



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ANÁLISIS DE LA PLOIDÍA CELULAR EN LOS
DIFERENTES GRADOS DE DISPLASIAS EPITELIALES
ORALES.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

MONTSERRAT VALADEZ OROZCO

TUTORA: Esp. JESSICA TAMARA PÁRAMO SÁNCHEZ

ASESOR: Mtro. ALEJANDRO ALONSO MOCTEZUMA

Cd. Mx.

2019



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.



“Qué agradecer sea tu mantra de vida”, es lo que siempre dice mamá, y es que en sus palabras agradecer implica concientizar y valorar lo que el otro hace por ti, es saber que dedicó tiempo, energía y por supuesto amor, es por ello que aquí estamos.

A muy temprana edad entendí que estudiar en la Universidad Nacional Autónoma de México era un honor y un orgullo, ya que toda mi familia se forjó en sus aulas, pero no fue sino hasta que entoné mi primer “goya” oficialmente inscrita, que dimensioné la grandeza que implicaba. Gracias UNAM por estos maravillosos años, gracias Facultad de Odontología.

Hoy, soy el resultado de las personas que han recorrido conmigo esta senda, y es a todos ellos a quienes me debo.

Gabriela, Adelina, ustedes son las protagonistas de esta hazaña, ¡lo logramos! Solo nosotras tres sabemos lo que pasamos para llegar hasta aquí, no puedo más que bendecirlas por dar todo por mí. Abuelita, mi Lilizú, lo más intenso de este viaje ha sido darme cuenta de que somos iguales; sí, pertenecemos a diferentes generaciones y nuestra forma de pensar es completamente distinta, pero nuestra fuerza es la misma, nuestra esencia es la misma y es eso lo que más debo agradecerte. Mamá, en toda mi vida jamás he conocido a alguien que irradie tanta luz como tú, eres sin duda alguna la encarnación tangible del amor. Eres la dulzura de la vida, eres la inmensidad del mar, mi cobijo, mi apoyo y eres mi son jaliscience, gracias por bailar a mi lado en esta vida. Te amo, te admiro y te bendigo cada día. Te debo todo.

Dady Héctor, te agradezco con el corazón la decisión de elegirme como tu hija, gracias por todo lo que me enseñas, por tu amor, por la familia que me has dado y por el camino que hemos decidido recorrer juntos; por cada paso, cada tropiezo y por todo lo que nos falta. Héctor, Emiliano, mis Posis; gracias por ser los mejores hermanos y los más leales y pacientes cómplices del Universo, los adoro. Abuelito Neto, mi viejito narizón, gracias por la más sublime infancia, gracias por ser el más consentidor del mundo, gracias por la dulzura con la que me has amado y gracias seguir cuidando de mí hasta el día de hoy. Sofía, hermana mayor, gracias por tu amor infinito e incondicional y por el ejemplo de mujer extraordinaria que eres para mí. Señor Valadez, papá, gracias por todo lo bueno que hay de ti en mí, y gracias por todos los años de amor que me diste.



Pititistitis Fisita, te quiero con todo mi corazón, gracias por ser una parte fundamental de mi infancia y por supuesto, de toda mi vida. Quique, mi Juls estuviste conmigo en el proceso de selección y fuiste mi motivación para elegir CU, eres la persona que me ha demostrado que un puma brilla en cualquier parte del mundo, gracias. Neto, por ti puse los ojos en el Consejo Universitario, quería ser como tú, y siguiendo tus pasos me convertí en Consejera Universitaria de la Comisión de Trabajo Académico, y ha sido lo mejor de mi vida universitaria, gracias por abrir el camino.

Karlita, mi Bimbus, prima consentida, gracias por tu apoyo y tu cariño siempre. Susanita, admiro tu entereza y fortaleza, hoy más que nunca sé que eres el merengue de la familia Orozco, gracias por eso.

Tío Armando, tía Lupita, gracias por mostrarme el camino que quiero seguir en mi vida, ustedes son el motivo por cuál yo elegí esta profesión, es su ejemplo el que día a día me inspira a superarme.

Durante estos años, conocí personas maravillosas que se convirtieron más que en amigos, en mis hermanos. Emilio, a ti especialmente te debo mucho de los que soy ahora, gracias por mostrarme lo fuerte que soy, por transmitirme tu seguridad, por cuidarme de tantas formas, por todo lo que me enseñaste y por todo lo que compartimos juntos. Karen, gracias por ser equilibrio, gracias por ser sensatez y confianza plena, gracias porque siendo dos polos opuestos supimos coincidir, te quiero mucho. Lexy, después de tantos años seguimos juntas, ridículas y felices, te quiero.

Pamela, Samani, amigas de toda la vida, a pesar del tiempo, las llevo en el corazón. Marisa, mi gemela fantástica, gracias por la hermosa amistad que tenemos.

Mis amados Chosen Ones, si ser Consejera Universitaria ha sido lo más extraordinario que me ha brindado la Universidad, lo mejor del Consejo son sin lugar a dudas ustedes, Gonzalo, Berardo, Luis, Andrea, Bruno, Alberto, Guillermo y Valeria, ustedes hicieron de esta experiencia la mejor de la vida.

Mary, Moni, mis queridas Danzarinas, gracias por siempre cuidarme, procurarme y estar al pendiente de mí; gracias por las lecciones de vida, por la compañía, por las risas y el cariño que nos damos día a día.

A los pacientes que estuvieron a mi cargo en la Facultad, gracias por depositar en mí su confianza, por ser comprensivos y detallistas.



Gracias a todos mis profesores por contribuir a mi formación.

Gracias Doctor Saracho por la confianza y fe que siempre ha tenido en mí.

Gracias a mis maestras Doctora Picco, Doctora López, por sus enseñanzas.

Gracias Adal por enseñarme a no rendirme, digan lo que digan. Lorenzo,

Eli, gracias por creer en mí.

Querido Cuauhtémoc, eres mi mejor amigo, gracias por escucharme y apoyarme en todo, gracias por el tiempo que hemos compartido y por ser el mejor equipo.

Gracias Doctora Jéssica Tamara Páramo Sánchez, mi tutora, por todo lo que aprendimos juntas en esta travesía que fue hacer la tesina, sé que para ambas será una experiencia que no olvidaremos.

Doctor Luis Fernando Jacinto, gracias por su paciencia y su compromiso para llevar a cabo la experimentación. Gracias Doctor Alejandro Alonso Moctezuma por buscar el tiempo para asesorarme.

Y el agradecimiento más especial, es para ti, Fernando Ernesto Díaz Príncipe, mi peruano, mi amor, mi Sol. Llegaste a mi vida sin que lo esperara, y en un santiamén te convertiste en todo. Gracias por estar a mi lado en este momento tan especial para mí. Gracias por tu apoyo, tu paciencia y por acompañarme en cada paso. Gracias por demostrarme que todo es posible cuando se desea con el corazón, y aún más, cuando se ama. Te amo a través del tiempo, la distancia y el espacio.

De verdad, mil gracias a todos. Por mi raza hablará el espíritu.



ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| I. INTRODUCCIÓN | 7 |
| II. ANTECEDENTES..... | 9 |
| III. MARCO TEÓRICO | 11 |
| 3.1 La célula | 11 |
| 3.1.1 Núcleo celular | 11 |
| 3.1.2 Cromatina | 13 |
| 3.2 El Ciclo celular..... | 14 |
| 3.2.1 Interfase..... | 15 |
| 3.2.2 Mitosis..... | 15 |
| 3.3 Ploidía celular..... | 18 |
| 3.4 Epitelio..... | 19 |
| 3.4.1 Polaridad celular | 23 |
| 3.4.2 Mecanismos de unión celular..... | 24 |
| 3.5 Epitelio bucal | 26 |
| 3.5.1 Características histológicas del epitelio bucal | 27 |
| 3.6 Displasias epiteliales orales..... | 29 |
| 3.6.1 Clasificación de las displasias epiteliales orales | 30 |
| 3.6.2 Características citológicas y arquitectónicas de las displasias epitelial orales..... | 33 |
| 3.7 Análisis de la ploidía celular en las displasias epiteliales orales | 35 |
| IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 36 |
| V. JUSTIFICACIÓN | 37 |



| | |
|---|-----------|
| VI. OBJETIVOS | 38 |
| 6.1 General..... | 38 |
| 6.2 Específicos | 38 |
| VII. MATERIALES Y MÉTODO | 39 |
| 7.1 Tipo de estudio..... | 39 |
| 7.2 Población de estudio y muestra..... | 39 |
| 7.3 Aspectos éticos | 39 |
| 7.4 Metodología..... | 40 |
| VIII. RESULTADOS | 45 |
| IX. DISCUSIÓN..... | 49 |
| X. CONCLUSIONES..... | 51 |
| XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 52 |



I. INTRODUCCIÓN

El epitelio es un tejido de revestimiento y protección, que se encuentra en prácticamente todo el organismo, siendo la cavidad bucal la zona anatómica en la cuál es más accesible para su inspección y estudio.

La palabra “cáncer” se ha convertido sin duda en la más temida de ser escuchada cuando se está esperando un diagnóstico. El cáncer oral en México representa entre el 1 y 5% de las neoplasias malignas.¹ Es por ello que el estudio de las displasias epiteliales orales, en sus distintos grados, se ha posicionado como un punto clave para la prevención de la posible transformación de estas a un proceso maligno.

Si bien la biopsia junto con el análisis histológico de las muestras es, hasta el día de hoy, el principal parámetro de diagnóstico y prevención, con el fin de descifrar los factores que determinarán la malignización de un tejido, han surgido diversas técnicas que buscar ir más allá de la observación de los tejidos. Una de ellas es el análisis de la ploidía celular.

El análisis de la ploidía celular consiste en identificar por medio de la citometría de imagen las características morfológicas y estructurales del núcleo celular, así como contabilizar la cantidad de cromosomas que este contiene para determinar el grado de anormalidad que presenta una célula.

En este tenor, será la aneuploidía el signo que podría alertarnos de que algo está mal, ya que se considera una alteración cromosomal que advierte la predisposición celular hacia una transformación maligna.

Tratar de predecir el curso de una displasia para prevenir su malignización, representa hoy por hoy uno de los grandes retos de la Patología Bucal, ya que se traduciría en tratamientos más tempranos, específicos y eficaces, y por ende en una mayor esperanza de vida para el paciente.



El propósito de este trabajo es precisamente ampliar la comprensión del comportamiento de la célula a nivel del núcleo, cuando atraviesa por un proceso displásico.



II. ANTECEDENTES

El análisis de las alteraciones de la mucosa en cabeza y cuello ha sido crucial en el avance de la comprensión de las lesiones potencialmente malignas. Aunque Baillie y su Real Comité de la Sociedad en Edimburgo fue quien definió el término premalignidad en 1806, quien aplicó el concepto por primera vez fue Sir James Paget en 1851, enfocándose específicamente en la región oral al proponer que los fumadores de pipa con leucoqueratosis o "parche del fumador", eran propensos a desarrollar cáncer oral. Posterior a ello, Gibb denomina como premaligno al parche eritematoso de las cuerdas vocales y Schwimmer lo utilizó el concepto al hablar de leucoplasia en el dorso de la lengua o "parche blanco de glositis sifilítica".¹⁴

Fue en 1932 cuando Broders habló por primera vez del carcinoma in situ utilizando un ejemplo en laringe. En la actualidad existe una amplia gama de lesiones premalignas en cabeza y cuello, pero establecer un pronóstico aún es complejo ya que son varios los aspectos que deben tomarse en cuenta al momento de valorar una lesión.¹⁴

En la cavidad oral puntualmente, la displasia epitelial afecta las mucosas y se traduce como una alteración morfológica que modifica la normalidad histológica de los tejidos, lo cual puede volverlos propensos a la malignidad.¹⁴

La definición actual de displasia epitelial engloba una combinación variable de fenómenos microscópicos que indican un desorden de la maduración epitelial y una alteración de la proliferación celular.¹⁴

Boveri, Hertwig y sus colaboradores, observaron una clara relación entre el número de cromosomas, el tamaño del núcleo y de la célula. Fenómeno que aún continúa siendo foco de discusiones y estudios. En los años 50, tras el estudio de múltiples sistemas celulares se establece una relación de



proporcionalidad casi directa entre la ploidía, el número de juegos completos de cromosomas, y el tamaño de la célula, considerándose una propiedad casi universal.¹⁴

Una de las hipótesis que intenta explicar este fenómeno se limita a considerar el número de copias de genes, que conllevaría como efecto final el incremento del tamaño celular.¹⁴

III. MARCO TEÓRICO.

3.1 La célula

La célula es la unidad estructural y funcional del cuerpo humano, esta se compone por núcleo y citoplasma; el núcleo contiene ácido desoxirribonucleico (ADN) y ácido ribonucleico (ARN), que son las estructuras fundamentales para la vida. A su vez, la célula contiene elementos más pequeños, denominados organelos, los cuales se encargan de llevar a cabo las distintas actividades que realiza la célula. ^{2,5}

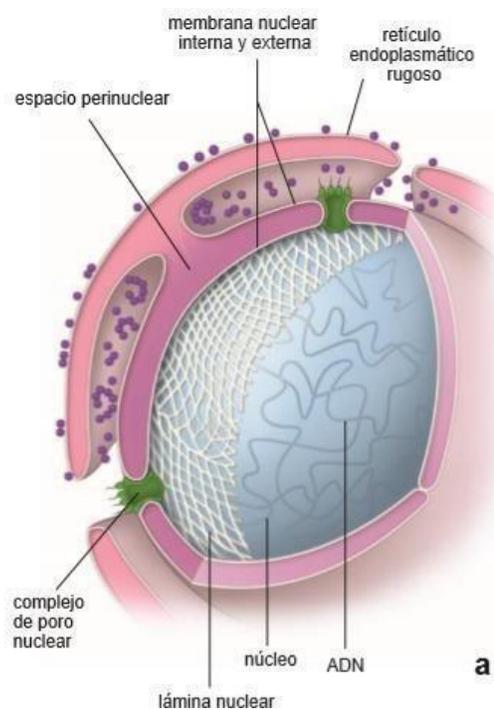


Figura 1 Componentes del núcleo celular.

3.1.1 Núcleo celular

En todas las células, excepto en los eritrocitos maduros y las plaquetas de la sangre, se encuentra un núcleo. Es un compartimiento único limitado por una membrana que contiene toda la información genética. ^{3,5}

Como se menciona anteriormente, el núcleo contiene información genética, junto con la maquinaria para la duplicación del ADN y la transcripción y el procesamiento del ARN. El núcleo de una célula que no está en interfase,

está formado por los siguientes componentes (Figura 1)⁶:



Cromatina: Es el material nuclear organizado como eucromatina o heterocromatina. Contiene el ADN asociado con una masa aproximadamente igual de proteínas nucleares diversas que son necesarias para la función del ADN.^{2,6}

Nucléolo: Un ente que se encuentra dentro del núcleo que contiene los genes de ARN ribosómico (ARNr) transcripcionalmente activos, ARNr y proteínas. El nucléolo es el sitio de síntesis del ARNr y contiene proteínas reguladoras del ciclo celular.^{2,6}

Envoltura nuclear: La cual es un sistema de doble membrana que rodea el núcleo de la célula.^{2,6}

La envoltura nuclear está constituida por dos membranas concéntricas separadas por un espacio perinuclear. La membrana nuclear interna se asocia a la lámina nuclear, la cromatina y las ribonucleoproteínas. La membrana nuclear externa se continúa con las membranas del retículo endoplásmico y puede tener ribosomas asociados.¹

La membrana nuclear está perforada por numerosos poros que establecen una conexión entre el citosol y la luz nuclear que contiene la cromatina.² El núcleo contiene de uno a cuatro nucléolos, los cuales son cuerpos redondos, densos, constituidos por el ARN contenido en el núcleo. Éstos no poseen una membrana limitante.⁶

3.1.2 Cromatina

Las moléculas de ADN no se encuentran en el núcleo por sí solas, sino que se encuentran en forma de cromatina, una sustancia formada por macrocomplejos moleculares de ADN, proteínas y en ocasiones ARN.⁶ El núcleo contiene ADN enrollado alrededor de proteínas denominadas histonas para formar los nucleosomas, que son estructuras globulares que se repiten en forma de cuentas en una cuerda. La tira de nucleosomas se enrolla en filamentos de 30 nm de diámetro que forman la estructura de la cromatina.^{5,8} Figura 2.

La función de la cromatina es fundamentalmente empaquetar el ADN con diferentes estructuras en función de la fase del ciclo celular. La cromatina hace posible que todo el ADN quepa en el núcleo, protege al ADN de posibles daños, modula la expresión genética y refuerza las moléculas de ADN durante la división celular cuando se someten a fuerzas de tracción.⁸

La cromatina se condensa en forma de cromosomas separados, que se pueden visualizar durante la mitosis (o la meiosis). Durante la interfase (fases G1, S y G2 del ciclo celular) no se pueden visualizar los cromosomas individuales como tal, pero están presentes en un estado no condensado o difuso.²

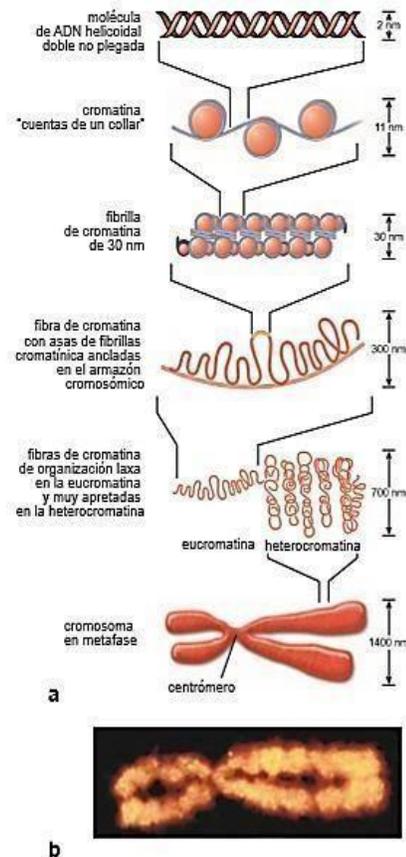


Figura 2 a) Pasos secuenciales en la condensación de la cromatina nuclear b) Estructura del cromosoma 2 humano en metafase, observado por un microscopio de fuerza atómica. 20 000 X.⁵



Durante la replicación celular es posible que se produzca una mayor condensación en distintos cromosomas cuando la cromatina forma grandes dominios en bucle gracias al acoplamiento a proteínas de unión al ADN. La distribución de la cromatina no es uniforme, lo que refleja distintos grados de desplegamiento en función de si los genes están siendo transcritos. La eucromatina aparece como áreas transparentes a los electrones poco teñidas y representa ADN celular activamente transcrito y supone aproximadamente un 10% de la cromatina total. La heterocromatina se ve como una zona de tinción densa, frecuentemente adyacente a la membrana nuclear, es inactiva para la transcripción y supone un 90% aproximadamente de la cromatina total.^{2,5,8}

3.2 Ciclo celular

Una cualidad fundamental para la vida es la creación de nuevas células, ya que de esta forma se mantiene un equilibrio entre la muerte y renovación celular.³

Las células se reproducen mediante la replicación de sus contenidos y su división en dos células hijas. Las fases implicadas en la renovación células se engloban en el denominado ciclo celular.⁴

El Ciclo Celular representa una secuencia autorregulada de fenómenos que controla el crecimiento y la división celular,¹ y tiene dos fases principales: la **Interfase**, que representa el crecimiento continuo de la célula y la **Fase M** (mitosis), caracterizada por la división del genoma. Otras tres fases, fase G1 (gap1), fase S (síntesis), y fase G2 (gap2), subdividen la interfase.⁶

3.2.1 Interfase

La fase G₀ es un estado de reposo en el cual, la célula puede permanecer durante días, meses o años antes de volver a entrar al ciclo celular.²

La fase G₁ suele ser la más larga y la más variable del ciclo celular, y comienza al final de la fase M. Durante la fase G₁, la célula reúne sustancias nutritivas y sintetiza el ARN y las proteínas necesarias para la síntesis del ADN y la duplicación cromosómica. El progreso celular a lo largo de esta fase se verifica por dos puntos de control: el primer punto de control es de restricción, el cual es sensible al tamaño celular, al estado de los procesos fisiológicos de la célula y a sus interacciones con la matriz extracelular, mientras que el segundo punto de control de daño del ADN verifica la integridad del ADN recién duplicado. De esta forma, si el ADN presenta un daño irreparable, no permite que la célula ingrese en la fase S. Después, la célula sufre una muerte celular programada (apoptosis).⁶

3.2.2 Mitosis

Profase

- Fase en la cual tienen lugar cuatro cambios estructurales. Figura 3: La cromatina filamentososa del núcleo se condensa en estructuras denominadas cromosomas.⁶
- Cada cromosoma se divide formando dos cromátidas. Estas cromátidas se alinean

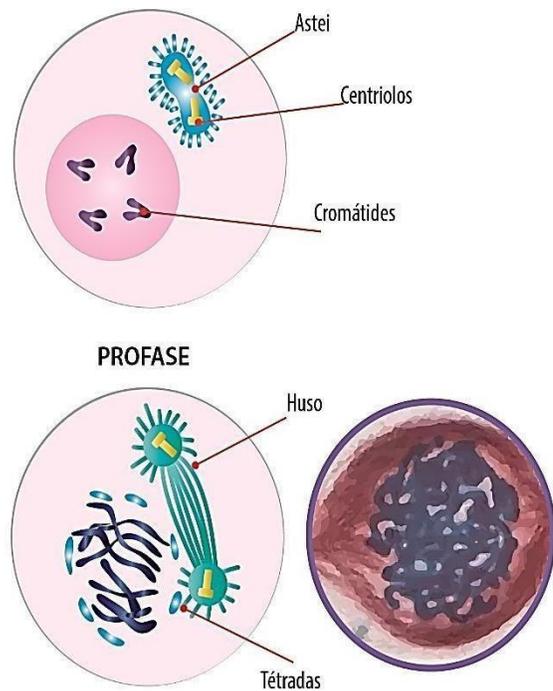


Figura 3 Profase.^{F.D.}

lo largo del área central de la célula, la denominada placa ecuatorial.⁶

- Cada pareja de cromátidas se une a un cuerpo esférico denominado centrómero. La pareja de centriolos se duplica y las cromátidas acompañan la migración de los centriolos a los extremos opuestos de la célula. Las fibras no formadas entre los centriolos que migran son las fibras del huso y las que se forman alrededor de los centriolos son los rayos astrales o ásters.⁵
- En este momento desaparece el nucléolo y sus componentes se unen a las cromátidas. Finalmente, la membrana nuclear se rompe y se transforma en elementos granulares, tales como el RE.⁵

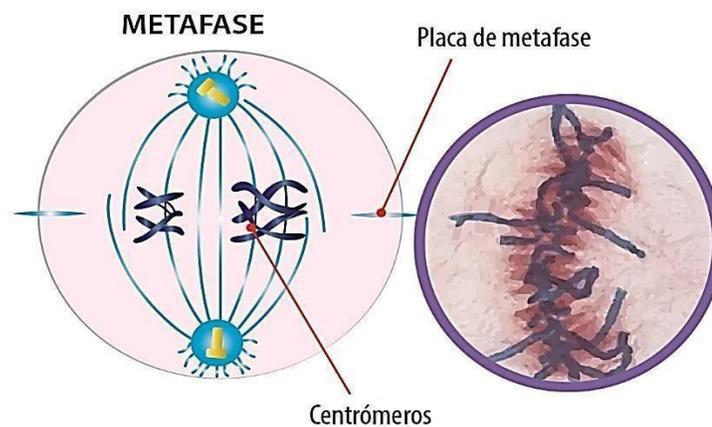


Figura 4 Metafase. ^{F.D}

Metafase

El siguiente paso es la metafase, en el cual las cromátidas se han desplazado al centro de la célula. Están ordenadas a lo largo de la placa ecuatorial en

ángulo recto con respecto al eje longitudinal del huso. Las dos cromátidas de cada cromosoma están unidas centralmente a la placa ecuatorial por un centrómero. Estas cromátidas se dividen entonces en dos grupos de cromosomas.⁶ Figura 4.

Anafase

Posteriormente, en la anafase, los cromosomas hijos se desplazan hacia los polos opuestos de la célula con el complemento completo de 46 a cada extremo. Se cree que esto

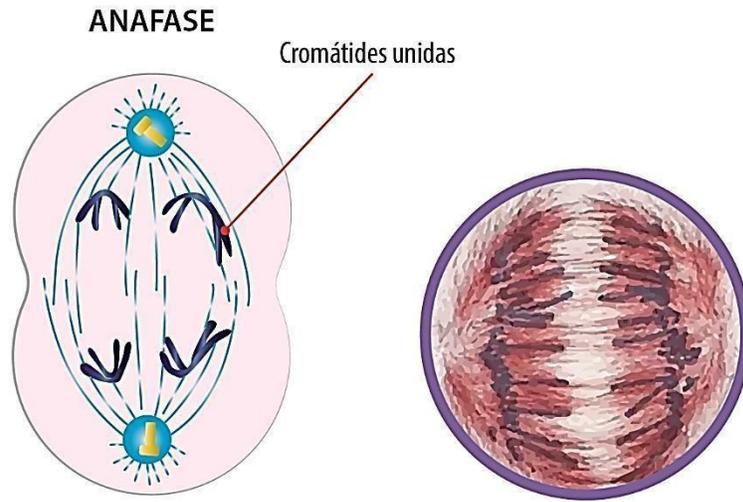


Figura 5 Anafase. F.D.

sucede por el movimiento de los microtúbulos cromosómicos que atraen las cromátidas hacia los polos. Alrededor de la mitad del cuerpo de la célula empieza a aparecer una constricción.⁷ Figura 5.

TELOFASE

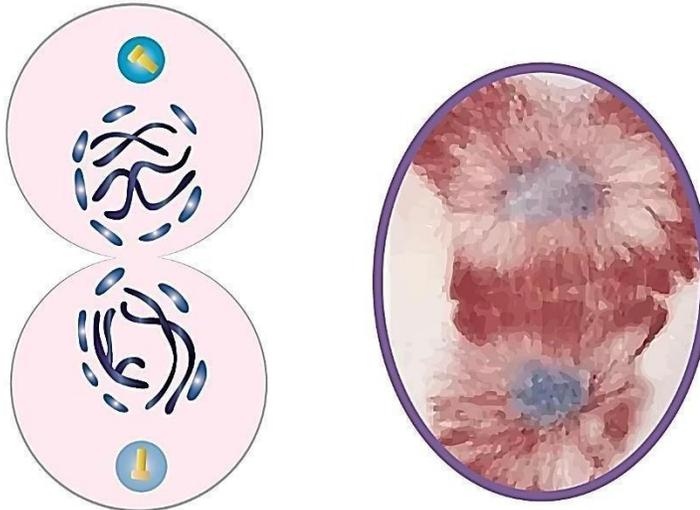


Figura 6 Telofase. F.D.

Telofase

Por último, en la telofase los cromosomas se liberan de los microtúbulos cromosómicos y los microtúbulos se desintegran. A continuación, los cromosomas se alargan y dispersan,

perdiendo su identidad y recuperando la apariencia filamentosa de la cromatina. Tanto los nucléolos del núcleo como la envoltura nuclear reaparecen de nuevo.⁶



A medida que cada núcleo madura, el surco de división que aparece en el medio de la célula es cada vez más profundo hasta que se separan las dos células hijas.⁶ Figura 6.

3.3 Ploidía celular

La cantidad de células presentes en la célula se denomina Ploidía, y se clasifica como:

Euploidía.

El término euploide se refiere a un complemento cromosómico que es un múltiplo exacto del número haploide. Por lo tanto, los haploides y los diploides son casos de euploidía normal. Los tipos de euploides que tienen más de dos conjuntos de cromosomas son "poliploides", como "triploide" ($3n$), "tetraploide" ($4n$), "pentaploide" ($5n$), etc.⁹

Aneuploidía

Las células dependen de mecanismos precisos para garantizar una segregación cromosómica precisa durante la mitosis y la meiosis para mantener su estado euploide. Los errores en la ejecución fiel de estos mecanismos causan una desregulación de los cromosomas que resulta en la generación de células hijas 'aneuploides' (es decir, 'no euploides'). La aneuploidía se define como un número de cromosomas que se desvía de un múltiplo del conjunto haploide, y se asocia con anomalías en la función celular, como de las displasias epiteliales, y por supuesto en el cáncer. La aneuploidía refleja las ganancias o pérdidas de los cromosomas completos, lo que lleva a la aneuploidía 'cromosómica completa', así como los reordenamientos no balanceados de los cromosomas, incluidas las deleciones, amplificaciones o translocaciones de grandes regiones del genoma que dan como resultado un aneuploidía 'estructural'.^{9,10}



3. 4 Epitelio

El Epitelio es un tejido fundamental no vascularizado compuesto de células cohesivas que recubre a las superficies y a las cavidades internas corporales, además de formar a las unidades funcionales de las células secretoras.^{2,3}

Las funciones básicas del epitelio son: protección (piel), absorción (intestino delgado y grueso), transporte de material en la superficie (mediado por los cilios), secreción (glándulas), excreción (túbulos renales), intercambio de gases (alveolos pulmonares) y deslizamiento entre las superficies (mesotelio).²

Al no disponer de vascularidad, el epitelio se nutre por medio de difusión, a diferencia del tejido conjuntivo. Su naturaleza cohesiva está dada por moléculas de adhesión celular y diversos complejos de unión. El epitelio se encuentra fijo a la lámina basal, dicha lámina en unión con componentes del tejido conjuntivo, contribuyen a la formación de la membrana basal. La polaridad estructural y funcional son características del epitelio.³

La clasificación del epitelio es descriptiva y tiene su fundamento en dos factores importantes: la cantidad de estratos celulares y la forma de las células superficiales. La terminología, por consiguiente, refleja sólo la estructura y no la función.⁶ Figura 7.

Así el epitelio se describe como: simple, cuando tiene un solo estrato celular de espesor, y estratificado cuando posee dos o más.⁶

Las células individuales que componen al epitelio pueden ser: planas o escamosas, cuando el ancho de las células es mayor que su altura, cúbicas, cuando el ancho, la profundidad y la altura son aproximadamente iguales y cilíndricas, cuando la altura de las células excede su anchura de manera considerable.⁶



De tal manera que existen tres grupos divididos de acuerdo al número de estratos celulares y a la forma bidimensional de las células al ser observadas bajo el microscopio²:

Epitelio simple.

Formado por una sola capa de células, en función de la altura y anchura de sus células, se subdivide en:

- Escamoso simple.
- Cúbico simple.
- Cilíndrico simple.

El nombre específico de endotelio se aplica para el epitelio simple que reviste los vasos linfáticos y sanguíneos. Se denomina mesotelio al epitelio simple que reviste todas las cavidades corporales (peritoneo, pericardio, pleura)².

Epitelio estratificado:

Está constituido por dos o más capas celulares. Este tipo de epitelio se subclasifica en función de la forma de las células en su capa más externa o superficial, existiendo:

- Epitelio escamoso estratificado.
- Cúbico estratificado.
- Cilíndrico estratificado.

El epitelio escamoso estratificado es el más frecuente y puede clasificarse en moderadamente queratinizado (denominado también no queratinizado) y muy queratinizado. Las células de la capa más externa de un epitelio moderadamente queratinizado pueden conservar los núcleos (p. ej., vagina o esófago). No existen núcleos en la capa más externa del epitelio estratificado escamoso muy queratinizado (p. ej., la epidermis de la piel). Las células basales que se alinean a lo largo de



la lámina basal tienen actividad mitótica y sustituyen a las células en diferenciación de las capas más altas.²

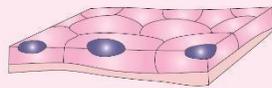
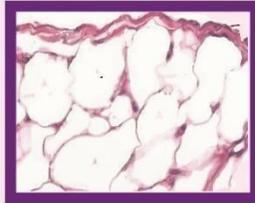
Epitelio pseudoestratificado:

Está constituido por células basales y cilíndricas que reposan en la membrana basal. Sólo las células cilíndricas llegan a la superficie luminal. Como los núcleos de las células basales y cilíndricas se reconocen a distintas alturas, se tiene la impresión de que es una organización de epitelio estratificado. Dentro de este grupo encontramos los siguientes:

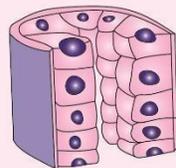
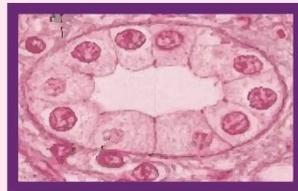
- El epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado de la tráquea.
- El epitelio cilíndrico pseudoestratificado con estereocilios del epidídimo.
- El epitelio transicional de las vías urinarias, denominado también urotelio.²

TEJIDOS EPITELIALES SIMPLES.

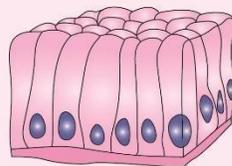
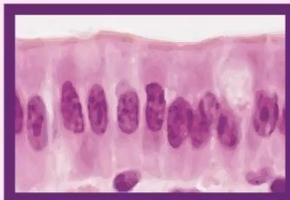
Tipo: Epitelio plano simple.



Tipo: Epitelio cúbico simple.

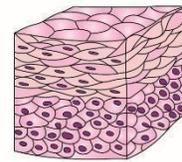
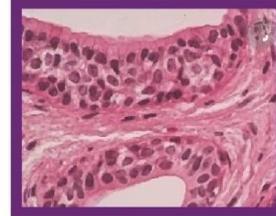


Tipo: Epitelio cilíndrico simple.

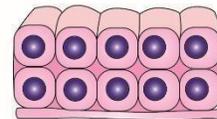


TEJIDOS EPITELIALES ESTRATIFICADOS Y PSEUDOESTRATIFICADOS.

Tipo: Epitelio cúbico estratificado.



Tipo: Epitelio cilíndrico estratificado



Tipo: Epitelio pseudoestratificado.

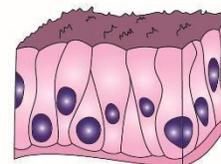
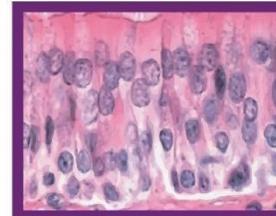


Figura 7 Clasificación del epitelio.^{F.D.}



3.4.1 Polaridad celular

Las células del epitelio se caracterizan por su organización notablemente estructurada y delimitada, debido a que cada superficie celular tiene componentes bioquímicos específicos.^{2,3}

Aunado a sus características morfológicas, dichos componentes definen la polaridad funcional de cada uno de los niveles celulares, que son los siguientes:

- **Dominio apical:** La región libre o apical está siempre dirigida hacia la superficie exterior o luz de una cavidad o conducto cerrados.⁵
- **Dominio lateral:** La región lateral se comunica con células adyacentes y se caracteriza por áreas especializadas de adhesión.⁵
- **Dominio basal:** Está asociado a la lámina basal, que separa el epitelio del tejido conjuntivo subyacente. La lámina basal está reforzada por componentes del tejido conjuntivo. El complejo lámina basal-tejido conjuntivo se denomina membrana basal.⁶

Individualmente, estos dominios presentan una disposición y función determinada.

El dominio apical de algunas células epiteliales puede mostrar tres tipos de diferenciación:

- **Cilios:** Prolongaciones citoplasmáticas móviles.³
- **Microvellosidades:** Prolongaciones citoplasmáticas que se extienden desde la superficie celular.³



- **Estereocilios:** Microvellosidades de una gran longitud.³

3.4.2 Mecanismos de unión celular

La integridad estructural del epitelio se mantiene gracias a la adhesión de las células que lo conforman entre sí y con la matriz extracelular estructural. Dicha adhesión está mediada por dos sistemas:²

- Las proteínas de la membrana celular que actúan como moléculas especializadas de adhesión celular.
- Áreas especializadas de la membrana celular incorporadas a las uniones celulares.³

En cuanto a las primeras, existen dos clases principales de moléculas de adhesión celular:

- **Moléculas dependientes del Ca²⁺:** Entre las que se incluyen cadherinas y selectinas.
- **Moléculas independientes del Ca²⁺:** Las cuales constituyen la superfamilia de las inmunoglobulinas y las integrinas.¹

Las células emplean distintas moléculas de adhesión para mediar sus uniones celulares. Las integrinas están implicadas básicamente en las interacciones entre la célula y la matriz extracelular. Las cadherinas y las integrinas establecen enlaces entre el citoesqueleto interno de la célula y el exterior de otra célula (cadherinas) o la matriz extracelular (integrinas).²

Las cadherinas, son una familia de moléculas dependientes del Ca²⁺ con un importante papel en la adhesión celular y la morfogénesis. La pérdida de cadherinas se asocia al desarrollo de un comportamiento invasivo por parte de las células tumorales (metástasis).²



Las selectinas son, al igual que las cadherinas, moléculas de adhesión dependientes del Ca^{2+} . A diferencia de las cadherinas, las selectinas se unen a los hidratos de carbono y pertenecen al grupo de las lecitinas (del latín lectum, seleccionar). Cada selectina tiene un dominio de reconocimiento de hidratos de carbono (CRD) con afinidad por unirse a un oligosacárido específico unido a una proteína (glucoproteína) o un lípido (glucolípido). La configuración molecular del CRD viene controlada por el calcio.²

Las tres clases principales de selectinas son las siguientes:

- **P-selectina**, presente en las plaquetas y células endoteliales activadas que revisten los vasos sanguíneos.
- **E-selectina**, presente en las células endoteliales activadas.
- **L-selectina**, presente en los leucocitos. La P-selectina se almacena en vesículas citoplasmáticas dentro de las células endoteliales. Cuando estas células se activan por las señales responsables de la inflamación, aparecerá la P-selectina sobre su superficie.²

Las integrinas se distinguen de las cadherinas, selectinas y miembros de la superfamilia de la Ig en que son heterodímeros formados por dos subunidades α y β asociadas codificadas por dos genes distintos. Existen unos 22 heterodímeros de integrinas con 17 formas de la subunidad α y 8 de la β .²

Existen tres tipos de uniones celulares:

- Uniones Oclusivas, que forman una barrera impermeable.
- Uniones de Anclaje, que ofrecen cierta tensión mecánica.
- Uniones Comunicantes, que permiten el movimiento de las moléculas entre las células.⁴



Dentro de las uniones de anclaje encontramos a la macula adherens, denominada desmosoma [gr. desmós, unión + sóoma, cuerpo]. Estas uniones están ubicadas en la región lateral de la célula, a la manera de múltiples puntos de soldadura y permiten el contacto célula-célula directo porque proveen sitios de adherencia para los filamentos intermedios. Cada vez existen más indicios que indican que la macula adherens, además de su función estructural, participa en la morfogénia y la diferenciación.⁶

3.5 Epitelio bucal

Los tejidos blandos que recubren la cavidad oral, conforman una membrana denominada mucosa. La mucosa en general está compuesta por epitelio y tejido conectivo subyacente llamado corion o lámina propia. Y ambos tejidos se encuentran conectados por la membrana basal.⁴

La mucosa de la cavidad bucal se clasifica de acuerdo a su función y localización en:

Mucosa de revestimiento: Es la mucosa que tapiza las mejillas, el paladar blando, las porciones lateral y ventral de la lengua e interna de los labios. Rara vez percibe el impacto directo de la masticación, por lo tanto, el epitelio que lo forma es plano estratificado (no queratinizado). Además, por debajo del corion se encuentra otra capa conectiva denominada submucosa, que le confiere gran movilidad.⁴

Mucosa masticatoria: Corresponde a la zona de la encía y paladar duro. Esta mucosa es la que recibe toda la fuerza que se genera durante la masticación. El epitelio que la constituye es plano estratificado paraqueratinizado, y el corion puede ser más o menos fibroso.



La submucosa está ausente y, por lo tanto, se fija fuertemente al hueso y carece de movilidad.⁴

Mucosa especializada o sensitiva: Se denomina así a la superficie dorsal de la lengua porque la mayoría de las papilas linguales poseen intraepitelialmente corpúsculos o botones gustativos. Estas estructuras son las encargadas de la recepción de estímulos para captar las diferentes sensaciones gustativas.⁴

3.5.1 Características histológicas del epitelio bucal

Como se ha mencionado, el epitelio tiene una disposición en capas, que son las siguientes: Figura 8.

Estrato basal o germinativo

Está constituido por una sola capa de células de forma cúbica o cilíndrica. El núcleo es redondo u oval y el citoplasma es intensamente basófilo. Este estrato está en contacto con la lámina propia.⁷

Estrato espinoso

Se encuentra formado por varias hileras de queratinocitos, las células que lo constituyen son poligonales y de núcleos redondos, de cromatina laxa, de citoplasma ligeramente basófilo, caracterizado por presentar a los desmosomas, los cuales parecen atravesar los espacios intercelulares.⁷

Estrato granuloso

Está constituido por dos o tres capas de células aplanadas o escamosas con un núcleo pequeño de cromatina densa. El citoplasma está lleno de gránulos de queratohialina intensamente basófilos.⁷

Estrato córneo

Se caracteriza por estar constituido por células planas sin núcleo aparente y con citoplasma fuertemente eosinófilo; estas células reciben el nombre de corneocitos (o queratinocitos).⁷

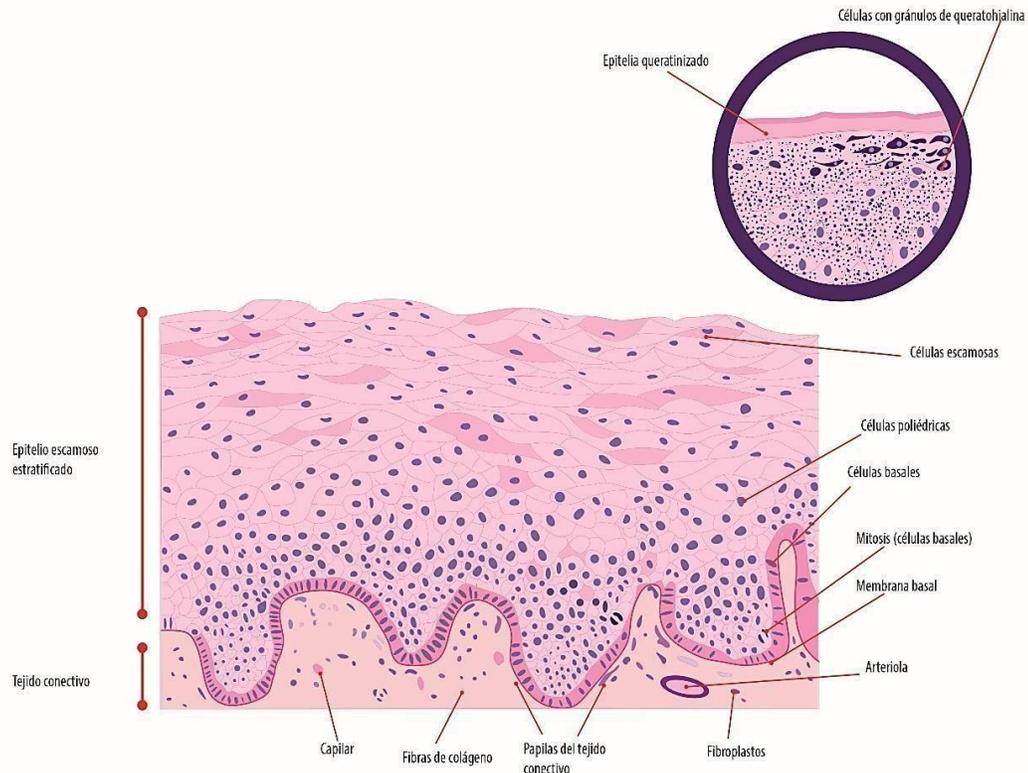


Figura 8 Estratos del Epitelio^{F.D.}



3.6 Displasias epiteliales orales

Hablamos de displasia epitelial (DE) ante la presencia microscópica de una combinación variable de fenómenos indicativos de un desorden de la maduración epitelial y de una alteración de la proliferación celular. La displasia epitelial (DE) de la mucosa oral constituye en la actualidad una alteración morfológica que traduce una serie de modificaciones de la normalidad histológica y que se correlaciona con la capacidad de malignización de su epitelio escamoso.¹¹

Las lesiones potencialmente malignas de la mucosa oral, consisten en un grupo de desórdenes celulares, que deben diagnosticarse en su etapa temprana y ser vigilados debido a su capacidad de convertirse en cáncer. La leucoplasia oral, la fibrosis submucosa oral y la eritroplasia oral son las enfermedades bucales más comunes que tienen una tasa de transformación maligna elevada.¹¹

Los cambios displásicos son uno de los signos de lesiones premalignas que pueden observarse de manera histopatológica, especialmente en el epitelio. Por ello su identificación precoz es de suma importancia.¹²

El propósito principal de identificar lesiones orales potencialmente malignas es prevenir la transformación maligna al iniciar una intervención adecuada, y está ampliamente aprobado que el tipo de intervención debe basarse en las características histopatológicas de una biopsia de las lesiones. Esto se debe a un importante paradigma sobre la premalignidad: la presencia y el grado de displasia epitelial desempeñan un papel importante en el desarrollo maligno futuro.¹⁴

En la actualidad en patología bucal y maxilofacial la biopsia y el análisis histopatológico siguen siendo el "Gold standard" de las pruebas diagnósticas.¹¹



3.6.1 Clasificación de las displasias epiteliales orales

La última clasificación de la OMS, recomienda una distinción más objetiva que tome en cuenta los niveles del epitelio que están involucrados¹³: Figura 9, tabla 1.

Displasia leve (grado I): Demuestra proliferación o hiperplasia de las células de las capas basales y parabasales que no se extiende más allá del tercio inferior del epitelio. La atipia citológica es generalmente mínima con solo pleomorfismo leve de células o núcleos. La mitosis no es destacada y cuando está presente suele ubicarse basalmente y transcurrir normal. Los cambios estructurales son mínimos.¹⁴

Displasia moderada (grado II): Presenta una proliferación de células atípicas que se extienden hasta el tercio medio del epitelio. Los cambios citológicos son más severos que en la displasia leve y puede observarse hiper cromatismo y pleomorfismo celular y nuclear prominente. La mitosis se ve aumentada y anormal, pero generalmente se encuentra en las capas basales. Los cambios arquitectónicos se pueden ver en la mitad inferior del epitelio donde puede haber pérdida de la polaridad basal. Sin embargo, la estratificación y maduración son relativamente normales, a menudo con hiperqueratosis.¹³

Displasia severa (grado III): Hay una proliferación anormal desde la capa basal hasta el tercio superior del epitelio. Los cambios citológicos y estructurales pueden ser muy notorios. Todos los cambios vistos en los grados leve y moderado pueden ser observados, pero además hay un marcado pleomorfismo, a menudo con núcleos anormalmente grandes o incluso múltiples. La mitosis es marcada y se puede observar una anormalidad tripolar o en forma de estrella. Los cuerpos apoptóticos pueden también ser prominentes. Los cambios estructurales son severos, en ocasiones con pérdida completa de la estratificación e incluso formación de perlas de queratina.¹³

Carcinoma in situ: Es la forma más grave de displasia epitelial y está caracterizada por cambios citológicos y estructurales de espesor completo. En la cavidad oral, tales cambios son raros y a menudo, incluso en presencia de la atipia más severa, se aprecia una capa de superficie queratinizada intacta. Algunos piensan que el carcinoma in situ es una premalignidad, mientras que otros lo consideran como una evidencia de un cambio maligno real, pero sin invasión.¹³

CLASIFICACIÓN DE LAS DISPLASIAS EPITELIALES ORALES

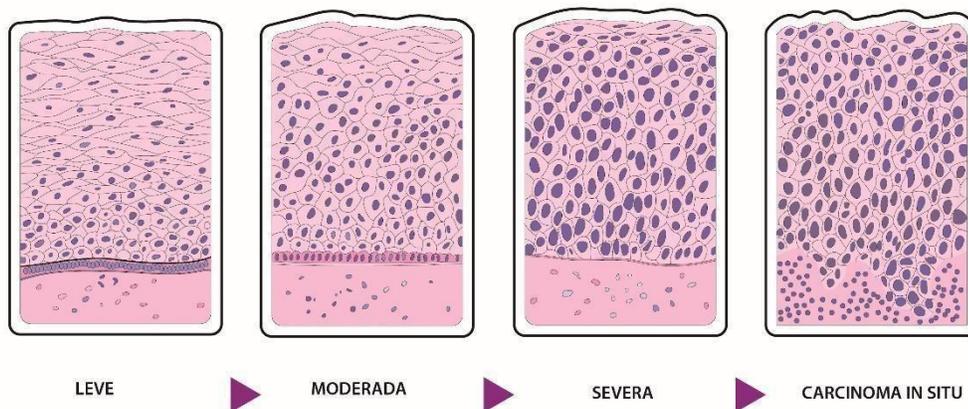


Figura 9 Clasificación de las displasias epiteliales orales.^{F.D.}

Es muy importante aclarar que una displasia epitelial puede malignizarse o no hacerlo, así que no se debe considerar ésta como una sentencia negativa. En ello radica la importancia de observación clínica periódica para identificar a tiempo cualquier posible cambio nocivo.¹³

Tabla 1 Criterios para la clasificación de displasias epiteliales orales.¹³

| Grado de displasia | Niveles involucrados | Cambios celulares | Cambios arquitectónicos |
|----------------------|------------------------------|--|--|
| Hiperplasia | | Ninguno. | Engrosamiento del epitelio. Hiperqueratosis. Maduración normal. Células basales hiperplásicas. |
| Leve (I) | Tercio inferior. | Pleomorfismo nuclear y celular. Núcleo hipercromático. | Hiperplasia de células basales. |
| Moderada (II) | Por encima del tercio medio. | Pleomorfismo nuclear y celular. Anisonucleosis. Núcleo hipercromático. | Pérdida de polaridad. Maduración desordenada de células basales a escamosas. |
| | | Figuras mitóticas incrementadas y anormales. | Incremento de la densidad celular. Hiperplasia de las células basales. Pulpas reteiformes en forma de bulbo. |
| | | Pleomorfismo nuclear y celular. Anisonucleosis. | Pérdida de polaridad. Maduración desordenada de |

Continúa...

| | | | |
|--|--|--|---|
| <p>... continuación</p> <p>Severa (III)</p> | <p>Por encima del tercio superior.</p> | <p>Núcleo hipercromático.</p> <p>Figuras mitóticas incrementadas y anormales.</p> <p>Núcleos y células considerablemente agrandados.</p> <p>Cuerpos apoptóticos.</p> | <p>células basales a escamosas.</p> <p>Incremento de la densidad celular.</p> <p>Hiperplasia de las células basales.</p> <p>Pulpas reteiformes en forma de bulbo.</p> <p>Acantólisis.</p> |
| | | | |
| <p>Carcinoma in-situ</p> | <p>Todo el tejido.</p> | <p>Todos los cambios antes mencionados se encuentran presentes.</p> | <p>El cambio es desde la base hasta la superficie.</p> <p>Pérdida de la estratificación.</p> |

3.6.2 Características citológicas y arquitectónicas de las displasias epitelial orales

El diagnóstico y la clasificación de la displasia epitelial oral se basan en una combinación de cambios arquitectónicos y citológicos, pero su evaluación es subjetiva y ha sido objeto de considerables variaciones inter e intraobservador en la clasificación de las lesiones.¹³ Tablas 2 y 3.

Tabla 2 Características citológicas de las displasias epiteliales orales.¹³

| Cambios celulares |
|---|
| Variación anormal en el tamaño y la forma nuclear (anisonucleosis y pleomorfismo). |
| Variación anormal en el tamaño y la forma de la célula (anisonucleosis y pleomorfismo). |
| Aumento de la relación nuclear / citoplásmica. |
| Núcleos y células agrandados. |
| Núcleos hipercromáticos. |
| Cifras mitóticas anormales. |
| Características mitóticas anormales. |
| Mayor número y tamaño de nucléolos. |

Tabla 3 Cambios arquitectónicos en las displasias epiteliales orales.¹³

| Cambios arquitectónicos (tejidos)¹² |
|--|
| Pérdida de polaridad. |
| Maduración desordenada de células basales a células escamosas. |
| Incluye cambio de carcinoma in situ de arriba abajo. |
| Densidad celular incrementada. |
| Hiperplasia de células basales. |
| Disqueratosis (queratinización prematura y perlas de queratina en epitelio). |



3.7 Análisis de la ploidía celular en las displasias epiteliales orales

En la actualidad, no existe un marcador absolutamente certero para predecir la posible transformación a cáncer de ninguna de las lesiones orales potencialmente malignas. Sin embargo, la cantidad total de ADN contenida en el núcleo celular, medida mediante diagnóstico por imagen analizando la ploidía celular, ha reportado resultados significativos en estudios de control y observación de displasias epiteliales en sus distintos grados.¹⁶

Los cambios morfológicos celulares y la inestabilidad cromosomal están presentes en las células cancerosas; en 90% de las células tumorales, se observa un número anormal de cromosomas, condición denominada, aneuploidía. Si bien, la presencia adicional de cromosomas es una característica conocida que predispone la malignidad, su rol en la carcinogénesis y posterior progresión a un tumor, aún no es completamente entendido.¹⁷

Es por ello que en últimas fechas, el análisis de la ploidía celular se ha convertido en un referente potencialmente viable al momento de predecir la posible transformación maligna de una displasia.¹⁸

La citometría por imagen es una técnica de análisis celular que nos permite valorar las características morfológicas nucleares, como son, perímetro, área, circunferencia, ángulo de Feret, para hacer un comparativo entre lo normal y anormal.



IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los cambios celulares morfológicos anormales que resultan en algún grado de displasia epitelial representan un factor de riesgo considerable para la aparición de carcinoma de células escamosas. Su transformación maligna es poco predecible sólo con saber su grado histopatológico. Sin embargo; estudios con respecto a el análisis de la ploidía celular en neoplasias malignas nos permiten analizar si las células displásicas contienen una cantidad anormal de ADN. Debido a lo anterior se formula la siguiente pregunta de investigación. ¿Las displasias epiteliales bucales (leve, moderada o severa) presentan una cantidad anormal de cromatina y esa cantidad es un factor relacionado a desarrollar carcinoma de células escamosas?



V. JUSTIFICACIÓN

A través del presente estudio se dará a conocer datos relacionados con la ploidía celular en displasias epiteliales orales leves, moderadas y severas diagnosticadas histopatológicamente en el Departamento de Patología, Medicina Bucal y Maxilofacial de la DEPeI, FO, UNAM para con ello estudiar a detalle las características nucleares y cromosomales de las células que cursan por estos procesos patológicos por lo que nos permitirá tener un mayor entendimiento de su forma de evolucionar para prevenir y actuar a tiempo ya que un diagnóstico oportuno es fundamental en el tratamiento y calidad de vida del paciente.



VI. OBJETIVOS

6.1 General

Analizar la ploidía celular en displasia espiteliales bucales leves, moderadas y severas diagnosticadas en el Departamento de Patología, Medicina Bucal y Maxilofacial de la DEPeI, FO, UNAM.

6.2 Específicos

- Observar las características nucleares en las células que presentan algún grado de displasia epitelial.
- Determinar si existe relación entre la cantidad de cromosomas presentes en el núcleo celular y las displasias epiteliales orales.
- Establecer si es posible evaluar el grado de displasia epitelial mediante la cantidad de cromosomas existentes en el núcleo celular.



VII. MATERIALES Y MÉTODO

7.1 Tipo de estudio

Observacional Analítico.

7.2 Población de estudio y muestra

Se utilizaron seis casos de displasias epiteliales orles del archivo de Diagnóstico Histopatológico del Departamento de Patología y Medicina Bucal y Maxilofacial de la DEPeI, FO, UNAM.

Se obtuvieron 5 microfotografías de cada teñida con hematoxilina y eosina con el microscopio Leica DM 750 y la cámara Leica ICC50 HD a 400x.

7.3 Aspectos éticos

Este estudio se realizó con muestras de pacientes obtenidas originalmente para diagnóstico, lo cual no implicó ningún daño o riesgo para ellos.

7.4 Metodología

Una vez obtenidas las imágenes a analizar, se eliminó el tejido que no fuera epitelio. Figuras 10 y 11.

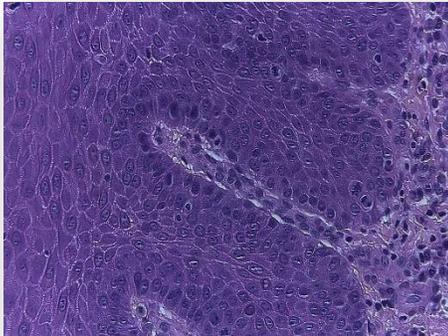


Figura 10 Microfotografía D.E Moderada H&E 400x. F.D.

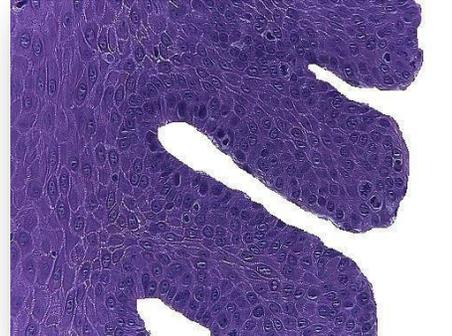


Figura 11 Microfotografía D.E Moderada H&E 400x recortada. F.D.

Análisis por ImageJ® versión 1.8

El análisis mediante imagen se realizó con del programa ImageJ® versión 1.8.

- Para llevar a cabo el análisis por computadora se tomó en cuenta el número de células por campo, el número de núcleos celulares, así como su morfología. Para la obtención de los resultados se utilizaron las especificaciones de uso utilidad de este programa.
- Se eligió la imagen a analizar y se arrastró a la ventana del programa. Figura 12.

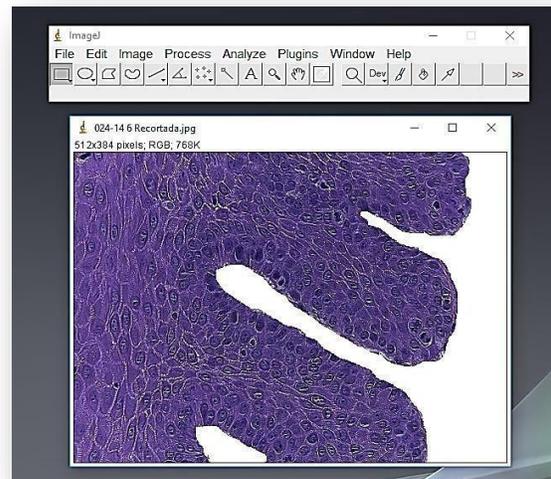


Figura 12 Selección de la imagen en el programa. F.D.

c) Se convirtió la imagen a 3 niveles de grises. Figura 13.

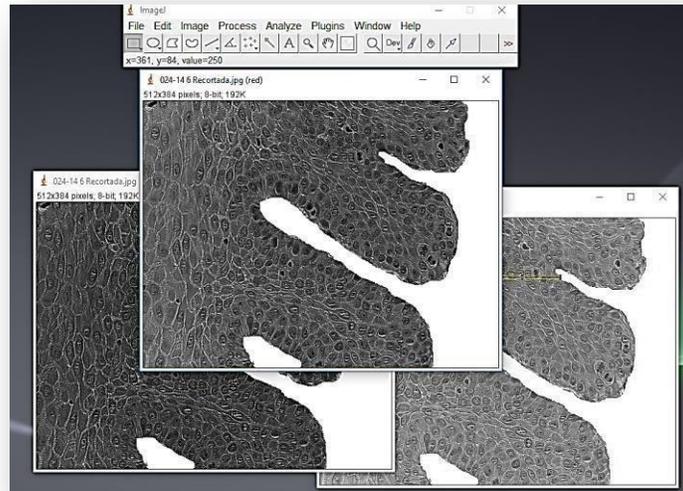


Figura 13 Conversión de la imagen a grises. F.D.

d) Se selecciona la imagen de filtro “Rojo”. Figura 14.

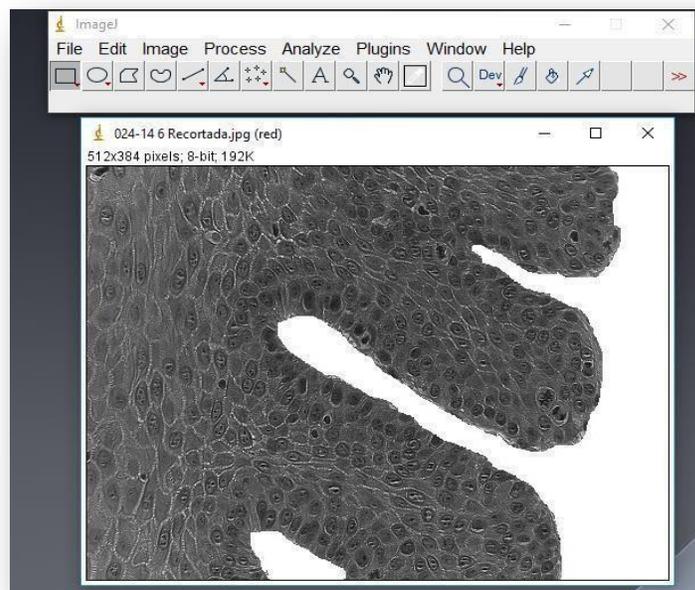


Figura 14 Imagen seleccionada. F.D.

e) Se suavizó la imagen a 2.0 pixeles. Figura 15.

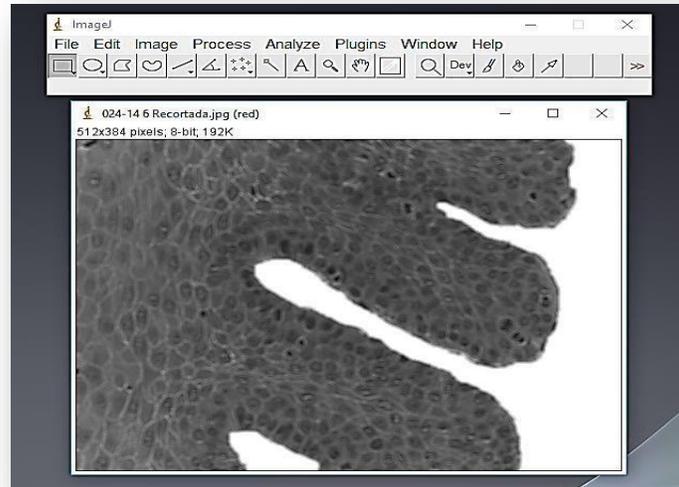


Figura 15 aplicación de filtro.^{F.D.}

f) Se selecciona la herramienta “Threshold”, localizada en la flecha “Image”, que permite la selección automática de los núcleos sin tener que hacerlo manualmente. Figura 16.

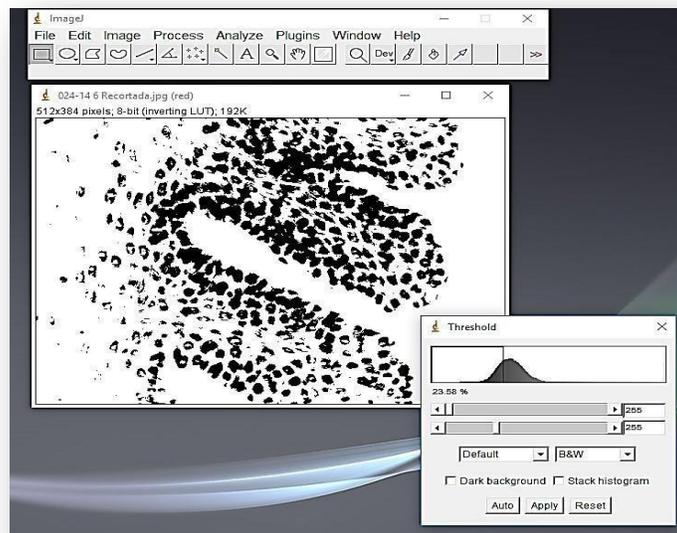


Figura 16 Selección automática de núcleos.^{F.D.}

- g) Y se utiliza la herramienta “Watershed” para separar automáticamente los núcleos que se encontraron juntos. Figura 17.

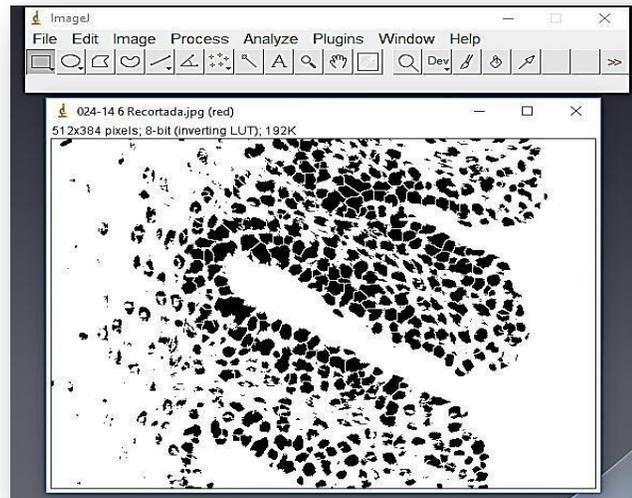


Figura 17 Separación automática de núcleos. F.D.

- h) Después se seleccionó el set de mediciones “Set Measurements”, de la flecha “Analyze” para seleccionar las características que se desea evaluar. Figura 18.

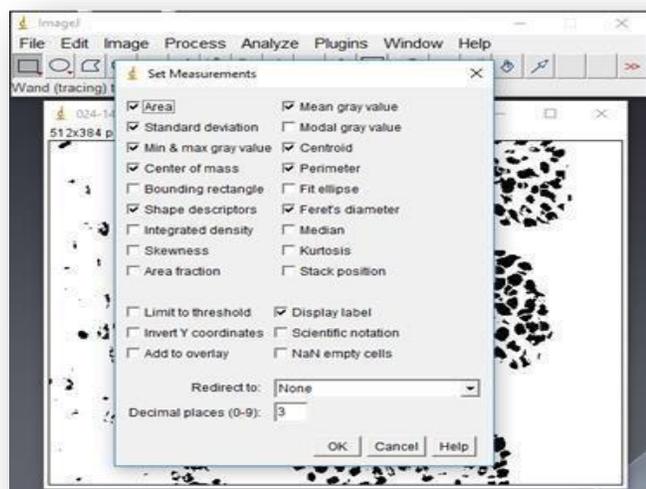


Figura 18 Selección de características. F.D.

i) Posteriormente se seleccionó el set de mediciones “Set Measurements”, de la flecha “Analyze”, para elegir el área y la forma, ingresando el parámetro de medidas que se deseaba evaluar. Los rangos de circularidad utilizados fueron de 0.8-1.0, 0.65-0.8 y 0.55-0.65, tomando en cuenta que 1.0 representa la esfericidad completa y 0.55 la mínima para ser considerado núcleo. Esto para que el programa discrimine las estructuras que no sean núcleos. Finalmente se seleccionó la opción “Analyze Particles” de la flecha “Analyze” la cual nos proporciona el número de células contadas por campo. Figura 19.

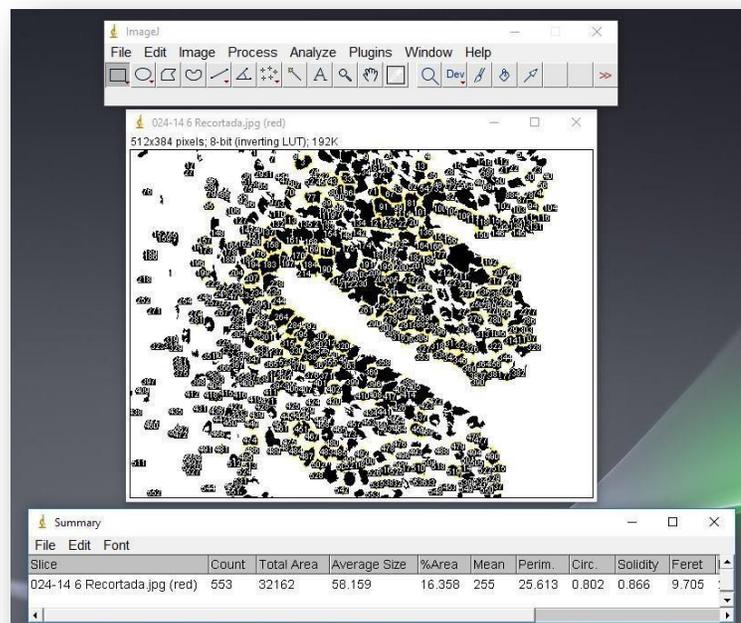


Figura 19 Análisis de partículas. F.D.

De esta manera se obtuvo la cantidad total de núcleos existente por campo, su perímetro, circunferencia y longitud de Feret, a todas esas medidas se les realizó el promedio.

VIII. RESULTADOS

De los archivos del servicio de diagnóstico del Departamento de Patología y Medicina Bucal y Maxilofacial de la DEPEI, FO, UNAM se seleccionaron 6 casos de displasias epiteliales bucales, de las cuales dos fueron diagnosticadas como leves, dos moderadas y dos severas, posteriormente fueron sometidas a análisis mediante imagen con ImageJ® versión 1.8 obteniendo los siguientes resultados:

En la muestra 051-15 se obtuvo un promedio de 302.8 núcleos dentro del parámetro 0.8-1.0 lo que significa que poseen esfericidad casi perfecta, cuentan con un perímetro promedio de 8.23, una circunferencia promedio de 0.968 y medida de Feret 3.46; un promedio de 106.6 núcleos dentro del parámetro 0.65-0.8, perímetro promedio de 32.81, circunferencia promedio de 0.726 y medida de Feret promedio de 12.29; y un promedio de 85.2 núcleos en el parámetro 0.55-0.65 que representa la esfericidad mínima para ser considerado núcleo, perímetro promedio de 41.11, circunferencia promedio de 0.602 y medida de Feret promedio de 15.03. Como se observa en la siguiente tabla: Tabla 4.

Tabla 4 Resultados de la muestra 051-15. F.D.

| Muestra Displasia | Grado de | Parámetro | Promedio de Núcleos | Perímetro Promedio | Circunferencia Promedio | Feret Promedio |
|-------------------|----------|-----------|---------------------|--------------------|-------------------------|----------------|
| 051-15 | Leve | 0.8-1.0 | 302.8 | 8.232 | 0.968 | 3.4698 |
| | Leve | 0.65-0.8 | 106.6 | 32.8152 | 0.726 | 12.2982 |
| | Leve | 0.55-0.65 | 85.2 | 41.1174 | 0.602 | 15.0318 |

En la muestra 268-14 se obtuvo un promedio de 201.6 núcleos dentro del parámetro 0.8-1.0 lo que significa que poseen esfericidad casi perfecta, cuentan con un perímetro promedio de 9.82, una circunferencia promedio de 0.959 y medida de Feret 4.17; un promedio de 70.68 núcleos dentro del parámetro 0.65-0.8, perímetro promedio de 23.61, circunferencia promedio de 0.730 y medida de Feret promedio de 9.603; y un promedio de 69 núcleos en el parámetro 0.55-0.65 que representa la esfericidad mínima para ser considerado núcleo, perímetro promedio de 33.76, circunferencia promedio de 0.601 y medida de Feret promedio de 13.02, como se observa en la siguiente tabla: Tabla 5.

Tabla 5 Resultados de la muestra 268-14. F.D.

| Muestra | Grado de Displasia | Parámetro | Promedio de Núcleos | Perímetro Promedio | Circunferencia Promedio | Feret Promedio |
|---------------|--------------------|-----------|---------------------|--------------------|-------------------------|----------------|
| 268-14 | Leve | 0.8-1.0 | 201.6 | 9.8 | 0.959 | 4.172 |
| | Leve | 0.65-0.8 | 70.6 | 23.6 | 0.730 | 9.603 |
| | Leve | 0.55-0.65 | 69 | 33.7 | 0.601 | 13.027 |

En la muestra 371-16 se obtuvo un promedio de 285.5 núcleos dentro del parámetro 0.8-1.0 lo que significa que poseen esfericidad casi perfecta, cuentan con un perímetro promedio de 6.18, una circunferencia promedio de 0.980 y medida de Feret 2.789; un promedio de 69 núcleos dentro del parámetro 0.65-0.8, perímetro promedio de 18.66, circunferencia promedio de 0.731 y medida de Feret promedio de 7.86; y un promedio de 36 núcleos en el parámetro 0.55-0.65 que representa la esfericidad mínima para ser considerado núcleo, perímetro promedio de 29.08, circunferencia promedio de 0.604 y medida de Feret promedio de 11.15, como se observa en la siguiente tabla: Tabla 6.

Tabla 6 Resultados de la muestra 371-16. F.D.

| Muestra | Grado de Displasia | Parámetro | Promedio de Núcleos | Perímetro Promedio | Circunferencia Promedio | Ferete Promedio |
|---------------|--------------------|-----------|---------------------|--------------------|-------------------------|-----------------|
| 371-16 | Moderada | 0.8-1.0 | 285.5 | 6 | 0.980 | 2.789 |
| | Moderada | 0.65-0.8 | 69 | 18.6 | 0.731 | 7.865 |
| | Moderada | 0.55-0.65 | 36 | 29 | 0.604 | 11.157 |

En la muestra 024-14 se obtuvo un promedio de 222.6 núcleos dentro del parámetro 0.8-1.0 lo que significa que poseen esfericidad casi perfecta, cuentan con un perímetro promedio de 14.98, una circunferencia promedio de 0.942 y medida de Feret 5.23; un promedio de 150.8 núcleos dentro del parámetro 0.65-0.8, perímetro promedio de 38.59, circunferencia promedio de 0.724 y medida de Feret promedio de 14.37; y un promedio de 91.4 núcleos en el parámetro 0.55-0.65 que representa la esfericidad mínima para ser considerado núcleo, perímetro promedio de 48.52, circunferencia promedio de 0.602 y medida de Feret promedio de 17.33, como se observa en la siguiente tabla: Tabla 7.

Tabla 7 Resultados de la muestra 024-14. F.D.

| Muestra | Grado de Displasia | Parámetro | Promedio de Núcleos | Perímetro promedio | Circunferencia Promedio | Feret Promedio |
|---------------|--------------------|-----------|---------------------|--------------------|-------------------------|----------------|
| 024-14 | Moderada | 0.8-1 | 222.6 | 14.9 | 0.942 | 5.239 |
| | Moderada | 0.65-0.8 | 150.8 | 38.5 | 0.724 | 14.378 |
| | Moderada | 0.55-.065 | 91.4 | 48.5 | 0.602 | 17.332 |

En la muestra 291-18 se obtuvo un promedio de 214 núcleos dentro del parámetro 0.8-1.0 lo que significa que poseen esfericidad casi perfecta, cuentan con un perímetro promedio de 13.59, una circunferencia promedio de 2.618 y medida de Feret 5.59; un promedio de 134.2 núcleos dentro del parámetro 0.65-0.8, perímetro promedio de 36.12, circunferencia promedio de

0.726 y medida de Feret promedio de 14.02; y un promedio de 59.2 núcleos en el parámetro 0.55-0.65 que representa la esfericidad mínima para ser considerado núcleo, perímetro promedio de 40.49, circunferencia promedio de 0.603 y medida de Feret promedio de 15.80, como se observa en la siguiente tabla: Tabla 8.

Tabla 8 Resultados de la muestra 291-18. F.D.

| Muestra | Grado de Displasia | Parámetro | Promedio de Núcleos | Perímetro Promedio | Circunferencia Promedio | Feret Promedio |
|---------------|--------------------|-----------|---------------------|--------------------|-------------------------|----------------|
| 291-18 | Severa | 0.8-1.0 | 214 | 13.5952 | 2.6188 | 5.5986 |
| | Severa | 0.65-0.8 | 134.2 | 36.1214 | 0.7266 | 14.0288 |
| | Severa | 0.55-0.65 | 59.2 | 40.4912 | 0.6034 | 15.8016 |

En la muestra 870-16 se obtuvo un promedio de 206.8 núcleos dentro del parámetro 0.8-1.0 lo que significa que poseen esfericidad casi perfecta, cuentan con un perímetro promedio de 17.76, una circunferencia promedio de 0.926 y medida de Feret 7.08; un promedio de 148 núcleos dentro del parámetro 0.65-0.8, perímetro promedio de 37.93, circunferencia promedio de 0.748 y medida de Feret promedio de 14.60; y un promedio de 97.2 núcleos en el parámetro 0.55-0.65 que representa la esfericidad mínima para ser considerado núcleo, perímetro promedio de 47.2, circunferencia promedio de 0.563 y medida de Feret promedio de 17.86, como se muestra en la siguiente tabla: Tabla 9.

Tabla 9 Resultados de la muestra 870-16. F.D.

| Muestra | Grado de Displasia | Parámetro | Promedio de Núcleos | Perímetro Promedio | Circunferencia Promedio | Feret Promedio |
|---------------|--------------------|-----------|---------------------|--------------------|-------------------------|----------------|
| 870-16 | Severa | 0.8-1.0 | 206.8 | 17.7662 | 0.9268 | 7.0814 |
| | Severa | 0.65-0.8 | 148 | 37.9322 | 0.7482 | 14.6048 |
| | Severa | 0.55-0.65 | 97.2 | 47.2 | 0.5638 | 17.8616 |



IX. DISCUSIÓN

Existen múltiples estudios sobre displasias epiteliales orales en distintos grados y diferentes clasificaciones que nos permiten estudiar su comportamiento para con ello intentar predecir su evolución, aunque no de manera lineal a un carcinoma de células escamosas.

En 2011, Jantine F. Bremmer y cols., relacionó a los cambios celulares anormales, específicamente a la aneuploidía, como un paso importante para la carcinogénesis y utilizó a la citometría por imagen para buscar la relación entre ambos. En un estudio de 62 pacientes con leucoplasia, 13 de ellos evolucionaron a un proceso maligno; 27 de todos los casos presentaron características celulares anormales, incluidos 7 de los que malignizaron. En nuestro estudio, en los grados de displasia moderado y severo, se observan características anormales casi en la mitad de todos los núcleos analizados, mientras que en la displasia leve, las células con morfología normal representan más del 50%.

A su vez, Marcelo Sperandio y cols., concordaron en 2013 con que la aneuploidía presente en displasias epiteliales orales representa un factor de riesgo alto que favorece su evolución a cáncer. Y propusieron la medición de la ploidía celular como un parámetro diagnóstico aceptable, se evaluaron 729 pacientes con displasia epitelial; 461 presentaban diploidía, 93 se encontraban en grado leve, 80 en moderado y 47 en severo. Mientras que 170 presentaban aneuploidía, 18 en grado leve, 72 en moderado y 49 en severo. Al igual que en nuestro estudio, el número de células con características normales es mayor en las displasias de grado leve, a su vez, las células con características anormales son más en los grados moderado y severo.



Finalmente, en 2018, Zuraiza Mohamd Zaini y cols., basados en la premisa que ya conocemos, analizaron 228 muestras de las cuales 42 presentaban aneuploidía, 3 tetraploidía y 183 diploidía. La aneuploidía fue diagnosticada en lesiones de grado moderado (36%) y severo (38%) de displasia epitelial, mientras que la mayoría de las lesiones no displásicas (99%) eran diploides. En nuestro estudio, las muestras que presentan displasia severa, tiene características de agrandamiento del núcleo en perímetro y longitud, lo que puede interpretarse como una cantidad mayor de cromosomas y por ende aneuploidía.



X. CONCLUSIONES

Al realizar este estudio podemos concluir que si bien, las displasias epiteliales orales representan un elemento predisponente para la evolución a cáncer, no son una sentencia definitiva. Los factores que influyen en esta transformación son muy diversos, y entre ellos se encuentran los cambios celulares y específicamente nucleares como la variación desequilibrada de la ploidía celular, lo que se traduce a cambios en el tamaño y forma del núcleo debido al aumento de la cantidad de cromatina; sin embargo, es muy importante poder realizar estudios que nos permitan predecir el comportamiento de las displasias y con ello poder establecer un diagnóstico oportuno; así como un manejo quirúrgico adecuado, ya que de ello depende el pronóstico y calidad de vida de los pacientes.

Como pudimos observar en los resultados, estos cambios están presentes principalmente en las displasias epiteliales orales severas, encontrándose en más del 50% de los núcleos estudiados en ese grado.

Dicho lo anterior se llegó a la conclusión de que por sí sólo, el análisis de la ploidía celular en los diferentes grados de displasias epiteliales orales no puede ser considerado como un parámetro absoluto para determinar su predisposición a malignizarse, pero en conjunto con el análisis histológico resulta una herramienta útil para valorar lesiones que sean propensas a convertirse en cáncer.



XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Carrillo Rivera J., Simón Nacif E., Gil Romero MG., Rodríguez Flores MR. Cáncer Oral en México, revisión bibliográfica y presentación de un caso clínico. Medigraphic. 2011, vol. 7 Num. 3
2. Kierzenbaum L. Abraham. Histología y Biología Celular. Introducción a la Anatomía Patológica. Elsevier-Saunders, España, 2ª ed., 2010.
3. Steven, Alan. Lowe, S. James. Human Histology. Harocurt Brace, España, 2ª ed., 1999.
4. Gomez De Ferraris. María Elsa. Muñoz Campos, Antonio. Histología y Embriología Bucodental. Panamericana, 2ª ed., 2002.
5. Chiego Jr., Daniel J. Essentials of Oral Histology and Embryology: A Clinical Approach. Elsevier, España, 4ª ed., 2014.
6. Ross, M. H. y W. Pawlina. Histology: A Text and Atlas. With Correlated Cell and Molecular Biology. Wolsters Kluwer, 7ª ed., 2016.
7. Ponce Bravo S. Histología Básica. Fundamentos de Biología Celular y del Desarrollo Humano. Médica Panamericana 2015.
8. M. M. Srinivas Bharath, Nagasuma R. Chandra y M. R. S. Rao. (2003) Molecular modeling of the chromatosome particle. Nucleic Acids Research 31(14): 4264-4274. PMID: PMC167642.
9. Bernardo Orr, Kristina M. Godek, Duane Compton. Aneuploidy. Curr Biol. Author manuscript; available in PMC 2016 Jan 15. PuPMCID: PMC4714037.
10. Bret R. Williams, Angelika Amon. Aneuploidy –Cancer’s Fatal Flaw? Cancer Res. Author manuscript; available in PMC 2010 Aug 5
11. Aguirre Echebarría P, Aguirre Urizar JM. Displasia epitelial. Concepto y significación. Av. Odontoestomatol 2008; 24 (1): 81-88.
12. Gurkan Yardimci, Zekayi Kutlubay, Burhan Engin, Yalcin Tuzu. Precancerous lesions of oral mucosa. World J Clin Cases. 2014 Dec 16; 2(12): 866–872 PMID: PMC4266835



13. Paul M. Speight. Update on Oral Epithelial Dysplasia and Progression to Cancer. *Head Neck Pathol.* 2007 Sep; 1(1): 61–66. PMID: PMC2807503
 14. Holmstrup P1, Vedtofte P, Reibel J, Stoltze K. Oral premalignant lesions: is a biopsy reliable? *J Oral Pathol Med.* 2007 May;36(5):262-6.
 15. Jerry E. Bouquot, Paul M. Speight, Paula M. Farthing. Epithelial dysplasia of the oral mucosa—Diagnostic problems and prognostic features. *Current Diagnostic Pathology*, Volume 12, Issue 1, February 2006, Pages 11-21.
 16. Sperandio M, Brown AL, Lock C, Morgan PR, Coupland VH, Madden PB, Warnakulasuriya S, Møller H, Odell EW. Predictive value of dysplasia grading and DNA ploidy in malignant transformation of oral potentially malignant disorders. *Cancer Prev Res (Phila).* 2013 Aug;6(8):822-31.
 17. Jung Paul P, Fritsch Emilie S., Blugeon Corinne, Souciet Jean-Luc, Potier Serge, Lemoine Sophie, Schacherer Joseph *†, Montigny Jacky †. Ploidy influences cellular responses to gross chromosomal rearrangements in *Saccharomyces cerevisiae*. Jung et al. *BMC Genomics* 2011, 12:331
 18. Bremmer JF, Brakenhoff RH, Broeckaert MA, Beliën JA, Leemans CR, Bloemena E, van der Waal I, Braakhuis BJ. Prognostic value of DNA ploidy status in patients with oral leukoplakia. *Oral Oncol.* 2011 Oct;47(10):956-60.
 19. E.R.E.A. Brouns, E. Bloemena, J.A.M. Belien, M.A.M. Broeckaert, I.H.A Aartman, I. van der Waal. DNA ploidy measurement in oral leukoplakia: Different results between flow and image cytometry. *Oral Oncology* 48 (2012) 636–640.
 20. Alaizari NA, Sperandio M, Odell EW, Peruzzo D, Al-Maweri SA. Metaanalysis of the predictive value of DNA aneuploidy in malignant transformation of oral potentially malignant disorders. *J Oral Pathol Med.* 2018 Feb;47(2):97-103.
-



21. Zaini ZM, McParland H, Møller H, Husband K, Odell E.W. Predicting malignant progression in clinically high-risk lesions by DNA ploidy analysis and dysplasia grading. *Sci Rep.* 2018 Oct 26;8(1):15874.