

ULTRAESTRUCTURA DE LA CAPA CORNEA EN LA MUCOSA BUCAL
HUMANA NORMAL

- **Dr. Mario Luzardo-Baptista.**
- **Dr. Jorge García Tamayo.**

Laboratorio de Microscopía Electrónica.
Servicio de Patología.
Hospital General del Sur.
Maracaibo, Venezuela.

INTRODUCCION

Hemos presentado previamente la ultraestructura de la célula epitelial de la mucosa bucal humana normal a nivel de la capa basal⁴ y estrato espinoso³. Publicamos también estudios ultraestructurales sobre el epitelio plano estratificado del exocérnix⁷, llamando la atención sobre las uniones intercelulares en tejidos normales^{5, 7} y en condiciones patológicas, en las cuales estas estructuras no sufren alteraciones⁸.

En este trabajo reportamos los cambios sufridos por la célula epitelial al queratinizarse, especialmente a nivel del desmosoma, de la membrana citoplasmática, y las modificaciones en el contenido y dimensiones del espacio intercelular. Estos resultados, sumados a algunas observaciones histoquímicas^{6, 11}, agregan información adicional para una mayor comprensión de la fisiología normal de la descamación celular.

MATERIAL Y METODO

Se tomaron biopsias de encía humana normal en pacientes clínicamente sanos, y se procesaron de la manera descrita por nosotros en publicaciones previas^{7, 8}.

RESULTADOS

El espesor de la capa córnea, en la encía fija al reborde alveolar, está formado por dos a cuatro hileras de cuerpos celulares cornificados. Las células cornificadas contienen restos de organoides citoplasmáticos. La matriz citoplasmática está constituida por un

material de moderada densidad electrónica, que sirve de soporte a fibrillas de 90 Å de espesor, las cuales en su mayoría están aisladas (Figs. 1 y 2).

Se encuentran remanentes de los pequeños gránulos en forma de diminutos cuerpos redondeados de 800 Å de diámetro, limitados por membranas, frecuentemente en la vecindad de la membrana citoplasmática; algunos en contacto directo con ella (Fig. 1). Además, se observaron gránulos de queratohialina (Fig. 3) y acúmulos aislados de cromatina nuclear.

La membrana citoplasmática presenta un notable engrosamiento a expensas de su hoja interna pudiendo alcanzar hasta 200 Å de espesor (Fig. 4). El desmosoma (Figs. 1 y 2) es reemplazado por un área electrodensa, situada a nivel del espacio intersticial, que no hace contacto con las membranas celulares; se observa una ligera condensación del citoplasma sobre la zona de la membrana celular correspondiente. Además, se ven grandes superficies celulares en íntimo contacto, pero éste no tiene las características anatómicas de las uniones estrechas. En estas células se observan escasos restos de los pequeños gránulos y un material granular de mediana densidad electrónica, acumulado en grumos, en el espacio intersticial.

Las células granulosas, presentes en varios cortes entre la capa córnea y el estrato espinoso, contienen abundantes restos de cromatina nuclear, mayor número de gránulos de queratohialina y mitocondrias en desintegración. Los pequeños gránulos de 800 Å de diámetro se ubican en su periferia.

Observamos, además, células con citoplasma grumoso (Fig. 2), denominadas por Brody¹ como células de "transición" (Célula T de Brody).

DISCUSION

La mucosa gingival presenta características ultraestructurales relacionadas con los factores ambientales que gravitan sobre ella, los cuales hacen variar el aspecto de la mucosa en las diferentes zonas. La encía fija al reborde alveolar posee una capa córnea, que si bien es poco desarrollada, ofrece protección contra el traumatismo frecuente al cual está sometida.



Fig. 1. Microfotografía electrónica de células epiteliales de la encía humana normal en proceso de queratinización. Se observa el citoplasma libre de organoides; restos aislados de ellos se ven en el endoplasma. En el ectoplasma vecino a la membrana citoplasmática, se observan cuerpos ovalados, electrodensos, que posiblemente corresponden a restos de los pequeños gránulos (flecha). La matriz citoplasmática adquiere un carácter más osmiofílico y sirve de soporte a tonofilamentos que cruzan el campo paralelamente al eje mayor de las células. Obsérvese el aumento de grosor de la membrana citoplasmática, el aspecto del desmosoma y la substancia electrodensa del espacio intersticial. Buffer-cacodilato y osmio. X 60.000.



Fig. 2. Células epiteliales de la mucosa bucal humana normal completamente queratinizadas. La matriz citoplasmática está compuesta de un material electrodenso (queratohialina). La célula del medio, en la cual el material forma grumos, es conocida como "Célula T Brody". A nivel de los antiguos desmosomas, se ve el espacio intersticial ocupado por un material electrodenso. Glutaraldehído y osmio. X 75.000.

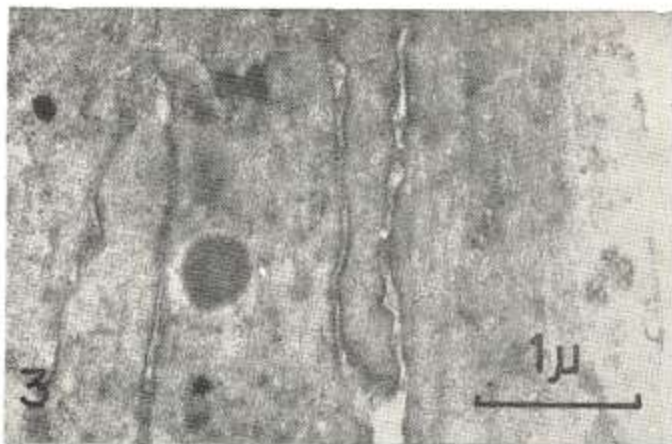


Fig. 3. Microfotografía electrónica que nos muestra un gránulo remanente de queratohialina en una célula epitelial gingival cornificada. Glutaraldehído y osmio. X 22.500.

Hemos descrito previamente^{3, 4} la presencia de grandes espacios intercelulares en las capas profundas de la mucosa bucal, con microvellos destinados a aumentar la superficie celular. Los grandes espacios intercelulares están destinados a facilitar el tránsito de líquido y sustancias disueltas para la alimentación celular, que en este tejido se realiza por difusión en virtud de la gran distancia que separa a sus elementos de los vasos sanguíneos.

A nivel de la capa córnea observamos cómo el espacio intersticial se encuentra reducido de volumen, por lo que deducimos que la célula epitelial a este nivel tiene un menor suministro de agua y sustancias nutrientes; apoya esto la falta casi absoluta de microvellos y vesículas de micropinocitosis a este nivel.

Muchos investigadores^{1, 9, 10, 12} han observado en la capa córnea de otros tejidos, que la membrana celular se encuentra engrosada. En la encía humana este engrosamiento es evidente, alcanzando hasta 200 Å; en este cambio del espesor de las membranas se han implicado a los "pequeños gránulos"⁹. Estos orgánoides, formados en el interior del citoplasma en las capas profundas del estrato de Malpighi, en relación a membranas del complejo de Golgi¹², migran hacia la periferia celular a manera



Fig. 4. Alta resolución que nos permite ver el engrosamiento de la membrana citoplasmática a expensas de la hoja interna de esta membrana. Buffer-cacodilato y osmio. X 106.250.

que la célula se superficializa, fusionando luego su membrana con la membrana citoplasmática y vertiendo su contenido al espacio intersticial⁹. Se creyó que esta sustancia vertida al espacio intersticial se adhiere a la membrana celular engrosándola⁹. En nuestros resultados presentamos evidencia de que el engrosamiento de la membrana plasmática se realiza en su lado citoplasmático, permaneciendo la hoja externa de la unidad de membrana de igual espesor. Por lo que creemos que no existe influencia de estos gránulos en el engrosamiento de la membrana citoplasmática.

Al contemplar el origen de los pequeños gránulos creímos desde un comienzo que podrían tener actividad enzimática y relacionarse con lisosomas⁵; este punto de vista ha sido comprobado al demostrarse actividad de la enzima fosfatasa ácida en su interior¹¹, así como en el espacio intercelular^{6, 8}. Ignoramos hasta qué punto esta enzima, y otras aún no demostradas, influyen en la degradación del cemento intercelular favoreciendo la descamación celular.

Los queratinocitos^{1, 10, 11} en los diferentes niveles presentan manojos de tonofilamentos. Hemos descrito previamente^{4, 5}, cómo estos tonofilamentos recorren el citoplasma y algunos convergen sobre las placas de unión de los desmosomas. A todos los niveles su grosor se mantiene uniforme, variando sólo su número en el manojito y el número de éstos en las distintas capas. A nivel del estrato córneo los tonofilamentos están aislados o en manojos laxos, incluidos en la sustancia de fondo del citoplasma. Los tonofilamentos contienen pocos aminoácidos sulfurados, y están compuestos por proteínas fibrilares cuyos patrones de difracción son iguales a los de la alfaqueratina^{10, 12}.

Los gránulos de queratohialina son inclusiones citoplasmáticas formadas por proteínas pobres en azufre cuyo tamaño varía desde cientos de Angströms hasta varias micras⁹. La densidad electrónica del gránulo de queratohialina y su estructura interior es diferente en las distintas especies². En general los gránulos de queratohialina son más pequeños en las capas profundas del epitelio, aumenta de tamaño hacia la superficie y se ven en íntima asociación con ribosomas y tonofilamentos. A medida que los gránulos crecen, los ribosomas y filamentos vecinos parecen quedar incluidos en su interior. A nivel de las células cornificadas los

gránulos de queratohialina desaparecen, no conociéndose cuál es el destino de estos gránulos tan frecuentes en el estrato espinoso y tan escasos en el estrato córneo.

Para explicar el fenómeno de la cornificación y la desaparición de los gránulos de queratohialina tres posibilidades han sido consideradas⁹. **1.** Los gránulos simplemente desaparecen sin jugar ningún papel en la queratinización celular. **2.** Filamentos formados en las capas superficiales, al comienzo situados en forma amorfa dentro del gránulo y muy pobres en azufre, podrían luego, al deshacerse el gránulo, extenderse a todo el citoplasma y comunicarle la mayor densidad electrónica a esta zona. **3.** Podríamos considerar la posibilidad de que el gránulo contuviera sustancias que al disolverse en la célula superficial, constituyeran la matriz densa de la célula cornificada.

Opinamos, que los filamentos de la célula queratinizada provienen en su mayoría de los formados en las capas profundas del epitelio, y que el gránulo de queratohialina, al disolverse, suministra sustancias que mezcladas con la matriz citoplasmática hacen sufrir a ésta un notable cambio químico que anatómicamente se ve en las microfotografías electrónicas como un aumento de la densidad de la matriz citoplasmática.

RESUMEN

Se estudió la estructura submicroscópica de la capa córnea de la encía humana normal. El material se fijó en glutaraldehído y osmio; se incluyó en araldita y se tiñó con acetato de uranilo y plomo.

Se observaron en las células cornificadas restos de orgánulos citoplasmáticos; tonofibrillas de 90 A; y aumento de la densidad electrónica de la matriz citoplasmática. Además, contenían remanentes de los pequeños gránulos en la vecindad de la membrana plasmática. La membrana citoplasmática de estas células presentaba un notable engrosamiento a expensas de su hoja interna con los desmosomas de morfología diferente a los situados en el estrato espinoso. Las células granulosas, y las células T de Brody se encontraban también a este nivel. A nivel del espacio intersticial se observaron restos de pequeños gránulos, y un material de mediana densidad electrónica.

Se discute la capacidad enzimática de los pequeños gránulos y su relación con los lisosomas; y se descarta la posibilidad de que ellos contribuyan al engrosamiento de la membrana citoplasmática. Se considera la queratinización de la célula epitelial debida a la disolución de los gránulos de queratohialina, y los tonofilamentos de estas células como provenientes de los situados en las capas profundas.

SUMMARY

The submicroscopic structure of the corneal layer of the normal human gum was studied. The material was fixed in glutaraldehyde and osmium, embedded in araldite and stained with uranyl acetate and lead citrate.

In the keratinized cells remains of cytoplasmic organoids and tonofibrils of 90 A in diameter were observed. The cytoplasmic matrix had a high electron density. Besides, these cells contained remnants of small granules in the vicinity of the plasmatic membrane. The inner leaf of the cytoplasmatic membrane of these cells presented a notable thickening and the desmosomes were different from those situated in the stratum spinosum. Granule and Brody T cells were also found at this level. At the level of the interstitial space, remains of small granules were observed as well as a material of moderate electron density.

The enzymatic capacity of the small granules and their relation to the lysosomes is discussed, and the possibility that they contribute to the thickening of the cytoplasmatic membrane is discarded. We consider the keratinization of the epithelial cell as due to the dissolution of the keratohyalin granules and the tonofilaments of these cells as coming from those which are situated in deeper layers.

AGRADECIMIENTO

A los Sres. Jesús Vivas y Eduardo Añez por su asistencia técnica.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 — BRODY, I. "An electron microscopic study of the fibrillar density in the normal human stratum corneum". *J. Ultrastr. Res.* 30: 209-217. 1970.
 - 2 — FARBMAN, A. I. "Morphological variability of keratohyalin". *Anat. Rec.* 154: 273-286. 1966.
 - 3 — LUZARDO-BAPTISTA, M. J.; CASTEJON, O. "Ultraestructura de las células espinosas de la mucosa bucal humana normal". *Invest. Clín.* 27: 17-38. 1968.
 - 4 — LUZARDO-BAPTISTA, M. J.; GARCIA-TAMAYO, J. "Ultraestructura de la lámina basal y de las células basales del epitelio de la mucosa bucal humana normal". *Invest. Clín.* 28: 23-40. 1968.
 - 5 — LUZARDO-BAPTISTA, M. J.; CASTEJON, O. "Epithelial junction in the stratum spinosum of the human oral mucosa". *Paradontologie.* 23: 117-182. 1969.
 - 6 — LUZARDO-BAPTISTA, M. J.; GARCIA-TAMAYO, J. "Actividad de fosfatasa ácida en los pequeños gránulos de epitelios pluriestratificados". *Acta Cient. Venezolana.* 21: 19. 1970.
 - 7 — LUZARDO-BAPTISTA, M. J.; GARCIA, J.; NUÑEZ, J. T. "Anatomía submicroscópica del exocérvix humano normal". *Invest. Clín.* 30: 23-56. 1969.
 - 8 — LUZARDO-BAPTISTA, M. J.; GARCIA, J. "Uniones intercelulares en mucosas humanas". VIII Congreso Venezolano de Ciencias Médicas. Memorias. Pág. 47. Maracaibo, Enero de 1971.
 - 9 — MATOLSY, A. G.; PARAKKAL, P. F. "Keratinization". Ultrastructure of normal and abnormal skin. Pág. 76-104. A. Zelikson, editor. Lea-Febliger. Philadelphia. 1967.
 - 10 — ROTH, S. I.; CLARK, W. H. "Ultrastructural evidence related to the mechanism of Keratin synthesis". *The Epidermis.* Pág. 303-307. W. Montagna and W. C. Lobitz, editors. Academic Press, New York. 1964.
 - 11 — SQUIER, C. A.; WATERHOUSE, J. P. "Lysosomes in oral epithelium: the ultrastructural localization of acid phosphatase and nonspecific esterase in keratinized oral epithelium in man and rat". *Arch. Oral Biol.* 15: 153-168. 1970.
 - 12 — WILGRAM, G.; CAUFIELD, J. B.; MADGIC, E. B. "A possible role of the desmosome in the process of keratinization". *The Epidermis.* Pág. 275-302. W. Montagna y W. C. Lobitz, editores. Academic Press. New York. 1964.
-