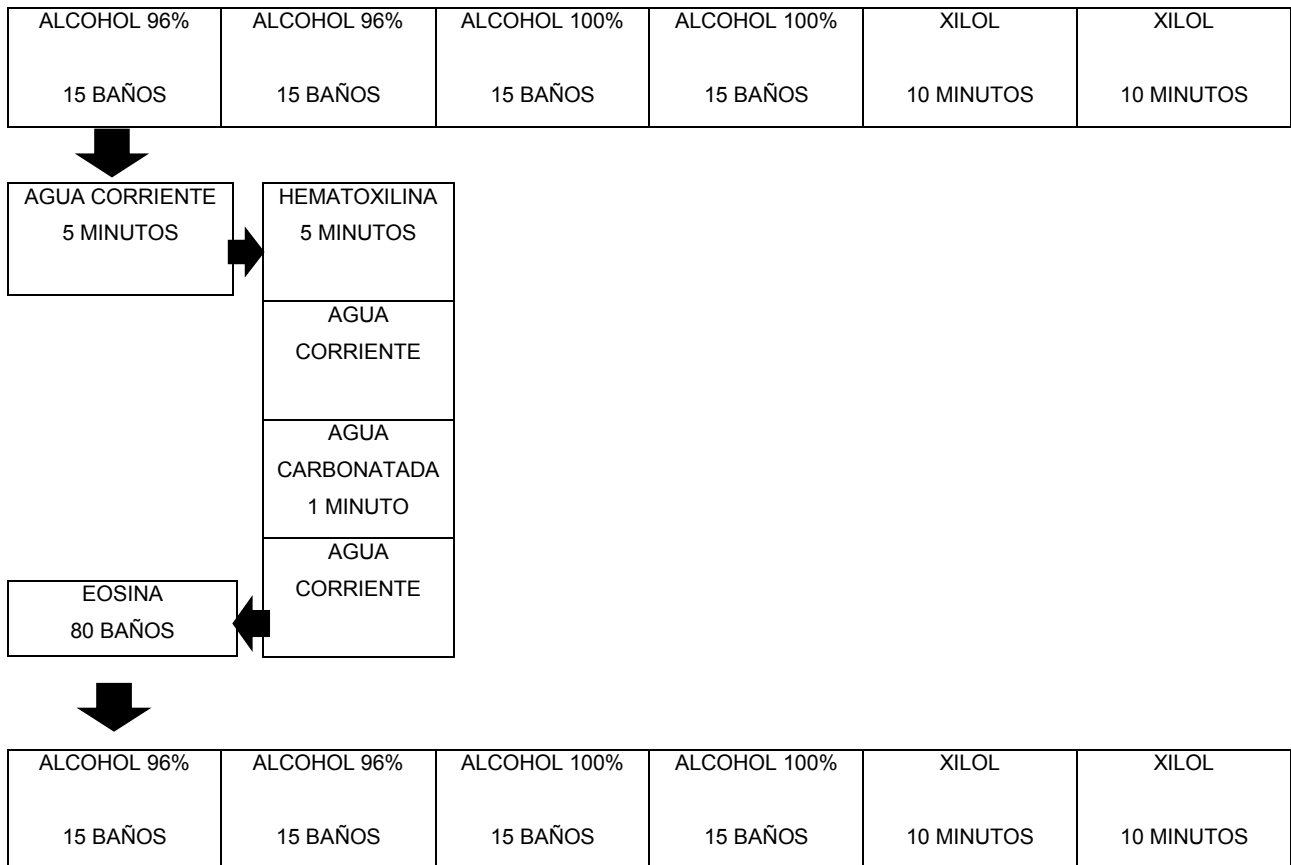
Para este propósito la muestra será sometida a un proceso de tinciones de rutina mediante la preparación del tejido con tinción con hematoxilina y eosina (HyE) de muestras fijadas en formalina. El primer paso en la preparación de una muestra de tejido u órgano es la fijación para conservar la estructura (Ross and Wojciech, 2012).

Teniendo la muestra de tejido ya fijada con formalina al 10%, se dirige al laboratorio multidisciplinario de la ENES-León en la cual sigue el siguiente proceso:

- Descripción macroscópica de la muestra fijada: toma de fotos, color, tamaño, medidas, superficie, consistencia.
- Corte de la muestra para ser procesada
- Introducción de la muestra al Histokinette TP1020 Automatic Tissue Processor Leica® para iniciar el procesamiento de la muestra. La muestra se deja en el aparato durante 12 horas para que cumpla su proceso de fijación y proceso de la muestra.
- Después de 12 horas, se fija la muestra en parafina para realizar los cubos donde la muestra se encontrara embebida para poder después realizar los cortes para el estudio y descripción de la muestra.
- Ya estando el cubo de parafina con el tejido, se lleva al Microtomo Leica RM2125RT® para que se realicen los cortes a 5 micras para después ser llevadas a la Tina de inmersión Leica HI1210® donde serán pescadas con los portaobjetos.
- Ya pescados con el portaobjetos, se lleva el portaobjeto a la Plancha de estiramiento Leica HI1220® y se deja durante una hora para ser llevada posteriormente a la tinción de la muestra.
- La tinción de la muestra se lleva a cabo por medio del tren de tinción donde la muestra será sometida a la tinción de rutina con hematoxilina y eosina. El tren de tinción se muestra en la siguiente figura.
- Ya teñida la muestra, se fija el cubreobjetos al portaobjetos con resina sintética y se deja secar durante 2-3 horas para poder así ser vista al microscopio óptico de luz Microscopios ópticos de luz Leica DM750 – DM500®

Posterior a este, se realizará la descripción de las laminillas por medio de microscopia óptica de luz en el laboratorio de Patología de la ENES-León. Esta se llevara a cabo con ayuda de los profesores y residentes de la especialidad en Patología Oral y Maxilofacial junto con el apoyo de alumnos de la licenciatura en Odontología.

TINCIÓN DE RUTINA (HEMATOXILINA Y EOSINA)



3.1.6 Recolección de datos

Los datos que vayan arrojándose durante el desarrollo de la investigación, serán registrados y sometidos a un protocolo de evaluación multidisciplinaria por miembros investigadores de la ENES-León.

Se designaran puestos y roles dentro de los miembros de la investigación para llevar un manejo controlado de las actividades que se desarrollaran durante la fase de la investigación, esto para dar la mayor confiabilidad del proyecto.

La designación de roles dentro de los miembros podrá otorgar mejor organización de la investigación, y así, dar factibilidad de los resultados de la investigación.

3.1.7 Análisis de datos

Los datos arrojados serán evaluados por los miembros de la de la investigación, junto con los miembros investigadores de la ENES-león. Para esto se realizara un base de

datos donde se categoricen las variables y poderlos someter los resultados a un análisis estadístico para poder brindar resultados fiables, congruentes y de fácil interpretación. Se llevará a cabo por medio de programas computarizados Microsoft Office Excel donde se pueda llevar a cabo la interpretación estadística de los mismos.

3.1.8 Infraestructura

El desarrollo de este proyecto se llevará a cabo en los laboratorios interdisciplinarios de la ENES-León, el cual cuenta con:

- Histokinette TP1020 Automatic Tissue Processor Leica®
- Microtomo Leica RM2125RT®
- Plancha de estiramiento Leica HI1220®
- Tina de inmersión Leica HI1210®
- Calentadores DRAGONLAB MS-H-S®
- Refrigeradores Acros®
- Microscopios ópticos de luz Leica DM750 – DM500®
- Tren de tinción
- Cristalería
- Insumos
- Cubreobjetos
- Portaobjetos
- Resina fijadora sintética
- Reactivos

3.1.9 Recursos humanos

Este proyecto contempla la participación de alumnos de Odontología de cuarto año en el área de profundización en cirugía bucal de la ENES-León, así como alumnos de especialización en patología oral y maxilofacial. También se contará con la participación de profesores adscritos.

3.1 Consideraciones éticas

El presente contará con el visto bueno por parte del Comité de Bioética de la ENES Unidad León, UNAM. Cada paciente que participe en este proyecto de investigación deberá contar con un consentimiento informado.

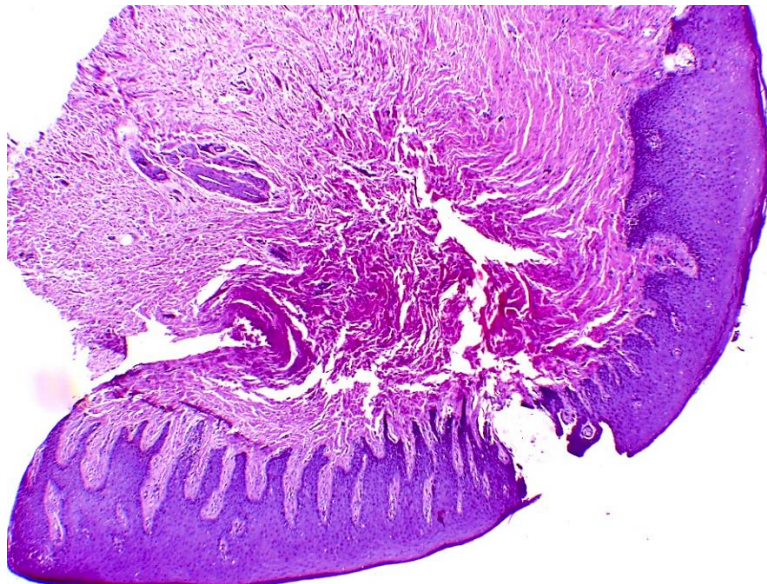
CAPÍTULO 4.

4.1 Resultados

Los resultados del análisis descriptivo de las muestras de los pacientes con PH con antecedentes de palatoplastia fueron obtenidos por medio de la observación de las 10 muestras de tejido de mucosa palatina adyacentes a la hendidura palatina las cuales fueron procesadas en el Laboratorio de Patología Oral y Maxilofacial de la ENES-León por el método ya expuesto anteriormente.

La muestra estuvo conformada por diez pacientes cuyo rango de edad se estableció desde 1 años 11 meses hasta 7 años 1 mes de edad. La edad promedio de la muestra obtenida fue de 4.5 años, con predominio de género femenino con un 60% del total de la muestra. El 40% restante pertenecen al género masculino.

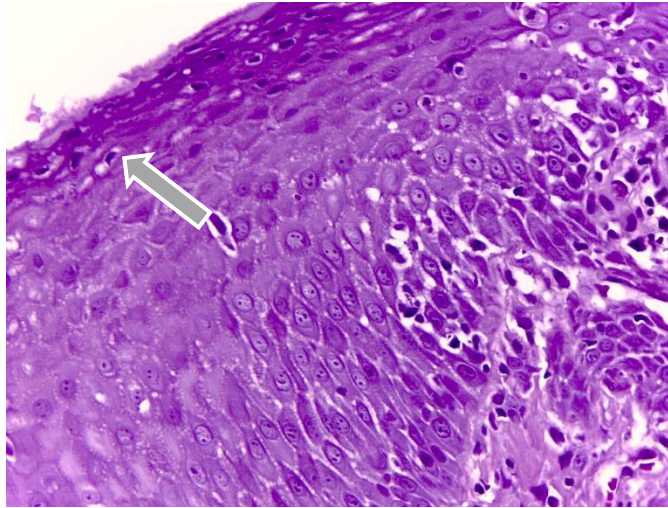
Los aspectos a describir en la observación de las laminillas fueron clasificados en epitelio y submucosa o tejido conjuntivo. El epitelio se clasificó en ortoparaqueratinizado, paraqueratinizado e hiperparaqueratinizado. Mientras que los hallazgos de la submucosa o tejido conjuntivo incluyeron vascularización, hialinización, troncos nerviosos, calcificaciones e infiltrado inflamatorio.



Fotomicrografía 1. Panorámica de la muestra de tejido adyacente a la hendidura palatina a 100x con tinción de rutina hematoxilina y eosina (hve).

Hallazgos en Epitelio

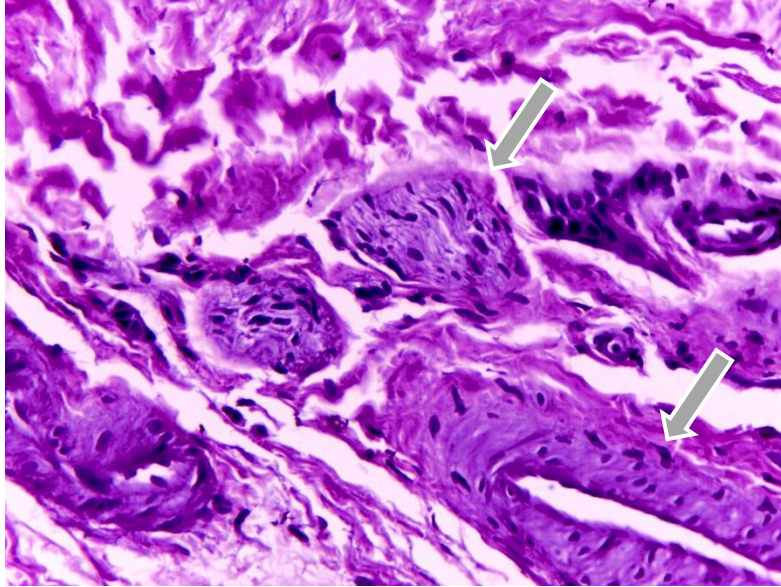
En seis muestras se observó epitelio paraqueratinizado, en una muestra se observó epitelio ortoqueratinizado y en tres muestras se observó epitelio hiperparaqueratinizado. Tres de las diez muestras presentaron edema inter e intracelular. En estas tres muestras, se observó también atrofia del epitelio en el estrato corneo debido a la manipulación del tejido.



Fotomicrografía 2. 400x con tinción de rutina hie que muestra el epitelio paraqueratinizado con atrofia en el estrato corneo.

Hallazgos en submucosa o tejido conjuntivo

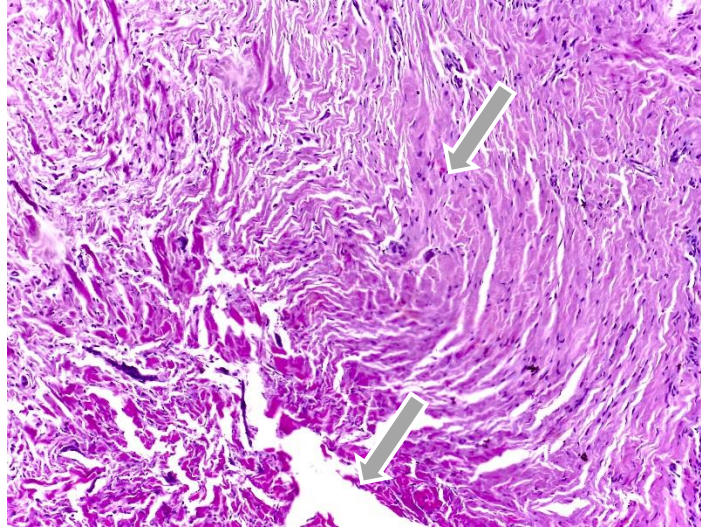
Vascularización: En el 60% de la muestra se observó una vascularización moderada conteniendo de 3-5 vasos sanguíneos por campo de visualización. En el 40 % restante, se observó una vascularización severa con más de 6 vasos sanguíneos por campo de visualización. En todos los tejidos que conformaron la muestra se observó que el endotelio de los vasos sanguíneos se encontraba engrosado incluso en algunos vasos sanguíneos se observó infiltrado inflamatorio de tipo crónico, hemosiderina y algunas colonias bacterianas, éste último hallazgo fue identificado como una masa amorfa dentro de los vasos sanguíneos.



Fotomicrografía 3. 400x muestra el engrosamiento del endotelio de los vasos* y algunos troncos nerviosos*. Se observan también haces de colágeno hacia la superficie.

Troncos nerviosos: En el 50% de la muestra no se observó ningún tronco nervioso en ningún campo de visualización. En un 40% de la muestra se observó una inervación leve que consistía de la presencia de 1 a 3 troncos nerviosos por campo de visualización. En el 10% restante de la muestra se observó una inervación moderada que consistía de la presencia de 3 a 5 troncos nerviosos por campo de visualización.

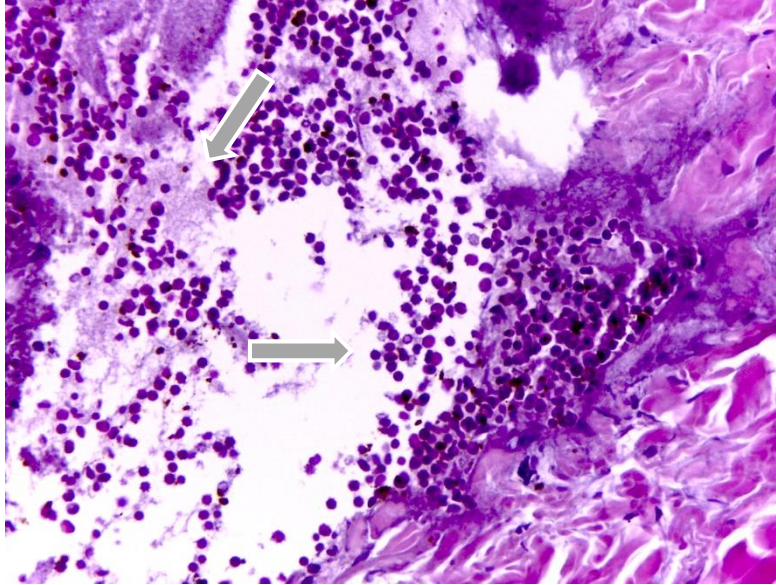
Hialinización: En el 60% de la muestra se observó tejido con una alta hialinización cuya característica era el mayor número y tamaño de gruesos haces de colágena que se encontraban dentro del tejido conjuntivo. Este hallazgo se podría relacionar con el proceso de cicatrización que previamente sufrió el tejido debido a las intervenciones quirúrgicas previas.



Fotomicrografía 4. 400x correspondiente a la alta hialinización de los tejidos palatinos. Se observa una discontinuidad en el tejido correspondiente a una zona de desgarre por parte de la aguja de anestesia.

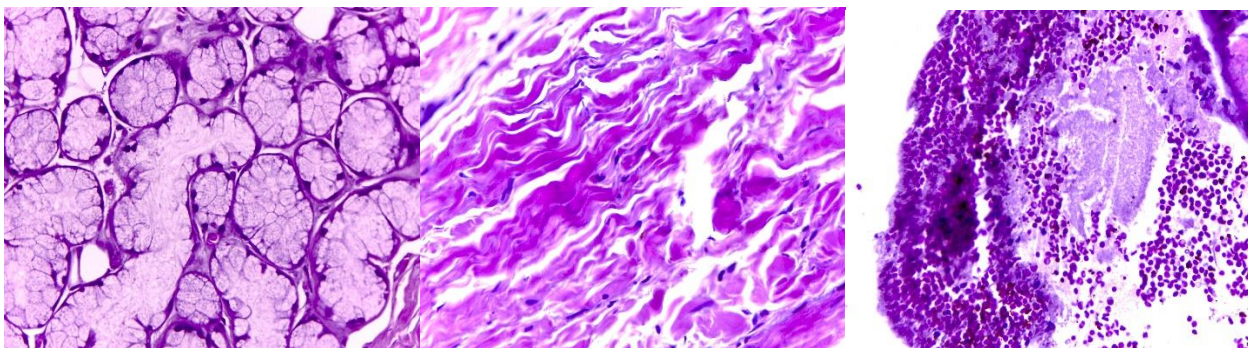
Infiltrado inflamatorio: Esta característica de los tejidos se clasificó de acuerdo a la cantidad de infiltrado inflamatorio observado en cada campo de visualización y se estableció de la siguiente forma: Leve, moderado y severo. Al mismo tiempo se logró identificar el tipo de infiltrado inflamatorio presente en cada campo de visualización de acuerdo al tipo celular presente y se clasificó como agudo (leucocitos polimorfonucleares: neutrófilos, basófilos, eosinófilos y células plasmáticas), crónico (leucocitos monomorfonucleares: monocitos, linfocitos y macrófagos) y mixto.

En 3 muestras (30%) no se observó la presencia de infiltrado inflamatorio, mientras que en 4 muestras (40%) se observó infiltrado inflamatorio leve de tipo crónico, de las cuales dos presentaban también restos de hemosiderina cerca o dentro de los vasos sanguíneos. En 2 muestras (20%) se observó un infiltrado inflamatorio moderado, en una de estas se observó un infiltrado de tipo mixto y en la otra se observó infiltrado inflamatorio tipo crónico. Solamente en una muestra (10%) se observó infiltrado inflamatorio severo de tipo mixto.



Fotomicrografía 5. 400x correspondiente a otros hallazgos donde se observa abundante infiltrado inflamatorio sobre una masa amorfa correspondiente a colonias bacterianas

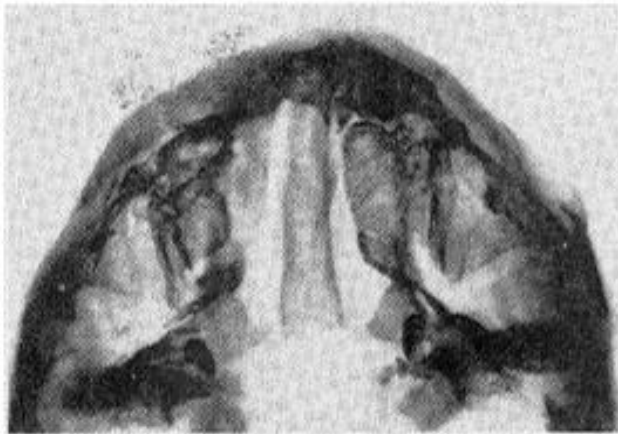
La observación de las muestras también permitió observar otros hallazgos tales como colonias bacterianas que se podían observar como una masa amorfa que se encontraba en sitios localizados dentro del tejido conjuntivo. Algunas de ellas, se encontraban en la luz de los vasos sanguíneos o entre la membrana basal del epitelio. También, se observó en un 30% de la muestra tejido glandular de tipo mucoso y mucina correspondiente a glándulas salivales menores.



Fotomicrografía 400x Se observa **6) Tejido glandular** **7) Gruesas fibras** de haces de colágeno como alta hialinización **8) infiltrado inflamatorio de tipo crónico embebido sobre una masa amorfa: colonias bacterianas.**

4.2 Discusión

Atherton (1999) en los estudios que realizó, sugiere que no existe evidencia de tejido óseo en el tejido cercano a la hendidura palatina y además de indicar que existe una reducción en la anchura de las crestas palatinas. Los huesos palatinos se ven afectados en el área de las crestas palatinas mostrando una reducción en su desarrollo. Avery (1964) aporta aún más, ya que reporta una reducción en la formación de cartílago (Atherton, 1999) (Avery, 1964). Esto es consistente con los hallazgos de este estudio, ya que en toda la muestra no se observó presencia de tejido óseo, calcificaciones o tejido cartilaginoso.



Microfotografía que evidencia la falta de tejido óseo cerca de la hendidura palatina en un feto de 16 semanas con PH (Avery, 1960).

La alta hialinización que fue observada en todos los tejidos observados en este estudio es un hallazgo compatible con la publicación de De Chalain, en la cual menciona que en los pacientes con labio y paladar hendido se encuentra una alta hialinización al observar los tejidos histológicamente (De Chalain, 2001).

En las referencias citadas, no se habla acerca de la aparición de colonias bacterianas en los tejidos procesados y del aumento en el infiltrado inflamatorio como se observó en los tejidos que fueron observados en este estudio.

4.3 Conclusiones

- El estudio realizado nos permitió identificar y describir la atrofia del epitelio en los tejidos adyacentes a la hendidura palatina como una respuesta a la cicatrización de las heridas y la manipulación continúa de estos tejidos.
- Con respecto a los hallazgos observados en el tejido conjuntivo podemos mencionar que la hialinización de los tejidos se ve aumentada debido al antecedente previo de intervención quirúrgica al que estos tejidos fueron sometidos.
- Los troncos nerviosos se observan disminuidos casi en la totalidad de las muestras observadas.
- En los tejidos adyacentes a la hendidura palatina observamos infiltrado inflamatorio de predominio crónico.
- Un hallazgo importante fue la presencia de colonias bacterianas en los tejidos que se aposaban sobre hemosiderina, algunas dentro de la luz del vaso y otras en sitios localizados del tejido conjuntivo.
- Los hallazgos histológicos observados en las muestras nos permitió conocer más la histología de estos tejidos y entender la arquitectura de estos tejidos.
- Estas descripciones histológicas nos permiten plantearnos nuevas inquietudes que darán lugar a nuevas oportunidades de investigación

4.4 Cronograma

	ENERO 15	FEBRERO 15	MARZO 15	ABRIL 15	MAYO 15	JUNIO 15	JULIO 15
PROTOCOLO	X	X	X				
RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	X	X	X	X	X	X	
PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS		X	X	X	X	X	
ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS					X	X	
ANÁLISIS DE RESULTADOS					X	X	
RESULTADOS						X	X

4.5 Referencias bibliográficas

Athernon J. (1967). A descriptive anatomy of the face in human fetuses with unilateral cleft lip and palate. University of Pittsburgh. Liverpool, England.

Athernon J. (1974). The natural history of the bilateral cleft. School of dental surgery and alder hey children's hospital. University of liverpool. Liverpool, England.

Avery, JD. (1960). The nasal capsule in cleft palate. Verhandlugen des I europaischen anatomen-kongresses in Strashburg. (congress report), 272-276.

Avery J, Chiego D. (2007). Principios de histología y embriología bucal con orientación clínica. 3ra Edic. Edit. Elsevier Mosby. Pág. 55 – 56. Madrid, España.

Avery, JD. Devine, RK. (1959). The development of ossification centers in the face and palate of normal and cleft palate human embryos. Cleft palate Bull, 9, 25-26.

Cordero, J. (2007). La geografía del Labio y Paladar Hendido en Guanajuato, De la ruralización a la urbanización de los pacientes. Consultado 09 de abril 2013. Disponible en <http://usic13.ugto.mx/revista/pdf/geografia.pdf>.

Cormack D. (1988). Histología de HAM. 9na Edic. Edit. Harla México. Pág. 605. México, D.F.

Ferguson, M. Honig, L. Slavkin, H. (1984). Differentiation of cultured palatal shelves from alligator, chick, and mouse embryos. Anat. Rec, 209, 231-249.

Ferguson, M. (1988). Palate development. Development 103 Supplement, 41-60.

Ferguson, M. (1994). Craniofacial malformations: towards a molecular understanding. Nature Genet, 6, 348-356.

Fitchett, J. Hay, E. (1989). Medial edge epithelium transforms to mesenchyme after embryonic palatal shelves fuse. Dev. Biol. 131, 455-474.

Gartner L, Hiatt J. (2011). Histología básica. Edit. Elsevier Saunders. Pág. 235. Barcelona, España.

Gómez de Ferraris, M. Campos A. (2010). Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental. 3ra Edic. Edit. Médica panamericana.

Jones, MC. (1988). Etiology of facial clefts: prospective evaluation of 428 patients. Cleft Palate J, 25(1), 16–20.

Sadler, T.W. (2009). Langman embriología médica. 11va Edic. Edit. Lippincott Williams and Wilkins. Wolters Kluwer Health.

Latham, R. (1971). The development, structure and growth pattern of the human mid-palatal suture. *J. Anat.*, London, 31-108.

Latham, R. (1973). Anatomy of the philtrum and columella: the soft tissue deformity in bilateral cleft lip palate. In Georgiade, N. G. (Ed). St. Louis, Mo., C.V. Mosby Company, 10-12.

Marazita, M.L. Mooney M.P. (2004). Current concepts in the embryology and genetics of cleft lip and cleft palate. *Clin Plastic Surg*, 31, 125-140.

Merritt, L. (2005). Understanding the embryology and genetics of cleft lip and palate. *Adv. Neonatal Care* Apr, 5(2), 64-71.

Miettinen, P. Chin, J. Shum, L. Slavkin, H. Shuler, C. Derynck, R. Werb, Z. (1999). Epidermal growth factor receptor function is necessary for normal craniofacial development and palate closure. *Nature Genet*, 22, 69-73.

Montenegro, M. Rosas M. (2005). Molecular basis on the face and palate development. *Int. J. Morphol.* 23(2), 185-194.

Mossey, P.A. Little, J. Munger, R.G. Dixon, M.J. Shaw, W.C. (2009). Cleft lip and palate. *Lancet*, 374 (9703), 1773-1785.

Mooney, M. Siegel, M. (1991). Premaxillary development in normal and cleft lip and palate in human fetuses using three-dimensional computer reconstruction. *Cleft palate: craniofacial journal*, 28 (1), 49-54.

Moore K, Persaud T. (2013). Embriología clínica. 9na Edic. Edit Elsevier Saunders. Barcelona, España.

Murray, J.C. (2002). Gene/environment causes of cleft lip and/or palate. *Clin Genet*, 61(4), 248-256.

Murray, J.C. (1997). Clinical and epidemiologic studies of cleft lip and palate in the Philippines. *Cleft Palate Craniofac*, 34(1):7-10.

Murray, J. Schutte, B. (2004). Cleft palate: Players, pathways and pursuits. *The Journal of Clinical Investigation*. 113 (12), 1676-1678.

Nancy, A. (2013). Ten cate's oral histology development, structure, and function. 8th Edit. Elsevier Mosby. United States of America.

Norton, N. (2008). Netter, Anatomía de cabeza y cuello para odontólogos. Elsevier Masson.

Oneida, A. Arosarena, M. (2007). Cleft lip and palate. *Otolaryngol Clin N Ame.* 40, 27-60.

Programa "Nuevo Amanecer". (2005). Documento de trabajo. Consultado 09 de abril 2013. Disponible en <http://www.plasticsurgery.com.mx/nuevo%20amanecer.htm>

Ross, H. (2008). Texto y atlas color con biología celular y molecular. 5ta Ed. Buenos Aires Médica Panamericana.

Ross, RB. Johnston M. (1978). Cleft lip and palate. Huntington, NY. Krieger Publishing.

Ross, RB. (1977). Facial growth in cleft lip and palate. In: Convers JM, ed. *Reconstructive plastic surgery*. Ed. WB Saunders, (4). Philadelphia.

Ross, M. Wojciech, P. (2012). *Histología Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecula*. 6ta edición. Editorial Médica Panamericana, 2-25.

Stark, R. (1954). The pathogenesis of harelip and cleft palate. *Plastic recons surg*, 13, 20-39.

Taya, Y. O'kane, S. Ferguson, M. (1999). Pathogenesis in cleft palate in TGF- β 3 knockout mice. Great Britain © The Company of Biologists Limited, 126, 3869-3879.

Thomason, H. Zhou, H. (2010). Cooperation between the transcription factors p63 and IRF6 is essential to prevent cleft palate in mice. *J Clin Invest*; 120(5):1561–1569.

Töndury, G (1961) Congenital anomalies of the face and associated structure on the mechanism of cleft formation. In Pruzansky, S (Ed.), Springfield, 85-101.

Trigos, I. Guzmán, M. (2003). Análisis de la incidencia, prevalencia y atención del labio y paladar hendido en México. *Cirugía Plástica*. 13(1), 35-39.

Vanderas, AP. (1987). Incidence of cleft lip, cleft palate, and cleft lip and palate among races: a review. *Cleft Palate J*, 24(3):216–225.

Veau, V. (1935). Hypotheses sur la malformation initiale. *Ann. Anat Pathol Anat normale*, 12, 389.