

ULTRAESTRUCTURA DE LAS CELULAS ESPINOSAS  
DE LA MUCOSA BUCAL HUMANA NORMAL

— **Dr. Mario J. Luzardo-Baptista,**

Departamento de Cirugía,  
Hospital Universitario,  
Maracaibo, Venezuela.

— **Dr. Orlando J. Castejón.**

Instituto de Investigación Clínica,  
Apartado 1151,  
Universidad del Zulia,  
Maracaibo, Venezuela.

## INTRODUCCION

El epitelio de la mucosa bucal ha sido objeto de varios estudios al microscopio electrónico en diferentes especies animales, tales como ratas<sup>9</sup>, ratones<sup>37</sup>, y peces<sup>3</sup>. Las investigaciones previamente realizadas<sup>24 23 29 36 49 50 51 53 59</sup>, han proporcionado información detallada sobre la histología submicroscópica de la mucosa bucal humana normal. Se requieren, sin embargo, estudios adicionales para poseer un conocimiento más completo de la organización ultraestructural de este epitelio.

En el presente trabajo describimos los hallazgos realizados en las capas superficial, media y profunda del estrato espinoso. Un resumen de estos hallazgos ha sido publicado recientemente<sup>31</sup>.

## MATERIAL Y METODO

Se tomaron biopsias, previa anestesia troncular, de la encía fija al reborde alveolar de individuos aparentemente normales, cuyas edades fluctuaban entre 15 y 25 años. Después de fragmentarlas en trozos no mayores de 2mm, se procesó el material de la siguiente manera: fijación primaria con glutaraldehído en solución reguladora de fosfato de sodio a pH 7,4 y 747 mOs/litro; fijación secundaria en solución al 2,5% de tetraóxido de osmio a pH 7,4 y 298 mOs/litro; deshidratación en etanol e inclusión en Epon<sup>30</sup>.

Se hicieron cortes gruesos de 0,1 a 0,2 micras, para localizar y seleccionar histológicamente la zona de estudio al microscopio electrónico, como paso previo a la realización de las secciones ultrafinas. Estas últimas se obtuvieron con un ultramicro-

mo LKB; se montaron en rejillas de cobre, desprovistas de películas de soporte; estabilizándolas luego con baño de carbón y se colorearon con acetato de uranilo<sup>16</sup>. Los cortes se estudiaron con un microscopio electrónico Siemens Elmiskop 1. Las medidas de las microfotografías electrónicas se hicieron con una máquina Cambridge Universal.

## RESULTADOS

Las células que constituyen el estrato espinoso del epitelio de la mucosa bucal humana normal, son de forma variable; redondeadas u ovaladas a nivel de las crestas interpapilares; son alargadas en los ángulos de éstas. En la zona suprapapilar, son redondeadas en las capas más profundas, se hacen planas a medida que se acercan a las capas superficiales, con su diámetro mayor paralelo a la superficie epitelial.

### Citoplasma

En estas células se observan muy escasos canalículos del retículo endoplasmático rugoso y numerosas ribosomas libres, de 150 Å de diámetro, especialmente a nivel de las capas más profundas (Fig. 1); ocasionalmente se aprecian membranas del retículo endoplasmático liso.

Se encuentran además, finos filamentos agrupados en manojos, hasta de 0,4 micras de diámetro. Los filamentos aislados presentan un diámetro de 90 a 120 Å. Su longitud es variable, algunos recorren grandes trayectos a lo largo del eje longitudinal del citoplasma; en las células profundas se agrupan en manojos laxos, muchos de los cuales convergen sobre las placas de unión de los desmosomas (Fig. 2), siendo entonces a menudo perpendiculares a la superficie celular. A medida que las células se mueven hacia las capas más superficiales, los filamentos tienden a orientarse paralelamente a la superficie del epitelio; los manojos se hacen más compactos, hasta el punto de no poderse individualizar, algunas veces, los filamentos que lo constituyen. Como filamentos y ribosomas son los elementos más abundantes del





Fig. 1. Microfotografía electrónica de segmentos del citoplasma de células espinosas. El núcleo (N) muestra la envoltura nuclear; el citoplasma exhibe escasos segmentos de canaliculos dilatados del retículo endoplásmico rugoso. Se observa un conjunto de vacuolas vecinas al núcleo (G), el cual parece corresponder a la región de Golgi. Las células están unidas en múltiples sitios por desmosomas (flechas). Entre las células se observan espacios intercelulares dilatados. 24.000x.





Fig. 2. En el citoplasma de las células espinosas se aprecian numerosos ribosomas libres, aislados, o en rosetas. Los tonofilamentos, también muy abundantes, recorren trayectos de longitud variable, algunos de los cuales terminan en las placas de unión de los desmosomas (flecha). 24.000x.



Fig. 3. Sección tangencial y longitudinal de los manojos de tonofilamentos. 33.000x.



citoplasma, los unos siempre se observan en la vecindad de los otros (Figs. 2 y 3).

El complejo de Golgi está aparentemente compuesto de pequeñas cisternas y vcuolas, que se localizan preferentemente en la vecindad del núcleo (Fig. 1). Las mitocondrias son escasas y se distribuyen irregularmente en el citoplasma. En algunos cortes encontramos, en la vecindad del núcleo, una estructura vacuolar, redonda, de aproximadamente 3 micras de diámetro, rodeada por una unidad de membrana, que contiene un material granular fino (Fig. 4).

A medida que las células se aproximan al estrato granuloso y a la capa córnea, dos nuevos elementos pueden encontrarse en el citoplasma: pequeños granulos esféricos, y granulos de queratohialina. Los primeros aparecen dispersos entre los filamentos (Fig. 5). La queratohialina se presenta como grumos irregulares, los cuales constituyen con frecuencia una corona alrededor del núcleo (Fig. 7). Además observamos, ocasionalmente, granulos de apariencia similar a los de melanina (Fig. 6).

Los desmosomas (mácula adherens) se encuentran situados en la superficie celular, a nivel de prolongaciones cortas y gruesas del citoplasma. Cada desmosoma está formado por dos placas de unión, una en cada superficie celular, separadas por un espacio intercelular, el cual se halla ocupado por la "línea intercelular densa" (Fig. 8). La alta densidad de la placa de unión la hace resaltar del citoplasma vecino. Mide de 100-140 Å de ancho, por 0,4 micras de largo y se aplica a la hoja más interna de la membrana celular. Sobre su superficie citoplasmática converge siempre un manojo de filamentos. El espacio intercelular entre las dos placas de unión mide 350-360 Å y está ocupado parcialmente por la línea intercelular densa. Esta lámina mide 220 Å de grosor y presenta una imagen trilaminar, constituida por dos hojas externas de 30 a 35 Å cada una, separadas entre sí por un espacio más claro, en cuyo interior se encuentra la tercera hoja densa. La línea intercelular densa está situada a una distancia de 70 a 75 Å de cada membrana celular.

La célula presenta microvellos en su superficie (Fig. 9), los cuales aparecen como prolongaciones encorvadas, largas y finas, pudiendo alcanzar, las más grandes, hasta 0,3 micras de largo por 0,04 micras de ancho; en su vecindad hemos observado va-



Fig. 4. Microfotografía electrónica de parte del citoplasma de dos células espinosas. Se aprecian los núcleos (N), uno de los cuales ha sido cortado tangencialmente. En su vecindad hay una vacuola (V), de contenido granular fino; gran cantidad de ribosomas y tonofilamentos ocupan el resto del citoplasma. Los contactos intercelulares o desmosomas se disponen en forma escalonada. Una prolongación de una célula de Langerhans (L) se insinúa en el espacio intercelular. Se pueden ver en ella gránulos de alta densidad electrónica. 18.000x.



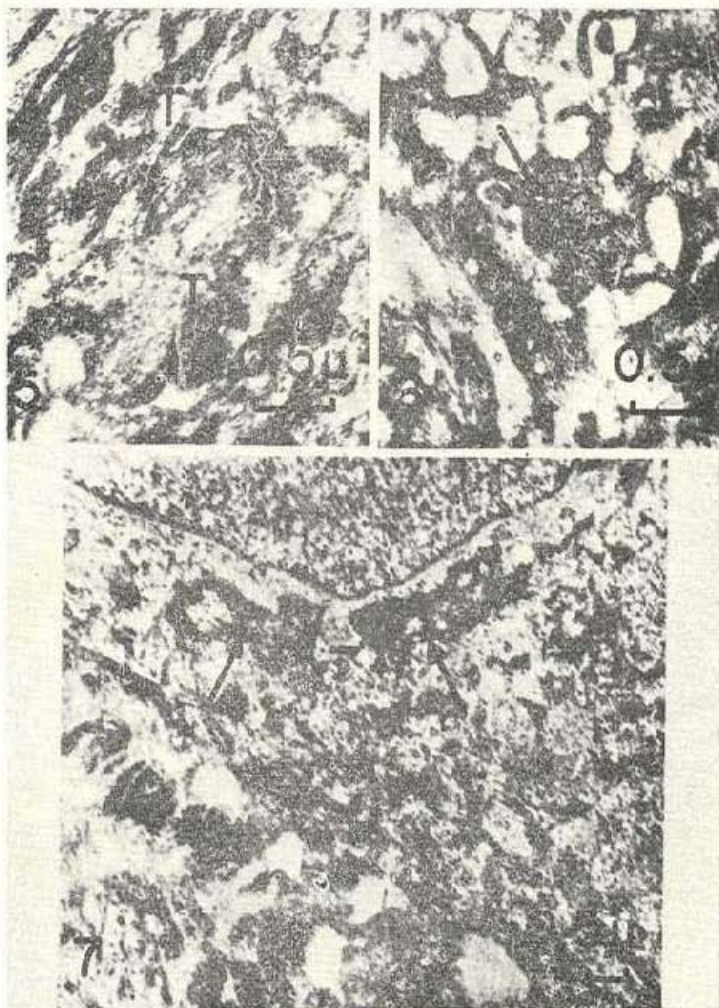


Fig. 5. Gránulos pequeños (flecha) en la vecindad de los manojos de tonofilamentos (T). 24.000x.

Fig. 6. Gránulo fuertemente osmiofílico localizado en la periferia celular. Su apariencia es semejante a la de los gránulos de melanina (flecha). 24.000x.

Fig. 7. Gránulos de queratohialina (flechas), de forma irregular y con espacios claros en su interior, ubicados en la vecindad del núcleo. 24.000x.

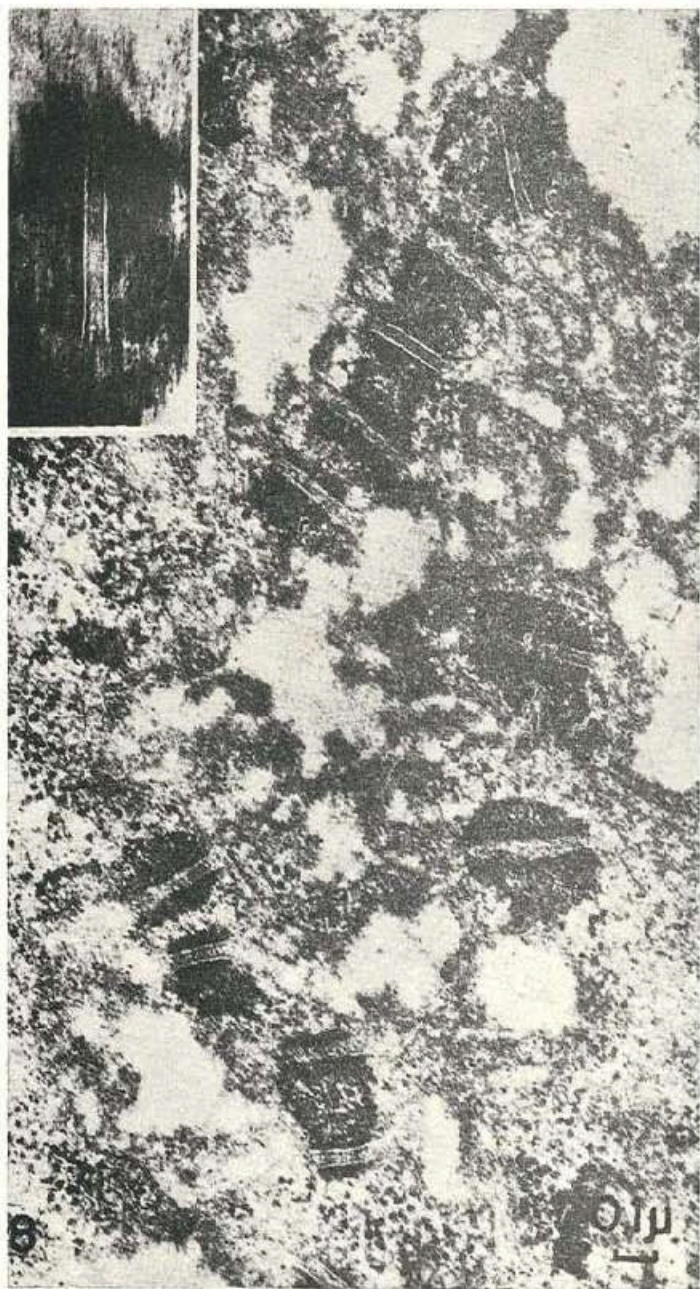


Fig. 8. Mayor aumento mostrando los desmosomas compuestos de dos placas de unión, en cuya superficie interna se observa un material de alta densidad electrónica, el cual corresponde a la sección transversal de los manojos de tonofilamentos. Entre las dos placas de unión se encuentra la línea intercelular densa, la cual está separada de las dos primeras por finos espacios intercelulares. En el ángulo superior izquierdo se muestra, a mayor magnificación, la estructura triple de la línea intercelular densa. 66.000x.





Fig. 9. En la vecindad de los desmosomas se pueden apreciar los microvellos avanzando en el espacio intercelular. En la base de los mismos se encuentran vacuolas, de contenido claro y de tamaño variable. 24.000x.



Fig. 10. Microfotografía electrónica mostrando la substancia granular fina, presente en los espacios intercelulares (S.G.). 24.000x.

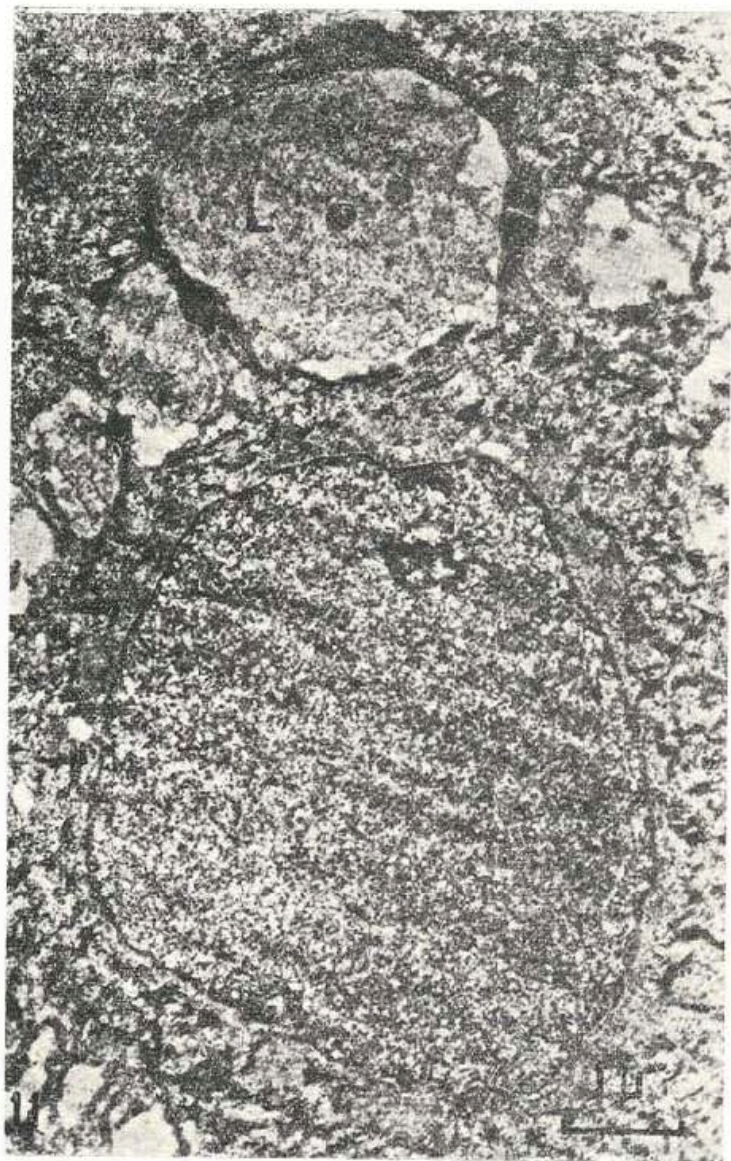


Fig. 11. Núcleo mostrando distribución homogénea de la cromatina y el nucléolo. Los espacios intercelulares están muy dilatados y en gran parte ocupados por las prolongaciones de una célula de Langerhans (L); la cual muestra gránulos de moderada densidad electrónica. 18.000x.



cúculas de tamaño variable, rodeadas por una unidad de membrana. El espacio intercelular, en sitios distintos al comprendido en los desmosomas, aumenta de tamaño, alcanzando hasta 5 micras y usualmente se presenta claro; aunque en ocasiones es posible evidenciar una discreta sustancia intercelular amorfa, de baja densidad electrónica (Fig. 10). Insinuándose entre los espacios intercelulares se observan las prolongaciones de las células de Langerhans (Fig. 11).

### Núcleo

El núcleo (Figs. 1 y 11), redondeado u ovalado, con un diámetro promedio de 5,9 x 3,1 micras, puede alcanzar hasta 8,9 x 4,6 micras. Está separado del citoplasma por una doble membrana, interrumpida por los poros nucleares; las dos membranas comprenden entre sí un espacio claro o cisterna. El núcleo muestra de uno a tres nucléolos grandes, de alta densidad electrónica, en los cuales se distingue el nucléolonema y la "pars amorfa". Se observa una distribución uniforme de la cromatina.

### DISCUSION

Las células espinosas descritas en el presente estudio, muestran abundantes ribosomas libres y escaso desarrollo del retículo endoplasmático rugoso. Esta imagen sugiere que estas células realizan una alta biosíntesis proteica. No hemos encontrado estudios fisiológicos que revelen el metabolismo proteico de estas células. Las investigaciones realizadas en la epidermis humana<sup>3,7,13</sup> y animal<sup>4,17,45,48,54,55</sup>, revelan que los ribosomas están en íntima asociación con dicha función metabólica, la cual, aparentemente, es mayor en las capas media y profunda del estrato espinoso<sup>17</sup>; aunque sin desaparecer del todo en las células superficiales<sup>16</sup>.

Las proteínas fibrilares, sintetizadas en las capas profundas por los ribosomas, se agrupan para formar las fibrillas<sup>12,16,20</sup>; y sobre estas fibrillas, en las capas superficiales, los ribosomas superponen nuevas proteínas para transformarlas en queratohialina<sup>5,6,16,56,57</sup>. La asociación de ribosomas y tonofilamentos que hemos observado en estas células, se aprecia también en las

células espinosas de la epidermis<sup>42</sup>, en la encía normal de ratas<sup>36</sup>, y encía humana normal y patológica<sup>20 34 50</sup>, así como también en células no epidérmicas ricas en fibrillas, tales como los elementos reticulares del timo del cobayo<sup>21 35</sup>. Obsérvase por el contrario, escasos ribosomas en algunas células epiteliales bucales situadas en zonas que no sufren queratinización y que, a la vez, poseen pocas tonofibrillas, tanto en el humano<sup>53</sup>, como en peces<sup>7</sup>.

Las mitocondrias son escasas, indicando que probablemente es poca la necesidad de las funciones metabólicas que realizan estos organoides<sup>43</sup>. Los pequeños gránulos que se observan en algunas de estas células, han sido interpretados como restos de mitocondrias degeneradas<sup>56</sup>. Estos gránulos han sido descritos en la epidermis del canguro<sup>32 33 38</sup>, y en la cavidad bucal humana normal<sup>14 15 16 49</sup>, y se consideran una etapa en la formación de la queratohialina<sup>16</sup>.

Considerando que las proteínas sintetizadas en estas células son utilizadas por ellas mismas para fabricar fibrillas y queratohialina, es fácil comprender, según lo expresado por De Robertis<sup>9</sup>, que al almacenarse poco y no necesitar sistemas de transporte, el retículo endoplasmático y el complejo de Golgi sean escasos; imagen contraria a la observada en células como las pancreáticas, que sintetizando, transportando y almacenando proteínas, que luego han de ser excretadas, poseen estos sistemas muy desarrollados<sup>22 23</sup>. No se observaron los elementos característicos del complejo de Golgi (membranas, vacuolas y vesículas). Aparentemente existe en estas células una forma vacuolar del complejo de Golgi. Un estudio de este aspecto debe ser realizado.

Desconocemos la probable significación fisiológica de la estructura vacuolar rodeada por membrana que contiene material granuloso fino.

Las medidas dadas por nosotros para los componentes del desmosoma, son equiparables a las obtenidas por Stern<sup>51</sup>. La afinidad diferente de estos componentes por los fijadores y colorantes, ha permitido especular sobre su posible constitución química<sup>27</sup>; interpretándose las zonas densas (placas de unión y líneas densas intercelulares) como constituidas por proteínas, en tanto que las claras del espacio intercelular corresponderían



a polisacáridos con funciones de cemento<sup>39</sup>, que se continuarían con los polisacáridos situados en el resto del espacio intercelular<sup>41</sup>.

Muy probablemente el origen de las placas de unión es citoplasmático<sup>11 26</sup>, y creemos que un cambio localizado en la membrana celular a nivel de la placa de unión, similar al observado por Farbman<sup>9</sup>, podría explicar este origen. Se ha considerado a la hoja de la membrana celular aplicada a la placa de unión, como la más interna de los elementos de la unidad de membrana; y la más externa, a la hoja o lámina lateral de la línea intercelular densa. No hemos observado continuidad estructural entre las hojas de la membrana celular y la línea intercelular densa. Por lo tanto, consideramos extracelular a la estructura trilaminar de la línea intercelular densa; en contraposición a los que sólo consideran la lámina media de la línea intercelular densa, como verdaderamente extracelular<sup>10 26 46</sup>. Roth y Clark<sup>46</sup>, opinan que esta disparidad de opinión es debida al hecho de haberse realizado los estudios en tejidos de animales diferentes, pero creen que en la epidermis humana todas estas estructuras son realmente extracelulares.

La estructura triple de la línea intercelular densa observada en la cavidad bucal del hombre<sup>31 36 41 53</sup>, se ha encontrado también en la cavidad bucal de ratones<sup>37</sup>, en la piel de la boa constrictor<sup>47</sup>, y entre células bucales cultivadas<sup>24 25</sup>. Los desmosomas no son una peculiaridad del epitelio plano estratificado de la cavidad bucal o de la piel. Se han descrito igualmente en otros epitelios, por ejemplo, en células linfocitarias del timo del cobayo<sup>21</sup>; entre fibroblastos, osteoblastos y odontoclastos fetales<sup>46</sup>, en el epitelio uterino de ratas, durante las etapas de ciclo menstrual<sup>52</sup>.

El espacio intercelular en el estrato espinoso del epitelio gingival, es característicamente grande; aparentemente se reduce de tamaño a medida que las células se aproximan a las capas más superficiales. Las microfotografías electrónicas muestran cómo a nivel de los desmosomas, las células están muy próximas entre sí; pero en otros sitios se alejan, en ocasiones hasta varias micras de distancia. En la epidermis humana se ha podido determinar, que el valor de estos espacios es el 16% del volumen total<sup>18 19</sup>. Estos espacios intercelulares grandes apa-

rentemente permiten la libre difusión de agua, iones y moléculas de sustancias no electrolíticas de tamaño variable.

Las células aumentan su superficie al emitir los microvellos, los cuales probablemente cumplen también funciones de fagocitosis, en vista de las vacuolas que se observan en la base de los mismos.

La substancia intercelular amorfa, suponemos corresponde a polisacáridos<sup>39, 40</sup>, los cuales facilitarían el movimiento de iones y pequeñas moléculas sobre la superficie celular y actuarían como adhesivos, según ha sido descrito por Pease<sup>39</sup>, en células epiteliales.

## RESUMEN

Se tomaron muestras de encía humana normal, las cuales se fijaron primeramente con glutaraldehído; se practicó fijación secundaria en tetraóxido de osmio y se incluyó en Epon. Las secciones finas se tiñeron con acetato de uranilo y se estudiaron al microscopio electrónico.

El citoplasma muestra abundantes ribosomas libres y tonofibrillas. El desarrollo del retículo endoplasmático rugoso es escaso. El complejo de Golgi es aparentemente del tipo vacuolar. Las mitocondrias son escasas. En algunos cortes se observó una vacuola en la vecindad del núcleo, de contenido granular fino. La superficie celular emite microvellos, en la base de los cuales se observan vacuolas de contenido claro. Las células están unidas entre sí por desmosomas, compuestos de dos placas de unión y una línea intercelular densa, de estructura trilaminar. Existen grandes espacios intercelulares, algunos de los cuales muestran una substancia amorfa. Las células espinosas presentaron un núcleo grande y nucléolos.

Se especula sobre la probable significación fisiológica de los hallazgos.

## SUMMARY

Samples of normal human oral mucosa were fixed in glutaraldehyde, post-fixed in osmium tetroxide and embedded in



Epon. Thin sections were stained with uranyl acetate and examined with the aid of the electron microscope. The cytoplasm shows abundant free ribosomes, tonofibrils and a poorly-developed, rough surfaced endoplasmic reticulum. The Golgi complex is apparently of a vacuolar type. Few mitochondria are seen. In some electron micrographs a vacuolar structure of fine granular content is observed in the vicinity of the nucleus. The cell surface has long flexible microvilli. Clear vacuoles are observed in its basal region. Cells are joined by desmosomes formed by two attachment plaques and a dense intercellular line of a triple layer structure. Large intercellular spaces are found, some of which contain an amorphous substance. The stratum spinosum cells possess a large nucleus and one to three nucleoli. The probable physiological significance of these findings is discussed in the light of previous information.

#### AGRADECIMIENTO

Nuestra gratitud a la Srta. Zoila González y al Sr. José Espinoza, por su asistencia técnica; y al Sr. Eduardo Añez, por el trabajo fotográfico.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 — ALBRIGHT, J. T. "Electron microscope studies of keratinization as observed in gingiva and cheek mucosa". *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 85: 351-361. 1960.
- 2 — ALBRIGHT, J. T.; SKOBE, Z. "Comparative ultrastructure of oral epithelium in fish and amphibia". *Arch. Oral Biol.* 10: 921-928. 1965.
- 3 — BADEN, H. P.; FREEDBERG, M. A. "Protein synthesis in epidermis". *Fed. Proc. (Resumen)*. 23: 333. 1964.
- 4 — BADEN, H. P.; PATHAK, M. A. "The metabolism and function of urocanic acid in skin". *J. Invest. Derm.* 48: 11-17. 1967.
- 5 — BRODY, I. "An ultrastructural study on the role of the keratohyalin granule in keratinization process". *J. Ultrastruct. Res.* 3: 84-104. 1959.

- 6 — BRODY, I. "Different staining methods for the electron-microscopic elucidation of the tonofibrillar differentiation in normal epidermis". Montagna, W.; Lobitz, W. *The Epidermis*. Pág. 251-273. Academic Press. New York, 1964.
- 7 — De BERSAQUE, J. "Purine and pyrimidine metabolism in human epidermis". *J. Invest. Derm.* 48: 169-173. 1967.
- 8 — De ROBERTIS, E. D.; NOWINSKI, W. W.; SAEZ, F. A. "Biología Celular". Pág. 191-221. El Ateneo. Buenos Aires. 1965.
- 9 — FARBMAN, A. I. "Plasma membrane changes during keratinization". *Anat. Rec.* 156: 269-282. 1966.
- 10 — FARQUHAR, M. G.; PALADE, G. E. "Cell junction in amphibian skin". *J. Cell Biol.* 26: 263-291. 1965.
- 11 — FAWCETT, D. W. "Intercellular bridges". *Exp. Cell Res. Suppl.* 8: 174-187. 1961.
- 12 — FREEDBERG, I. M. "Effects of local therapeutic agents upon epidermal macromolecular metabolism". *J. Invest. Derm.* 45: 529-538. 1965.
- 13 — FREEDBERG, I. M.; FINE, H.; CORDELLE, F. H. "Cell-free protein synthesis in mammalian skin". *J. Invest. Derm.* 48: 55-66. 1967.
- 14 — FRITHIOF, L.; WERSALL, J. "A highly ordered structure in keratinizing human oral epithelium". *J. Ultrastruct. Res.* 12: 371-379. 1965.
- 15 — FRITHIOF, L.; GERLOF, B. L.; WERSALL, J. "Electron microscopical observations on hyperkeratinization in oral mucosa". *Acta Otolaryng.* (Phila). 8: 39-44. 1964.
- 16 — FUKUYAMA, K.; EPSTEIN, W. I. "Ultrastructural autoradiographic studies of keratohyalin granule formation". *J. Invest. Derm.* 49: 595-604. 1967.
- 17 — GUMUCIO, J.; FELDKAMP, I. A. "Studies on localization of 'histidine rich' peptide material present in epidermis of the newborn rat". *J. Invest. Derm.* 49: 545-551. 1967.
- 18 — HALPRIN, K. M.; OHKAWARA, A.; ADACHI, K. "Glucose entry into the human epidermis. The concentration of glucose into the human epidermis". *J. Invest. Derm.* 49: 559-560. 1967.
- 19 — HALPRIN, K. M.; OHKAWARA, A. "Glucose entry into the human epidermis. The penetration of glucose into the human epidermis in vitro". *J. Invest. Derm.* 49: 561-568. 1967.
- 20 — HASHIMOTO, K.; DIBELLA, R. J.; TARNOWSK, W. M.; SHKLAR, G. "Electron microscopic studies of oral benign leukoplakia". *Oral Surg.* 25: 901-913. 1968.
- 21 — IZARD, J. "Ultrastructure of the thymic reticulum in guinea pig". *Anat. Rec.* 155: 117-132. 1966.
- 22 — JAMESON, J. D.; PALADE, G. E. "Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. I. Role of the peripheral elements of the Golgi complex". *J. Cell Biol.* 34: 577-596. 1967.



- 23 — JAMIESON, J. D.; PALADE, G. E. "Intracellular transport of secretory proteins in the pancreatic exocrine cell. II. Transport to condensing vacuoles and zymogen granules". *J. Cell Biol.* 34: 597-615. 1967.
- 24 — JEPSEN, A.; THEILADE, J. "Electron microscopic identification of epithelial cells in tissue culture of oral mucous membrane". *J. Cell Biol.* 32: 770-772. 1967.
- 25 — KALLMAN, F.; WESSELLS, N. K. "Periodic repeat units of epithelial cell tonofilaments". *J. Cell Biol.* 32: 227-240. 1967.
- 26 — KARRER, H. E. "Cell interconnections in normal human cervical epithelium". *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 7: 181-184. 1960.
- 27 — KOMURA, J.; OFUJI, S. "Effect of electron stains and desmosome, an electron microscopic study". *J. Invest. Derm.* 48: 304-308. 1967.
- 28 — KUMEGAWA, M.; CATTONI, M.; ROSE, G. G. "Electron microscopy of oral cells in vitro". *J. Cell Biol.* 36: 443-452. 1968.
- 29 — LISTGARTEN, M. A. "The ultrastructure of human gingival epithelium". *Amer. J. Anat.* 114: 49-70. 1964.
- 30 — LUFT, J. H. "Improvements in epoxy resin embedding methods". *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9: 409-414. 1961.
- 31 — LUZARDO BAPTISTA, M.; CASTEJON, O. J. "Ultraestructura de las células espinosas del epitelio de la mucosa oral". (Resumen). *Acta Cient. Venez.* 19: 11. 1968.
- 32 — MATOLTSY, A. G. "Membrane coating granules of the epidermis". *J. Ultrastruct. Res.* 15: 510-515. 1966.
- 33 — MATOLTSY, A. G.; PARAKKAL, P. F. "Membrane-coating granules of keratinizing epithelia". *J. Cell Biol.* 24: 297-307. 1965.
- 34 — MAZZELLA, W. J.; VERMICK, S. H. "The ultrastructure of normal and pathologic human gingival epithelium". *J. Periodon.* 39: 5-8. 1968.
- 35 — MURRAY, R. G.; MURRAY, A.; PIZZO, A. "The fine structure of the thymocytes of young rats". *Anat. Rec.* 151: 17-40. 1966.
- 36 — OBERTY, C.; MERY, C. "Zonas de adhesión celular en el epitelio bucal humano (lengua). Estudio ultraestructural". *Biológica.* 40: 21-27. 1967.
- 37 — OSMANSKI, C. P.; MEYER, J. "Differences in the fine structure of the mucosa of mouse cheek and palate". *J. Invest. Derm.* 48: 309-317. 1967.
- 38 — PEASE, D. C. "Polysaccharides associated with the exterior surface of epithelial cells". *J. Ultrastruct. Res.* 15: 555-588. 1966.
- 39 — RAMBOURG, A. "An improved silver methenamine technique for the detection of periodic acid-reactive complex carbohydrates with the electron microscope". *J. Histochem. Cytochem.* 15: 409-412. 1967.

- 40 — RAMBOURG, A.; NEUTRA, M.; LEBLOND, C. P. "Presence of a cell coat rich in carbohydrate at the surface of cell in the rat". *Anat. Rec.* 154: 41-72. 1966.
- 41 — PARAKKAL, P. F. "An electron microscopic study of esophageal epithelium in the newborn and adult mouse". *Amer. J. Anat.* 121: 175-196. 1967.
- 42 — ROGERS, G. E. "Structural and biochemical features of the hair follicle". Montagna, W.; Lobitz, W. *The Epidermis*. Pág. 179-236. Academic Press. New York, 1964.
- 43 — ROSSET, T.; OHKIDO, M.; SMITH, J. G.; YARDLEY, H. "Studies in the biochemistry of skin". *J. Invest. Derm.* 48: 67-78. 1967.
- 44 — ROSS, R.; GREENLEE, Th. K. "Electron microscopy: Attachment sites between connective tissue cells". *Science*. 153: 997-999. 1965.
- 45 — ROTH, S. I.; BADEN, H. P. "An autoradiographic study of the sites of protein synthesis in the epidermis of the indigo snake". *J. Exp. Zool.* 165: 345-354. 1967.
- 46 — ROTH, S. I.; CLARK, W. H. "Ultrastructural evidence related to the mechanism of keratin synthesis". Montagna, W.; Lobitz, W. *The Epidermis*. Pág. 303-337. Academic Press. New York. 1964.
- 47 — ROTH, S. I.; JONES, W. A. "The ultrastructure and enzymatic activity of the boa constrictor skin during the resting phase". *J. Ultrastruct. Res.* 18: 304-323. 1967.
- 48 — SELBY, C. C. "An electron microscope study of the epidermis of mammalian skin in thin section". *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1: 429-444. 1955.
- 49 — SILVERMAN, S. "Ultrastructure studies of oral mucosa". *J. Dent. Res.* 46: 1433-1443. 1967.
- 50 — SOGNAES, R. F.; ALBRIGHT, J. T. "Preliminary observations on the fine structure of the oral mucosa". *Anat. Rec.* 126: 225-239. 1956.
- 51 — STERN, I. B. "Electron microscopic observations of oral epithelium". *Periodontics*, 3: 224-238. 1965.
- 52 — STEGNER, H. E.; IWATA, M. "Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Scheidenepithel der Ratte während des Oestrischen Zyklus". *Z. Mikr. Anat. Forsch.* 76: 491-508. 1967.
- 53 — SUSI, F. R.; BELT, W. D.; KELLY, J. W. "Fine structure of fibrillar complexes associated with the basement membrane in human oral mucosa". *J. Cell Biol.* 34: 686-690. 1967.
- 54 — TABACHNICK, J. "Studies on the biochemistry of epidermis". *J. Invest. Derm.* 42: 471-478. 1964.
- 55 — TABACHNICK, J.; PERLISH, S. "Studies on the biochemistry of epidermis". *J. Invest. Derm.* 48: 587-594. 1967.



- 56 — WATSON, M. L. "Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals". *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4: 475-478. 1958.
- 57 — WILGRAN, G.; CAULFIELD, J. B.; MADGIC, E. B. "A possible role of the desmosome in the process of keratinization". Montagna, W.; Lobitz, W. *The Epidermis*. Pág. 275-301. Academic Press. New York. 1964.
- 58 — ZELICKSON, A. S.; HARTMANN, J. F. "An electron microscopic study of normal human non-keratinizing oral mucosa". *J. Invest. Derrn.* 38: 99-107. 1962.
- 59 — ZELICKSON, A. S. "Electron microscopy of skin and mucous membrane". Pág. 64-95. Charles C. Thomas. Springfield. 1963.
- 

"La mayoría de los descubrimientos más grandes tales como la electricidad, los rayos X, la energía atómica y la radiactividad, tuvieron su origen en investigaciones sin ningún fin especial, lo que permite al investigador seguir indicios inesperados e interesantes, sin la intención de obtener resultados de valor práctico. En la investigación con cierto fin es al proyecto al que se le da apoyo, mientras que en la investigación sin ningún fin el apoyo se le da al hombre".

W. I. B. Beveridge  
*"The Art of Scientific Investigation"*.