

**Universidad Nacional de Chimborazo**  
**Facultad de Ciencias de la Salud**  
**Carrera de Odontología**



**Efecto de la metformina en la mucosa bucal en *Rattus rattus* var. albinus**

*Trabajo de grado previo a la obtención del título de ODONTÓLOGO*

**Autor: Br. Adrián Enrique Almeida Alvarado**

**Tutor: Ms.C. Luis Emilio Carranza Quispe**

**Riobamba - Ecuador**

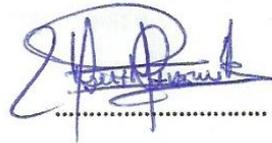
**Año 2017**

## PÁGINA DE REVISIÓN DEL TRIBUNAL

Los miembros del tribunal de graduación del proyecto de investigación de título: *Efecto de la metformina en la mucosa bucal en Rattus rattus var. albinus*, presentado por Adrián Enrique Almeida Alvarado , y dirigida por: Ms.C. Luis Emilio Carranza Quispe, una vez escuchada la defensa oral y revisado el informe final del proyecto de investigación con fines de graduación escrito en el cual se ha constatado el cumplimiento de las observaciones realizadas, remite la presente para uso y custodia en la biblioteca de la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNACH. Para constancia de lo expuesto firman:

A las...12:00 p.m..... del mes...Marzo..... del año 2017

Maria Mercedes Calderón Paz



Presidente del Tribunal (nombre)

Firma

XAVIER JAVIER



Miembro del Tribunal (nombre)

Firma

Ms.C. Luis Emilio Carranza Q

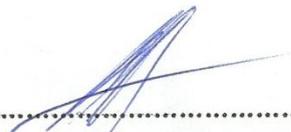


Miembro del Tribunal (nombre)

Firma

### **ACEPTACIÓN DEL TUTOR**

Yo, Luis Emilio Carranza Quispe docente de la Carrera de Odontología en calidad de tutor del proyecto de tesis con el tema: Efecto de la metformina en la mucosa bucal en *Rattus rattus* var. *albinus*, propuesto por la Sr. Adrián Enrique Almeida Alvarado , egresada de la carrera de Odontología de Facultad de ciencias de la Salud, luego de haber realizado las debidas correcciones, certifico que se encuentra apto para la defensa pública del proyecto. Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad facultando al interesado hacer uso del presente para los trámites correspondientes.



.....  
MsC. Luis Emilio Carranza Quispe

## **AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN:**

Yo, Adrián Enrique Almeida Alvarado en calidad de egresado de la Carrera de Odontología de la Universidad Nacional de Chimborazo; declaro que el contenido de este proyecto de Investigación, requisito previo a la obtención del título de Odontólogo, es absolutamente original, auténtico, personal y de exclusiva responsabilidad legal y académica del autor.



Adrián Enrique Almeida Alvarado

0603858259

## **DEDICATORIA**

Doy infinitas gracias a Dios, por el camino recorrido

A mí Madre Nelly, por su amor y apoyo con sus palabras de sabiduría motivándome a superarme.

A mi Padre Manuel por su apoyo, que cada momento me impulso a seguir adelante.

A mis hermanas Jhoanna y Mireya por la paciencia y contribuir a mi empeño.

A mí querido Sobrino Jhoseph, por la paciencia y contribuir a mi empeño.

**Adrián**

## **AGRADECIMIENTO**

Mi sincero y profundo agradecimiento:

A la Universidad Nacional de Chimborazo

A mis profesores por enseñarme el amor al estudio, por su ejemplo de profesionalidad que nunca he olvidado.

De una manera especial al Ms.C Emilio Carranza tutor, por su guía; Álvaro Salvatierra y profesores de la Universidad de Trujillo y a todos aquellos que hicieron posible la confección y elaboración de este trabajo.

## RESUMEN

El objetivo del presente fue identificar el efecto de metformina en la mucosa bucal en *Rattus rattus* var. Albinus en carrillos y Paladar Duro. Para esto se han comparado los cortes histológicos de *Rattus rattus* con tinción de Gomori y hematoxilina de Harris y Eosina, que fueron sometidas a un estudio experimental siendo separadas en grupo control que se les administró vía sonda oro gástrica un volumen del 3% del peso corporal de solución salina fisiológica (SSF) por 14 días y un grupo problema que fue administrado vía sonda oro gástrica un volumen del 3% del peso corporal de concentraciones de 500mg/kg *Metformina* disuelta en SSF por 7 días y posterior se le aumento la dosis de la *Metformina* 750mg/kg durante los 7 días restantes. Los resultados muestran que la metformina no produce alteraciones a nivel de paladar duro y en un 20% de los *Rattus rattus* de estudio se encontró inflamación aguda dada por las siguientes características como ulceración de la mucosa que compromete al epitelio, hiperplasia con hiperqueratosis epitelial, engrosamiento de la pared de los pequeños y medianos vasos sanguíneos en submucosa, dilatación de los vasos sanguíneos en lámina propia e hiperplasia fibrosa del tejido conjuntivo en lámina propia. En este estudio se comprobó que existieron daños a nivel de tejido de la mucosa de carrillo de *Rattus rattus* por el uso de la metformina.

Palabras clave: Metformina, mucosa de carrillos, paladar duro, tejido epitelial, tejido conectivo, inflamación.

### Abstract

The purpose of this research study was to identify the effect of Metformin on the buccal mucosa in *Rattus rattus* Var; Albinus in cheeks and Hard Palate. In order to perform the investigation, the histological sections of *Rattus rattus* with Gomori staining and Hematoxylin of Harris and Eosin were compared through an experimental study. They were separated in a control group that was administered via gastric probe at a volume of 3% of body weight of physiological saline solution (SSF) for 14 days. Additionally, a problem group that was administered via gastric gold probe a volume of 3% of body weight concentrations of 500mg / kg Metformin dissolved in physiological saline solution (SSF) for 7 days, and later increased to Metformin 750mg / kg during the remaining 7 days. The results show that Metformin does not produce alterations at the hard palate, and in 20% of the *Rattus rattus* study, acute inflammation was found with the following characteristics; mucosal ulceration compromising the epithelium, hyperplasia with epithelial hyperkeratosis, thickening of the wall of small and medium blood vessels in submucosa, dilation of blood vessels and fibrous hyperplasia in the connective tissue. In this study, tissue damage in the oral cavity of *Rattus rattus* was confirmed by the use of Metformin.

Key words: Metformin, cheek mucosa, hard palate, epithelial tissue, connective tissue, inflammation.



Reviewed by: Ponce, Maria  
Language Center Teacher

## ÍNDICE GENERAL

VISTO BUENO.....	iii
AUTORÍA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
ÍNDICE GENERAL.....	ix
ÍNDICE DE MICROFOTOGRAFÍAS.....	xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PROBLEMÁTICA.....	2
2.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
2.2. HIPÓTESIS.....	2
2.3. JUSTIFICACIÓN.....	2
3. OBJETIVOS.....	3
3.1. OBJETIVOS GENERALES.....	3
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
4. MARCO TEORICO.....	4
4.1. Metformina.....	4
4.2. Farmacocinética.....	6
4.3. Absorción y biodisponibilidad.....	7
4.4. Farmacodinamia.....	7
4.5. Efectos secundarios.....	9
4.6. Contraindicaciones.....	10
4.7. Eliminación.....	11
4.8. Cavidad oral.....	11
4.8.1. Clasificación histotopográfica y funcional de la mucosa....	11
4.8.1.1.Mucosa de revestimiento.....	11
4.8.1.2.Mucosa masticatoria.....	12
4.8.1.3.Mucosa especializada.....	13
5. METODOLOGÍA.....	14
5.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	14

5.2. LOCALIDAD.....	14
5.3. DISEÑO DE CONTRASTACIÓN.....	14
5.3.1. MUESTRA.....	14
5.3.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
5.4. PARÁMETROS A MEDIR.....	15
5.5. VARIABLES.....	16
5.5.1. Dependiente.....	16
5.5.2. Independiente.....	16
6. RESULTADOS .....	17
7. DISCUSIÓN.....	27
8. CONCLUSIONES.....	31
9. RECOMENDACIONES.....	32
10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA.....	33
11. ANEXOS.....	39

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°1.....	17
FIGURA N°2.....	18
FIGURA N°3.....	18
FIGURA N°4.....	19
FIGURA N°5.....	19
FIGURA N°6.....	20
FIGURA N°7.....	20
FIGURA N°8.....	21
FIGURA N°9.....	21
FIGURA N°10.....	22
FIGURA N°11.....	22
FIGURA N°12.....	23
FIGURA N°13.....	23
FIGURA N°14.....	24
FIGURA N°15.....	24
FIGURA N°16.....	25
FIGURA N°17.....	26

## 1. INTRODUCCIÓN

La metformina se origina de la planta *Galega officinalis* conocida desde hace siglos por reducir los efectos de la diabetes, usada en Europa desde la Edad Media como un tratamiento popular para la poliuria del diabético, siendo más tarde descubierto el componente químico responsable del efecto hipoglucemiante de la planta, denominado galegina, derivado de la guanidina, describiéndose en la literatura científica en 1957 y se vendió por primera vez en Francia en 1979, aunque no fue aprobada por las autoridades sanitarias en los Estados Unidos hasta 1995 por preocupaciones acerca de la seguridad de las biguanidas.<sup>1</sup>

La metformina, o el preparado comercial clorhidrato de metformina, es un fármaco antidiabético de aplicación oral del tipo biguanida es efectiva reduciendo los niveles elevados de glucosa en sangre, a diferencia de muchos otros antidiabéticos, por sí sola, la metformina no produce hipoglucemia. La metformina también reduce los niveles de LDL y triglicéridos circulantes en la sangre y puede ayudar a perder peso.<sup>2</sup> Además, la metformina se ha demostrado que disminuye la extensión del daño cardíaco y mejorar la supervivencia en los estudios de isquemia de miocardio en modelos murinos no diabéticos de la insuficiencia cardíaca, de nuevo con poco conocimiento sobre el mecanismo subyacente.<sup>3</sup>

Datos recientes indican que la metformina puede proteger de cáncer e inhibir la proliferación de varios tipos de células cancerosas, cáncer gástrico, cáncer de páncreas, y cáncer de tiroides.<sup>4</sup> La metformina tuvo un impacto significativo en el metabolismo mitocondrial en las células de cáncer de mama. Los efectos antitumorales de la metformina se han investigado en diferentes tipos de adenocarcinoma; sin embargo, sus efectos sobre el carcinoma de células escamosas, un tumor maligno de los queratinocitos epidérmicos que invade la dermis, aún no han sido bien definidos.<sup>5</sup>

## **2. PROBLEMÁTICA**

En las actividades como futuros odontólogos comprenden no solo la atención de los pacientes en condiciones óptimas de salud, sino también en aquellos pacientes con complicaciones de enfermedades con carácter sistémico, tomando en cuenta que la Metformina es fármaco antidiabético y por su utilización en diferentes tipos de cáncer, utilizando ampliamente por lo que me he visto en la necesidad de realizar un estudio experimental en *Rattus rattus* var albinus dividiéndolas en un grupos control de ratas y un grupo problema (uso de metformina), para identificar si hay cambios en la mucosa oral de *Rattus rattus* a nivel de carrillos y paladar duro por el efecto del fármaco pudiendo demostrar si hubo o no daño en estas estructuras.

### **2.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿Qué efecto tiene el uso de la metformina en la mucosa revestimiento y masticatoria (carrillos y paladar duro) de *Rattus Rattus* var. albinus?

### **2.1. HIPÓTESIS**

El uso de metformina tiene efecto en la mucosa de la cavidad bucal de *Rattus Rattus* var. Albinus

### **2.2. JUSTIFICACIÓN**

Nosotros como promotores de la salud oral tenemos que salvaguardar el cuidado de los tejidos orales así conociendo que el uso de la metformina es usada para el tratamiento de la Diabetes mellitus tipo dos, para bajar de peso y para el uso contra el cáncer principalmente de pulmón y de útero; así viendo que el uso del medicamento ayuda en diversas situaciones tenemos que conocer qué principales alteraciones nos va a producir en la mucosa oral de los *Rattus Rattus* var. albinus.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. OBJETIVOS GENERAL**

Determinar el efecto del uso de la Metformina en la mucosa oral en las *Rattus rattus* var. albinus

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar las principales alteraciones de paladar duro y carrillos de los *Rattus rattus* var. albinus sometidos a Metformina
- Comparar los cortes histológicos de la mucosa de *Rattus rattus* Var. albinus sometidas a la Metformina y del grupo control
- Comparar el riesgo beneficio que tiene la prescripción la Metformina

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1. Metformina

La metformina se origina de la planta *Galega officinalis* conocida desde hace siglos por reducir los efectos de la diabetes, usada en Europa desde la Edad Media como un tratamiento popular para la poliuria del diabético, siendo más tarde descubierto el componente químico responsable del efecto hipoglucemiante de la planta, denominado galegina, derivado de la guanidina, describiéndose en la literatura científica en 1957.<sup>1</sup>

La metformina es un fármaco antidiabético de aplicación oral del tipo biguanida es efectiva reduciendo los niveles elevados de glucosa en sangre, a diferencia de muchos otros antidiabéticos, por sí sola, la metformina no produce hipoglucemia. La metformina también reduce los niveles de LDL y triglicéridos circulantes en la sangre y puede ayudar a perder peso. Para el año 2009, la metformina era uno de dos antiglicemiantes orales que pertenecen a la lista modelo de medicamentos esenciales de la Organización Mundial de la Salud, junto con la glibenclamida, y es el único medicamento conocido capaz de prevenir las enfermedades cardiovasculares asociadas a la diabetes.<sup>2</sup>

La metformina es un antihiperlicemiante pero no actúa como hipoglicemiante por lo que no produce hipoglucemia. El mecanismo exacto por el cual la metformina actúa en el tratamiento de la diabetes no se conoce, a pesar de que sus beneficios terapéuticos son ampliamente conocidos. La metformina no afecta la secreción del páncreas, sin embargo, no es activa en ausencia de la insulina. Parece ser que actúa principalmente reduciendo la gluconeogénesis y la glucogenolisis hepática, pero también reduce la absorción de glucosa por parte del tracto gastrointestinal a la vez que incrementa la sensibilidad a la insulina por medio del aumento de la utilización de la glucosa por parte de tejidos periféricos.<sup>6,7</sup>

Promueve sensibilidad a la insulina, como lo demuestran la disminución de la glucosa plasmática y las concentraciones de insulina; esto no es efectivo en ausencia de insulina. En pacientes con diabetes mellitus no dependiente de

insulina los efectos de la disminución de glucosa se atribuyen, en parte, a la disminución en la reserva hepática de glucosa y a la utilización de glucosa periférica por los músculos, cuando aumenta la sensibilidad a la insulina; otras acciones también pueden contribuir, como: el incremento en el uso intestinal de la glucosa y la disminución en la oxidación de los ácidos grasos.<sup>8</sup>

Desde el punto de vista clínico, la metformina reduce la hiperglucemia en ayunas y post-prandial. La disminución de la glucosa en ayunas es del 25-30%. A diferencia de las sulfonilureas, la metformina raras veces produce hipoglucemia. Tampoco ocasiona un aumento de peso y, de hecho, puede causar una modesta pérdida de peso debido a un efecto anoréxico inducido por el fármaco. La metformina también reduce las LDLs plasmáticas reduciendo ligeramente los triglicéridos y el colesterol. Los pacientes tratados con metformina muestran una mejora significativa de la HbA1c y una mejora del perfil lipoproteico, en especial si éste se encontraba inicialmente alterado.<sup>9</sup>

La metformina origina una disminución del 10-20% en la oxidación de los ácidos grasos y un ligero aumento en la oxidación de la glucosa. A diferencia de la fenformina (la primera biguanina introducida en la clínica) la metformina no inhibe la oxidación mitocondrial de lactato a menos que las concentraciones plasmáticas sean excesivas (por ejemplo en pacientes con insuficiencia renal) y/o haya hipoxia.<sup>9</sup>

Es ampliamente aceptado que el efecto antidiabético de la metformina se produce principalmente a través de una inhibición leve y transitoria del complejo mitocondrial cadena respiratoria,<sup>10</sup> que aumenta AMP: relaciones de ATP, lo que lleva a la activación de la quinasa AMP. Activado AMP quinasa cambia células de un anabólico a un estado catabólico, lo que resulta en la inhibición de la glucosa, los lípidos y la síntesis de proteínas, mientras que la promoción de la oxidación de los ácidos grasos y la captación de glucosa asociados con la pérdida de peso y los niveles de triglicéridos.<sup>11</sup>

Esta vía ha sido confirmada en varios tipos de células que participan directamente en el gasto metabolismo y la energía, tales como hepatocitos, células de músculo

esquelético, y células pancreáticas. Existe evidencia de estudios clínicos que la metformina mejora la reactividad vascular endotelial de y aminora la hipertensión.<sup>12</sup>

Además, la metformina se ha demostrado que disminuye la extensión del daño cardíaco y mejorar la supervivencia en los estudios de isquemia de miocardio en modelos murinos no diabéticos de la insuficiencia cardíaca, de nuevo con poco conocimiento sobre el mecanismo subyacente.<sup>13</sup>

Las actividades de la insulina en el músculo esquelético también colaboran a las acciones terapéuticas de la Metformina, mostrando principalmente en un aumento de la eliminación de glucosa no oxidativa, siendo estas acciones las que reducen la glucemia en el contexto de la hiperglucemia, con muy poco potencial para inducir hipoglucemia.<sup>14</sup>

Es el único medicamento conocido capaz de prevenir las enfermedades cardiovasculares asociadas a la diabetes.<sup>15</sup> No está contraindicada en pacientes durante el primer trimestre del embarazo.<sup>13</sup>

#### **4.2. Farmacocinética**

La metformina promueve sensibilidad a la insulina, como lo demuestran la disminución de la glucosa plasmática y las concentraciones de insulina; esto no es efectivo en ausencia de insulina.<sup>16</sup> La metformina origina una disminución del 10-20% en la oxidación de los ácidos grasos y un ligero aumento en la oxidación de la glucosa, no inhibe la oxidación mitocondrial de lactato a menos que las concentraciones plasmáticas sean excesivas, raras veces produce hipoglucemia. Tampoco ocasiona un aumento de peso y, de hecho, puede causar una modesta pérdida de peso debido a un efecto anoréxico inducido por el fármaco.<sup>9</sup>

Metformina media cambios en AMP relaciones / ATP, los niveles de calcio y el potencial transmembrana mitocondrial, que se correlacionan con un aumento del estrés oxidativo.<sup>17</sup> Estos efectos conducen a un aumento local y de todo el cuerpo

en el catabolismo y la biogénesis mitocondrial, mientras que la inhibición de la síntesis de proteínas y las vías anabólicas.<sup>18</sup>

### **4.3. Absorción y biodisponibilidad**

Después de la administración por vía oral, la absorción de metformina es incompleta. Su biodisponibilidad es de aproximadamente 50-60% en sujetos sanos. Muestra en tiempo máximo de 2.5 horas. Con los esquemas de dosificación usuales se alcanzan concentraciones plasmáticas de estado estacionario dentro de las primeras 24 a 48 horas y resultan generalmente menores de 1 µg/ml. La concentración plasmática máxima de la metformina no excede los 4 µg/ml, incluso a dosis máximas. El alimento retrasa ligeramente la absorción de la metformina. Tras la administración de una dosis de 850 mg se disminuye en 40% la concentración máxima y en 25% el ABC (área bajo la curva) e incrementa en 35 minutos el T<sub>máx</sub>.<sup>19</sup>

### **4.4. Farmacodinamia.**

La comprensión de las acciones de la metformina sobre el metabolismo de la energía, sobre todo en las funciones mitocondriales, que es importante en el contexto de interés en 'reutilización' del compuesto para posibles aplicaciones en oncología. Hay evidencia creciente de que el metabolismo mitocondrial desempeña un papel importante en el apoyo del crecimiento del tumor, proporcionando ATP, así como intermediarios metabólicos que se pueden utilizar para reacciones anabólicas.<sup>20</sup>

Datos recientes indican que la metformina puede proteger de cáncer e inhibir la proliferación de varios tipos de células cancerosas, cáncer gástrico, cáncer de páncreas, y cáncer de tiroides.<sup>4</sup> La metformina tuvo un impacto significativo en el metabolismo mitocondrial en las células de cáncer de mama. Los efectos antitumorales de la metformina se han investigado en diferentes tipos de adenocarcinoma; sin embargo, sus efectos sobre el carcinoma de células escamosas, un tumor maligno de los queratinocitos epidérmicos que invade la dermis, aún no han sido bien definidos.<sup>5</sup>

La metformina puede inhibir el crecimiento de la cabeza humana y carcinoma de células escamosas del cuello en líneas celulares de cáncer. Sin embargo, los

estudios epidemiológicos que evalúan el efecto de la metformina sobre el cáncer oral son aún poco frecuente. Un reciente meta-análisis sugiere que sólo 3 estudios están disponibles en la literatura: 2 realizado en los EE.UU. evaluar el efecto de la metformina sobre la supervivencia de pacientes con cáncer de cabeza y cuello y el de Taiwán comparando el incidencia de cáncer de cabeza y cuello en pacientes con diabetes que utilizan y no utilizan la metformina. Usuarios de metformina en pacientes con diabetes se encontró que tenían un riesgo significativamente menor de 34% de cáncer de cabeza y cuello.<sup>21</sup>

El adenocarcinoma y el carcinoma de células escamosas (COCE) pueden diferir de manera significativa en sus síntomas, historia natural, pronóstico y respuesta al tratamiento debido a las diferencias de origen celular. En el presente estudio nos centramos en los efectos de la metformina en COCE, un carcinoma de células escamosas común de la cabeza y el cuello. Los hallazgos son significativos porque se demuestra por primera vez que la metformina ejerce potentes efectos anti- carcinoma de células escamosas oral tanto in vitro e in vivo y porque la metformina induce la detención del ciclo celular en la fase G0 / G1 y la apoptosis de las células del carcinoma de células escamosas oral asociadas con la modulación de la expresión de proteínas del ciclo celular de regulación y relacionada con la apoptosis.<sup>22</sup>

Esta discrepancia puede deberse a las diferencias en las propiedades de los diferentes tipos de células cancerosas o se compara el efecto de este fármaco entre las células cancerosas y los controles no transformados dado que muestran diferencias en el metabolismo mitocondrial. La metformina provocó una disminución en la respiración mitocondrial en las células de cáncer de mama y los controles no transformadas. Sin embargo, la disminución de la respiración fue mayor en las células no transformadas en comparación con células de cáncer de mama.<sup>23</sup>

Además, el complejo mitocondrial funcional se ha demostrado ser esencial para la promoción de la glucólisis aeróbica y el efecto Warburg. En apoyo de estos puntos, PGC-1 $\alpha$  o ERR $\alpha$ , dos reguladores centrales conocidas del metabolismo mitocondrial se han demostrado para promover el crecimiento de hígado, colon,

mama, próstata y el melanoma tipos de cáncer. Este sentido, demuestran la influencia de la metformina sobre la bioenergética mitocondrial en las células y en las mitocondrias aisladas.<sup>24</sup>

La metformina tiene potencial para mejorar los efectos citotóxicos de temozolomida y radioterapia. En primer lugar, la metformina disminuye el consumo de oxígeno mitocondrial y aumenta el lactato y la producción de ATP glicolítica en cuatro líneas celulares de glioblastoma. se muestra que induce metformina disminución de la proliferación, la detención del ciclo celular, la autofagia, y la muerte celular por apoptosis in vitro, en parte, a través de adenosina monofosfato proteína quinasa activada y REDD1 la activación y la inhibición de mTOR, pero diferencialmente afecta el crecimiento de células de glioma en función de los fondos genéticos y mutacionales, sobre todo su estado PTEN. Estos in vitro efectos llevaron in vivo a un marcado retraso del crecimiento del tumor. Por último, se demuestra que el tratamiento con metformina en combinación con temozolomida o irradiación induce una respuesta antitumoral sinérgico en líneas celulares de glioma mediante un aumento de la muerte celular. Basándose en estos resultados, la metformina podría potenciar significativamente los efectos citotóxicos de temozolomida y / o radioterapia.<sup>25</sup>

#### **4.5. Efectos secundarios de la metformina**

- Diarrea
- Hinchazón
- Dolor estomacal
- Flatulencia
- Estreñimiento
- Dolor muscular
- Acidez estomacal
- Dolor de cabeza
- Sabor metálico desagradable en la boca
- Déficit de vitamina B12<sup>19,26</sup>

#### **4.6. Contraindicaciones.**

La metformina está contraindicada en las personas con cualquier condición que pudiera aumentar el riesgo de acidosis láctica, incluyendo trastornos renales con niveles de creatinina de más de 1,5 mg/dl en hombres y 1,4 mg/dl en mujeres (aunque este es un límite arbitrario), enfermedad pulmonar y enfermedad hepática.<sup>18</sup>

Limitándose también en ancianos mayores de 75 años se fundamenta en la función renal, que se espera tenga una tasa de filtrado glomerular mayor de 60 ml/min.<sup>27</sup> Se recomienda que sea suspendida temporalmente antes de cualquier estudio radiográfico de contraste yodado (como en el caso de la TAC o angiografía con contraste), como colorante de contraste que afectará de manera temporal a la función renal, causando de forma indirecta una acidosis láctica por retención de metformina en el cuerpo, reanudándose después de dos días. En pacientes con insuficiencia renal aguda la metformina se acumula y aparece una acidosis láctica que puede ser fatal.<sup>28</sup>

No está contraindicada en pacientes durante la lactancia materna, no se ha encontrado deformidades congénitas en pacientes que tomaron metformina durante el primer trimestre del embarazo.<sup>29</sup>

#### **4.7. Eliminación:**

La metformina se elimina por los riñones, en su mayor parte sin metabolizar, mediante un proceso tubular, tras una dosis por vía oral, aproximadamente 90% del fármaco absorbido es eliminado a través de la orina dentro de las primeras 24 horas, con una vida media de eliminación plasmática de aproximadamente 6.2 horas. En sangre la vida media de eliminación es de aproximadamente 17.6 horas, lo que apoya que la masa eritrocitaria puede ser un compartimiento de distribución. En pacientes con deterioro de la función renal (basada en la depuración de creatinina) la vida media plasmática de metformina se prolonga y la depuración renal disminuye en forma proporcional a la depuración de creatinina.<sup>9</sup>

#### **4.8. Cavidad oral**

La cavidad oral, es la puerta de entrada al tubo digestivo, es una cavidad de tipo virtual ocupada casi en su totalidad por el órgano lingual en estado de reposo. Está

limitada antero lateralmente por los labios y mejillas o carrillos, dorsalmente por la bóveda palatina, velo del paladar y faringe, ventralmente por la lengua y el piso de la boca y en su parte posterior por la entrada de la orofaringe o istmo de las fauces.

#### **4.8.1. Clasificación histo topográfica y funcional de la mucosa**

La estructura morfológica de la mucosa varía por la adaptación funcional a la influencia mecánica que actúa sobre ella, en las diferentes regiones de la cavidad bucal.<sup>30</sup> Sobre la base de estos criterios funcionales se puede dividir la mucosa bucal en tres tipos principales:

##### **4.8.1.1. Mucosa de revestimiento:**

Se encuentra en la cara interna del labio, cara interna de las mejillas, piso de la boca, cara inferior de la lengua y paladar blando. Estas zonas no participan, directamente, en el fenómeno masticatorio y no tienen receptores del gusto.<sup>31</sup>

Esta mucosa reviste zonas de la cavidad oral que no están expuestas a fricción o presión. Cumple funciones de protección. El epitelio es de tipo no queratinizado, con un corion laxo o semidenso, presentando una submucosa de tejido conectivo laxo bien definida. Presenta la capacidad de distenderse y de adaptarse a la contracción y relajación de las mejillas, labios y lengua, y a los movimientos del maxilar inferior, producidos durante la masticación. A nivel de la submucosa podemos encontrar: glándulas salivales menores, tejido adiposo o fibras musculares estriadas, dependiendo de la zona que tapiza esta mucosa.<sup>32</sup> está conformada por:

- Epitelio: Es no queratinizado, pero en algunas sitios puede estar paraqueratinizado. El epitelio de revestimiento no queratinizado es más grueso que el queratinizado y con mayor número de capas que la mucosa masticatoria. (en el estrato córneo las células conservan sus núcleos y algunas organelas celulares), la misma que esta conformada por tres estratos estrato basal, estrato espinoso y estrato superficial.

- Corion o Lámina propia: Es laxo o semilaxo, papilas de corion y crestas epiteliales menos frecuentes y profundas que de la mucosa masticatoria. Es una lámina de sostén y nutrición al epitelio por medio de papilas que llevan vasos y nervios. Como todo tejido posee células, fibras y sustancia fundamental amorfa. Entre las células podemos encontrar fibroblastos, macrófagos, linfocitos y células plasmáticas. Presenta fibras colágenas, que resisten las fuerzas de tracción y tensión y elásticas. En la sustancia fundamental existe gran cantidad de glucosaminoglucanos.  
Submucosa: Bien definida, puede contener glándulas salivales menores, tejido adiposo y fibras musculares estriadas.<sup>30</sup>

#### **4.8.1.2. Mucosa masticatoria:**

Es la que recibe directamente las cargas de masticación de alimentos. Los alimentos se deslizan por las zonas próximas a los dientes: encía y paladar duro.<sup>31</sup> Esta mucosa se ubica en zonas sometidas a fenómenos de presión y fricción, producto del proceso de masticación. Esta mucosa se encuentra adherida al hueso y no experimenta estiramiento. El epitelio que posee es de tipo queratinizado o paraqueratinizado, con numerosas crestas epiteliales que se corresponden con las papilas del corion.<sup>32</sup> La mucosa masticatoria está conformada por:

- Epitelio: El epitelio es plano queratinizado en algunas zonas es paraqueratinizado, es parecido al queratinizado en las células superficiales pero estas no pierden su núcleo y su citoplasma se tiñe intensamente con la eosina, el epitelio es corto o bajo (y puede ser paraqueratinizado) con numerosas crestas superficiales y corion o lámina propia con corion denso o semidenso.
- Submucosa: Es poco significativa en los sectores laterales del paladar duro y carece de submucosa en la encía.<sup>30</sup>

#### **4.8.1.3. Mucosa especializada:**

La encontramos en los 2/3 anteriores de la cara dorsal o superficie superior de la lengua<sup>31</sup> y se caracteriza por presentar una superficie muy irregular, por la presencia de numerosos sollevamientos denominados papilas linguales. Se llama especializada porque en ella se encuentran los receptores de sabor.<sup>32</sup>

## **5. METODOLOGÍA:**

### **5.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN**

**5.1.1. De acuerdo al fin que se persigue:** básica

**5.1.2. De acuerdo a la técnica de contrastación:** experimental

### **5.2. LOCALIDAD E INSTITUCIÓN DONDE SE DESARROLLARÁ EL PROYECTO**

**5.2.1. Localidad:** Trujillo-Peru

**5.2.2. Institución:** Universidad nacional de Trujillo

### **5.3. DISEÑO DE CONTRASTACIÓN**

#### **5.3.1. Muestra**

Nuestra muestra biológica de 12 *Rattus rattus* var. albinus, machos de raza Sprague Dawley de 3 meses de edad promedio y un peso promedio de 300 g. certificadas de no haber sido sometidas a ninguna medicación del bioterio de la Universidad Peruana “Cayetano Heredia”

### **5.4. MÉTODOS Y TÉCNICAS**

#### **5.4.1. Administración de la dosis**

Los *Rattus rattus* var. Albinus serán separados en grupo control y grupos problema

Los animales fueron alojados en dos grupos en un ambiente controlado y se les dio acceso a agua y alimento específico estandarizado para *Rattus rattus* var. albinus raza Sprague Dawley (maíz molido y purina) sólida y dura, durante 14 días

Para el grupo Control negativo: Se administró vía sonda oro gástrica un volumen del 3% del peso corporal de solución salina fisiológica (SSF) por 14 días.

Grupos Problema: Se administró vía sonda oro gástrica un volumen del 3% del peso corporal de concentraciones de metformina 500 mg/kg disuelta en solución salina fisiológica (SSF) por 7 días y posterior se le aumento la dosis de la Metformina 750mg/kg durante los 7 días restantes.

PARÀMETROS	GRUPOS		
	Neutro	Control	Problema
Nº de especímenes	1	3	8
Administración vía orogástrica	No	SSF	Dosis 1 de <i>metformina</i> 500 mg disuelta SSF  Dosis 2 de <i>metformina</i> 750 mg/kg disuelta SSF

## 5.5. PARÁMETROS A MEDIR

### Cortes histológicos de tejidos orales de ratón

Se realizaron cortes histológicos de la mucosa oral del animal a nivel carrillos y de paladar duro, tanto en del grupo control como en del grupo problema, se realizará el método de tinción de la Tricrómica de Gomori: La Tricrómica de Gomori es un método idóneo para colorear fibrina, tejido muscular y citoplasmas, donde destaca esencialmente el condrioma como un fino granulado rojizo. Sin embargo por su pH ácido que se encuentra entre 2.5 y 2.7 (ligeramente por encima del óptimo para la tinción del colágeno se presenta como una tinción incompleta y difusa del componente fibrilar más fino (membrana basal) y las fibras reticulares.

También se realizó cortes histológicos de la mucosa oral del animal a nivel de encía y carrillos de los animales, tanto del grupo control como del grupo como del grupo problema, se realizará el método de tinción de hematoxilina-eosina: La tinción de hematoxilina de hematoxilina, que por ser catiónica o básica, tiñe estructuras ácidas (basófilas) en tonos azul y púrpura, como los núcleos celulares; y el uso de eosina que tiñe componentes básicos (acidófilos) en tonos de color rosa, gracias a su naturaleza aniónica o ácida, como el citoplasma.

## **5.6. VARIABLES**

### **5.6.1. Variable dependiente**

Alteraciones de mucosa de carrillo y paladar en las *Rattus rattus* var. Albinus

### **5.6.2. Variable independiente**

Metformina 500mg/kg y 750mg/kg

## 6. RESULTADOS

En este estudio se empleó 12 *Rattus Rattus* var. *Albinus*, machos de raza Sprague Dawley de 3 meses de edad promedio, con un peso de 300g, les suministro metformina por 14 días para ver las alteraciones que nos produce en mucosa oral con ayuda de la realización de los cortes histológicos de los grupos de estudio el grupo control que se les suministro solo SSF y el grupo problema el cual recibió la medicación en donde se llegó al resultado que en la mucosa del carrillo se obtuvo el 80% del grupo problema sin alteración histología y el 20 % del grupo problema la mucosa del carrillo se encontró con inflamación. Realizado con las coloraciones Hematoxilina y Eosina y Tricrómica de Gomori, encontrando se esta manera:

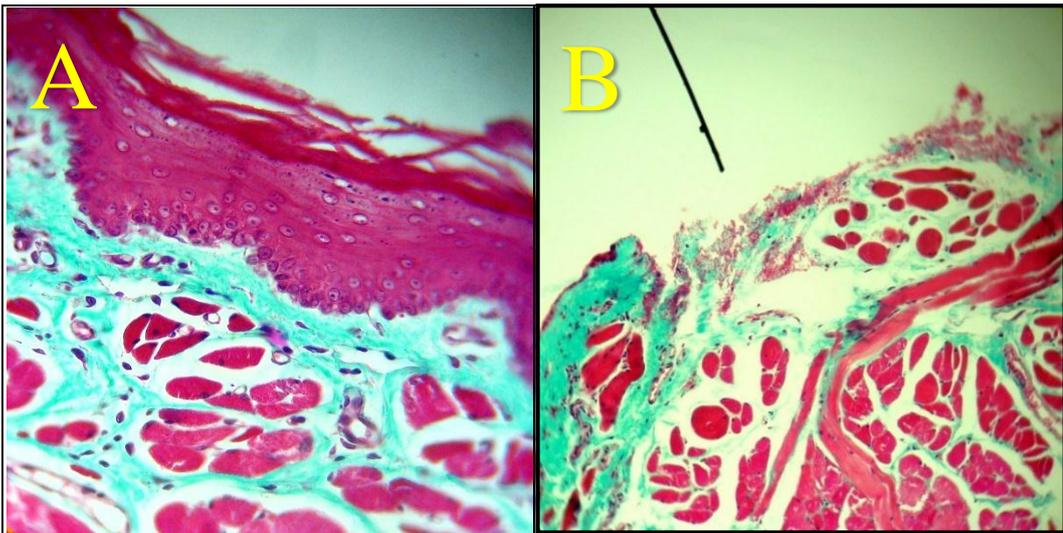


Fig. 1: Microfotografías de cortes de carrillo 200x. T. de Gomori. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

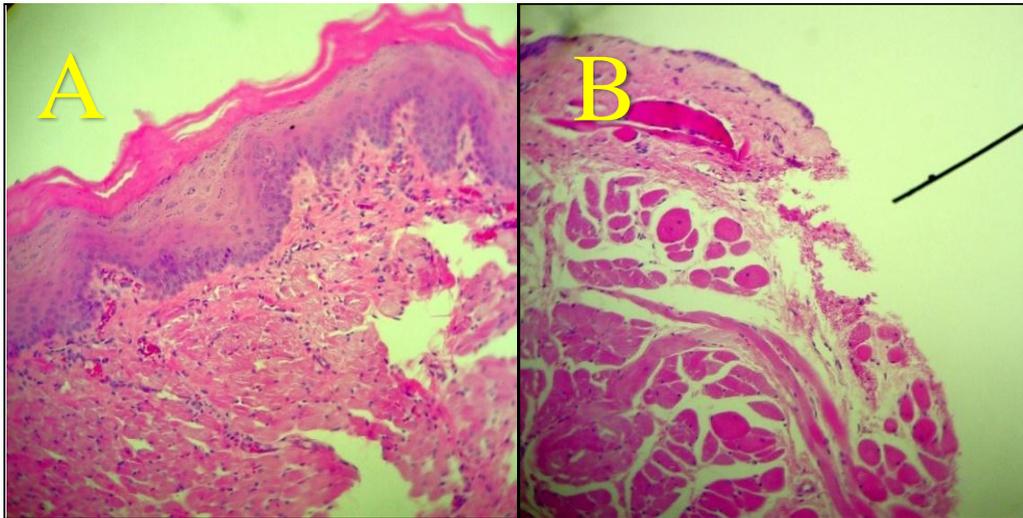


Fig. 2: Microfotografías de cortes de carrillo 200x. T. de Hematoxilina y Eosina. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

En la figura N°1 y N°2 las microfotografías A se pueden apreciar los cortes histológicos de los *Rattus rattus* del grupo control en donde no se aprecia ninguna alteración aparente a diferencia de las microfotografías B donde se observa ulceraciones de la mucosa epitelial y del corion.

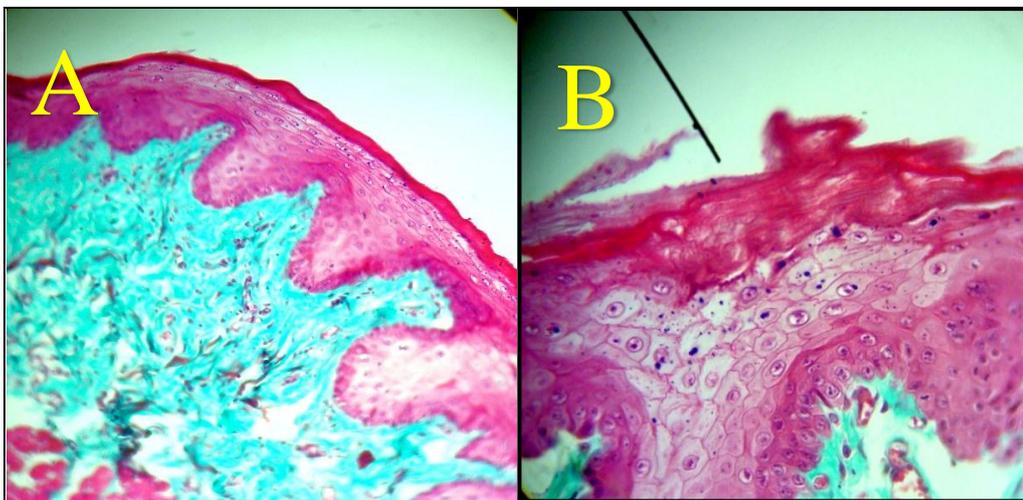


Fig. 3: Microfotografías de cortes de carrillo T. Gomori. De *Rattus rattus* control 200x (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina 430x (B)

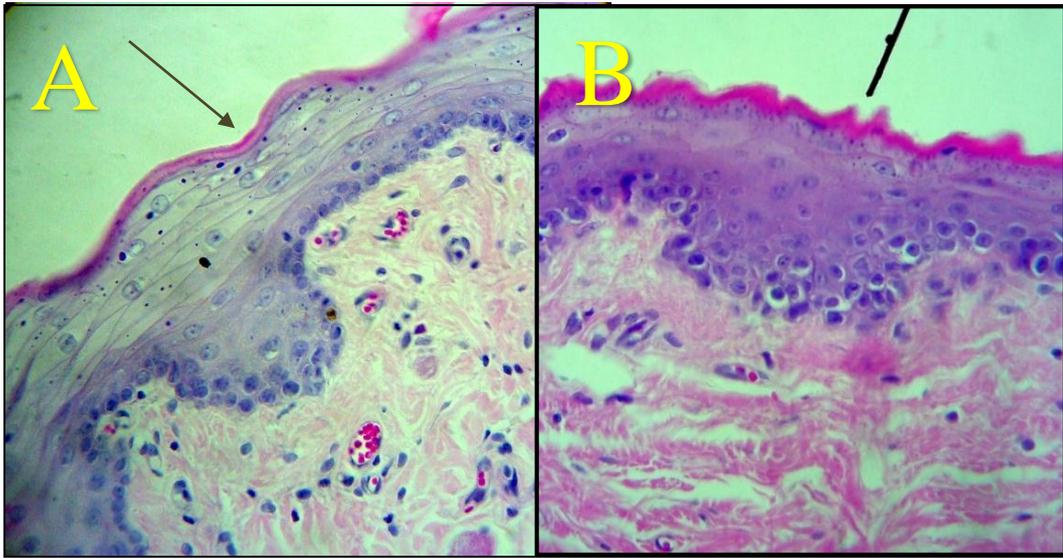


Fig. 4: Microfotografías de cortes de carrillo 430x. T. de Hematoxilina y Eosina. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

En la figura N°3 y N°4 las microfotografías A se pueden apreciar los cortes histológicos de los *Rattus rattus* del grupo control en donde no se aprecia ninguna alteración aparente a nivel del tejido epitelial a diferencia de las microfotografías B donde se observa hiperplasia con hiperqueratosis epitelial

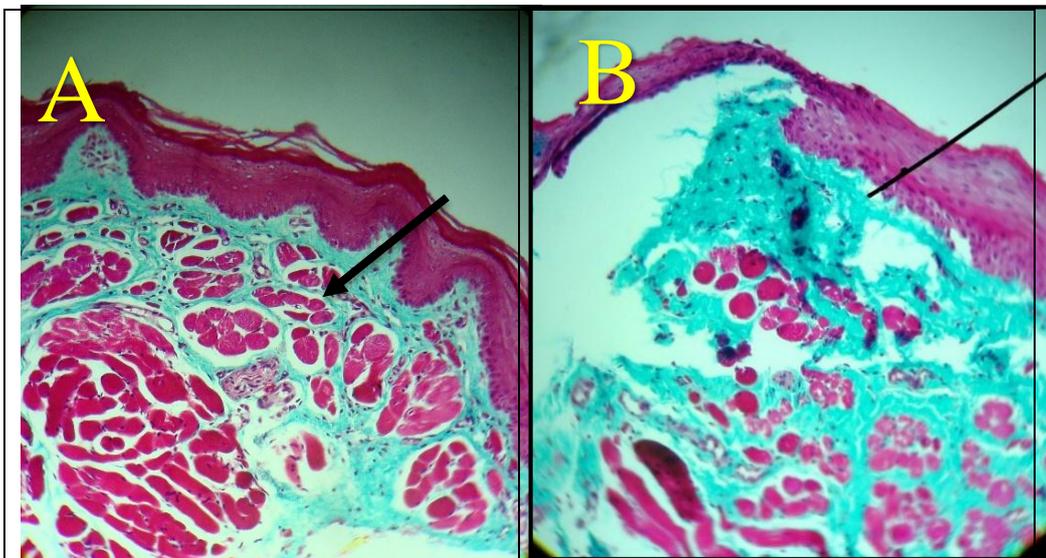


Fig. 5: Microfotografías de cortes de carrillo 64x. T. Gomori. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

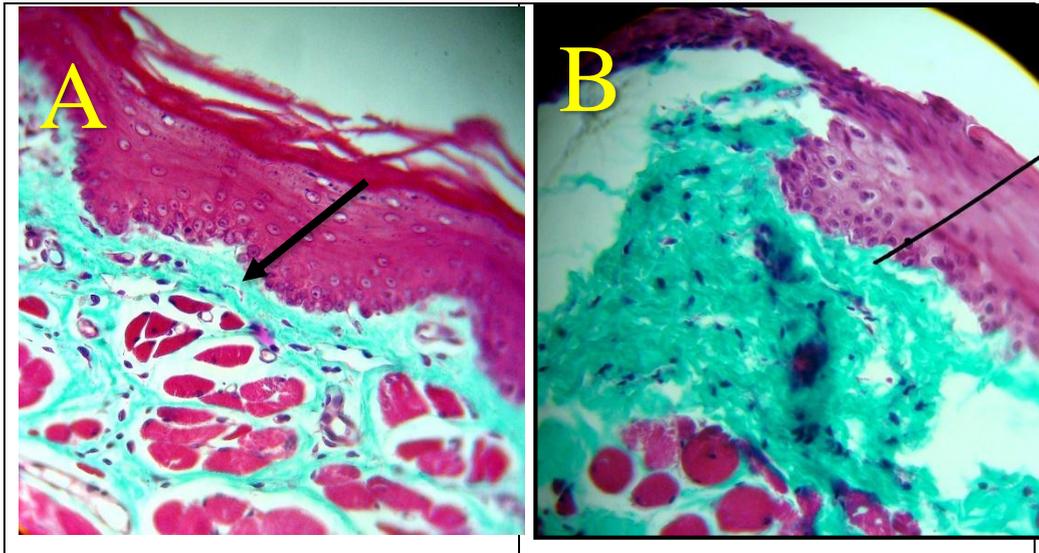


Fig. 6: Microfotografías de cortes de carrillo 200x. T. Gomori. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

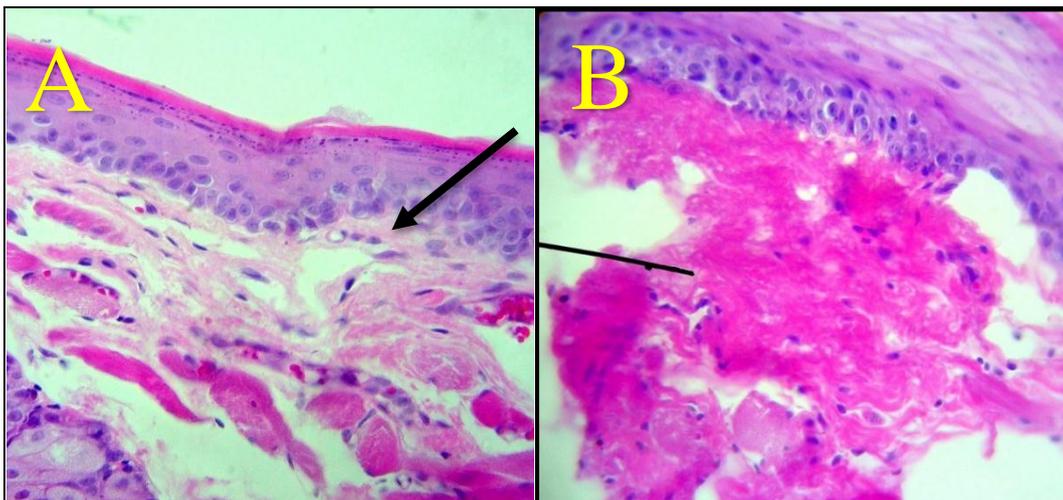
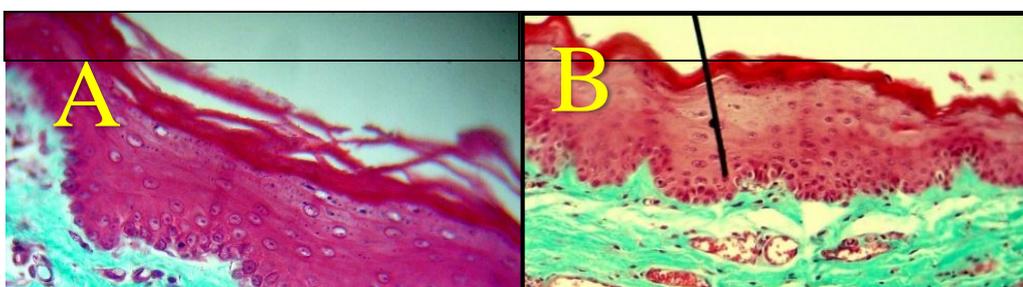


Fig 7: Microfotografías de cortes de carrillo 200x. T. de Hematoxilina y Eosina. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

En la figura N°5, N°6 y N°7 las microfotografías A se pueden apreciar los cortes histológicos de los *Rattus rattus* del grupo control en donde no se aprecia ninguna alteración aparente en la lámina propio a diferencia de las Microfotografías B donde se observa Hiperplasia fibrosa en lámina propia.



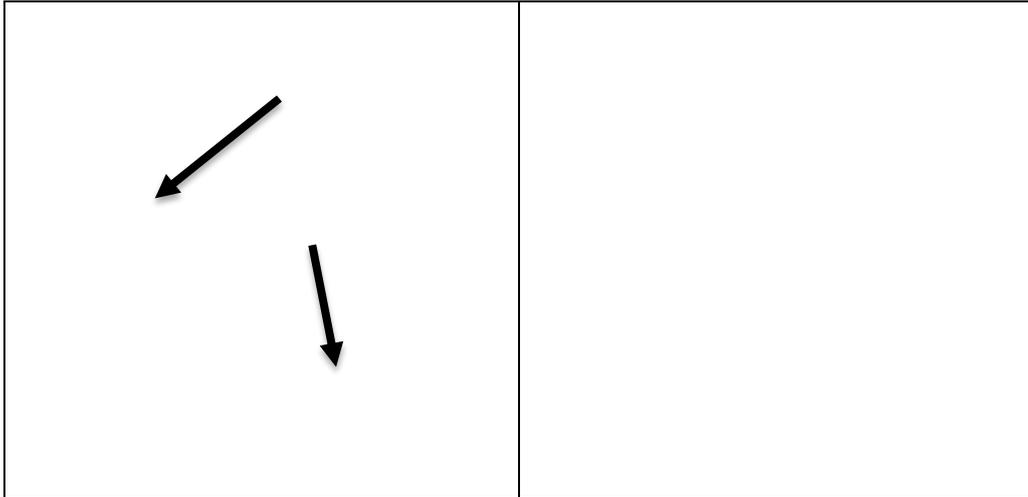


Fig. 8: Microfotografías de cortes de carrillo 200x. T. Gomori. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

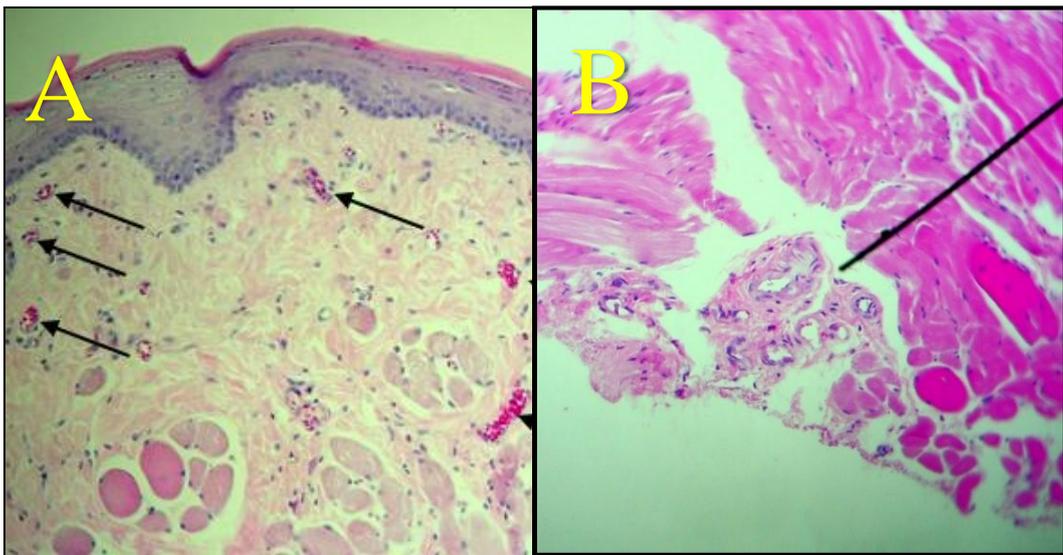


Fig. 9: Microfotografías de cortes de carrillo 200x. T. de Hematoxilina y Eosina. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

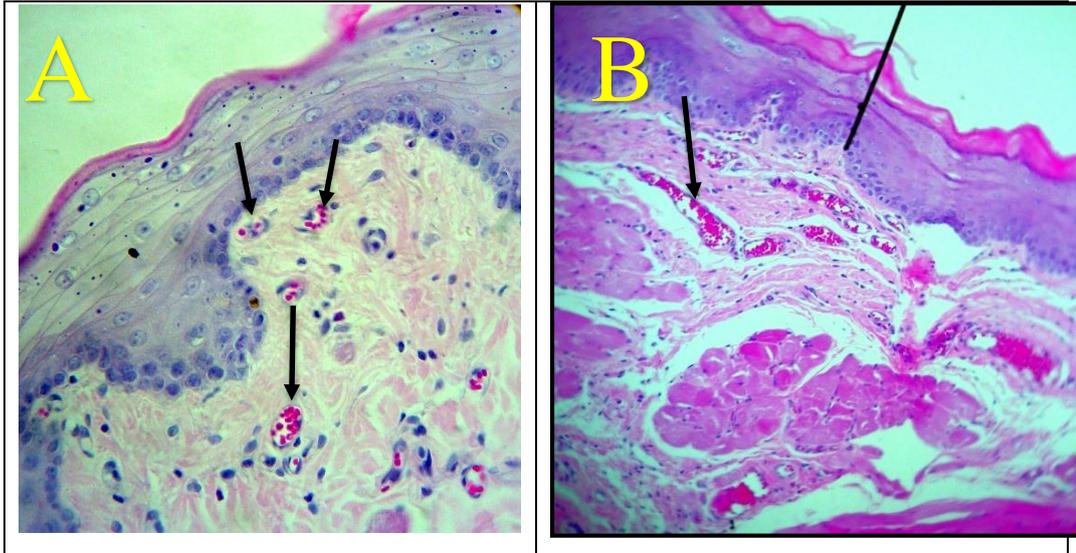


Fig. 10: Microfotografías de cortes de carrillo 430x. T. de Hematoxilina y Eosina. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

En la figura N°8, N°9 y N°10 las microfotografías A se pueden apreciar los cortes histológicos de los *Rattus rattus* del grupo control en donde la luz de los vasos sanguíneos de la lámina propia normales a diferencia de las Microfotografías B donde se observa dilatación de los vasos sanguíneos en lámina propia.

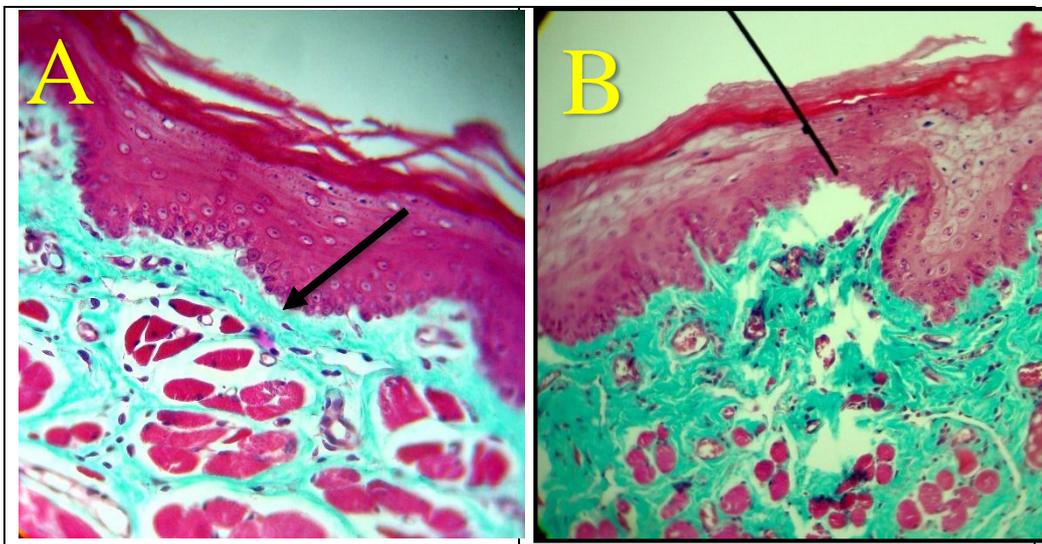


Fig. 11: Microfotografías de cortes de carrillo 200x. T. Gomori. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

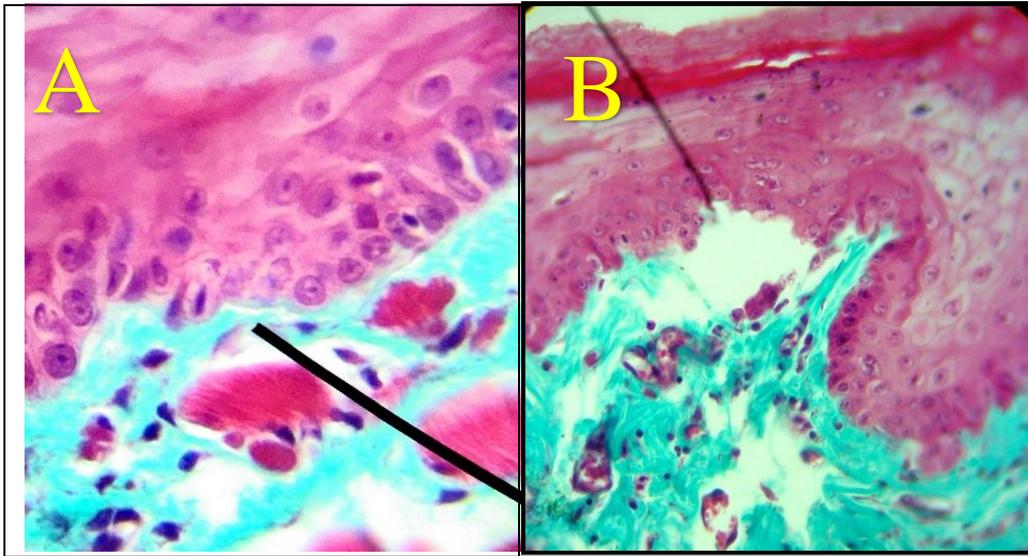


Fig. 12: Microfotografías de cortes de carrillo 430x. T. Gomori. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

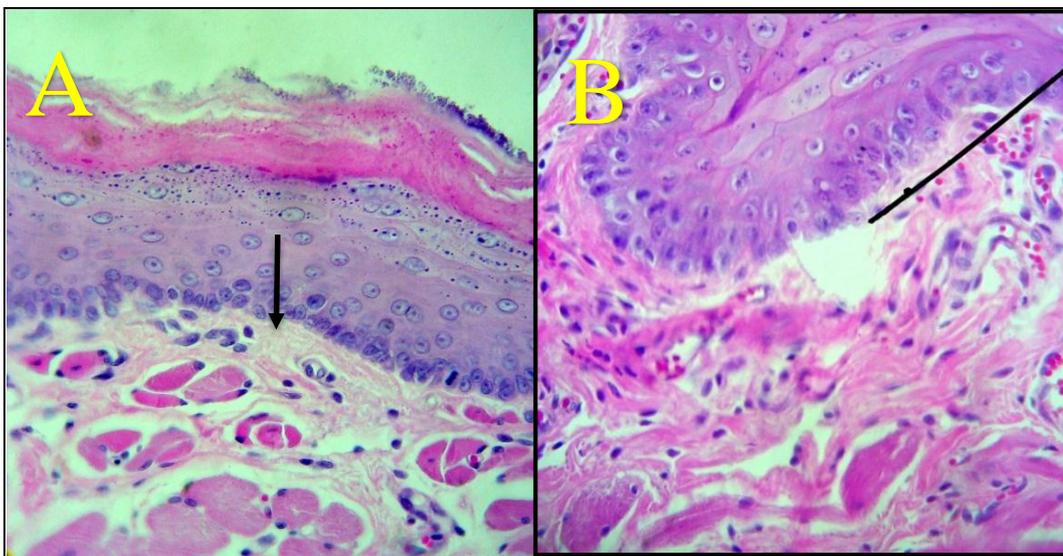


Fig. 13: Microfotografías de cortes de carrillo 430x. T. de Hematoxilina y Eosina. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

En la figura N°11, N°12 y N°13 las microfotografías A se pueden apreciar los cortes histológicos de los *Rattus rattus* del grupo control en donde no se aprecia

ninguna cambio a nivel de la membrana basal normales a diferencia de las Microfotografías B donde se observa ruptura de la membrana basal

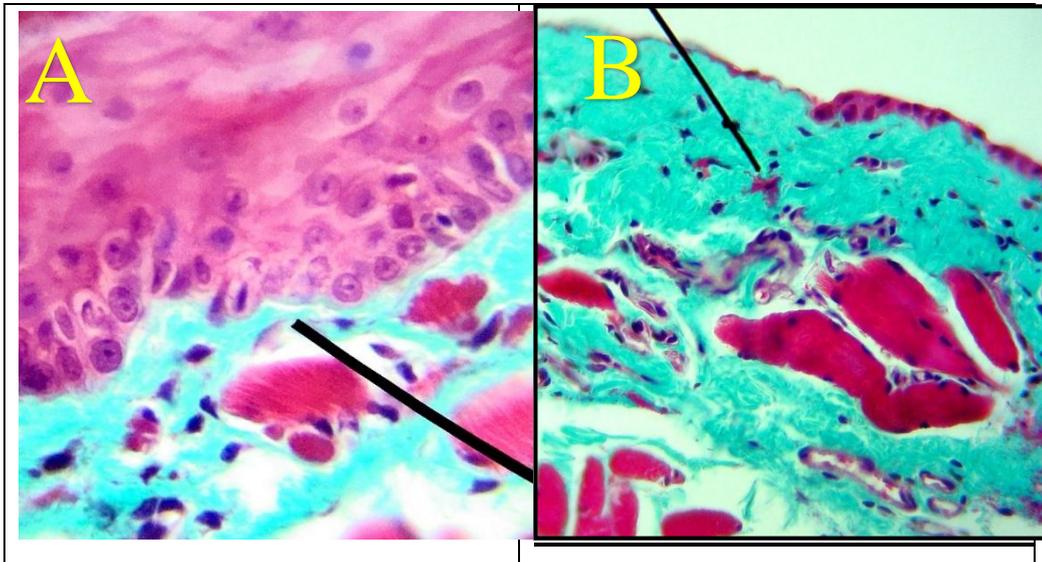


Fig. 14: Microfotografías de cortes de carrillo 200x. T. Gomori. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

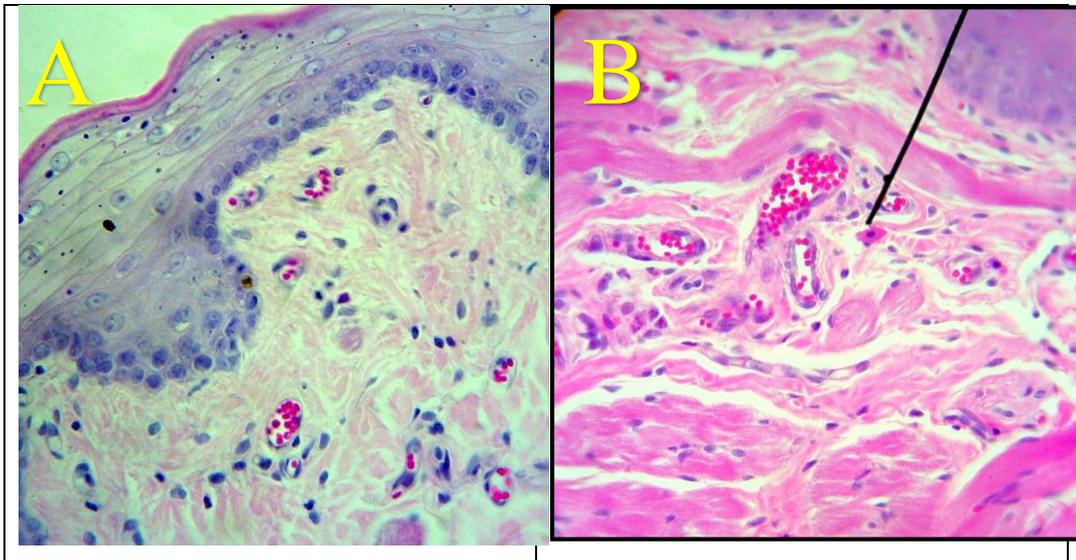


Fig. 15: Microfotografías de cortes de carrillo 430x. T. de Hematoxilina y Eosina. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

En la figura N°14 y N°15 las microfotografías A se pueden apreciar los cortes histológicos de los *Rattus rattus* del grupo control en donde no se observa presencia de histiocitos en el tejido conectivo a diferencia de las Microfotografías B donde se observa la presencia de histiocitos en el tejido conectivo

### **Diagnóstico Histológico:**

A menor aumento (63), mediano (200x), mayor aumento 430x y 730x se observa: La mucosa de carrillo muestra características de inflamación aguda presentando las siguientes características histológicas por:

- Ulceración de la mucosa que compromete al epitelio y corion.
- Hiperplasia con hiperqueratosis epitelial.
- Hiperplasia de células basales y parabasales del epitelio.
- Engrosamiento de la pared de los pequeños y medianos vasos sanguíneos en submucosa.
- Dilatación de los vasos sanguíneos en lámina propia.
- Hiperplasia fibrosa del tejido conjuntivo en lámina propia.
- Presencia de histiocitos en el corion.

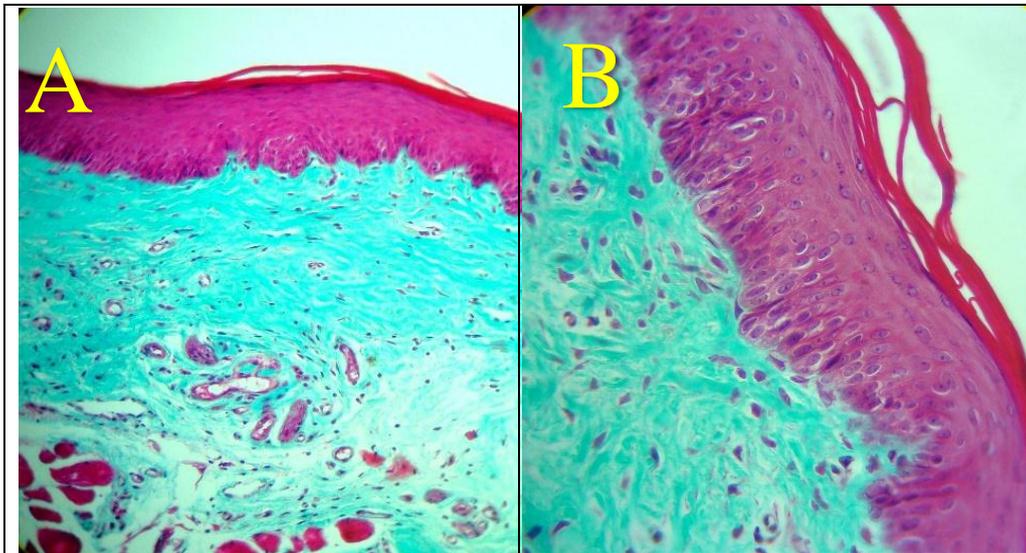


Fig. 16: Microfotografías de cortes de paladar duro 200x. T. Gomori. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con Metformina (B)

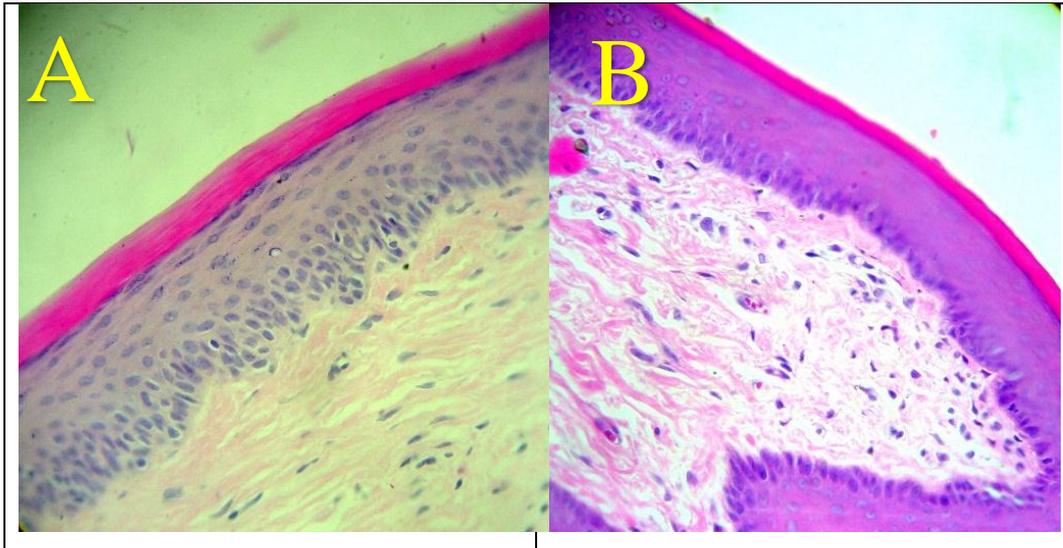


Fig. 17: Microfotografías de cortes de paladar duro 200x. T. de Hematoxilina y Eosina. De *Rattus rattus* control (A) y *Rattus rattus* tratada con metformina (B)

En la figura N°14 y N°15 se puede apreciar en los cortes histológicos del paladar duro en estos podemos observamos los tejidos sin presentar alteración siendo grupo control y grupo problema en donde se aprecia que la administración de metformina por 14 días el cual no ocasionó ninguna alteración

### **Diagnóstico Histológico**

A menor (63x), mediano (200x) y mayor aumento (450x y 750x).

Las mucosas de paladar duro muestran características histológicas normales.

## 7. DISCUSIÓN

Los resultados de este trabajo determinaron un problema la mucosa del carillo se encontró con inflamación. En este trabajo de investigación en donde se les suministro metformina por 14 días para ver las alteraciones que nos produce en mucosa oral con ayuda de la realización de los cortes histológicos de los grupos de estudio el grupo control que se les suministro solo SSF y el grupo problema el cual recibió la medicación en donde se llegó al resultado que en la mucosa del carillo se obtuvo el 80% del grupo problema sin alteración histología y el 20 % del grupo problema la mucosa del carillo se encontró con inflamación.

En el cual se puede observar figura N°1 A y N°2 A que el tejido de del carrillo no se encuentra con alteraciones en las figuras N°1B y N° 2B donde se aprecia el daño de tejido teniendo un diagnostico histológico de ulceraciones del tejido diciendo que la ulcera es toda lesión abierta de la piel o membrana mucosa con pérdida de sustancia esta es un principal signo de una reacción alérgica al medicamento a nivel de la mucosa.<sup>33</sup>

En la figura N°3A y N°4A se puede observar el epitelio con sus estratos bien definidos a diferencia de las figura N°3B y N° 4B donde se puede observar la hiperpalcia de las células basales y parabasales del tejido, la hiperplasia es aumento anormal de tamaño que sufre un tejido orgánico debido al incremento del número de células normales que lo forman.<sup>34</sup> Las células epiteliales del estrato espinoso muestran núcleos grandes, con citoplasma vacuolado claro. La capa de células basales muestra aumento de la actividad mitótica. La presencia en el estrato espinoso de células con una disposición del material nuclear que semeja figuras mitóticas anormales<sup>35</sup>, corresponden a un grupo de lesiones producidas como una respuesta exagerada de la mucosa bucal frente a irritantes crónicos de baja intensidad, motivo por el cual se le considera una lesión reactiva<sup>36</sup>. Esta lección está relacionada por el deficit de vitaminas estando al tanto que la metformina nos va a producir deficiencia de la vitamina B12<sup>15</sup>

La lámina propia es una fina capa de tejido conectivo que está conformado por fibras de colágeno y células como fibroblastos, adipocitos entre otros tipos de

células en la figura N°5A ,N°6A y N°7<sup>a</sup> se puede observar el tejido conjuntivo en lámina propia donde se observa que las fibras colágenas bien definidas y la presencia de fibroblastos. En la Figura N°5B con un aumento de 64x y la figura N°6B con un aumento de 200x se puede observar la lámina propia donde se ve la presencia de un aumento de fibras de colágeno con ayuda de la figura N°7B donde con un mayor aumento se puede observar que hay una hiperplasia solo de las fibras de colágeno y no existe un aumento de las células a nivel de la lámina propia la hiperplasia de las fibras de colágeno están dadas como un mecanismo de defensa a un agente externo como raciones alérgicas a la medicación o a microorganismos conociendo que las Rattus estuvieron en un ambiente controlado la presencia de la hiperplasia es producida por una ración al medicamento.

Una de las funciones principales del tejido conjuntivo es la nutrición de los tejidos subyacentes este sea epitelial o tejido conjuntivo especializado con la presencia de pequeños y grandes vasos sanguíneos como se observa en la Figura N°8A, N°9A y N°10A en donde se observa la presencia de vasa sanguíneos. En la Figura N°8B, N°9B y N°10B donde se aprecia la dilatación de los vasos sanguíneos es el aumento de la luz del conducto este es una respuesta a un aumento en proceso celular este sea a nivel del tejido epitelial relacionándose con proceso de inflamación aumentando el flujo sanguíneo para la reparación del mismo.<sup>37</sup> Como podemos apreciar en las Figuras N° 11B, N°12B y N°13B se observa una ruptura de la membrana basal este está dado por una respuesta a un proceso inflamatorio induce una serie de alteraciones de los mecanismos defensivos, que conduce a la aparición de la necrosis del epitelio, dando lugar a erosiones o úlceras.<sup>38</sup>

Con la presencia de las siguientes características que se presentaron con anterioridad podemos decir las ratas tuvieron una reacción inflamatoria al medicamento a nivel de carrillo esto está dado a la adaptación celular que es, el estado que ocupa un sitio intermedio entre la célula normal no sometida a lesión y la que se encuentra lesionadas. Es respuestas celulares de adaptación las unidades funcionales alcanzan un nuevo aunque alterado estado de equilibrio y preservan la viabilidad de ellas mismas, además de que modulan su función como respuesta a

esos estímulos. Algunas de esas adaptaciones implican cambios en el crecimiento y diferenciación de la célula. De esta forma no es sorprendente que la lesión celular inducida por estas sustancias sea grave y, al mismo tiempo, extremadamente rápida en su inicio. Los posibles efectos farmacoinducidos en la cavidad bucal incluyen consecuencias directas e indirectas de los medicamentos.<sup>39</sup>

En estudios relacionados se describe como la metformina, un fármaco que tiene un papel protector en las complicaciones y los efectos anti-inflamatorios en las células endoteliales mediante la prevención de la activación del factor nuclear kappa B (NF-kB) y atenuar inducida por TNF- $\alpha$  inflamatoria la respuesta<sup>40</sup> el cual nos desencadena que la medicación por el kappa B es un complejo proteico que controla la transcripción del ADN se encuentra en la mayoría de tipos de células animales y está implicado en la respuesta celular frente a estímulos y por los TNF- $\alpha$  que es un tipo de citoquina el cual va actuar en las fases tempranas de la inflamación para así controlarla<sup>41</sup> en nuestro estudio se obtuvo la aparición de inflamación a nivel de carillos viendo que cada paciente tiene una reacción diferente a un tipo de medicación.

Los estudios a nivel de epitelio es la de la mucosa oral se los ha realizado con anterioridad ha sido para el tratamiento de carcinoma de células escamosas oral (CCCA) en donde la metformina induce la detención del ciclo celular en la fase G0 / G1 y la apoptosis de las células CCCA asociadas con la modulación de la expresión de proteínas del ciclo celular de regulación y relacionada con la apoptosis. Inhibidores de CDK, tales como p21 y p27 han sido demostrado que desempeñan un papel importante en los efectos inhibidores de la metformina en estudios anteriores.<sup>42</sup> Sin embargo, las estas proteínas en las células después del tratamiento con metformina CCCA. Esta discrepancia puede deberse a las diferencias en las propiedades de los diferentes tipos de células cancerosas.<sup>43</sup>

El principal uso metformina es un fármaco anti-diabético con potencial de acción anti-neoplásica, lo que disminuye la incidencia y la progresión de varios cánceres humanos.<sup>44</sup> Por otra parte, la metformina disminuye hepatocelular riesgo de carcinoma de una manera dependiente de la dosis.<sup>38</sup> Varios estudios también han demostrado que la metformina reduce la viabilidad de células de cáncer mediante

la inducción de la apoptosis en varios cánceres. Griss et al. Informó de que la metformina inhibe la proliferación de células cancerosas mediante la supresión de la actividad biosintética mitocondrial.<sup>45</sup>

La metformina ejerce sus efectos, antitumoral a través de mecanismos indirectos mediante el aumento de sensibilidad a la insulina, inhibición de la gluconeogénesis hepática,<sup>46</sup> y los mecanismos directos que implica la activación de la proteína quinasa activada por AMP, seguido de la inhibición del objetivo mamífero de la rapamicina vía.<sup>10</sup> Por otra parte, la metformina también juega un papel crucial en la modulación del metabolismo energético celular, y se reprime la EMT a través de la vía de señalización de la rapamicina vía<sup>47</sup> siendo esta vía la encargada la formación de ribosomas y la regulación del crecimiento, proliferación y muerte celular así es uno de los mediadores para el control de células cancerígenas, en nuestra investigación se pudo observar que a pesar de las ventajas que se tiene que regular diferentes vías en la formación de células y la apoptosis de células cancerígenas en el uso de diferentes cánceres se pudo observar cómo se generó a nivel bucal a nivel de carrillos una inflamación con diferentes signos.

Notando que investigaciones anteriores no existe una alteración que nos explique el porqué de la inflamación, se logró identificar los efectos indirecto de la metformina a nivel bucal en la inflamación encontrados en el estudio se describe que la medicación va a estar asociada con la deficiencia vitamina B 12. La metformina inhibe la gluconeogénesis, disminuye la producción de glucosa hepática, y aumenta la sensibilidad a la insulina. Uno de los efectos secundarios más comunes de la metformina es trastornos gastrointestinales, incluyendo la reducción de la vitamina B 12 absorción.<sup>48</sup> La metformina perturba el metabolismo del calcio, que es uno de los elementos necesarios para el cuerpo para absorber la vitamina B 12, Los individuos con disminución de los niveles de vitamina B 12 se han notificado a exhibir diversas manifestaciones orales como úlceras, queilitis y prurito a nivel de carrillos.<sup>26</sup>

## 8. CONCLUSIONES:

- En nuestro estudio en las *Rattus rattus* con el uso de metformina se pudo apreciar que no todo nuestro grupo problema fue susceptible a la medicación en el cual apenas un 20% encontramos alteraciones a nivel del tejido de carrillos presentando una Inflamación, y nivel de tejido del paladar duro se pudo observar que no presentó ninguna alteración
- En la mucosa del carrillo de las *Rattus rattus* se llegó apreciar las siguientes características como la ulceración de la mucosa que compromete al epitelio, hiperplasia con hiperqueratosis epitelial, engrosamiento de la pared de los pequeños y medianos vasos sanguíneos en submucosa, dilatación de los vasos sanguíneos en lámina propia e hiperplasia fibrosa del tejido conjuntivo en lámina propia.
- En la comparación de los cortes histológicos de los *Rattus rattus* var. Albinus se pudo apreciar que en el grupo control y el grupo problemas en el tejido del paladar no se presentó alteraciones en relación del tejido de la mucosa de carrillos del grupo control y grupo problema en donde se aprecia la presencia de inflamación en una *Rattus rattus* var. Albinus.
- El uso de la metformina no es completamente seguro en la mucosa de la cavidad oral por lo que si es necesario siniestrarla por uno de los efectos deseados como antidiabético, anti cancerígeno, pérdida de peso y ovario poli quístico, debemos tomar encanta los beneficios que nos va a producir la medicación y comparar con los riesgos que nos produce si el beneficio es mayor debemos tener un control de las estructuras que van a ser alteradas por la medicación.

## **9. RECOMENDACIONES:**

- Se recomienda que el Medico general o especialista tiene que tener una comunicación directa con el Odontólogo porque en esta investigación apreciamos los daños que se dieron en los tejidos de la mucosa oral principal mente en carrillos
- Fomentar este tipo de investigaciones sobre los medicamentos en los cuales no se conozcan las alteraciones o si los mismos no lo producen porque nosotros somos parte del grupo de salud debemos conocer los riesgos y beneficios de los mismos antes de prescribir
- Capacitar a los pacientes que usen metformina solo las alteraciones a nivel de carrillos que nos produce para que el paciente este pendiente de alguna alteración.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA :

- 1 Hernández Rodríguez, José, Manuel Emiliano Licea Puig, and Lizet Castelo Elías-Calles. "Medicamentos que favorecen la pérdida de peso y el control metabólico en las personas obesas con diabetes mellitus tipo 2." *Revista Cubana de Endocrinología* 24.3 (2013): 323-331.
- 2 Vademecun 2012. <http://www.vademecum.es/principios-activos-metformina-A10BA02>
- 3 Conway, DM. *Clínicas Obstétricas y Ginecológicas de Norteamérica*. Elsevier, España. 2007. Pag. 265-266.
- 4 Klubo-Gwiedzinska J, K Jensen, J Costello, Patel A, Hoperia V. La metformina inhibe el crecimiento y disminuye la resistencia a la anoikis en células de cáncer medular de tiroides. *Cáncer de Relat Endocr*. 2012; 19 (3): 447-456.
- 5 Luo, Qingqiong et al. "In Vitro and in Vivo Anti-Tumor Effect of Metformin as a Novel Therapeutic Agent in Human Oral Squamous Cell Carcinoma." *BMC Cancer* 12 (2012): 517. *PMC*. Web. 15 Feb. 2017.
- 6 González-Guevara M, Linares-Vieyra C, Rodríguez-de Mendoza L. Prevalencia de trastornos bucales en población de diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2008;46(3):237-245.
- 7 American Diabetes Association. *Standars of Medical Care in Diabetes* 2009. *Diabetes Care*. 2009;32:13-61
- 8 David Castro Serna, María Guadalupe Castro Martínez. *Biguanidas*. medigraphic Artemisa. 2006; 22:439-49
- 9 VADEMECUM 2013 EQUIPO DE REDACCION IQB <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/m025.htm>

- 10 Gong L, Goswami S, Giacomini KM, Altman RB, Klein TE. Metformin pathways: pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacogenet Genomics*. 2012; 22:820-827.
- 11 Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N, Leclerc J, Foretz M, Andreelli F. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clinical Science (London, England : 1979)*. 2012;122:253-270.
- 12 Hinke SA, Martens GA, Cai Y, Finsi J, Heimberg H, Pipeleers D, Van de Castele M. Methyl succinate antagonises biguanide-induced AMPK-activation and death of pancreatic beta-cells through restoration of mitochondrial electron transfer. *Br J Pharmacol*. 2007; 150:1031-1043
- 13 Calvert JW, Gundewar S, Jha S, Greer JJ, Bestermann WH, Tian R, Lefer DJ. Acute metformin therapy confers cardioprotection against myocardial infarction via AMPK-eNOS-mediated signaling. *Diabetes*. 2008; 57:696-705.
- 14 Wright, Alex D. et al. Hypoglycemia in Type 2 diabetic patients randomized to and maintained on monotherapy with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin for 6 years from diagnosis: UKPDS73. *Journal of Diabetes and Its Complications* 2006 Vol. 20 Pag. 395 – 401
- 15 Hostalek U, Gwilt M, Hildemann S. Therapeutic Use of Metformin in Prediabetes and Diabetes Prevention. *Drugs*. 2015;75:1071-1094
- 16 David Castro Serna, María Guadalupe Castro Martínez. Biguanidas. *medigraphic Artemisa. Med Int Mex* 2006; 22:439-49
- 17 Grimaldi C, F Chiarini, Tabellini G, Ricci F, Tazzari PL, Battistelli M, et al. AMP-dependent kinase / mammalian target of rapamycin complex 1 signaling in T cells of acute lymphoblastic leukemia: therapeutic implications . *Leukemia* . 2012. enero; 26 ( 1 ): 91-100.

- 18 Ortega Carnicer, J. et al. Sobredosis de metformina secundaria a insuficiencia renal aguda: A propósito de 6 observaciones. *Med. Intensiva*. 2007, vol.31.
- 19 Flores, Jesús; Juan, Antonio Armijo y África Mediavilla. *Farmacología humana* 2004. Edición.3.
- 20 Andrzejewski S, Gravel S-P, Pollak M, St-Pierre J. Metformin directly acts on mitochondria to alter cellular bioenergetics. *Cancer & Metabolism*. 2014;2;5-6
- 21 Tseng C-H. Metformin may reduce oral cancer risk in patients with type 2 diabetes. *Oncotarget*. 2016;7(2):2000-2008.
- 22 Rocha GZ, Dias MM, Ropelle ER, Osorio-Costa F, Rossato FA. Metformin amplifies chemotherapy-induced AMPK activation and antitumoral growth. *Clin Cancer Res*. 2011;17(12):3993–4005.
- 23 Andrzejewski, S., Gravel, S.-P., Pollak, M., & St-Pierre, J. Andrzejewski, Sylvia et al. “Metformin Directly Acts on Mitochondria to Alter Cellular Bioenergetics.” *Cancer & Metabolism* 2 (2014): 12. PMC. Web..
- 24 Bhalla K, Hwang BJ, Dewi RE, et al. PGC1 $\alpha$  promotes tumor growth by inducing gene expression programs supporting lipogenesis. *Cancer Research*. 2011; 71 : 6.888 a 6.898.
- 25 Sesen J, Dahan P, Escocia SJ, et al. Metformin inhibits the growth of human glioblastoma cells and improves the therapeutic response. Alonso MM, ed. *PLoS ONE* . 2015; 10 (4); 2-3
- 26 Kim, Jihoon, Luna-Jong Kim, y Hong-Seop Kho. "Las manifestaciones orales de vitamina B 12 pacientes con deficiencia con o sin historia de gastrectomía." *BMC Oral Health* 16 (2016): 60. PMC . Web.

- 27 Figuerola, Daniel. Diabetes. Elsevier, España.2003. 4º edición Pag. 141.
- 28 Thomsen HS, Morcos SK. Contrast media and the kidney: European Society of Urogenital Radiology. Br J Radiol. 2003 Aug; 76 (908): 513-8.
- 29 Conway, DM. Clínicas Obstétricas y Ginecológicas de Norteamérica. Elsevier, España. 2007. Pag. 265-266.
- 30 Leslie P. Gartner, James L. Hiatt. Texto atlas de Histología 2da. Edició. Edit. Mc. Graw-Hill Interamericana. México 2002. Pg.351-362
- 31 Dr. Xavier Vidal Ramón La mucosa bucal. CanalSalud 2009.  
<https://www.salud.mapfre.es/salud-familiar/salud-dental/la-boca/la-mucosa-bucal/>
- 32 Dra. Guénica García Histología de la Cavidad Oral 2001  
<http://facultades.unab.cl/wp-content/blogs.dir/5/files/2011/10/Apuntes-CavidadOral11.pdf>
- 33 Quintana Díaz Juan Carlos, Miranda Tarragó Josefa Dolores, Quintana Giralt Mayrim. Comportamiento del quiste branquial en pacientes del Hospital General Docente "Ciro Redondo García", Artemisa, 1993-2009. Rev Cubana Estomatol [Internet]. 2012 Mar
- 34 Eduardo. L Ceccotti, Ricardo R Sforza, julio cesar Carzolgio. El diagnostico en la clínica estomatológica. 1ra ed. Buenos Aires- Argentina. Editorial Medica Panamericana S.A. 2007 Enero.
- 35 Rioboo Crespo Mº del Rosario, Planells del Pozo Paloma, Rioboo García Rafael. Epidemiología de la patología de la mucosa oral más frecuente en niños. Med. oral patol. oral cir. bucal (Ed.impr.) [Internet]. 2005 Dic 10( 5 ): 376-387.
- 36 Casian Romero A, Trejo Quiroz P, De León Torres C, Carmona Ruiz D. Hiperplasia Fibrosa Inflamatoria: reporte de un caso. Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral [Internet]. 2011 Ago; 4( 2 ): 74-79

- 37 Bastos Marta, Serrão CR, Miranda TS, Cruz DF, de Souza Malta F, Effects of metformin on bone healing around titanium implants inserted in non-diabetic rats. [Internet]. Clin Oral Implants Res. 2016 Aug 29
- 38 Cauchy F., Mebarki M., Albuquerque M., Laouirem S., Rautou P.E., Soubrane O., Raymond E., Bedossa P., Paradis V. Anti-angiogenic effect of metformin in human liver carcinogenesis related to metabolic syndrome. Gut. 2015; 64: 1498–1500.
- 39 Calzado de Silva Milagros de la Caridad, Laurencio Rodríguez Jorge, Peña Sisto Maritza. Enfermedades causadas por fármacos en la cavidad bucal. MEDISAN [Internet]. 2015 Nov. 19( 11 ): 1386-1398.
- 40 Xue, Yansong et al. "La metformina mejora la función de barrera epitelial ileal de la interleucina-10 ratones deficientes." Ed. Han Xiaonan. PLoS ONE 11.12 (2016): e0168670. PMC.
- 41 Hattori Y, Suzuki K, Hattori S, Kasai K. Metformin inhibits cytokine-induced nuclear factor kappaB activation via AMP-activated protein kinase activation in vascular endothelial cells. Hypertension. 2006;47(6):1183–8. doi
- 42 Zhuang, Yongxian, and W Keith Miskimins. "Cell Cycle Arrest in Metformin Treated Breast Cancer Cells Involves Activation of AMPK, Downregulation of Cyclin D1, and Requires p27<sup>Kip1</sup> or p21<sup>Cip1</sup>." *Journal of Molecular Signaling* 3 (2008): 18. PMC. Web.
- 43 Luo, Qingqiong et al. "In Vitro and in Vivo Anti-Tumor Effect of Metformin as a Novel Therapeutic Agent in Human Oral Squamous Cell Carcinoma." *BMC Cancer* 12 (2012): 517. PMC. Web..

- 44 Würth R, Pattarozzi A, Gatti M, et al. Metformin selectively affects human glioblastoma tumor-initiating cell viability: A role for metformin-induced inhibition of Akt. *Cell Cycle*. 2013;12(1):145-156. PMC . Web
- 45 Griss, T., Vincent, E. E., Egnatchik, R., Chen, J., Ma, E. H., Faubert, B., ... Jones, R. G. Metformin Antagonizes Cancer Cell Proliferation by Suppressing Mitochondrial-Dependent Biosynthesis Ed. Douglas R. Green. *PLoS Biology* 13.12 (2015): e1002309. PMC. Web.
- 46 Giovannucci, E., Harlan, D. M., Archer, M. C., Bergenstal, R. M., Gapstur, S. M., Habel, L. A., Yee, D. Diabetes and Cancer: A Consensus Report. *Diabetes Care* 33.7 (2010): 1674–1685. PMC. Web.
- 47 Li L., Han R., Xiao H., Lin C., Wang Y., Liu H., Li K., Chen H., Sun F., Yang Z., et al. Metformin sensitizes EGFR-TKI-resistant human lung cancer cells in vitro and in vivo through Inhibition of IL-6 signaling and EMT reversal. *Clin. Cancer Res*. 2014;20:2714–2726 PMC. Web.
- 48 Reinstatler, Lael et al. “Association of Biochemical B<sub>12</sub> Deficiency With Metformin Therapy and Vitamin B<sub>12</sub> Supplements: The National Health and Nutrition Examination Survey, 1999–2006.” *Diabetes Care* 35.2 (2012): 327–333. PMC. Web.
- 49 Valdés R Enrique, Soto-Chacón Emiliano, Lahsen M Rodolfo, Barrera H Carlos, Candía P Paula. Eficacia de los hipoglicemiantes orales en el control metabólico de pacientes con diabetes mellitus gestacional. *Rev. méd. Chile* [Internet]. 2008 Jul; 136(7): 915-920.

8. Anexos

Anexo 1 Cronograma

Nº	ACTIVIDADES	RESPONSABLES	2016						2017	
			JULIO	AGOSTO	SETEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO
1	Elaboración del proyecto de Investigación	Investigador Asesor								
2	Recolección de datos	Investigador Asesor								
3	Análisis de datos	Investigador Asesor								
4	Redacción del informe científico	Investigador Asesor								



Anexo 2 Fotografía de almacenamiento de los *Rattus rattus* var. Albinus



Anexo 3 Fotografía del grupo control y grupo problema de los *Rattus rattus* var. Albinus



Anexo 4 Fotografía del sondaje orogastrico con la metformina en *Rattus rattus* var. Albinus



Anexo 5 Fotografía de la realización de cortes histológicos en *Rattus rattus* var. Alvinus



Anexo 6 Fotografía de la realización de cortes histológicos en *Rattus rattus* var. Alvinus



Anexo 5 fotografía del almacenamiento de cortes histológicos en *Rattus rattus* var. Alvinus

Anexo 7 Resultados del histologo y archivo de interpretación



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

Bioterio - Vicerrectorado de  
Investigación

## CERTIFICADO

San Martín de Porres, 09 de agosto de 2016

Mediante la presente se certifica que las 15 ratas de la cepa albina Sprague Dawley, machos, adquiridas el 09 de agosto de 2016 por el Sr. Adrián Enrique Almeida Alvarado con número de cédula 0603858259 y la Sta. Mayra Alexandra Lema Carrera con el número de cédula 0202024493, están en perfecto estado sanitario y fisiológico, para ser utilizada en cualquier protocolo Biomédico.

Atentamente;

Dr. CHRISTIAN PITOT ALVAREZ



Jefe de Bioterio  
LID - UPCH  
C.M.V. 8885

Av. Honorio Delgado 430, Lima 31. Apartado postal 4314, Lima 100

Teléfono: (511) 319-0000 anexo: 2710

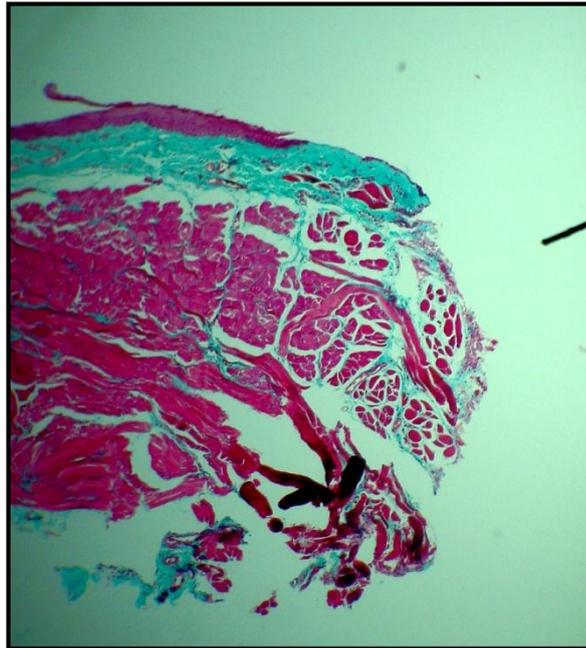
E-mail: [Christian.pitot@upch.pe](mailto:Christian.pitot@upch.pe)

## RATA N° 1 TRATADA CON METFORMINA

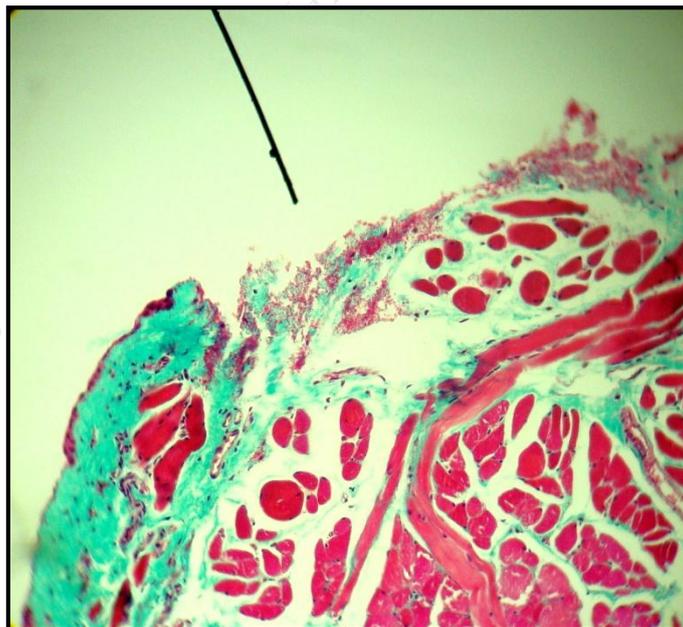
Espécimen: Carrillo

Método: Tricrómica de Gomori

4



Microfotografía N° 1: Carrillo 63x. T. de Gomori. Se observa ulceración de la mucosa (epitelio y corion)



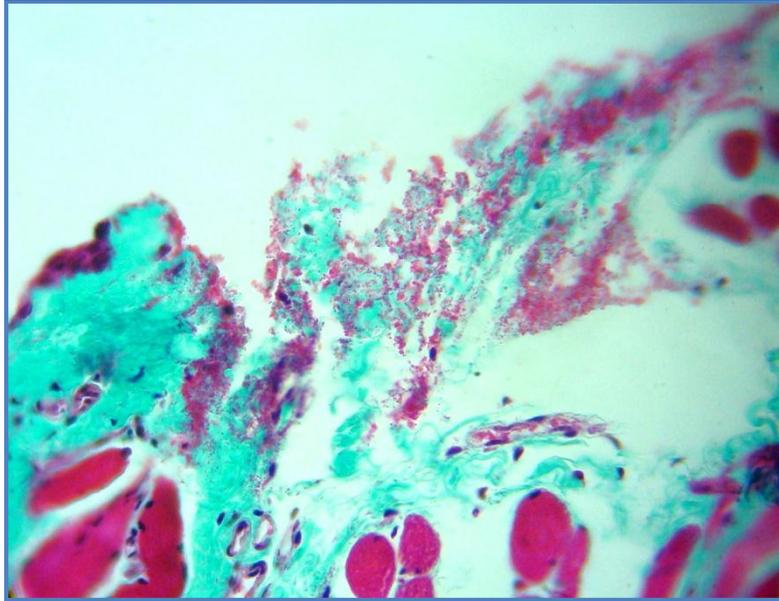
Microfotografía N° 2: Carrillo 200x. T. de Gomori. Se observa ulceración de la mucosa (epitelio y corion)

# JOSÉ SOLDADO MURO

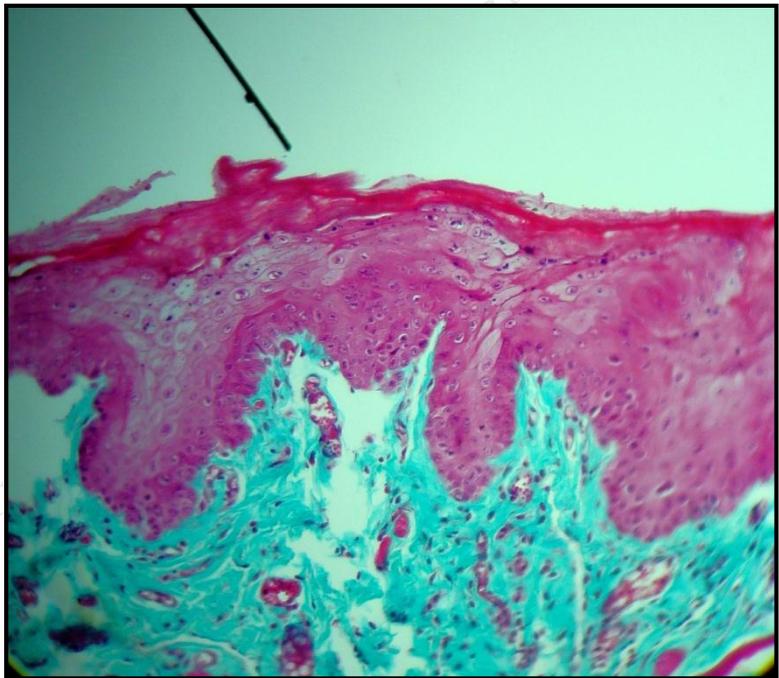
TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



Microfotografía N° 3: Carrillo 430x. T. de Gomori. Se observa ulceración de la mucosa (epitelio y corion)



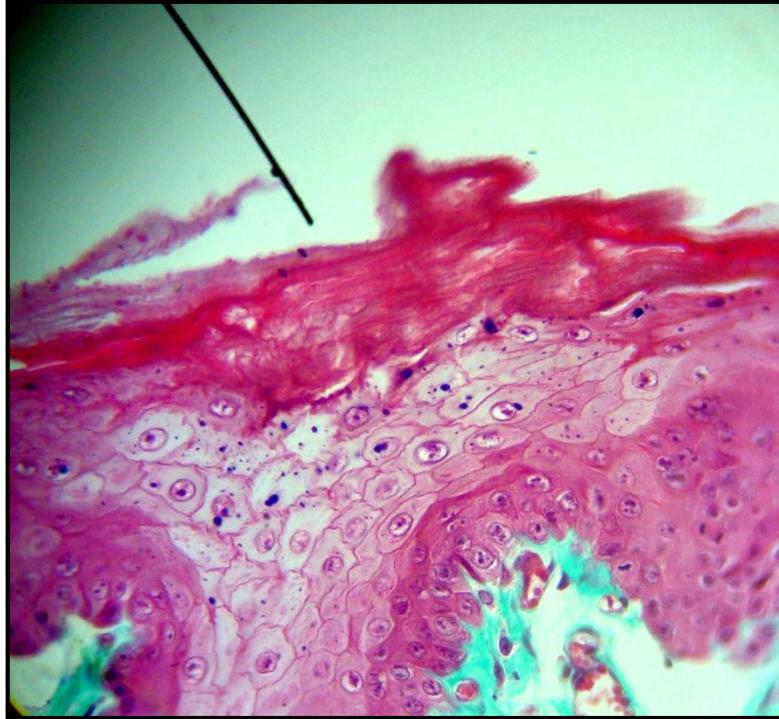
Microfotografía N° 3: Carrillo 200x. T. de Gomori. Se observa hiperplasia con hiperqueratosis en epitelio.

# JOSÉ SOLDADO MURO

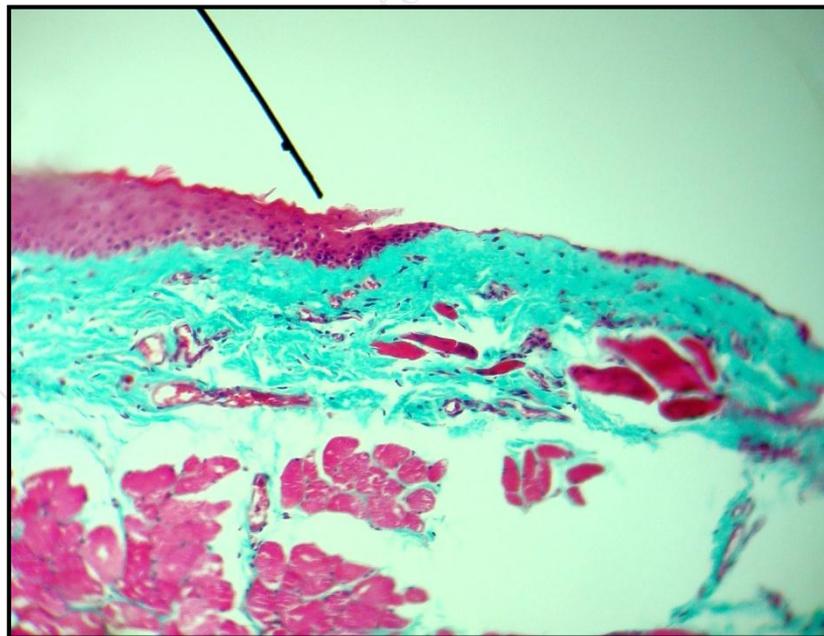
TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



Microfotografía N° 5: Carrillo 430x. T. de Gomori. Se observa hiperplasia con hiperqueratosis en epitelio



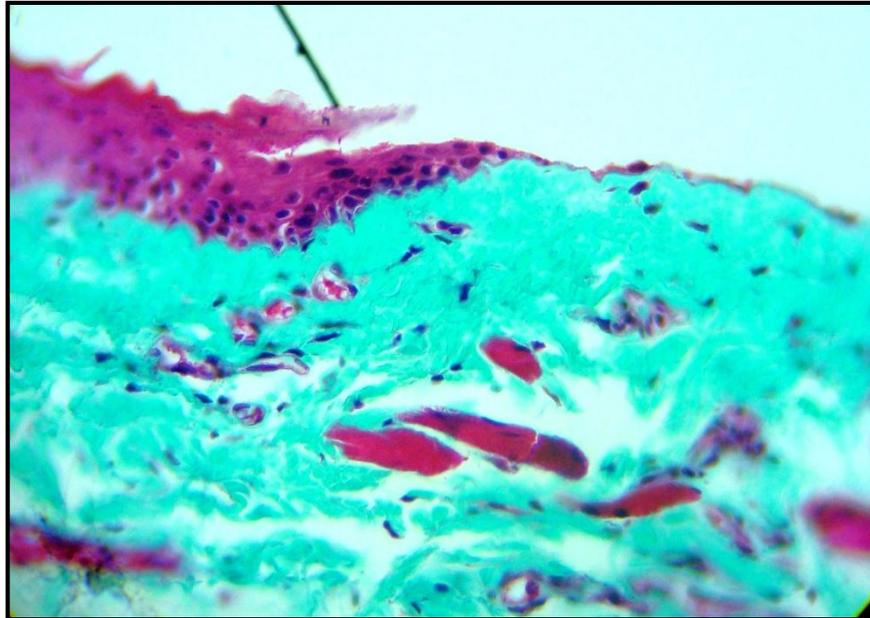
Microfotografía N° 6: Carrillo 200x. T. de Gomori. Se observa hiperplasia de células basales y parabasales en epitelio

# JOSÉ SOLDADO MURO

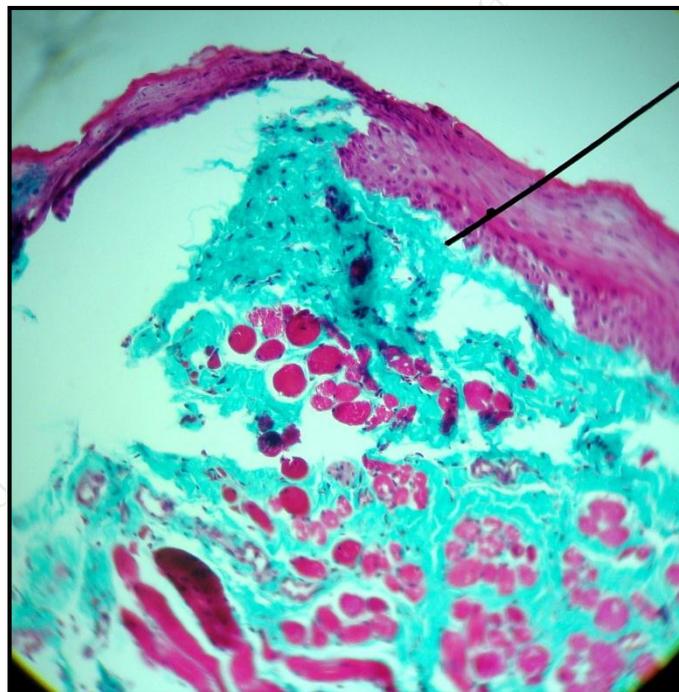
TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



Microfotografía N° 7: Carrillo 430x. T. de Gomori. Se observa hiperplasia de células basales y parabasales del epitelio.



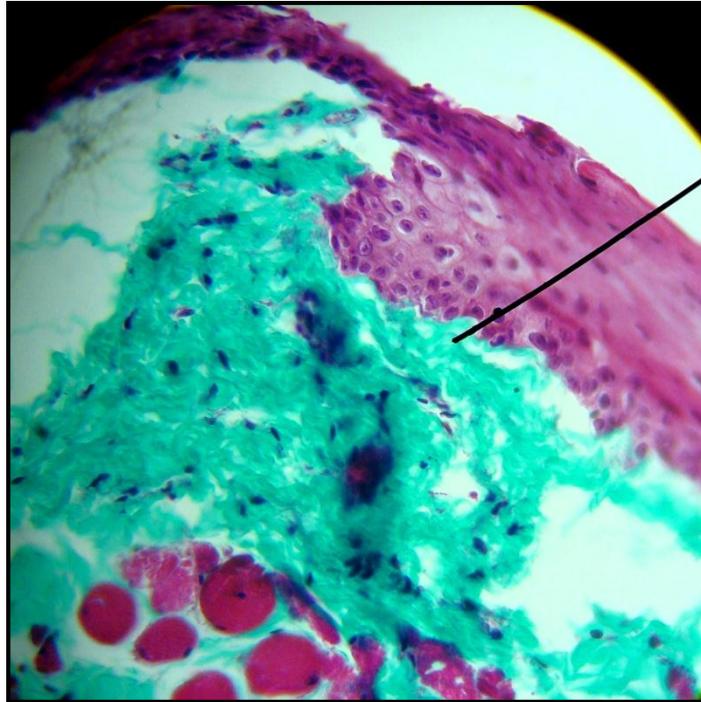
Microfotografía N° 8: Carrillo 63x. T. de Gomori. Se observa Hiperplasia fibrosa en lámina propia.

# JOSÉ SOLDADO MURO

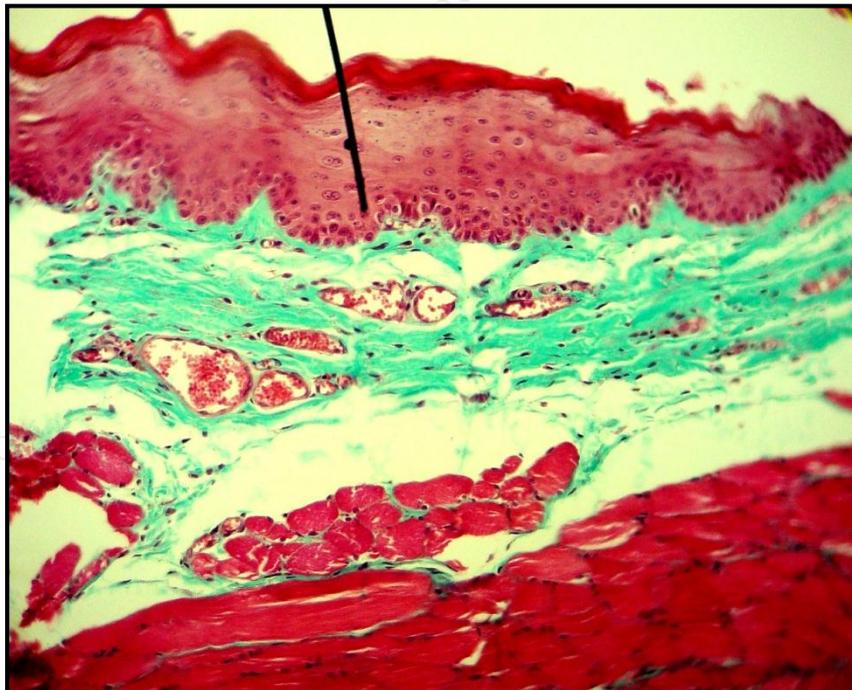
TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



Microfotografía N° 9: Carrillo 200x. T. de Gomori. Se observa hiperplasia fibrosa en lámina propia



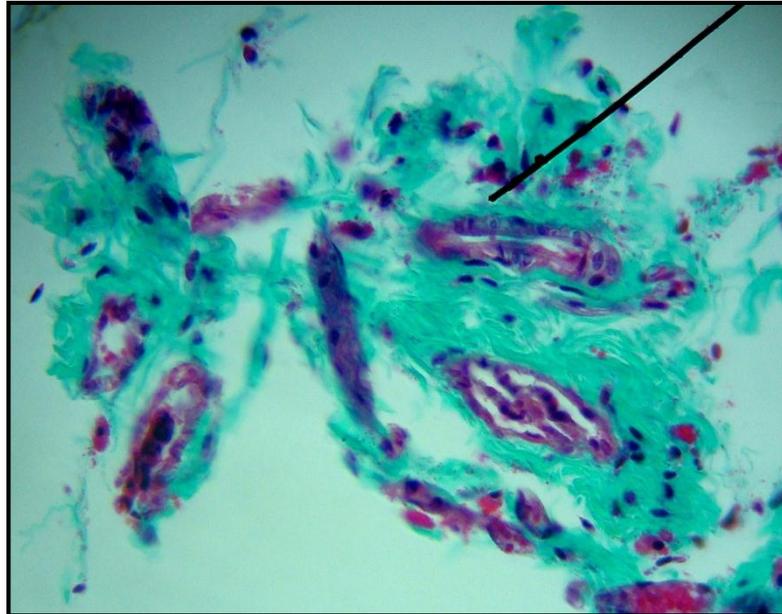
Microfotografía N° 10: Carrillo 200x. T. de Gomori. Se observa dilatación de los pequeños y medianos vasos sanguíneos en lámina propia.

# JOSÉ SOLDADO MURO

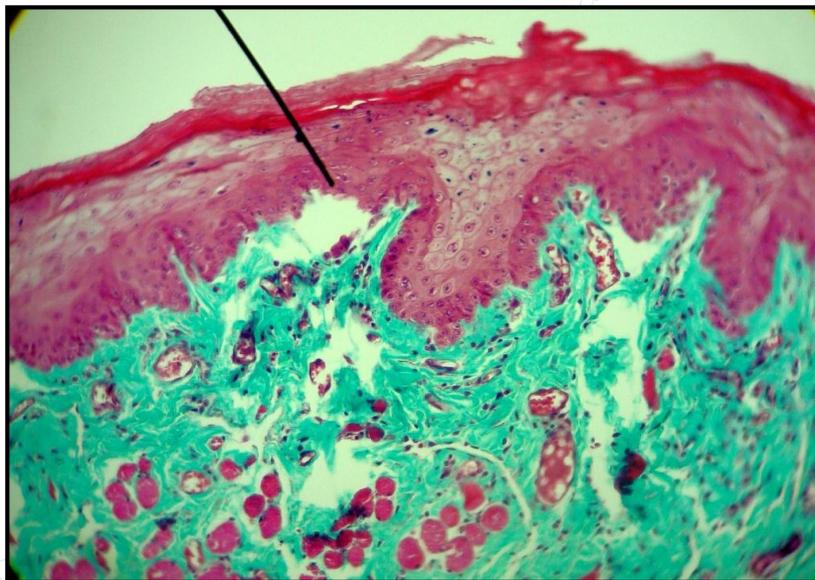
TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



Microfotografía N° 11: Carrillo 200x. T. de Gomori. Se observa dilatación de los pequeños y medianos vasos sanguíneos en submucosa.



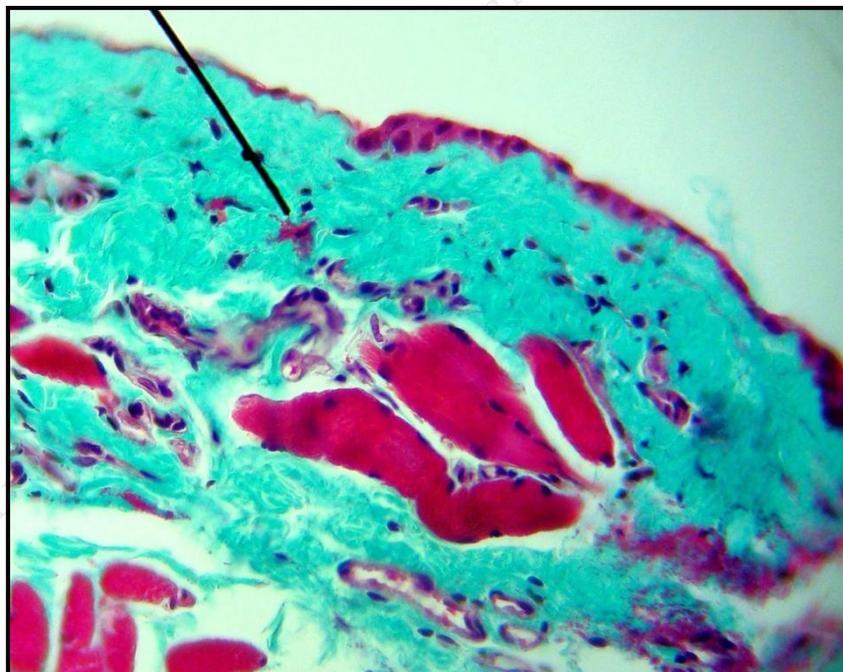
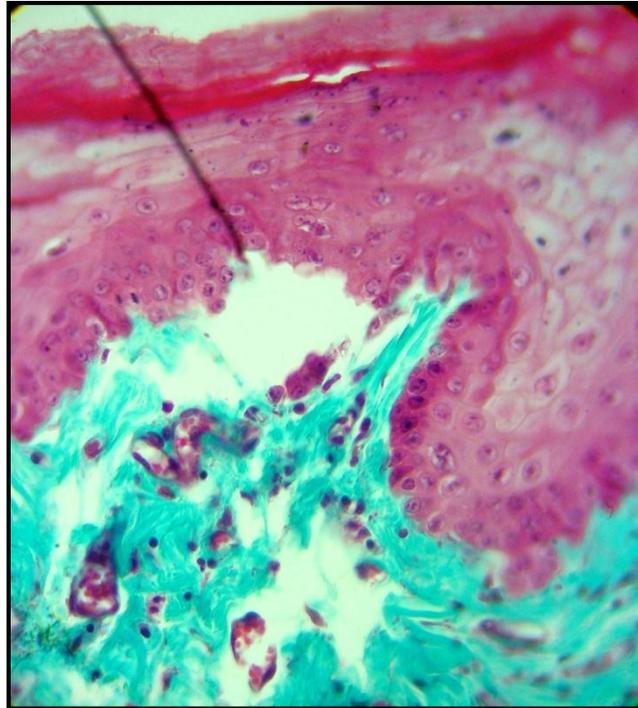
Microfotografía N° 12: Carrillo 200x. T. de Gomori. Se observa ruptura de la membrana basal

# JOSÉ SOLDADO MURO

TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



Microfotografía N° 13: Carrillo 430x. T. de Gomori. Se observa ruptura de la membrana basal

Microfotografía N° 14: Carrillo 430x. T. de Gomori. SE observan histiocitos en lámina propia

# JOSÉ SOLDADO MURO

TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



## **Microscopía:**

A menor aumento (63), mediano (200x), mayor aumento 430x y 730x se observa:

Lesiones de naturaleza inflamatoria, histológicamente caracterizadas por:

- Ulceración de la mucosa que compromete al epitelio y corion.
- Hiperplasia con hiperqueratosis epitelial.
- Hiperplasia de células basales y parabasales del epitelio.
- Engrosamiento de la pared de los pequeños y medianos vasos sanguíneos en submucosa.
- Dilatación de los vasos sanguíneos en lámina propia.
- Hiperplasia fibrosa del tejido conjuntivo en lámina propia.
- Presencia de histiocitos en el corion.

## **Diagnóstico Histológico:**

La mucosa de carrillo muestra características de inflamación aguda.

**JOSÉ SOLDADO MURO**  
Tecnólogo Médico  
Histólogo

# **JOSÉ SOLDADO MURO**

**TECNÓLOGO MÉDICO**  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

**ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA**



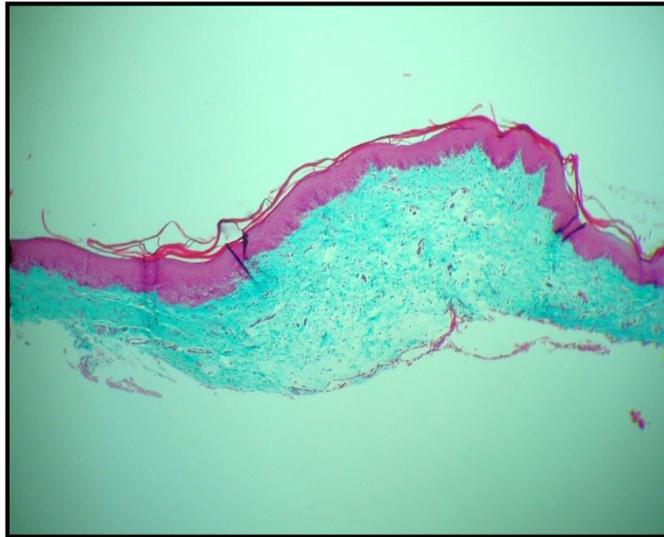
Laboratorio de Histología e Histoquímica: T.M. José Soldado Muro

## RATA N° 1: TRATADA CON METFORMINA

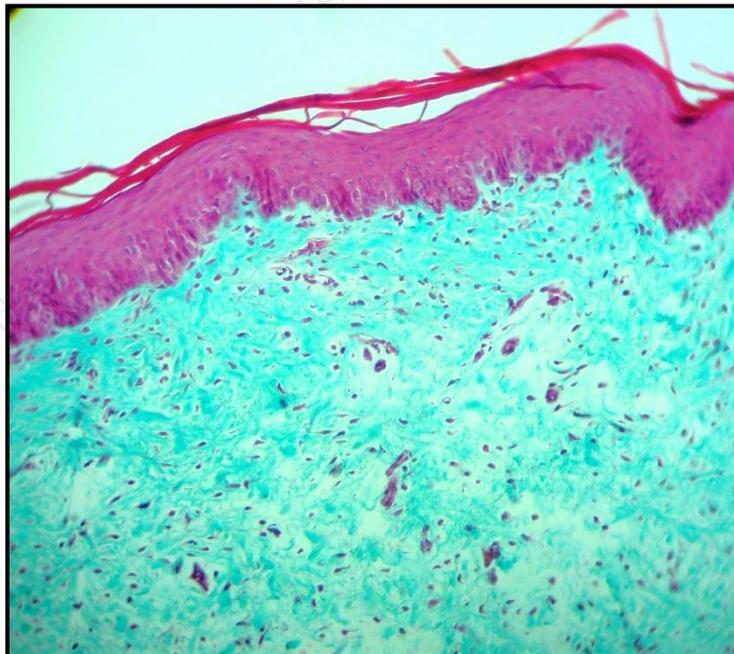
Especímenes: Paladar duro, Lengua y Parótida

Método: Tricrómica de Gomori

13



Microfotografía N° 1: Paladar duro 63x. T. de Gomori.



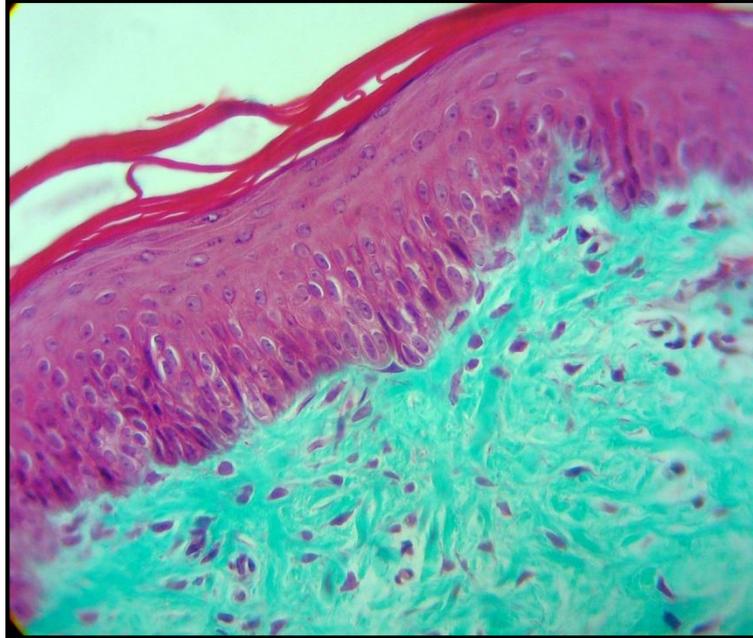
Microfotografía N° 2: Paladar duro 200x. T. de Gomori

# JOSÉ SOLDADO MURO

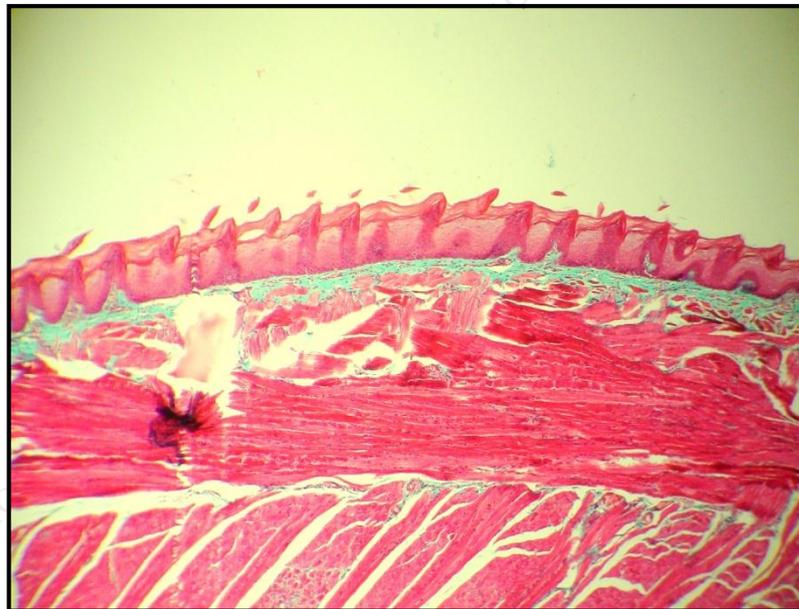
TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



Microfotografía N° 3: Paladar duro 430x. T. de Gomori



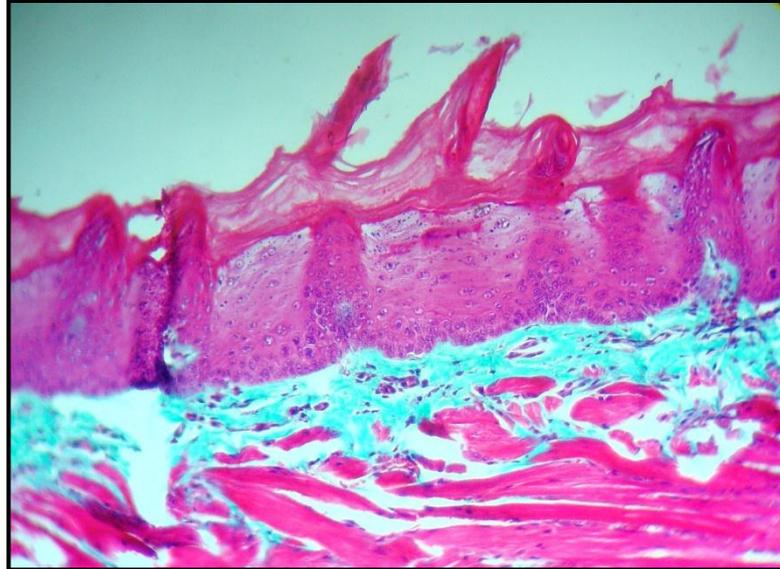
Microfotografía N° 4: Lengua (Mucosa dorsal) 63x. T. de Gomori

# JOSÉ SOLDADO MURO

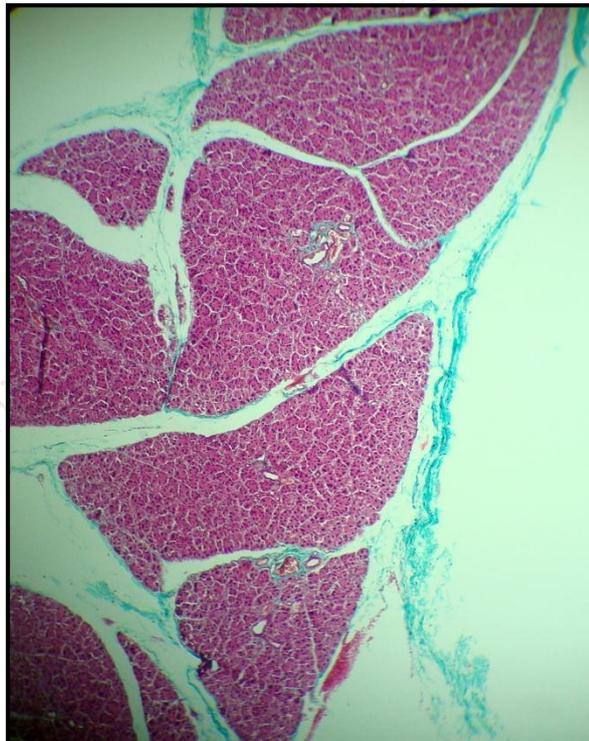
TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



Microfotografía N° 6: Lengua (Mucosa dorsal) 200x. T. de Gomori



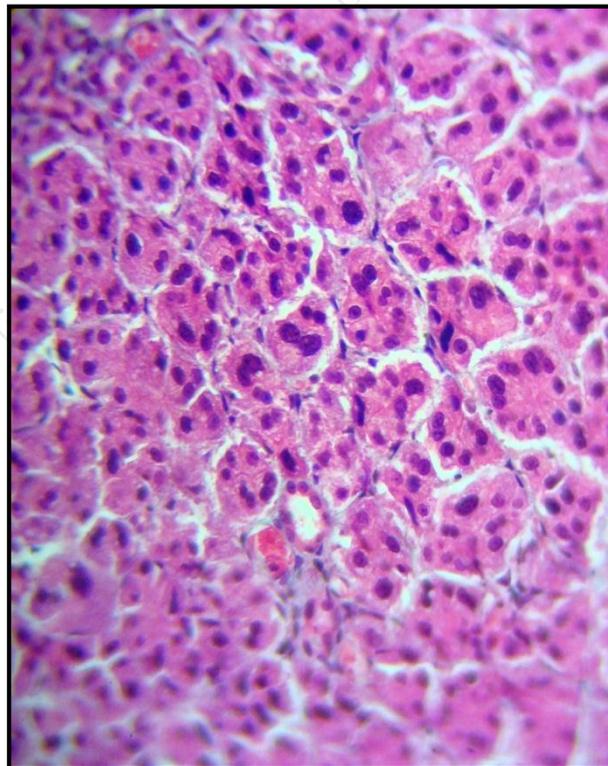
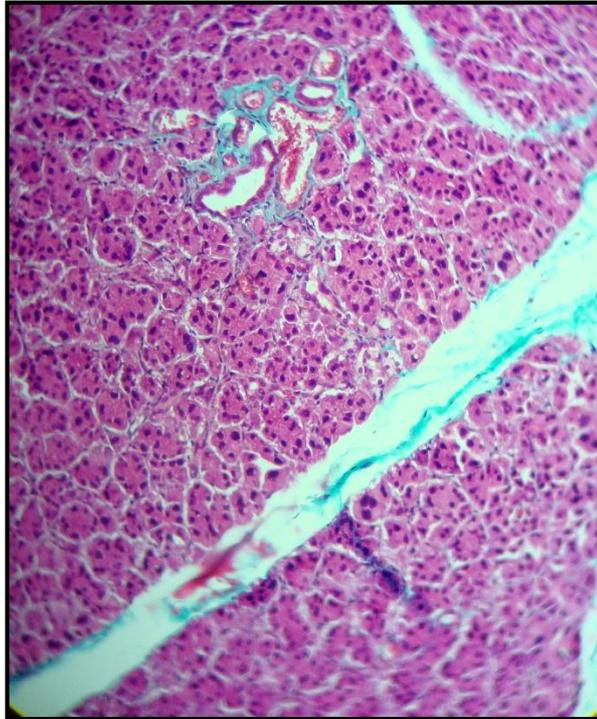
Microfotografía N° 7: Parótida 63x. T. de Gomori

# JOSÉ SOLDADO MURO

TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



Microfotografía N° 8: Parótida 200x. T. de Gomori

Microfotografía N° 9: Parótida 430x. T. de Gomori

# JOSÉ SOLDADO MURO

TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



## Diagnóstico Histológico

A menor (63x), mediano (200x) y mayor aumento (450x y 750x).

Las mucosas de paladar duro, lengua y parótida muestran características histológicas normales.

**JOSÉ SOLDADO MURO**  
Tecnólogo Médico  
Histólogo

Laboratorio de Histología e Histoquímica: T.M. José Soldado Muro

## RATA N° 1 TRATADA CON METFORMINA

Espécimen: Carrillo

Método: Hematoxilina y Eosina

18



Microfotografía N° 1: Carrillo 63x. H. y E. Se observa ulceración de la mucosa (epitelio y corion)



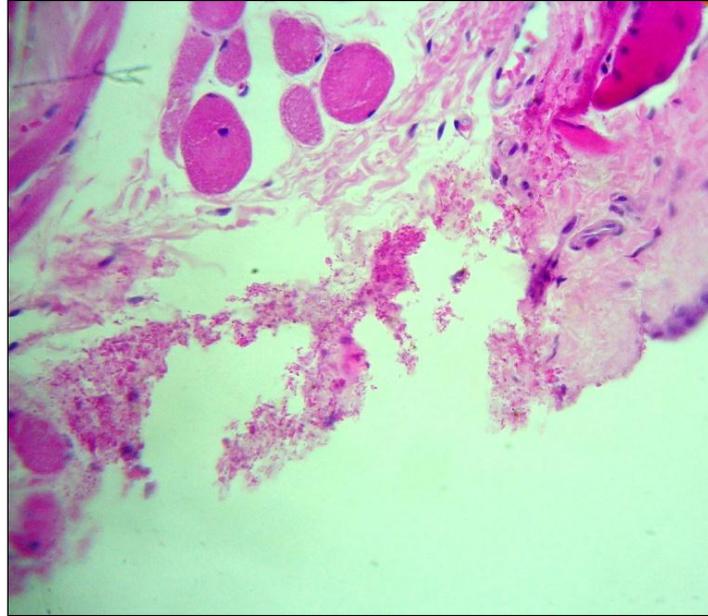
Microfotografía N° 2: Carrillo 200x. H. y E. Se observa ulceración de la mucosa (epitelio y corion)

# JOSÉ SOLDADO MURO

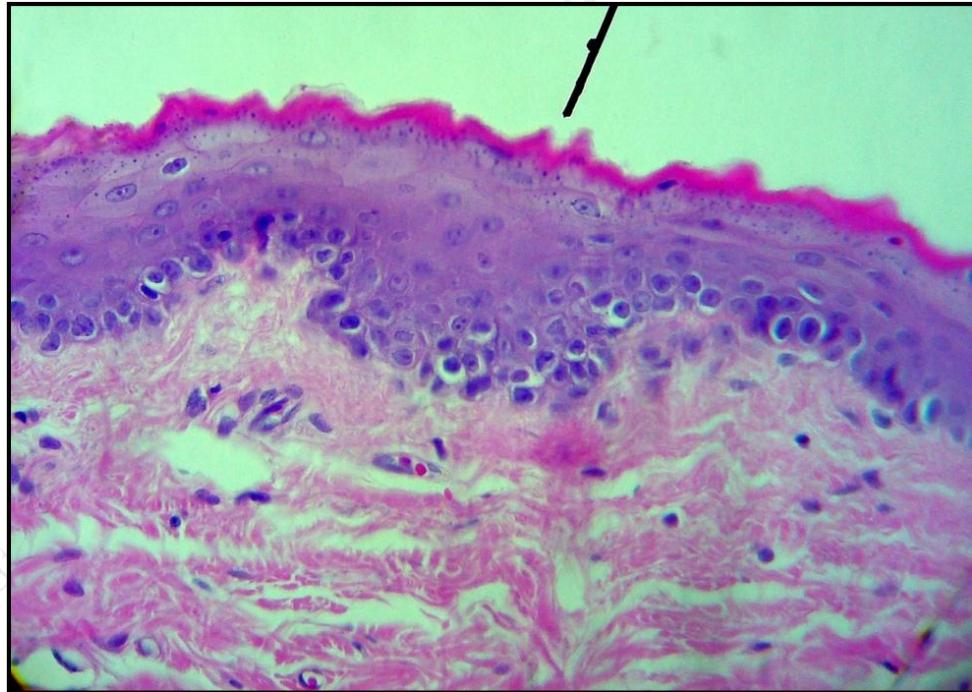
TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



Microfotografía N° 3: Carrillo 430x. H. y E. Se observa ulceración de la mucosa (epitelio y corion).



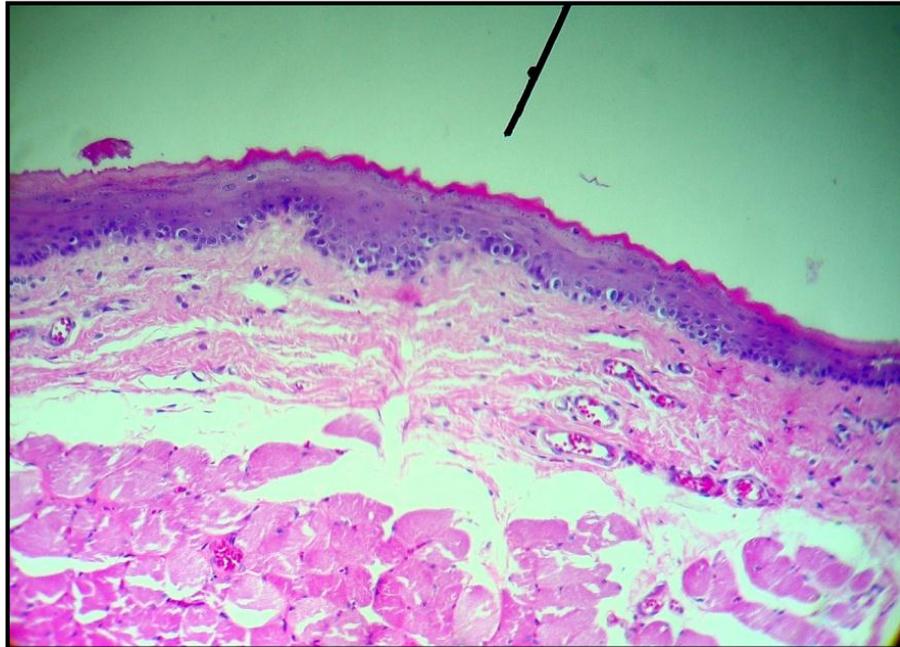
Microfotografía N° 4: Carrillo 200x H. y E. Se observa hiperplasia con hiperqueratosis epitelial.

# JOSÉ SOLDADO MURO

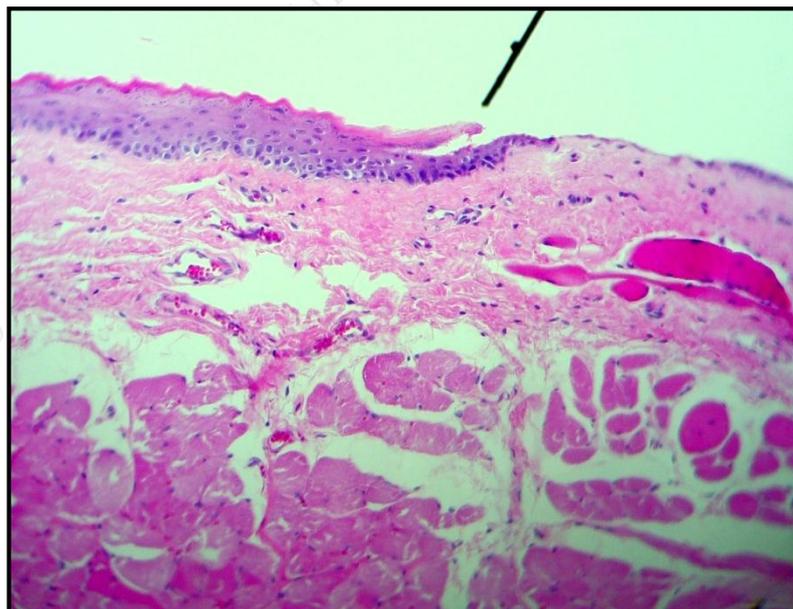
TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



Microfotografía N° 5: Carrillo 430x. H. y E. Se observa hiperplasia con hiperqueratosis epitelial



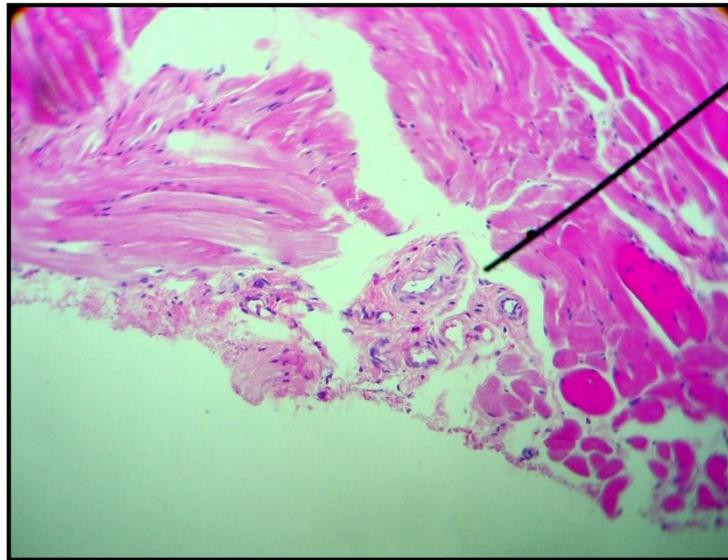
Microfotografía N° 6: 200x. H. y E. Hiperplasia de células basales y parabasales en epitelio.

# JOSÉ SOLDADO MURO

TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



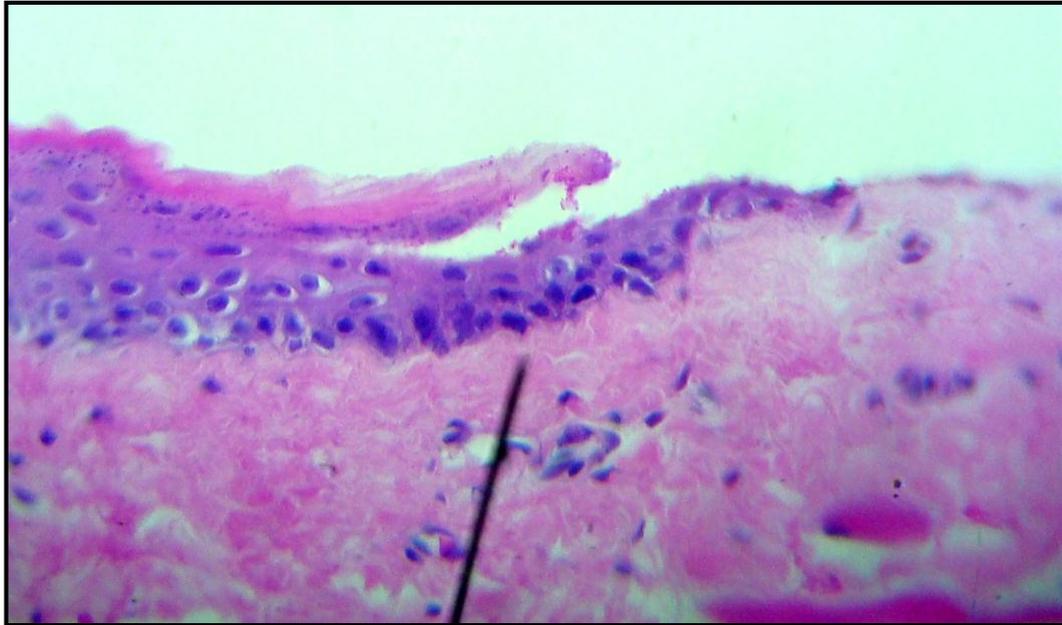
Microfotografía N° 7: Carrillo 430x. H. y E. Se observa hiperplasia de células basales y parabasales en epitelio.

# JOSÉ SOLDADO MURO

TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



Microfotografía N° 8: Mejilla 200x. H. y E. Se observa engrosamiento de la pared de los pequeños y medianos vasos sanguíneos en la submucosa.

Laboratorio de Histología e Histoquímica.

# JOSÉ SOLDADO MURO

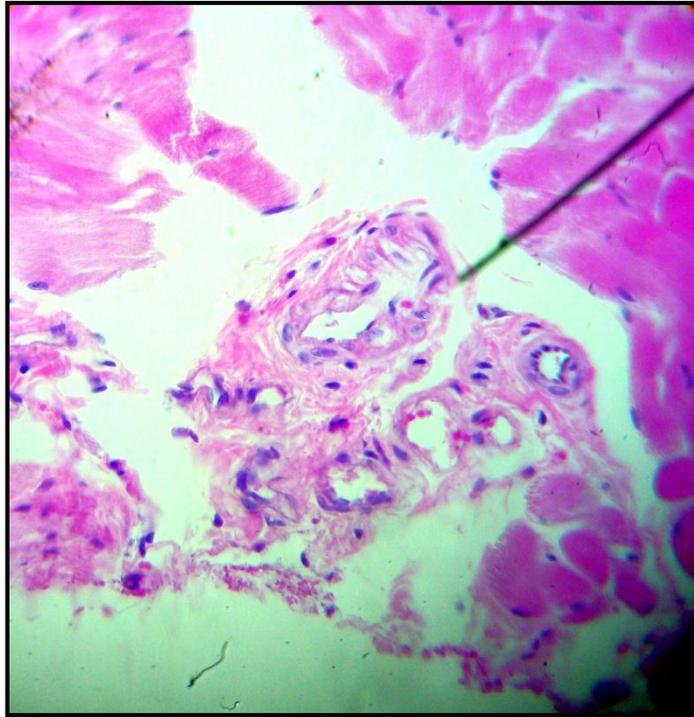
TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

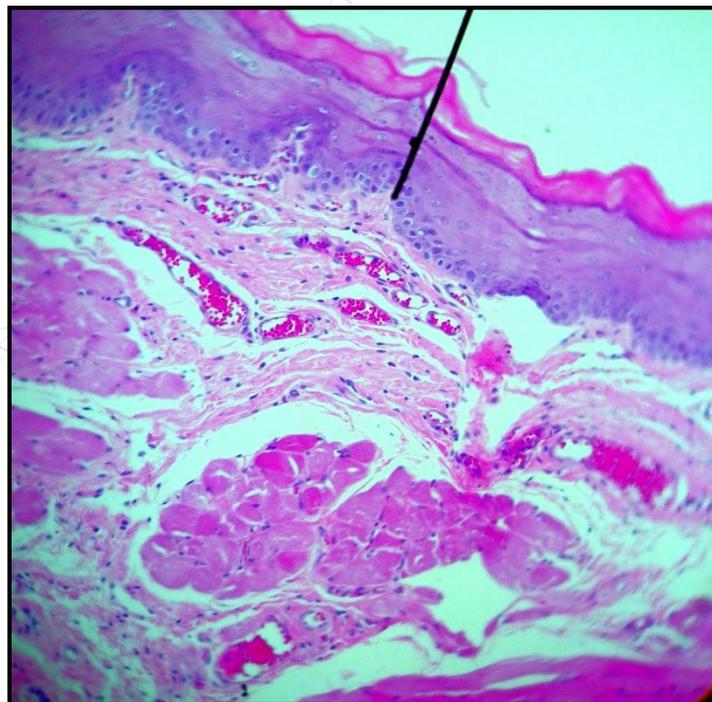
ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



23



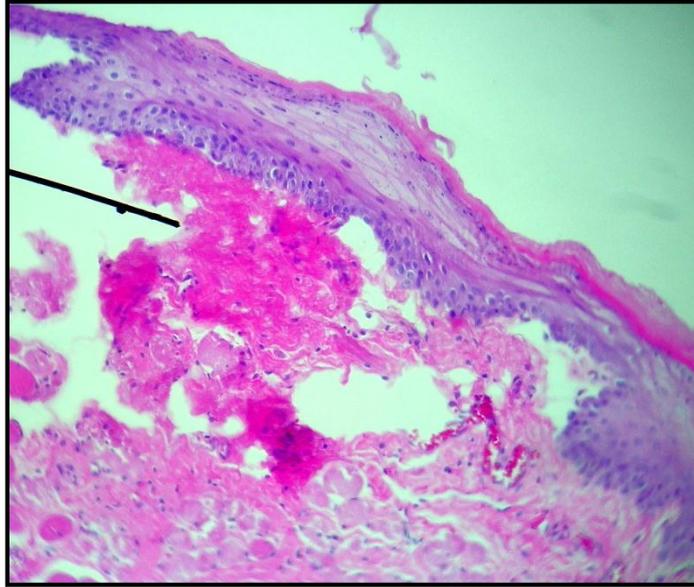
Microfotografía N° 9: Mejilla 430x. H. y E. Se observa engrosamiento de la pared de los pequeños y



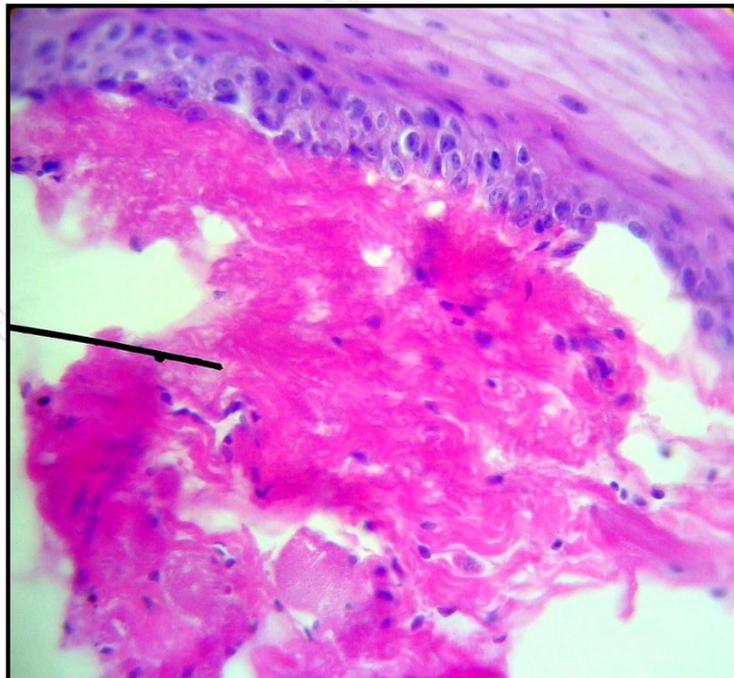
Medianos vasos sanguíneos en submucosa

Microfotografía N° 10: Carrillo 430x. H. y E. Dilatación de los vasos sanguíneos en lámina propia.

24



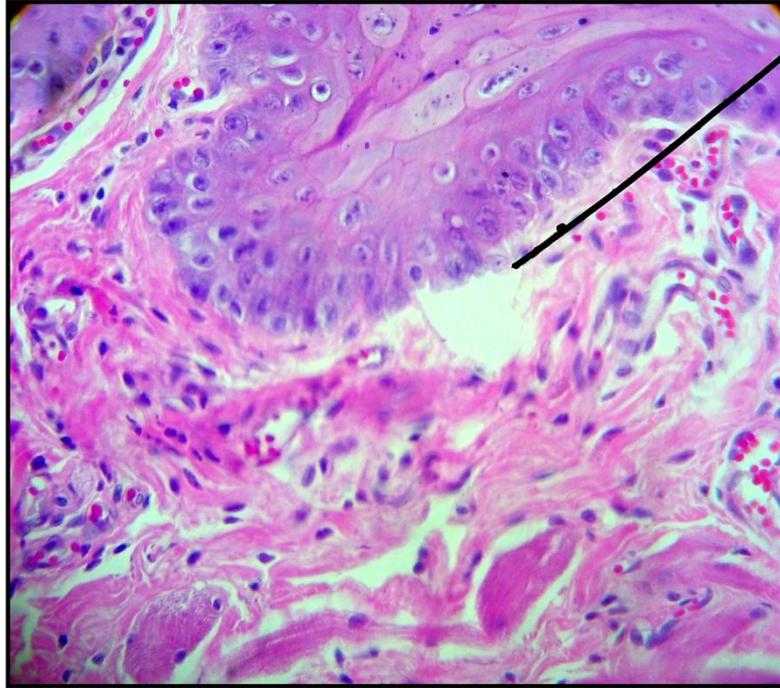
Microfotografía N° 11: Carrillo 200x. H. y E. Se observa hiperplasia fibrosa del tejido conjuntivo en lámina propia.



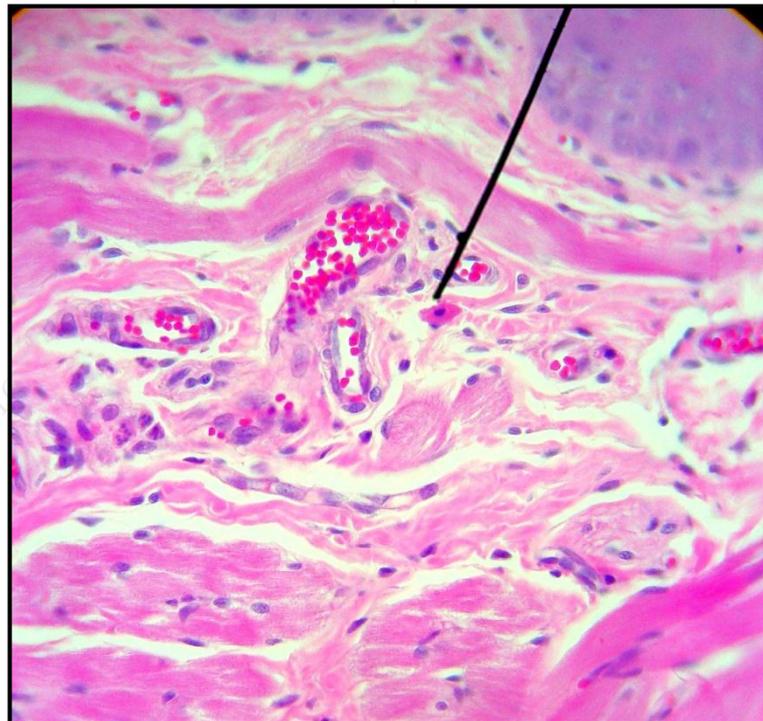
Microfotografía N° 12: Carrillo 430x. H. y E. Se observa hiperplasia fibrosa del tejido conjuntivo

en lámina propia.

25



Microfotografía N° 13: Carrillo 430x. H. y E. Se observa ruptura de la membrana basal.



Microfotografía N° 14: Carrillo 430x. H. y E. Se observa presencia de histiocitos en el corion

# JOSÉ SOLDADO MURO

TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



## **Microscopía:**

A menor aumento (63), mediano (200x), mayor aumento (430x) se observa:

Lesiones de naturaleza inflamatoria, histológicamente caracterizadas por:

- Ulceración de la mucosa que compromete al epitelio y corion.
- Hiperplasia con hiperqueratosis epitelial.
- Hiperplasia de células basales y parabasales del epitelio.
- Engrosamiento de la pared de los pequeños y medianos vasos sanguíneos en submucosa.
- Dilatación de los vasos sanguíneos en lámina propia.
- Hiperplasia fibrosa del tejido conjuntivo en lámina propia.
- Presencia de histiocitos en el corion.

## **Diagnóstico Histológico:**

La mucosa de carrillo muestra características de inflamación aguda.

**JOSÉ SOLDADO MURO**  
Tecnólogo Médico  
Histólogo

# **JOSÉ SOLDADO MURO**

**TECNÓLOGO MÉDICO**  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

**ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA**



## **RATA N° 1: TRATADAS CON METFORMINA**

*Especímenes: Paladar duro, Lengua y Parótida.*

*Método: Hematoxilina y Eosina*

### **Microscopía**

*A menor (63x), mediano (200x) y mayor aumento (430x).*

### **Diagnóstico Histológico**

Las mucosas de paladar duro, lengua y parótida muestran características histológicas normales.

**JOSÉ SOLDADO MURO**  
*Tecnólogo Médico*  
*Histólogo*

# JOSÉ SOLDADO MURO

TECNÓLOGO MÉDICO  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



## RATAS N° 2, 3, 4, 5 y 6: TRATADAS CON METFORMINA

Especímenes: Carrillo, Paladar duro, Lengua y Parótida.

Método: Hematoxilina y Eosina

### Microscopía

A menor (63x), mediano (200x) y mayor aumento (430x).

### Diagnostico Histológico:

Las mucosas de paladar duro, lengua y parótida muestran características histológicas normales.

JOSÉ SOLDADO MURO  
Tecnólogo Médico  
Histólogo

# JOSÉ SOLDADO MURO

TECNÓLOGO MÉDICO

HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



## **PROCEDIMIENTOS Y RESULTADOS EN ESTUDIO HISTOLÓGICO DE CAVIDAD ORAL**

29

Muestra o espécimen: Cortes de Mejilla, Paladar duro, Lengua y Glándula parótida.

Método: Histosec

Fijador: Formaldehído al 4%.

Corte: 6 micrometros.

Coloraciones: Hematoxilina y Eosina y Tricrómica de Gomori.

### **Equipos, Reactivos y Colorantes:**

Micrótomo de Minot.

Estufa graduada a 56°C.

Baño de María a 45°C.

Platina secadora de láminas a 52°C.

Batería de Cloración H y E.

Batería de Colación Tricrómica de Gomori.

Balanza Analítica.

Equipo de disección.

Formaldehído Reactivo al 40%.

Etanol Absoluto Merck.

Alcohol de 96% (corriente).

Xilol Merck.

Histosec Merck.

Hematoxilina en polvo Merck.

Sulfato de Aluminio y Potasio Merck.

Óxido de Mercurio Rojo Harleco.

Eosina Y amarillenta Merck.

Ácido Acético glacial Merck.

Ácido Clorhídrico al 37% Merck

Hidróxido de Amonio puro Baker

Timol.

Bálsamo del Canadá Merck

Glicerina Pura Merck.

Ácido pícrico.

# JOSÉ SOLDADO MURO

TECNÓLOGO MÉDICO

HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



Ácido fosfotúngstico.

Chromotrope 2R.

Verde Luz S.F.

## **MATERIAL DE VIDRIO y OTROS**

Láminas portaobjetos 3x1 pulgadas marca H&S.

Laminillas cubreobjetos 22x22 mm. Marca Marienfeld.

Gasa.

Hilo

Pinzas rectas

Cuchillo

Navaja Gillette.

Agua destilada químicamente pura.

## **SOLUCIONES**

Hematoxilina de Harris.

Hematoxilina de Weigerth.

Eosina Y alcohólica.

Alcohol Ácido al 0.5%.

Agua Amoniacal al 0.5%.

Glicerina Albúmina de Mayer.

Solución de Bouin.

Solución Tricrómica de Gomori.

## **DESARROLLO DE CONOCIMIENTOS**

**ÓRGANOS QUE CONSTITUYEN LA CAVIDAD BUCAL:** Labios, Mejillas, Lengua, Piso o suelo de la boca, Paladar duro y Paladar blando o Velo del paladar.

**CLASIFICACIÓN DE LA MUCOSA ORAL:** Mucosa de revestimiento, Mucosa Masticatoria y Mucosa Especializada.



### LA MUCOSA DE REVESTIMIENTO COMPRENDE:

Labios, **Mejillas**, Piso de la boca y Paladar blando.

**Las mejillas** constituyen las paredes laterales de la cavidad bucal. La mucosa interna esta revestida por mucosa lisa, rosada y húmeda.

### Características Histológicas

- Zonas expuestas a movimiento.
- Es flexible y móvil.
- El epitelio es más grueso.
- Tiene lámina propia.
- Disminuye el número de fibras colágenas.
- Posee mayor cantidad de fibras elásticas.

### SU MUCOSA DE REVESTIMIENTO

**Epitelio:** Es no queratinizado, pero en algunas sitios puede estar paraqueratinizado. El epitelio de revestimiento no queratinizado es más grueso que el queratinizado y con mayor número de capas que la mucosa masticatoria. (en el estrato córneo las células conservan sus núcleos y algunas organelas celulares).

Tiene **3 capas:** estrato basal, estrato espinoso y estrato superficial.

**Corion o Lámina propia:** Es laxo o semilaxo, papilas de corion y crestas epiteliales menos frecuentes y profundas que de la mucosa masticatoria. Es una lámina de sostén y nutrición al epitelio por medio de papilas que llevan vasos y nervios. Como todo tejido posee células, fibras y sustancia fundamental amorfa. Entre las células podemos encontrar fibroblastos, macrófagos, linfocitos y células plasmáticas. Presenta fibras colágenas, que resisten las fuerzas de tracción y tensión y elásticas. En la sustancia fundamental existe gran cantidad de glucosaminoglucanos.

**Submucosa:** Bien definida, puede contener glándulas salivales menores, tejido adiposo y fibras musculares estriadas.

### LA MUCOSA MASTICATORIA

Comprende las Encías y el **Paladar duro**.



- Está sometida a las fuerzas intensas de fricción y presión originadas por el impacto masticatorio. Cubre las zonas expuestas a las fuerzas masticatorias.

- Suele estar fija al periostio del hueso y no experimenta estiramiento.

- Esta unida al hueso del paladar duro y procesos alveolares por inserción de fibras colágenas para formar mucoperiostio.

### CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS:

**Epitelio:** El epitelio es plano queratinizado.

. En algunas zonas es paraqueratinizado, es parecido al queratinizado en las células superficiales pero estas no pierden su núcleo y su citoplasma se tiñe intensamente con la eosina.

. El epitelio queratinizado de la mucosa masticatoria se parece al de la piel, pero carece de estrato lúcido.

. El epitelio es corto o bajo (y puede ser paraqueratinizado) con numerosas crestas superficiales y corion o lámina propia con corion denso o semidenso.

#### **estratificado plano queratinizado**

**Submucosa:** Es poco significativa en los sectores laterales del paladar duro y carece de submucosa en la encía.

### MUCOSA ESPECIALIZADA

#### Características:

La lengua es un órgano musculoso, asiento principal del sentido del gusto. Los haces musculares que se dirigen en todo sentido (anteroposterior, transversal, oblicuo y vertical) están unidos entre sí por tejido conectivo y recubiertos por una mucosa lingual, que presentan caracteres diferentes según las zonas consideradas.

#### **MUCOSA LINGUAL:**

Digamos que lo que caracteriza a esta mucosa en sus zonas típicas es la existencia de papilas linguales, formaciones complejas dermoepiteliales de variados tipos y algunas muy numerosas, a las

#### **Epitelio**

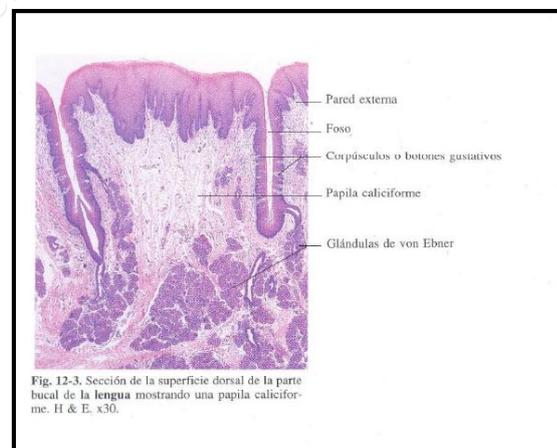
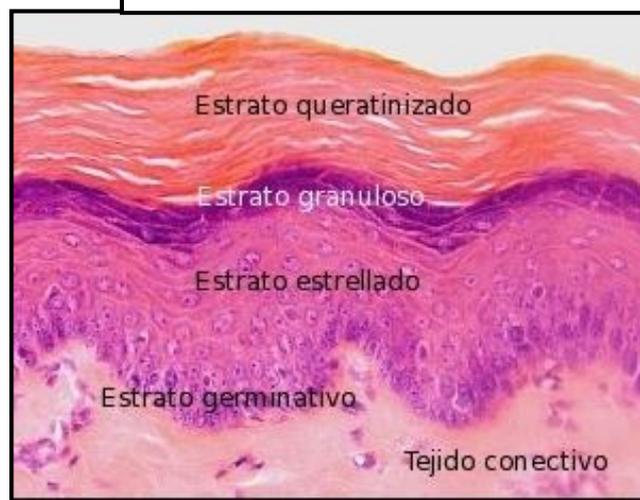
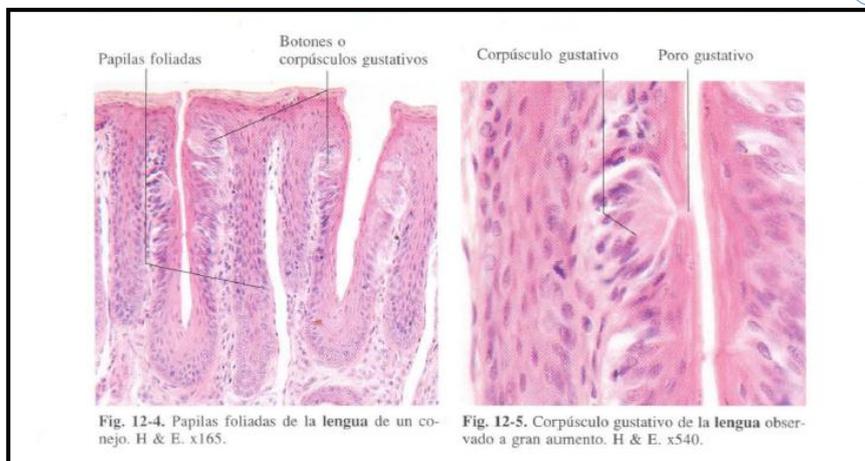


Fig. 12-3. Sección de la superficie dorsal de la parte bucal de la lengua mostrando una papila caliciforme. H & E. x30.



cuales debe la mucosa de la lengua su aspecto particular.

Entre estas papilas se destacan unas, las papilas caliciformes, por su forma especial por disponerse en una serie lineal en forma de V, **la V lingual**, y porque en ellas se localizan con preferencia los **corpúsculos gustativos**. el vértice de la V, dirigido hacia atrás, está ocupado por una papila, la de mayor tamaño, y sus ramas, que se dirigen hacia adelante y afuera, a los bordes de la lengua, están compuestas cada una por la sucesión de 4 ó 5 papilas.



Es muy diferente la constitución de la mucosa por delante y por detrás **de la V lingual**. En la región posterior, que corresponde a la raíz o base de la lengua, se encuentran numerosas formaciones linfáticas.

Por delante de la **V lingual**, el aspecto de la mucosa es otro. Además es **diferente en la cara superior y en la inferior del órgano**. En esta última región es delgada, lisa y se une laxamente con los planos profundos por intermedio de un tejido conectivo que forma una verdadera submucosa; **la cara superior o dorso es**, en cambio gruesa de aspecto aterciopelado debido a la presencia de numerosas papilas filiformes, y se adhiere íntimamente a la capa muscular subyacente.

La mucosa lingual consta en toda su extensión de un **epitelio estratificado** y de un corion o lámina propia formado por tejido conectivo denso.

Las papilas linguales son de cuatro tipos: **papilas filiformes, fungiformes, caliciformes y foliadas**

**Papilas Foliadas:** Éstas últimas son **rudimentarias en el hombre** y muy desarrolladas en algunos animales (conejo y otros roedores), se presentan en forma de pliegues que en número de 6 a 12, se suceden como las hojas de un libro y constituyen en este caso dos formaciones ovoides (órganos foliados) situados en los bordes de la lengua, cerca de su base. Los botones gustativos se localizan en ambos lados de cada pliegue.

## LA PARÓTIDA

La **parótida** es una glándula **serosa pura**, todos sus **acinos** poseen únicamente **células secretoras serosas**. Estas son células piramidales bajas, de núcleo redondeado, rico en cromatina situado en su tercio inferior. Ésta zona se presenta más oscura y de aspecto estriado por las mitocondrias filamentosas que posee, dispuestas, perpendicularmente a la base celular, y por la sustancia cromófila existente entre ellas, **rica en ácido ribonucleico** (ergastoplasma). La zona correspondiente a los dos tercios superiores es más clara por que allí se localizan los **gránulos de cimógeno**. La luz del acino es habitualmente pequeña, aunque su diámetro sufre variaciones relacionadas con su estado funcional.

El **acino o adenómero** se continúa con el conducto **intercalar llamado también conducto de Boll** muy delgado y de luz estrecha, prolongación directa de la luz glandular. Está formado por una capa de células cúbicas bajas que se implantan en una membrana basal. Los **conductillos intercalares** se reúnen con los semejantes próximos y desembocan en los **conductos intralobulillares e interlobulillares**. Estos son conductos de diámetro mucho mayor que los anteriores; poseen luz amplia y epitelio formado por una capa de células cilíndricas con citoplasma acidófilo y mitocondrias filamentosas en la porción basal lo que les da el **aspecto estriado que presentan (conductos estriados)**. El núcleo esferoide y rico en cromatina está situado en la unión del tercio medio con el tercio inferior. A estos conductos se les considera como **excreto-secretorios**, porque sus células segregan agua y sales de calcio, contribuyendo a la formación de la saliva. Los **conductos colectores o conductos excretores propiamente dichos** poseen un epitelio dispuesto en dos capas de células (cúbicas las profundas y cilíndricas las superficiales), que limitan una luz amplia y reposan sobre una capa de tejido conectivo denso. **El gran conducto colector el conducto de Stenon** posee un epitelio cilíndrico pseudoestratificado que, conforme se aproxima a la mucosa bucal es reemplazado por un epitelio estratificado.

Bibliografía: Texto Atlas de Histología 2da. Edición de Leslie P. Gartner Ph.D y James L. Hiatt, Ph. D  
Edit. Mc. Graw-Hill Interamericana.

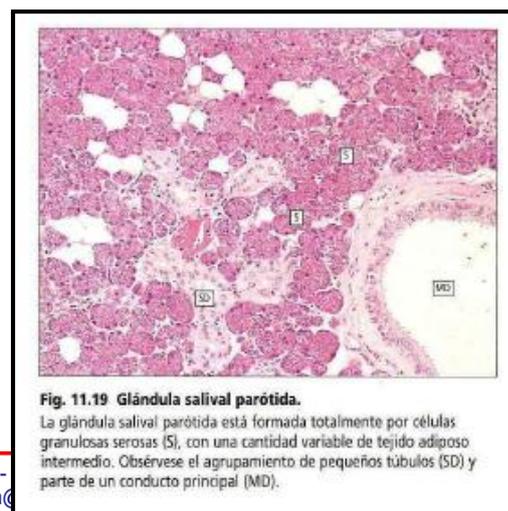
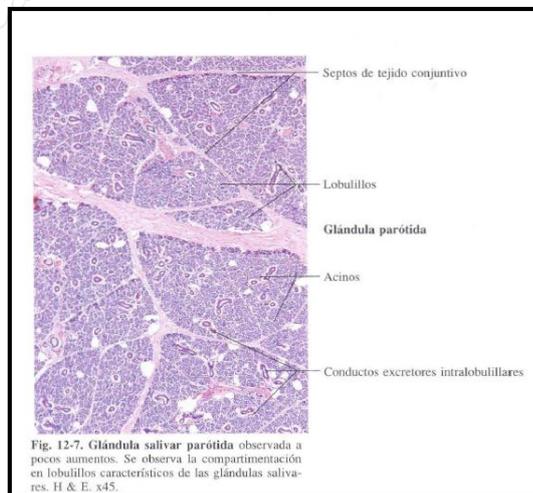
## MÉTODOS DE COLORACIÓN UTILIZADOS

## DESHIDRATACIÓN, DIAFANIZACIÓN, INCLUSIÓN EN HISTOSEC Y CORTE

**Fijación Histológica:** La pieza anatómica fue obtenida inmediatamente después de la muerte del animal, causada por un anestésico o por traumatismo craneano.

**Elección del fijador:** El fijador utilizado fue Formaldehído calidad reactivo al 4%.

## Deshidratación.





Los especímenes retirados del fijador acuoso y después de lavados, están embebidas en agua que impide sean penetradas por el histosec. Para que esta penetración ocurra es necesario, en primer lugar, eliminar el agua de los tejidos o deshidratarlos. La deshidratación se obtiene sumergiendo los especímenes en líquidos anhidros, ávidos de agua. Para evitar las alteraciones provocadas por una deshidratación brusca, se procedió escalonadamente utilizando alcohol etílico de graduación creciente:

- |                    |         |
|--------------------|---------|
| a) Alcohol de 70%  | 1 hora  |
| b) Alcohol de 80%  | 1 hora  |
| c) Alcohol de 96%  | 1 hora  |
| d) Alcohol de 96%  | 1 hora  |
| e) Alcohol de 96%  | 2 horas |
| f) Etanol absoluto | 1 hora  |
| g) Etanol absoluto | 1 hora  |
| h) Etanol absoluto | 2 horas |

La renovación de los alcoholes y el tiempo de duración de los baños deben ser exactos. Es fundamental obtener una deshidratación completa.

#### **Impregnación por un solvente del histosec (aclaramiento o diafanización)**

Los especímenes perfectamente deshidratados se sumergieron en xilol.

Al agregarse al xilol no debe aparecer ninguna turbiedad (Los especímenes se tornan traslúcidos). Si se pone blanco lechoso significa que la deshidratación no ha sido bien lograda.

- |              |         |
|--------------|---------|
| i) Xilol I   | 1 hora  |
| j) Xilol II  | 1 hora  |
| k) Xilol III | 2 horas |

#### **Penetración del Histosec**

Se sumergen los especímenes en Histosec a 56°C de punto de fusión exacto, mantenida líquida en la estufa.

- |                             |         |
|-----------------------------|---------|
| l) Primer baño de histosec  | 1 hora  |
| m) Segundo baño de histosec | 1 hora  |
| n) Tercer baño de histosec  | 2 horas |

#### **Inclusión definitiva o formación del bloque**

En moldes de metal se vierte el histosec fundido del mismo punto de fusión de la que ha servido para la penetración, calentándola previamente a 60-65°C. Se colocaron los especímenes orientándolos apropiadamente.



A los 30 minutos, el histosec se habrá solidificado completamente. Recortar los bloques en forma de pirámide cuadrangular truncada y luego realizar los cortes.

### Corte del espécimen

Hay que llevar a cabo una serie de procesos sobre el bloque de histosec antes de hacer el primer corte útil al espécimen

- 1) Proceso de desbastado, es decir, la eliminación del espesor de histosec que hay entre la superficie del bloque y el espécimen
- 2) Orientación de la cuchilla respecto a la superficie de corte.
- 3) Obtener las secciones unidas por las caras paralelas a la cuchilla.
- 4) Aprovechando la hidrofobicidad del histosec las secciones se colocan en agua calentada a 48°C en un termostato y el calor las hará extenderse sin llegar a su punto de fusión.
- 5) La superficie del portaobjetos donde se colocaran las secciones cortadas ha de estar previamente tratada para que el espécimen quede adherido durante el procesamiento ulterior. Para ello los cubre objetos se recubren previamente con glicerina albúmina de Jelly y se dejan secar.
- 6) Una vez que el agua se ha evaporado y habiendo quedado extendida la sección en el portaobjetos, se procede a un secado exhaustivo en una estufa a 40°C durante toda la noche. Una vez secos, los portaobjetos con las secciones quedan listos para el procesamiento de coloración.

### COLORACIÓN

#### MÉTODO DE LA HEMATOXILINA DE HARRIS Y EOSINA

**Fijación:** Formaldehído al 4%

**Técnica:** Histosec, secciones de 6 micrometros

Los reactivos se prepararon como sigue:

#### Hematoxilina de Harris

Hematoxilina en polvo	5.0 g.
Alcohol absoluto	50.0 ml
Sulfato de aluminio y potasio	100.0 g.
Agua destilada	1,000.0 ml
Óxido de mercurio rojo	2.5 g.
Ácido acético glacial	5.0 ml.



### Solución Alcohólica de Eosina al 0.25 %

Eosina Amarillenta Y	0.25 g.
Alcohol etílico de 80 %	100.0 ml.
Ácido acético glacial	0.5 ml.

### Diferenciador

Ácido clorhídrico reactivo al 37%	0.5 ml.
Alcohol etílico de 80%	100.0 ml.

### Virador

Amoniaco reactivo	0.5 ml.
Agua destilada	100.0 ml.

### Técnica

1. Desparafinar en xilol I, 5 minutos.
2. Desparafinar en xilol II, 5 minutos.
3. Hidratar en alcohol etílico del 96%, 5 minutos.
4. Continuar la hidratación en agua destilada, 5 minutos.
5. Colorear con hematoxilina de Harris, 2 minutos.
6. Se enjuaga con agua de llave, 5 minutos
7. Se diferencia rápidamente con solución diferenciadora, 5 segundos
8. Se enjuaga con agua de llave, 5 minutos.
9. Viraje breve, 10 segundos.
10. Se enjuaga con agua de llave, 5 minutos
11. Se colorea con Eosina Y amarillenta, 10 minutos.
12. Se diferencia en alcohol etílico al 80%, brevemente.
13. Se deshidrata cuidadosamente en 3 baños de alcohol etílico de 96%, 5 minutos c/u.
14. Se continúa la deshidratación en 4 baños de etanol absoluto, 5 minutos c/u.
15. Diafanizar en tres baños de xilol, 5 minutos c/u.
16. Montaje en bálsamo del Canadá.

### Resultados:



Núcleos de color azul oscuro o violeta, el citoplasma presenta distintos tonos de rojo-anaranjado.

38

### **MÉTODO DE COLORACIÓN TRICRÓMICA DE GOMORI**

La Tricrómica de Gomori es un método idóneo para colorear fibrina, tejido muscular y citoplasmas, donde destaca esencialmente el condrioma como un fino granulado rojizo. Sin embargo por su pH ácido que se encuentra entre 2.5 y 2.7 (ligeramente por encima del óptimo para la tinción del colágeno se presenta como una tinción incompleta y difusa del componente fibrilar más fino (membrana basal) y las fibras reticulares.

#### **Fundamento**

Este método combina un colorante plasmático (cromotropo) y un colorante de fibras conectivas (verde luz s. f.) en una solución de ácido fosfotúngstico y ácido acético glacial. El tratamiento previo de las secciones con Solución de Bouin caliente intensifica la tinción. El ácido fosfotúngstico favorece la coloración roja del músculo y citoplasma. Las fibras de colágeno toman los iones de tungstato formando un complejo al que se une el verde luz. El baño de ácido acético hace los colores más transparentes pero no altera el balance del color.

#### **Tejido control**

Cualquier tejido con componente conectivo dará positivo con este método. El fijador más utilizado para esta técnica es el Bouin. El grosor del corte ideal de las secciones es de 6 micrometros para los tejidos incluidos en histosec o parafina.

**Los reactivos se prepararon como sigue:**

#### **Hematoxilina Férrica de Weigert**

##### **Solución A:**

Hematoxilina	1.0 g.
Alcohol absoluto	100.0 ml.

##### **Solución B:**

Cloruro férrico al 29%	4.0 cc.
Agua destilada	95.0 cc.
Ácido Clorhídrico al 37% reactivo	1.00 cc.

# JOSÉ SOLDADO MURO

TECNÓLOGO MÉDICO

HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA



## Solución de Trabajo

Antes de colorear mezclar en partes iguales Solución A y B.

## Líquido de Bouin

Solución acuosa saturada de Ácido Pícrico	75 cc.
Formaldehído reactivo	25 cc.
Ácido acético glacial al 100%	5 cc.

## Tricrómica de Gomori

Chromatope 2R	0.6 g.
Verde Luz SF	0.3 g.
Ácido acético glacial al 100%	1.0 cc.
Ácido fosfotúngstico	0.8 g.
Agua destilada	100.0 cc.

Proceso de Coloración:

1. Xilol.
2. Alcohol absoluto.
3. Alcohol de 96%.
4. Lavar en agua destilada.
5. Colocar en solución de Bouin a 56°C por 1 hora.
6. Lavar en agua corriente.
7. Coloración nuclear en hematoxilina de Weigerth por 10 minutos.
8. Lavar en agua corriente.
9. Colorear en solución de Tricrómica.
10. Diferenciar en ácido acético glacial al 0.5% por breves segundos.
11. Lavar en agua destilada.
12. Alcohol de 96%.
13. Deshidratar en 4 cambios de alcohol de 96% x 5 minutos c/u.
14. Deshidratar en 4 cambios de alcohol absoluto x 5 minutos c/u.
15. Xilol e cambios x 5 minutos c/u.
16. Montaje en Bálsamo del Canadá.

Resultados:

Fibras musculares, fibrina y citoplasma de color rojo.

# **JOSÉ SOLDADO MURO**

**TECNÓLOGO MÉDICO**  
HISTÓLOGO

Ex-Jefe del Laboratorio de Histología Humana en la Facultad de Ciencias Médicas de la U.N.T.  
Ex-Docente de la U.N.T. en la Especialidad de Histología Humana  
Primer Puesto Nacional Premio QUILAB a la Investigación Médica 2009

**ASESORAMIENTO EN HISTOLOGÍA GENERAL E HISTOQUÍMICA  
ELABORACIÓN Y ABASTECIMIENTO DE MATERIAL DE ENSEÑANZA**



Colágeno, cartílago, mucinas de color verde.

Núcleo de color azul negruzco o negro.

40

## **Bibliografía**

Referencia: Gomori, G.: Am. J. Clin. Path. 20: 661-664, 1950, (Permission of the Williams and Williams Co.

García del Moral, Raimundo. Interamericana MC Graw Hill. Ed. Laboratorio de Anatomía Patológica 1ª. Edición.

Sheehan, Dezna; Hrapchak. Theory and Practice of Histotechnology 2ª Edición. The C.V. Mosby Company.

**JOSÉ SOLDADO MURO**

*Tecnólogo Médico*

*Histólogo*