

ULTRAESTRUCTURA DE LA LAMINA BASAL Y DE LAS CELULAS
BASALES DEL EPITELIO DE LA MUCOSA BUCAL HUMANA NORMAL

— **Dr. M. J. Luzardo-Baptista**

— **Dr. J. García-Tamayo**

Laboratorio de Microscopía Electrónica.
Servicio de Patología.
Sanatorio de Maracalbo.

INTRODUCCION

La lámina basal y las células basales del epitelio normal de la mucosa bucal han sido estudiadas al microscopio electrónico en el hombre^{4, 5, 12, 13, 17, 18, 31, 32, 35, 37}, en el hamster^{1, 18} y en la rata^{7, 10}. No existen, hasta el presente, datos concluyentes sobre algunos aspectos morfológicos en esta zona, como son: a) la existencia de los finos filamentos que cruzan la lámina lúcida, b) el aspecto submicroscópico de la lámina basal, c) la presencia de glicógeno y la distribución de las mitocondrias en el citoplasma de las células basales. El propósito de este trabajo es estudiar las características ultraestructurales de los elementos que constituyen la lámina basal y células basales de la mucosa bucal humana, como continuación a estudios realizados por nosotros a nivel del estrato espinoso¹⁶, y como base a investigaciones posteriores sobre su función.

MATERIAL Y METODO

Se tomaron 10 biopsias de encía normal en individuos sanos fraccionándolas en trozos no mayores de 2 mm. Se practicó fijación primaria en glutaraldehído al 3%, en solución reguladora de fosfato de sodio, a pH 7,4. La fijación secundaria se realizó en solución de tetraóxido de osmio al 2,5%, en solución tamponada de fosfato de sodio a pH 7,4. Previa deshidratación en alcohol o en acetona a concentraciones crecientes, se incluyó en Araldita o en una mezcla de Epon y Araldita. Con un ultramicrotomo Porter-Blum MT-2, se realizaron dos tipos de cortes:

gruesas, de una micra de espesor, para localizar al microscopio de luz la zona de estudio al microscopio electrónico; y cortes finos, de 300 a 600 Å, que se tiñeron con acetato de uranilo y citrato de plomo, después de haber sido colocados en rejillas desprovistas de películas de soporte. Estos cortes se estudiaron con un microscopio electrónico JEM 7 A.

RESULTADOS

Entre las células epiteliales y el tejido conjuntivo subyacente se encuentra la lámina basal, representada por una línea densa, ondulada, de 600 Å de espesor aproximado, formada por miríadas de finísimos filamentos entrelazados, y separada del epitelio por una zona clara de 500 Å de espesor, o lámina lúcida, la cual es atravesada por finas fibras, que aparentemente provienen de la lámina basal, y que unen ésta con la hoja externa de la membrana celular vecina (Figs. 1, 2 y 3).

Las células basales presentan su eje mayor perpendicular a la lámina basal. Son usualmente de forma oval o cuboide y poseen prolongaciones hacia el corium. Adheridos a la membrana celular que mira a la lámina basal, se encuentran los hemidesmosomas, estructuras compuestas de una placa de unión, representada por un área de mayor densidad electrónica, que mide entre 100 y 200 Å de ancho y 800 Å de largo, aplicada a la hoja más interna de la unidad de membrana. Sobre la placa de unión converge un manojo de delgados tonofilamentos. La hoja externa de la membrana celular, a este nivel, simula un pequeño disco, situado en la lámina lúcida, o "densidad periférica" (Fig. 3).

En el citoplasma de la célula basal encontramos abundantes mitocondrias de 0,2 a 1 micra de largo, pobres en crestas (Fig. 7), y distribuidas de manera polarizada en la parte subnuclear (Fig. 5); tonofilamentos aislados o en manojos laxos, se orientan perpendicularmente al corium; el complejo de Golgi está formado por cisternas planas y grupos de pequeñas vesículas revestidas por membranas lisas, situadas en extremos opuestos del núcleo (Fig. 8); gránulos de melanina (Fig. 4), algunos en relación con el complejo de Golgi (Fig. 8); gránulos de glicógeno (Fig. 2); y vacuolas de tamaño variable (Fig. 9). El núcleo de la célula basal es redondo u oval, y presenta uno o dos nucléolos (Fig. 10).



Fig. 1. Microfotografía electrónica a nivel de la unión epitelio-conjuntiva de la mucosa bucal de un paciente de color. La lámina basal está representada por una línea fina, densa y ondulada (flecha), separada de la membrana celular por la lámina lúcida (flecha en cruz). Fibras de colágeno (C). Abundantes gránulos de melanina (M), están situados de manera irregular en el citoplasma. Espacio intercelular (E), en el cual resaltan algunos microvellos (V). X 13.250.

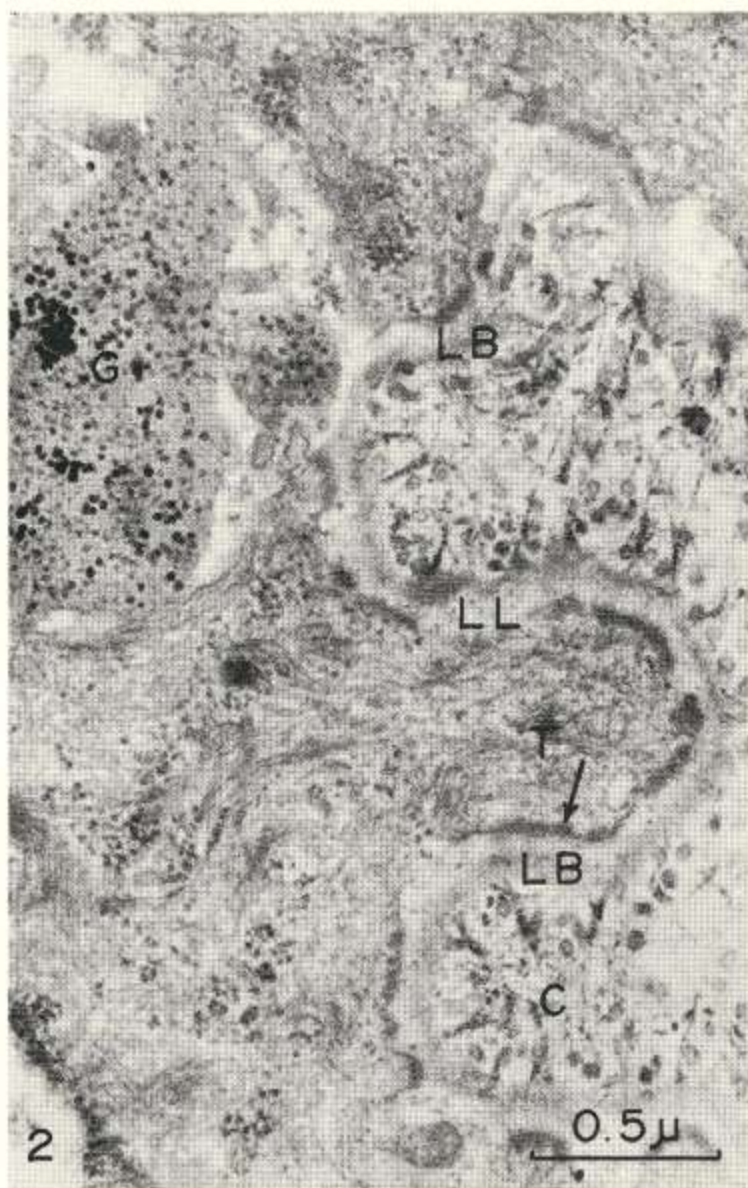


Fig. 2. Microfotografía electrónica en la cual se ven las fibras de colágeno en el conjuntivo (C), la lámina basal (L.B.) y la lámina lúcida (L.L.). Se pueden apreciar finisimos filamentos en el interior de la lámina basal, algunos de los cuales atraviesan la lámina lúcida. Hemidesmosomas (flecha), tonofilamentos (T), glicógeno (G). X 60.500.



Fig. 3. Microfotografía electrónica en la que se aprecia parte del citoplasma de una célula epitelial (E), y el conjuntivo vecino (C). La placa de unión del hemidesmosoma (flecha) se encuentra aplicada a la hoja interna de la unidad de membrana; manojos de tonofilamentos (T), convergen sobre ella. A nivel de la lámina lúcida (flecha en cruz), se observa la densidad periférica correspondiente a la hoja externa de la unidad de membrana (flecha de doble cruz). En algunos sitios se pueden ver finos filamentos que unen la lámina basal a la membrana celular (doble flecha). X 45.000.

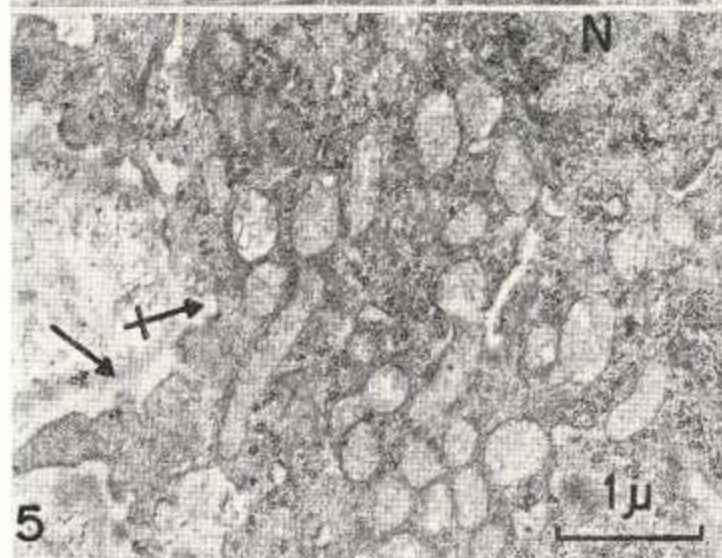


Fig. 4. Microfotografía electrónica de un acúmulo de gránulos maduros de melanina en el interior de una vesícula, en el citoplasma de una célula epitelial basal. X 17.550.

Fig. 5. Microfotografía electrónica de la región subnuclear de una célula epitelial basal, mostrando gran cantidad de mitocondrias. Núcleo (N), lámina lúcida (flecha en cruz), lámina densa (flecha). X 22.725.

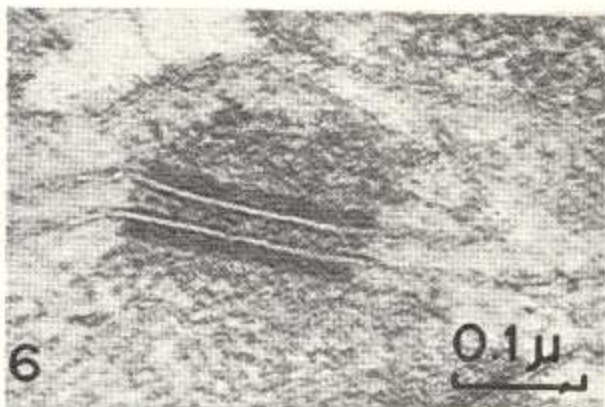


Fig. 6. Microfotografía de un desmosoma situado entre una célula epitelial basal y una célula parabasal. Se aprecia cómo la hoja externa de la unidad de membrana se continúa con la línea externa de la estructura trilaminar del desmosoma. Las dos zonas claras corresponden al espacio medio ubicado entre las hojas interna y externa de la unidad de membrana. Sobre la hoja interna están aplicadas las placas de unión. X 181.500.

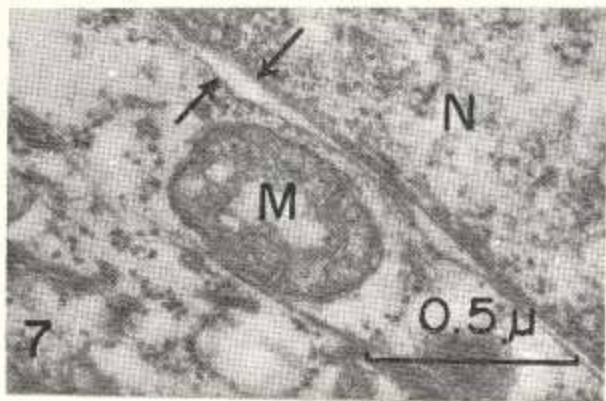


Fig. 7. Microfotografía electrónica de una mitocondria (M), en la cual se aprecia su pobreza en crestas. Núcleo (N). Doble membrana nuclear y cisterna perinuclear (flechas). En el citoplasma se ven algunos ribosomas. X 60.000.

Las células basales se encuentran separadas unas de otras, por largos espacios intercelulares. Finos microvellos son visibles a este nivel. Las células se unen entre sí por medio de pequeños desmosomas. El desmosoma (Fig. 6) se presenta como una estructura compuesta de dos placas de unión de 110 Å de espesor, una en cada superficie celular opuesta, y aplicada a la hoja interna de la unidad de membrana; además, entre las placas de unión se observa una estructura trilaminar, de 200 Å de espesor, cuyas dos hojas externas de 35 Å, se continúan con la hoja externa de la unidad de membrana; en tanto que la línea media, equidistante de las anteriores, termina a la misma altura que la placa de unión. Sobre las placas de unión convergen manojos de tonofilamentos.

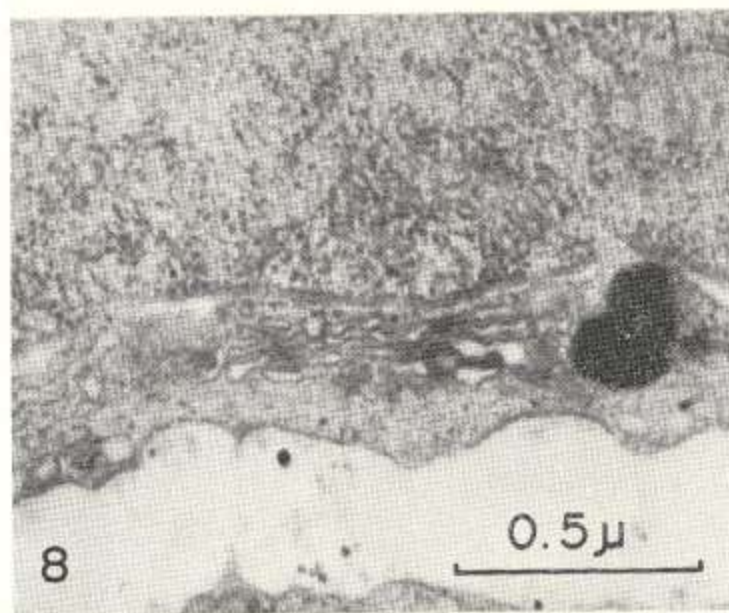


Fig. 8. Microfotografía electrónica que muestra el complejo de Golgi en íntima relación con gránulos de melanina, X 75.000.

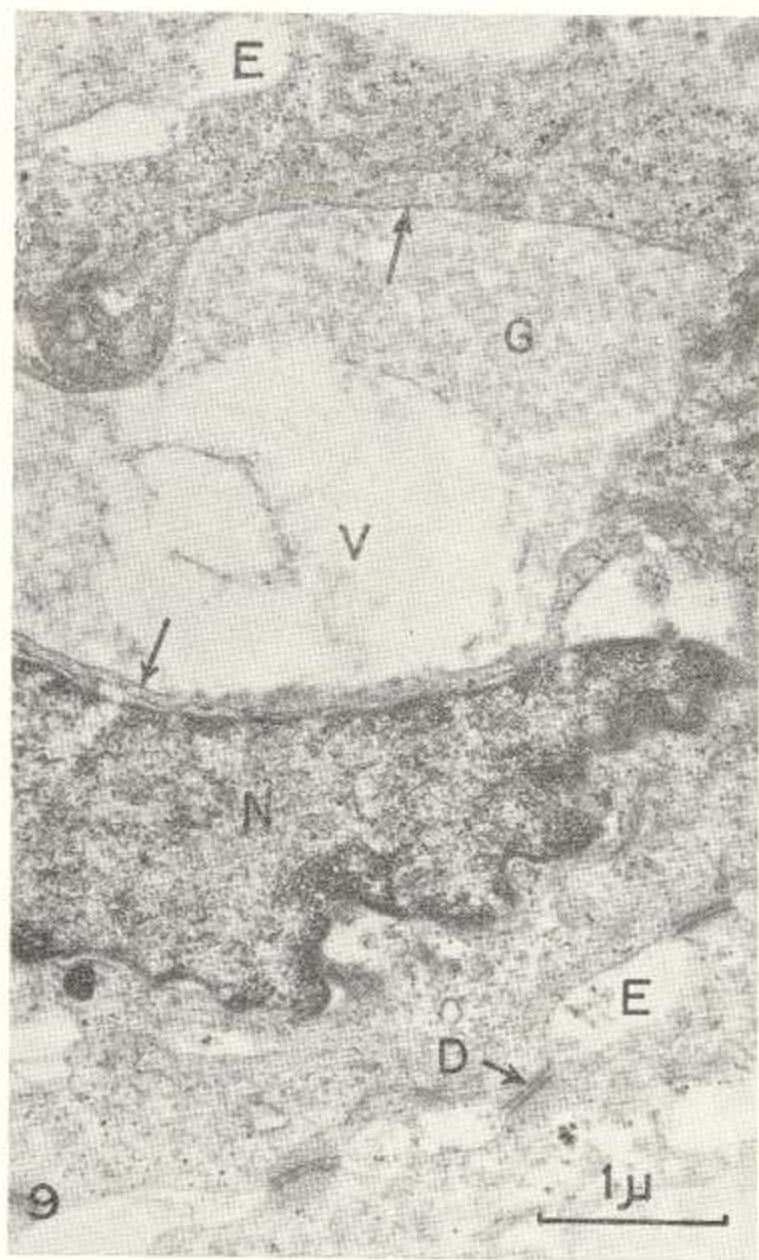


Fig. 9. Microfotografía electrónica en la que se aprecia una vacuola grande (V) en el citoplasma de una célula basal, con contenido granular en su interior (G), y cuya membrana (flecha), parece rechazar al núcleo (N). Espacios intercelulares (E), desmosoma (D). X 27.500.



Fig. 10. Microfotografía electrónica que muestra la disposición periférica de la cromatina en el interior del núcleo de una célula basal. Nucléolo (N). X 27.500.

DISCUSION

La lámina basal de los epitelios corresponde a la línea densa que corre paralela a la superficie de las células basales⁵, y de las cuales está separada por la lámina lúcida. Se le consideró en otro tiempo, bajo la denominación de membrana basal, como una barrera a la difusión entre el conjuntivo y el epitelio²⁰. En la actualidad, la designación de membrana ha sido reemplazada por el término de lámina, por no presentar las características de las membranas en el sentido propuesto por Robertson^{25, 26}. Las medidas presentadas por nosotros a nivel de la unión epitelio-conjuntiva de la mucosa bucal, son similares a las obtenidas en otros epitelios de vertebrados⁵, e invertebrados^{10, 24}, donde se ha visto, a altas resoluciones, que la lámina basal está compuesta de finísimos filamentos entrecruzados, que limitan zonas claras; conjunto que simula una malla embebida en una sustancia de base. Hallazgos similares hemos presentado en nuestros resultados.

No conocemos estudios sobre la composición química de las estructuras descritas por nosotros en la unión epitelio-conjuntiva de la encía, pero los conocimientos actuales en zonas equivalentes de otros epitelios planos pluriestratificados, nos pueden orientar sobre la composición de éstas. Rambourg y colaboradores²², mediante coloraciones histoquímicas al microscopio de luz, encontraron que en la zona correspondiente a la membrana basal se presenta una capa continua de material amorfo, positiva a la reacción del ácido periódico-reactivo de Schiff (PAS), que parece corresponder a glicoproteínas. Swift y Saxton²³, utilizando ácido periódico metenammina plata, reacción equivalente a la anterior²⁴, para detectar carbohidratos en epitelios al microscopio electrónico, muestran que las pequeñas fibras colágenas situadas inmediatamente por debajo de la lámina basal son las únicas positivas a esta reacción.

En un trabajo posterior, Rambourg y Leblond²³, han demostrado que tanto la lámina lúcida, lámina basal y las pequeñas fibras colágenas inmediatas, pueden reaccionar con intensidades variables a estas dos técnicas, lo que explicaría los hallazgos de Swift y Saxton. Sin embargo, en preparaciones fijadas con Bouin y coloreadas por la técnica de hierro coloidal-azul de Prusia, se observa que la lámina basal no se colorea, mientras que la zona correspondiente a la lámina lúcida contiene material positivo a

esta reacción²². Se observó que dicho material no sólo estaba presente en la base, sino también a los lados de las células epiteliales, por lo que Rambourg y colaboradores²² lo han descrito como una "cubierta celular" rica en carbohidratos en contacto directo con la membrana plasmática de la célula^{22, 23}. Pease²¹, utilizando ácido fosfotúngstico encontró hallazgos similares. Si tomamos en cuenta los hallazgos anteriores, en lo referente a las reacciones histoquímicas y las zonas en las cuales estas reacciones se efectúan, y las comparamos con las características ultraestructurales de esta zona presentadas por nosotros, y su reacción a fijadores y colorantes, podemos deducir que la lámina basal del epitelio de la encía humana está formada por mucopolisacáridos ácidos unidos a proteínas y la lámina lúcida por mucopolisacáridos ácidos.

En la encía humana²¹, en el exocérnix humano^{8, 24} y en otros epitelios^{5, 10}, ya se han descrito los finos filamentos que conectan la lámina basal con la membrana celular vecina y que hemos reportado en este trabajo. Estos filamentos, según nuestra opinión, podrían provenir de la matriz filamentosa de la lámina basal, y no de filamentos intracitoplasmáticos⁵.

Dos características son notables en el citoplasma de las células basales: la abundancia de mitocondrias y los gránulos de melanina. La gran cantidad de mitocondrias a este nivel, parece indicar que las células basales realizan una función metabólica oxidativa mayor que las células espinosas, donde las mitocondrias son escasas¹⁵. Las mitocondrias observadas por nosotros presentan pocas crestas, hallazgo que coincide con publicaciones anteriores de experimentos *in vitro* e *in vivo*²⁷. Creemos que esto les es propio y no es debido a defecto en la fijación del tejido, ya que suponiendo que el fijador difunda igual en el epitelio que en el tejido conjuntivo, las células del tejido conjuntivo inmediato, en la misma biopsia, exhiben mitocondrias en perfectas condiciones.

La melanina se encuentra en forma de gránulos maduros, aislados o en grupos, los cuales son sintetizados por los melancitos y transferidos a las células epiteliales^{2, 19, 29}, disminuyendo su número al pasar a las células del estrato espinoso.

La estructura trilaminar del desmosoma ha sido objeto de controversia por la dificultad que existe para visualizar una con-

tinuidad entre sus hojas y la unidad de membrana de las células²⁰. Nuestros actuales hallazgos coinciden con publicaciones previas^{3,11} que demuestran esta continuidad, estableciendo que la línea media es probablemente la única estructura extracelular.

RESUMEN

Se estudiaron al microscopio electrónico, 10 biopsias de encía normal, fijadas en glutaraldehído y tetraóxido de osmio; incluidas en Araldita o en una mezcla de Epón y Araldita; coloreadas con acetato de uranilo y citrato de plomo.

La lámina basal y la lámina lúcida, presentaron cada una, un espesor de 500 Å aproximadamente. En la lámina lúcida a nivel de los hemidesmosomas, se observaron finos filamentos que unen la lámina basal a la membrana celular. Las células basales poseían hemidesmosomas que miraban a estas estructuras, y desmosomas que les unían entre sí. En su citoplasma se observaron abundantes mitocondrias, retículo endoplasmático rugoso, complejo de Golgi, gránulos de melanina, glicógeno y tonofilamentos.

Se discute la probable naturaleza química de la lámina basal y la lámina lúcida, en relación con la información existente en otros epitelios. Se considera que el metabolismo oxidativo es mayor en las células basales que en otras capas de este epitelio. Se reporta la continuidad entre la hoja externa de la membrana celular y la línea externa de la estructura trilaminar del espacio intercelular del desmosoma.

SUMMARY

Electron microscopic findings in 10 normal gums, at the level of the basal lamina are reported, after fixation with glutaraldehyde and osmium tetroxide. Embedding in Araldite or Epon Araldite, and stained with uranyl acetate solution and lead citrate.

The basal lamina is a band of 600 Å thick, separated from the cell membrane by a light zone. Fine filaments join the basal lamina to the cell membrane at the level of the half-desmosome.

The basal cell present half-desmosomes and desmosomes, mitochondrias, granular reticulum, Golgi complex, melanin, glycogen and filaments.

The probable chemical nature of the basal and lucid lamina is discussed in relation with the existing knowledge in other epithelial tissues. The possibility that the oxidative metabolism be more active in the basal cells, than at other levels of this epithelium is considered. The lateral dense lines in the intercellular space of the desmosome are continuous with the outermost leaflet of the cell membrane.

AGRADECIMIENTO

A los Sres. J. Vivas, E. Añez, A. Bohórquez, y Srta. M. Williams, por su colaboración en la realización de este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 — ALBRIGHT, J. T.; LISTGARTEN, M. A. "Observations on the fine structure of the hamster cheek pouch epithelium". Arch. Oral Biol. 7: 613-620. 1962.
- 2 — BLOIS, M. S. "Phagocytosis of melanin particles by human epidermal cells in vitro". J. Invest. Dermatol. 50: 336-337. 1968.
- 3 — FASSKE, E.; THEMANN, H. "Über das Deckepithel der Menschlichen mundschleimhaut. Licht und Elektronenmikroskopische Untersuchungen". Z. F. Zellforsch. 49: 447-463. 1959.
- 4 — FARQUHAR, M. G.; PALADE, G. E. "Junctional complexes in various epithelia". J. Cell Biol. 17: 375-412. 1963.
- 5 — FAWCETT, D. W. "The Cell". Págs. 353-365. W. B. Saunders Co. Philadelphia. 1966.
- 6 — GIANNI, E. "Considerazioni su alcuni aspetti elettronici dell'epitelio di gengiva umana clinicamente normale". Stomatol. Pratica. 10: 3-12. 1959.
- 7 — GIBBINS, J. R. "An electron microscopic study of the normal epithelium of the palate of the albino rat". Arch. Oral Biol. 7: 287-295. 1962.

- 8 — HACKERMANN, M.; GRUBB, C.; HILL, K. R. "The ultrastructure of normal squamous epithelium of the human cervix uteri". *J. Ultrastruct. Res.* 22: 443-457. 1968.
- 9 — HOFFER, O. "Il Corion gengivale in corso di flogosi ed in sede sperimentale al microscopio elettronico". *Stomatol. Pratica*, 9 (Supp. 4): 1-26. 1958.
- 10 — KELLY, D. E. "Fine structure of desmosomes, hemidesmosomes and adepidermal globular layer in developing newt epidermis". *J. Cell Biol.* 28: 51-72. 1966.
- 11 — KOMURA, J.; OFUJI, S. "Effect of electron stains and desmosome; an electron microscopic study". *J. Invest. Dermatol.* 48: 304-308. 1967.
- 12 — KURAHASHI, Y.; TAKUMA, S. "Electron microscopy of human gingival epithelium". *Bull. Tokyo Dent. Coll.* 3: 29-43. 1962.
- 13 — LAURENZA, A. "La giunzione dermo-epidermica della gengiva umana normale e patologica al microscopio elettronico". *Minerva Stomatol.* 8: 511-517. 1959.
- 14 — LISTGARTEN, M. A. "The ultrastructure of human gingival epithelium". *Am. J. Anat.* 114: 49-70. 1964.
- 15 — LISTGARTEN, M. A.; ALBRIGHT, J. T.; GOLDBABER, P. "Ultrastructural alterations in hamster cheek pouch in response to a carcinogen". *Arch. Oral Biol.* 8: 145-155. 1963.
- 16 — LUZARDO-BAPTISTA, M. J.; CASTEJON, O. "Ultraestructura de las células espinosas del epitelio de la mucosa oral". *Invest. Clin.* 27: 17-38. 1968.
- 17 — MELCHER, A. H. "The nature of the basement membrane in human gingiva". *Arch. Oral Biol.* 10: 783-792. 1965.
- 18 — MELCHER, A. H. "Gingival reticulum: identification and role in histogenesis of collagen fibres". *J. Dent. Res.* 45: 426-439. 1966.
- 19 — MOTTAZ, J. H.; ZELICKSON, A. S. "Melanin transfer: a possible phagocytic process". *J. Invest. Dermatol.* 49: 605-610. 1967.
- 20 — OTTOSON, D.; SJOSTRAND, F.; STENSTRON, S.; SVAETICHEN, G. "Microelectrode studies on the E.M.F. of the frog skin related to electron microscopy of the dermo-epidermal junction". *Acta Physiol. Scand.* 29 (Supp. 106): 611-624. 1953.
- 21 — PEASE, D. C. "Polysaccharides associated with the exterior surface of epithelial cells". *J. Ultrastruc. Res.* 15: 555-588. 1966.
- 22 — RAMBOURG, A.; NEUTRA, M.; LEBLOND, C. R. "Presence of a cell coat rich in carbohydrates at the surface of cells in the rat" *Anat. Rec.* 154: 41-72. 1966.
- 23 — RAMBOURG, A.; LEBLOND, C. P. "Staining of basement membranes and associated structures by Periodic Acid-Schiff and Periodic Acid-Silver Methenamine techniques". *J. Ultrastruc. Res.* 20: 306-309. 1967.

- 24 — 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.
 - 25 — ROBERTSON, J. D. "The ultrastructure of cell membranes and their derivatives". *Biochem. Soc. Symp.* 16: 3-43. 1959.
 - 26 — ROBERTSON, J. D. "The molecular structure and contact relationships of cell membranes". *Prog. Biophys.* 10: 343-348. 1960.
 - 27 — ROSSET, T.; OHKIDO, M.; SMITH, J.; YARDLEY, H. "Studies in the biochemistry of skin". *J. Invest. Dermatol.* 48: 67-78. 1967.
 - 28 — ROTH, S. I.; CLARK, W. H. "Ultrastructural evidence related to the mechanism of keratin synthesis". *The Epidermis*. Págs. 303-337. Montagna, W.; Lobitz, W. (edit.), Academic Press, New York. 1964.
 - 29 — SQUIER, C. A.; WATERHOUSE, J. P. "The ultrastructure of the melanocyte in human gingival epithelium". *Arch. Oral Biol.* 12: 119-129. 1967.
 - 30 — STERN, I. B. "A study of the ultrastructure of rat gingival epithelium". *Int. Assoc. Dent. Res.* 40: reunión. 1962.
 - 31 — STERN, I. B. "Electron microscope observations of oral epithelium". *Periodontic.* 3: 224-238. 1965.
 - 32 — 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.
 - 33 — SWIFT, J. A.; SAXTON, C. A. "The ultrastructural location of the periodate Schiff reactive basement membrane at the dermo-epidermal junctions of human scalp and monkey gingiva". *J. Ultrastruc. Res.* 17: 23-33. 1967.
 - 34 — TERZAKIS, J. A. "Substructure in an epithelial basal lamina (Basement-membrane)". *J. Cell Biol.* 35: 273-278. 1967.
 - 35 — THEMANN, M. H. "Elektronenmikroskopische Untersuchungen der normalen und der pathologisch veränderten Mundschleimhaut". *Fortschritte der Kiefer und Gesichtschir.* 4: 390-398. 1958.
 - 36 — YOUNES, M. S.; STEEL, H. D.; ROBERTSON, E. M.; BENCOSME, S. A. "Correlative light and electron microscope study of the basement membrane of the human ectocervix". *Am. J. Obst. Gynecol.* 92: 163-171. 1965.
 - 37 — ZELICKSON, A.S.; HARTMANN, J. F. "An electron microscope study of normal human non-keratinizing oral mucosa". *J. Invest. Dermatol.* 38: 99-167. 1962.
-