

Parámetros morfométricos de la mucosa en pacientes portadores de leucoplasia bucal con displasia epitelial

Morphometric parameters of the mucosa in patients that carry oral leukoplakia with epithelial dysplasia

Dra. Lepzimilet Pérez Torres ^I; Dr. Pedro Díaz Rojas ^{II}; Lic. Sahnni Conde Mengana ^I; Lic. Yamilet Rivero Manresa ^I; Dr. Eduardo Angel Bello Díaz ^{III}

I Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey. Facultad de Medicina. Camagüey, Cuba.

II Universidad de Ciencias Médicas de Holguín. Holguín, Cuba.

III Hospital Universitario Amalia Simoni. Camagüey, Cuba.

RESUMEN

Fundamento: la leucoplasia bucal es la lesión premaligna más frecuente, puede presentarse con displasia epitelial, que es el rasgo más importante de sus diversos cambios histopatológicos. Los métodos morfométricos y estereológicos permiten complementar el análisis histopatológico convencional de la displasia epitelial.

Objetivo: caracterizar las lesiones de la mucosa con leucoplasia bucal según grado de displasia epitelial a través de indicadores morfométricos y estereológicos.

Método: se realizó un estudio observacional descriptivo. El universo lo conformaron 68 biopsias de pacientes con diagnóstico clínico e histopatológico de leucoplasia y la muestra fue de 15 biopsias de leucoplasias displásicas, en las que se analizaron parámetros morfométricos y estereológicos.

Resultados: se encontró que la altura de las crestas epiteliales y la altura del epitelio aumentan a medida que avanza el grado de la displasia epitelial. El valor promedio y su desviación estándar del factor de forma en la displasia ligera fue de $0,86 \pm 0,08$, en la displasia moderada fue de $0,88 \pm 0,09$ y en la displasia severa fue de $0,85 \pm 0,11$. El promedio y la desviación estándar del volumen nuclear y la densidad de perfiles nucleares epiteliales descienden al aumentar la displasia.

Conclusiones: a partir del análisis de las variables analizadas en esta investigación podemos sugerir el estudio y la evaluación de la posibilidad de la existencia de algún modelo de relación volumen nuclear-perfiles nucleares-altura del epitelio como instrumento para determinar el comportamiento de la displasia.

DeCS: LEUCOPLASIA BUCAL; MUCOSA BUCAL; FORMA DEL NÚCLEO CELULAR; CÉLULAS EPITELIALES/patología; EPITELIO/patología

ABSTRACT

Background: oral leukoplakia is the most frequent premalignant lesion; it can appear with epithelial dysplasia that is the most important feature of its various histopathological changes. Morphometric and stereological methods allow complementing the conventional histopathological analysis of epithelial dysplasia.

Objective: to characterize the lesions of the mucosa with oral leukoplakia according to the degree of epithelial dysplasia through morphometric and stereological indicators.

Method: a descriptive, observational study was conducted. The universe was composed of 68 biopsies from patients with a histopathological and clinical diagnosis of leukoplakia; the sample was composed of 15 biopsies from patients with dysplastic leukoplakias in which morphometric and stereological parameters were analyzed.

Results: it was found that as the degree of epithelial dysplasia becomes greater, the more the height of the epithelial crest and the height of the epithelium rise. The average value and its standard deviation of the shape factor in minor dysplasia was of 0.86 ± 0.08 , in moderate dysplasia was of 0.88 ± 0.09 , and in serious dysplasia was of 0.85 ± 0.11 . As the dysplasia becomes greater, the average and the standard deviation of the nuclear volume and the density of epithelial nuclear profile decrease.

Conclusions: from the analysis of the variables through this investigation, we can suggest the study and evaluation of the possibility of the existence of a model of nuclear volume-nuclear profile-height of the epithelium relation, as an instrument to determine the behavior of dysplasia.

DeCS: LEUCOPLAKIA, ORAL; MOUTH MUCOSA; CELL NUCLEUS SHAPE; EPITHELIAL CELLS/pathology; EPITHELIUM/pathology

INTRODUCCIÓN

La leucoplasia se considera una lesión blanca de la mucosa bucal, que no puede ser caracterizada como ninguna otra lesión bien definida ni clínica ni histopatológica, y que además se puede transformar en cáncer.¹⁻⁴ El rasgo histopatológico más importante es la presencia de displasia epitelial, que consiste en una pérdida de uniformidad y orientación arquitectónica de las células, unido a alteraciones celulares.^{5, 6} En la actualidad se considera como el indicador más significativo que apunta a mayor probabilidad de transformación maligna de la leucoplasia, cuyo diagnóstico y clasificación es esencialmente subjetivo, no obstante constituye un procedimiento de valor histopatológico de suma importancia.⁷⁻¹⁰ A pesar de esto se persigue establecer criterios que permitan la evaluación del fenómeno displásico según el grado de severidad lo más precisos posible.¹¹⁻¹³ Actualmente no se dispone de un solo factor predictivo, clínicamente útil y basado en la evidencia de transformación maligna para las leucoplasias.¹⁴

Se considera importante determinar las características morfológicas objetivas que permitan complementar diagnósticos histopatológicos de las lesiones de la cavidad bucal, caracterizar las lesiones leucoplásicas según grado de displasia epitelial a través de indicadores morfométricos y estereológicos es el objetivo de la presente investigación.

MÉTODOS

Se realizó un estudio observacional descriptivo y transversal en el periodo de enero a junio del año 2011. El universo se constituyó por 68 biopsias correspondientes a igual número de pacientes que recibieron atención en el Hospital Provincial Docente Vladimir Ilich Lenin. Se seleccionó una muestra de 15 biopsias de leucoplasias displásicas ubicadas en la mucosa del carrillo. Se excluyeron las biopsias de leucoplasias no displásicas.

Después de obtener las muestras, se procesaron por la técnica clásica de inclusión en parafina. Para el procesamiento morfométrico se realizó la captura de las imágenes correspondientes a la región de la mucosa afectada, con una cámara digital con un lente óptico de 1,5X que se acopló a un microscopio con un lente objetivo de 12,5X y

lente ocular de 10X para un aumento total de 187,5X. Éstas fueron empleadas para realizar las mediciones de los siguientes parámetros: altura y ancho de crestas epiteliales, y altura del epitelio. Para examinar el resto de los parámetros se capturaron imágenes de la zona correspondiente al estrato espinoso del epitelio. En este caso se utilizó un lente objetivo de 40X y un lente ocular de 7,5X para un aumento total de 450X. Todas las imágenes se descargaron en una computadora ASUS y se codificaron para su identificación.

Los indicadores morfométricos se midieron con la aplicación en computación *ImageJ* del *National Institute of Health, USA, 2011*.¹⁵ Para las mediciones se procedió a la calibración con un objetivo micrométrico.

Los resultados se procesaron con el editor estadístico profesional MyStat versión 12,0 del 2009, de la compañía SyStat. Se calculó la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación como parte de la estadística descriptiva; se desarrolló el test de normalidad para las series de datos (test de normalidad de Shapiro-Wilk), y se calculó el análisis de varianza para comparar las diferencias entre los grados de displasia en todas las variables. Los resultados se muestran en cuadros y gráficos.

RESULTADOS

El valor promedio de la altura y el ancho de las crestas epiteliales aumentó a medida que se incrementó el grado de displasia epitelial. Al aplicar el análisis de varianza simple se demostró la diferencia significativa en las alturas de las crestas epiteliales a medida que el grado de displasia se agravó. (F de Snedecor 166,72 para $p \leq 0,001$). En el caso del ancho ocurrió lo mismo. (F de Snedecor 28,65 para $p \leq 0,001$). Se observó además como el ancho no aumentó en la misma medida que la altura, la que reveló un ascenso ostensible con una diferencia aproximada de 280 μm entre la displasia ligera y la displasia severa. (Tabla 1)

Tabla 1. Altura y ancho de las crestas epiteliales de la mucosa bucal según clasificación de la displasia

Intensidad de la lesión	Crestas epiteliales			
	Altura (μm)		Ancho (μm)	
	Promedio	D est	Promedio	D est
Ligera	239,87	136,91	151,00	83,99
Moderada	428,53	240,66	181,79	82,20
Severa	523,72	273,95	203,35	93,79

Fuente: Procesamiento estadístico.

Se observaron los resultados de la cuantificación de la altura del epitelio. Se destacó como las mediciones ascendieron de manera palpable al aumentar el grado de la displasia (F de Snedecor 378,93 para $p \leq 0,001$). (Tabla 2)

Tabla 2. Altura del epitelio de la mucosa bucal según clasificación de la displasia

Intensidad de la lesión	Promedio (μm)	Desviación estándar
Ligera	245,38	117,79
Moderada	419,69	187,58
Severa	748,44	448,88

Fuente: Procesamiento estadístico

El valor promedio y su desviación estándar del factor de forma en la displasia ligera fue de $0,86 \pm 0,08$; de $0,88 \pm 0,09$ en la displasia moderada y en la displasia severa fue de $0,85 \pm 0,11$. No existió variación cuantitativa en la forma de los núcleos de las células del estrato espinoso, en las lesiones leucoplásicas clasificadas según la severidad de la displasia epitelial. (Tabla 3)

Tabla 3. Factor de forma de las células del estrato espinoso del epitelio de la mucosa bucal según clasificación de la displasia

Intensidad de la lesión	Promedio	Desviación estándar
Ligera	0,86	0,08
Moderada	0,88	0,09
Severa	0,85	0,11

Fuente: Procesamiento estadístico.

El indicador volumen nuclear mostró una curva descendente desde la displasia ligera hasta la severa. (F de Snedecor 228,69 para $p \leq 0,001$). También ilustró el comportamiento de la presencia de perfiles nucleares de las células del estrato espinoso del epitelio de la mucosa bucal, según la clasificación de la displasia. Es patente como los perfiles nucleares de las células del estrato espinoso disminuyeron a medida que avanzó el grado de la displasia epitelial (F de Snedecor 59,04 para $p \leq 0,01$). (Tabla 4)

Tabla 4. Volumen nuclear y densidad de perfiles nucleares epiteliales de las células del estrato espinoso del epitelio de la mucosa bucal según clasificación de la displasia

Intensidad de la lesión	Volumen nuclear (μm^3)		Perfiles nucleares	
	Promedio	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar
Ligera	237,00	164,65	9,54	2,69
Moderada	158,00	126,00	5,61	2,44
Severa	117,00	113,65	4,16	3,24

Fuente: Procesamiento estadístico.

DISCUSIÓN

El notorio ascenso de la altura de las crestas epiteliales en relación con su ancho indica que el crecimiento de la lesión leucoplásica se realiza de forma preponderante en el sentido vertical a la superficie, a medida que aumenta la gravedad de la displasia epitelial. Lo que se corrobora con los resultados del análisis de varianza.

Entre los signos displásicos que pueden observarse en la mitad más baja del epitelio en relación con su desestructuración, están la pérdida de la polaridad basal e hiperplasia, que lleva a la formación de crestas bulbosas o en forma de gota. Se considera usual la observación de las crestas epiteliales de formas anormales y Speight¹⁰ considera su presencia es significativa en el diagnóstico de la displasia severa. Aguas y Lanfranchi¹⁶ plantean que la hiperplasia de la capa de células espinosas (acantosis) y la hiperplasia de células basales está caracterizada por el aumento del ancho, la elongación y fusión de las crestas epiteliales; además de que

en los casos en que existe hiperqueratosis, los brotes epiteliales pueden estar algo profundizados.

No se han registrado hasta la fecha estudios publicados que cuantifiquen las alteraciones de la altura y ancho de las crestas epiteliales.

El incremento de la altura del epitelio se asocia a la hiperplasia que ocurre fundamentalmente a expensas del estrato espinoso (acantosis). En un estudio realizado en Cuba, Gordón-Núñez, et al, reportó la hiperplasia como la irregularidad más frecuente en relación con la altura del epitelio analizado de forma cualitativa y sugieren la posibilidad de que las hiperplasias epiteliales representen lesiones potencialmente malignas; sin embargo, este aspecto continúa con un carácter cuestionable, pues él mismo llama la atención acerca de que muchas de estas alteraciones podrían estar asociadas al propio proceso inflamatorio.

De igual manera en la literatura revisada no se encontraron estudios cuantitativos que relacionen los grados de displasia epitelial con el grosor epitelial, por ello es sumamente importante poder establecer dicha relación cuantificable, lo que pudiera servir como patrón del comportamiento de la lesión.

El pleomorfismo nuclear es considerado como uno de los cambios citológicos indicativos de la presencia de displasia epitelial. En muchos estudios histopatológicos de leucoplasia bucal se valora de forma cualitativa e incluso Speight ¹⁰ plantea que en la displasia severa su representación es marcada.

Smitha, et al, ⁹ estudiaron el factor de forma y el índice de contorno de células basales. Sus valores mostraron una diferencia significativa entre la mucosa bucal normal y la leucoplasia, y entre la mucosa bucal normal y el carcinoma escamoso celular. Sin embargo, estos parámetros fueron inútiles para diferenciar la leucoplasia y el carcinoma escamoso celular. Este resultado habla a favor de que el análisis de este parámetro no resulta provechoso cuando se trata de determinar el comportamiento de la displasia de acuerdo al grado de severidad. Resultado similar obtuvieron Gao, et al, ¹⁸ en mediciones del factor de forma. La interpretación de los resultados de nuestro estudio coincide con estas investigaciones.

Los resultados obtenidos a partir de las mediciones del volumen nuclear y de los perfiles nucleares epiteliales, reflejan como en la medida que la displasia transcurre desde un estado ligero hasta un estado severo, las células del estrato espinoso se tornan hipertróficas, disminuye el volumen de su núcleo y aumenta el volumen

citoplasmático. Esto explicaría porqué los perfiles nucleares están disminuidos en estadios avanzados de displasia epitelial. Varios estudios sugieren que el tamaño nuclear reducido y el tamaño del citoplasma aumentado son indicadores tempranos útiles para predecir la transformación maligna.¹⁹⁻²²

Se ha demostrado que la morfometría nuclear es una herramienta útil para el diagnóstico y predicción del carcinoma de células escamosas y lesiones precursoras de la piel y las mucosas. Se plantea que para investigaciones futuras podría ser útil el estudio de parámetros que cuantifican la relación entre los núcleos vecinos, como su orientación relativa y organización.^{21, 22}

CONCLUSIONES

Resulta importante la medición de parámetros morfométricos de lesiones de leucoplasia bucal displásicas, porque a partir del análisis de las variables analizadas en esta investigación podemos sugerir el estudio y la evaluación de la posibilidad de la existencia de algún modelo de relación volumen nuclear-perfiles nucleares-altura del epitelio como instrumento para determinar el comportamiento de la displasia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martínez-Sahuquillo Márquez A, Gallardo Castillo I, Cobos Fuentes MJ, Caballero Aguilar J, Bullón Fernández P. La leucoplasia oral. Su implicación como lesión precancerosa. Av Odontoestomatol [Internet]. 2008 [citado 17 Mar 2012];24(1):[aprox. 11 p.]. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/odonto/v24n1/original2.pdf>
2. Escribano-Bermejo M, Bascones-Martínez A. Leucoplasia oral: Conceptos actuales. Av Odontoestomatol [Internet]. 2009 Mar-Abr [citado 17 Mar 2012];25(2):[aprox. 4 p.]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0213-12852009000200004&script=sci_arttext
3. Warnakulasuriya S, Newell WJ, Van der Waal I. Nomenclature and classification of potentially malignant disorders of the oral mucosa. J Oral Pathol Med. 2007 Nov;36(10):575-80. PubMed PMID: 17944749.

4. Sciubba JJ. Oral mucosal lesions. En: Cummings CW, Flint PW, Haughey BH, editores. *Otolaryngology: Head & Neck Surgery*. 5ta ed. Philadelphia: Mosby Elsevier; 2010. p. 91.
5. Warnakulasuriya S, Reibel J, Bouquot J. Oral epithelial dysplasia classification: predictive value, utility, weaknesses and scope for improvement. *J Oral Pathol Med*. 2008 Mar; 37(3):127-33. doi: 10.1111/j.1600-0714.2007.00584.x. PubMed PMID: 18251935.
6. Dos Santos Pereira O, Vasconcelos Carvalho M, Gomes Henriques AC, Queiroz Camara TH, Costa Miguel MC, Almeida Freitas R. Epidemiology and correlation of the clinicopathological features in oral epithelial dysplasia: analysis of 173 cases. *Ann Diagn Pathol*. 2011 Apr; 15(2):98-102. doi: 10.1016/j.anndiagpath.2010.08.008. Epub 2010 Dec 28.
7. Slama BL. Potentially malignant disorders of the oral mucosa: terminology and classification. *Rev Stomatol Chir Maxillofac*. 2010 Sep; 111(4):208-12. doi: 10.1016/j.stomax.2010.07.007. Epub 2010 Aug 23. PubMed PMID: 20739038.
8. Kujan O, Oliver RJ, Khattab A, Roberts SA, Thakker N, Sloan P. Evaluation of a new binary system of grading oral epithelial dysplasia for prediction of malignant transformation. *Oral Oncol*. 2006 Nov; 42(10):987-93. Epub 2006 May 30. PubMed PMID: 16731030.
9. Smitha T, Sharada P, Girish HC. Morphometry of the basal cell layer of oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma using computer-aided image analysis. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2011 Jan-Apr; 15:26-33. doi: 10.4103/0973-029X.80034. PubMed PMID: 21731274.
10. Speight PM. Update on oral epithelial dysplasia and progression to cancer. *Head Neck Pathol*. 2007 Sep; 1(1):61-6. doi: 10.1007/s12105-007-0014-5. Epub 2007 Nov 30. PubMed PMID: 20614284.
11. Miranda Tarragó JD, Fernández Ramírez L, García Heredia GL, Rodríguez Pérez I, Trujillo Miranda E. Pacientes remitidos por el Programa de Detección de Cáncer Bucal. Facultad de Estomatología de La Habana. 1999-2006. *Rev Cubana Estomatol [Internet]*. 2010 Oct-Dic [citado 4 Feb 2012]; 47(4): [aprox. 4 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072010000400001&lng=es&nrm=iso
12. Amaral ACP de O, Durães J da S, Sobral APV. Avaliação dos aspectos microscópicos de leucoplasias bucais. *RPG Rev Pós Grad*. 2007 Ene-Mar; 14(1):13-9.
13. Kujan O, Khattab A, Oliver RJ, Roberts SA, Thakker N, Sloan P. Why oral histopathology suffers inter-observer variability on grading oral epithelial dysplasia: an

- attempt to understand the sources of variation. *Oral Oncol.* 2007 Mar; 43(3):224-31. Epub 2006 Aug 22. PubMed PMID: 16931119.
14. Liu W, Wang Y, Zhou H, Shi P, Zhou Z, Tang G. Malignant transformation of oral leukoplakia: a retrospective cohort study of 218 Chinese patients. *BMC Cancer.* 2010 Dec; 10:685. doi: 10.1186/1471-2407-10-685. PubMed PMID: 21159209.
15. Ferreira T, Rasband W. *The ImageJ User Guide.* USA: National Institutes of Health; 2011.
16. Aguas SC, Lanfranchi Tizeira HE. Lesiones premalignas o cancerizables de la cavidad oral. *Rev Fac Odontol (UBA).* 2004; 19(47):21-30. Epub 6 Nov 2004.
17. Gordón-Núñez MA, Lopes da Silva Júnior F, Freitas de Lucena H, Cavalcanti Galvão H, Batista De Souza L, Pereira Pinto L. Análisis clínico e histomorfológico de la mucosa oral normal, hiperplasia fibroepitelial inflamatoria oral y displasia epitelial oral. *Int J Morphol.* 2008; 26(2):345-52. Epub 2007 Nov 22.
18. Gao S, Liu S, Shen Z, Peng L. Morphometric analysis of spinous cell in oral submucous fibrosis. Comparison with normal mucosa, leukoplakia and squamous cell carcinoma. *Chin Med J.* 1995 May; 108(5):351-4. PubMed PMID: 7555236.
19. Albornoz López del Castillo C, Rivero Pérez O, Bastian Manso L. Avances en el diagnóstico de las lesiones cancerizables y malignas del complejo bucal. *Arch Med Camagüey [Internet].* 2010 Sep-Oct [citado 16 Mar 2012]; 14(5): [aprox. 3 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552010000500019.
20. Ramaesh T, Mendis BR, Ratnatunga N, Thattil RO. Cytomorphometric analysis of squames obtained from normal oral mucosa and lesions of oral leukoplakia and squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 1998 Feb; 27(2):83-6. PubMed PMID: 9526735.
21. White FH, Jin Y, Yang L. An evaluation of the role of nuclear cytoplasmic ratios and nuclear volume densities as diagnostic indicators in metaplastic, dysplastic and neoplastic lesions of the human cheek. *Histol Histopathol.* 1997 Jan; 12(1):69-77. PubMed PMID: 9046045.
22. Song J, Shea CR. Benign versus malignant parakeratosis: a nuclear morphometry study. *Modern Pathology.* 2010 Jun; 23(6):799-803. doi: 10.1038/modpathol.2010.52. Epub 2010 Feb 26. PubMed PMID: 20190731.

Recibido: 27 de junio de 2013

Aprobado: 22 de julio de 2013

Dra. Lepzimilet Pérez Torres. I Especialista en Estomatología General Integral e Histología. Profesora Instructora. Universidad de Ciencias Médicas de Camagüey. Facultad de Medicina. Camagüey, Cuba. Email: lepzimilet@iscmc.cmw.sld.cu