



**UNCUYO**  
UNIVERSIDAD  
NACIONAL DE CUYO

**FO**  
FACULTAD DE  
ODONTOLOGÍA



**BECA PROMOCIÓN PARA LA INVESTIGACIÓN 2014**

**DENOMINACIÓN DEL PROYECTO:** "PRESENCIA DE MASTOCITOS EN TEJIDOS PERI E INTRATUMORALES DE CÁNCER BUCAL".

**DIRECTOR:** Dr. Walther Zavala

**BECARIA:** Od. Diana Gabriela Argüello



## ÍNDICE

---

Introducción	pág. 3
Formulación del Problema	pág. 3
Objetivos	pág. 3
Metodología	pág. 3
Resultados obtenidos	pág. 9
Conclusión	pág.13
Bibliografía	pág.16



## INTRODUCCIÓN

---

El cáncer bucal es aquel que se manifiesta en la cavidad oral, puede involucrar o establecerse en distintas localizaciones y estructuras anatómicas como las que a continuación se mencionan: labio, encías, piso de la boca, lengua, paladar y trigono retro-molar (parte posterior de las encías).

Existen evidencias que indican la presencia de células cebadas (mastocitos) alrededor de los tumores avanzados de mucosa oral, lo cual coincidiría con su efecto angiogénico y potencial aumento de la diseminación de estos tumores.

## FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:

---

Determinar la presencia y ubicación de mastocitos en muestras histológicas de cáncer oral.

## OBJETIVOS:

---

Los objetivos que se plantearon son:

1. Ampliar conocimientos de la fisiopatología de tejidos orales.
2. Obtener experiencia comprobable mediante la experimentación en laboratorio de Histología.
3. Determinar e identificar la población celular en los tejidos tumorales biopsiados de cáncer oral. Evaluando específicamente la morfología y características particulares de las células cebadas (mastocitos).

## METODOLOGÍA

---

a) Recolección de muestras:

Se procedió a la búsqueda de muestras de neoplasias de cavidad bucal en laboratorios de anatomía patológica de la ciudad de Mendoza.

Se estudiaron tres muestras correspondientes a:

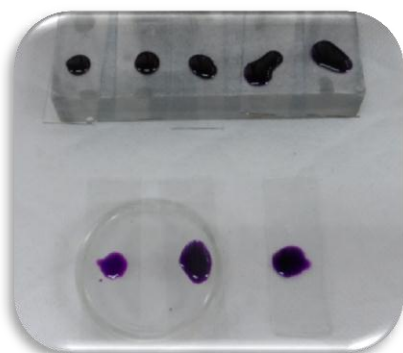
- Displasia leve en borde de lengua.
- Liquen plano erosivo-Carcinoma de tipo pavimentoso espinocelular en borde inferior derecho lingual y dorso lingual respectivamente.
- carcinoma verrugoso en encía superior.

## b) Técnica histológica

Se obtuvieron los preparados de cortes histológicos a los cuales se les realizó tinción con hematoxilina eosina y azul de Toluidina, posteriormente se observó al microscopio óptico de la Facultad de Odontología, en la cátedra de Histología y Embriología.

Técnica de tinción con azul de Toluidina:

1. Dos pasadas por xilol
2. Dos pasadas por acetona (para hidratar)
3. Una pasada por alcohol 90%
4. Una pasada por alcohol 80%
5. Una pasada por alcohol 70%
6. Sumergir en agua tibia para terminar de retirar la parafina y ayudar al viraje
7. Un minuto en azul.
8. Se lava con agua.
9. Se sumerge en ácido acético al 1%, una pasada para aclarar el azul.
10. Lavado en agua.
11. Pasada ascendente en alcoholes 70%, 80%, 90%.
12. Pasaje por tres acetonas.
13. Dos pasajes por xilol.
14. Se coloca la gota de bálsamo para adherir el cubre objeto. (BIOPER).



Azul de toluidina sobre los preparados.

## c. Procesamiento de muestras:

Las muestras se dividieron en dos grupos:

-grupo control: preparados con hematoxilina eosina para observar características del epitelio.

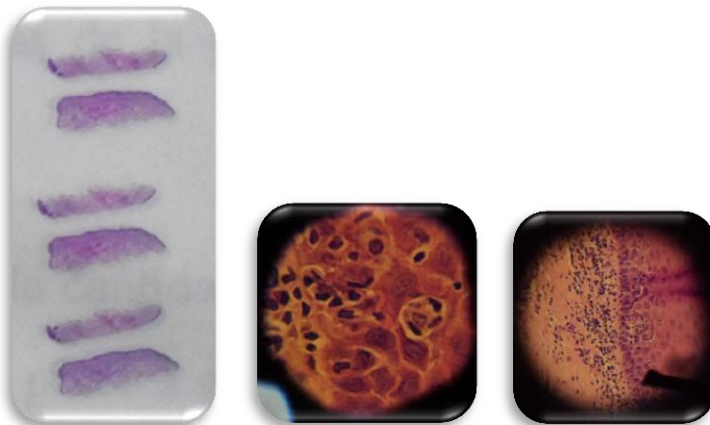
-grupo observacional: teñidos con azul de toluidina para determinar la presencia de mastocitos positivos.

d. Observación de muestras:

Se observaron los preparados en el microscopio (Primo star) y se procedió al recuento y caracterización de la población celular de mastocitos presentes en las muestras cáncer oral humano y lesiones displásicas de la cavidad oral. Finalmente se tomaron fotografías (cámara Samsung 18 x).

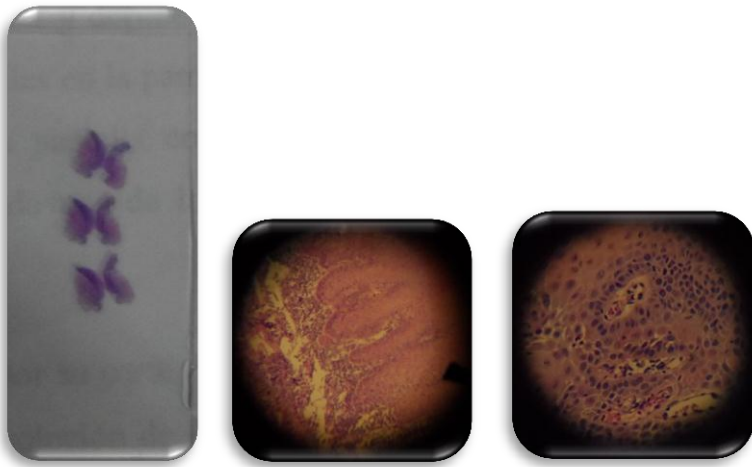


- Microscopio óptico utilizado en el análisis de los preparados obtenidos.



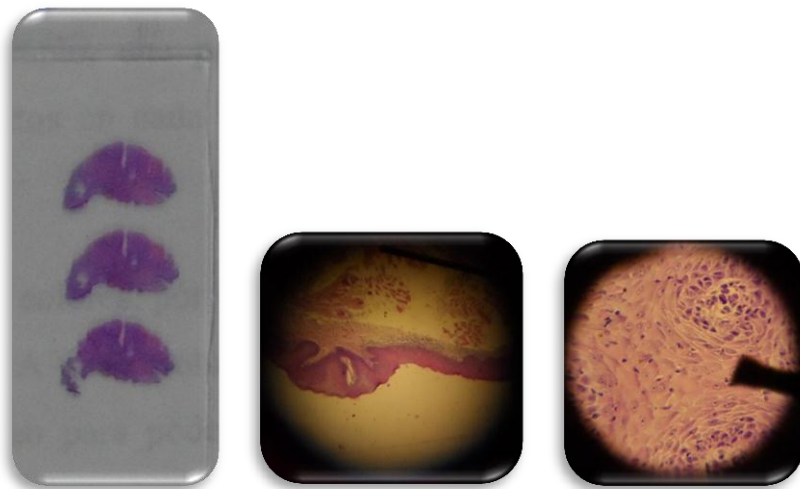
**Preparado 1**, Hematoxilina Eosina,

**Diagnóstico**: Displasia



**Preparado 2**, Hematoxilina Eosina

**Diagnóstico:** carcinoma



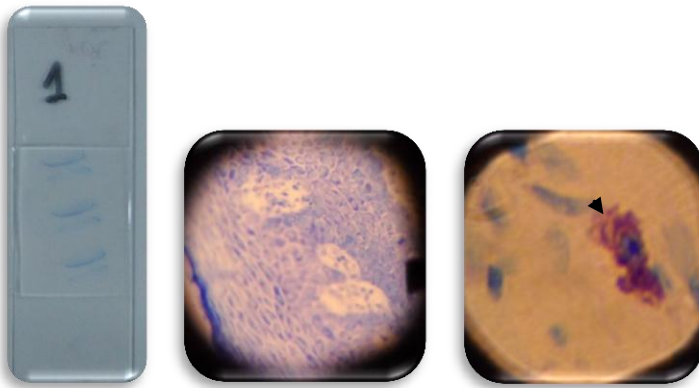
**Preparado 3**, Hematoxilina Eosina.

**Diagnóstico:** Carcinoma.

**Tinción con Azul de Toluidina**

**Preparado 1.** Azul de Toluidina

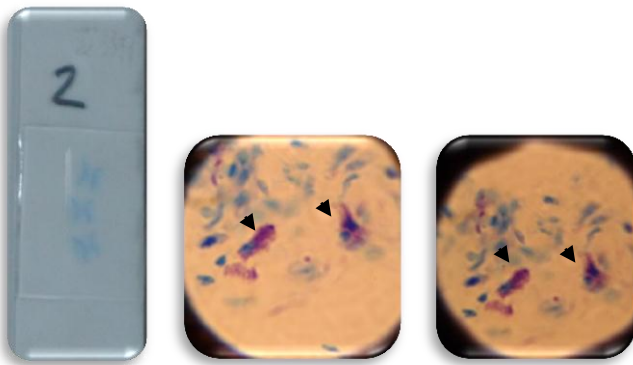
**Diagnóstico:** Displasia



Se observa mastocito coloreado en azul de Toluidina, gránulos metacromáticos en su citoplasma y fuera de él.

**Preparado 2.** Azul de Toluidina

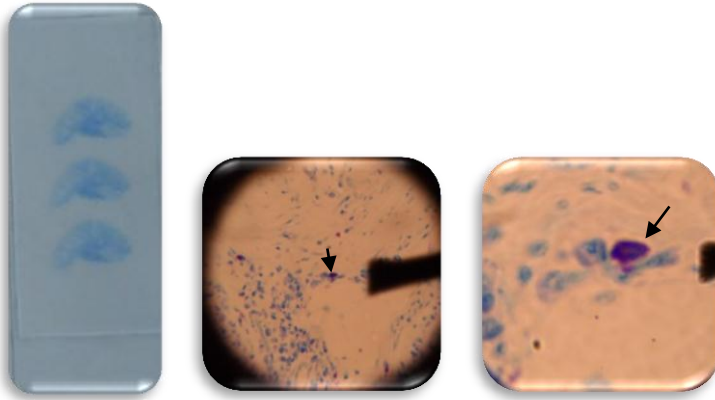
**Diagnóstico:** carcinoma



Se observa mastocito coloreado en azul de Toluidina, gránulos metacromáticos en su citoplasma y fuera de él.

**Preparado 3.** Azul de Toluidina

**Diagnóstico:** Carcinoma



Se observa mastocito coloreado en azul de Toluidina, gránulos metacromáticos en su citoplasma. Escasa presencia de mastocitos, se señala con flecha en la fotografía.



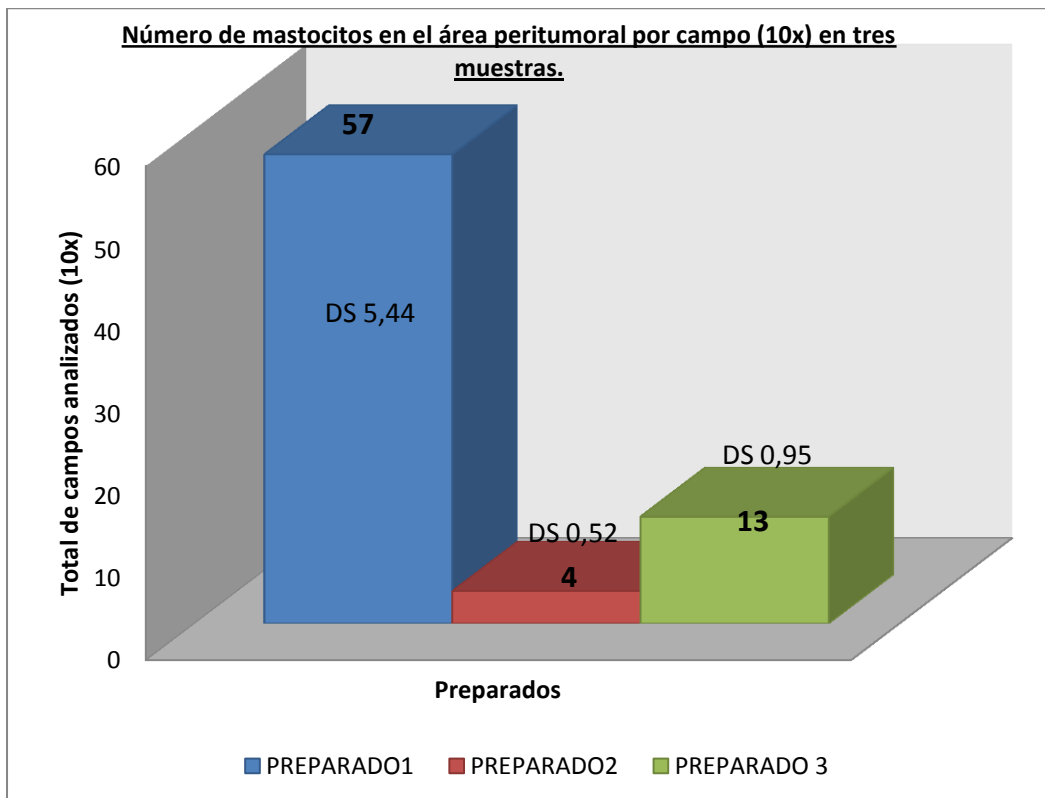


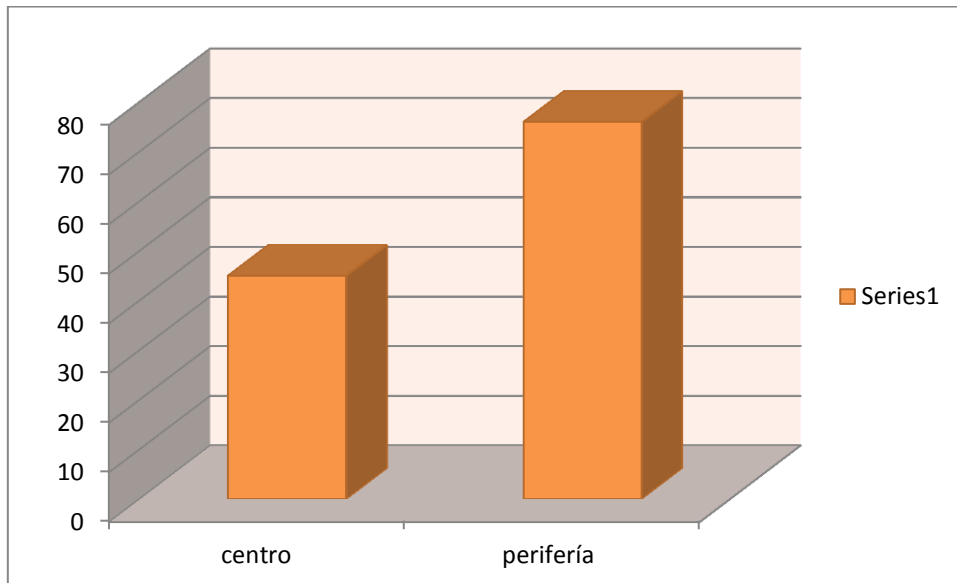
## RESULTADOS OBTENIDOS

Se realizó el conteo por campo de mastocitos presentes en las muestras. Se obtuvieron los siguientes promedios según el recuento de mastocitos estudiados en 10 campos (10x):

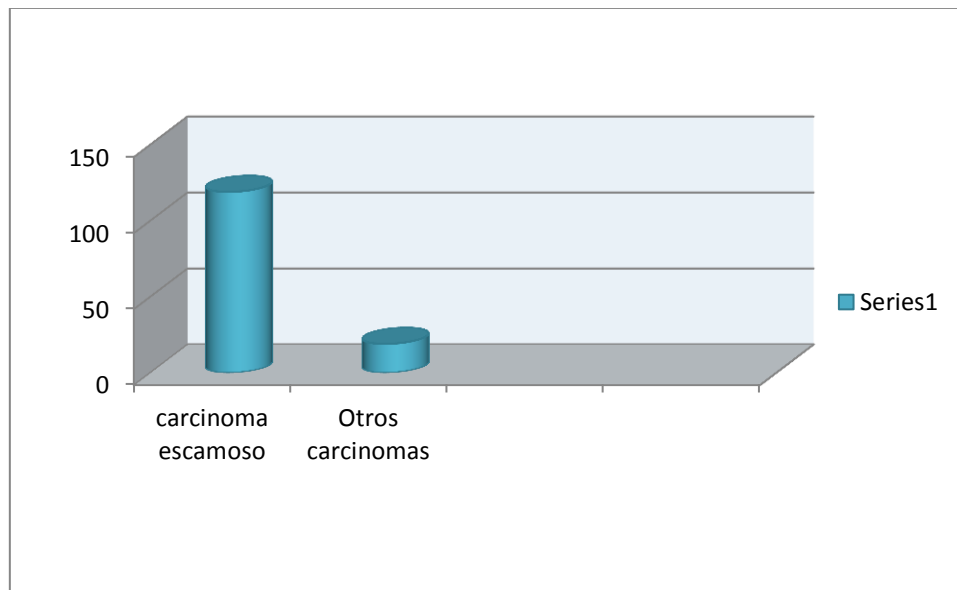
CAMPOS	PREPARADO1	PREPARADO2	PREPARADO 3
CAMPO 1	13	1	3
CAMPO 2	12	1	0
CAMPO 3	6	0	0
CAMPO 4	7	0	1
CAMPO 5	12	0	1
CAMPO 6	7	1	2
CAMPO 7	0	1	1
CAMPO 8	0	0	2
CAMPO 9	0	0	2
CAMPO 10	0	0	1
<b>TOTAL</b>	<b>57</b>	<b>4</b>	<b>13</b>
<b>PROMEDIO</b>	<b>5,70</b>	<b>0,40</b>	<b>1,30</b>
<b>DS</b>	<b>5,44</b>	<b>0,52</b>	<b>0,95</b>

Preparado 1 (Displasia) Preparado 2 (Displasia) Preparado 3 (Carcinoma)

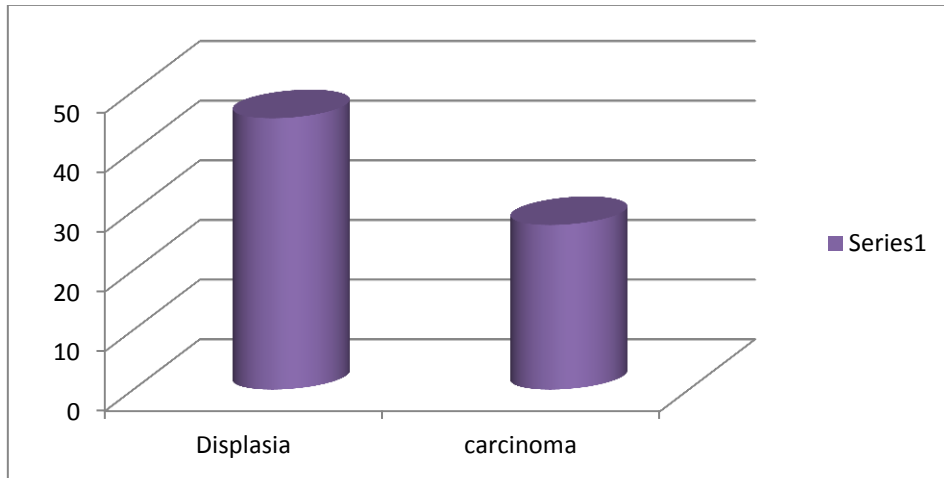




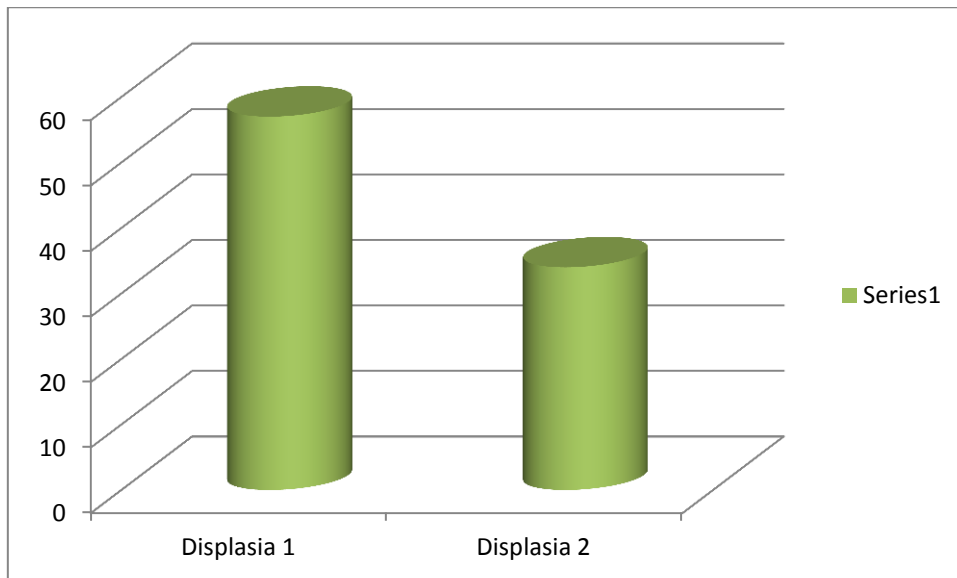
Distribución de mastocitos en Carcinoma



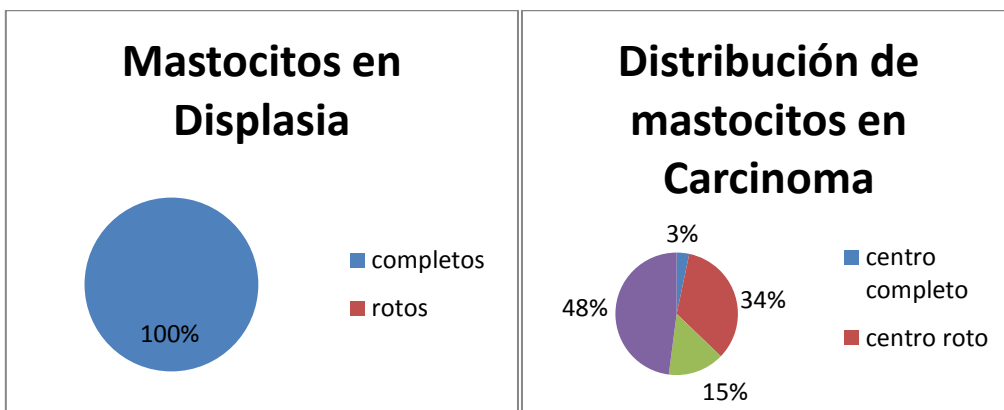
Distribución de mastocitos entre las muestras de carcinoma analizadas (\*otros carcinoma: verrugoso y mucoepidermoide)



Comparación en la distribución promedio de mastocitos en muestras de displasia y carcinoma analizadas

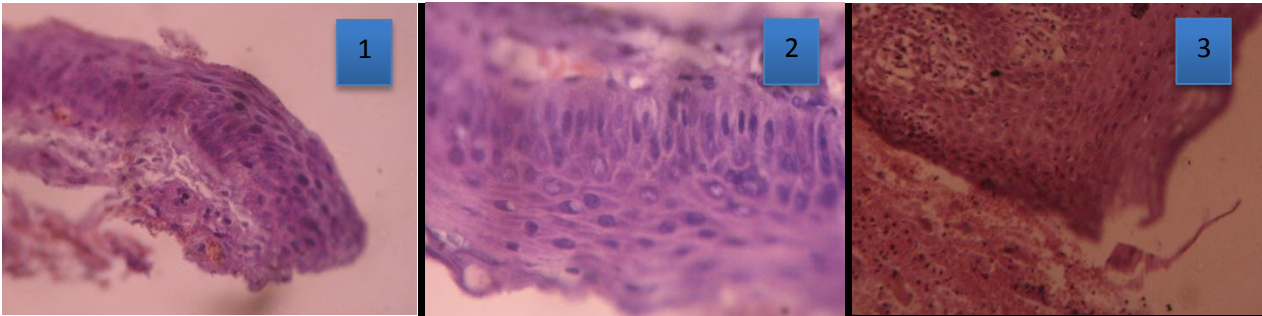


Distribución de mastocitos entre las muestras de diaplasia analizadas

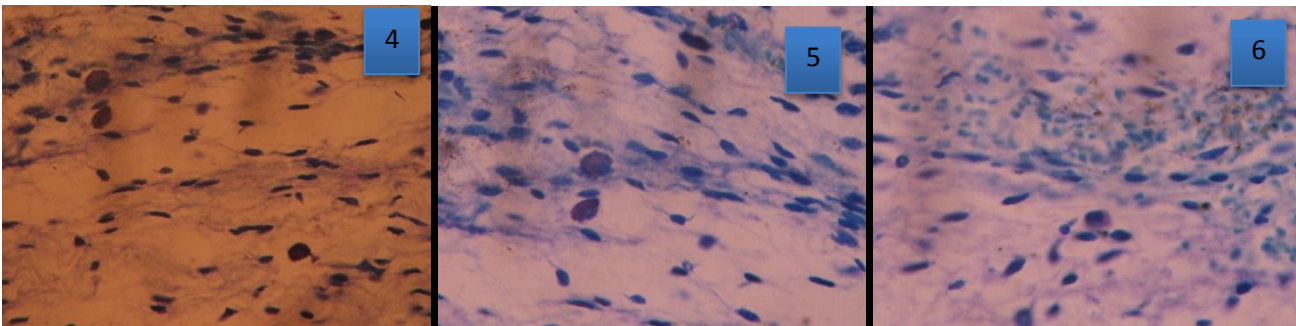


## Fotos

### Imágenes con Hematoxilina Eosina



### Imágenes con tinción de Azul de Toluidina



## DIAGNÓSTICOS DE MUESTRAS ANALIZADAS

Muestras obtenidas de cavidad bucal.

Muestra n° 224589 carcinoma Escamoso

Muestra n°255173 carcinoma pavimentoso

Muestra n°225607 carcinoma mucoepidermoide

Muestra n°225831 Dsiplasia Epitelial moderada

Muestra n°001000 Displasia leve

Muestra n°002000 carcinoma verrugoso

Muestra n°003000 carcinoma espinocelular



## CONCLUSIONES

---

El estudio de mastocitos en característica y número en muestras de cáncer de cavidad bucal y displasias, es de importancia para establecer un patrón de evaluación de la presencia de estas células según el tipo de lesión en el que se encuentran en mayor número; debido a la inferencia ya estudiada de los mastocitos en los procesos de regeneración de tejidos y angiogénesis.



#### Lesión 1:

Paciente sexo masculino.

Zona: borde de lengua.

Examen macroscópico: lesión de 0,9 x 0.4 cm, con zona central levemente sobreelevada, color blanquecino opaco.

Diagnóstico:

Toma cubierta por un epitelio pavimentoso estratificado que en la zona central se encuentra sobreelevado. Muestra engrosamiento de generalizado del epitelio, franca acantosis interpapilar, y profundización y redondeamiento de los extremos de las crestas.

Posee hiperplasia de las células basales, pleomorfismo celular, hiper cromasia y despolarización. En ocasiones con núcleos de aspecto cerebriforme, binucleados o gigantiformes. Se reconocen nidos con pérdida de la adherencia intercelular, y formación de perlas epiteliales.

En la superficie existe vacuolización de las células que rodean las cúspides de las papilas, paraqueratosis y disqueratosis.

El corion muestra exudados inflamatorios crónicos pegados al epitelio.

Diagnóstico: Hiperplasia epitelial con displasia leve. Leucoplasia con displasia leve.

#### Lesión 2:

Paciente sexo masculino

Zona: encía superior

Antecedentes: Lesión vegetante de 4 meses de evolución, redondeada, móvil y sangrante, de 3cm en encía vestibular. Irritantes: tártaro. Diagnóstico presuntivo: Épulis granulomatoso, carcinoma verrugoso.

Examen macroscópico: fragmento tisular de 2x 1,5x1 cm, de superficie verrugosa blanquecina.

Examen microscópico: proliferación epidérmica constituida por grandes masas de epitelio pavimentoso, con intensa elongación y profundización de las crestas interpapilares, las que se introducen en el corion subyacente.

Existe intensa e irregular acantosis interpapilar, discreta granulosis y superficialmente gruesa capa de para e hiperparaqueratosis con formación de seudonidos córneos.

En los estratos profundos existe hiperplasia basal y elementos con disqueratosis aislada y en grupos.

No se visualizan atipias intraepiteliales.

El corion posee edema, exudaos inflamatorios crónicos, elongación franca de las papilas.

Focalmente existe exulceración, con infiltración de polinucleares y hemorragias.



Diagnóstico: Carcinoma Verrugoso

Lesión 3

Paciente sexo femenino

Zona: a. lesión borde lingual inferior derecho.

b. Lesión ulcerada dorso lingual.

Antecedentes:

- a. Lesión erosiva irregular, alargada, bordes blancos brillantes de borde lingual derecho. Diagnóstico presuntivo: Liquen plano.
- b. Lesión ulcerosa grande de dorso lingual, con bordes elevados, indurados, centro necrótico. Diagnóstico presuntivo: carcinoma espinocelular.

Examen macroscópico:

- a. Fragmento de 0,4 cm, cubierto por mucosa muy delgada.
- b. Resección de 1x 0,5 cm blanquecino.

Examen microscópico:

- a. Porción tisular cubierta por una mucosa plana estratificada, en pates muy adelgazada y exulcerada, con focos de espongirosis y elongación de las crestas interpapilares, las que terminan en diente de sierra. La basal se encuentra desdibujada por la presencia de un corion con denso exudado inflamatorio linfocitario en banda.
- b. Proliferación tumoral maligna, epitelial, de carácter invasor que forma nidos de células escamosas, con franca tendencia a la cornificación. Sustituye la mucosa de revestimiento y se profundiza comprometiendo fasículos del músculo estriado.

Diagnóstico: a. Liquen plano erosivo, b. Carcinoma de tipo pavimentoso espinocelular.



## BLIBLIOGRAFÍA

---

- 1) Gómez de Ferrais E., Campos Muñoz A. Histología y embriología bucodental. Segunda edición. Editorial Panamericana. Madrid, España.
- 2)-Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P (2005) Global cancer statistics,2002. CA Cancer J Clin 55
- 2) Boffetta P, Hashibe M (2006) Alcohol and cancer. Lancet Oncol7:74–1082.
- 3) Cooper JS, Pajak TF, Forastiere AA, Jacobs J, Campbell BH, SaxmanSB, Kish JA, Kim HE, Cmelak AJ, Rotman M, Machtay M,4-Eulderink F (1972) Experimental mesenchymal jaw tumors in mice.Ned Tijdschr Geneesk 116:149–1563.
- 4) Kanojia D, Vaidya MM (2006) 4-Nitroquinoline-1-oxide induced experimental oral carcinogenesis. Oral Oncol 42:903–9045.
- 5) Wallenius K, Lekholm U (1973) Oral cancer in rats induced by the water-soluble carcinogen 4-nitroquinoline N-oxide. Odontol Revy 24:655–6676.
- 6) Suzuki R, Kohno H, Suzui M, Yoshimi N, Tsuda H, Wakabayashi K,Tanaka T (2006) An animal model for the rapid induction of tongue neoplasms in human c-Ha-ras proto-oncogene transgenic rats by 4-nitroquinoline 1-oxide: its potential use for preclinical chemoprevention studies. Carcinogenesis 27:39–487.
- 7) Schoop RA, Noteborn MH, Baatenburg de Jong RJ (2009). A mouse model for oral squamous cell carcinoma. J Mol Hist 40:177–1819-Aromando RF, Trivillin VA, Heber EM, Pozzi E, Schwint AE, Itoiz ME (2010). Early effect of boron neutron capture therapy mediated by boronophenylalanine (BPA-BNCT) on mast cells in premalignant tissue and tumors of the hamster cheek pouch. Oral Oncol. 2010 May;46:619–6308.
- 8) Epub 2010 Mar 2110-Michailidou EZ, Markopoulos AK, Antoniades DZ (2008) Mast cells and angiogenesis in oral malignant and premalignant lesions.. Open Dent J. Nov 28;2:126-32:355-9.
- 9) Blatner NR1, Tsai F, Khazaie K. Methods for the study of mast cells in cancer. Methods Mol Biol. 2015
- 10) Ammendola M<sup>1</sup>, Leporini C<sup>2</sup>, Marech I<sup>3</sup>, Gadaleta CD<sup>3</sup>, Scognamillo G<sup>4</sup>, Sacco R<sup>1</sup>, Sammarco G<sup>1</sup>, De Sarro G<sup>2</sup>, Russo E<sup>2</sup>, Ranieri G<sup>3</sup> .Targeting mast cells tryptase in tumor microenvironment: a potential antiangiogenic strategy. Biomed Res Int. 2014.