

FACULTAD DE MEDICINA  
DE LA  
UNIVERSIDAD DE GRANADA

"MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO DEL  
EPITELIO PERIODONTAL DE PROTECCION"

Tesis que, para optar al grado de Doctor, presenta  
D. Gerardo Moreu Burgos, Licenciado en Medicina y  
Cirugía.





ACTA DE GRADO DE DOCTOR

DOCTORANDO D. GERARDO MOREU BURGOS  
LICENCIADO EN MEDICINA Y CIRUGIA por la Universidad de GRANADA  
PROGRAMA DE DOCTORADO BIOPATOLOGIA Y GENETICA MEDICA

DEPARTAMENTO RESPONSABLE BIOLOGIA CELULAR  
TITULO DE LA TESIS "MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO DEL EPITELIO PERIODONTAL DE PROTECCION"

DIRECTOR/ES DRA. D<sup>a</sup> CARMEN SANCHEZ QUEVEDO; DR. D. MAXIMINO GONZALEZ-JARANAY  
DR. D. GREGORIO CEBALLOS SALOBREÑA  
TUTOR DR. D. FRANCISCO JAVIER CAÑIZARES GARCIA

TRIBUNAL

PRESIDENTE DR. D. ANTONIO CAMPOS MUÑOZ  
VOCALES DR. D. ALEJANDRO CEBALLOS SALOBREÑA  
DR. D. PEDRO BULLON FERNANDEZ  
DR. D. EDUARDO GARCIA POBLETE  
SECRETARIO DR. D. PASCUAL VICENTE CRESPO FERRER

Reunido el día de la fecha el Tribunal nombrado para el Grado de Doctor de D. GERARDO MOREU BURGOS éste procede al acto de mantenimiento y defensa de la Tesis Doctoral.

Terminado dicho acto y contestadas las objeciones formuladas por el Tribunal, éste le calificó *apto "cum laude" por unanimidad*

Granada 3 de April de 1992

El Secretario del Tribunal,

EL PRESIDENTE.

Fdo.: Antonio Campos Muñoz

EL VOCAL.

Fdo.: Alejandro Ceballos Salobreña

EL VOCAL.

Fdo.: Pedro Bullon Fernandez

EL VOCAL.

Fdo.: Eduardo Garcia Poblete

Dña. **CARMEN SANCHEZ QUEVEDO**, **D. MAXIMINO GONZALEZ JARANAY**, profesores titulares de Histología Bucofacial y Periodoncia, respectivamente, de la Universidad de Granada y **D. GREGORIO CEBALLOS SALOBREÑA**, Jefe de Sección de Estomatología del Hospital Clínico Universitario de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

**CERTIFICAN:**

Que **D. GERARDO MOREU BURGOS**, Licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo nuestra dirección los trabajos de investigación correspondientes a su Tesis Doctoral "**MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO DE EPITELIO PERIODONTAL DE PROTECCION**", y que reúne las cualidades necesarias para su presentación y defensa.

Prof. Dr. **C. SANCHEZ QUEVEDO**

Prof. Dr. **M. GLEZ-JARANAY RUIZ**

**Dr. G. CEBALLOS SALOBREÑA**

Granada , Enero de mil novecientos noventa y dos

DEDICATORIA



A mis padres.

A M<sup>a</sup> Angeles.

## AGRADECIMIENTOS



Quiero agradecer, en primer lugar, a la Prof. Dra. Dña. M<sup>a</sup> del Carmen Sánchez Quevedo y al Prof. Dr. D. Antonio Campos, el gran interés, comprensión, colaboración y ayuda puestos de manifiesto en todo momento. La amplia y profunda capacidad docente e investigadora, así como su trato, siempre cordial y humano, que ambos poseen, ha posibilitado la elaboración y conclusión de este trabajo.

Igualmente al Prof. Dr. D. Maximino Glez-Jaranay y al Dr. D. Gregorio Ceballos Salobreña, compañeros y amigos, por los consejos y ayudas prestados.

Por otra parte, también quisiera agradecer su colaboración a los Profs. Dres. D. P. Vicente Crespo y D. José Manuel García, por los consejos e indicaciones prestados.

Así mismo he de expresar mi agradecimiento al Prof. Dr. D. Juan de Dios Luna por su colaboración en la dirección, diseño y análisis estadístico de los datos de la presente Tesis Doctoral.

A los Profs. Dres. D. Francisco J. Cañizares, Dña. M<sup>a</sup> Angustias Cubero, D. Eduardo Fernandez y D. Francisco Revelles, al Dr. D. Antonio Gutierrez y a D. José Antonio López, quiero expresar mi gratitud por la ayuda, tanto técnica como humana, que me ha prestado desde el primer momento de mi estancia en este Departamento.

A Dña. M<sup>a</sup> Angeles Robles, por su magnífica colaboración técnica en el procesamiento de las muestras de esta Tesis Doctoral.

Especialmente, quiero expresar mi gratitud a mi hermano Ignacio, por su ayuda en todo momento, colaboración en la confección de tablas, esquemas y el procesamiento informático de la presente Tesis Doctoral.

A todos, muchas gracias por todo.

## INDICE

INTRODUCCION .....	1
MATERIAL Y METODOS .....	16
MATERIAL .....	17
METODOS .....	22
1 Método quirúrgico .....	23
2 Método de estudio para	
Microscópia Electrónica de barrido .....	25
3 Método de estudio morfométrico cuantitativo	
con Microscópia Electrónica de barrido .....	33
4 Método estadístico .....	37
RESULTADOS .....	39
1 Microscópia Electrónica de barrido de	
los patrones celulares superficiales	
del epitelio periodontal .....	41
2 Microscópia Electrónica de barrido de	
los morfotipos microbianos del epitelio	
periodontal .....	46
3 Microscópia Electrónica de barrido de	
asociación celular del epitelio periodontal .....	47
4 Resultado morfométricos-cuantitativos .....	48
5 Resultados estadísticos .....	63
DISCUSION .....	87
CONCLUSIONES .....	109
BIBLIOGRAFIA .....	113

## INTRODUCCION



La enfermedad periodontal constituye un conjunto de procesos inflamatorios crónicos caracterizados por la destrucción progresiva de los tejidos de soporte dentario.

El proceso implica períodos cortos de destrucción tisular rápida seguidos por periodos de estabilización y prolongadas etapas de remisión BASCONES 1989 (19); CARRANZA 1984 (58); CARRASI 1987 (59); LÖE y Cols. 1986 (176); LUCAS 1988 (179) ; RAMFJORD y Cols. 1984 (236); RATEITSCHAK y Cols. 1991 (237); SOCRANSKY 1984 (267) y WARD y SIMRING 1978 (292).

Las enfermedades periodontales que pueden subdividirse en diversos subtipos atendiendo a criterios cronológicos, topográficos, clínicos y etiopatogénicos (A.A.P. 1989 (6) y PAGE 1982 (225)) constituyen, en el momento presente, un grave problema clínico, terapéutico y sobre



todo epidemiológico debido a su creciente incremento en los países industrializados (AHRENS y BUBLITZ 1987 (1), MILLER y Cols. 1987 (210) y W.H.O. 1978 (302)). Para ALBANDAR 1989 (2); BARMES y LEOUS 1986 (18); CUTRESS 1986 (77); FRENTZEN y NOLDEN 1987 (91); HENNE y Cols. 1988 (119); LINDHE y Cols. 1989 (170); LISSAU y cols. 1990 (174); PERRY y NEWMAN 1990 (227) y STAMM 1986 (274)), la enfermedad periodontal supone, como consecuencia de ello, un problema mundial de grandes proporciones.

Algunos autores como BROWN y Cols. 1989 (47); HALAZONETIS y Cols. 1989 (109); HANSEN y Cols. 1984 (111); McFALL y Cols. 1989 (200); SAXEN 1980 (252); WATTS 1989 (291) y WENNSTRON y PAPAPANOU 1990 (299) afirman, sin embargo, que con los nuevos criterios diagnósticos de enfermedad periodontal, el incremento de la misma no es tan marcado como reflejan los trabajos anteriormente citados. La enfermedad periodontal es en cualquier caso un problema patológico y epidemiológico de elevadas proporciones. BERGTROM y ELIASSON 1989 (23); LINDHE y cols 1989 (170); PILLOT y MILLAZAKI 1991 (229) y SHEILHAM 1991 (263).

El progresivo incremento en el desarrollo de la enfermedad periodontal que acabamos de comentar, de acuerdo con los autores clásicos, ha generado en los últimos años un creciente interés en la biopatología de dicha región. A este propósito se han intensificado recientemente los estudios anatómicos, histológicos, microbiológicos e inmunológicos en relación con las distintas estructuras periodontales dado que como ha escrito CARRASI en 1987 (59) estas disciplinas pueden contribuir a una mejor comprensión de la etiología, la patogenia y la progresión de la enfermedad que nos ocupa.

En relación con la histología de la región periodontal esta ha sido objeto, de una intensa investigación con microscopía óptica y microscopía electrónica de transmisión. A este respecto, la estructura básica de los elementos que integran el periodonto parece bien establecida BHASKAR (27), BLOMM y FAWCET (29), SCHRÖEDER (256) y TEN CATE (283). Destacan sin embargo distintos trabajos tanto en material humano como en animales de experimentación que plantean problemas aún sin resolver.

En relación con el hueso alveolar destacan los problemas relativos a la biomineralización y a la regeneración ósea a partir de células osteoprogenitoras. ALEXANDERS y SWERDLOFF 1980 (3), BAUMHAMNERS y Cols. 1965 (20), BERNICK 1954 (25), BERNICK y cols. 1977 (26), BUTLER 1984 (51), DIXON y SARNAT 1982 (79), FISHER y TERMINE 1985 (88), GOODMAN y HORI 1984 (105), JHONSON 1983 (134) - 1984 (135) - 1985 (136) - 1987 (137) - 1988 (138); JHONSON y CARLSON 1989 (139), JHONSON y HIGHSON 1983 (140), JHONSON y LOW 1982 (141), JONES y BOYDE 1974 (142), KIMMEL y JEE 1982 (150), KURIHARA y ENLOW 1980 (160) (161), LIU y BAYLINK 1984 (175), MARTINEZ y JHONSON 1988 (193), McCULLOCH y MELCHER 1983 (196) 1985 (197), MELCHER y Cols. 1986 (205), MURRAY y cols. 1982 (215), NEMETH y cols. 1989 (218), POPOFF y SCHNEIDER 1986 (232), QUIGLEY 1970 (235), RYGH 1976 (244) 1984 (245), SCHEVEN y Cols. 1986 (253), SCHROEDER 1986 (255), SIRE y cols. 1990 (264), VAKEVA y Cols. 1990 (288), VIGNERY y BARON 1980 (289).

En relación con el cemento destaca la preocupación por la tipificación de los dos tipos de cemento existentes así como sobre las relaciones de esta estructura con la dentina subyacente. AWAZAWA



1963 (15), CHOO y GARANT 1988 (62) - 1989 (63), FRANK y STEUER 1977 (90), FURSETH 1965 (92) - 1967 (93) - 1969 (94) - 1970 (95) - 1974 (96) - 1977 (97), FURSETH y JOHANSEN 1970 (98), FURSETH y MJÖR 1973 (99), HAYASHI 1987 (115), HERTING 1962 (121) - 1964 (122), JANDE y BELANGER 1970 (132), LESTER 1969 (166), LISGARTEN 1975 (173), MELCHER y Cols. 1986 (205), OWENS 1974 (224), SCHRÖEDER 1986 (255), SELVIG 1965 (258)- 1967 (259) - 1968 (260) y STERN 1964 (275).

Los trabajos relativos al ligamento periodontal hacen referencia al ciclo de renovación fibroblástica celular y a los patrones arquitecturales y fibrotectónicos de material colágeno así como a la innervación y vascularización del mismo BEERSTSEN y cols. 1974 (21), BERKOVITZ y cols. 1983 (24), BERNICK 1954 (25), BERNICK y cols. 1977 (26), CHOO y GARANT 1987 (61), FRANK y Cols. 1976 (89), GARANT y CHOO 1979 (101), GOULD 1983 (106), GOULD y cols. 1980 (107), JHONSON 1983 (134) - 1984 (135), KURIHARA y ENLOW 1980 (160) (161), MAEDA y Cols. 1989 (183), McCULLOCH 1985 (198), McCULLOCH y cols. 1988 (199), MELCHER 1980 (203), NARAYAN y PAGE 1983 (217), NEMETH y cols. 1989 (218), ROBERTS y cols. 1981 (240), SATO y cols. 1989 (250) y SOMERMAN y Cols. 1989 (268).

Los trabajos sobre mucosa oral se orientan básicamente hacia la tipificación de las distintas variedades regionales y a los problemas de diferenciación que presentan los elementos celulares del epitelio oral en dichos niveles. Asimismo diferentes autores se ocupan especialmente de los elementos fibroblásticos del corión gingival. CHEN y SQUIER 1980 (60), CHRISTOPHERS y Cols 1974 (64), COHEN 1962 (73), FARSI y cols. 1985 (84), FEINGOLD y Cols 1991 (86), HASSEL y STANECK 1983 (114), HAYWARD y HACKERMANN 1973 (118), LANG y LÖE 1972 (163), LANGE y SCHRÖEDER 1971 (164), MACKENZIE 1975 (181), MACKENZIE y HILL 1984 (182), MELCHER y CHAN 1981 (204), MENTON 1976 (207), NARAYAN y PAGE 1983 (217), SCHRÖEDER 1986 (255) - 1987 (256), SCHRÖEDER y LISGARTEN 1977 (257), SKOUGAARD 1970 (265), SOMERMAN y Cols. 1989 (268), SQUIER 1977 (271), SQUIER y HOOPS 1976 (272), SQUIER y cols. 1991 (273), STERN 1965 (276), UEHARA y cols. 1990 (287) y WENSTRÖN 1982 (298).

El desarrollo en los últimos veinte años de la microscopía electrónica de barrido ha generado, al igual que ocurrió con la microscopía electrónica de transmisión, una revisión sistemática de la estructura de los diferentes sistemas biológicos. En nuestro caso la



microscopía electrónica de barrido se ha configurado recientemente como uno de los pilares básicos en el avance y desarrollo de la histología y la patología periodontal.

En efecto aunque desde las iniciales aportaciones de KNOLL (152) y VON ARDENE (290) en la década de los treinta, se establece el principio físico de dicha instrumentación, no es hasta el final de los años sesenta cuando se construye el primer prototipo comercial (OATLEY (220) y OATLEY y Cols.(221)).

La aplicación de la microscopía electrónica de barrido a las estructuras dentales, ha permitido básicamente desde los trabajos iniciales de BOYDE (33) sistematizar el patrón arquitectural de la dentina, del cemento y sobre todo la compleja estructura del esmalte. ALWAS-DANOWSKA 1984 (5); BERCY y FRANK 1980 (22); BOYDE 1964 (33) - 1965 (34) - 1967 (35) - 1968 (36) - 1969 (37) - 1975 (39); BOYDE y cols. 1988 (44); BRANNSTROM y GARBEROGLIO 1972 (46); FEJERSOSKOV y Cols. 1984 (87); GARBEROGLIO y BRANNSTROM 1976 (102); GUNJI y KOBAYASHI 1983 (108);

HAYKEL y FRANK 1982 (117); HOFFMAN y Cols. 1969 (125); ISOKAWA y Cols. 1972 (130); KUBOTA y Cols. 1978 (154); MANIATOPOULOS y SMITH 1983 (186); NEWMAN y POOLE 1974 (219); RISNES 1985 (239); SELVIG 1972 (261); SZABO y Cols. 1985 (279); SZABO y Cols. 1985 (280); THOMAS y CARELLA 1983 (284) y WARSHAWSKY 1987 (293).

En la región periodontal los trabajos iniciales con microscopía electrónica de barrido fueron realizados por MONGEROTH y MONGEROTH (211) (212) hace apenas veinte años; los trabajos sucesivos en los tejidos periodontales y en el resto de la mucosa oral se han desarrollado tanto en material humano (CLEATON-JONES y Cols. 1978 (69); DOUROV y cols. 1981 (82); KULLA-MIKKONEN 1986 a (155) - 1986 b (156) - 1987 (157); GARNICK y RINGLE 1988 (103); ROBERTSON y cols. 1987 (241) y WILDING 1973 (303)) como en material procedente de distintas especies animales (APPLETON y HEANEY 1977 (12); ARVIDKSON 1976 (13); BOSHELL y cols. 1979 (31) - 1980 (32); McMILLAN 1979 a (201); McMILLAN y Cols. 1979 b (202); NAIR y SCHRÖEDER 1981 (216) y SPERRY y WASSERSUG 1976 (270)).



En los estudios realizados en mucosa oral así como en otras superficies epiteliales de carácter mucoso se han descrito distintos patrones microscópicos de superficie, existiendo una amplia divergencia en cuanto a la interpretación de los datos observados. En primer lugar existen importantes problemas terminológicos y descriptivos en relación con idénticas o similares observaciones. Los términos de microcrestas, micropliegues, microplacae, microrrugae, etc, son utilizados para describir, en este sentido, realidades en muchos casos semejantes. ANDREWS 1974 (8) - 1975 (9) - 1976 (10); ANDREWS y POTTER 1973 (11); BANOCZY y cols. 1980 (17); CLEATON-JONES 1976 (68); HARRIS y HUNT 1975 a (112) - 1975 b (113); HENRIKSON y MATOLTSY 1968 (120); JONES y Cols. 1966 (143); JUNQUEIRA y Cols. 1970 (145); KENEMANS y cols. 1981 (149); KULLA-MIKKONEM 1986 a (155) - 1986 b (156) - 1987 (157); KULLA- MIKKONEM y SORVARI 1985 (158) - 1986 (159); LINSS 1969 (171); LOWE y McLEOD 1975 (178); LUSE y KREJSA 1969 (180); MERRILEES 1974 (209); NAIR y SCHRÖEDER 1981 (216); OLSON y FROMM 1973 (222); REICHART y Cols. 1984 (238); SCHILWA 1975 (254); SPERRY y WASSERSUG 1976 (270); WASSERSUG y JOHNSON 1976 (294); WELLINGS y Cols. 1967 (297); WHITEAR 1970 (300) 1990 (301) y YAMADA 1968 (304).

Por otra parte se han postulado diferentes clasificaciones de las células superficiales de la mucosa oral atendiendo a dichos criterios y al estado de diferenciación de la línea queratinocítica (KULLA-MIKKONEM (157), NAIR y SCHRÖEDER (216) , SPERRY y WASSERSUG (270) y TAKAGY y Cols.(281)). A nuestro juicio la clasificación propuesta por TAKAGY y KULLA-MIKKONEM que establece cinco patrones superficiales atendiendo a cinco tipos diferentes de marcadores morfológicos constituye la base de cualquier investigación en este campo.

En relación con lo anteriormente expuesto es importante reseñar que con los datos aportados con microscopía electrónica de barrido por los distintos autores, se han realizado , generalizaciones aplicables a toda la mucosa oral. A nuestro juicio dichas generalizaciones deben revisarse para cada región topográfica concreta pues la mayor parte de los datos proceden de la mucosa alveolar y de la superficie lingual (KULLA-MIKKONEM 1986 a (155) - 1986 b (156) - 1987 (157), KULLA-MIKKONEM y SORVARI 1985 (158) - 1986 (159), REICHART y Cols. 1984 (238) y TAKAGI y Cols. 1976 (281)). En relación con las distintas regiones topográficas del periodonto no existen



trabajos específicos que postulen para las mismas patrones superficiales característicos, existiendo tan solo propuestas derivadas de la aplicación de criterios generales SCHRÖEDER 1986 (255) - 1987 (256).

La microscopía electrónica de barrido, además de establecer patrones superficiales microscópicos, ha permitido cumplir, en general, dos grandes objetivos en la investigación oral.

Se trata del análisis de grandes extensiones de superficie, fenómeno este imposible lograr con microscopía óptica o microscopía electrónica de transmisión. Dicho análisis permite evaluar la extensión tridimensional de los patrones ortotípicos y sobre todo de los procesos patológicos ARVIDSON y cols. (13), JUNGELL y cols. (144), KAQUELER y cols. (146), KULLA-MIKKONEM (157) y ROBERSTON cols. (241). La microscopía electrónica de barrido permite asimismo evaluar topográficamente la relación con los microorganismos de dichas regiones. Ello puede constituir un capítulo de especial importancia en el estudio de la génesis de las distintas lesiones bucales ( APPLETON y HEANEY 1977 (12); AUFDEMORTE y CAMERON 1981 (14); BRADY y Cols. 1975 (45); CLOSSET y Cols. 1985 (70); DOUROV y COREMANS 1980 (81); DOVROV y Cols.



1981 (82); GARANDINA y Cols. 1984 (100); HOWLETT 1976 (126); KARRIG y LÖE 1970 (147); KULLA-MIKKONEM 1986a (155) - 1986b (156); KULLA-MIKKONEM y SORVARI 1985 (158) 1986 (159); MALCOM y HUGHES 1980 (184); MERREL y Cols. 1984 (208); SAGLIE y Cols. 1982 (248)).

El sistema de renovación de las poblaciones epiteliales ha constituido un capítulo fundamental de investigación en los últimos años. A este respecto, se han postulado distintos mecanismos de renovación y distintos modelos que permiten, en el momento presente, comprobar con mas claridad los problemas de descamación y sustitución celular. (ALLEN y POTTEN 1974 (4); CHRISTOPHERS y Cols. 1974 (64); HUME 1983 (128); LAVKER y SUN 1983 (165); MACKENZIE 1975 (182); MENTON 1976 (207); MORRIS y HOPEWELL 1990 (213); POTTEN 1974 (233) y POTTEN y HENDRY 1973 (234).

Resulta evidente, que la incidencia de los mecanismos de renovación epitelial en las distintas regiones de la mucosa oral, y en el periodonto de protección pueden configurar patrones superficiales diferentes evidenciables con microscopía electrónica de barrido.

Tras las consideraciones arriba indicadas resulta evidente que el epitelio periodontal de protección constituye un objetivo esencial para la investigación en este campo. Ello es debido básicamente a que ofrece diferencias topográficas muy concretas - epitelio de la encía libre, epitelio de la encía adherida, epitelio del surco y epitelio de unión -, que no han sido, en general, objeto de investigación específica de los patrones superficiales con microscopía electrónica de barrido. En segundo lugar el epitelio periodontal de protección constituye como su denominación indica un mecanismo de protección de las estructuras subyacentes ofreciendo por ello una especial relación con los microorganismos y por tanto con la génesis de la enfermedad periodontal. En tercer lugar el epitelio periodontal de protección constituye una población epitelial de la que en gran medida desconocemos los mecanismos de renovación y por tanto las bases biológicas que pueden justificar o no determinados procesos terapéuticos.

La microscopía electrónica de barrido, que permite como hemos indicado previamente estudiar amplias superficies, puede constituir por tanto un método sumamente adecuado para establecer los patrones ortotípicos superficiales de dicha región y evaluar en relación con los



mismos las interrelaciones con los agentes microbianos y los sistemas de renovación epitelial.

El objetivo por tanto de la presente tesis doctoral es sistematizar los patrones superficiales de cada una de las áreas del epitelio periodontal de protección en material humano y hacerlo además en las dos regiones anterior y posterior de la cavidad bucal que como es sabido ofrecen en ocasiones una patología topográfica específica ( BASCONES 1989 (19); LINDHE 1986 (169); LUCAS 1988 (179); MANSON 1989 (187) y PINDBÖRG 1986 (230)).

Para ello, en la presente tesis doctoral, describiremos en primer lugar el material y los métodos utilizados. Con posterioridad, describiremos los resultados, sistematizando los patrones microscópicos, y así mismo expondremos los resultados del análisis cuantitativo realizado. Finalmente tras la discusión de los resultados microscópicos y cuantitativos a la luz de la escasa bibliografía que existe en relación con el objetivo que nos ocupa, elaboraremos las conclusiones.



I.- MATERIAL Y METODOS.

I.I. MATERIAL.



Para el estudio microscópico del periodonto de protección en sus distintas regiones topográficas así como para llevar a cabo el estudio cuantitativo de los elementos celulares que integran su superficie hemos utilizado material humano procedente de 32 sujetos de edades comprendidas entre los 22 y 64 años. La extracción de los especímenes periodontales se realizó en dichos sujetos con carácter voluntario en el Servicio de Estomatología del Hospital Clínico Universitario San Cecilio de Granada, y en el Servicio de Periodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Granada.

Los especímenes corresponden a regiones clínicamente ortotípicas, anteriores o posteriores, del periodonto de protección. La región anterior está constituida por el periodonto perteneciente a los incisivos y caninos alcanzando hasta la papila interdientaria entre canino y primer premolar.



La región posterior está constituida por el periodonto perteneciente a los premolares y molares (LINDHE (169), RAMFJÖRD y Cols. (236) y RATEITSCHAK y Cols 1991 (237)).

Los especímenes pertenecientes a las distintas regiones comprenden los distintos tipos de epitelio periodontal de protección: epitelio de la encía libre, epitelio de la encía adherida, epitelio del surco y epitelio de unión.

En la tabla I se especifican las características de los sujetos que componen nuestra casuística.

Los sujetos estudiados no padecían ninguna patología bucodental significativa en relación con el periodonto de protección.

En la tabla II se especifican los sujetos sometidos a estudios morfométrico-cuantitativo de acuerdo con los criterios que se establecen en el apartado metodológico consiguiente.

TABLA I

CASO	SIGLAS	SEXO	EDAD	REGION
1	J.G.M.	H	30	ANTERIOR
2	F.C.R.	H	35	ANTERIOR
3	C.G.P.	M	29	POSTERIOR
4	D.L.L.	H	48	ANTERIOR
5	C.D.M.	M	24	POSTERIOR
6	E.P.R.	M	61	POSTERIOR
7	S.R.C.	H	62	ANTERIOR
8	P.F.G.	M	28	POSTERIOR
9	A.G.E.	H	42	ANTERIOR
10	J.J.J.	H	22	POSTERIOR
11	A.V.B.	H	26	ANTERIOR
12	C.I.O.	M	27	POSTERIOR
13	A.P.M.	H	63	ANTERIOR
14	J.S.T.	H	41	POSTERIOR
15	N.M.R.	M	44	POSTERIOR
16	A.P.M.	M	70	POSTERIOR
17	M.P.L.	M	58	ANTERIOR
18	A.G.S.	H	28	POSTERIOR
19	J.J.S.	H	23	POSTERIOR
20	M.G.M.	M	36	ANTERIOR
21	C.Z.R.	M	24	POSTERIOR
22	M.C.R.	H	27	POSTERIOR
23	C.B.M.	M	34	POSTERIOR
24	J.B.R.	H	22	POSTERIOR
25	C.G.V.	M	23	ANTERIOR
26	E.F.Q.	H	45	ANTERIOR
27	A.M.P.	M	34	POSTERIOR
28	J.C.M.	H	29	ANTERIOR
29	E.P.G.	M	25	ANTERIOR
30	S.R.M.	H	52	POSTERIOR
31	M.G.G.	H	26	ANTERIOR
32	S.L.Q.	H	38	ANTERIOR



TABLA II

<i>CASO</i>	<i>SIGLAS</i>	<i>SEXO</i>	<i>EDAD</i>	<i>REGION</i>
12	C.I.O.	M	27	POSTERIOR
15	N.M.R.	M	44	POSTERIOR
19	J.J.S.	H	23	POSTERIOR
20	M.G.M.	M	36	ANTERIOR
23	C.B.M.	M	34	POSTERIOR
26	E.F.Q.	H	45	ANTERIOR
29	E.P.G.	M	25	ANTERIOR
30	S.R.M.	H	52	POSTERIOR
31	M.G.G.	H	26	ANTERIOR
32	S.L.Q.	H	38	ANTERIOR



I.II.-METODOS

## **1.- METODO QUIRURGICO.**

Para la obtención de las muestras del periodonto de protección, objeto del presente estudio, hemos desarrollado la siguiente pauta:

### **1.1.- Anestesia del sujeto.**

Situamos a los sujetos sentados en un sillón para tratamientos odontoestomatológicos. Realizamos anestesia local periapical para la extracción de las muestras correspondientes a las regiones anterior y posterior del maxilar superior y anterior mandibular; y troncular mandibular de los nervios dentario inferior, lingual y bucal largo para la



obtención de las muestras de la zona posterior mandibular DONADO (80) y SALAGARAY y SALAGARAY (249) . Los anestésicos locales utilizados son Arttricaína (Ultracaín) con 0.5 mgr.% de epinefrina en ampollas cilíndricas para anestesia dental de 1.8 ml.; o clorohidrato de Mepivacaína (Scandinibsa) al 3 % - 30 mgr. por ml.-, en ampollas cilíndricas de 1.8 ml. para anestesia dental. La dosis anestésica empleada, oscila entre 0.6 y 1.2 ml. de uno u otro anestésico. Para la infiltración anestésica de la región anterior hemos usado agujas cortas de 25 mm. y en la región posterior agujas largas de 35 mm.

#### 1.2.- Obtención del material.

Una vez realizada la anestesia local del sujeto, procedemos a tomar la muestra de periodonto de protección de la zona. Para ello hacemos una biopsia por escisión de una papila o del vestíbulo de la mucosa gingival (CABRINI (52) y FEE.(85)). La técnica utilizada es la siguiente: realizamos una incisión horizontal a unos 3 mm. del borde libre de la encía; separamos la muestra del resto de la mucosa oral con unas tijeras de corte curvo y tomamos la muestra con unas pinzas sin diente: aplicando una presión suave.



## 2.- METODO DE ESTUDIO PARA MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO.

### 2.1.- Lavado y limpieza del material.

La pieza obtenida en la biopsia, se introduce en una solución tamponada (buffer fosfato), y se procede al lavado de la misma con una jeringa estéril de 5 cc., realizando 4 lavados, con lo que conseguimos la eliminación de la casi totalidad de los restos hemáticos.

Una vez terminado este primer proceso de lavado, introducimos la muestra en una solución de colagenasa (Merck) al 0.3 % durante treinta minutos, con lo que obtenemos un espécimen libre de restos alimenticios, salivares, proteicos y hemáticos, que facilitará la posterior observación de las muestras.

## 2.2.- Fijación.

El material de estudio fue fijado utilizando la técnica de inmersión. La solución fijadora utilizada fue glutaraldehído al 2,5 % en tampón fosfato (buffer fosfato), con un pH 7,4 y a una temperatura de 4°C. Las muestras permanecieron en solución fijadora durante 6 horas.

El fijador se prepara partiendo de las siguientes soluciones:

### Solución A:

Fosfato potásico monobásico .....	0,1 M - 13,609gr
Agua bidestilada .....	c.s.p. 1000 cc

### Solución B:

Fosfato sódico dibásico dihidratado .....	17,779 gr
Agua bidestilada .....	c.s.p. 1000 cc



La preparación de la solución amortiguadora se realiza de la siguiente manera:

**Mezclar:**

Solución A .....	160 cc.
Solución B .....	840 cc.

Para obtener la solución fijadora, debemos realizar la siguiente mezcla:

Glutaraldehído comercial (25%) .....	100 cc.
Solución amortiguadora .....	900 cc.

**2.3.- Lavado.**

Tras las 6 horas de fijación inicial en glutaraldehído al 2,5 %, realizamos tres lavados en tampón fosfato (buffer fosfato), de idénticas características al arriba descrito, durante 10 minutos cada uno, para eliminar el fijador (Glutaraldehído al 2,5 %) utilizado previamente.

#### 2.4.- Postfijación.

Tras ello, hemos empleado como postfijador tetróxido de Osmio al 2 % en tampón fosfato, preparado de la forma siguiente:

Tetróxido de Osmio ..... 1 gr.  
Buffer fosfato ..... c.s.p. 50 cc.

La solución debe ser preparada 24 horas antes de su empleo para que exista una completa disolución del tetróxido de Osmio. Los especímenes permanecieron durante 30 minutos en la solución, procediendo después a su lavado en tampón fosfato (buffer fosfato) mediante 3 pases de 10 minutos cada uno, para eliminar los restos del fijador.



## 2.5.- Deshidratación

Las muestras se deshidrataron usando soluciones crecientes de acetona con las pauta siguiente:

Acetona 30 % .....	30 minutos
Acetona 50 % .....	30 minutos
Acetona 70 % .....	30 minutos
Acetona 90 % .....	30 minutos
Acetona 95 % .....	30 minutos
Acetona 100 % .....	30 minutos
Acetona Anhidra .....	30 minutos
Acetato de Amilo .....	30 minutos

## 2.6.- Punto Crítico.

Esta técnica pretende conseguir la desecación absoluta de los especímenes, conservando la organización morfoarquitectural de los mismos. Las variaciones introducidas al respecto han sido numerosas BOYDE (38) (40) (41) y BOYDE y TAMARIN (42).

Nuestro material ha sido procesado utilizando el método de ANDERSON (7) revisado por BOYDE (41) que evita casi por completo los efectos de la tensión superficial. Con esta técnica se sustituye el líquido presente en las células por dióxido de carbono líquido, el proceso se realiza del siguiente modo:

Las piezas son introducidas en unas rejillas metálicas y depositadas en la cámara de Punto Crítico. Posteriormente se hace pasar a la cámara de alto vacío, dióxido de carbono líquido, que se mantiene en ella durante uno a dos minutos. Esta maniobra se realiza varias veces hasta que el olor a acetato de amilo es inapreciable por la válvula de expulsión. En una segunda fase se introduce de nuevo dióxido de carbono líquido y se eleva la temperatura a  $350^{\circ}\text{C}$ , con lo cual el dióxido de carbono líquido se transforma en gas sin pasar por una fase límite. Simultáneamente la presión se eleva hasta 80 bar, se libera el gas muy lentamente y se retira la muestra.

Este proceso se realizó en un aparato de punto crítico POLARON E 3100.



## 2.7.- Montaje.

Tras la conclusión del proceso de Punto Crítico, procedemos al montaje de las muestras, realizado bajo lupa amplificante marca WEISS que permite visualizar con mayor resolución la morfología de los distintos especímenes, permitiendo la correcta orientación de los mismos.

Las preparaciones son colocadas sobre portamuestras de aluminio para microscopía electrónica de barrido de 1/8 de pulgada de eje y 1/2 pulgada de diámetro, usando como adherente y conductor plata coloidal, teniendo la precaución de dejar secar la sustancia adherente para que la plata coloidal no invada la superficie del espécimen a examinar.

## 2.8.- Recubrimiento.

Una vez montadas las muestras procedemos al recubrimiento de las mismas; este proceso tiene por objeto asegurar la conductividad eléctrica desde la superficie de la muestra hasta el soporte y obtener así una superficie que pueda emitir un gran número de electrones secundarios mediante el bombardeo de un haz de electrones primarios.

Desde las experiencias de JAQUES, COALSON y ZERVINS (133), en las que realizaban los revestimientos metálicos mediante la inmersión simple de las piezas en una solución alcohólica saturada de oro y secada al aire, este punto ha sido muy discutido. Aunque en la actualidad el método más utilizado es el de evaporación en vacío, no obstante, siguen siendo varias las pautas que los distintos autores marcan al respecto, unos están a favor del recubrimiento simple con oro, otros del recubrimiento simple con carbón y otros están a favor del doble recubrimiento con oro y carbón. En términos generales parece ser que el doble recubrimiento con oro y carbón permite obtener piezas de gran calidad, no siendo grande la diferencia con las muestras en las que se realiza sólo el recubrimiento con oro. Por todo ello y al igual que la mayoría de los autores hemos utilizado el recubrimiento simple con oro.



El proceso de recubrimiento se realizó en alto vacío, evaporándose el oro por debajo de los  $5 \times 10^{-5}$  Torr. enrarecido con Argón usando para ello un Sputtering POLARON modelo E-5000.

### **2.9.- Observación de las muestras.**

Los especímenes son observados con un microscopio electrónico de barrido, marca Philips, modelo 505, utilizando un voltaje de 20Kv. Las microfotografías han sido realizadas sobre película Polaroid 52 Instant.

### **3.-METODO DE ESTUDIO MORFOMETRICO -CUANTITATIVO CON MICROSCOPIO ELECTRONICO DE BARRIDO.**

El estudio morfométrico se realizó en 40 especímenes procedentes de 10 sujetos. Se trata de sujetos en los que las técnicas de estudio han permitido describir microscópicamente en el mismo sujeto los 4 tejidos

epiteliales del periodonto de protección: el epitelio de la encía libre, el epitelio de la encía adherida, el epitelio de unión y el epitelio del surco. Para el análisis morfométrico de los distintos patrones superficiales con microscopía electrónica de barrido se han seleccionado 25 células en cada una de las cuatro regiones. Ello supone un conjunto de 100 células en cada sujeto, y un total de 1000 células. Es importante señalar que los especímenes de cinco sujetos corresponden a periodonto de protección anterior y los especímenes de los otros cinco a periodonto de la región posterior.

Para el estudio cuantitativo de las células de cada epitelio hemos utilizado, como indicamos en la introducción de la presente tesis doctoral, la clasificación propuesta por TAKAGI y KULLAMIKKONEN. Cuando coexisten dos marcadores superficiales en la misma célula, tipificamos a dicha célula de acuerdo con aquel marcador que supere las 3/5 partes de su superficie.

El aumento utilizado para realizar el estudio morfométrico fue de 1200 a 4000 registrándose los datos en el modelo impreso que se adjunta (Fig. 1). Para el estudio de la distribución topográfica se utilizó el impreso que se indica en la Fig. 2.



CASO Nº :

REGION :

TC	I	II	III	IV	V
TE					
E.E.L.					
E.E.A.					
E.S.					
E.U.					

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial

Fig. 1

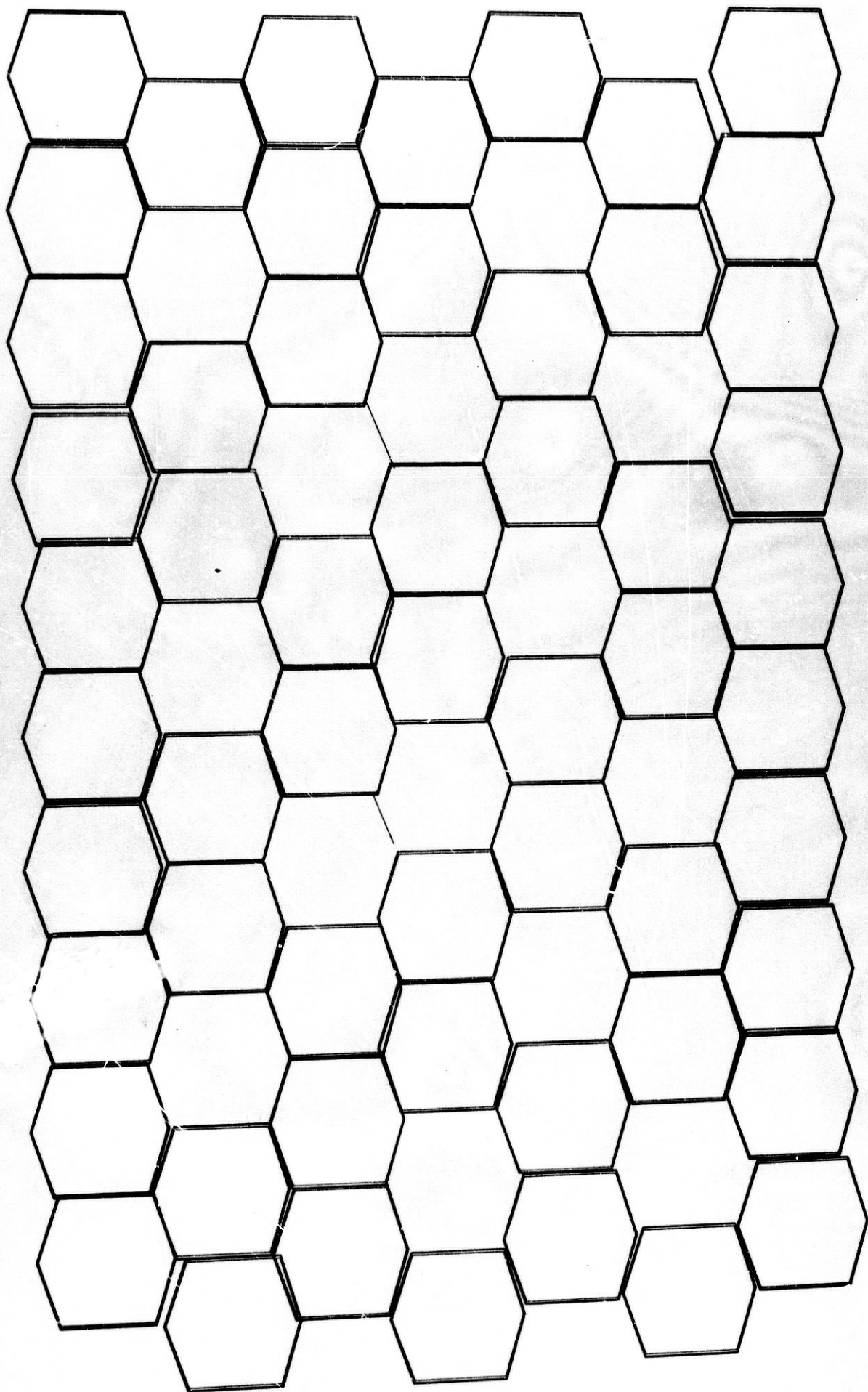


Fig. 2.



Los datos obtenidos fueron sometidos al proceso estadístico que a continuación describimos.

#### 4.- METODO ESTADISTICO.

El análisis estadístico tiene por objeto relacionar los factores región (en dos niveles anterior y posterior) y epitelio del periodonto de protección (con cuatro niveles epitelio de la encía libre -E.E.L.-, epitelio de la encía adherida -E.E.A.-, epitelio del surco -E.S.- y epitelio de unión -E.U.-), con los cinco tipos celulares existentes a dicho nivel en los individuos estudiados.

Para ello se realiza el análisis de un diseño de cuat. res, de los cuales tres son de efectos fijos y el restante de efectos aleatorios. Los factores de efectos fijos serían: la región (en sus niveles anterior y posterior); el epitelio del periodonto de protección (con sus cuatro niveles E.E.L., E.E.A., E.S. y E.U.) y el tipo de patrón celular (con cinco

niveles I, II, III, IV y V). Por el contrario el factor de efectos aleatorios sería el factor individuo que tiene cinco niveles (es decir cinco individuos en . que se estudia la región anterior y otros cinco en los que se estudia la región posterior ).

Los análisis, al ser las variables valores enteros y aparecer en algunos casos valores cero, se realizarán con la raíz cuadrada de los datos incrementados en una unidad con objeto de hacer homogéneas las varianzas de las muestras.

Al dar significativas las interacciones hubo que pasar a realizar las comparaciones por parejas; para ello se utilizó el método de Newmann-Keuls con la penalización de Tukey (MARTIN y LUNA (191), MARTIN y Cols.(192) y TUKEY (286) ).



## II.-RESULTADOS

Para realizar la descripción de nuestros resultados de acuerdo con la metodología previamente indicada, expondremos en primer lugar las características microscópicas de los distintos tipos celulares que hemos observado en los diferentes epitelios del periodonto de protección; describiremos, en segundo lugar, los morfotipos microbianos localizados a dicho nivel y las características microscópicas más significativas que presenta la asociación entre los tipos celulares, esto es la distribución topográfica de dichas células en el epitelio periodontal. Por último describiremos los resultados estadísticos relativos a la cuantificación de dichos elementos en cada uno de los tipos epiteliales del periodonto que hemos estudiado.



## **1.- MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO DE LOS PATRONES CELULARES SUPERFICIALES DEL EPITELIO PERIODONTAL.**

Nuestros resultados que tienen por base la clasificación propuesta por TAKAGI y KULLA-MIKKONEM permiten comprobar que en los cuatro tipos de epitelios que forman el periodonto de protección (E.E.L., E.E.A., E.S. y E.U.) pueden identificarse con microscopía electrónica de barrido los cinco tipos o patrones celulares propuestos por dichos autores.

Las características microscópicas que hemos observado son las siguientes:

### **1.1.- Patrón celular tipo I.**

El queratinocito epitelial tipo I se caracteriza con microscopía electrónica de barrido por presentar microvilli como marcador de diferenciación superficial.

Los microvilli constituyen protusiones cilíndricas de longitud y anchura regular que alcanzan una altura máxima de  $1\mu$ . Las células con patrones tipo I ofrecen en nuestro material una distribución variable de los mismos. En algunas células dichos microvilli aparecen dispersos con áreas extensas de superficie lisa intermicrovellositaria (Fig. 4). Por el contrario en otros queratinocitos los microvilli son muy abundantes y ocupan la práctica totalidad de la superficie celular (Fig. 3-18-25-26). El patrón celular tipo I ofrece en consecuencia un grado variable en la distribución de los microvilli.

Las células con patrones tipo microvilli están relacionadas en su periferia con el resto de los tipos celulares si bien no es infrecuente observar las mismas generalmente cubiertas por células de distinto tipo de patrón superficial (Fig. 13 y Fig.15).

### **1.2.- Patrón celular tipo II.**

El queratinocito epitelial tipo II se caracteriza por presentar microplicas rectas como marcador de diferenciación superficial.



Las microplicas son crestas superficiales originadas por pliegues de membrana (Fig 6) que ofrecen una anchura de  $0,1 \mu$ , una altura promedio de  $0,3 \mu$  y una longitud variable de curso básicamente rectilíneo. En nuestro material y en la mayoría de las células las microplicas se distribuyen irregularmente paralelas sobre la superficie celular y ocupan , en general, toda la extensión de la misma (Fig. 5). El espacio de membrana existente entre las microplicas rectas no suele alcanzar  $1 \mu$  de diámetro.

En algunas células se observan patrones mixtos de transición entre los tipos I/II y II/III (Figs. 6-14). De forma excepcional hemos observado patrones de transición II/IV.

### 1.3.- Patrón celular tipo III.

El queratinocito epitelial tipo III se caracteriza con microscopía electrónica de barrido por presentar microplicas curvas como marcador de diferenciación superficial.

Las microplicas curvas son crestas de idénticas peculiaridades a las descritas en el patrón tipo II si bien morfológicamente ofrecen un patrón curvilíneo en su configuración estructural, básicamente en los extremos terminales de las mismas (Fig. 7). Existe una disposición paralela sumamente irregular originando, en general, un patrón en huella sumamente característico (Fig. 8).

En nuestro material hemos observado células con patrones mixtos de transición II/III y III/IV (Fig. 8-14-16-17-22).

#### **1.4.- Patrón tipo IV.**

El queratinocito epitelial tipo IV se caracteriza con microscopía electrónica de barrido por presentar microplicas ramificadas como marcador de diferenciación superficial.

Las microplicas ramificadas son crestas de idéntica naturaleza a la descrita con anterioridad en el patrón tipo II. En el caso que nos ocupa



la cresta no ofrece carácter rectilíneo de ningún género y muestra una disposición circular ramificada y confluyente que configura un patrón reticular característico (Fig. 9). Dicho patrón reticular se distribuye en general en toda la superficie de la célula, aunque hemos comprobado así mismo patrones mixtos tipo III/IV y IV/V. Con carácter más excepcional vemos patrones de transición II/IV.

#### 1.5.- Patrón celular tipo V.

El queratinocito epitelial tipo V se caracteriza con microscopía electrónica de barrido por presentar un patrón poroso como marcador de diferenciación superficial.

Dichas células presentan en su superficie oquedades claramente definidas delimitadas por una moderada sobre-elevación marginal, las oquedades que presentan un diámetro variable no alcanzan en general un diámetro superior a  $1 \mu$ . En nuestro material existen en algunas células amplias zonas de superficie carentes de patrón poroso que pueden alcanzar un diámetro de  $2-3 \mu$  (Fig. 10). En otros elementos celulares se observa que el patrón poroso ocupa toda la superficie (Fig. 11-12).

En las muestras estudiadas, hemos observado así mismo patrones mixtos IV/V (Fig. 19) y muy excepcionalmente I/V.

## **2. MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO DE LOS MORFOTIPOS MICROBIANOS DEL EPITELIO PERIODONTAL.**

El estudio con microscopio electrónico de barrido de los distintos epitelios del periodonto pone de relieve la existencia de una población microbiana variable que se distribuye sin carácter preferente en ninguna de las variedades epiteliales y que está constituida por morfotipos de distinta naturaleza.

En nuestro material los morfotipos microbianos más frecuentes son los cocos que se distribuyen de forma aislada o en pequeños grupos (Fig. 9-20-21-22-23-24-25), los bacilos cortos y largos (Fig. 21-22-25-27) así como formas filamentosas (Fig. 27). No hemos observado formas fusiformes ni espiroquetales.



La distribución de los agentes microbianos se localiza, preferentemente en las células con patrón superficial tipo IV y V en relación con los orificios de los patrones reticular y poroso. Dicha localización es independiente del tipo de célula que configura la superficie. Las formas filamentosas suelen distribuirse en más de una superficie celular.

### **3. MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO DE LOS PATRONES SUPERFICIALES DE ASOCIACION CELULAR DEL EPITELIO PERIODONTAL.**

El estudio de los patrones superficiales de asociación celular en el epitelio periodontal permite comprobar en nuestro material la existencia periódica de los patrones incompletos de descamación.

El primero está constituido por unidades emparejadas alrededor de una célula central.

El segundo patrón de unidades situados alrededor así mismo de una célula central. Aunque las asociaciones no configuran patrones completos es posible comprobar en muchas ocasiones, la existencia de células con patrón superficial tipo microvilli, microplaca recta y microplaca curva rodeadas por parejas o tríos de células con patrón ramificado o poroso tal y como indica la Fig.( 13). Los modelos más frecuentes que pueden localizarse en nuestro material se esquematizan en la Fig.(28-29).

#### **4. RESULTADOS MORFOMETRICOS-CUANTITATIVOS.**

Los resultados obtenidos tras cuantificar los distintos tipos o patrones celulares en cada uno de los especímenes analizados siguiendo la metodología discutida en el capítulo correspondiente, se describen en las tablas (III-XII).



Fig. 3. Epiteio de la encía libre patrón tipo I. x 4780.

Fig.4. Epiteio de la encía adherida patrón tipo I predominante.  
x 2300.

Fig.5. Epiteio de la encía adherida patrón tipo II predominante,  
con algunos elementos tipo III. x 2300.

Fig. 6. Epiteio de la encía libre patrón tipo II predominante, y  
patrón mixto I-II. x 2500.



Fig 3



Fig 4



Fig 5

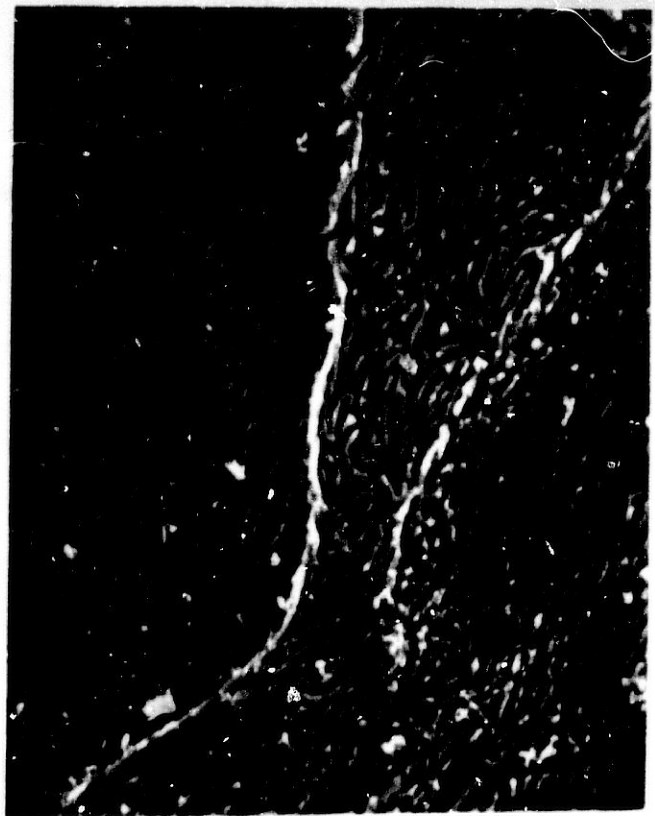


Fig 6



Fig. 7. Epiteio de la encía libre patrón tipo III. x 3937.

Fig. 8. Epiteio de la encía adherida patrón tipo III predominante y patrón IV. x 3380.

Fig. 9. Epiteio del surco patrón tipo IV predominante x 2280.

Fig. 10. Epiteio de la encía adherida patrón V predominante x 2200.



Fig 7



Fig 8

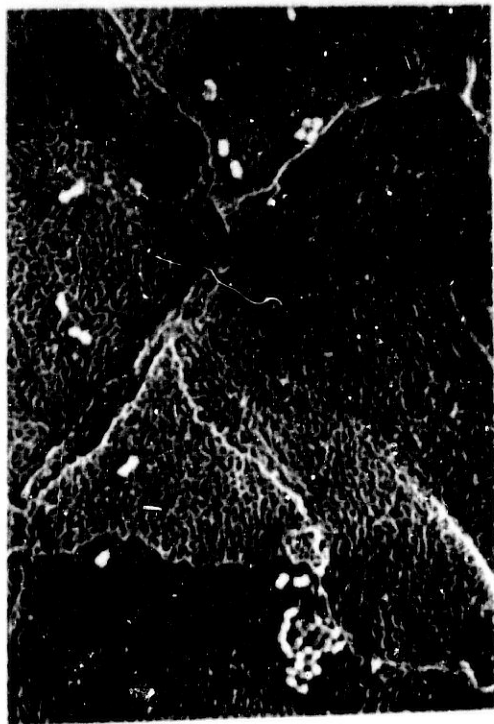


Fig 9



Fig 10



Fig. 11. Epitelio del surco patrón V predominante. x 2720.

Fig. 12. Epitelio de la encía libre patrón V predominante. x2620.

Fig. 13. Epitelio del surco célula de patrón tipo I rodeada por células de patrones más diferenciados. x 2620

Fig. 14. Epitelio de unión patrones mixtos de transición tipos I/II y II/III. x 2720



Fig 11



Fig 12

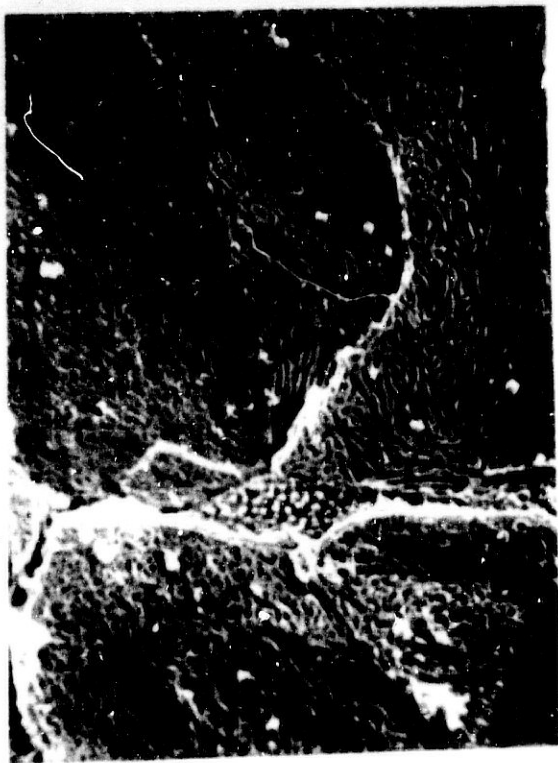


Fig 13

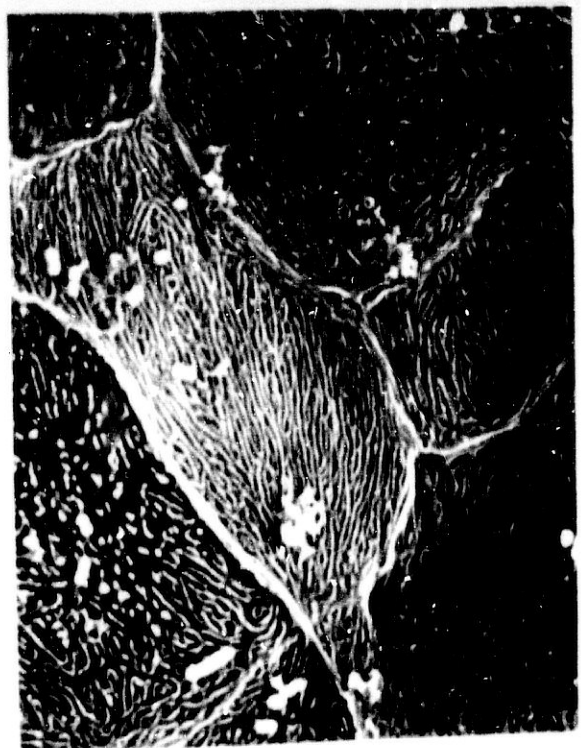


Fig 14



Fig. 15. Epitelio de unión célula con patón I cubierta por células con distintos patrones. x 3240.

Fig. 16. Epitelio del surco patrón mixto de transición III/IV. x 2000

Fig. 17. Epitelio de unión Patrón mixto de transición III/IV. x 2620.

Fig. 18. Epitelio del surco patrones I y IV. x 2620

Fig. 19. Epitelio del surco patrón mixto de transición IV/IV. x 2840.

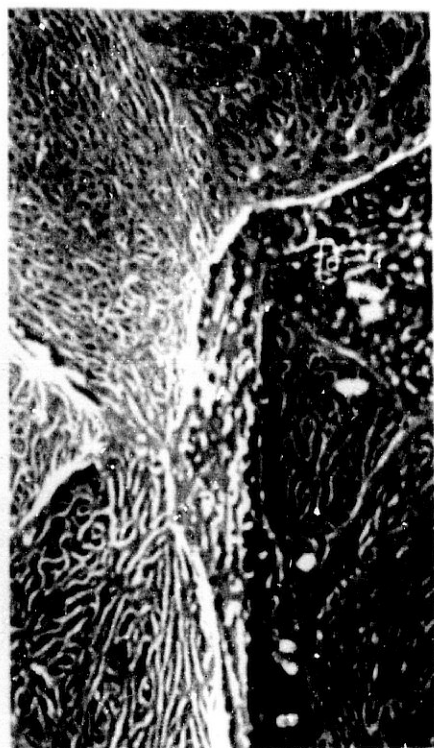


Fig 15

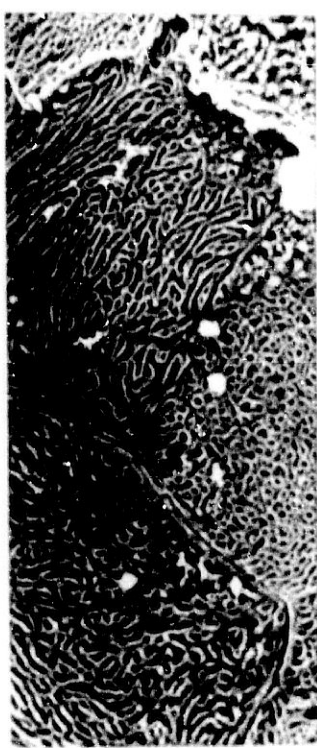


Fig 16



Fig 17



Fig 18

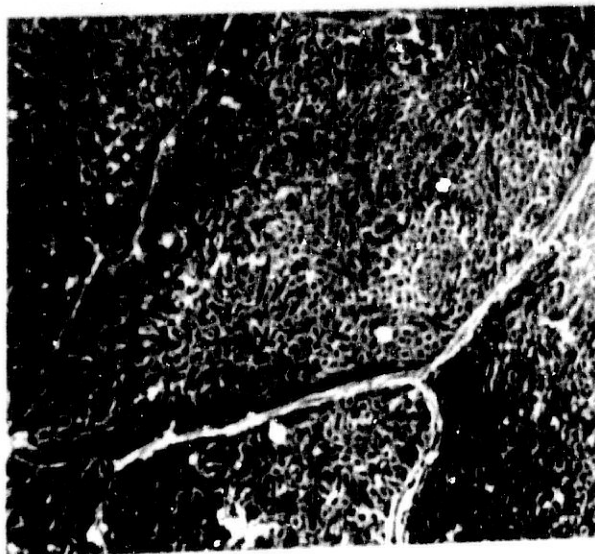


Fig 19



Fig. 20. Epitelio del surco morfotipos microbianos tipo coco aislados. x 2840.

Fig. 21. Epitelio de la encía libre morfotipos microbianos tipos coco y bacilo. x 2843.

Fig. 22. Epitelio de unión patrones mixtos de transición II/III y III/IV . x 2980.

Fig. 23. Epitelio de la encía libre morfotipos microbianos tipo cocos agrupados. x 1420.

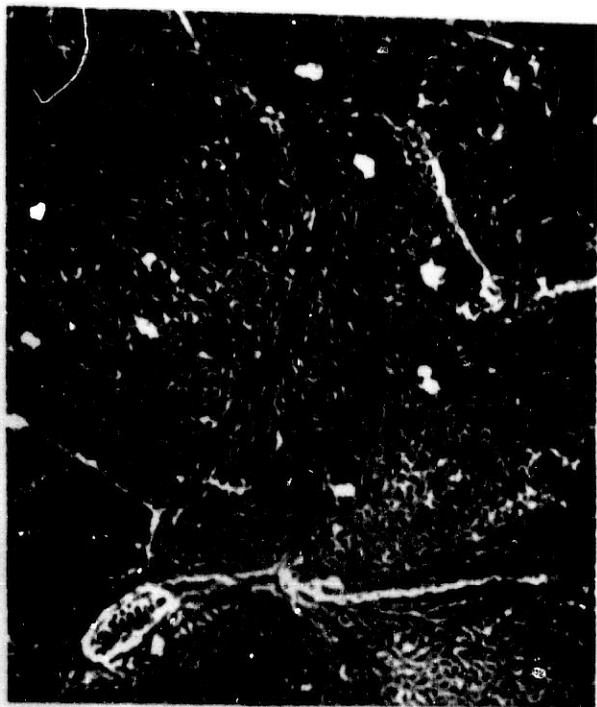


Fig 20

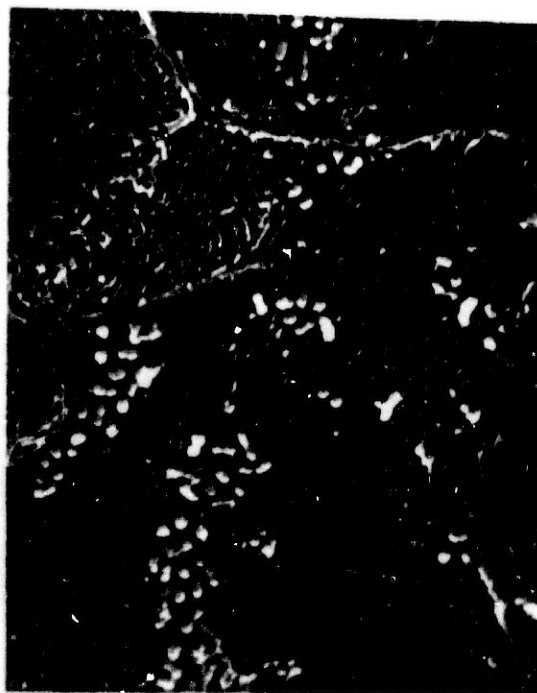


Fig 21



Fig 22



Fig 23



Fig.24. Epitelio de la encía adherida morfotipos microbianos tipo coco. x 1550.

Fig. 25. Epitelio de la encía libre patrón tipo I y morfotipos microbianos tipo coco y bacilo. x 2620.

Fig.26. Encía adherida patrón tipo I rodeado de otros patrones más diferenciados. x 3000.

Fig. 27. Epitelio de la encía libre morfotipo microbiano de forma filamentososa. x 3000 .

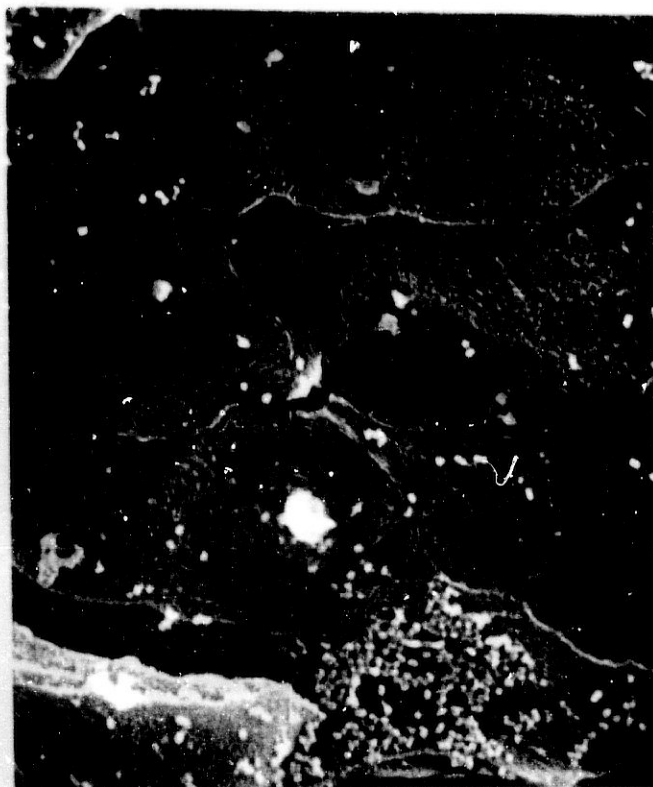


Fig 24



Fig 25



Fig 26

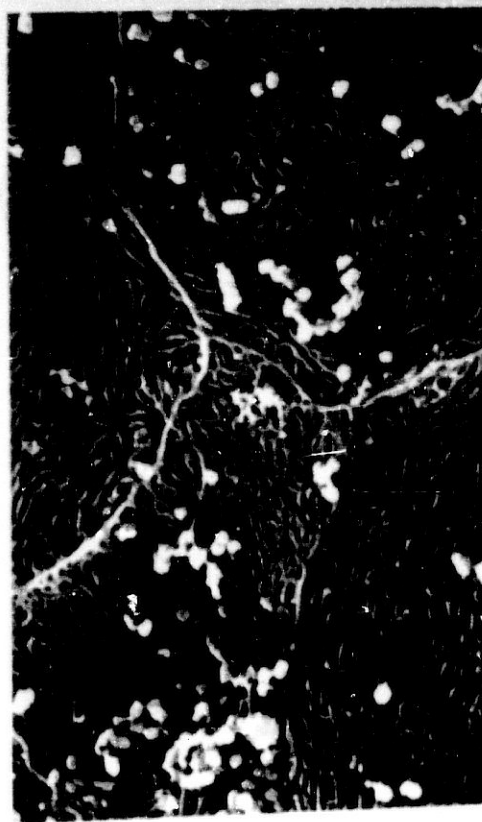


Fig 27



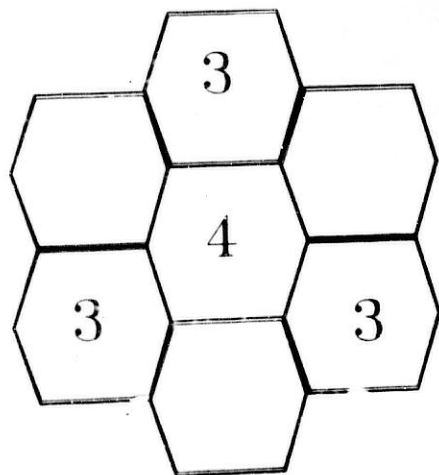
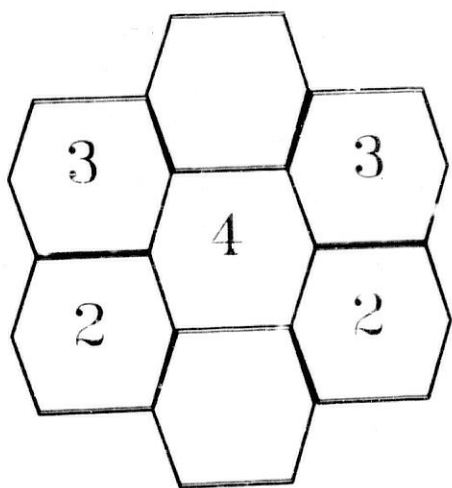
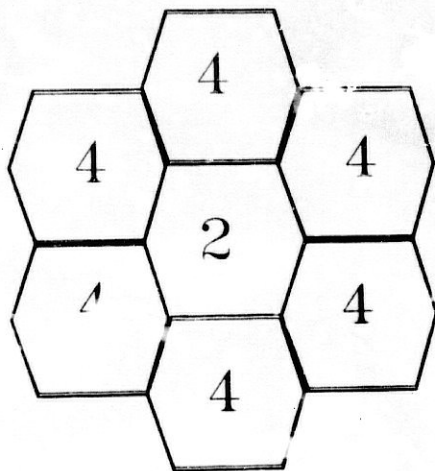
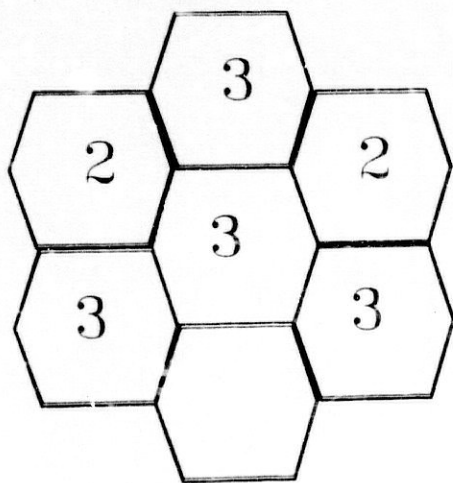
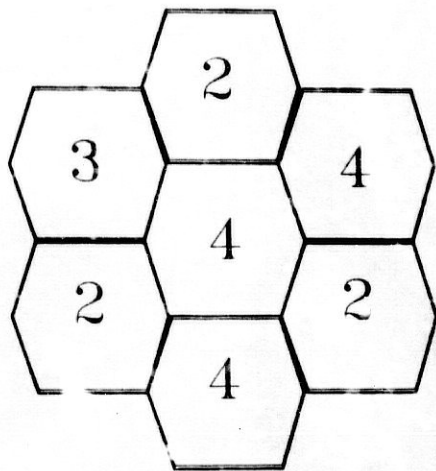
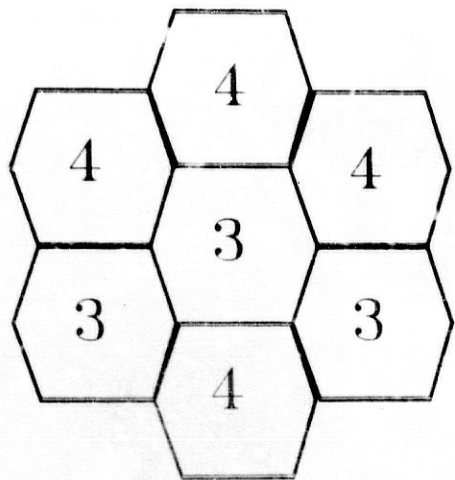


Fig. 28

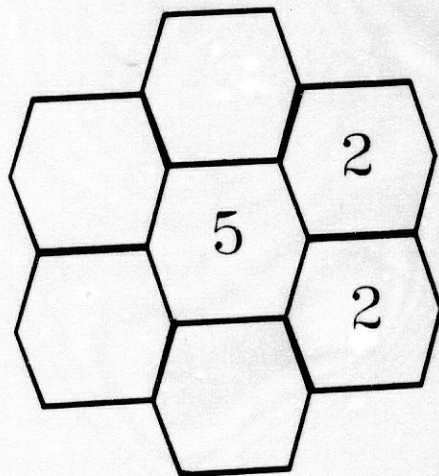
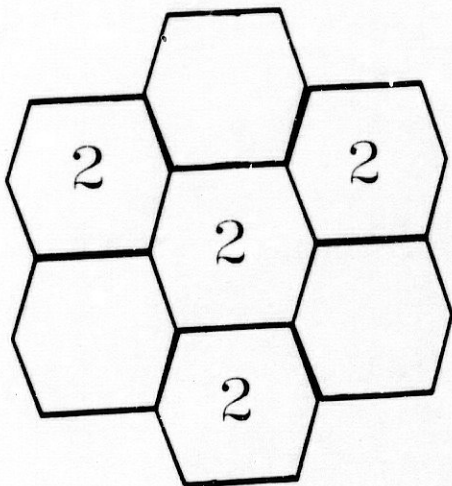
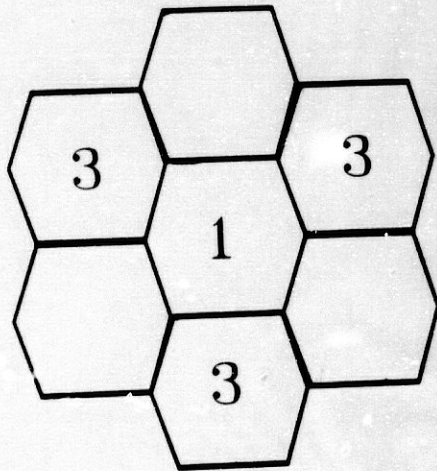
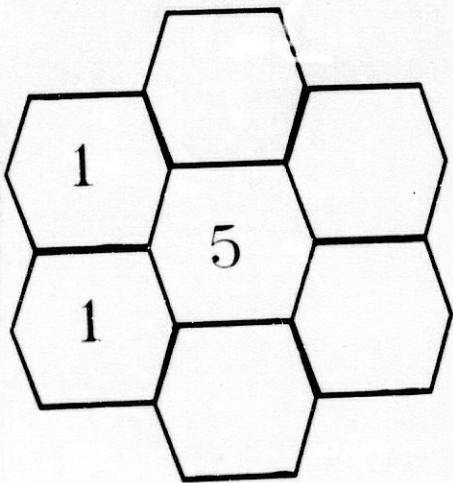
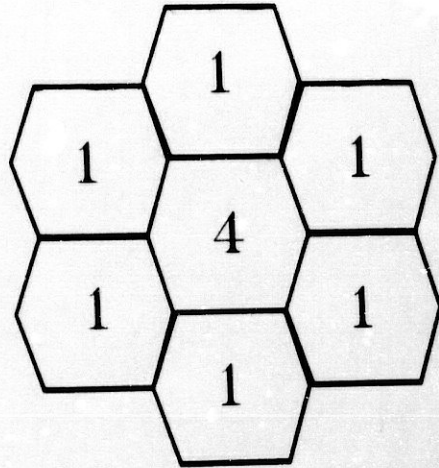
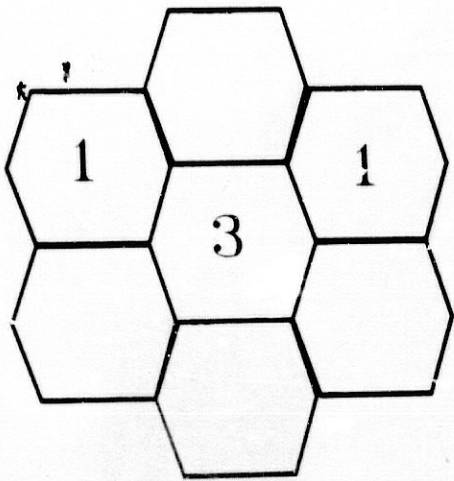


Fig. 29



En dichas tablas se especifica el caso, las regiones anteriores o posteriores así como el número de células existentes, de un determinado tipo (T.C.) que se observa en cada uno de los tipos epiteliales (T.E.) que componen el periodonto de protección.

## 5. RESULTADOS ESTADISTICOS.

Los datos expresados en el apartado anterior permiten alcanzar los valores medios en las regiones anterior y posterior que se expresan en las tablas XIII y XIV para los cinco patrones celulares y los cuatro tipos de epitelio periodontal. Cuya representación gráfica para cada tipo de epitelio periodontal aparece en las figuras (30) (31) (32) (33).

El análisis estadístico pone de relieve en las tablas XV y XVI la comparación tanto en las regiones anteriores como posteriores de los distintos patrones celulares en cada tipo epitelial expresando para cada tipo de comparación la significación estadística oportuna.

TABLA III

CASO Nº : 20

REGION : ANTERIOR

	I	II	III	IV	V
TC					
TE					
E.E.L.	—	1	6	17	1
E.E.A.	—	—	4	21	—
E.S.	—	—	2	23	—
E.U.	3	9	9	4	—

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial



TABLA IV

CASO N° : 26

REGION : ANTERIOR

	I	II	III	IV	V
TC					
TE					
E.E.L.	10	—	—	15	—
E.E.A.	4	—	—	21	—
E.S.	13	—	—	10	2
E.U.	5	—	4	16	—

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial

TABLA V

CASO N° : 29

REGION : ANTERIOR

TC	I	II	III	IV	V
TE					
E.E.L.	—	—	—	24	1
E.E.A.	—	—	—	24	1
E.S.	1	7	9	7	1
E.U.	—	2	1	7	15

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial



TABLA VI

CASO N° : 31

REGION : ANTERIOR

TC	I	II	III	IV	V
TE					
E.E.L.	1	—	3	21	—
E.E.A.	2	1	4	18	—
E.S.	—	—	3	22	—
E.U.	19	5	1	—	—

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial

TABLA VII

CASO N° : 32

REGION : ANTERIOR

TC	I	II	III	IV	V
TE	—	—	3	22	—
E.E.L.	—	—	3	22	—
E.E.A.	3	—	4	15	3
E.S.	17	1	1	1	5
E.U.	4	18	—	3	—

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial



TABLA VIII

CASO N° : 12

REGION : POSTERIOR

TC	I	II	III	IV	V
TE					
E.E.L.	—	2	10	13	—
E.E.A.	1	2	10	12	—
E.S.	5	6	6	8	—
E.U.	6	13	—	1	5

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial

TABLA IX

CASO N° : 15

REGION : POSTERIOR

TC	I	II	III	IV	V
TE					
E.E.L.	2	5	12	6	—
E.E.A.	3	1	16	5	—
E.S.	4	—	13	8	—
E.U.	21	4	—	—	—

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial



TABLA X

CASO N° : 19

REGION : POSTERIOR

TC	I	II	III	IV	V
TE					
E.E.L.	4	3	15	3	5
E.E.A.	—	9	10	6	—
E.S.	4	4	8	9	—
E.U.	11	—	11	3	—

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial

TABLA XI

CASO N° : 23

REGION : POSTERIOR

	I	II	III	IV	V
TC					
TE					
E.E.L.	4	1	10	10	—
E.E.A.	3	3	5	14	—
E.S.	13	1	—	11	—
E.U.	25	—	—	—	—

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial



TABLA XII

CASO N° : 30

REGION : POSTERIOR

TC	I	II	III	IV	V
TE	—	—	4	21	—
E.E.L.	—	—	4	3	14
E.E.A.	3	1	4	10	6
E.S.	3	—	6	2	—
E.U.	23	—	—	—	—

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial

TABLA XIII

MEDIAS REGION ANTERIOR

TC	I	II	III	IV	V
TE					
E.E.L.	2.2	0.2	2.4	19.8	0.4
E.E.A.	1.8	0.2	2.6	19.8	0.6
E.S.	6.2	1.6	3.0	12.6	1.6
E.U.	6.4	6.8	3.0	6.0	2.8

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial



TABLA XIV

MEDIAS REGION POSTERIOR

TC	I	II	III	IV	V
TE					
E.E.L.	2.0	2.2	10.2	10.6	0.0
E.E.A.	2.0	3.2	9.0	8.0	2.8
E.S.	5.8	2.2	6.6	9.2	1.2
E.U.	17.2	3.4	2.2	1.2	1.0

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial

TABLA XV

COMPARACION ENTRE TIPOS CELULARES EN CADA TIPO EPITELIAL

REGION ANTERIOR

TC COMPARADOS	TE	E.E.L.		E.E.A.		E.S.		E.U.	
		t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.
I - II		—	—	—	—	—	—	—	—
I - III		—	—	—	—	—	—	—	—
I - IV		5.46	P < 0.001	5.38	P < 0.001	2.89	P < 0.05	—	—
I - V		—	—	—	—	—	—	—	—
II - III		—	—	—	—	—	—	—	—
II - IV		6.30	P < 0.001	6.30	P < 0.001	3.64	P < 0.01	—	—
II - V		—	—	—	—	—	—	—	—
III - IV		5.12	P < 0.01	5.02	P < 0.01	—	—	—	—
III - V		—	—	—	—	—	—	—	—
IV - V		6.15	P < 0.001	6.3	P < 0.001	3.51	P < 0.01	—	—

TC = Tipo Celular  
 TE = Tipo Epitelial  
 t. exp = T. Experimental  
 g. l. = Grado de Libertad



TABLA XVI

COMPARACION ENTRE TIPOS CELULARES EN CADA TIPO EPITELIAL

REGION POSTERIOR

TC COMPARADOS	TE	E.E.L.		E.E.A.		E.S.		E.U.	
		t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.
I - II		—	—	—	—	—	—	4.30	P < 0.01
I - III		—	—	—	—	—	—	4.85	P < 0.01
I - IV		—	—	—	—	—	—	4.96	P < 0.01
I - V		—	—	—	—	—	—	5.22	P < 0.001
II - III		—	—	—	—	—	—	—	—
II - IV		—	—	—	—	—	—	—	—
II - V		—	—	—	—	—	—	—	—
III - IV		—	—	—	—	—	—	—	—
III - V		4.17	P < 0.01	2.75	P < 0.05	—	—	—	—
IV - V		4.15	P < 0.01	2.44	P < 0.05	3.38	P < 0.05	—	—

TC = Tipo Celular  
 TE = Tipo Epitelial  
 t. exp = T. Experimental  
 g. l. = Grado de Libertad



COMPARACION ENTRE LOS VALORES MEDIOS DEL N° DE CELULAS DE CADA PATRON EN EL E.E.L. DE LAS REGIONES ANTERIOR Y POSTERIOR

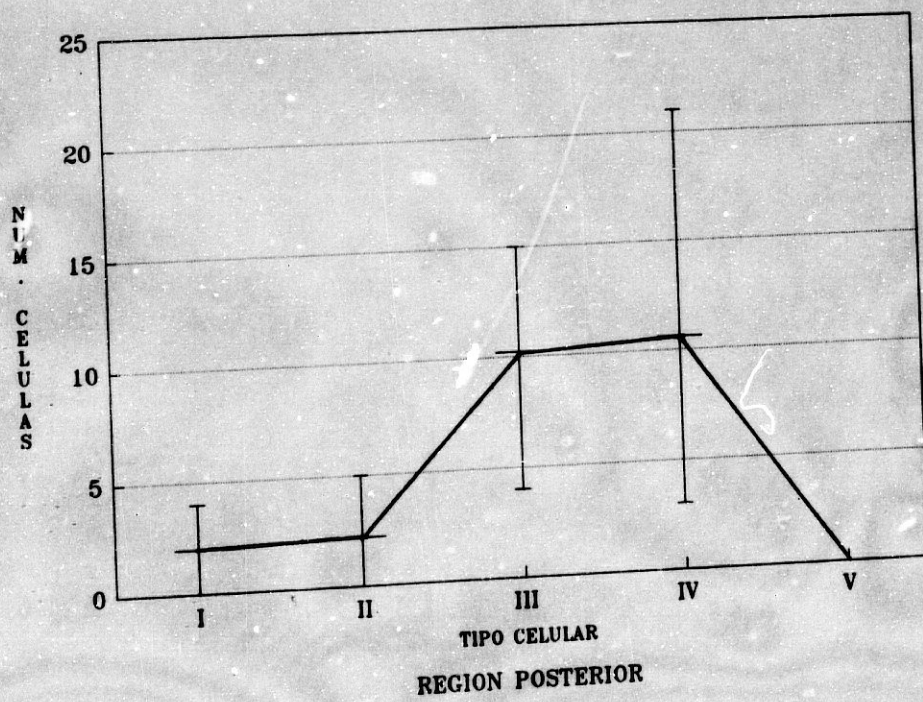
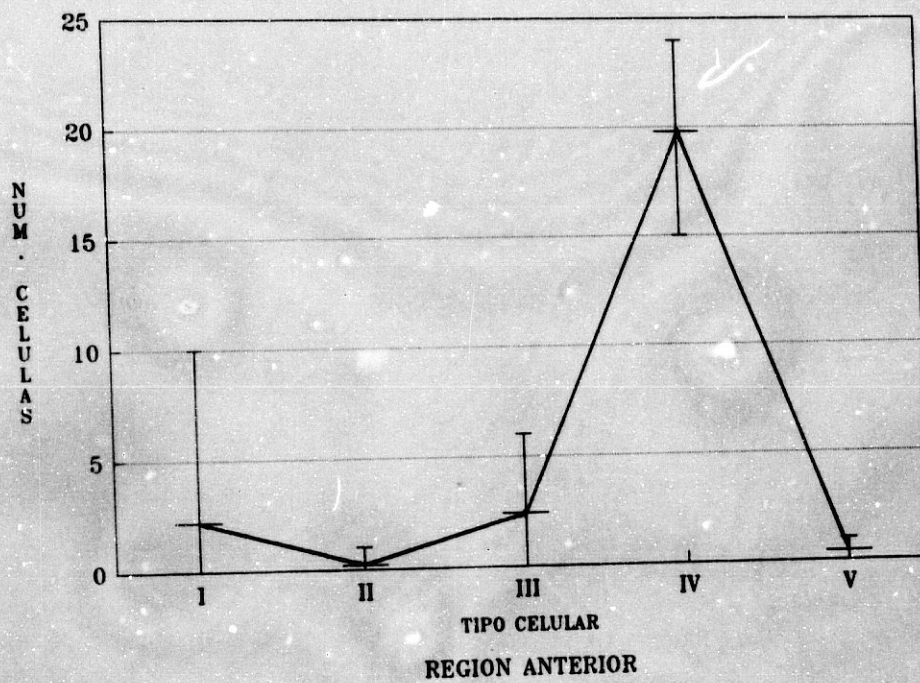


Fig. 30



COMPARACION ENTRE LOS VALORES MEDIOS DEL N° DE CELULAS DE CADA PATRON EN EL E.E.A. DE LAS REGIONES ANTERIOR Y POSTERIOR

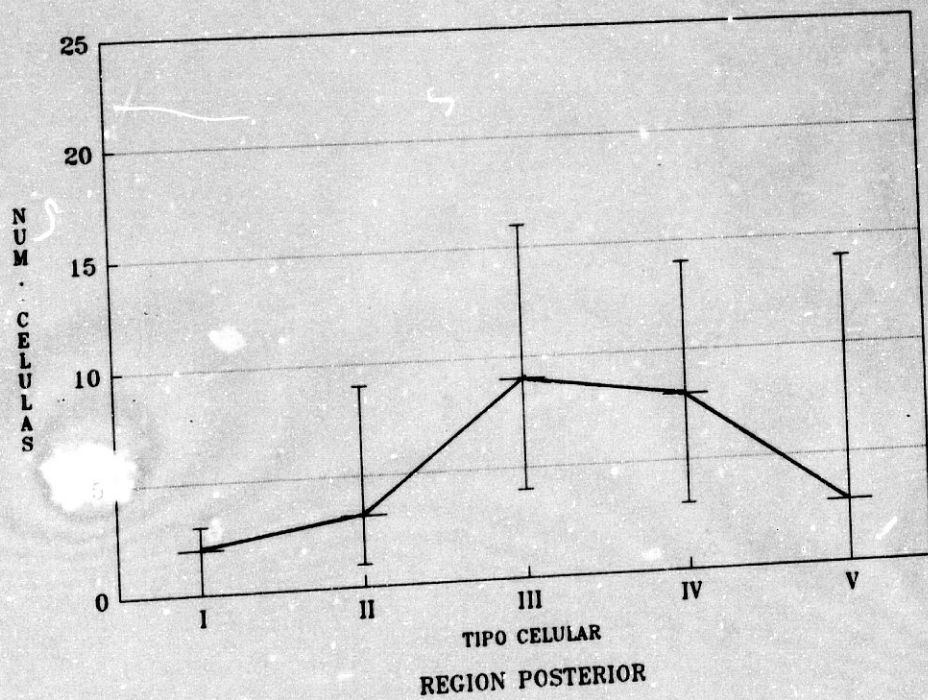
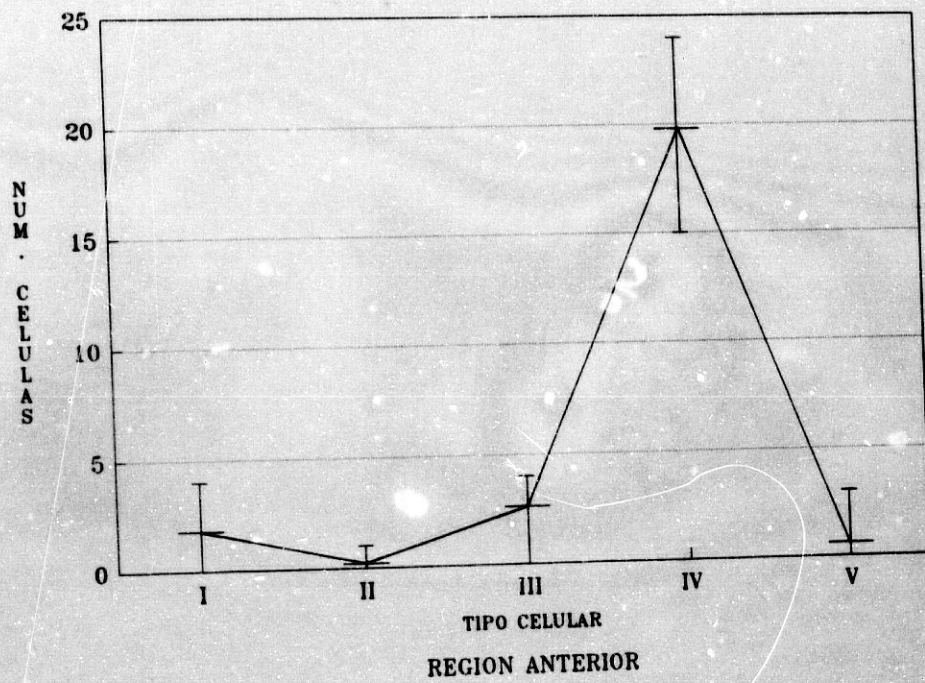


Fig. 31



COMPARACION ENTRE LOS VALORES MEDIOS DEL N° DE CELULAS DE CADA PATRON EN EL E.S. DE LAS REGIONES ANTERIOR Y POSTERIOR

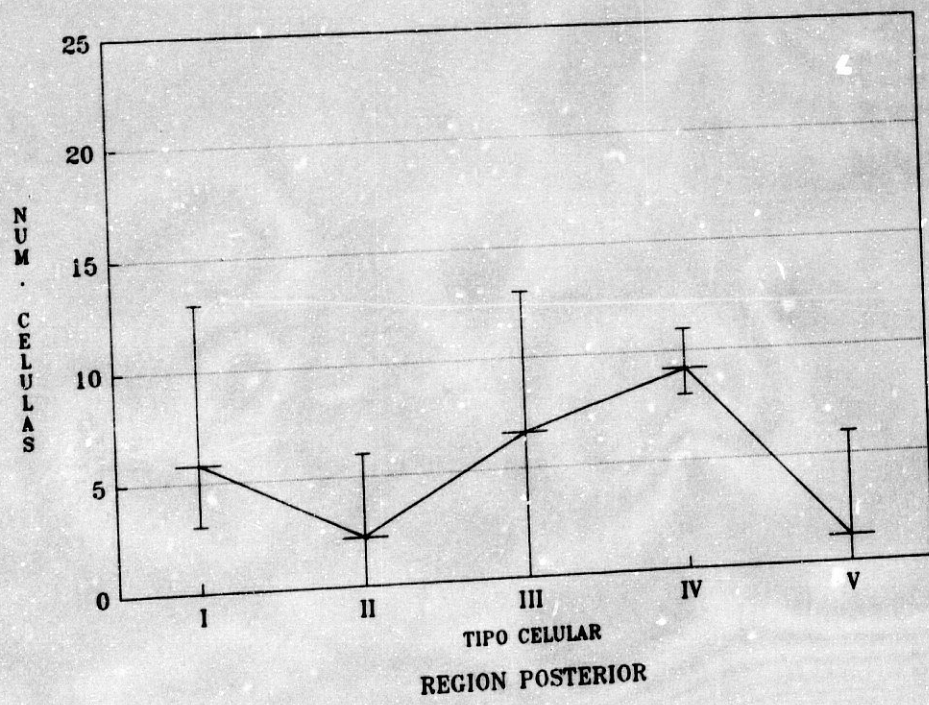
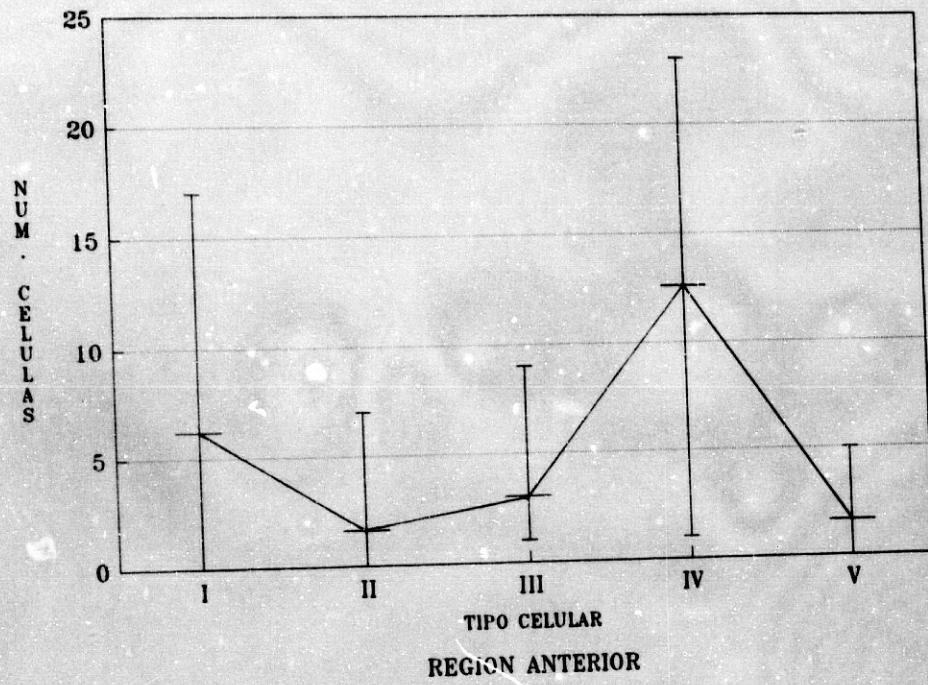


Fig. 32



COMPARACION ENTRE LOS VALORES MEDIOS DEL N° DE CELULAS DE CADA PATRON EN EL E.U. DE LAS REGIONES ANTERIOR Y POSTERIOR

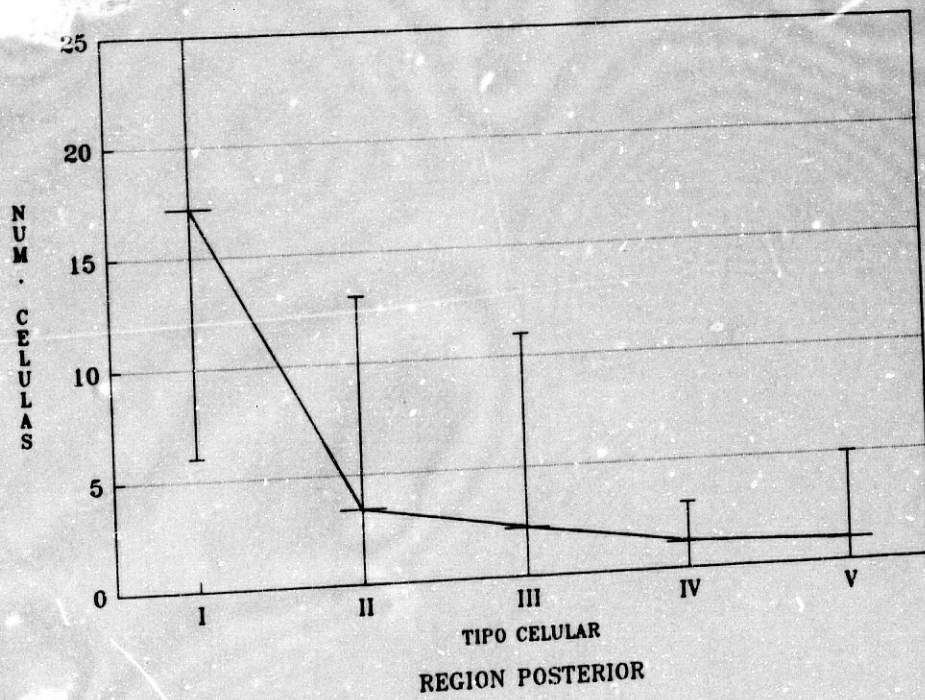
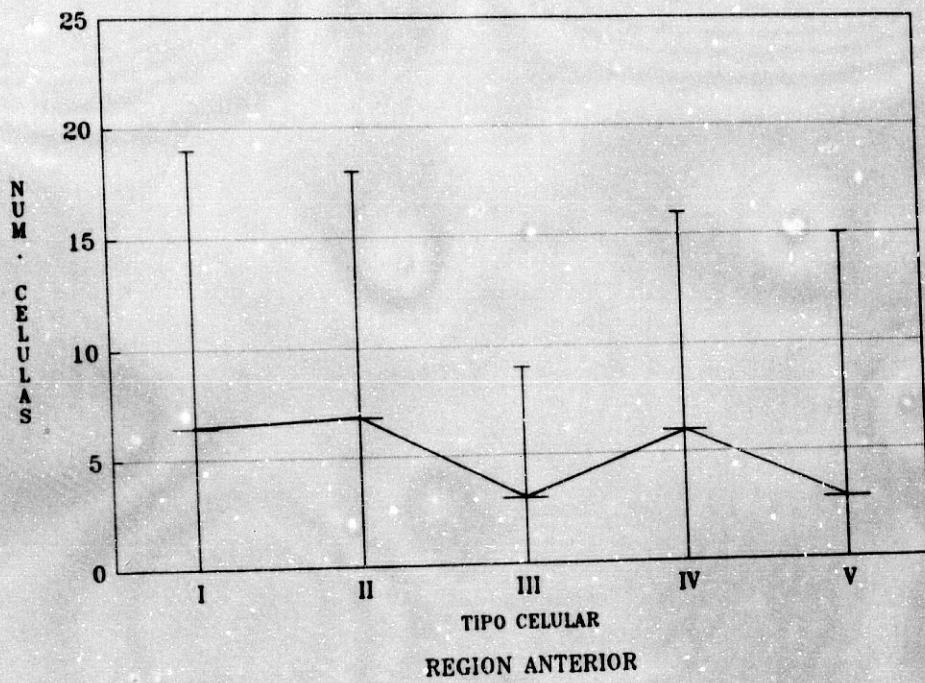


Fig. 33



Así mismo el análisis estadístico pone de relieve en las tablas XVII y XVIII la comparación tanto en la región anterior como posterior de los distintos tipos de epitelio en relación con los diferentes patrones celulares de superficie. Igualmente en dichas comparaciones se expresan las significaciones estadísticas oportunas.

En los resultados expresados en la tabla XIX se realiza una comparación estadística entre las zonas anterior y posterior relacionando los tipos epiteliales y los patrones celulares.

Por último el análisis estadístico global de los datos pone de relieve que la interacción regiones y tipos epiteliales es significativa con una  $t. \text{exp.} = 3.58$  con (3;24) grados de libertad y una  $P < 0.05$ .

La interacción regiones-tipos celulares es significativa con una  $t. \text{exp.} = 4.09$  con (4;32) grados de libertad y una  $P < 0.01$ .

En la interacción tipos epiteliales-tipos celulares aparece una significación con una  $t. \text{exp.} = 5.82$  con (12;96) grados de libertad y una  $P < 0.0001$ .



TABLA XVII

COMPARACION ENTRE TIPOS DE EPITELIO EN RELACION CON LOS DISTINTOS TIPOS CELULARES

REGION ANTERIOR

TE COMPARADOS	I		II		III		IV		V	
	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.
E.E.L.-E.E.A.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
E.E.L.-E.S.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
E.E.L.-E.U.	—	—	2.65	P = 0.05	—	—	3.84	P < 0.01	—	—
E.E.A.-E.S.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
E.E.A.-E.U.	—	—	2.65	P = 0.05	—	—	3.84	P < 0.01	—	—
E.S.-E.U.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial

t. exp = T. Experimental

g. l. = Grado de Libertad



TABLA XVIII

COMPARACION ENTRE TIPOS DE EPITELIO EN RELACION CON LOS DISTINTOS TIPOS CELULARES

REGION POSTERIOR

TE COMPARADOS	I		II		III		IV		V	
	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.
E.E.L.-E.E.A.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
E.E.L.-E.S.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
E.E.L.-E.U.	4.58	P<0.01	—	—	3.28	P<0.05	—	—	3.37	P<0.01
E.E.A.-E.S.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
E.E.A.-E.U.	4.51	P<0.01	—	—	2.90	P<0.05	—	—	2.70	P=0.05
E.S.-E.U.	2.96	P<0.05	—	—	—	—	—	—	3.20	P<0.01

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial

t. exp = T. Experimental

g. l. = Grado de Libertad



TABLA XIX

COMPARACION ENTRE REGIONES ANTERIOR Y POSTERIOR  
PARA TODAS LAS COMBINACIONES DE TIPO Y REGION

	I		II		III		IV		V	
	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.	t. exp.	g. l.
TC										
TE										
E.E.L.	—	—	—	—	2.85	$P < 0.05$	—	—	—	—
E.E.A.	—	—	—	—	2.37	$P < 0.10$	2.97	$P < 0.05$	—	—
E.S.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
E.U.	2.49	$P < 0.05$	—	—	—	—	—	—	—	—

TC = Tipo Celular

TE = Tipo Epitelial

t. exp = T. Experimental

g. l. = Grado de Libertad



Finalmente la interacción de tercer orden entre regiones, tipos epiteliales y tipos celulares también es estadísticamente significativa con una  $t. exp = 1.72$  con (12;96) grados de libertad y una  $P < 0.10$ .



DISCUSION

La discusión de la presente tesis doctoral debe plantearse a tres niveles fundamentales. En primer lugar en relación con la metodología utilizada para el desarrollo de la misma. En segundo lugar en relación con los hallazgos microscópicos aportados en nuestro estudio con la microscopía electrónica de barrido y, en tercer y último lugar, en relación con los datos cuantitativos que se desprenden del análisis estadístico efectuado.

Por lo que se refiere a la metodología, KULLAA-MIKKONEN ha indicado que para los estudios con microscopía electrónica de barrido de la mucosa oral es imprescindible que la extracción de los especímenes se realice con suma precisión, evitando que la instrumentación y manipulación de los especímenes altere las estructuras objeto de estudio.



Añade, así mismo, que las observaciones con microscopía electrónica de barrido deben realizarse tras eliminar los elementos que, como el moco, la sangre o el fluido oral, cubren la superficie que recubre la cavidad bucal.

En relación con el periodonto estos cuidados deben extremarse al máximo teniendo en cuenta la naturaleza y funciones de dicha estructura BASCONES (19), CARRANZA (58), LINDHE (169), MANSON (187), RAMFJÖRD y Cols. (236), RATEITSCHAK y Cols. (237) y SCHRÖEDER (255).

En nuestro estudio, los especímenes se han obtenido tras la oportuna esterilización del instrumental utilizado y en las condiciones que describimos en el apartado correspondiente del material y métodos. La instrumentación utilizada evita la generación de artefactos superficiales en las muestras periodontales. La sujeción y el transporte de las mismas en todo el proceso se realiza a nivel del conjuntivo subyacente al epitelio periodontal objeto último de nuestro estudio. En cualquier caso, los estudios descriptivos y cuantitativos se han realizado en zonas ajenas a los márgenes de la muestra estudiada.

La eliminación del material que cubre la superficie en la región oral, es decisiva para el estudio de la superficie epitelial sobre todo en microscopía electrónica de barrido. Ello es debido a que una modificación accidental o accesoria pudiera interpretarse y relacionarse con una determinada zona topográfica. Para ello se han postulado distintos métodos de eliminación superficial. Aunque KULLAA-MIKKONEN (157) opone la utilización de solución salina para llevar a cabo dicha eliminación, nuestros resultados ponen de relieve que el lavado con la solución buffer del fijador y posterior inmersión en colagenasa diluida permite alcanzar excelentes logros.

Aunque la acción enzimática sobre las células, para su observación con microscopía electrónica de barrido, no fue recomendable en los primeros años de aplicación de la misma sobre las muestras biológicas, los datos existentes en el momento actual permiten afirmar que dicha utilización, como ocurre en nuestro caso, hace posible la obtención de patrones microscópicos no artefactuales CAÑIZARES y Cols. (54), HUDSPETH y JACOBS (127).



El glutaraldehído, que constituye el fijador seleccionado para nuestro estudio es, en el momento presente, el fijador de elección para cualquier estudio morfoestructural del tubo digestivo (CARR y Cols. (55); CARR y TORNER (57); ERLANDSEN y Cols. (83); ISOMAKI (131); KENEDY y Cols. (148); KOMURO (153); KULLA-MIKKONEM (157); LACROIX y Cols. (162); LOW y MCCLUGAGE (167); MARSH y SWIFT (189); MARSH y Cols. (190); MOXEY y TRIER (214); OLSON y Cols. (223); PFEIFFER y Cols. (228); SATOH y Cols. (251); SPECIAN y NEUTRA (269); TKAHASHI-IWANAGA y FUJITA (282) y WAXLER (295)).

Dicha fijación tiene como base la estabilización de los componentes proteicos de las estructuras celulares, al poseer, dicho fijador, grupos aldehídos activos (BANCROFT y STEVENS (16); MAROVITZ y Cols. (188); PALADE (226); ROBINSON y TERRAS (242) y SABATINI y Cols. (246)).

La postfijación con tetróxido de osmio llevada a cabo en nuestra metodología, como expusimos en el capítulo correspondiente, es práctica generalizada en los estudios con microscopía electrónica de barrido. La



importancia de la doble fijación fue confirmada por primera vez por SABATINI, BENSCH y BARNETT (246), los cuales han demostrado que los resultados obtenidos con la fijación en tetróxido de osmio eran tan buenos o mejores que los obtenidos sólo con glutaraldehído, de tal modo que esta combinación es la más usada en los laboratorios de microscopía electrónica. Además, la doble fijación hace que el tetróxido de osmio actúe reduciendo la extracción de lípidos que toda deshidratación lleva consigo de forma inevitable (COPE y WILLIAMS (74) y HIGHISON y LOW (123)).

En relación con la deshidratación hemos usado acetona en nuestra metodología con el fin de evitar las precipitaciones densas a nivel tisular que se observan cuando se utiliza básicamente el etanol (BOYDE (38); BRUNK y Cols (48); CAÑIZARES y Cols. (53); COHEN (72); CRESPO y Cols. (76); GLAVERT (104); LIM (168) Y MAROVITZ y Cols. (188)).

Para la observación de las muestras con microscopía electrónica de barrido, no basta con la deshidratación, sino que hay que conseguir, como es sabido una perfecta desecación. Para llevar a cabo la misma,



hemos utilizado en nuestra metodología el punto crítico de ANDERSON (7). Las consideraciones teóricas y prácticas de esta técnica han sido revisadas por distintos autores (BOYDE (38), (40), (41); BOYDE y WOOD (42); COHEN (72); DEBAULT (78); HAYAT (116); HUMPHREYS y Cols. (129) y MELLER y Cols (206)).

La desecación es un proceso que puede resultar sumamente destructivo, dado que conlleva el paso del tejido por una interfase aire-líquido, y que las fuerzas de tensión superficial en esa interfase son muy destructoras. Para la mayoría de los tejidos se debe sustituir primero el agua por un líquido de baja tensión superficial, como hemos señalado anteriormente en la fase de deshidratación.

El método de ANDERSON (7) es, generalmente, aceptado por la mayor parte de los investigadores en el estudio con microscopía electrónica de barrido del tubo digestivo (BJERKNES y CHENG (28); BURKE y HOLLAND (49); CARR y Cols. (55); CARR y TONER (56); KENEDY y Cols. (148); KOMURO (153); LOW y MCCLUGAGE (177); MARSH y SWIFT (189); MOXEY y TRIER (214); SWIFT y MARSH (278) y TONER y CARR (285)).



En relación con la metalización y aunque se han postulado distintos métodos, hemos seleccionado, como indicamos en el capítulo correspondiente, el recubrimiento simple con oro (BOYDE y WOOD (43), BUSS y HALLOWEG (50); MALICK y WILSON (185) y ROBINSON y TERRAS (242)). El recubrimiento simple con oro nos permite, como hemos tenido ocasión de exponer a propósito de nuestros resultados, excelentes observaciones de los patrones de superficie del epitelio periodontal.

En relación con los resultados microscópicos obtenidos en nuestra tesis doctoral y aunque como hemos indicado en el capítulo correspondiente, hemos basado nuestras observaciones en los trabajos de TAKAGI y KULLA-MIKKONEM los hallazgos alcanzados nos permiten postular cinco patrones estrictamente morfológicos que, a nuestro juicio, permiten una fácil identificación con microscopía electrónica de barrido. Es importante indicar que existen patrones intermedios de los que así mismo hemos dejado constancia en el capítulo de resultados.



La propuesta de ocho patrones diferentes realizada por NAIR y SCHROEDER en *Macacus fascicularis* o la propuesta de cinco patrones señalada por KULLA-MIKKONEM y TAKAGY utilizan generalmente datos morfológicos de compleja tipificación que atañen fundamentalmente a cada marcador morfológico y que en ocasiones asocian a descripciones cuantitativas que resultan sumamente difíciles de evaluar.

La propuesta, que basada en la clasificación de KULLA-MIKKONEM, postulamos define junto al patrón tipo I los microvillis, que todas las clasificaciones separan claramente, cuatro patrones que se definen no sólo por la característica de la microplica sino por el conjunto de ellas, esto es un patrón para las microplicas dispuestas en paralelo, un patrón para aquellas que configuran una superficie en huella, un patrón de tipo reticular para aquellas que confluyen configurando una red superficial y un patrón por último de tipo poroso para aquellas que configuran oquedades superficiales. Si como indican BANOCZY y cols. (17); JUNGELL y cols. (144) y MATRAVERS y TYLDESLEY (194) (195) la microscopía electrónica de barrido permite el diagnóstico diferencial de distintos procesos patológicos de la cavidad oral. La fácil tipificación, exclusivamente morfológica de nuestra propuesta, debe facilitar dicho diagnóstico.



Uno de los puntos esenciales de la discusión que nos ocupa radica en el significado de los marcadores superficiales o microplicas que tipifican las células queratinocíticas.

Los datos hasta ahora existentes permiten relacionar la presencia de determinados marcadores superficiales y patrones con la diferenciación de la línea queratinocítica.

En este sentido sabemos que la presencia de microvillis debe relacionarse con elementos poco diferenciados existentes en las capas intermedias y profundas del epitelio estratificado que recubre las superficies periodontales. HODGKINS y cols. (124) han demostrado estos hechos con microscopía electrónica de barrido utilizando cintas adhesivas para descamar progresivamente el epitelio.

Existe por tanto una relación directa entre la presencia de microplicas complejas y la queratinización de las células epiteliales. Tal y como han señalado CARRASI y cols (59), COBB y Cols. (71), JUNGELLS y cols. (144), KULLA-MIKKONEN (155) (156) (157) y



ROBERTSON y cols. (241), tanto en condiciones normales como patológicas, el patrón poroso constituido por oquedades superficiales corresponde a elementos queratinizados maduros y estrictamente superficiales mientras que el patrón con microvillis corresponde a las células menos diferenciadas. Los patrones con micropliegos en disposición recta, en huella y reticular corresponden a células en estadios intermedios de diferenciación queratinocítica.

Un dato significativo en nuestros hallazgos consiste en la observación, en general incompleta debido a las dificultades de la región estudiada, de los modelos descamativos sincrónicos en parejas y tríos descritos por POTTEN para explicar la biología celular de las unidades epidérmicas proliferativas (E.P.U.). Aunque dichas unidades se han demostrado en la mucosa oral (ALLEN y POTTEN (4), CHRISTOPHERS y Cols. (64), HUME (128), LAVKER y SUN (165), MACKENZIE (181), MENTON (207), MORRIS y HOPEWELL (213), POTTEN (233), POTTEN y HENDRY (234)) su exacta localización y características se desconocen prácticamente a nivel del epitelio periodontal.



Nuestros hallazgos en las regiones anteriores y posteriores y en los cuatro tipos de epitelio estudiados con microscopía electrónica de barrido parecen reflejar por tanto la existencia del modelo de unidad epidérmica proliferativa (E.P.U.) en la organización epitelial que nos ocupa.

¿Qué funciones desempeñan en los tipos epiteliales estudiados los marcadores morfológicos de superficie ?

Los distintos autores postulan en general cuatro funciones para los marcadores morfológicos superficiales. En primer lugar la participación de los mismos en la adhesión celular, dicha propuesta ha sido postulada y defendida por CLEATON-JONES (65) (66) (67) (68), CLEATON-JONES y Cols. (69), HODGKINS y cols. (124), McMILLAN (201) (202). En este sentido, es importante destacar que en efecto dichos marcadores pueden constituir estructuras sumamente útiles. Resulta evidente que a medida que la célula queratinocítica asciende en el epitelio estratificado va perdiendo los mecanismos de asociación intercelular que facilitan la cohesión en las capas más profundas del mismo; nos referimos a las estructuras desmosómicas que caracterizan



el estrato espinoso (BHASKAR (27); BLOMM y FAWCETT (29); COUJARD y Cols (75); HAM y CORMACK (110); POIRIER y Cols. (231); SNELL (266); TEN CATE (283) y WEISS (296)).

Los patrones tipo II, III y IV representan a nuestro juicio por tanto diferentes sistemas de asociaciones cuyas bases de naturaleza mecánica topológicas y físico-químicas se nos escapan por el momento.

Una segunda actividad funcional postulada para los marcadores que nos ocupan es la participación de los mismos en el flujo laminar de las secreciones a lo largo de la superficie epitelial. Dicha actividad funcional propugnada por BLUMKE y MORGENROTH (30), SCHAFFIK y Cols. (262), SPERRY y WASSERSUG (270) para superficies epiteliales que presentan células secretoras o glándulas adyacentes se desarrollaría por medio de la canalización que suponen las microplicas en la superficie celular. Aunque dicha actividad parece demostrada tras ingeniosas experiencias por SPERRY resulta difícil justificar la misma de forma absoluta en el epitelio periodontal que nos ocupa. Si tenemos en cuenta que dichos tipos epiteliales no poseen células secretoras en su seno ni existen glándulas adyacentes



significativas en el conjuntivo subyacente. La presencia significativa en las superficies de los epitelios estudiados como veremos con posterioridad de células de tipo III y IV permite apuntar la posibilidad sin embargo de que estos patrones faciliten la difusión de las secreciones de la cavidad oral a través de toda la superficie periodontal en las distintas actividades mecánicas que tienen lugar en dicha cavidad.

Ello permitiría un flujo de secreciones que sin duda renovarían periódicamente el material existente en las superficies de los epitelios periodontales.

La función protectora de las microplicas superficiales constituye la tercera actividad funcional propuesta para estas estructuras. Las microplicas superficiales cubiertas de material mucógeno están presentes en numerosos epitelios de nuestro organismo tales como la mucosa cervical o la mucosa esofágica RUBIO y KRANZ (243); SPERRY y WASSERSUG (270). En estos epitelios las microplicas permiten acumular componente mucógeno entre ellas reduciendo la superficie de contacto y minimizando la resistencia a la fricción ANDREWS (8) (9) (10); SPERRY y WASSERSUG (270); OLSON y FROM (222). Estos



epitelios portadores de microplicas se localizan en general en regiones sometidas a presiones abrasivas y al rozamiento de cuerpos extraños. Resulta evidente que los epitelios periodontales cumplen estas condiciones y que la significativa presencia de patrones II, III y IV facilita la localización de componente mucógeno entre las microplicas, protegiendo al periodonto de los rozamientos y fricciones propios de la cavidad bucal.

Cuando los mecanismos de fricción son muy elevados los epitelios se queratinizan apareciendo células con un patrón superficial constituido por oquedades bien delimitadas o lo que es lo mismo por un patrón tipo V. La importancia de las microplicas como sistema de reserva para ensanchar la superficie celular fue también inicialmente postulada como actividad funcional de estas estructuras KULLA-MIKKONEN (157), WASSERSUG y JOHNSON (294), aunque en el momento presente y tras los trabajos de SPERRY dicha idea no parece tener a este nivel un fundamento razonable.

Una de las actividades funcionales más significativas y generalmente aceptadas de los epitelios de revestimiento es la de constituir una barrera efectiva en relación con la penetración de



gérmenes. En este sentido, resulta evidente que los epitelios que revisten el periodonto cumplen a este propósito un papel muy evidente. A ello contribuyen dos mecanismos fundamentales: el permanente sistema de renovación epitelial al que previamente nos hemos referido y mediante el cual se descaman las células superficiales con los microorganismos adheridos y los fluidos de distinta naturaleza, fundamentalmente mucógenos que se disponen sobre la superficie periodontal. Los microorganismos incluidos en estos compuestos son desplazados en el flujo de secreciones que, como así mismo indicamos previamente, se desarrolla en la superficie de los epitelios periodontales.

La aportación de la microscopía electrónica de barrido al estudio de la adhesión bacteriana en periodoncia ha sido muy significativa desde los trabajos de SAGLIE (247) y SAGLIE y Cols. (248) en la enfermedad periodontal.

En nuestros resultados comprobamos sin embargo, que junto a los mecanismos arriba citados, la presencia de distintos patrones superficiales condicionan en mayor o menor medida la adhesión de los microorganismos, recuérdese a este respecto que en nuestro material la



utilización de colagenasa eliminó previamente el material superficial adherido al periodonto. A pesar de ello, observamos la presencia de morfotipos, tipo coco y filamentoso, adheridos a células con patrón reticular y poroso que ofrecen una mayor capacidad para la ubicación y fijación de las poblaciones bacterianas.

La evaluación de los tipos celulares existentes en los distintos tipos epiteliales puede constituir un indicador de presencia bacteriana a dicho nivel.

En nuestra tesis doctoral hemos llevado a cabo un estudio descriptivo de los patrones celulares existentes en los distintos tipos epiteliales que configuran el periodonto de protección. Dicho estudio, cuyos resultados hemos discutido en el apartado precedente, ha sido cuantificado y sometido a un análisis estadístico de acuerdo con la metodología expuesta en el capítulo correspondiente. Los estudios morfométricos realizados en el epitelio periodontal han tenido como objetivo básicamente la densidad de las microplicas KLEIN-SZANTO y SCHROEDER (151) y NAIR y SCRROEDER (216), pero en la revisión bibliográfica realizada no hemos detectado estudios sobre la distribución de células con patrones diferentes en el seno de un mismo epitelio. Dicho

objetivo resulta, sin embargo a nuestro juicio, sumamente útil para evaluar, como indicamos en la introducción de la presente tesis doctoral la topografía microscópica de los distintos epitelios periodontales, su grado de maduración y renovación epitelial así como su relación con los microorganismos de la cavidad bucal.

Nuestros resultados ponen de relieve la existencia de diferencias estadísticamente significativas en la región anterior estudiada entre las células con patrón reticular o tipo IV y el resto de los tipos celulares existentes en los epitelios de la encía libre y de la encía adherida. Así mismo, dicho patrón celular presenta diferencias significativas en el epitelio del surco con todos los tipos celulares excepto con los del tipo III. Dichas diferencias implican una mayor frecuencia de elementos con patrones tipo IV.

En la región posterior, los datos estadísticos no revelan diferencias significativas entre los cuatro primeros tipos celulares en los epitelios arriba indicados. Sin embargo, existen diferencias significativas básicamente entre las células tipos III y IV y las células del tipo V. Dichas diferencias implican una mayor frecuencia de los patrones tipo III y IV.



Estos resultados implican, a nuestro juicio, que en general los epitelios citados no están tapizados superficialmente de forma mayoritaria por las células más diferenciadas y queratinizadas esto es por las células del patrón poroso. Por el contrario, las células que tapizan mayoritariamente dichas poblaciones epiteliales son las células de tipo IV o patrón reticular en la región anterior y las células fundamentalmente tipo III en la región posterior. Sin embargo, con las células más indiferenciadas en la región anterior es posible comprobar diferencias significativas entre los tipos I, II, III y las células del patrón reticular tipo IV, hecho éste que no es posible evidenciar en la región posterior. Ello parece implicar a nuestro juicio, dado que los valores promedios de dichos tipos celulares no varían significativamente entre ambas regiones, que existe una diferenciación queratinocítica más acelerada en la región anterior respecto a la posterior.

En relación con el epitelio de unión, nuestros resultados ponen de relieve en la región posterior la existencia de diferencias significativas entre el tipo celular más indiferenciado - células tipo I - y el resto de los patrones observados. En la región anterior no existen, sin embargo, diferencias significativas de ningún genero. Esto implica una profunda

diferencia en la configuración epitelial del epitelio de unión en ambas regiones estudiadas.

Los trabajos de LILJENBERG y LINDHE (167); LISGARTEN (172) y SUOMI y BARBANO (277) localizan el comienzo de la enfermedad periodontal en la región posterior. La especial configuración histológica que acabamos de evidenciar puede explicar de acuerdo con las ideas clásicas de (CARRANZA (58); LINDHE (169); MANSON (187) ; RAMFJÖRD y Cols (236) y RATEITSCHAK y Cols. (237) el origen de dicho proceso.

Los resultados hasta ahora discutidos revelan, por tanto, diferencias significativas entre los tipos de epitelios que configuran el periodonto de protección tanto en región anterior como en posterior. En este sentido y en la región anterior, existen diferencias significativas entre el epitelio de unión y los epitelios de la encía libre y adherida. Dichas diferencias son a expensas de los tipos celulares II y IV. La cuantía de células tipo II está incrementada en el epitelio de unión respecto del mismo tipo en otros epitelios. Las células tipo IV están incrementadas en el epitelio de la encía libre y adherida respecto del mismo tipo en el epitelio de unión.



Por otra parte, en la región posterior existen diferencias significativas entre el epitelio de unión y los otros tres tipos de epitelios periodontales. En el epitelio de unión el número de células tipo I está incrementado respecto del valor que presenta en los epitelios de la encía libre, encía adherida y epitelio del surco. En éstos últimos epitelios, el número de células tipo III y IV está básicamente incrementado respecto a las cifras que presenta de dichos tipos el epitelio de unión.

Las características que acabamos de comentar pueden constituir, al menos en parte, indicadores morfológicos de microscopía electrónica de barrido que hagan posible tipificar la topografía superficial de las distintas áreas del periodonto de protección. Es importante recordar que, como indicamos en la introducción de la presente tesis doctoral el análisis de grandes extensiones de superficie constituye uno de los objetivos de la microscopía electrónica de barrido y que, dicho análisis, permite evaluar la extensión dimensional de los patrones ortotípicos y sobre todo de los procesos patológicos ARDVIDSON y Cols (13); JUNGELLS y Cols. (144); KAQUELER y Cols. (146); KULLA-MIKKONEM (157) y ROBERSTON y Cols. (241).

El análisis estadístico global de los resultados obtenidos en nuestra tesis doctoral ha permitido por último alcanzar algunas conclusiones genéricas que afectan a toda la estructura periodontal. Dicho análisis revela en éste sentido que las diferencias significativas existentes entre ambas regiones tienen su raíz en los tipos epiteliales y los patrones celulares que configuran estos tipos.

El análisis metodológico, microscópico y cuantitativo que hemos realizado revela una marcada heterogeneidad con microscopía electrónica de barrido tanto en las regiones anterior y posterior de la cavidad bucal, como en los epitelios que constituyen el periodonto de protección, muy lejana a la homogeneidad descriptiva propuesta en las descripciones generales realizadas con esta metodología. Dichas variaciones, deben relacionarse en el futuro, a nuestro juicio, con los mecanismos patogénicos que conducen a la enfermedad periodontal y a la patología general del periodonto.



CONCLUSIONES

1.- La Metodología que desarrollamos para el estudio con Microscopía Electrónica de Barrido del epitelio periodontal de protección, permite tipificar estructural y topográficamente las células apicales del mismo y los morfotipos bacterianos asociados, generando escasos resultados artefactuales.

2.- El estudio con Microscopia Electrónica de Barrido permite tipificar en las dos regiones estudiadas anterior y posterior y en las cuatro variedades epiteliales del periodonto (E.E.L., E.E.A., E.S. y E.U.) cinco patrones microscópicos (Patrón microvellositario, recto, en huella, reticular y poroso), que se caracterizan tanto por la presencia de marcadores morfológicos específicos como por la configuración espacial que dichos patrones ofrecen en el conjunto de la superficie celular. Dichos patrones representan distintos estadios biológicos de la diferenciación queratinocítica.



3.- El estudio con Microscopía Electrónica de Barrido del epitelio periodontal de protección permite configurar, en los cuatro tipos epiteliales estudiados, de acuerdo con los diferentes patrones apicales, modelos descamativos en parejas o en tríos que revelan un modelo de organización del tipo unidad epidérmica proliferativa (E.P.U.) descrito en la epidermis y en el epitelio de la mucosa oral.

4.- El estudio con Microscopía Electrónica de Barrido del periodonto de protección pone de relieve una firme adhesión, resistente a la acción enzimática, de los agentes microbianos de los tipos coco, bacilo y filamentoso, sobre las células apicales con patrones más diferenciados.

5.- El estudio con Microscopía Electrónica de Barrido del epitelio periodontal de protección pone de relieve que los epitelios de la encía libre, el epitelio de la encía adherida y el epitelio del surco de las regiones anteriores y posteriores están revestidos por células con patrón de diferenciación intermedio (patrones en huella y reticular) presentando la región anterior una diferenciación queratinocítica más acelerada respecto a la región posterior.

6.- El estudio con Microscopía Electrónica de Barrido del periodonto de protección pone de relieve que el epitelio de unión de la región posterior esta revestido por células con un bajo patrón de diferenciación (patrón microvellositario). Dicho epitelio se diferencia significativamente del epitelio de unión de la región anterior en la que el revestimiento resulta ser de naturaleza mas homogénea. La diferente configuración del epitelio de unión de la región anterior y posterior puede relacionarse con el origen de diferentes procesos de patología periodontal.

7.- El estudio con Microscopía Electrónica de Barrido del periodonto de protección pone de relieve la existencia de una marcada heterogeneidad en el seno de las distintas regiones y de los tipos epiteliales que configuran el periodonto, constituyendo indicadores morfológicos y topográficos que deben relacionarse con los mecanismos patogénicos que conducen a la enfermedad periodontal.



BIBLIOGRAFIA

- 1 AHRENS, G. y BUBLITZ, K. A. (1987). Parodontaler-krankungen und behandlungsbedarf der hamburger Bevolkerung. Eine epidemiologische studie an 11305 probanden. Dtsch. Zahnarzl. Z, 42: 433-437.
- 2 ALBANDAR, J. M. (1989). Prevalence of incipient radiographic periodontal lesions in relation to ethnic background and dental care provisions in young adults. J. Clin. Periodontol., 16: 625-629.
- 3 ALEXANDER, S. A. Y SWERDLOFF, M. (1980). Mucopolysaccharidase activity and glycosaminoglican content in traumatized resorbing decidous teeth. J. Dent. Res., 59: 766-770.
- 4 ALLEN, T. D.; POTTEN, C. S. (1974). Fine structural identification and organization of the epidermal proliferative unit. J. Cell. Sc., 15: 291-319.



- 5 ALWAS-DANOWSKA, H. M. (1984). Scanning electron microscopic studies of the human odontoblasts. *Folia Morphol.*, 43: 185-190.
  
- 6 AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. (1989). Proceedings of the world workshop in clinical periodontics. Princeton, New Jersey.
  
- 7 ANDERSON, T. F. (1951). Technique for the preservation of three-dimensional structure in preparing specimens for the electron microscope. *Trans. N.Y. Acad. Sci. (Ser.III)*, 13: 130-134.
  
- 8 ANDREWS, P.M. (1974). A scanning electron microscopic study of the extrapulmonary respiratory tract. *Am. J. Anat.*, 139: 399-424.
  
- 9 ANDREWS, P. M. (1975). Microplicae: morphology, distribution, origin and possible functional significance. *J. Cell. Biol.*, 67: 11a.

- 10 ANDREWS, P.M. (1976). Micropllicae: Characteristic ridge-like folds of the plasmalemma. *J. Cell. Biol.*, 68: 420-429.
- ANDREWS, P.M. y PORTNER, K.R. (1973) The ultrastructure morphology and possible functional significance of mesothelial microvilli. *Anat. Rec.*, 177: 409-426.
- 12 APPLETON, J. y HEANEY, T.G. (1977). A SEM study of the surface features of porcine oral mucosa. *J. Periodont. Res.*, 12: 430-435.
- 13 ARVIDSON, K. (1976). Scanning electron microscopy of fungiform papillae on the tongue of man and monkey. *Acta Otolaryngol.*, 81: 496-502.
- 14 AUFDEMORTE, T.B. y CAMERON, I.L. (1981). The relation of keratinization to bacterial colonization on the baboon tongue as demonstrated by scanning electron microscopy. *J. Dent. Res.*, 60: 1008-1014.



- 15 AWAZAWA, Y. (1963). Electron microscopy of human cementum. *J. Nihon. Univ. Sch. Dent.*, 5: 127-137.
- 16 BANCROFT, F.D. y STEVENS, A. (1982). *Theory and practice of histological techniques*. 2 Ed. Churchill Livingstone. LONDON.
- 17 BANOCZY, J.; LAPIS, K. y ALBRECHT, M. (1980). Scanning electron microscopic study of oral leukoplakia. *J. Oral Path.*, 9: 145-154.
- 18 BARMES, D.E. y LEOUS, P.A. (1986). Assessment of periodontal status by CPITN and its applicability to the development of long-term goals on periodontal health of the population. *Int. Dent. J.*, 36: 177-181.
- 19 BASCONES, . . . (1989). *Diagnostico y tratamiento de la enfermedad periodontal*. Proagraf, S.A. Madrid.

- 20 BAUMHAMNERS,A.;STALLARD,R.E. y ZANDER,H.A.  
(1965). Remodeling of alveolar bone. J.  
Periodontol.,36:439-442.
- 21 BEERTSEN, W. ;EVERTS,V. y HOOFF,A. (1974). Fine  
structure of fibroblast in the periodontal ligament in the rat  
incisors and their possible role in tooth eruption. Archs. Oral  
Biol. , 19: 1087-1098.
- 22 BERCY,P. y FRANK,R.M. (1980). Microscopie electronique a  
balayage de la surface du cement humain normal et carie. J.  
Biol. Buccale, 8: 331-352.
- 23 BERGTROM, J. y ELIASSON,S. (1989). Prevalence of chronic  
periodontal disease using probing depth as a diagnostic test. J.  
Clin. Periodontol.,17: 588-592.



- 24 BERKOVITZ, B.K.B.; MOXHAM, B.J. y NEWMAN, H.N.  
(1983). Periodontal ligament in health and disease. Pergamon  
Press. Oxford.
- 25 BERNICK, S. (1954). The innervation of the teeth and  
periodontium of the rat. *Anat. Rec.*, 125: 185-205.
- 26 BERNICK, S.; LEVY, B.M.; DREIZEN, S. y GRANT, D.A.  
(1977). The intraosseous orientation of the alveolar component of  
marmoset alveolo-dental fibers. *J. Dent. Res.*, 56: 1409-1416.
- 27 BHASKAR, S.N. (1980). *Orban's oral histology and  
embryology*. Mosby Company. St. Louis.
- 28 BJERKNES, M. y CHENG, H. (1981). Methods for the  
isolation of intact epithelium from the mouse intestine. *Anat  
Rec.*, 199: 564-574.

- 29 BLOMM, W. y FAWCETT, D.W. (1978). Tratado de histología.  
7 Ed. Ed. Labor S.A. Barcelona.
- 30 BLUMCKE, S. y MORGENROTH, K. Jr. (1967). The stereo  
ultrastructure of the external and internal surface of the cornea.  
J. Ultrastruct. Res. ,18: 502-518.
- 31 BOSHELL, J.L.; WILBORN, W.H. y SINGH, B.B. (1979).  
Surface morphology and bacterial flora of the dorsum of pig  
tongue. Scanning Microscopy, III: 363-369.
- 32 BOSHELL, J.L.; WILBORN, W.H. y SINGH, B.B. (1980). A  
correlative light microscopic, transmission and scanning electron  
microscopic study of the dorsum of human tongue. Scanning  
Microscopy, III: 505-510.
- 33 BOYDE, A. (1964). The structure and development of  
mammalian enamel. PhD thesis (available from Senate House  
Library), University of London..



- 34 BOYDE, A. (1965). The structure of developing mammalian dental enamel. *Tooth enamel*. MV Stack RW Fearnhead eds.
- 35 BOYDE, A. (1967). The development of enamel structure. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 60: 1-6.
- 36 BOYDE, A. (1968). Correlation of ameloblast size with enamel prism pattern: use of scanning electron microscope to make surface area measurements. *Z. Zellforsch.*, 93: 583-593.
- 37 BOYDE, A. (1969). Electron microscopic observations relating to the nature and development of prism decussation in mammalian dental enamel. *Bull. Group Int. Rech. Sci. Stomatol.*, 12: 151-207.
- 38 BOYDE, A. (1972). Biological specimen preparation for the scanning electron microscope - an overview. *S.E.M.*, II: 257-264.

- 39 BOYDE, A. (1975). Scanning electron microscopy of enamel surfaces. *Brit. Med. Bul.*, 31: 120-124.
- 40 BOYDE, A. (1976). Do's and don't's in biological specimen preparation for the SEM. *S.E.M.*, I: 683-690.
- 41 BOYDE, A. (1978). Pros and cons of critical point drying for scanning electron microscopy. *S.E.M.*, II: 303-314.
- 42 BOYDE, A. y TAMARIN, A. (1984). Improvement to critical point drying technique for SEM. *Scanning*, 6: 30-35.
- 43 BOYDE, A. y WOOD, C. (1969). Preparation of animal tissues surface-scanning electron microscopy. *J. Microsc.*, 90: 221-229.
- 44 BOYDE, A.; FORTÉLIUS, M.; LESTER, K.S. MARTIN, L.B. (1988). Basis of the structure and development of mammalian enamel as seen by scanning electron microscopy. *Scanning Microscopy*, 2: 1479-1490.



- 45 BRADY, J.M.; GRAY, W.A. y LARA-GARCIA, W. (1975). Localization of bacteria on the rat tongue with scanning and transmission electron microscopy. *J. Dent. Res.*, 54: 777-782.
- 46 BRANNSTROM, M. y GARBEROGLIO, R. (1972). The dentinal tubules and the odontoblast processes: A scanning electron microscopic study. *Acta Odontol. Scand.*, 30: 291-311.
- 47 BROWN, L.J.; OLIVER, R.C. y LOE, H. (1989). Periodontal disease in the U.S. in 1981. Prevalence, severity extent, and role in tooth mortality. *J. Periodontol.*, 60: 363-366.
- 48 BRUNK, U. ; COLLINS, P. y ARRO, E. (1981). The fixation, dehydration, drying and coating of cultured cells for SEM. *J. Microsc.*, 123: 121-131.
- 49 BURKE, J.A. y HOLLAND, P. (1973). Scanning electron microscopy of the mammalian intestinal tract. *Pediatr. Res.*, 7: 337-349.

- 50 BUSS, M. y HOLLWEG, M.G. (1980). Application of SEM to diagnostic pathology. A critical review. S.E.M., I : 139- 153.
- 51 BUTLER, W.T. (1984). Matrix macromolecules of bone and dentine. Coll. Relat. Res., 4: 397-407.
- 52 CABRINI, R.L. (1980). Biopsia y citología exfoliativa. En : Anatomía Patológica bucal. Cabrini, R.L. Ed. Mundi SAIC y F.
- 53 CAÑIZARES, F.J.; CRESPO, P. V. y CAMPOS, A. (1984). Estudio metodológico con Microscopía Electrónica de Barrido de las maculas vestibulares. Laboratorio, 80: 53-44.
- 54 CAÑIZARES, F.J.; CRESPO, P. V. ; GARCIA, J.M.; REVELLES, F. y CAMPOS, A. (1985). Morfoestructura apical de las células neurosensoriales de las maculas . Estudio con microscopía electrónica de barrido. Histol. Med., I: 45-52.



- 55 CARR,K.E.;DUNN,J.S. y TONER,P.G. (1974). Scanning electron microscopy of the alimentary tract. Scot. Med. J. , 19: 211- 220.
- 56 CARR, K.E. y TONER,P.G. (1968). S E M. of rat intestinal villi. Lancet, II: 570-571.
- 57 CARR, K.E. y TONER,P.G. (1972). Surface studies of acute radiation injury in the mouse intestine. Virch. Arch. B., 11: 201-210.
- 58 CARRANZA, F.A. J.r. (1984). Glickman's clinical periodontology. 6th ed. Saunders, Philadeiphia.
- 59 CARRASI,A.; ABATI,S. y SANTARELLI,G. (1988). The role of scanning electron microscopy in periodontal research. Scanning Microscopy. ,2: 1123-1138.

- 60 CHEN, S.Y. y SQUIER, C.A. (1980). The ultrastructure of the oral epithelium. En: The structure and function of the oral mucosa.. Meyer, J.; Squier, C.A. y Gerson, S.J. Eds. Pergamon press. Oxford.
- 61 CHOO, M.I. y GARANT, P.R. (1987). <sup>3</sup>H-Mannose utilization by fibroblasts of the periodontal ligament. Anat. Rec., 218: 5-13.
- 62 CHOO, M.I. y GARANT, P.R. (1988). Ultrastructural evidence of directed cell migration during initial cementoblast differentiation in root formation. J. Periodont. Res., 23: 268-273.
- 63 CHOO, M.I. y GARANT, P.R. (1989). Radioautographic study of <sup>3</sup>H-Mannose utilization during cementoblast differentiation, formation of acellular cementum, and development of periodontal ligament principal fibers. Anat. Rec., 223: 209-222.



- 64 CHRISTOPHERS, E.; WOLF, H.M. y LAWRENCE, E.B. (1974).  
The formation of epidermal cell column. *J. Invest. Der.*, 62:  
555-559.
- 65 CLEATON-JONES, P. (1972). Surface ultrastructure of the  
mucosa of the soft palate in the Vervet monkey. *S. Afr. J. Med.  
Sci.*, 37: 101-104.
- 66 CLEATON-JONES, P. (1973). A comparative study of the  
surface of keratinized and non-keratinized oral epithelia. *J.  
Periodont. Res.*, 8: 366-370.
- 67 CLEATON-JONES, P. (1975). Surface characteristics of cells  
from different layers of keratinized and non-keratinized oral  
epithelia. *J. Periodontal Res.*, 10: 78-87.
- 68 CLEATON-JONES, P. (1976). An ultrastructural study of  
keratinized epithelia in the rat soft palate. *J. Anat.*, 122: 23-29.

- 69 CLEATON-JONES, P.; BUSKIN, S.A. y VOLCHANSKY, A. (1978). Surface ultrastructure of human gingiva. *J. Periodont. Res.*, 13: 367-371.
- 70 CLOSSET, M.; DOUROV, N.; MENU, R. y KAECKENBEECK, A. (1985). *Simonsiella*, bacterie geante: Hote buccal quelque peu meconnu. Etude microbiologique et ultrastructurale. *Bull. Group.int. Rech. Stomat. Odont.*, 28: 163-176.
- 71 COBB, C.M.; RODGERTS, R.L. y KILLOY, W.J. (1988). Ultrastructural examination of human periodontal pocketsw following the use of an oral irrigation device in vivo. *J. Periodont.*, 59: 155-163.
- 72 COHEN, A.L. (1974). Critical point drying. En : *Principles and techniques of Scanning Electron Microscopy*. Ed. Hayat, M.A. Van Nostrand Reinsnhold. New York.



- 73 COHEN, B. (1962). A study of the periodontal epithelium. *Brit. Dent. J.*, 112: 55-65.
- 74 COPE, J. y WILLIAMS, H. (1969). Quantitative studies on the preservation of choline and ethanolamine phosphatides during tissue preparations for electron microscopy. II. Other preparative methods. *J. Microsc.*, 90: 47-68.
- 75 COUJARD, R.; POIRIER, J. y RACADOT, J. (1980). *Precis d'histologie humaine*. Masson .PARIS
- 76 CRESPO, P.V.; MACIAS, F.; MUNOZ, A.; MOLINA, J.A. y CAMPOS, A. (1987). Intestinal epithelial surface in human giardiasis. A SEM study. *Histol. Med.*, III, 2: 175-180.
- 77 CUTRESS, T.W. (1986). Periodontal health and periodontal disease in young people: global epidemiology. *Int. Dent. J.*, 36: 146-151.

- 78 DeBAULT, L.E. (1973). A critical point drying technique for Scanning electron microscopy of tissue culture grown in plastic substratum. S.E.M., 1: 317-324.
- 79 DIXON, A.D. y SARNAT, E.G. (1982). Factors and mechanisms influencing bone growth. Eds. Liss, A.R., Inc. New York.
- 80 DONADO, M. (1983). Anestesia local. En : Exploraciones y tecnicas en cirugia oral. Ed. de la Universidad Complutense. Madrid.
- 81 DOVROV, N y COREMANS, J. (1980). Etude en microscopie electronique a balayage de la candidose linguale experimentale chez le rat. Jour. Biol. Buccale, 8: 161- 173.
- 82 DOUROV, N.; MILAIRE, J. y ARYS, A. (1981). Etude en microscopie electronique a balayage de la surface de la muqueuse linguale de l'embryon et du foetus humains. Bull. Group. Int. Rech. sc. Stomat. et Odont., 24: 219-233.



- 83 ERLANDSEN, S.L.; THOMAS, A. y WENDELSCHAFER, G.  
(1973). A simple technique for correlating SEM with TEM on  
biological tissue originally embedded in epoxy resin for TEM.  
S.E.M., 1: 349-356.
- 84 FARSI, J.M.A. ; SODEK, J. y AUBIN, J. E. (1985).  
Fibronectin-independent attachment of human gingival fibroblast  
to interstitial basement membrane collagens. Expl. Cell. Res.,  
161: 473-483.
- 85 FEE, W.E. Jr. (1989). Biopsies, margins, and frozen sections.  
En : Surgery of the oral cavity. Bailey, B J Year Book Medical  
Publisher
- 86 FEINGOLD, K. R.; MAO-QUIANG, M.; PROKSCH, E.;  
MENON, G. K.; BROWN, B.E. y ELIAS, P. M. (1991) The  
lovastatin-treated rodent: A new model of barrier disruption and  
epidermal hyperplasia. J. Invest. Dermatol., 96: 201-209.

- 87 FEJERSOSKOV,O.; JOSEPHSEN,K. y NYVAD,B. (1984).  
Surface ultrastructure of unerupted mature human enamel.  
Caries. Res.,18: 302-314.
- 88 FISHER,L.W. y TERMINE, J.D.(1985). Noncollagenous  
proteins influencing the local mechanisms of calcification. Clin.  
Orthop., 200: 362-385.
- 89 FRANK,R.M.; FELLINGER,E. y STEUER, P. (1976).  
Ultrastructure du ligament alveolo-dentaire du rat. J. Biol.  
Buccale.,4: 295-313.
- 90 FRANK,R.M. y STEUER,P. (1977).Etude ultrastructural du  
cement cellulaire chez le rat. J. Biol. Buccale., 5: 121-135.
- 91 FRENTZEN,M. y NOLDEN,R. (1987). Der CPITN als  
hilfsmittel zur feststellung von art und umfang des behand-  
lungsbedarfs. Eine studie an mehr als 500 klinikpatienten. Dtsch.  
Zahnarztl. Z., 42: 428-432.



- 92 FURSETH,R. (1965). A microradiographic and ultrastructural study on the mineral phase of sound and carious human dental cementum. M.S. Thesis, Univ. Rochester, New York.
- 93 FURSETH,R. (1967). A microradiographic and electron microscopy study of the cementum of human deciduous teeth. Acta Odont. Scand.,25: 613-645.
- 94 FURSETH,R. (1969). The fine structure of the cellular cementum of young human teeth. Archs. Oral Biol.,14: 1147-1158.
- 95 FURSETH,R. (1970). A microradiographic, light microscopic and electron microscopic study of the cementum of deciduous teeth of pigs. Acta Odontol. Scand.,28: 811-831.
- 96 FURSETH,R. (1974). The fine structure of acellular cementum in young human premolars.Scand. J. Dent. Res.,82: 437-441.



- 97 FURSETH,R. (1977).Further observations on the fine structure of cellular cementum from decidous teeth of pigs. *Calcif. Tissue Res.*, 24: 239-242.
- 98 FURSETH,R. y JOHANSEN, E. (1970). The mineral phase of sound and carious human dental cementum studied by electron microscopy. *Acta Odont. Scand.*,28: 305-322.
- 99 FURSETH,R. y MJÖR,I.A.(1973). Cementum. En: *Histology of the human tooth*. Mjor,I.A. y Pindbörg, J.J. eds. Munksgaard. kopenhagen. pp.: 97-119.
- 100 GARANDINA,G.; BACCHELLI,M.; VIRGILI, A. y STRUMIA, R.(1984). Simorsiella filaments isolated from erosive lesions of the human oral cavity. *J. Clin. Microbiol.*, 19: 931-933.
- 101 GARANT, P.R. y CHOO, M. I. (1979). Citoplasmic polarization of periodontal ligament fibroblasts: Implications for cell migration and collagen secretion. *J. Periodont.Res.*, 14: 107-114.



- 102 GARBEROGLIO,R. y BRANNSTROM,M. (1976). Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. Archs. Oral Biol.,21: 355-362.
- 103 GARNICK, J.J. y R.D. RINGLE. (1988). The dento- gingival junction as seen with light microscopy and electron microscopy. Scanning Microscopy,2: 1113-1122.
- 104 GLAVERT, A.M. (1974). Fixation, dehydration and embedding specimens. En : Practical methods in electron microscopy, 3, Ed. Glauert,A.M. American Elsevier Publishing Co. Inc. New York.
- 105 GOODMAN,W.G. y HORI,H.T. (1984). Diminished bone formation in experimental diabetes: relationship to osteoid maturation and mineralization. Diabetes,3:825-831.
- 106 GOULD,T.R.L. (1983). Ultrastructural characteristics of progenitor cells populations in the periodontal ligament. J. Dent. Res., 62: 873-876.



- 107 GOULD, T.R.L.; MELCHER, A.H. y BRUNETTE, D.M.(1980). Migration and division of progenitor cell populations in periodontal ligament after wounding, *J. Periodont. Res.*, 15: 20-42.
- 108 GUNJI,T y KOBAYASHI,S. (1983). Distribution and organization of odontoblast processes in human dentin. *Arch. Histol. Jap.*,46: 213-219.
- 109 HALAZONETIS, T.D.; HAFFAFEE, A.D. y SOCRANSKY, S.S. (1989). Relationship of clinical parameters to attachment loss in subsets of subjects with destructive periodontal diseases. *J.Clin. Periodontol.*,16: 563-568.
- 110 HAM, A.W. y CORMACK, D.H. (1979). *Histology*. J.B. Lippin Cott. Toronto.
- 111 HANSEN, B.F.; GJERMO, P. y BERGWITZ-LARSEN, K. R. (1984). Periodontal bone loss in 15-year-old Norwegians. *J. Clin. Periodont.*, 11: 125-131.



- 112 HARRIS, J.E. y HUNT, S. (1975 a). The fine structure of the epidermis of two species of salmonid fish, the atlantic salmon (*Salmo salar L.*) and the brown trout (*Salmo trutta L.*). I general organization and filament containing cells. Cell. Tiss. Res., 157: 553-565.
- 113 HARRIS, J.E. y HUNT, S. (1975 b). The fine structure of the epidermis of two species of salmonid fish, the atlantic salmon (*Salmo salar L.*) and the brown trout (*Salmo trutta L.*). II Mucus cells. Cell. Tiss. Res., 163: 535-543.
- 114 HASSEL, T.M. y STANECK, E.J. (1983). Evidence that healthy human gingiva contains functionally heterogeneous fibroblasts subpopulations. Arch. Oral Biol., 82: 617-625.
- 115 HAYASHI, Y. (1987). Ultrastructure of cementum formation on partially formed teeth in dogs. Acta Anat., 129: 279-288.
- 116 HAYAT, T.K. (1974-1978). Principles and techniques of Scanning Electron Microscopy. Vol. (1-6). Ed. Van Nostrand Reinhold. New York.



- 117 HAYKEL, Y. y FRANK, R.M. (1982). Microscopie electronique a Balayage de la surface d'email aprismatique normal et carie de dents temporaires humaines. J. Biol. Buccale., 10: 111-124.
- 118 HAYWARD, H.F. y HACKERMAN, M. (1973). Electron microscopy of membrane-coating granules and a cell surface coat in keratinized and non-keratinized human oral epithelia. J. Ultrastr. Res., 43: 205-219.
- 119 HENNE, H.A.; FLORES, L. y ZAFIROPOULOS, G.G. (1988). Epidemiologische untersuchungen des parodontalzustandes bei bundeswehrsoldaten nach anwendung des CPITN. Dtsch. Zahnarzt. Z., 43: 696-700.
- 120 HENRIKSON, R.C. y MATOLTSY, A.G. (1968). The fine structure of teleost epidermis I. Introduction and filament containing cells. J. Ultrastruc. Res., 21: 194-212.
- 121 HERTING, H.C. (1962). Elektronenmikroskopische Untersuchungen tber das zahnwurzelzement des menschen. Arch. Oral Biol, Suppl ORCA, pp: 303-312.



- 122 HERTING, H.C. (1964). Comparision micromorphologique des trames organiques du cement et de la dentine. Bull. Group. Int. Recn. Sc. Stomat., 7: 353-360.
- 123 HIGHISON, G.J. y LOW, F.N. (1982). Microdissection by ultrasonication after prolonged Os O4 fixation: A technique for Scanning Electron Microscopy. J. Submicrosc. Cytol., 14: 161-170.
- 124 HODGKINS, J.F.W.; WATKINS, R. y WALTER, D.M. (1978). Correlated scanning and transmission electron microscopy of cells surfaces at various levels in human gingival epithelium. Archs. Oral Biol., 23:355-360.
- 125 HOFFMAN, S.; McEWEN, W.S. y DREW, C.M. (1969). Scanning electron microscope studies of dental enamel. J. Dent. Res., 48: 242-250.
- 126 HOWLETT, J.A. (1976). The infection of rat tongue mucosa in vitro with five species of candida. J. Med. Microbiol., 9: 309-315.



- 127 HUDSPETH, A.J. y JACOBS, R. (1979). Stereocilia mediate translation in vertebrate hair cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 76: 1506-1509.
- 128 HUME, W.J. (1983). Stem cells in oral epithelia. En : Stem cells. Their identification and characterization. Potten, S. Ed. Churchill Livingstone.
- 129 HUMPHREYS, W.J.; SPURLOCK, B.O. y JOHNSON, J.S. (1978). Critical point drying of criofractured specimens. En : Principles and techniques of S.E.M. Ed. Hayat, M.A. Van Nostrand Reinhold Co. New York.
- 130 ISOKAWA, S.; YOSHIDA, M.; KOMURO, A. y IWATAKE, Y. (1972). A preliminary study on the peritubular structure of human dentinal tubules by scanning electron microscopy. Nihon. Univ. Sch. Dent. J., 14: 122-125



- 131 ISOMAKI, A.M. (1973). A new cell type (tuft cell) in the gastrointestinal mucosa of the rat. A transmission and scanning electron microscopic study. *Acta Pathol. Microbiol. Scand., (A)*, Suppl. 240: 1-35.
- 132 JANDE, S.S. y BELANGER, L.F. (1970). Fine structural study of rat molar cementum. *Anat. Rec.*, 167: 439-463.
- 133 JAQUES, W.E.; COALSON, J. y ZERVINS, H. (1965). Application of the scanning electron microscope to human tissues. A preliminary study. *Exp. Mol. Pathol.*, 4: 576-597.
- 134 JHONSON, R.B. (1983). A new look at the mineralized and unmineralized components of intraosseous fibers of the interdental bone of the mouse. *Anat. Rec.*, 206: 1-9.
- 135 JHONSON, R.B. (1984). Effects of bone remodeling on continuity of transalveolar fibers of the mouse periodontium. *J. Periodont. Res.*, 19: 512-519.



- 136 JHONSON, R.B. (1985). Effects of experimental diabetes mellitus on alveolar bone loss in periodontal disease-susceptible mice. *J. Periodont. Res.*, 20: 307-316.
- 137 JHONSON, R.B. (1987). A classification of Sharpey's fibers within the alveolar bone of the mouse: A high-voltage electron microscope study. *Anat. Rec.*, 217: 339-347.
- 138 JHONSON, R.B. (1988). Proteoglycans of alveolar bone of diabetic and non diabetic mice: A histochemical study. *Histol. Histopath.*, 3: 283-290.
- 139 JHONSON, R.B. Y CARLSON, E.C. (1989). Alveolar bone of BB/W rats: A morphometric and histochemical study. *Histol. Histopath.*, 4: 7-15.
- 140 JHONSON, R.B. y HIGHHSION, G.J. (1983). A re-examination of the osteocytic network of interdental bone. *J. Submicrosc. Cytol.*, 15: 619-625.



- 141 JHONSON,R.B. y LOW, F.N. (1982).Development of intraosseus fibers of the mouse periodontium: A high-voltage electron microscopic study. Am.J.Anat.,163: 327-335.
- 142 JONES,S.J. y BOYDE,A. (1974). The organization and gross mineralization patterns of the collagen fibers in Sharpey fiber bone. Cell. Tissue Res.,148: 83-96.
- 143 JONES,M.P.; HOLLIDAY, F.G.T. y DUNN, A.E.G.(1966). The ultrastructure of the epidermis of larvae of the herring (*Clupea Arengus*) in relation to the rearing salinity. J. Mar. Biol. Assn., 46: 235-239.
- 144 JUNGELL,P.; MALMSTROM, M.; WARTIOVAARA, J. y KONTTINEN, Y. (1987). Ultrastructure of oral leukoplakia and lichen planus. II. A correlated scanning and transmission electron microscopic study of epithelial surface cells. J. Oral Pathol., 16: 287-293.



- 145 JUNQUEIRA, L.C.U.; TOLEDO, A.M.S. y PORTER, R.K. (1970). Observations on the structure of the skin of the teleost *Fundulus Heteroclitus*. Arch. Histol. Jap.,32: 1-15.
- 146 KAQUELER, J.C.; DECOMBAS, M. y LEMAY, O. (1989). La muqueuse Buccale. En: Structures Bucco-dentaires en microscope electronique a Balayage. Masson . Paris. p.p. 125-132.
- 147 KARRIG, T. y LOE, H. (1970). The three dimensional concept of the epithelium-connective tissue boundary of gingiva. Acta Odont. Scand.,28: 917-933.
- 148 KENEDY, M.J.; VOLZ, P.A.; EDWARDS, C.A. y YANCEY, R.J. (1987). Mechanisms of association of candida albicans with intestinal mucosa. J. Med. Microbiol.,24: 331-341.
- 149 KENEMANS, P.; DAVINA, J.H.M.; De HAAN, R.W.; Ven Der ZANDEN, P.; VOOYS, G.P.; STOLK, J.G. y STADHOUDERS, A.M. (1981). Cell surface morfology in epithelial malignancy and its precursor lessions. Scanning Electron Microsc., III: 23-36.



- 150 KIMMEL, D.B. y JEE, W.S.S. (1982). A quantitative histologic study of bone turnover in young adults beagles. *Anat. Rec.*, 203:31-45.
- 151 KLEIN-SZANTO, A.J.P. y SCHRÖEDER, H.E. (1977). Architecture and density of the connective tissue papillae of the human oral mucosa. *J. Anat.*, 123: 93-109.
- 152 KNOLL, M. (1935). Static potential of bodies under electron irradiation. *Tec. Phys.*, 16: 467-471.
- 153 KOMURO, T. (1985). Fenestrations of the basal lamina of intestinal villi of the rat. *Scanning and transmission electron microscopy. Cell tissue Res.*, 239: 183-188.
- 154 KUBOTA, K.; SEKIKAWA, M; SHIMAMURA, M. y NAJAKIMA, T. (1978). A scanning electron microscope consideration of the structure of peritubular dentin. *Nihon. Univ. Sch. Dent. J.*, 20: 1-5.

- 155 KULLA-MIKKONEM, A. (1986 a). Scanning electron microscopic study of surface of human oral mucosa. Scand. J. Dent. Res.,94: 50-5 .
- 156 KULLA-MIKKONEM,A. (1986 b). Geographic tongue: a SEM study. J. Cut. Pathol.,13: 154-162.
- 157 KULLA-MIKKONEM,A. (1987). Scanning electron microscopy in oral mucosa research: A review.Scanning Microscopy, 1: 1145-1155.
- 158 KULLA-MIKKONEM,A. y SORVARI,T.E. (1985). A scanning electron microscopic study of the dorsal surface of human tongue. Acta Anatomica ,123: 114-120.
- 159 KULLA-MIKKONEM,A. y SORVARI,T.E. (1986). A scanning electron microscopic study of fissured tongue. J. Oral Pathol., 15,93-97.



- 160 KURIHARA,S. y ENLOW, D.H. (1980). An electron microscopic study of attachments between periodontal fibers and bone during alveolar remodeling. *Am. J. Orthod.*,77: 516-531.
- 161 KURIHARA,S. y ENLOW, D.H. (1980).A histochemical and electron microscopic study of an adhesive type of collagen attachment on resorptive surfaces of alveolar bone. *Am.J. Orthod.*, 77: 532-546.
- 162 LACROIX,B.; KEDINGER,M.; SIMON-ASSMANN,P y HAFFEN,K. (1984). Early organogenesis of human small intestine: scanning electron microscopy and brush border enzymology.,*Gut.* 25: 925-930.
- 163 LANG,N.P. y LOE, H. (1972). The relationship between the width of keratinized gingiva and gingival health. *J. Periodontol.*,43: 623-627.
- 164 LANGE D.E. y SCHRÖEDER, H.E. (1971) Citochemistry and ultrastructure of gingival sulcus cells. *Helv. Odont. Acta.*,15: 65-86.



- 165 LAVKER,R.M. y SUN, J.J. (1983). Epidermal stem cells. J. Invest. Dermatol.,81 : 121.
- 166 LESTER,K.S. (1969). The incorporation of epithelial cells by cementum. J. Ultrastruct. Res.,27: 63-87.
- 167 LILJENBERJ,B. y LINDHE.J. (1980). Juvenile periodontitis. Some microbiological, histopathological and clinical characteristics. J. Clin. Periodont., 7: 48-53.
- 168 LIM,D.J. (1973). Formation and fate of the otoconia. Scanning and Transmission electron microscopy. Ann. Otol. Rhinol. Laringol., 82: 23-36.
- 169 LINDHE.J. (1986). Periodontologia clinica. Ed. medica Panamericana. Buenos Aires.
- 170 LINDHE,J.; CKAMOTO,H. y YONEYAMA,T. (1989). Longitudinal changes in periodontal disease in untreated subjets. J. Clin. Periodontol.,16: 662-667.



- 171 LINSS, W. (1969). Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Oesophagus des hechtes (*Esox lucius* L.) III. Die feinstruktur der indifferenten Zellen des epithels. *Anat. Anz.*, 125: 113-127.
- 172 LISGARTEN, M.A. (1972). Normal development, structure, physiology and repair of the gingival epithelium. *Oral Science Review*, 1: 3-12.
- 173 LISGARTEN, M.A. (1975). Afibrillar dental cementum in the rat and hamster. *J. Periodont. Res.*, 10: 158-167.
- 174 LISSAU, I.; HOLTS, D. y HASCHO, F. (1990). Dental health behaviours and periodontal disease indicators in danish youth. A ten-year epidemiological follow-up. *J. Clin. Periodontol.*, 17: 42-47.
- 175 LIU, C.C. y BAYLINK, D.J. (1984). Differential response in alveolar bone osteoclasts residing at two different bone sites. *Calcif. Tissue Int.*, 36: 397-405.



- 176 LÖE, H.; ANERUD, A.; BOYSEN, H. y MORRISON, E. (1986).  
Natural history of periodontal disease in man. *J. Clin. Periodont.*, 13: 431-440.
- 177 LOW, F.N. y McCLUGAGE, S. (1984). Microdissection by  
ultrasonication: S.E.M. of the epithelial basal lamina of the  
alimentary canal in the rat. *Am. J. Anat.*, 169: 137-147.
- 178 LOWE, G.A. y McLEOD, N.K. (1975). The ultrastructural  
organization of olfactory epithelium of two species of gadoid fish.  
*J. Fish. Biol.*, 7: 529-532.
- 179 LUCAS, T. (1988). *Medicina oral*. Salvat Eds. Barcelona.
- 180 LUSE, S.A. y KREJSA, R.J. (1969). A correlative  
ultrastructural and scanning electron microscopic study of the  
golden guppy (*Poecilia reticulata*). *Anat. Rec.*, 163: 220-221.
- 181 MACKENZIE, I.C. (1975). Ordered structure of the epidermis.  
*J. Invest. Dermatol.*, 65: 45-51.



- 182 MACKENZIE, I.C. y HILL, M.W. (1984). Connective tissue influences on patterns of epithelial architecture and keratinization in skin and oral mucosa of the adult mouse. *Cell. tissue Res.*, 235: 551-559.
- 183 MAEDA, T.; SATO, O.; KOBAYASHI, S.; IWANAGA, T. y FUJITA, T. (1989). The ultrastructure of Ruffini endings in the periodontal ligament of the rat incisors with special reference to the terminal schwann cells (K-cells). *Anat. Rec.*, 223: 95-103.
- 184 MALCOM, S.A. y HUGHES, T.C. (1980). The demonstration of bacteria on and within the stratum corneum using scanning electron microscopy. *Br. J. Dermat.*, 102: 267-275.
- 185 MALICK, L.E. y WILSON, R.B. (1975). Evaluation of modified technique for S.E.M. examination of vertebrate specimens without evaporated metal layers. *S.E.M.*, II: 259- 266.
- 186 MANIATOPOULOS, C. y SMITH, D.C. (1983). A scanning electron microscopic study of the odontoblast process in human coronal dentine. *Archs. Oral biol.*, 28: 701-710.



- 187 MANSON, J.D. (1989). Outline of periodontics. 2nd. Ed. Butterworth & Co. (publishers) Ltd.
- 188 MAROVITZ, W.F.; ARENBERG, I.K. y THALMANN, R. (1970). Evaluation of preparative technique for the scanning electron microscope. Laryngoscope., 80: 1680-1697.
- 189 MARSH, H.N. y SWIFT, J.A. (1969). A study of the small intestinal mucosa using the S.E.M. Gut., 10: 940-949.
- 190 MARSH, H.N.; SWIFT, J.A. y WILLIAMS, E.D. (1968). Studies of small intestinal mucosa with the scanning electron microscope. Brit. Med. J., 4 : 95-96.
- 191 MARTIN, A. y LUNA, J.D. (1988) . Bioestadística para las ciencias de la salud. 2.Ed. Ed. Norma S.A. Las Rozas MADRID.
- 192 MARTIN, A.; LUNA, J.D.; SANCHEZ-CANTALEJO, E. y BOLANOS, M.J. (1986) Bioestadística. 3. Ed. Ed. Luz. Granada.



- 193 MARTINEZ,R.H.y JHONSON,R.B. (1988).Effects of orthodontic tooth movement on the alcian blue staining patterns of rat alveolar bone: An histochemical study. *Histol. Histopath.*,3:39-47.
- 194 MATRAVERS,J. y TYLDESLEY,W.R.(1978). Scanning electron microscopy of oral epithelial cells.Part I. Normal and malignant tissue.*Brit.J. Oral Surg.*, 15: 193-202.
- 195 MATRAVERS,J. y TYLDESLEY,W.R.(1978). Scanning electron microscopy of oral epithelial cells.Part II.Potentially malignant lesions (A computer assisted study). *Brit.J. Oral Surg.*, 15: 203-214.
- 196 McCULLOCH,C.A.G. (1985). Progenitor cell populations in the periodontal ligament of mice. *Anat. Rec.*, 211:258-262.
- 197 McCULLOCH,C.A.G. y MELCHER,A.H. (1983). Cell density and cell generation in the periodontal ligament of mice.*Am. J. Anat.*,167: 43-58.



- 198 McCULLOCH,G.A.C. y MELCHER,A.H. (1985). Influence of periodontal ligament on osteogenesis. Arch. Ora!.Biol., 15: 1183- 1204.
- 199 McCULLOCH,C.A.G.; BARGHAVA,U. y MELCHER,A.H. (1988). Cell death and the regulation of populations of cells in the P.L.
- 200 McFALL,W.T.;BADER,J.D.; RAZTER,R.G.; RAMSEY,D.; GROVES.R. ;SAMS,D. y SLOANE,B. (1989).Clinical periodontal status of regulary attending patients in general dental practice. J. Periodontol.,60: 145-148.
- 201 McMILLAN,M.D.(1979a). The surface structure of the completely and incompletely orthokeratinized oral epithelium in the rat: A light, scanning and transmission electron microscope study. Am.J. Anat., 156: 337-352.



- 202 McMILLAN, M.D. (1979b). The complementary structure of the superficial and deep surfaces of the stratum corneum of the hard palate in the rat. A scanning and transmission electron microscope study. *J. Periodont. Res.*, 14: 492-502.
- 203 MELCHER, A.H. (1980). Periodontal ligament. En: *Orban's oral histology and embryology*, 9th ed. Bhaskar, S.H. Ed. C.V. Mosby, Toronto.
- 204 MELCHER, A.H. y CHAN, J. (1981). Phagocytosis and digestion of collagen by gingival fibroblast in vivo: A study of serial sections. *J. Ultrastruct. Res.*, 77: 1-36.
- 205 MELCHER, A.H.; CHEONG, T.; COX, J.; NEMETH, E. y SHIGA, A. (1986). Synthesis of cementum-like tissue in vitro by cells cultured from bone: A light and electron microscopic study. *J. Periodont. Res.*, 21: 592-612.



- 206 MELLER, S.M.; COPPE, M.R.; ITO, S. y WATERMAN, R.E. (1973). T.E.M. of the critical point dried tissue after observation in the S.E.M. *Anat. Rec.*, 176: 245-252.
- 207 MENTON, D.N. (1976). A minimum surface mechanism to account for the organization of cells into columns in the mammalian epidermis. *Amer. J. Anat.*, 145: 1-22.
- 208 MERREL, B.R.; WALKER, R.I. y JOSEPH, S.W. (1984). In vitro and in vivo pathologic effects of *Vibrio parahaemolyticus* on human epithelial cells. *Can. J. Microbiol.*, 30: 381-388.
- 209 MERRILEES, M.J. (1974). Epidermal fine structure of the teleost *Esox americanus* (Esocidae, Salmoniformes). *J. Ultrastructure Res.*, 47: 272-283.



- 210 MILLER, A.J.; BRUNELLE, J.A.; CARLOS, J.P.; BROWN, L. J. y LOE, H. (1987). Oral health of United States Adults. National findings. US Department of Health and Human Services. Public Health Service. National Institute of Health.
- 211 MORGENROTH, K. y MORGENROTH, K. Jr. (1970). Vergleichende stomatoskopische und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen von Mundschleimhautveränderungen. Dt. Zahnarz. Z., 25: 199-207.
- 212 MORGENROTH, K. y MORGENROTH, K. Jr. (1970). Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zur Morphologie der Leukoplakie der Mundhöhle. Dt. Zahnarz. Z., 25: 1054-1060.
- 213 MORRIS, G.M. y HOPEWELL, J.W. (1990). Epidermal cell kinetics of the pig: a review. Cell tissue kinet., 23: 271-282.



- 214 MOXEY, P.C. y TRIER, J.S. (1979). Development of villus absorptive cells in the human fetal small intestine: A morphological and morphometric study. *Anat. Rec.*, 195: 463-482.
- 215 MURRAY, E.J. ; MESSER, H.H. Y ALAMOUDI, M. (1982). Mandibular bone turnover during calcium deficiency in the rat. *J. Dent. Res.*, 61: 1107-1109.
- 216 NAIR, P.N.R. y SCHRÖEDER, H.E. (1981). Variation and density of microprojections in superficial cell of the normal oral lining mucosa in the monkey macacus fascicularis. *Archs. Oral Biol.*, 26: 837 - 843.
- 217 NARAYAN, A.S. y PAGE, R.C. (1983). Connective tissues of the periodontium: A summary of current work. *Collagen Rel. Res.*, 3: 33-64.



- 218 NEMETH,E.; McCULLOCH,C.A.G. y MELCHER,A.H. (1989). Coordinated regulation of endothelial and fibroblast cell proliferation and matrix synthesis in periodontal ligament adjacent to appositional and resorptive bone surfaces. *Anat. Rec.*, 223: 368-375.
- 219 NEWMAN,H.N. y POOLE,D.F.G. (1974). Observations with scanning and transmission electron microscopy on the structure of human surface enamel. *Archs. Oral Biol.* , 19: 1135-1143.
- 220 OATLEY,C.W. (1966). The Scanning electron microscope. *Scientific progress*, 54: 438-498.
- 221 OATLEY,C.W.;NIXON,W.C. y PEASE,R.F. (1965). Scanning electron microscopy advances in electronics and electron. *Physics*..21: 181-187.

- 222 OLSON, K.R. y FROMM, P.O. (1973). A scanning electron microscopic study of secondary lamellae and chloride cells of rainbow trout (*salmo gairdneri*). Z. Zellforsch., 143: 439-449.
- 223 OLSON, D.P.; WAXLER, G.L. y ROBERTS, A.W. (1973). Small intestinal lesions of transmissible gastroenteritis in gnotobiotic pigs: a scanning electron microscopy study. Am. J. Vet. Res., 34: 1239-1245.
- 224 OWENS, P.D.A. (1974). A light microscopy study of the development of the roots of premolar teeth in dogs. Arch. Oral Biol., 19: 525-538.
- 225 PAGE, R.C. y SCHRÖEDER, H. (1982). Periodontitis in Man and other animals. A comparative review. Basel, Krager, S. Switzerland.



- 226 PALADE,G.E. (1952). A study of fixation for electron microscopy. J. Exp.Med., 95 : 285-289.
- 227 PERRY,D.A. y NEWMAN,M.G. (1990). Occurrence of periodontitis in an urban adolescent population. J. Periodontol.,61: 185-190.
- 228 PFEIFFER,C.J.; PFEIPFER,D.C. y MISRA,H.P. (1987). Enteric serosal surface in the piglet. A scanning and transmission electron microscopic study of the mesothelium. J. Submicrosc. Cytol., 19,2: 237-246.
- 229 PILOT,T. y MIYAZAKI, (1991). Periodontal conditions in Europe. J. Clin. Periodontol.,18: 353-358.
- 230 PINDBÖRG, J.J. (1986). Atlas de enfermedades de la mucosa oral. 4 Ed. Salvat Eds. Barcelona.

- 231 POIRIER, J. (1987). *Histologia humana*. Ed. Marban. Madrid.
- 232 POPOFF, S.N. y SCHNEIDER, G.B. (1986). Processing of concanavalin A-receptor complexes by rat osteoclast in vitro. *Am.J. Anat.* 175: 53-64.
- 233 POTTEN, C.S. (1974). The epidermal proliferative unit. The possible role of the central basal cell. *Cell Tissue kinet.*, 7: 77-88.
- 234 POTTEN, C.S. y HENDRY, J.H. (1973). Clonogenic cell and stem cells in epidermis. *Int. J. Radiat. Biol.*, 24: 537-540.
- 235 QUIGLEY, M.B. (1970). Perforating (Sharpey's) fibers of the periodontal ligament and bone. *Ala. J. Med. Sci.*, 7: 336-342.
- 236 RAMFJÖRD, S.P. ; ASH, M.M. y SPRANGER, H. (1984). *Parodontologie. Zahnärztlich-Medizinisches Schrifttum*, Munchen.



- 237 RATEITSCHAK, K.H.; RATEITSCHAK, E.M. y WOLF, H.E.  
(1991). Atlas de Periodoncia. 2a. Ed. Salvat Eds. S.A.  
Barcelona.
- 238 REICHART, P.; BÖNING, W.; SRISUWAN, S.;  
THEETRANONT, C. y MOHR, U. (1984). Ultrastructural  
findings in the oral mucosa of betel chewers. J. Oral Pathol., 13:  
166-171.
- 239 RISNES, S. (1985). A scanning electron microscope study of the  
three dimensional extent of Retzius lines in human dental  
enamel. Scand. J. Dent. Res., 93: 145-152.
- 240 ROBERTS, W.E. ; GOODWIN, W.C. Y HEIMER, S.R.  
(1981). Cellular responses to orthodontic force. Dental Clinics of  
North America : 3-17.
- 241 ROBERTSON, A.G.; WILSON, P.; WILSON, D.J.; CARR,  
K.E. y HUNTER, I. (1987). Microplication patterns on human  
buccal epithelia following radiotherapy: a scanning electron  
microscopic analysis. J. Submicrosc. Cytol., 19: 515-521.

- 242 ROBINSON,G. y TERRAS,S. (1982). Electron microscopy 3: Specialised techniques. En : Theory and practice of histological techniques. Eds. Brancroft, J.D. y Stevens, A. Churchill livingstone. London.
- 243 RUBIO,C.A. y KRANZ, I. (1976). The exfoliating cervical epithelial surface in dysplasia, carcinoma in situ and invasive squamous carcinoma. Acta Cytol.,20: 144-140.
- 244 RYGH,P. (1976). Ultrastructural changes in tension zones of rat molar periodontium incident to orthodontic tooth movement. Am. J. Orthodont.,70: 269-281.
- 245 RYGH,P. (1984).Periodontal responses to orthodontic forces. In: Malocclusion and the periodontium. McNamara,J.A. y Ribbens, K.A. Eds.,Ann Arbor, University of Michigan.



- 246 SABATINI, L.D.; BENSCH, K. y BARNETT, R.J. (1963). Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. *J. cell. biol.*, 17: 19-58.
- 247 SAGLIE, F.R. (1988). Scanning Electron Microscope and intragingival microorganisms in periodontal diseases. *Scanning Microscopy*, 2: 1535-1540.
- 248 SAGLIE, F.R.; CARRANZA, F.A. Jr.; NEWMANN, M.G. y PATTISON, G.A. (1982). Scanning electron microscopy of the gingival wall of deep periodontal pockets in humans. *J. Periodontal Res.*, 17: 284-293.
- 249 SALAGARAY, F. y SALAGARAY, V.M. (1982). La anestesia en odontoestomatología. Hoesch iberica, S.A.

- 250 SATO, O.; MAEDA, T. ; IWANAGA, T. y KOBAYASHI, S.  
(1939). Inervation of the incisors and periodontal ligament in  
several rodents: An immunohistochemical study of neuro-  
filament protein and glia-specific S-100 protein. Acta Anat. ,134:  
94-99.
- 251 SATOH, Y-I. ; NAGASHIMA, Y.; OOMORI, Y.;  
SHIKAWA, K.; MATOBA, M. y ONO, K. (1985). Scanning  
Electron microscopical observations on the isolated mucosa of rat  
small intestine: with special reference to the intestinal cript. Anat.  
Anz., 159: 305-309.
- 252 SAXEN, L. ,(1980). Prevalence of juvenile periodontitis in  
Finland. J. Clin. Periodont., 7: 177-186.
- 253 SCHEVEN, B. A. ; ELIZABETH, W. M. ;  
KAWILERANAG-DeHAAS, E. W.; WASSENAR, A. y  
NIJWEIDE, P. J. (1986). Diferentiation kinetics of osteoclasts in  
the periosteum of embriologic bones in vivo and in vitro. Anat.  
Rec., 214: 418-423.



- 254 SCHILWA, M. (1975). Cytoarchitecture of surface layer cells of teleost epidermis. *J. Ultrastruct. Res.*, 52: 377-386.
- 255 SCHRÖEDER, H.E. (1986). *The periodontium*. Springer. Berlin.
- 256 SCHRÖEDER, H.E. (1987). *Orale strukturbiologie. Entwicklungsgechichte, struktur und funktion normaler hart- und weichgewebe der mundhole und des kiefergelenks*, 3. Aufl. Thieme, Stuttgart.
- 257 SCHRÖEDER, H.E. y LISTGARTEN, M.A. (1977). *Fine structure of the developing epithelial attachment of human teeth*. 2nd. ed. Krager, Basel.
- 258 SELVIG, K.A. (1965). The fine structure of human cementum. *Acta Odont. Scand.*, 23: 423-441.
- 259 SELVIG, K.A. (1967). *Studies on the genesis, composition and fine structure of cementum*. Thesis. Univ. Bergen. Norway.

- 260 SELVIG, K.A. (1968). Pa hvilke mater skiller tannsementen seg fra benev. Norske Tannlaegeforen Tid., 78: 71-86.
- 261 SELVIG, K.A. (1972). The crystal structure of hydroxyapatite in dental enamel as seen with the electron microscope. J. Ultrastruct. Res., 41: 369-375.
- 262 SHAFIK, S.S.; ZAKI, A.E.; ASHRAFI, S.H.; NOUR, Z.M. y ELNESR, N.M. (1987). Comparision of scanning and transmission electron microscopy of the epithelial pocket wall in juvenile and adult periodontitis. J. Periodontol, 58: 535-543.
- 263 SHEILMAN, A. (1991). Public health aspects of periodontal diseases in Europe. J. Clin. Periodontol., 18: 362- 370.
- 264 SIRE, J.Y.; HUYSSEUNE, A. y MEUNIER, F.J. (1990). Osteoclast in teleost fish: light and electron microscopical observations. Cell tissue Res., 260: 85-94.



- 265 SKOUGAARD, M.R. (1970). Cell renewal with special reference to the gingival epithelium. En: Advances in oral biology. Staple, P.H. Vol. 4. Academic Press, New York.
- 266 SNELL, R.S. (1984). Clinical and functional histology. Little Brown. Boston.
- 267 SOCRANSKY, S.S.; HAFFAJEE, A.D.; GCODSON, J.M. y LINDHE, J. (1984). New concepts of destructive periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 11: 21-32.
- 268 SOMERMAN, M.J.; FOSTER, R.A.; IMM, G.M.; SAWK, J.J. y ARCHER, S.Y. (1989). Periodontal ligament cells and gingival fibroblasts respond differently to attachment factors in vitro. J. Periodont., 60: 73-79.
- 269 SPECIAN, R.D. y NEUTRA, M.R. (1979). Goblet cells: membrane loss during rapid secretion. J. Cell. Biol., 83: 429-435.

- 270 SPERRY, D.G. y WASSERSUG, R.J. (1976). A proposed function of microridges on epithelial cells. *Anat. Rec.*, 185: 253-258.
- 271 SQUIER, C.A. (1977). Membrane coating granules in non keratinizing oral epithelium. *J. Ultrastruct. Res.*, 60: 212-220.
- 272 SQUIER, C.A. Y HOOPS, R.M. (1976). A study of the permeability barrier in epidermis and oral epithelium using horseradish peroxidase as a tracer in vitro. *Br. J. Dermatol.*, 95: 123-129.
- 273 SQUIER, C.A.; COX, P. y WERTZ, P.W. (1991). Lipid content and water permeability of skin and oral mucosa. *J. Invest. Dermatol.*, 96: 123-126.
- 274 STAMM, J.W. (1986). Epidemiology of gingivitis. *J. Clin. Periodontol.*, 13: 360-366.



- 275 STERN, I.B.(1964).An electron microscopic study of the cementum. Sharpey's fibers and periodontal ligament in the rat incisor. Am. J. Anat.,115: 377-410.
- 276 STERN,I.B. (1965). Electron microscopic observations of oral epithelium.I. Basal cells and basement membrane. Periodontics, 3: 224-238.
- 277 SUOMI,J.D. y BARBANO, J.P. (1968). Patterns of gingivitis. J. Periodontol., 39: 71-77.
- 278 SWIFT,J.A. y MARSH, M.N. (1968). S.E.M. of rat intestinal microvilli. Lancet , II: 915-916.
- 279 SZABO,J.; SZABO,I. y TROMBITAS,K. (1985). Interodontoblastic fibres in human dentine observed by scanning electron microscopy. Archs. Oral Biol., 30: 161-165.

- 280 SZABO,J.; TROMBITAS,K. y SZABO,I. (1985). Scanning electron microscopy of the walls of tubules in human coronal dentine. *Archs. Oral Biol.*, 30: 705-710.
- 281 TAKAGI,T. ;SAITO, H. y ASO, N. (1976). Mechanism on the differentiation of microridges. Scanning electron microscopy of the surface structures of epithelial cells of the developing of human tongue. *Jap. J. Oral Biol.*, 18: 418- 434.
- 282 TAKAHASHI-IWANAGA,H. y FUJITA,T. (1985). Lamina propia of intestinal mucosa as a typical reticular tissue. A scanning electron microscopic study of the rat jejunum. *Cell Tissue Res.* , 242: 57-66.
- 283 TEN CATE,A.R. (1985). Oral histology: Development, structure and function. Mosby Company . Toronto.



- 284 THOMAS, H.F. y CAPELLA, P. (1983). A scanning electron microscopic study of dentinal tubules from un-erupted human teeth. *Archs. Oral Biol.*, 28: 1125-1130.
- 285 TONER, P.G. y CARR, K.E. (1969). The use of SEM in the study of the intestinal villi. *J. Pathol.*, 97: 611-617.
- 286 TUKEY, J.W. (1949). The simplest signed rank test. Memorandum Report N. 17 Statistical Research group. Princeton. New Jersey.
- 287 UEHARA, K.; MYOSHI, M. y MYOSHI, S. (1990). Actin filaments in microvilli of the oral mucosa epithelium in the carp *Cyprinus carpio*. *Cell tissue Res.*, 261: 419-422.
- 288 VAKEVA, L.; MACKIE, E.; KANTOMAA, T. y THESLEFF, I. (1990). Comparison of the distribution patterns of tenascin and alkaline phosphatase in developing teeth, cartilage, and bone of rats and mice. *Anat. Rec.*, 228: 69-76.

- 289 VIGNERY, A. y BARON, R. (1980). Dynamic histomorphometry of alveolar bone remodeling in the adult rat. Anat. Rec., 196: 191-200.
- 290 VON ARDENE, M. (1938). Scanning electron microscope practical considerations. J. Phys., 109: 533-540.
- 291 WATTS, T.L.P. (1989). Probing site configuration in patients with untreated periodontitis. A study of horizontal positional error. J. Clin. Periodontol., 16: 529-531.
- 292 WARD, H.L. y SIMRIN, M. (1978). Manual of clinical periodontics. 2nd. Ed. Mosby, St. Louis.
- 293 WARSHAWSKY, H. (1987). External shape of enamel crystals. Scanning Electron Microsc., 1: 1913-1923.



- 294 WASSERSUG, R.J. y JOHNSON , R.K. (1976). A remarkable pyloric caecum in the evermannellid genus *Coccorella* with notes on gut structure and function in alepisauroid fishes (Pisces Myctophiformes). *J. Zool., Lond.* 179: 273-289.
- 295 WAXLER,G.L. (1972). Lesions of transmissible gastroenteritis in the pig as determined by scanning electron microscopy. *Am. J. Vet. Res.*, 33: 1323-1328.
- 296 WEISS,L. (1983). *Histology. Cell and tissue biology.* Elsevier .New York.
- 297 WELLINGS,S.R.; CHUINARD, R.G. y COOPER,R.A. (1967). Ultrastructural studies of normal skin and epidermal papillomas of the flat head sole, *Hippoglossoides elassodon*. *Z.Zellforsch.*, 78: 370-387.
- 298 WENSTRÖN,J.L. (1982). Keratinized and attached gingiva. Regenerative potential and significance for periodontal health. Thesis. Goteborg.

- 299 WENNSTRÖN, J.L. y PAPAPANOU, P.N. (1990). A ten-years retrospective study of periodontal disease progressum. Clinical characteristics of subjectics with pronounced and minimal disease development. *J. Clin. Periodontol.*, 17: 78-81.
- 300 WHITEAR, M. (1970). The skin surface of bony fishes. *J. Zool. London*, 160: 437-454.
- 301 WHITEAR, M. (1990). Causative aspects of microridges on the surface of fish epithelia. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 22: 211-220.
- 302 WHO. (1978). Epidemiology, etiology, and prevention of periodontal diseases. WHO techn. Rep. Ser. 621. Ginebra.
- 303 WILDING, R.J.C. (1973). A SEM study of human palate mucosa. A preliminary report. *J. Dent. Res.*, 56: 618-624.



- 304 YAMADA, J. (1968). A study on the structure of surface cell layers in the epidermis of some teleosts. *Annotationes Zoologicae Japonenses*, 41: 1-8.