

Blanca Silvia González López  
Hallazgos histológicos de inmunohistoquímica y ultraestructura en hiperplasia epitelial focal  
Ciencia Ergo Sum, vol. 7, núm. 2, julio, 2000  
Universidad Autónoma del Estado de México  
México

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10401804>



*Ciencia Ergo Sum*,  
ISSN (Versión impresa): 1405-0269  
[ciencia.ergosum@yahoo.com.mx](mailto:ciencia.ergosum@yahoo.com.mx)  
Universidad Autónoma del Estado de México  
México

# Hallazgos histológicos de inmunohistoquímica y ultraestructura en hiperplasia epitelial focal

BLANCA SILVIA GONZÁLEZ LÓPEZ\*

Recepción: 24 de febrero de 1999

Aceptación: 24 de mayo de 1999

## Histological Immunohistochemical and Ultrastructural Features in Focal Epithelial Hyperplasia

**Abstract.** *Twenty-two cases of focal epithelial hyperplasia were studied. Histology and ultrastructural features, as viral evidence of the disease are discussed. Microscopical studies disclosed the typical features of the condition: the epithelial hyperplasia and cells with vacuolated cytoplasm. The epithelial cells showed some kind of degenerative changes. The nuclear cell proliferating factor (PC10) shows the epithelium's hyperplastic activity Electron microscopic observation of the samples revealed significant variation in nuclear morphology, as well as in a nuclear membrane. The cytoplasm shows an increase in the tonofilamentes and endoplasmic reticulum, as well as B glycogen granules in the perinuclear cytoplasm. Electrondense and electronlucence vacuoles were seen in the nucleus and the cytoplasm.*

## Introducción

El propósito de este estudio es describir los hallazgos histológicos y de ultraestructura en una muestra de tejidos de pacientes con hiperplasia epitelial focal (HEF), como manifestaciones de su etiología viral; por ello, es importante tomar en cuenta las siguientes consideraciones.

La hiperplasia epitelial focal es una enfermedad de la cavidad bucal relativamente común. El término fue asignado por Archard en 1965 para describir múltiples lesiones en la mucosa oral observadas en indios de Nuevo México; en su etiología se han involucrado principalmente agentes virales y factores genéticos.<sup>1</sup> La involución de la enferme-

dad no apoya el punto de vista genético; además, los hallazgos histológicos y de ultraestructura coinciden con los reportes de otras enfermedades transmitidas por virus de la familia papova.<sup>2</sup>

Aun cuando no todos los autores han podido demostrar la presencia de partículas virales (Van Wic, 1977b y Hanks *et al.*, 1972), Premoli y Christensen (1992), Beaudenon *et al.* (1987) y Pfister *et al.* (1983) han detectado, mediante técnicas de hibridación, el virus humano papova (HPV) DNA 13 y reacción cruzada con los virus 6, 11, 18 y 32. El hallazgo constante en estudios histológicos es la hiperplasia epitelial, con marcada acantosis y anastomosis de las proyecciones epidérmicas, así como el aspecto reticular del estrato espinoso superficial, producido por la degeneración hidrópica de las células (Buchtner, 1978; Phillips *et al.*, 1968 y Bradnum *et al.*, 1970).

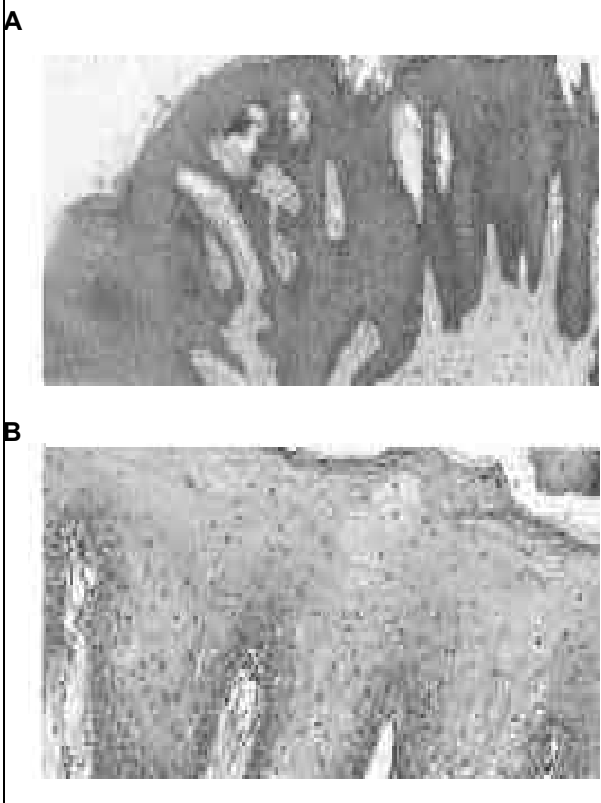
Además, pueden observarse células binúcleadas y núcleos con degeneración granular y picnósis, así como ligera o moderada paraqueratosis, disqueratosis aislada y ocasional aumento en el número de las mitosis.

En el estrato basal y parabasal aparecen células grandes con núcleos atípicos y células diana (Buchtner, 1978; Phillips

\* Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología, Universidad Autónoma del Estado de México. Teléfono: (7) 212 43 51.

1. Véase Beaudenon *et al.*, 1987; Clausen *et al.*, 1971; Hollander *et al.*, 1972 y Jablonska *et al.*, 1982.
2. Véase Clausen, 1972; Premoli-De-Pereco *et al.*, 1993; Lutzner y Kffler, 1982 y Van Wic, 1977a.

**FIGURA 1. A) HIPERPLASIA EPITELIAL CON MARCADA ACANTOSIS Y ANASTOMOSIS DE CLAVAS EPITELIALES (40X). B) VACUOLIZACIÓN DEL CITOPLASMA (PATRÓN RETICULAR DEL EPITELIO) (100X).**



*et al.*, 1968 y Bradnum *et al.*, 1970). El tejido conectivo subyacente puede mostrar un ligero infiltrado inflamatorio mononuclear en la lámina propia. Por otro lado, en los estudios de microscopía electrónica han sido reportadas partículas semejantes al virus papova en los núcleos de las células epiteliales (Clausen *et al.*, 1971 y Hollander *et al.*, 1972).

Las células infectadas muestran una serie de cambios nucleares y citoplásmicos; aunque se ha sugerido que el proceso degenerativo de las células sigue una secuencia, lo más común es encontrar simultáneamente células con diferentes grados de afectación. En el núcleo se observa condensación de la cromatina, indentaciones nucleares y cambios severos en la morfología nuclear, mientras que en el citoplasma existe un aumento de los tonofilamentos, vacuolas electrolúcidas y electrodensas, pérdida del citoplasma perinuclear y granulación en la matriz citoplásmica.<sup>3</sup>

3. Véase Clausen *et al.*, 1971; Hollander *et al.*, 1972; Clausen, 1972; Van Wic, 1977b y Hanks *et al.*, 1972

## I. Materiales y métodos

Bajo anestesia local se removieron fragmentos de 1 cm de diámetro de lesiones representativas (localizadas en mucosa labial superior e inferior) y de bordes de lengua de 22 niños.

Los tejidos se cortaron en dos fragmentos: uno fijado en formaldehído al 4% y el otro en formolglutaraldehído. Las muestras para el examen histológico fueron procesadas y teñidas con hematoxilina y eosina.

### 1. Factor de proliferación celular (PC10)

La técnica de avidina-biotina fue utilizada para la tinción del factor de proliferación celular (PC10 Dako). Se realizaron cortes de 4 mm y se montaron en laminillas tratadas con poli-1-lisina; tras desparafinar las preparaciones e hidratarlas en agua bidestilada, se colocaron en peróxido de hidrógeno en solución de metano al 10.3% por 30 minutos para bloquear la actividad de peroxidasa endógena; además se lavaron en dos cambios de agua bidestilada y se colocaron en solución fosfatada *buffer* (PBS) pH 7.4.

Los cortes fueron incubados en suero normal por 40 minutos y secados. El anticuerpo primario fue aplicado a una dilución de 1:100 e incubado durante 45 minutos. Se procedió a la aplicación del anticuerpo secundario por 90 minutos y se incubó en solución al 0.1% de diaminobencidina (DAB) por 10 minutos. Los cortes se deshidrataron, se aclararon y se contrastaron con eosina, en cada paso los cortes se lavaron con PBS.

Como controles positivos se utilizaron muestras de epitelio normal.

### 2. Ultraestructura

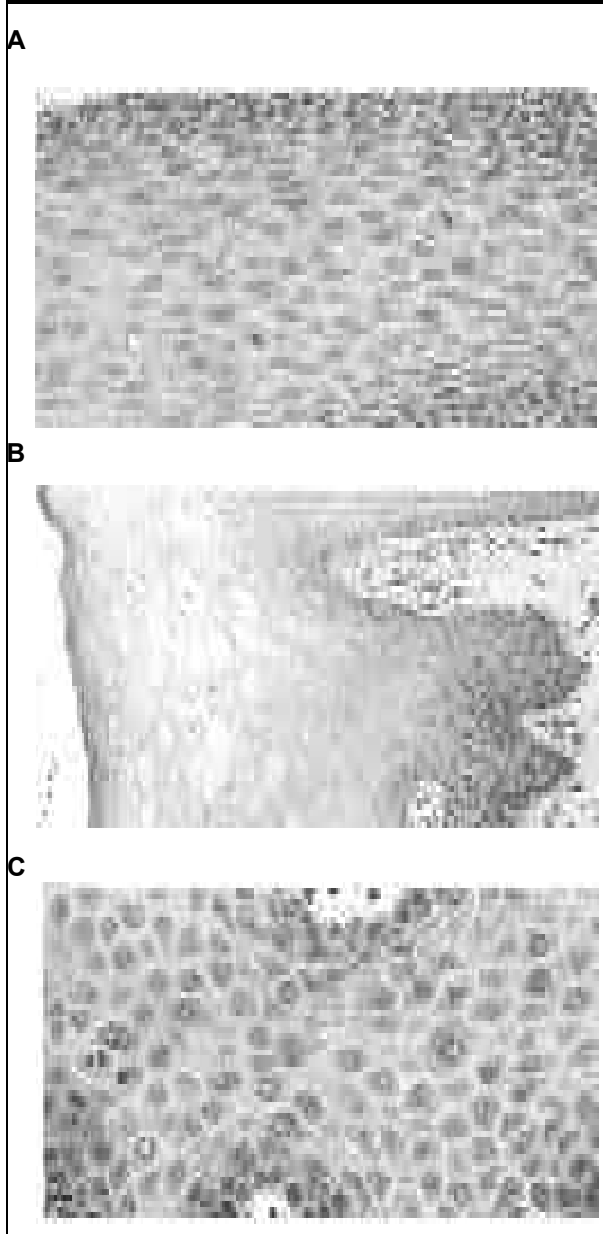
Los tejidos fueron posfijados en 10% de tetróxido de osmio, una vez deshidratados y embebidos en resina epóxica; se cortaron a una micra y tiñeron en azul de toluidina. El material seleccionado se redujo a 100 milimicras, el contraste se realizó con solución de acetato de uranilo y citrato; los cortes se examinaron en un microscopio ZEISS EM 10 C.

## II. Resultados

El estudio histológico de los especímenes demostró hiperplasia del epitelio, una ligera paraqueratosis, marcada acantosis con engrosamiento y anastomosis de las papilas epiteliales (figura 1a).

Los estratos superficiales manifestaron un aspecto reticular como resultado de degeneración hidrópica con pérdida de núcleos de las células en la capa espinosa, mientras que en las lesiones antiguas este patrón sólo se presentó hacia los

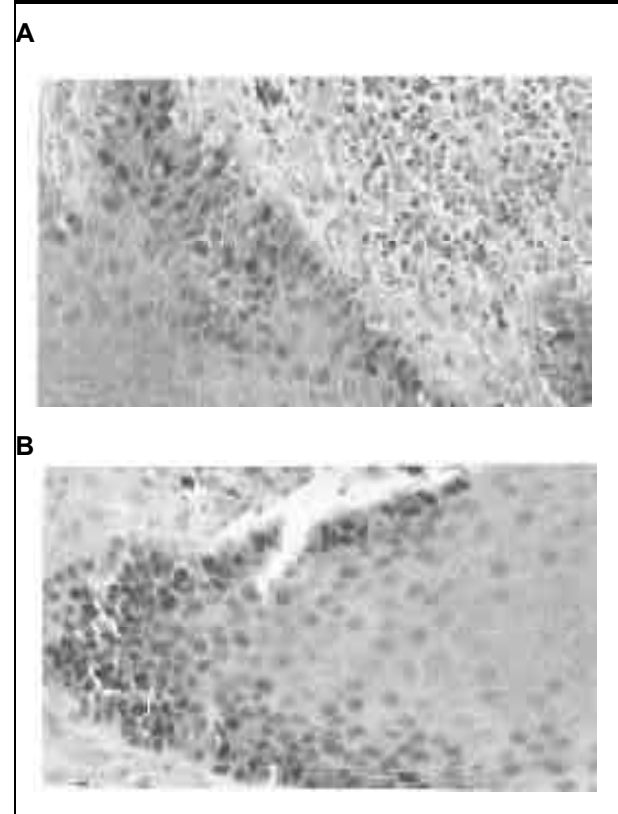
**FIGURA 2. A) CÉLULAS GRANDES CON NÚCLEOS ATÍPICOS (200x); B) CÉLULAS CON NÚCLEOS PICNÓTICOS Y CÉLULAS DIANA (40x); C) CÉLULAS BINUCLEADAS, TAMBIÉN SE OBSERVAN DATOS DE DISQUERATOSIS (200x).**



bordes de las lesiones. Otros hallazgos fueron la presencia de células con núcleos picnóticos, células binucleadas y disqueratosis (figura 1b).

La capa basal mostró intensa basofilia con numerosas células grandes de núcleos atípicos, particularmente en las lesiones más antiguas. Las células diana revelaron un halo

**FIGURA 3. A) Y B) TINCIÓN DE PC10: LAS CAPAS BASAL Y PARABASAL MUESTRAN INTENSA REACCIÓN POR LA ACTIVIDAD PROLIFERATIVA DEL EPITELIO (200x).**



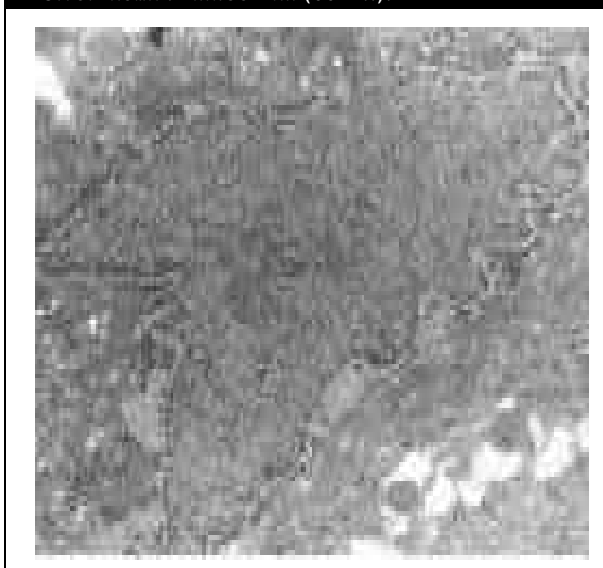
perinuclear y condensación del citoplasma hacia la periferia de la membrana celular. No se encontró aumento en el número de mitosis (figura 2a, b, c).

El tejido conectivo subyacente no mostró cambios significativos, eventualmente se observó un ligero infiltrado inflamatorio mononuclear. Un hallazgo constante fue la vasodilatación y poco incremento de la vascularidad. La tinción con PC10 fue positiva en todos los especímenes con la misma intensidad (figuras 3a y b).

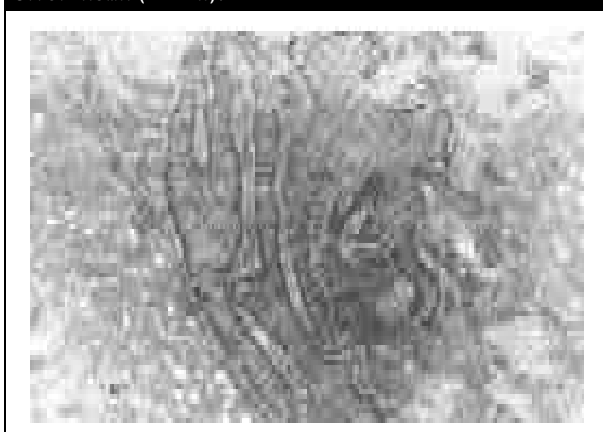
En el estudio de ultraestructura, las células epiteliales superficiales mostraron cambios en la morfología nuclear, que van desde pequeñas indentaciones con áreas de engrosamiento en la membrana nuclear alternadas con otras de adelgazamiento y aun con pérdida de pequeños segmentos, hasta la cromatina dispersa en forma de masas compactas irregulares con áreas de mayor condensación hacia la periferia (figura 4).

Por otro lado, las células con núcleos atípicos mostraron indentaciones profundas, cambios severos en la morfología nuclear, los nucleolos no se observaron y, en algunas células, se detectó pérdida de la membrana nuclear (figura 5).

**FIGURA 4. INDENTACIONES NUCLEARES EN UNA CÉLULA INFECTADA, SE APRECIAN GRÁNULOS DE BETAGLUCÓGENO EN EL CITOPLASMA PERINUCLEAR (6300X).**



**FIGURA 5. CAMBIOS PROFUNDOS EN LA MORFOLOGÍA NUCLEAR, PRESENCIA DE VÁCULOS ELECTROLÚCIDOS EN EL CITOPLASMA (8000X).**



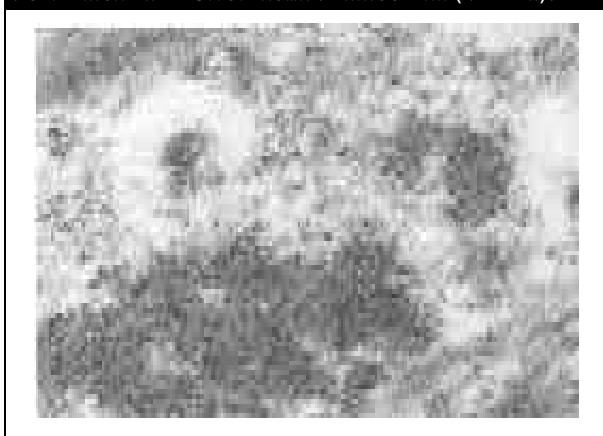
También se apreciaron vacuolas intranucleares, así como marginación y condensación de la cromatina hacia la membrana nuclear, además de indentación y aumento en el número de organelos (figura 6).

En las células que bajo el microscopio óptico revelaron vacuolización del citoplasma se notó un incremento de gránulos electrodensos de 10 nm de diámetro, probablemente de beta glucógeno, ubicados en el citoplasma de las células diana con disposición perinuclear (figura 7). Por otra parte, un número variable de vacuolas electrodensas y electrolúcidas se observaron en el citoplasma.

**FIGURA 6. NÚCLEO CON CAMBIOS EN SU MORFOLOGÍA, DESPLAZADO HACIA LA PERIFERIA DE LA CÉLULAS, NÓTESE ESCASA CROMATINA, DISPUESTA EN FORMA LAXA Y FORMACIÓN DE VACUOLAS INTRANUCLEARES.**



**FIGURA 7. GRÁNULOS DE BETAGLUCÓGENO DE ESTRUCTURA POLIÉDRICA EN EL CITOPLASMA PERINUCLEAR (40000X).**



Hallazgos interesantes fueron la diferencia en el contenido de tonofilamentos, escaso número en las células con cambios ligeros, y cambios notables en las células con alteraciones severas, así como la presencia de un incremento en el retículo endoplásmico en estas últimas.

### III. Discusión

En general, los hallazgos histológicos de las lesiones tempranas concuerdan con los reportes de Clausen (1972), Van Wic (1977a), Buchtner (1978), Phillips *et al.* (1968) y Bradnum *et al.* (1970), mientras que en los pacientes con historia de más de 10 años de evolución el patrón reticular fue evidente única-

mente hacia los bordes de las lesiones; además, apareció un mayor número de células diana y de células grandes con núcleos atípicos en los estratos basal y parabasal.


Es posible que la hiperplasia epitelial y el patrón reticular sean los primeros cambios del epitelio y que los cambios celulares descritos, tanto en las capas profundas como superficiales, sean manifestaciones tardías.

No se apreciaron partículas virales como las descritas por Clausen *et al.* (1971), Van Wic (1977b) y Hollander *et al.* (1972). La ausencia de estas estructuras en HEF ha sido reportada por varios autores: es factible que las partículas se pierdan al queratinizarse y descamarse las células infectadas; se ha sugerido que el virus se replica en las células superficiales, de forma similar a lo que sucede en el condiloma y la verruga vulgar. Premoli, en un estudio de hibridación *in situ*, demostró positividad en todos los casos de células superficiales no queratinizadas y escasa en las más profundas.

A pesar de ello, la hiperplasia, la vacuolización del epitelio, la degeneración granular y la picnósis en coilocitos, además de los cambios degenerativos en células basales y parabasales observados en las muestras estudiadas, sugieren que se trata de una infección viral.

El aumento en las indentaciones y la condensación periférica de la cromatina en las células basales, así como el aumento de los organelos celulares, según Van Wic (1977b), son manifestaciones del daño celular inducidos por la infección viral, al parecer relacionadas con el proceso degenerativo.

### Conclusiones

Los hallazgos histológicos y el estudio de ultraestructura confirman el carácter viral de esta enfermedad. Los casos familiares observados y la presencia de otras lesiones causadas por el grupo de los papova virus (citados en la literatura) sugieren que existe una predisposición de estos individuos para padecer enfermedades virales relacionadas con la familia de los Papova virus. La importancia de factores hereditarios en su etiología difícilmente puede ser argumentado con base en la agregación familiar; sin embargo, es posible que los antígenos de histocompatibilidad jueguen un papel relevante en la susceptibilidad de estos individuos hacia el citado grupo de enfermedades, ya que la frecuencia de HEF es mayor en ciertos grupos raciales y étnicos. 



### BIBLIOGRAFÍA

- Archard, H. O.; Heck, K. W. y Stanley, H. R. (1965). "Focal Epithelial Hyperplasia. An Unusual Oral Mucosal Lesion Found in Indian Children", en *Oral Surg.* 20: 201-212.
- Beaudenon *et al.* (1987). "A new Type of Human Papillomavirus Associated With Oral Focal Hyperplasia", en *J. of Investigative Dermatology.* 88 (2): 131-134.
- Bradnum *et al.* (1970). "Focal Epithelial Hyperplasia (Heck Disease)", en *Oral Surg.* 8: 130-132.
- Buchtner, A. (1978). "Focal Epithelial Hyperplasia in Israelite Families, of Libyan Origin", en *Oral Surg.* 46: 64-69.
- Clausen, F. P.  
 \_\_\_\_\_ *et al.* (1971). "Papova Virus Like Particles in Focal Epithelial Hyperplasia", en *Scand J. Dent. Res.* 79: 662-665.  
 \_\_\_\_\_ (1972). "Rare Oral Viral Disorders (Moluscum Contagiosum, Localized Keratoacanthoma, Verrucae, Condyloma Acuminatum, and Focal Epithelial Hyperplasia)", en *Oral Surg.* 34(4): 605-617.
- Hanks *et al.* (1972). "Focal Epithelial Hyperplasia a Light and Electron Microscopic Study of One Case", en *Oral Surg.* 33: 934-943.
- Hollander, C. F.; Van Noord, M. S. y Ryswijk, Z. H. (1972). "Focal Epithelial Hyperplasia. A Virus Inducer Oral Mucosa Infection in the Chimpanzee", en *Oral Surg.* 53: 227-228.
- Jablonska, S.; Orth, G. y Lutzner, M. (1982). "Immunopathology of Papiloma Virus Induced Tumors in Different Tissues", en *A Springer Seminar in Immunopathology.* 5: 33-62.
- Lutzner, M. y Kffler, R. (1982). "Different Papiloma Viruses as the Causes of Oral Warts", en *Arch Dermatol.* 118: 393-399.
- Pfister, H.; Heitih, Y. y Runne, U. (1983). "Characterization of Human Papiloma Virus Type 13 from Focal Epithelial Hiperplasia Heck Lesions", en *J. Virology.* 47: 363-366.
- Phillips, H. *et al.* (1968). "Focal Epithelial Hyperplasia. Report of a Case", en *Oral Surg.* 26: 619-622.
- Premoli-De-Peroco, G. y Christensen, R. J. (1992). "Human Papilomavirus, Histological, Clinical and Immunohistochemical Study", en *Pathologica.* May-Jun 84 (1091): 383-92.
- Premoli-De-Peroco, G.; Galindo, I.; Ramírez, J. L. *et al.* (1993). "Detection of Human Papilomavirus-Related Oral Verruca Vulgaris Among Venezuelans", en *J. Oral Pathol. Med.* Mar 22(3) 113-6.
- Van Wic, C. W.  
 \_\_\_\_\_ (1977a). "Focal Epithelial Hyperplasia in a Group of South Africans their Clinical and Microscopic Features", en *J. Oral Pathol.* 6: 14-24.  
 \_\_\_\_\_ (1977b). "Focal Epithelial Hyperplasia in a Group of South Africans its Ultrastructural Features", en *J. Oral Pathol.* 6: 14; 14-24.