

Microscopía de polarización y tumores de glándulas salivales humanas

Polarization microscopy and human salivary glands tumors

Resumen

Introducción. Los estudios morfológicos con técnicas histológicas convencionales y especiales brindan una información básica al odontólogo y al médico clínico acerca de la naturaleza del proceso patológico, lo que permite elevar la calidad en el diagnóstico histopatológico. Por otro lado, la tinción con Picrosirius red diferencia tipos de colágeno si se utiliza el microscopio de luz polarizada. **Objetivo.** El objetivo del presente trabajo es mostrar nuestra experiencia en la utilización de la microscopía de polarización y coloración de Picrosirius en tumores de glándulas salivales humanas. **Métodos.** Se utilizaron cortes histológicos de tumores salivales benignos (adenoma pleomórfico) y malignos (carcinoma adenoide quístico) coloreados con Picrosirius red. Se observaron con microscopio NIKON ECLIPSE LV 100POL, para diferenciar colágeno tipo I (birrefringencia naranja amarillento a naranja y rojo) de colágeno tipo III (birrefringencia verde a amarillo verdoso) en el estroma neoplásico. **Resultados.** Los resultados muestran un perfil de birrefringencia diferente en las fibras colágenas del estroma de los tumores benignos y malignos analizados. En el estroma de los tumores malignos se observó un predominio de colágeno I, en comparación con el tumor benigno investigado, con predominio de colágeno III. **Conclusiones.** El método de tinción con Picrosirius red y la observación con microscopía de luz polarizada es una técnica simple, segura, específica, sensible y barata que nos permite analizar el colágeno en tumores de glándulas salivales. El colágeno es uno de los componentes del estroma tumoral; este último juega un papel crítico durante la carcinogénesis y su cantidad y calidad difiere de un tumor a otro en relación al pronóstico y progresión tumoral.

Abstract

Introduction. Morphological studies with standard and special histological techniques provide basic information to the dentist and physician clinical about the nature of the disease process, which allows to raise the quality in histopathological diagnosis. Furthermore, picrosirius red staining collagen types possible to differentiate if the microscope using polarized light. **Objective.** The aim of this paper is to show our experience in the use of polarization microscopy and staining Picrosirius in human salivary gland tumors. **Methods.** We used tissue sections of benign salivary tumors (pleomorphic adenoma) and malignant (adenoid cystic carcinoma) stained with Picrosirius colored red. Were observed with microscope NIKON ECLIPSE LV 100POL to differentiate type I collagen (birefringence yellowish orange to orange

and red) of type III collagen (green to yellow-green birefringence) in neoplastic stroma. **Results.** The results show a different profile of birefringence of collagen fibers of the stroma of benign and malignant tumors analyzed. In the stroma of malignant tumors predominance of collagen I was observed, compared with the benign tumor predominantly investigated collagen III. **Conclusions.** The staining method Picrosirius and observation network with polarized light microscopy is a simple, safe, specific, sensitive and inexpensive technique that allows us to analyze the collagens of salivary gland tumors. Collagen is one of the components of the tumor stroma; latter plays a critical role during carcinogenesis and its quantity and quality differs from one tumor to another in relation to prognosis and tumor progression.

Descriptor: Glándulas salivales humanas, tumores, colágeno, picrosirius red, microscopía de polarización

Keyword: Human salivary gland tumors, collagen, picrosirius red, polarization microscopy

Rodolfo Ávila*
María Elena Samar**
Arturo Gorodner***
Vanessa Reyes****

*Facultad de Ciencias Médicas. Autor responsable

**Facultad de Odontología

***Facultad de Medicina

****Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE NORDESTE
ARGENTINA

Ávila, R., Samar, M.E., Gorodner, A., Reyes, V. Microscopía de polarización y tumores de glándulas salivales humanas. Oral Año 15. Núm. 49. 2014. 1155-1158

Recibido: Septiembre, 2014. Aceptado: Octubre, 2014.

Oral. Año 15 No. 49, Diciembre, 2014.

Introducción

Los estudios morfológicos con técnicas histológicas convencionales y especiales brindan una información básica al odontólogo y al médico clínico acerca de la naturaleza del proceso patológico, lo que permite elevar la calidad en el diagnóstico histopatológico. Por otro lado, la tinción con el método Picrosirius red posibilita diferenciar tipos de colágeno si se utiliza la microscopía de luz polarizada^{1,2}.

La microscopía de luz polarizada es una herramienta que permite identificar y describir elementos anisotrópicos. Los constituyentes de este tipo de elementos se encuentran dispuestos de manera asimétrica y ante el paso de la luz presentan el fenómeno de birrefringencia, es decir, producen dos rayos refractados en planos perpendiculares.

Dado que la microscopía de luz polarizada presenta un polarizador que sólo deja pasar la luz que vibra en un plano determinado, permite el estudio de la cualidad de birrefringencia facilitando la investigación de estructuras como el colágeno, que son mejor estudiadas gracias a su anisotropía^{1,2}.

Está demostrado que los colágenos tipo I y III muestran diferentes colores, amarillo-rojo y verde respectivamente, al ser teñidos con Picrosirius y visualizados por medio de microscopía de luz polarizada. Esta diferencia puede ser explicada por la diferente agregación física de las fibras de colágeno^{3,4}.

El colágeno es uno de los componentes del estroma tumoral. Este último juega un papel crítico durante la carcinogénesis dado que no sólo proporciona el aporte vascular para el intercambio de gases, nutrientes y eliminación de residuos, sino que también limita la afluencia de células inflamatorias, proporcionando así una barrera para el rechazo inmunológico. Sin embargo, la cantidad y calidad de estroma difiere de un tumor a otro⁵.

Por lo tanto, se considera que la combinación de la microscopía de luz polarizada y tinción con Picrosirius red es un método muy eficiente para identificar algunos elementos estromales en los tumores de glándulas salivales, que contribuye a su diagnóstico correcto⁵.

El objetivo del presente trabajo es mostrar nuestra experiencia en la utilización de la microscopía de polarización y coloración de Picrosirius en la observación del estroma de tumores de glándulas salivales humanos.

Material y métodos

Nuestro estudio cuenta con la aprobación del Comité de Ética del Hospital Nacional de Clínicas perteneciente a la Universidad Nacional de Córdoba de Argentina (Registro 188/14).

Se utilizaron cortes histológicos de diez tumores benignos y malignos de glándulas salivales humanas coloreados con Picrosirius red³.

En la tabla 1 se describe la cantidad, tipo de tumor y su localización anatómica.

Se observaron con el microscopio de polarización NIKON ECLIPSE LV 100POL para diferenciar colágeno tipo I (birrefringencia naranja amarillento a naranja y rojo) del colágeno tipo III (birrefringencia verde a amarillo verdoso) en el estroma neoplásico.

Tumores salivales analizados con Picrosirius red/polarización y su localización anatómica.

TIPO DE TUMOR	LOCALIZACIÓN ANATÓMICA
Adenoma Pleomórfico (Benigno) (n=5)	Parótida n= 2 Submandibular n= 2 Mejilla n=1
Carcinoma Adenoide Quístico (maligno) (n=5)	Paladar n= 3 Encía n=1 Parótida n=1

n: número de casos.

Tabla 1.

Resultados

En el estroma del tumor maligno (carcinoma adenoide quístico), se destacó el predominio de colágeno I, en comparación con el tumor benigno investigado (adenoma pleomórfico), con abundancia de colágeno III.

Los resultados más destacados se muestran en las figuras 1, 2 y 3:



Figura 1.
Glándulas salivales palatinas normales. A: Corte coloreado con Picrosirius red y observado con nicols paralelos (sin polarización). Estroma (flecha) Acino (estrella) B: Corte coloreado con Picrosirius red y observado con nicols cruzados (con polarización) Estroma. 400 X.

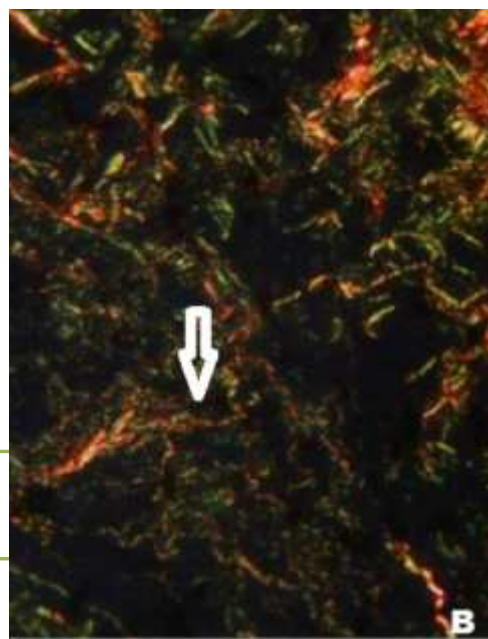
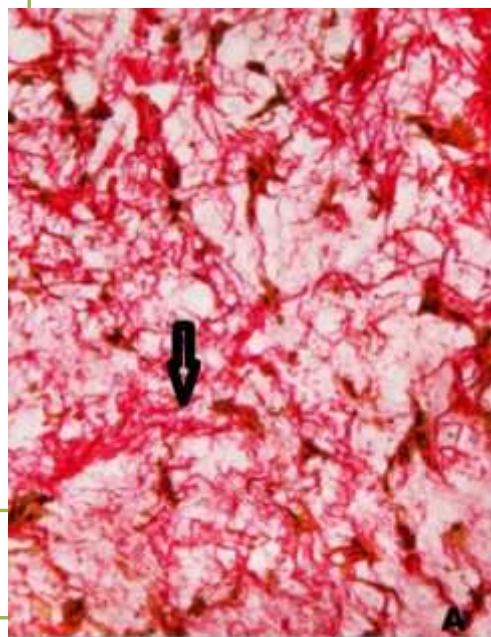


Figura 2.
 Glándula parótida. Adenoma pleomórfico.
 A: Corte coloreado con Picrosirius red y observado con nicols paralelos (sin polarización). Estroma (flecha).
 B: Corte coloreado con Picrosirius red con nicols cruzados (con polarización). Estroma (flecha). Se observa predominio de colágeno tipo III. 100X.

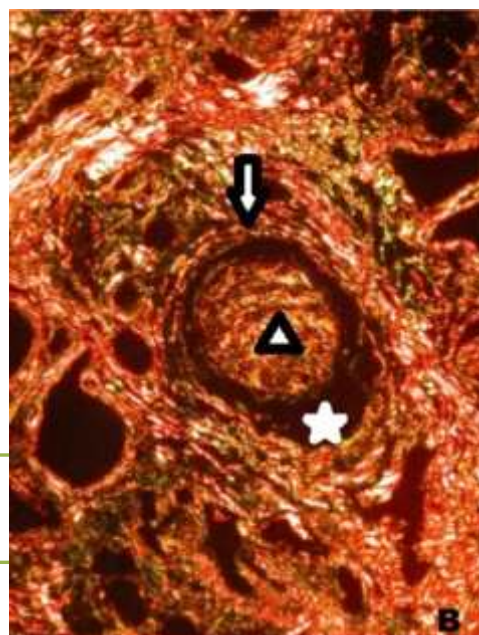
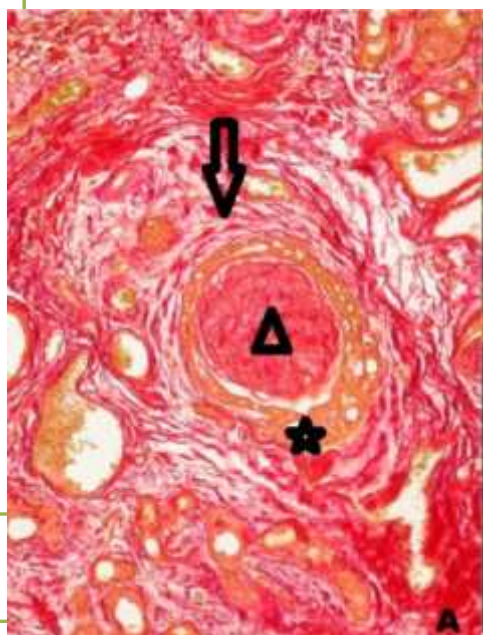


Figura 3.
 Glándula parótida. Tinción de carcinoma adenoide quístico con Picrosirius red.
 A: Invasión perineural (estrella), nervio (triángulo), Estroma (flecha). Nicols paralelos (sin polarización). 400X.
 B: nervio (triángulo), Estroma (flecha) con predominio de colágeno I. Invasión perineural (estrella). Nicols cruzados (con polarización). 400X.

Discusión

El método de tinción con Picrosirius red y la observación con microscopía de luz polarizada es una técnica que nos permite localizar y caracterizar los componentes de los tejidos que contienen colágeno I y III de manera fácil y precisa, como así también realizar una correlación entre las observaciones morfológicas e histológicas^{5,6}.

Nuestros resultados muestran un perfil de birrefringencia diferente en las fibras colágenas del estroma cuando se comparan tumores benignos y malignos analizados⁷.

Es probable que el diferente perfil de coloración en las fibras colágenas producidas en el estroma de estos tumores se relacione con diferentes mecanismos de expansión tumoral, los que fueron poco estudiados en la patología tumoral de glándulas salivales⁸.

Allon et al¹ emplearon la coloración de Picrosirius red y la microscopía de polarización y encontraron diferencias en los tipos de colágeno del estroma de tumores benignos, lesiones reactivas y tumores malignos de glándulas salivales humanas y vincularon estas diferencias con mecanismos específicos de expansión tumoral, que difieren en las neoplasias benignas y malignas. Estos autores destacan la alta prevalencia de colágeno III en tumores malignos.

Nosotros examinamos con microscopía de polarización cortes histológicos de adenoma pleomórfico (AP, tumor benigno) y carcinoma adenoma quístico (CAQ, tumor maligno) con Picrosirius red.

La birrefringencia del colágeno resultó diferente en el estroma del CAQ, con predominio de colágeno I, y en el AP, con predominio de colágeno III.

Estos hallazgos difieren de los resultados de Allon et al¹ y concuerdan con los autores que asocian el colágeno I con el comportamiento invasivo de los epitelioцитos tumorales^{1,9}.

La profundización de este estudio permitirá lograr resultados más concluyentes que contribuyan al diagnóstico, pronóstico y tratamiento de estas patologías¹⁰⁻¹¹.

Conclusiones

El método de tinción con Picrosirius red y la observación con microscopía de luz polarizada es una técnica simple, segura, específica, sensible y barata que nos permite analizar el colágeno de tumores de glándulas salivales. El colágeno es uno de los componentes del estroma tumoral; este último juega un papel crítico durante la carcinogénesis y su cantidad y calidad difiere de un tumor a otro en relación al pronóstico y progresión tumoral.

Bibliografía

- 1.-Allon, I., Vered, M.; Buchner, A., Dayan, D. Stromal differences in salivary gland tumors of a common histopathogenesis but with different biological behavior: A study with picrosirius red and polarizing microscopy. *Acta Histochem.* 2006, 108(4):259-264.
- 2.-Aparna, V., Charu, S. Evaluation of collagen in different grades of oral squamous cell carcinoma by using the picrosirius red stain- a histochemical study. *JCDR [serial online]* 2010, 4:3444-3449.
- 3.-Samar, M.E., Avila, R.E., Asis, O.G., Fonseca, I., Corball. Identification of type I and III collagen by Picrosirius Red/polarization of tumoral salivary stroma. *Int. J. Odontostomat.* 2012, 6(1):59-64.
- 4.-Junqueira, L.C., Cossermelli, W., Brentani, R. Differential staining of collagens type I, II and III by Sirius Red and polarization microscopy. *Arch. Histol. Jpn.* 1978, 41(3):264-274.
- 5.-Junqueira, L.C., Bignolas, G., Brentani, R.R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem. J.*, 1979, 11(4):447-455.
- 6.-Rich, L., Whittaker, P. Collagen and picrosirius red staining: a polarized light assessment of fibrillar hue and spatial distribution. *Braz. J. Morphol. Sci.*, 2005, 22(2), 97-104.
- 7.-Avila, R.E., Reyes, V., Samar, M.E. Histological collagen study of normal and tumoral stroma of human salivary glands. *International Proceedings, Medimond. Monduzzi Editore International Proceedings Division. Bologna (Italia)*, 2012, 81-86.
- 8.-Samar, M.E., Avila, R.E. Tumores epiteliales de glándulas salivales. Ed. Académica Española. Saarbrücken. Alemania, 2013.
- 9.-Araujo, V., Demasi, A., Furuse, C., Altamari, A., Alves, V., Freitas, L., Araujo, N. Collagen type I may influence the expression of E-cadherin and beta-catenin in carcinoma ex pleomorphic adenoma. *Appl Immunohistochem. Mol Morphol.*, 2009, 17(4): 312-318.
- 10.-Avila, R.E., Samar, M.E., Camps, D., Fernández, R., Fernández, J.E. Tumores de glándulas salivales menores. Estudio retrospectivo de 46 casos. *Rev Esp Patol.* 2010, 43: 126-128.
- 11.-Velidandla, S., Gaikwad, P., Ealla, K.K., Bhorgonde, K.D., Hunsingi, P., Kumar, A. Histochemical analysis of polarizing colors of collagen using Picrosirius Red staining in oral submucous fibrosis. *J Int Oral Health.* 2014, 6(1):33-38.