

Alteraciones histológicas ocasionadas por el tabaco de mascar venezolano (chimó) en los tejidos periodontales de ratas

Histological alterations caused by Venezuelan chewing tobacco (Chimó) present in periodontal tissues in rats

Lisbeth Sosa^I; Ana Rosales^{II}; Lorena Dávila^{III}; Belkis Quiñónez^{IV}; Patricio Jarpa^V

^I Doctora en Cirugía Dental. Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes, República Bolivariana de Venezuela.

^{II} Doctora en Cirugía Dental. Instructora. Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes, República Bolivariana de Venezuela.

^{III} Doctora en Cirugía Dental. Profesora Titular. Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes, República Bolivariana de Venezuela.

^{IV} Doctora en Medicina. Profesora Titular. Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes, República Bolivariana de Venezuela.

^V Doctor en Medicina. Profesor Titular. Facultad de Odontología. Universidad de Los Andes, República Bolivariana de Venezuela.

RESUMEN

El chimó es un derivado del tabaco utilizado en Venezuela que contiene nicotina. Su inocuidad ha sido puesta en duda, por los daños que podría causar en los tejidos periodontales. Esta investigación tiene como objetivo estudiar las alteraciones histológicas que puede ocasionar el chimó en los tejidos periodontales de ratas Wistar. Se seleccionaron 24 ratas Wistar machos, 12 constituyeron el grupo control y 12 el grupo experimental. Se aplicó al control solución fisiológica y al experimental, chimó, en una solución de 18 g/5cc (chimó/solución fisiológica), a ambos grupos por vía tópica (frotación). Frecuencia de aplicación: 3 días a la semana, durante 20 semanas. El grupo control no mostró cambios. El grupo experimental presentó ortoqueratosis en un 54 %, displasia epitelial leve 45 %, granulocitosis, hiperqueratosis, acantosis, fibrosis y colagenización del estroma, e inflamación crónica en un 19 % y displasia moderada 10 %. Concluyéndose que los

cambios histológicos observados están directamente relacionados con el tiempo de exposición al chimó.

Palabras clave: efectos/encia, tabaco/mascar, chimó/nicotina.

ABSTRACT

Chimó is a tobacco derivative used in Venezuela containing nicotine. Its harmlessness has been questioned due to potential damages on periodontal tissues. Aim of present research was to study histological alterations that chimó could causes on periodontal tissues in Wistar rats. Twelve male Wistar rats were selected, 12 were the control group and 12 the experimental one. Control group received physiologic solution and the experimental one received chimó in a dosage of 18g/5cc (chimó/physiologic solution) to both groups by topical via (rubbing). Application frequency: three days/week during 20 weeks. In control group there was not changes. Experimental group showed Orthokeratosis (54 %), slight epithelial dysplasia (45 %), granulocytes, hyperkeratosis, acanthosis, fibrosis, and stroma collagen disease and chronic inflammation (19 %), and a moderate dysplasia (10 %). We conclude that histological changes seen are directly related to chimó exposure time.

Key words: Effects/gingival, tobacco/chew, chimó/ nicotine.

INTRODUCCIÓN

El tabaco se obtiene a partir de la "planta de tabaco" la cual es cultivada y sus hojas son curadas y secadas para elaborar productos derivados que se fuman, se mascan o se aspiran, siendo estos fabricados bajo la forma de cigarrillos, puros, tabaco de pipa y tabaco sin humo. El tabaco sin humo a su vez se clasifica en rapé o "snuff" y tabaco para mascar.¹ Dentro de las formas de tabaco para mascar existe una pasta producida a partir del extracto de tabaco denominada chimó que es originaria de los países suramericanos como Venezuela, Colombia, Paraguay, Argentina y Brasil. En Venezuela esta pasta de tabaco (chimó) "es fabricada artesanalmente desde tiempos coloniales".¹

El chimó o también conocido como tabaco para mascar venezolano, es definido como un extracto suave de tabaco alcalinizado,² contiene entre sus componentes nicotina, que es una droga altamente adictiva, capaz de producir "consecuencias negativas para la salud"³ además de agua, cenizas, materia orgánica, hidratos de carbono (sacarosa y glucosa) y pequeños porcentajes de residuos minerales como aluminio, hierro, magnesio, calcio, cloruro de sodio y potasio, todo esto en un medio con un pH de 8,68 a 9,82.^{2,4}

La forma de consumo del chimó no es por inhalación sino por vía oral. El chimó es colocado en la boca sumergiendo un dedo o extrayendo con una paleta, una pequeña cantidad del producto, que es llevada a la boca y luego es frotada contra

los dientes, las encías o la lengua, produciendo una fuerte salivación, que provoca que el consumidor tenga la necesidad de escupir con frecuencia.¹

El consumidor habitual de chimó hace uso de éste como parte de sus costumbres, considerándolo una sustancia poco dañina, económica, y útil como estimulante para soportar largas horas de trabajo y mantenerse despiertos o sin hambre por largos periodos.⁴ No obstante, en contraposición con lo anteriormente mencionado, existen reportes que afirman que el chimó probablemente no es tan inocuo como aparenta ser, ya que ha sido asociado con ciertos cambios a nivel sistémico como aumento de la presión arterial, así como también alteraciones en la cavidad bucal como consecuencia de un uso prolongado de esta sustancia, como manchas en los dientes, gingivitis, recesión gingival, halitosis, sialorrea, leucoplasias, eritoplasias, hiperqueratosis, acantosis, displasias epiteliales y hasta cáncer bucal.^{4,5}

Paralelamente se han realizado estudios con el tabaco para mascar norteamericano, en los cuales se han observado lesiones similares a las encontradas en algunas investigaciones efectuadas con el chimó. Estos estudios han reportado que luego de haber aplicado tabaco de mascar en la mucosa bucal de hansters observaron a nivel del epitelio una displasia epitelial leve, hiperplasia epitelial, e inflamación del epitelio, además de una reducción del flujo sanguíneo en la encía, debido al estímulo nicotínico causado.⁶⁻⁸

Pero a pesar de que es posible atribuir todas estas lesiones al uso frecuente de tabaco para mascar norteamericano, no existen suficientes evidencias científicas y estudios a largo plazo que aseguren que el chimó también es un factor de riesgo directo o un factor predisponente de algunas de estas alteraciones a nivel del periodonto. Por tal razón esta investigación tiene como objetivo estudiar las alteraciones histológicas que puede ocasionar el chimó en los tejidos periodontales de ratas Wistar.

MÉTODO

En este estudio se utilizó una muestra probabilística constituida por 24 ratas macho de la cepa Wistar, de 2 meses de edad, los cuales se encontraban sanos a nivel sistémico y a nivel periodontal, procedentes del Bioterio Central de la Universidad de Los Andes (ULA, Mérida, Venezuela). Las ratas fueron alimentadas diariamente con ratarina (Protinal). Los animales se dividieron en 2 grupos, quedando conformado por 12 ratas para el grupo experimental y 12 ratas para el grupo control. A su vez estos grupos fueron subdivididos en 4 jaulas. Cada rata fue pesada e identificada marcándole en la cola un aro de color, por medio de marcadores de tinta permanente (azul, verde, negro y rojo). Una vez identificados los animales se empleó el protocolo utilizado por Dávila y Quiñones,⁹ el cual fue modificado en función de las exigencias de este estudio. Se realizó previamente una prueba piloto, con la finalidad de determinar la técnica más idónea para llevar a cabo el estudio y establecer la marca de chimó a utilizar (Chimó El tigrito, elaborado en Barquisimeto Edo. Lara, Venezuela)

Protocolo empleado

- Sustancias utilizadas en el experimento:

1. Solución de Chimó: constituida por 18 g de chimó diluidos en 5 mL de solución fisiológica, en el grupo experimental.

2. Solución fisiológica, en el grupo control.

• *Sedación, vía inhalatoria*: se realizó una sedación leve por inhalación a todos los animales, empleando un algodón impregnado con cloroformo grado reactivo y una campana de cristal hermética, para garantizar la permanencia de las sustancias a ser estudiadas.

• *Sitio de aplicación de la dosis*: El sitio que se seleccionó para la aplicación de ambas sustancias fue la mucosa vestibular del maxilar superior del lado izquierdo.

• *Aplicación del chimó propiamente dicha*: Una vez sedado el animal, se realizó la retracción del labio superior, luego por medio del uso de una jeringa para insulina sin aguja y un microaplicador, se aplicó al grupo experimental 0,03 mL de solución de chimó y al grupo control se le aplicó 0,03 mL de solución fisiológica sobre la mucosa. Luego por medio de un microaplicador se frotó (5 frotaciones) de forma suave la mucosa vestibular para distribuir la sustancia y ayudar a la absorción.

• *Frecuencia de aplicación de la dosis*: La administración de la dosis tanto del chimó como de la solución fisiológica fue de una vez al día, tres veces a la semana, durante 20 semanas.

Al cumplirse las 20 semanas se realizó una toma de biopsia de los tejidos para un estudio histopatológico. Para ello se sedaron las ratas empleando un algodón embebido en cloroformo grado reactivo y una campana de cristal hermética.

Protocolo para procesar el material biológico para su estudio histopatológico

Para este procedimiento se siguió el protocolo presentado por Calanche y Rivas,¹⁰ llevándose a cabo de la siguiente manera: Se realizaron incisiones con una hoja de bisturí No. 11 a nivel de la encía vestibular del lado izquierdo del maxilar superior. La muestra de tejido fue colocada inmediatamente en un recipiente de plástico, previamente rotulado, con una solución fijadora de formol al 10 %. Luego de la fijación, la pieza fue lavada con agua corriente para eliminar completamente cualquier exceso de fijador.

Luego se realizó un procedimiento de deshidratación por medio de alcohol, para el cual la pieza de tejido fue colocada en concentraciones crecientes del mismo, es decir, primero fue sumergido en alcohol a 70 °, luego alcohol a 80°-90° hasta llegar al alcohol absoluto. Consecutivamente se realizó el aclaramiento inicial sumergiendo la pieza en xilol para eliminar los excesos de alcohol. Después se realizó el procedimiento de inclusión para el cual se utilizó parafina en estado líquido, se colocó la pieza en ella, y con la ayuda de moldes piramidales se dejó solidificar hasta obtener un bloque.

Luego de obtener los bloques de parafina se realizaron cortes o secciones delgadas y transparentes empleando el micrótopo, para obtener cortes delgados y parejos. El montaje inicial se realizó colocando dichos cortes de parafina en agua tibia contenida en un cristizador. Allí mismo se introdujeron los portaobjetos y con la ayuda de pinceles se empujaron los cortes hasta adherirlos al portaobjetos. Luego

se realizó un aclaramiento medio con xilol con la finalidad de eliminar la parafina y permitir su coloración. En seguida se realizó un procedimiento de hidratación con alcohol en concentraciones decrecientes (de mayor a menor concentración) para permitir una mejor penetración del colorante. La coloración empleada fue hematoxilina-eosina. Finalmente se realizó un montaje final y posteriormente se colocó una gota de bálsamo de Canadá y un cubreobjetos, para dejar la muestra lista para su observación y análisis en el microscopio.

RESULTADOS

En este estudio se empleó el paquete estadístico SPSS versión 13.0 y SAS versión 9. Se utilizaron las siguientes pruebas estadísticas: Prueba de independencia de Chi-Cuadrado (*Chi-Square test*) y la prueba de Cochran-Mantel-Haenszel.

Al cumplirse la semana 20 fue evidente en este estudio la presencia de alteraciones histológicas a nivel del epitelio bucal, observadas sólo en el grupo experimental, las cuales se encuentran representadas de la siguiente manera: ortoqueratosis en un 55 % ([Fig. 1](#)), siendo este el cambio más frecuente, seguido por displasia leve focal en un 45 % ([Fig. 2](#)). Otros de los cambios hallados fue la hiperplasia epitelial en un 28 %, así como la hiperqueratosis ([Fig. 3](#)), granulocitosis, acantosis, hiperplasia de células basales e inflamación crónica en un 19 % cada una de ellas. En menor proporción se encontraron displasias moderada ([fig. 4](#)), fibrosis y colagenización del estroma en un 10 % ([fig. 5](#)). Los cambios histológicos hallados fueron estadísticamente significativos ($p < 0,000$).

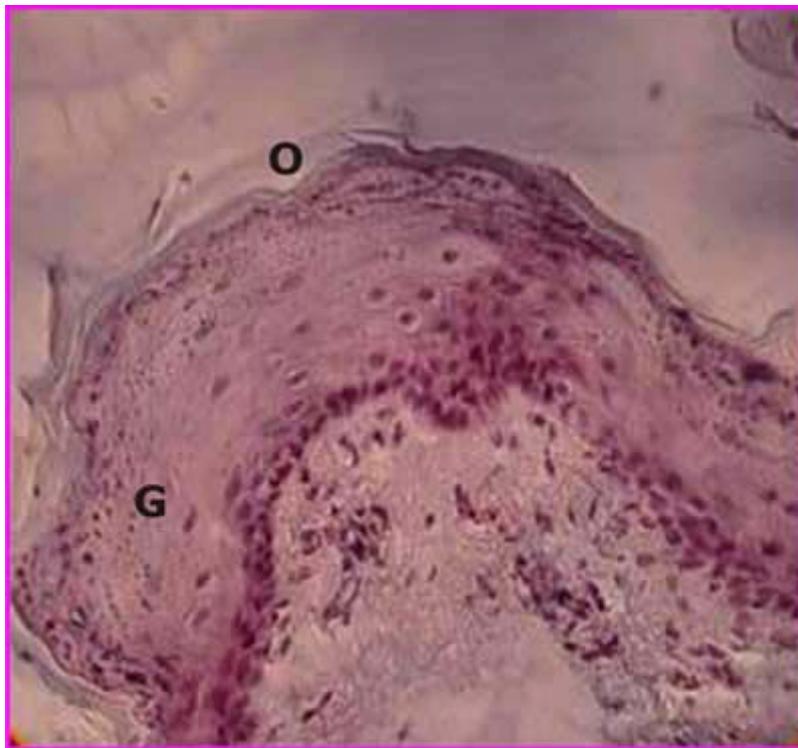


Fig. 1. Ortoqueratosis (O), Granulocitosis (G).

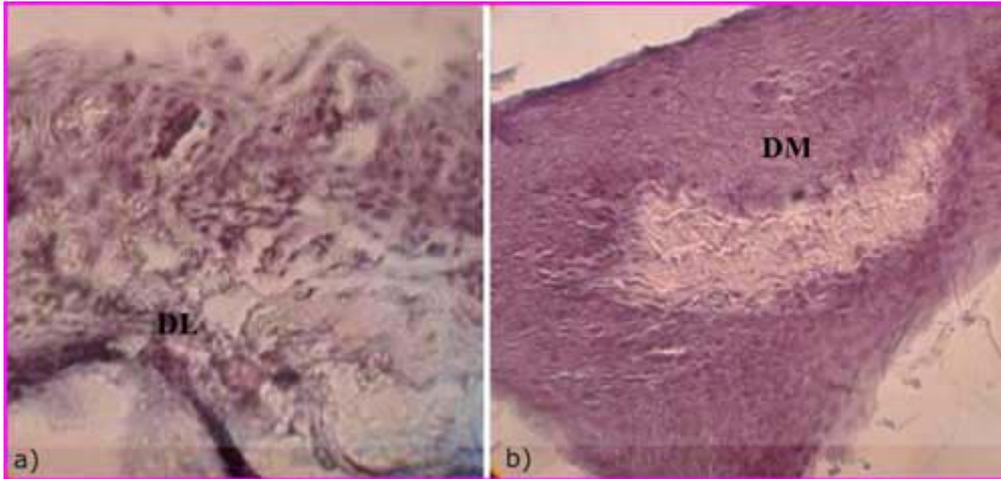


Fig. 2. a) Displasia leve (DL). b) Displasia.

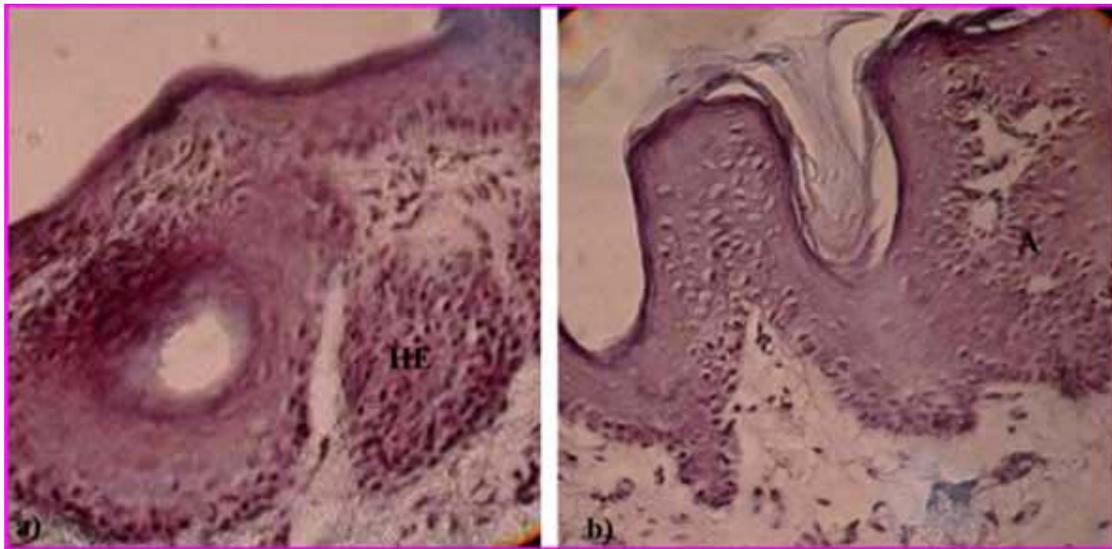


Fig. 3. a) Hiperplasia epitelial (HE). b) Acantosis.

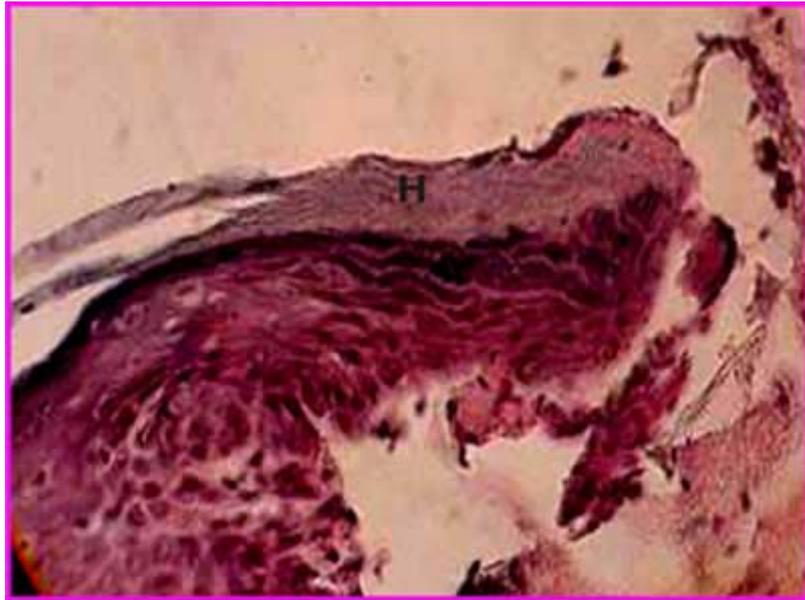


Fig. 4. Hiperqueratosis.

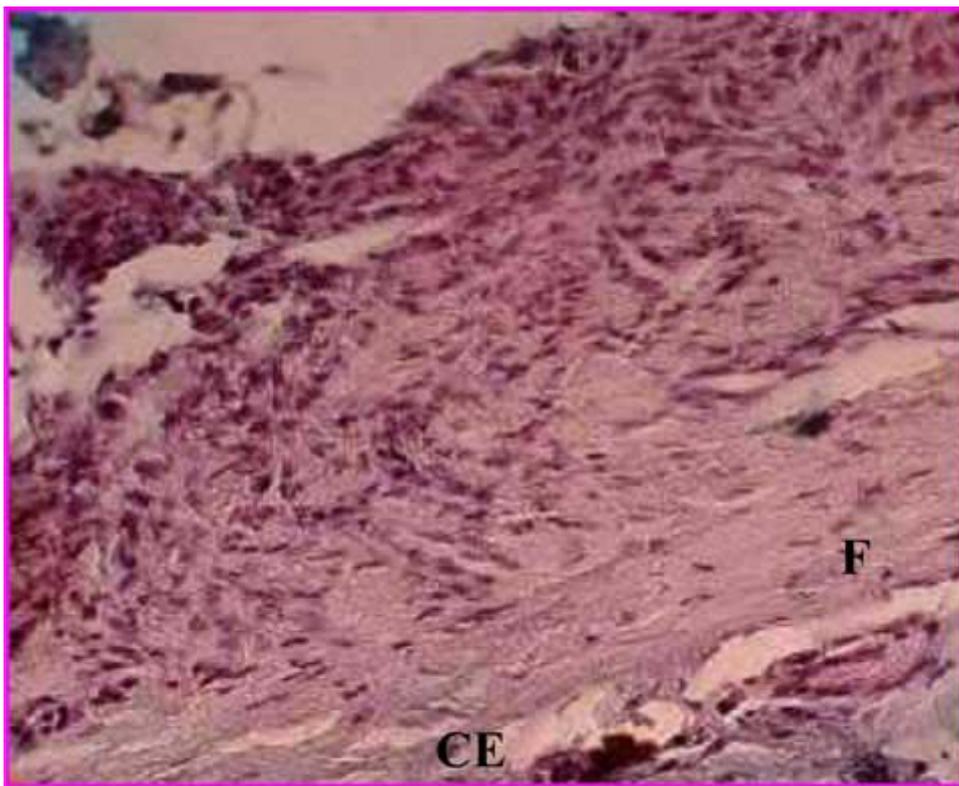


Fig. 5. Fibrosis (F) y colagenización del estroma (CE).

DISCUSIÓN

Los cambios histológicos presentes en las ratas durante este estudio revelaron la presencia de lesiones de menor a mayor grado de gravedad, pudiendo estar relacionadas con tiempo de exposición al chimó. El grupo control que fue expuesto a solución fisiológica presentó características histológicas normales en un 100 % a las 20 semanas.

En esta investigación fue evidente la presencia de alteraciones histológicas como ortoqueratosis en un 55 % e hiperqueratosis en un 19 %. Estas queratosis son manifestaciones superficiales del epitelio en respuesta a la agresión constante a la que fue expuesto durante este estudio. La hiperqueratosis es una lesión muy común ocasionada por casi todos los productos derivados del tabaco.¹¹⁻¹³

Se observó además la presencia de hiperplasia epitelial en un 28 %. Esta multiplicación exagerada de las células de la capa basal del epitelio provocó que éste se invaginara hacia el tejido conectivo. Este efecto pudo estar asociado al constante contacto de chimó con los tejidos, donde el epitelio agredido buscó aumentar su superficie de contacto con el conjuntivo y así facilitar su nutrición. Igualmente sucedió a nivel del estrato espinoso, se encontró un 19 % de acantosis, en donde de igual forma hubo una multiplicación exagerada de las células, ensanchándose ese epitelio y englobándose el tejido conectivo. Ambas lesiones fueron originadas posiblemente por la misma causa. La acantosis y la hiperplasia epitelial son lesiones comunes encontradas en los estudios realizados con tabaco sin humo.^{6,11-13}

Adicionalmente en nuestra investigación se observó la evidencia de granulocitosis, es decir, que hubo un aumento del número de granulocitos o leucocitos polimorfonucleares, lo que se traduce en la activación inicial del sistema inmune con la finalidad de defender al tejido contra sustancias extrañas como el chimó y sus componentes. En menor proporción se presentó fibrosis, colagenización del estroma e inflamación crónica, todos estos procesos están relacionados con un ataque prolongado a los tejidos y en respuesta a esto se hace evidente la presencia de tejido cicatrizal que podría traducir un intento de reparación de los mismos.

Resultados muy similares fueron reportados en otros estudios.¹² La presencia de inflamación crónica antes mencionada es la respuesta de la encía al encontrarse constantemente expuesta a muchos agentes nocivos de origen mecánico, bacteriano y químico, que generan en ella una serie de procesos biológicos que tienen como función responder ante esa agresión e iniciar un mecanismo de defensa que trate de ofrecer resistencia a ese ataque.

Los resultados de nuestro estudio arrojaron otros cambios progresivos, en los cuales el epitelio ha empezado a mostrar leves alteraciones celulares, intracelulares y estructurales como displasias leves y displasias moderadas. Es necesario destacar además que en las ratas estudiadas se presentaron clínicamente lesiones blancas circunscritas en la mucosa bucal, estas lesiones histopatológicamente evidenciaron la presencia de hiperqueratosis, acantosis y displasias leves lo que hace suponer que se trate de leucoplasia incipiente. Además se hallaron lesiones rojas, que se localizaban en la mucosa bucal y que histológicamente estaban constituida por una displasia moderada del epitelio, esto nos hace sospechar que se trate de una eritroplasia.

Investigaciones recientes afirman que el chimó,^{14,15} (tabaco de mascar venezolano) igualmente es capaz de provocar en humanos displasias epiteliales (alteraciones de las células adultas). De la misma manera estos estudios sugieren que los efectos ocasionados por el chimó a largo plazo van desde lesiones premalignas

(leucoplasias, eritroplasias), displasias malignas, hasta lesiones cancerígenas como el cáncer bucal, específicamente el carcinoma espinocelular.^{4,5,16}

CONCLUSIONES

Las manifestaciones histológicas encontradas sugieren que el tabaco de mascar venezolano (chimó) genera cambios en los tejidos bucales, entre ellos la activación del mecanismo de defensa. Este mecanismo va desde procesos inflamatorios y aumento de la producción de queratina hasta fibrosis y colagenización del estroma. Lo que parece indicar que la agresión (chimó) pudo superar la capacidad defensiva de los tejidos y por ende esto ocasionó la aparición de desordenes celulares y alteraciones de la arquitectura del epitelio. Inferimos que si el agente causal continúa actuando por mucho tiempo aumentará el riesgo de aparición de lesiones irreversibles.

Este estudio permitió deducir que concretamente el chimó puede actuar sobre los tejidos bucales directa e indirectamente. De manera directa gracias a la acción de mecanismos físicos que irritan los tejidos gingivales y dañan los tejidos sanos, alterando además los elementos celulares del epitelio bucal. Y de manera indirecta a través de sus componentes químicos que además de actuar a nivel local, provocando vasoconstricción, puede ejercer su efecto sistémico (nicotina), aumenta la presión arterial y desencadena una respuesta inflamatoria crónica, e impide la neutralización de infecciones locales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wilbert J. El Significado Cultural del uso de Tabaco en Sudamérica. 1987. Recuperado el 30 de mayo de 2006 en <http://74.125.47.132/search?q=cache%3AX0Mmx2w8rBYJ%3Adesde2001.50webs.com%2Fbiblodig%2Fbibloarchiv%2Fwilbert1.pdf+Wilbert+J.+El+Significado+Cultural+del+uso+de+Tabaco+en+Sudam%C3%A9rica.+1987.&hl=es&gl=cu>
2. Alvarado L. Obras Completas de Lisandro Alvarado Caracas, Venezuela: Fundación La Casa de Bello. 1989.
3. Leshner A. ¿Cómo produce la nicotina su efecto? Instituto Nacional sobre el Abuso de Drogas. 2005. Recuperado el 5 de mayo de 2006 en <http://nida.nih.gov/researchreports/nicotina/nicotina3.html>
4. Jarpa P. Medición de pH de 12 preparaciones distintas de pasta de tabaco de mascar, relacionándola con la adicción a la nicotina. Revista de la facultad de Farmacia. 2003; 45(2): 7-11.
5. González M, Pavón O. Efectos del consumo de chimó, en las estructuras bucales. 2005. Recuperado el 30 de mayo de 2006 en <http://cencomed.sld.cu/barrioadentro05/recursos/vert.php?id=88>
6. Papageorge MB, Cataldo E, Jahngen EG. The effect of N-nitrosornicotine on the buccal mucosa of Syrian hamsters. Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 1996; 54(2): 187-90.

7. Nakamura T, Ono K, Honda E, Yolota M, Inenoga K. Central nicotinic stimulation reduces vascular conductance in the gingiva in anesthetized rats. *Journal Periodontal Research*. 2005; 40(1): 67-72.
8. Chen YP, Johnsson GK, Squier CA. Effects on nicotina and tobacco-specific nitrosamines on hamster cheek pouch and gastric mucosa. *J Oral Pathol Med*. 1994; 23(6): 251-5.
9. Dávila LS, Quiñones BE. Consumo de bazuco como agente causal de alteraciones en la encía. *Rev Cubana Estomatol*. 2001; 38(2): 137-44.
10. Calanche I, Rivas C. Manual de Histopatología Básica para odontólogos. Universidad de los Andes: Consejo de Publicaciones, Consejo de Desarrollo Científico Humanístico y Tecnológico. 2002
11. Hirsch JM, Thilander H. Snuff- induced lesions of the oral mucosa: an experimental model in the rat. *Journal Oral Pathology*. 1981; 10(5): 342-53.
12. Hirsch JM, Larsson PA, Johansson SL. The reversibility of the snuff-induced lesion: an experimental study in the rat. *Journal Oral Pathology*. 1986; 15(10): 540-3.
13. Chen SY. Effects of smokeless tobacco on the buccal mucosa of HMT rats. *Journal Oral Pathology Medical*. 1989; 18(2): 108-12.
14. Blanco C. Factores de riesgo adquiridos en la patogenia de la enfermedad periodontal 2003. Recuperado el 2 de mayo de 2006 en http://www.webodontologica.com/odon_arti_fact_riesgo_pato_asp
15. Santos J. Influencia del tabaco en los tejidos bucales y su efecto sobre la cicatrización 2004. Recuperado el 4 de agosto de 2005 en <http://www.ilustrados.com/publicaciones/EPZZIEYUVILMRWYAUH.php>
16. Grasso P, Mann AH. Smokeless Tobacco and oral cancer: an assessment of evidence derived from laboratory animals. *Food Chem Toxicol*. 1998; 36(11): 1015-29.

Recibido: 2 de febrero de 2009.

Aprobado: 4 de junio de 2009.

Dra. Lisbeth Sosa. Universidad de Los Andes. Facultad de Odontología. Cátedra de Periodoncia. E-mail: lissosa25@gmail.com