



**CARACTERIZACIÓN Y COMPARACIÓN INMUNO-HISTOMORFOLÓGICA DE
LOS TUMORES ODONTOGÉNICOS MIXTOS BENIGNOS**

**TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN PATOLOGÍA Y MEDICINA BUCAL**

P R E S E N T A

C.D. Marcela Vázquez Garduño

COMITÉ TUTORIAL

Co-Director: Dr. Adalberto A. Mosqueda Taylor

Co-Director: Dr. Oslei Paes de Almeida

Asesora externa: Dra. María Esther Irigoyen Camacho

Asesora externa: Dra. Celeste Sánchez Romero

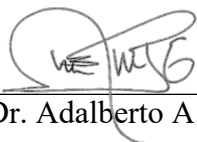
Ciudad de México, noviembre 2020

**La Maestría en Patología y Medicina Bucal de la Universidad Autónoma
Metropolitana pertenece al Padrón Nacional de Posgrados de Calidad de CONACYT
y cuenta con el apoyo del mismo Consejo, con el registro 5020**

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Xochimilco aprobó la ICR que presentó:

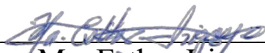
MARCELA VÁZQUEZ GARDUÑO

COMITÉ TUTORIAL:



Co-Director: Dr. Adalberto A. Mosqueda Taylor

Co-Director: Dr. Oslei Paes de Almeida



Asesora: Dra. Ma. Esther Irigoyen Camacho



Asesora: Dra. Celeste Sánchez Romero

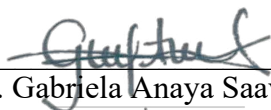
Jurado:



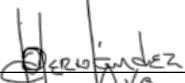
Dra. Velia Aydée Ramirez Amador (Presidenta)



Dra. Martha Beatriz González Guevara (Secretaria)



Dra. I. Gabriela Anaya Saavedra (Vocal)



Dr. Juan Carlos Hernández Guerrero (Vocal)

ÍNDICE	Pág.
Abreviaturas.....	I
Índice de cuadros.....	II
Índice de figuras.....	III
Resumen.....	IV
1. Introducción.....	1
1.1 Epidemiología de los tumores odontogénicos.....	2
1.2 Modificaciones a las clasificaciones de la OMS.....	2
1.3 Tumores odontogénicos mixtos.....	8
1.3.1 Fibroma ameloblástico.....	10
1.3.2 Fibrodentinoma ameloblástico.....	11
1.3.3 Fibro-odontoma ameloblástico.....	13
1.3.4 Odontoameloblastoma.....	14
1.3.5 Odontomas.....	15
1.4 Perfil inmunohistoquímico de los tejidos odontogénicos normales.....	17
1.5 Inmunomarcadores utilizados en los TOM.....	22
1.5.1 Citoqueratinas 14 y 19.....	22
1.5.2 Amelogenina.....	23
1.5.3 Syndecan-1.....	25
1.5.4 Ki-67.....	26
2. Planteamiento del problema y justificación.....	29
3. Objetivos.....	30
3.1 Objetivo general.....	30
3.2 Objetivos específicos.....	30
4. Material y método.....	31
4.1 Diseño del estudio.....	31
4.2 Procedimientos de laboratorio.....	31
4.2.1 Evaluación de los casos.....	31
4.2.2 Técnica inmunohistoquímica.....	32
4.2.3 Análisis inmunohistoquímico.....	34
4.2.3.1 Citoqueratinas 14 y 19.....	34

4.2.3.2	Amelogenina.....	35
4.2.3.3	Syndecan-1.....	35
4.2.3.4	Ki-67.....	36
4.3	Variables.....	37
4.4	Análisis estadístico.....	37
4.5	Consideraciones bioéticas.....	38
5.	Resultados.....	39
6.	Discusión.....	61
7.	Conclusiones.....	68
8.	Referencias bibliográficas.....	70
9.	Anexos.....	81

Abreviaturas

ADNc	ADN complementario
AMELX	Amelogenina
CK	Citoqueratina
CKs	Citoqueratinas
DDV	Década de la vida
FA	Fibroma ameloblástico
FDA	Fbrodentinoma ameloblástico
FDSA	Fbrodentinosa sarcoma ameloblástico
FOA	Fibro-odontoma ameloblástico
FOSA	Fibro-odontosarcoma ameloblástico
FSA	Fibrosarcoma ameloblástico
GD	Germen dentario
HB-EGF	Factor de crecimiento epidérmico de unión a la heparina
IHQ	Inmunohistoquímica
MEC	Matriz extracelular
OA	Odontoameloblastoma
OD	Odontoma
OMS	Organización Mundial de la Salud
TDCF	Tumor dentinogénico de células fantasma
TO	Tumores odontogénicos
TOA	Tumor odontogénico adenomatoide
TOEC	Tumor odontogénico epitelial calcificante
TOM	Tumores Odontogénicos Mixtos

Índice de cuadros

Cuadro 1.	Tipos histológicos de TO, quistes de los maxilares y lesiones afines.....	3
Cuadro 2.	Clasificación histológica de los tumores odontogénicos 1992.....	4
Cuadro 3.	Clasificación histológica de los tumores odontogénicos 2005.....	6
Cuadro 4.	Clasificación histológica de los tumores odontogénicos 2017.....	7
Cuadro 5.	Frecuencia de los TOM benignos.....	9
Cuadro 6.	Panel inmunohistoquímico de anticuerpos utilizados.....	34
Cuadro 7.	Operacionalización de variables.....	37
Cuadro 8.	Características demográficas y clínicas en 32 casos de TOM.....	43
Cuadro 9.	Características histopatológicas de los 32 casos de TOM con respecto a los componentes epitelial y mesenquimatoso.....	44
Cuadro 10.	Intensidad de inmunoexpresión de CK14 en 31 casos evaluados de TOM.....	45
Cuadro 11.	Intensidad y promedio de inmunoexpresión de CK19 en 25 casos evaluados de TOM.....	46
Cuadro 12.	Intensidad y promedio de inmunoexpresión de AMELX en 22 casos evaluados de TOM.....	47
Cuadro 13.	Intensidad y promedio de inmunoexpresión de Syndecan-1 (componente epitelial) en 27 casos evaluados de TOM.....	48
Cuadro 14.	Intensidad y promedio de inmunoexpresión de Syndecan-1 (componente mesenquimatoso) en 27 casos evaluados de TOM.....	49
Cuadro 15.	Promedio de inmunoexpresión de Ki-67 en componente epitelial y mesenquimatoso de 27 casos evaluados de TOM.	50

Índice de figuras

Figura 1.	Conteo manual mediante programa Image J.....	36
Figura 2.	Fibrodentinoma ameloblástico.....	51
Figura 3.	Expresión de CK14 en los TOM.....	52
Figura 4.	Expresión de CK19 en los TOM.....	53
Figura 5.	Expresión de CK19 en FOA.....	54
Figura 6.	Expresión de AMELX en FA.....	55
Figura 7.	Expresión de AMELX en FA y FDA.....	56
Figura 8.	Expresión de AMELX en FOA y OA.....	57
Figura 9.	Expresión de AMELX en OD.....	58
Figura 10.	Expresión de Syndecan-1 en TOM.....	59
Figura 11.	Expresión Ki-67 en FA y OD	60

Resumen

Introducción: Los tumores odontogénicos mixtos (TOM) derivan de tejidos formadores del órgano dental o sus remanentes celulares y presentan aspecto histomorfológico variado, debido a la interacción entre los componentes tisulares del germen dentario en desarrollo. A pesar de que algunos TOM representan hamartomas, otros son verdaderas neoplasias con grados variables de agresividad. **Objetivo:** Comparar los hallazgos clínico-demográficos, histopatológicos y la expresión inmunohistoquímica (IHQ) de marcadores epiteliales, proteínas del esmalte, receptores de matriz extracelular y proliferación celular en los componentes mesenquimatoso y epitelial en un grupo de TOM (fibroma ameloblástico [FA], fibrodentinoma ameloblástico [FDA], fibro-odontoma ameloblástico [FOA], odontoameloblastoma [OA] y odontomas [OD]). **Material y método:** Estudio multicéntrico, retrolectivo, observacional y comparativo en el que se analizaron 32 muestras de TOM obtenidas de la UAM-X, dos Servicios de Diagnóstico en Patología Bucal privados [CDMX y Puebla] y de la Facultad de Odontología de la Universidad Federal de Rio de Janeiro. La técnica IHQ se realizó con anticuerpos monoclonales para CK 14 y 19, Amelogenina (AMELX), Syndecan-1 y Ki-67. La intensidad de la marcación IHQ se categorizó de acuerdo al porcentaje de células positivas en “0” <5% de células (negativo); “1” 5-50% de células (baja intensidad) o “2” >50% de células (alta intensidad). Los resultados se analizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA), T de Student y prueba de Kruskal-Wallis según se requiriera, utilizando el paquete estadístico *JMP V12 (Campus Drive Cary, NC, USA)* con un nivel de $p \leq 0.05$. **Resultados:** Se incluyeron 10 FA, dos FDA, ocho FOA, un OA y 11 OD con una mediana de edad de 11 (1.3-36) años. La mandíbula fue la localización más frecuente (17/54.8%). Todos los casos mostraron alta intensidad de expresión de CK14. La expresión de CK19 fue negativa y baja intensidad en FA, FDA y OA. AMELX mostró alta intensidad en 14 casos (66.3%), 4 (18.1%) baja intensidad y 3 (13.6%) fueron negativos. Al evaluar Syndecan-1 en el componente epitelial, 23 casos (85.1%) presentaron alta intensidad, mientras que el OA fue negativo; en el componente mesenquimatoso 18 casos (66.6%) tuvieron alta intensidad. Los casos de FA, FOA y OA presentaron los índices de expresión más altos en componente epitelial y mesenquimatoso al evaluar Ki-67. **Conclusiones:** El análisis IHQ de las CKs y la negatividad en la expresión de AMELX sugiere que los FA, FDA y OA se encuentran en un grado de maduración epitelial limitado. La expresión mesenquimatosa de Syndecan-1 en FDA y OA podría estar relacionada con un comportamiento de mayor agresividad. La evaluación de Ki-67 reveló valores epiteliales más altos en los casos de FA, FDA, FOA y OA en contraste con los OD, como cabría esperar en esta entidad hamartomatosa con potencial limitado de crecimiento.

Palabras clave: Tumores odontogénicos mixtos, hamartoma, neoplasia, inmunoexpresión.

1. INTRODUCCIÓN

Los tumores odontogénicos (TO) derivan de los tejidos formadores del órgano dental o sus remanentes celulares y presentan un aspecto histomorfológico variado, mismo que obedece a las interacciones que ocurren normalmente entre los componentes tisulares del germen dentario (GD) en desarrollo. A pesar de que algunos TO representan hamartomas, otros son verdaderas neoplasias benignas o malignas con grados variables de agresividad (Mosqueda-Taylor, 2008).

Actualmente se sabe que las fuentes potenciales de desarrollo de un TO incluyen:

- La lámina dental pre-funcional (epitelio odontogénico con la habilidad de producir un diente), la cual es más abundante distalmente a los terceros molares.
- La lámina dental post-funcional, que involucra aquellos remanentes epiteliales como los restos de Serres, localizados en el tejido fibroso de la encía y los restos epiteliales de Malassez en el ligamento periodontal.
- El epitelio reducido del órgano del esmalte, el cual cubre la superficie del esmalte hasta la erupción del diente.
- La capa basal del epitelio de la encía, que originalmente da lugar a la lámina dental.
- La papila dental que da origen a la pulpa dental, la cual puede ser inducida para producir odontoblastos y estos a su vez formar dentina y/o material dentinoide.
- El folículo dental.
- El ligamento periodontal, con el potencial de inducir la producción de material fibroso y cemento-óseo mineralizado.

1.1. Epidemiología de los tumores odontogénicos

Los TO representan una categoría patológica específica debido a su única y compleja etiopatogénesis, lo que puede causar que las lesiones tengan similitud morfológica y dificultad diagnóstica, así como un comportamiento biológico variable y en ciertos casos impredecible. La mayoría son benignos, pero algunos de ellos exhiben agresividad local y alta tendencia a la recurrencia (Setián-Olarra y cols., 2017). Pese a que existen estudios realizados en los cinco continentes, varias preguntas siguen sin respuesta acerca del origen, la frecuencia relativa y la incidencia de estas entidades patológicas en diversas poblaciones (Odukoya y cols., 1995; Philipsen y cols., 2006; Linard y cols., 2012). Los reportes de la literatura acerca de su frecuencia en México son escasos, pero se ha informado que estos representan entre 0.8-3.7% de las muestras recibidas en servicios de patología, observándose la frecuencia más baja en la casuística correspondiente a la región de cabeza y cuello de un centro oncológico y las más altas en dos laboratorios de patología bucal y maxilofacial a nivel universitario y uno de práctica privada (Mosqueda-Taylor y cols., 1997); sin embargo, si se analiza esta cifra como un porcentaje de todos los tumores en el cuerpo humano, la frecuencia se reduce a aproximadamente 0.002% (Günhan y cols., 1990).

1.2 Modificaciones a las clasificaciones de TO de la OMS

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha publicado desde hace varias décadas clasificaciones de los diversos tumores de acuerdo a la región anatómica afectada o por su origen, apoyándose con grupos de patólogos que establecen por consenso las características de cada lesión, con base en el avance del conocimiento acerca de su origen, expresión clínico-patológica, inmunogenética y comportamiento; de esta forma, se publicó en 1971 la

primera edición denominada “Tipos histológicos de tumores odontogénicos, quistes de los maxilares y lesiones afines” (Pindborg y cols., 1971). En el cuadro 1 se presenta el listado de entidades consideradas como TO en dicha clasificación.

Cuadro 1. Tipos histológicos de tumores odontogénicos, quistes de los maxilares y lesiones afines*

Neoplasias y otros tumores relacionados con el aparato odontogénico	
Benignos	Malignos
Ameloblastoma	Carcinomas:
Tumor odontogénico epitelial calcificante	Ameloblastoma maligno
Fibroma ameloblástico	Carcinoma intraóseo primario
Tumor odontogénico adenomatoide (adeno-ameloblastoma)	Otros carcinomas originados en el epitelio odontogénico, incluso los que se originan en quistes odontogénicos
Quiste odontogénico calcificante	Sarcomas odontogénicos:
Dentinoma	Fibrosarcoma ameloblástico (sarcoma ameloblástico)
Fibro-odontoma ameloblástico	Odontosarcoma ameloblástico
Odonto-ameloblastoma	
Odontoma complejo	
Odontoma compuesto	
Fibroma (fibroma odontogénico)	
Mixoma (mixofibroma)	
Cementomas	
Tumor neuroectodérmico melanótico de la infancia (progonoma melanótico, melanoameloblastoma)	

*Pindborg J.J., Kramer I.R.H., Torloni H. WHO Histological typing of odontogenic tumours, jaw cysts, and allied lesions. International histological classification of tumors. First Edition. Roto-Sadag S.A., Ginebra. 1971.

Posteriormente, en la segunda edición publicada en 1992, los TO benignos se reclasificaron de acuerdo al tipo de componente tisular predominante y su posible interacción (inducción) epitelio-mesénquima en tres grupos, uno de los cuales se denominó “Tumores de epitelio

odontogénico con ectomesénquima odontogénico, con o sin formación de tejidos dentales mineralizados”, los cuales denominaremos en el presente trabajo “Tumores odontogénicos mixtos” (Cuadro 2).

Cuadro 2. Clasificación histológica de los tumores odontogénicos 1992*	
Neoplasias y otros tumores relacionados al aparato odontogénico	
Benignos**	Malignos**
Tumores de epitelio odontogénico con ectomesénquima odontogénico, con o sin formación de tejidos dentales mineralizados	Sarcomas odontogénicos
Fibroma ameloblástico	Fibrosarcoma ameloblástico (sarcoma ameloblástico)
Fibrodentinoma ameloblástico (dentinoma) y fibro-odontoma ameloblástico	Fibrodentinosarcoma ameloblástico y fibro-odontosarcoma
Odontoameloblastoma	Carcinosarcoma odontogénico
Tumor odontogénico adenomatoide	
Quiste odontogénico calcificante	
Odontoma complejo	
Odontoma compuesto	

*Kramer IRH, Pindborg JJ, Shear M. WHO Histological Typing of Odontogenic Tumours. Second Edition. Berlin. Springer-Verlag. 1992.

**Sólo se incluye a los tumores correspondientes a la categoría de “tumores odontogénicos mixtos”.

Debido a la amplia variedad de tumores odontogénicos mixtos (TOM) descritos a lo largo de las últimas décadas, persisten controversias con respecto a su clasificación, terminología y criterios de diagnóstico empleados para designar a estas lesiones (Slootweg y cols., 1981; Kaugars y cols., 1991; Piatelli y cols., 1992; Kramer y cols., 1992; Philipsen y cols., 1997). La denominación de “tumores odontogénicos mixtos” pone de manifiesto la acción de los efectos inductivos presentes en dichas entidades como elemento básico para su diagnóstico y para comprender mejor su origen, pero no resuelve la cuestión relativa a la existencia de

similitudes morfológicas, por ejemplo, entre un odontoma (OD) inmaduro y una neoplasia como el fibroma ameloblástico (FA) y otras entidades asociadas.

El origen de esta controversia surgió a partir de que Cahn y Blum en 1952 postularon que dichas entidades son parte de un espectro evolutivo, en donde el FA representa el tumor con menor diferenciación histológica, el cual posteriormente evolucionaría hacia un fibro-odontoma ameloblástico (FOA) y finalmente en su última etapa de maduración se convertiría en un odontoma complejo (Cahn y Blum, 1952); sin embargo, este concepto no es universalmente aceptado, ya que algunos investigadores, con base en las características clínico-patológicas y conducta biológica de algunas de estas lesiones, sugirieron que aunque puede haber superposición y confusión en su apariencia microscópica, en un número significativo de ellas se trata de entidades distintas (Slootweg, 1981; Gardner, 1984).

A consecuencia de esta situación, la OMS ya señalaba en 1992 que era posible que algunas de las entidades clasificadas individualmente dentro de la categoría de TOM fuesen etapas distintas en la evolución de un mismo tumor, pero que mientras no se estudiaran series grandes, se sugería que deberían ser provisionalmente clasificadas en categorías separadas, para que las diferencias en su presentación y comportamiento fueran fácilmente evaluadas (Kramer y cols., 1992).

En 2005 se publicó la tercera edición de la clasificación histológica de tumores odontogénicos, en donde los TOM son catalogados como “Tumores con epitelio odontogénico y ectomesénquima odontogénico con o sin formación de tejido dental mineralizado” (Cuadro 3). Los TOM en esta clasificación fueron definidos como tumores compuestos por epitelio odontogénico proliferante dentro de un tejido mesenquimatoso que

recuerda a la papila dental, los cuales pueden presentar efectos inductivos que generen la producción de tejidos dentales en diversos grados de mineralización (Barnes y cols., 2005).

Cuadro 3. Clasificación histológica de los tumores odontogénicos 2005*
Neoplasias y otros tumores que se desarrollan a partir del aparato odontogénico y el esqueleto maxilofacial**

Benignos	Malignos
Tumores con epitelio odontogénico, ectomesénquima odontogénico con o sin formación de tejido dental mineralizado	
Fibroma ameloblástico	Fibrosarcoma ameloblástico
Fibro-dentinoma ameloblástico	Fibro-dentinomasarcoma ameloblástico y Fibro-odontosarcoma
Fibro-odontoma ameloblástico	
Odontoma:	
Odontoma complejo	
Odontoma compuesto	
Odontoameloblastoma	
Tumor odontogénico quístico calcificante	
Tumor dentinogénico de células fantasma	

*Barnes L., Eveson J.W., Reichart P., Sindransky D. (Eds.). World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. IARC Press. Lyon. 2005.

** Solo se incluyen los TOM

Las revisiones previas en cuanto a la taxonomía de los TO, quistes y lesiones asociadas, confirman que las características morfológicas y la relación inductiva entre las diferentes partes que componen al órgano dentario en desarrollo son reproducidas, en mayor o menor medida, en un gran número de los TO, y la observación de dichas características es importante tanto para la identificación de estas lesiones, como para su clasificación y la mejor comprensión de su posible patogénesis (Philipsen y cols., 2005). Estudios experimentales y moleculares de eventos asociados con el desarrollo dental, han dado como resultado la identificación de más de 200 genes que desempeñan un rol importante en este proceso, ya que su expresión induce la sobreexpresión de genes adicionales (Cobourne y

cols., 2003; Thesleff, 2008) y dicha expresión es tomada en consideración para la clasificación de los TO de la OMS. Durante el periodo comprendido entre los años 1992 y 2005 los criterios histológicos para clasificar a los TOM no fueron uniformes, lo que dificultó el realizar un análisis comparativo entre los diversos estudios publicados hasta entonces. La postura de algunos autores proponía que el análisis inmunohistoquímico de los TOM benignos como el FA era relevante debido a su posible riesgo de transformación maligna (Sano y cols., 1998), la cual ha sido confirmada en algunas series (Carlos-Bregni y cols., 2001). En la más reciente clasificación de TO de la OMS, publicada en 2017, la definición de los TOM ha sufrido notables modificaciones (Cuadro 4).

Cuadro 4. Clasificación histológica de los tumores odontogénicos 2017*

Tumores odontogénicos y de los huesos maxilofaciales**	
Benignos	Malignos
Tumores odontogénicos mixtos epiteliales y mesenquimatosos	
Fibroma ameloblástico	Sarcomas odontogénicos
Tumor odontogénico primordial	
Odontoma complejo	
Odontoma compuesto	
Tumor dentinogénico de células fantasma	

*El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ. (Eds.). WHO Classification of Head and Neck Tumours (4th edition). IARC. Lyon. 2017.

** Sólo se incluyen los TOM

En la nueva clasificación se agregó en el grupo de los TOM una nueva entidad (Tumor odontogénico primordial) y se eliminaron o reubicaron en otras categorías diagnósticas a lesiones no consideradas como verdaderos TOM (Speight y cols., 2017). Al respecto, cuatro entidades previamente incluidas en la clasificación de la OMS de 2005 fueron eliminadas: el tumor odontogénico quístico calcificante (actual quiste odontogénico calcificante), OA, FDA y FOA.

El odontoameloblastoma (OA), definido como un tumor que combina las características del ameloblastoma con las de un odontoma (Mosqueda-Taylor, 2005), actualmente es considerado un ameloblastoma con tejidos mesenquimatosos odontogénicos, debido a que los editores argumentan que dicha entidad representa un ameloblastoma convencional que surge en asociación o a partir de un OD, justificando también su exclusión como entidad independiente con base en la existencia de un número muy limitado de casos reportados en la literatura (Wright y cols., 2017). El FDA y el FOA fueron descartados como entidades específicas bajo el siguiente argumento enunciado por parte de los editores en la introducción de la actual clasificación: “Existe la sensación general de que, en la mayoría de los casos, estos representan etapas del desarrollo de un OD complejo o compuesto y que, por lo tanto, mantenerlos como entidades separadas sería algo ilógico” (Takata y Slooteweg, 2017).¹ Las mismas consideraciones han llevado al reconocimiento de un solo tipo de sarcoma odontogénico, debido a que “adjetivos como ameloblástico y prefijos como fibro-odonto y fibrodentino no tienen relevancia diagnóstica o clínica” (Wright y cols., 2017).² En consecuencia, en la nueva clasificación los OD (complejo y compuesto) siguen siendo esencialmente los mismos, con actualizaciones sobre los hallazgos genéticos e inmunohistoquímicos.

1.3 Tumores odontogénicos mixtos

Con excepción del OD, los TOM constituyen un grupo de lesiones de baja frecuencia, ya que en reportes de servicios estomatológicos provenientes de diversos países representan entre 0.03% al 1.5% de todos los TO (Cuadro 5).

¹ IDEM, OMS 2017.

² IDEM, OMS 2017.

Cuadro 5. Frecuencia de los TOM benignos en diversos estudios epidemiológicos

País / Autores	Casos	OD (%)	FA (%)	FOA (%)	FDA (%)	OA (%)	TDCF
E.U.A. (Regezi y cols., 1978)	641	473 (73.8)	15 (2.3)	11 (1.7)	----	----	----
Canadá (Daley y cols., 1994)	392	202 (51.5)	6 (1.5)	12 (3.0)	----	----	----
México (Mosqueda-Taylor y cols., 1997)	349	121 (34.6)	5 (1.4)	3 (0.8)	----	----	----
China (Lu y cols., 1998)	759	51 (6.7)	14 (1.8)	2 (0.3)	----	2 (0.3)	----
RGN, Brasil (Santos y cols., 2001)	127	64 (50.4)	2 (1.6)	1 (0.8)	----	----	----
São Paulo, Brasil (Sousa y cols., 2002)	113	47 (39.4)	1 (0.8)	4 (3.5)	----	----	----
Chile (Ochsenius y cols., 2002)	362	162 (44.7)	2 (0.6)	6 (1.7)	2 (0.6)	----	----
Venezuela (Montilla y cols., 2004)	341	134 (39.3)	8 (2.3)	2 (0.6)	----	----	----
Estonia (Tamme y cols., 2004)	75	26 (34.6%)	12 (16.0)	----	----	----	----
Egipto (Tawfik y cols., 2010)	82	11 (13.4)	1 (1.2)	----	1(1.2)	----	----
Sri Lanka (Siriwardena y cols., 2012)	1677	169 (10.0)	15 (0.8)	9 (0.5)	----	----	5 (0.2)
Nigeria (Aregbesola y cols., 2018)	582	12 (57.8)	9 (2.3)	----	----	----	----
Sheffield, Reino Unido (Siriwardena y cols., 2018)	559	148 (25.5)	8 (1.4)	11 (1.9)	----	----	9 (1.6)
India (Ahire y cols., 2019)	250	48 (19.2)	3 (1.2)	----	----	----	1 (0.4)
Italia (Mascitti y cols., 2019)	100	23 (23.0)	----	----	----	----	2 (2.0)
UEFS, Brasil (Farias y cols., 2019)	49	23 (46.9)	----	----	----	----	----
India (Sharma y cols., 2020)	93	6 (6.4)	1 (1.0)	----	----	----	----
Total	6551	1720 (26.2)	102 (1.5)	61 (0.9)	3 (0.04)	2 (0.03)	17 (0.2)

OD, Odontoma; *FA*, Fibroma ameloblástico; *FOA*, Fibro-odontoma ameloblástico; *FDA*, Fibrodentinoma ameloblástico; *OA*, Odontoameloblastoma; *TDCF*, Tumor dentinogénico de células fantasma; *RGN*, Río Grande del Norte; *UEFS*, Universidade Estadual de Feira de Santana.

Histológicamente los TOM están constituidos por una combinación de componentes epiteliales y mesenquimatosos. Muchas de estas lesiones pueden presentar características clínicas y radiográficas similares; las lesiones con componente ameloblástico (FA, FDA, FOA, OD y OA) pueden compartir similitudes microscópicas, generando complejidad para su distinción, lo que ha creado un debate persistente a la fecha sobre si pueden delinearse

como entidades patológicas distintas entre sí (Eversole y cols., 1971; Slootweg, 1981; Bologna-Molina y cols., 2013) o si algunas de ellas, como ya se mencionó, son simplemente etapas del desarrollo de una misma lesión (Cahn y Blum, 1952; Hansen y cols., 1988; Takata y cols., 2017), pero hasta la fecha no ha sido posible encontrar herramientas diagnósticas que permitan demostrar si se trata de entidades individuales o no (Sano y cols., 1998; Yoshida y cols., 2003), por lo que dicha situación justifica su estudio.

1.3.1 Fibroma ameloblástico

La OMS define al FA como un tumor constituido por ectomesénquima odontogénico que se asemeja a la papila dental, con islas y cordones de epitelio que recuerda a la lámina dental y al órgano del esmalte, pero sin producir tejidos dentales mineralizados (Muller y Vered, 2017). Fue descrito por primera vez por Kruse en 1891 (Philipsen y cols., 1997) y actualmente es considerado un tumor poco frecuente que representa entre 1.5% y 2% de todos los TO (Philipsen y cols., 1997; Buchner y cols., 2006; Reichart y cols., 2008).

El FA se desarrolla comúnmente durante la primera y segunda décadas de la vida, con una media de edad de 14.6 años, aunque este concepto no es ampliamente aceptado (Buchner y cols., 2013), ya que existen casos reportados de FA desarrollados en periodos posteriores a la etapa de la odontogénesis (Gardner, 1984; Hansen y cols., 1988; Philipsen y cols., 1997).

El FA se localiza predominantemente en la región posterior de la mandíbula, manifestándose como un aumento de volumen de lenta evolución, en la mayoría de los casos es asintomático y ocasionalmente es detectado como hallazgo radiográfico durante exámenes de rutina (Slootweg, 1981); aparece como una lesión radiolúcida bien delimitada, uni o multilocular con márgenes frecuentemente escleróticos (Cheng y cols., 2007); sin embargo, algunos casos pueden presentar destrucción ósea extensa, perforación de

corticales y pérdida dental (Singh y cols., 1975; Shepherd y cols., 1976), así como alteraciones en la erupción dental, ya que alrededor del 75% de ellos se asocian con un diente retenido (Jurema y cols., 2012). Se ha reportado una tasa de recurrencia que varía entre 16.3% y 43.5% (Manzon y cols., 2015; Sanadi y cols., 2018) y es particularmente relevante mencionar que en tumores recurrentes se han presentado varios casos de transformación maligna, lo que debe alertar sobre la necesidad de evaluar minuciosamente todas las áreas hipercelulares en lesiones recurrentes y definir cuidadosamente su tratamiento (Cheng y cols., 2007). La recurrencia de FA está descrita en algunos estudios con un promedio de 6.0% a 18.3%, lo que pudiera tener relación con una escisión quirúrgica incompleta (Muller y cols., 1995; Zallen y cols., 1982). En un estudio realizado por Carlos-Bregni y cols., se menciona que alrededor del 35.8% de los FSA tenían antecedente de FA, por lo que se asume que al menos un tercio de los casos malignos se relacionan a la transformación de una lesión benigna pre-existente (Carlos-Bregni y cols., 2001); asimismo, se menciona que el FSA se presenta en individuos con una media de 33 años (DE±17) (Gorlin y cols., 1963) e independientemente de la terapia de elección, todo individuo que se ha sometido a un tratamiento para un FA, debe tener un seguimiento mediante exámenes clínicos y radiográficos regulares por lo menos durante 10 años (Muller y cols., 1995).

1.3.2 Fibrodentínoma ameloblástico

El FDA es un tumor de baja frecuencia, ya que representa menos del 1% de todos los tumores odontogénicos (Bologna-Molina y cols., 2013). Su existencia como entidad independiente no es completamente aceptada, ya que algunos autores han considerado que el FDA representa una etapa histológica intermedia entre el FA y el FOA por su grado de

histodiferenciación (Gardner, 1984; Kramer y cols., 1992; Philipsen y cols., 1997; Muller y Vered, 2017). Microscópicamente es muy similar al ectomesénquima odontogénico de la papila dental, pero con cordones y nidos de epitelio odontogénico que recuerdan a la lámina dental y al epitelio ameloblástico, entre los que se identifica la formación de cantidades variables de material dentinoide (Barnes y cols., 2005).

Se ha sugerido que los FDA se presentan en dos variantes histológicamente indistinguibles entre sí, la primera, una lesión neoplásica que no parece diferenciarse más a pesar de presentar un crecimiento aparentemente ilimitado, mientras que la segunda corresponde a una lesión hamartomatosa no neoplásica que parece ser capaz de convertirse en un FOA y luego diferenciarse en un OD (Gardner, 1984; Kramer y cols., 1992; Philipsen y Reichart, 1992; Philipsen y cols., 1997; Barnes y cols., 2005; Chen y cols., 2005). Tanto el FA como el FDA y el FOA son TOM que se caracterizan por presentar los mismos componentes epitelial y ectomesenquimatoso; la diferencia radica en que el FDA solo produce dentina displásica o tubular, mientras que el FOA presenta además depósitos de matriz de esmalte o esmalte maduro y en el FA no existen depósitos de tejido dental mineralizado (Philipsen y cols., 1997). Aunque alrededor del 75% de los FDA se diagnostican antes de los 20 años de edad, el resto se puede presentar con posterioridad e incluso después de la quinta década, lo que sustenta en estos casos un posible origen neoplásico (Philipsen y cols., 1997; Reichart y cols., 2012). El FDA se presenta con una relación hombre-mujer de 1:3 (Reichart y cols., 2012) y clínicamente tiene predilección por el área posterior de la mandíbula, principalmente en región de premolares y molares, en donde se registra hasta el 71.4% de los casos (Philipsen y cols., 1997). El crecimiento del FDA provoca expansión ósea de la región involucrada, y ocasionalmente se encuentra en asociación con un diente no erupcionado, generando así alteraciones en la erupción dental. El FDA es de lenta

evolución y generalmente asintomático (Miyachi y cols., 1996). Radiográficamente la mayoría de los FDA son tumores que muestran osteólisis con un patrón mixto, uni o multilocular con bordes definidos; su tratamiento consiste en curetaje o enucleación (Barnes y cols., 2005). No obstante que existen reportes de recurrencia, esto no justifica un tratamiento inicial agresivo, incluso a pesar de que está documentado que muy ocasionalmente esta lesión puede progresar a fibrodentinosa sarcoma ameloblástico (FDSA) (Philipsen y cols., 1997; Bologna-Molina y cols., 2013).

1.3.3 Fibro-odontoma ameloblástico

La frecuencia del FOA se estima entre 0.3% y 1.7% de todos los TO (Mosqueda-Taylor y cols., 1997; Lu y cols., 1998; Ochsenius y cols., 2002; Montilla y cols., 2004; Buchner y cols., 2013; Gantala y cols., 2015). Histopatológicamente tiene características similares a las descritas para el FA, pero contiene dentina y esmalte en grados variables de maduración; esta entidad ha sido definida en la tercera edición de la clasificación de la OMS como un tumor compuesto por epitelio odontogénico proliferante en tejido ectomesenquimatoso celular con diversos grados de inducción para la formación de tejido dental mineralizado (Barnes y cols., 2005; Reichart y cols., 2008); usualmente afecta a pacientes jóvenes que se encuentran entre los 5 y 17 años de edad. Algunos autores mencionan que es ligeramente más común en los hombres (Reichart y cols., 2004). Clínicamente el FOA es de lento crecimiento, y al igual que el FA y el FDA, involucra con mayor frecuencia a la región posterior de la mandíbula, generando aumento de volumen asintomático que causa retraso en la erupción dental, así como desplazamiento del diente involucrado, causando expansión ósea que puede llegar a provocar asimetría facial (Baker y cols., 1993; Miyachi y cols., 1996; Favia y cols., 1997). En relación con el patrón

radiográfico, el FOA aparece como un área radiolúcida bien circunscrita de apariencia unilocular, asociada a la corona de un diente retenido, con cantidades variables de material radiopaco de tamaños y formas irregulares, (Reichart y cols., 2008; Kirjavainen y cols., 2018); eventualmente la radiopacidad puede predominar, ya sea en forma de dentículos o masas amorfas, lo que recuerda o lo hace indistinguible de las características de un OD en desarrollo; el tratamiento en estos casos consiste en curetaje o enucleación con remoción del diente involucrado. Respecto a las posibilidades de recurrencia de esta lesión, todos los autores mencionan que es poco común y la transformación maligna es muy rara, y ambas han sido reportadas principalmente en pacientes de mayor edad (Martínez y cols., 2015). Un reducido grupo de autores consideran que la naturaleza del FOA es de tipo neoplásica (Reinhard y cols., 2001; Chang y cols., 2002; Meneses y cols., 2006) y la clasifican como una entidad separada del OD inmaduro; sin embargo, las características histológicas en algunas ocasiones son indistinguibles entre ambas lesiones (Fiedrich y cols., 2001) y casi la totalidad de los FOAs se presentan en las primeras dos décadas de la vida (Reichart y Philipsen, 2004), lo que sugiere que se trata en la mayoría de casos de un odontoma en desarrollo. Una de las conclusiones a la que se ha llegado a través de los distintos estudios, es que los hallazgos clínicos son fundamentales para un diagnóstico correcto; sin embargo, como se ha mencionado antes, la OMS lo considera en la actualidad como una etapa en la evolución del OD y no como una lesión independiente (Muller y Vered, 2017).

1.3.4 Odontoameloblastoma

El OA es un tumor extremadamente raro, definido en la segunda clasificación de tumores odontogénicos de la OMS en 1992 como una neoplasia compuesta por ectomesénquima odontogénico en conjunto con epitelio odontogénico que presenta características de

ameloblastoma, la cual presenta cambios inductivos en el mesénquima que conducen a la formación de dentina y esmalte en algunas partes de la lesión (Kramer, Pindborg y Shear, 1992). En la clasificación del 2005 se define simplemente como un tumor que combina las características de un ameloblastoma con las de un OD, ya que está formado por ectomesénquima odontogénico y componente epitelial odontogénico, el cual se asemeja al encontrado en un ameloblastoma, tanto en estructura como en comportamiento (Mosqueda-Taylor, 2005). La incidencia exacta de esta neoplasia es difícil de determinar, ya que la información proviene principalmente de reportes de casos aislados, y por otro lado, casi no existen casos de OA incluidos en series grandes que analizan la frecuencia de TO en diferentes países, lo que confirma su frecuencia extremadamente baja.

Aunque es pequeño el número de casos bien reconocidos (Mosqueda-Taylor y cols., 2002), se sugiere que el OA posee características clínicas y microscópicas que permiten diferenciarlo de los ameloblastomas y OD típicos; en primer lugar, tiende a ocurrir con la misma frecuencia en la mandíbula y el maxilar, contrario al ameloblastoma, que afecta principalmente la mandíbula, mientras que el OD, particularmente el de tipo compuesto, tiende a ocurrir con mayor frecuencia en la región maxilar anterior, en contraste con el OA que es más común en zona posterior. En segundo lugar, tiende a producir expansión ósea en casi todos los casos, de forma similar al ameloblastoma convencional, mientras que los OD rara vez producen aumento de volumen de la región afectada; al respecto, se ha descrito que hasta un 91.7% de los casos de OA cursan con expansión clínicamente aparente (Kaugars y cols., 1991). En tercer lugar, casi dos tercios de los OA se diagnostican durante las dos primeras décadas de vida, de manera similar a lo observado en los OD, característica que difiere de la distribución por edad encontrada en el ameloblastoma sólido convencional.

Adicionalmente, algunos casos de OA presentan dolor intermitente o sordo en la región afectada (Mosqueda-Taylor y cols., 2002).

1.3.5 Odontomas

En 1867, Paul Broca acuñó el término “odontoma” para referirse a cualquier tumor de origen odontogénico (Broca, 1869), pero posteriormente esta denominación se ha reservado para un grupo de lesiones hamartomatosas bien definidas. El OD está considerado como el TO más común; está constituido por componentes epiteliales y mesenquimatosos en distintos grados de maduración, producidos por células odontogénicas que no lograron obtener un estado normal de morfodiferenciación, y por lo tanto, el esmalte y la dentina se desarrollan generalmente de manera anormal (Reichart y cols., 2008).

El OD compuesto consiste en múltiples dientes rudimentarios con zonas de cemento, dentina, pulpa y esmalte; en etapas tempranas recuerdan al desarrollo del GD en conjunto con áreas de poco material mineralizado, mientras que los OD complejos consisten principalmente de mantos irregulares de dentina tubular con áreas de matriz de esmalte, epitelio reducido del órgano del esmalte y ocasionalmente se observan células fantasma, con presencia de una cápsula de tejido fibroconectivo maduro, en la que se pueden identificar islas y cordones epiteliales ameloblásticos (Vered y cols., 2017). Los OD generalmente son asintomáticos, de lento crecimiento, se desarrollan durante la primera y segunda décadas de la vida y clínicamente pueden llegar a producir expansión ósea solo en forma ocasional; frecuentemente son detectados en exámenes radiográficos de rutina, produciendo en etapa madura una zona radiopaca bien demarcada, rodeada de un delgado halo radiolúcido y área corticalizada; por otro lado, si se encuentran en desarrollo, se pueden observar como zonas radiolúcidas con áreas focales de calcificación, y estas

características pueden estar asociadas con cambios patológicos como erupción retrasada, retención y malposición dental, por lo que en algunas ocasiones se asocia con la ausencia de uno o más dientes contiguos, y a veces pueden secundariamente producir inflamación asociada a trauma dental (Vered y cols., 2017). Estas lesiones en su mayoría son intraóseas, pero algunas pueden quedar atrapadas en la encía o incluso erupcionar en la cavidad oral (Gupta y cols., 2017). Con respecto a su tratamiento y pronóstico, en ambos tipos la escisión completa es suficiente y solo se han reportado ocasionales casos de persistencia cuando hay remoción incompleta (Riddett, 2004; Praetorius y Piattelli, 2005).

1.4 Perfil inmunohistoquímico de los tejidos odontogénicos normales

En los últimos años se ha incrementado el número de investigaciones que emplean técnicas de inmunohistoquímica en tejidos odontogénicos, las cuales han contribuido a la mejor comprensión del inmunofenotipo del GD en desarrollo, demostrando también su utilidad para estudiar la posible histogénesis y conducta biológica de un buen número de lesiones de origen odontogénico epitelial, mesenquimatoso y mixto (Hunter y cols., 2014).

El estudio del desarrollo de los tejidos odontogénicos ha revelado que éste es un proceso complejo y altamente coordinado en una serie de etapas secuenciales e interacciones entre el epitelio oral y el mesénquima derivado de la cresta neural (ectomesénquima) (Thesleff y cols., 1995; Thesleff y Sharpe, 1997; Hunter y cols., 2014), mediadas por la expresión de genes relacionados con diversos factores de transcripción y crecimiento con objeto de guiar la histo y morfodiferenciación del órgano dentario (Jernvall y cols., 2000).

El primer paso durante el proceso de odontogénesis es la proliferación celular, que generalmente se analiza y cuantifica mediante la evaluación del antígeno nuclear Ki-67 (Kero y cols., 2014). Los marcadores de proliferación son proteínas específicas cuya

expresión en el crecimiento y división de las células sirve como un indicador para determinar estos procesos. El antígeno Ki-67 se expresa en mayor cantidad durante las fases G1 tardía, S, G2 y M del ciclo celular, mientras que las células en reposo (fase G0) no lo expresan, y este es degradado rápidamente después de la mitosis. Debido a su ausencia en las células inactivas, esta proteína se desarrolló como un marcador de proliferación para diversos procesos fisiológicos y patológicos (Migaldi y cols., 2008; Bologna-Molina y cols., 2013). Investigaciones en las diferentes etapas del desarrollo de los gérmenes dentarios han demostrado la importancia de la proliferación celular y su relación con la morfogénesis y el desarrollo dental normal. Algunos estudios han asociado la disminución selectiva de Ki-67 en el epitelio interno del órgano del esmalte con el inicio de la diferenciación celular (Guven y cols., 2007; Kalibovic y cols., 2010; Kero y cols., 2014). Un componente fundamental a estudiar durante la odontogénesis es el citoesqueleto celular, conformado por tres unidades estructurales principales y proteínas asociadas: microfilamentos, microtúbulos y filamentos intermedios. Los filamentos intermedios se dividen en seis tipos en función de sus características moleculares; en el epitelio, las citoqueratinas (CKs) constituyen filamentos intermedios de tipos I y II (Chu y cols., 2002; Chung y cols., 2013), las cuales comprenden una familia de al menos 20 polipéptidos diferentes, expresados en múltiples epitelios (Moll y cols., 1982), cuyas funciones tienen relación con el mantenimiento de la morfología y adhesión celular (Doherty y McMahon, 2008), pero estas proteínas participan también en la transducción de señales (Eriksson y cols., 2009) y en la modulación de diversas proteínas (Liao y cols., 1997). Entre las CKs más relevantes en el estudio del desarrollo del órgano dentario destaca la CK14 (Nel y cols., 2011), filamento intermedio tipo I del epitelio interno del órgano del esmalte que constituye un marcador inmunohistoquímico frecuentemente utilizado en la detección de

pre-ameloblastos en la capa basal (Crivelini y cols., 2003); así, algunos estudios han demostrado una fuerte positividad de CK14 hasta la etapa de campana temprana, observándose una expresión más débil en ameloblastos completamente diferenciados presentes en etapas posteriores de desarrollo (Domingues y cols., 2000); por su parte, la CK19 se ha descrito en el epitelio del retículo estrellado del órgano del esmalte y en el estrato intermedio, así como en ameloblastos secretores y en etapas avanzadas de la odontogénesis (Nel y cols., 2014), mientras que la CK8 ha sido observada en todas las células de la lámina dental y el órgano del esmalte, con tinción positiva e intensa en los ameloblastos totalmente diferenciados (Domingues y cols., 2000; Crivelini y cols., 2003; Apellaniz y cols., 2015). Debido a los cambios observados en la expresión de CK14 y CK19 durante la transición del epitelio interno del esmalte a ameloblastos, algunos autores han sugerido que esta última puede ser considerada como un marcador de diferenciación ameloblástica y en cierta medida un buen marcador odontogénico (Domingues y cols., 2000; Crivelini y cols., 2003).

Otro marcador evaluado es Syndecan-1, el cual pertenece a una familia de proteoglicanos de superficie celular que funcionan como receptores de matriz extracelular (MEC). Algunas investigaciones han demostrado que la expresión de Syndecan-1 está asociada con la conservación de la morfología epitelial, el crecimiento dependiente de anclaje intercelular y la inhibición de la invasividad (Liotta y cols., 1986), lo que ha llevado al estudio de la pérdida de Syndecan-1 en el desarrollo y evolución de procesos neoplásicos, en los que la proliferación celular desregulada se asocia a modificaciones de las interacciones intercelulares y de célula-matriz así como con un mayor potencial de invasión tumoral al disminuir la expresión de este marcador (Puztai y cols., 1993). Estudios relacionados con la odontogénesis mencionan que Syndecan-1 parece desempeñar varias funciones, incluida su

interacción con diversos factores de crecimiento (Mali y cols., 1993), modulación de las interacciones epitelio-mesénquima (Vainio y cols., 1989) así como con la proliferación y la diferenciación celular (Hall y Miyake, 1995). Actualmente se sabe que Syndecan-1 es expresado en el epitelio odontogénico y mesénquima subyacente, y es inducido en gran medida durante la fase de brote (Vainio y cols., 1989; Thesleff y cols., 1989). Durante la etapa de campana temprana, Syndecan-1 disminuye su expresión en el mesénquima, mientras que en el componente epitelial se intensifica (Vainio y cols., 1989) y durante la etapa de campana tardía la expresión se pierde por completo en el mesénquima, lo que coincide con la época cuando las células mesenquimatosas se diferencian en odontoblastos secretores y las células epiteliales en ameloblastos (Slavkin, 1974; Thesleff y cols., 1989), por lo que se concluye que Syndecan-1 es expresado transitoriamente en relación directa con la proliferación celular, que también es mayormente estimulada durante la odontogénesis. Estudios recientes como el realizado por Bologna-Molina y cols. (2018), analizaron la expresión subepitelial de Syndecan-1 y Ki-67 en cinco gérmenes dentarios y cinco casos de tumor odontogénico primordial, observando que en estos últimos la expresión de Syndecan-1 tuvo un marcaje intenso en áreas de condensación mesenquimatosas, principalmente en regiones subepiteliales, de manera muy similar a lo ocurrido los gérmenes dentarios (papila dental), en los que existe mayor actividad proliferativa en la población mesenquimatosas subepitelial en comparación con la porción central de la papila dental, sugiriendo que la intensa expresión del componente mesenquimatoso tiene relación con la actividad de los pre-odontoblastos y puede jugar un rol en la diferenciación celular e implica que el tumor tiene un crecimiento activo en el área subepitelial de manera similar a lo observado en la fase temprana de la etapa de campana, lo que probablemente esté relacionado con la habilidad inductiva y de diferenciación de los

odontoblastos, así como con su capacidad de modificar el componente epitelial suprayacente (Bologna-Molina y cols., 2018).

Se ha estudiado la expresión que presentan otros marcadores moleculares durante la odontogénesis, y de manera particular se han analizado las proteínas del esmalte y los factores de transcripción que controlan el orden y la morfología dental (Hammamoto y cols., 1996; Juuri y cols., 2013); sin embargo, no se ha confirmado su utilidad para el diagnóstico de los tumores odontogénicos (Hunter y cols., 2014). Las proteínas del esmalte se dividen en dos clases: amelogeninas, que son solubles en sales neutras, y las enamelinas que están unidas a cristales de apatita (Herold y cols., 1987). Las amelogeninas son proteínas de la matriz del esmalte que constituyen el principal componente de la MEC del esmalte en desarrollo, y son secretadas por los ameloblastos (Fincham y cols., 1999; Moradian-Oldak y cols., 2001).

Durante la odontogénesis se ha visto que en el esmalte joven o inmaduro, los anticuerpos de Amelogenina (AMELX) tiñen el 90-95% de las proteínas del esmalte y los de las Enamelinas el 5-10% restante. Ambas proteínas se biosintetizan en ameloblastos jóvenes y se secretan en la MEC (Graver y cols., 1978; Zeichner-David y cols., 1983, Nanci y cols., 1985; Rosenbloom y cols., 1986; Herold y cols., 1987). Desde 1983, autores como Christner y cols. (1985), Inage y cols. (1989), y Uchida y cols. (1989), entre otros, han considerado a la AMELX como una proteína específica del esmalte, que se propuso y utilizó como un marcador de la etapa específica de la diferenciación de ameloblastos. En trabajos experimentales en los que se aplicaron técnicas de inmunohistoquímica durante la odontogénesis, se demostró que la AMELX es secretada en etapas tardías de la diferenciación de los pre-ameloblastos y en etapas iniciales de diferenciación de los ameloblastos secretores (Uchida y cols., 1989). Estudios recientes que han utilizado

técnicas de inmunohistoquímica también revelan positividad para AMELX y otras proteínas del esmalte en TO (Takata y cols., 2000). Con respecto a estos hallazgos, Yoshida y cols. (2012) concluyen que la inmunoexpresión de AMELX en el componente epitelial de procesos patológicos constituye la identificación de células odontogénicas epiteliales con diferenciación ameloblástica que producen material tipo matriz de esmalte acumulado en su citoplasma durante el desarrollo de dicho proceso.

1.5 Inmunomarcadores utilizados en los Tumores Odontogénicos Mixtos

1.5.1 Citoqueratinas

Existen pocos estudios que han comparado la expresión de las diversas CKs en el componente epitelial de TO y gérmenes dentarios (GD), entre los cuales el de Crivelini y cols. (2003) es uno de los más completos debido a que analizaron un panel amplio de CKs (CKs 7, 8, 10, 13, 14, 18, 19) y vimentina en 3 GD, 5 folículos dentarios y 26 TO (10 casos de ameloblastoma, 4 casos de TOA y 4 casos de TOEC, así como 8 casos de TOM [5 FA y 3 OD compuestos]). En los GD se analizaron las estructuras epiteliales (lámina dental, epitelio externo del órgano del esmalte, retículo estrellado, estrato intermedio, epitelio interno del órgano del esmalte y vaina epitelial de Hertwig). Se obtuvieron resultados positivos con CKs 7, 13, 14 y 19, pero no con CKs 8, 18 y vimentina. La lámina dental y el órgano del esmalte expresaron CK14, excepto en zonas correspondientes a las áreas de diferenciación ameloblástica avanzada. La expresión de CK19 se identificó en las secciones de preameloblastos y los ameloblastos secretores, así como en parte del epitelio externo y lámina dental. En relación con los hallazgos en los OD analizados, las estructuras epiteliales fueron similares a las presentes en el órgano del esmalte en una etapa de maduración más avanzada, conformadas por cordones de células cúbicas en las que CK14

estuvo presente, excepto en los preameloblastos y ameloblastos secretores, en los que CK14 fue reemplazada gradualmente por CK19, similar a lo observado en los GD, por lo tanto, se concluye que la naturaleza del epitelio de los OD es análoga a la del GD, excepto por la diferenciación defectuosa de los ameloblastos y los preameloblastos, y este hecho podría explicar la ausencia de morfogénesis en OD, ya que se sabe que la diferenciación de odontoblastos y ameloblastos es esencial, pero no determinante, para la morfogénesis en el GD. En los casos de FA se observó positividad a CK14 en todo el componente epitelial, en contraste con los hallazgos para CK8, 18 y 19, que fueron negativas. La expresión de CK13 fue positiva en algunas células situadas en el retículo estrellado, mientras que en otro de los casos fue negativa. Por lo anterior, los autores concluyeron que en los casos de FA el tejido semejante al retículo estrellado es inmunohistoquímicamente diferente al órgano del esmalte en el GD, pero similar a los hallazgos en los ameloblastomas foliculares, por lo que se estima que el componente epitelial de ameloblastomas y FA tiene el mismo origen; sin embargo, las diferencias existentes en su comportamiento biológico pueden asociarse probablemente con el elemento mesenquimatoso, debido a que este actúa sobre las células epiteliales, produciendo una mayor diferenciación en los FA que en los ameloblastomas.

1.5.2 Amelogenina

Estudios relacionados con el análisis del componente mineralizado en TO, evidencian alteraciones en genes relacionados a la producción de proteínas de la matriz del esmalte como la AMELX, Enamelina, Ameloblastina y Tuftelina, así como de enzimas como las metaloproteinasas de matriz (Kumamoto y cols., 2006). Las alteraciones genéticas asociadas a la producción de proteínas del esmalte han sido implicadas principalmente en trastornos como la amelogénesis imperfecta (Kuris y cols., 1997; Hu y cols., 2003); no

obstante, también se menciona en la literatura que han sido detectadas mutaciones del gen de ameloblastina en ameloblastomas, tumor odontogénico adenomatoide y tumor odontogénico escamoso (Toyosawa y cols., 2000; Perdigao y cols., 2004), y estos hallazgos sugieren que las aberraciones de las proteínas relacionadas con el esmalte están implicadas en la oncogénesis del epitelio odontogénico.

En relación con lo anterior, se ha demostrado que diversos TO muestran inmunoexpresión de AMELX (Mori y cols., 1991; Papagerakis y cols., 1999; Yagishita y cols., 2001; Yoshida y cols., 2003). En el estudio realizado por Mori y cols. (1991) se evaluó la expresión de este marcador en un grupo de 48 TO que incluía 2 OD y 5 FA. Los OD presentaron la reacción más intensa en el epitelio reducido del órgano del esmalte y en la matriz de esmalte, mientras en los FA solo se identificaron algunas células epiteliales positivas. En estudios más recientes, como el de Crivelini y cols. (2012), se analizaron varias proteínas relacionadas con la formación del esmalte: Ameloblastina, Amelotina, Proteína Odontogénica Asociada a Ameloblastos (ODAM) y AMELX en 7 folículos dentales y 21 TO, incluyendo 3 casos de TOM (2 OD y 1 FA). AMELX se expresó intensamente en la porción distal de las células epiteliales del FA, levemente en las células del retículo estrellado, y fue negativa su expresión para el resto de los marcadores, por lo que los autores concluyen que el FA deriva de una línea de ameloblastos pre-secretores que no muestran actividad de mineralización. Por otro lado, en los OD todas las proteínas estaban presentes en los ameloblastos y en la matriz del esmalte secretada, formando depósitos lineales en la interfaz epitelial, similar a lo descrito en el GD. Estos resultados son comprensibles debido a que los OD se consideran como hamartomas con una formación exagerada de tejidos odontogénicos y, por lo tanto, tienen ameloblastos en diversas etapas

de diferenciación, los que expresarían las proteínas simultáneamente, intentando sin éxito realizar su función biológica (Crivelini y cols., 2012).

1.5.3 Syndecan-1

La expresión alterada de Syndecan-1 en tumores odontogénicos sugiere que la expresión o ausencia de expresión de este proteoglicano de superficie celular podría tener un valor pronóstico en la determinación del comportamiento clínico en estas entidades (Bologna-Molina, 2009; Da Silva y cols., 2014; Etemad-Moghamad y cols., 2017); de igual forma, esta expresión está regulada negativamente en muchos modelos celulares transformados (Al-Otaibi y cols., 2012). La pérdida de la expresión de Syndecan-1 disminuye la adherencia intercelular, así como la unión a la matriz extracelular. Se ha demostrado que la pérdida de la expresión de este marcador en ameloblastomas y carcinomas ameloblásticos se correlaciona con comportamientos biológicos más agresivos (invasión y metástasis) (Bologna-Molina y cols., 2009). Al respecto, un estudio realizado por Bologna-Molina y cols. (2013) analizó las características del FDA utilizando un panel inmunohistoquímico en donde incluyeron marcadores como AMELX, CK19, Calretinina, E-cadherina, Syndecan-1, Histona H3, Ki-67 y MSH-2, y se identificó una fuerte inmunopositividad de Syndecan-1 en el componente constituido por los cordones e islas del epitelio y en las áreas centrales que se asemejan al retículo estrellado del órgano del esmalte, lo que sugiere una adecuada cohesión y conservación de la arquitectura epitelial. En la evaluación del estroma, el tejido conectivo primitivo que asemejaba a la papila dental exhibía niveles moderados de expresión de este marcador, por lo que concluyen que el rol de Syndecan-1, además de actuar como molécula de adhesión celular, también participa con la matriz extracelular

promoviendo y regulando la proliferación celular y el crecimiento al interactuar con factores de crecimiento que están unidos a la heparina (Bologna-Molina y cols., 2013).

1.5.4 Ki-67

Diversos trabajos relacionados con el estudio de oncogenes han demostrado en FA, mixomas odontogénicos y ameloblastoma, una sobreexpresión del gen *RAS* (*H-RAS*, *K-RAS* y *N-RAS*) en el componente epitelial, en comparación con el epitelio de GD en desarrollo, lo que afecta principalmente la actividad *GTPasa* de las proteínas *RAS*; varios TO presentan mutaciones *RAS* y la frecuencia varía ampliamente en cada uno de ellos, por lo que a pesar de que dichas mutaciones son frecuentes en muchos de los tumores, su presencia no es primordial en la tumorigénesis de los TO (Kumar y cols., 2010). Por su parte, los genes *Myc* y *FOS* pertenecen a un grupo de genes implicados en la transcripción de proteínas nucleares, los cuales se activan rápidamente cuando las células en reposo reciben la señal que promueve su división; dentro de las funciones de los oncogenes *Myc*, el *C-Myc* no solo participa en el control del crecimiento celular sino que también puede dirigir la muerte celular través de la apoptosis; la sobreexpresión de la proteína *Myc* ocasiona una transcripción continua de genes diana que puede generar su transformación neoplásica (Vallejo y cols., 2012). En un trabajo realizado por Heikinheimo y cols. mediante la técnica de microarreglos genéticos se analizó la expresión génica de ocho muestras de ameloblastoma (3 foliculares, 4 plexiformes y 1 del tipo acantomatoso) y 20 gérmenes dentarios (fetales), y se encontró en todos los casos de ameloblastoma una sobreexpresión del oncogén *FOS*, seguido por el receptor 1 del factor de necrosis tumoral (*TNFRSF1A*), por lo que los autores sugieren que dichos hallazgos indican que ambos oncogenes juegan un papel en la patogenia de algunos TO a través de una desregulación de la proliferación

celular. En relación con lo anterior, algunos marcadores IHQ pueden detectar estas alteraciones que se expresan durante distintas fases del ciclo celular y permiten identificar la proliferación activa de las células o la posibilidad de su transformación oncogénica, como la expresión del antígeno de proliferación nuclear (PCNA), la expresión de la proteína Ki-67 y del gen supresor tumoral p-53, que se utilizan como indicadores de valor pronóstico en el desarrollo de quistes y tumores odontógenos.

Un reducido número de investigaciones han estudiado las posibles diferencias existentes a nivel molecular entre los TOM hamartomatosos aparentemente inocuos y aquellos con probable comportamiento neoplásico. Los análisis de la expresión de marcadores de proliferación celular como Ki-67 no han sido concluyentes, y en cierta medida esto es resultado de la escasa casuística disponible y la falta de criterios uniformes para el diagnóstico de estas entidades. Al respecto, el grupo de Sano y cols. (1998) analizaron la expresión de Ki-67 en 5 casos de TOM que incluía 2 FA (uno recurrente), 2 FOA y 1 Fibrosarcoma Ameloblástico (FSA), reportando los valores más altos de Ki-67 del componente epitelial en el FA recurrente y el FSA, con índices de 7.5% y 5.1% respectivamente; de igual forma mencionan que los índices más altos encontrados en el componente mesenquimatoso también correspondieron a estas dos lesiones, con 9.8% en el FA recurrente y 13.5% en el FSA, lo que contrasta con los dos casos de FOA (3.3, 4.6% en el componente epitelial y 1.5, 1.9% en el componente mesenquimatoso). Los autores consideran que el haber encontrado una mayor proliferación en el componente mesenquimatoso de FA recurrente y FSA podría deberse a un incremento en la celularidad del tejido fibrocelular en casos de FA recurrente, de manera similar a lo visto en casos de transformación maligna de FA a FSA, por lo que se debe enfatizar la importancia de la elección de tratamiento especialmente en casos de FA con alto índice de proliferación

celular. Estudios similares, como el de Yoshida y cols. (2003) analizaron la expresión de Ki-67 en un grupo de 7 TO, en los que se incluían 4 casos de TOM, conformados por 1 FA, 1 FDA y 2 FOA, en los que reportaron un índice de proliferación celular de 0.56% en el componente epitelial y 4% en el componente mesenquimatoso del FA, mientras que en el caso del FDA la expresión fue negativa en ambos componentes, y en los FOA el componente epitelial presentó un índice entre 1.1 y 1.3%, en tanto que en el componente mesenquimatoso estuvo entre 1.5% y 1.6%. Por otra parte, se ha confirmado que la proliferación celular del componente mesenquimatoso aumenta después de la recidiva (Sawyer y cols., 1982) y en caso de transformación maligna de un FA a FSA (Takeda y cols., 1984). Estudios similares realizados en casos de FOA incluyen el de Martínez y cols. (2015), el cual demostró un índice de proliferación expresado mediante Ki-67 del 8% en el componente mesenquimatoso y 3.3% en el componente epitelial, mientras que en otro estudio realizado por De Sousa y cols. (2016), los autores encontraron una baja actividad proliferativa de las células neoplásicas (menos del 1% de positividad en células epiteliales y mesenquimatosas), lo que los llevó a concluir que estos resultados se deben a que el FOA es una entidad benigna de buen pronóstico y baja recurrencia (De Sousa y cols., 2015).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Los TOM incluyen entidades de histomorfología muy similar, pero con conducta biológica distinta y agresividad variable. Las definiciones de las entidades consideradas en este trabajo como TOM, especialmente las que fueron excluidas de la más reciente Clasificación 2017 de Tumores de Cabeza y Cuello de la OMS han generado confusión, lo que se traduce en controversia diagnóstica y potenciales errores de manejo de los individuos afectados, ya que mientras algunos autores consideran que los denominados FDA, FOA y OA son entidades específicas y de conducta distinta (Slootweg, 1981; Hansen y cols., 1988; Sano y cols., 1998; Chen y cols., Yoshida y cols., 2003), la OMS actualmente considera a las dos primeras como OD en desarrollo, y a la última como una forma de ameloblastoma que surge rara vez en asociación o a partir de un OD (Wright y cols., 2017), y por lo tanto inexistentes como entidades independientes. A pesar de que los TOM presentan diferencias en cuanto a expresión clínica, agresividad y pronóstico, aún no están completamente puntualizadas las características clínicas, histomorfológicas y moleculares que permitan diferenciar claramente entre algunas de ellas, lo cual hace indispensable su estudio para definir su diagnóstico y manejo terapéutico de forma precisa.

Por todo lo anterior, los resultados del presente estudio podrán aportar información, mediante el estudio inmunohistoquímico de factores de proliferación, expresión de marcadores de estructuras epiteliales y de diferenciación ameloblástica, acerca de posibles diferencias entre los TOM, con la finalidad de comprender mejor su posible patogénesis y evaluar si dichas diferencias pudiesen tomarse en consideración como criterios complementarios de diagnóstico para estos tumores.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Comparar los hallazgos clínico-demográficos, histopatológicos y la expresión inmunohistoquímica de diversos marcadores epiteliales, proteínas del esmalte, receptores de matriz extracelular y proliferación celular en los componentes mesenquimatoso y epitelial en un grupo de TOM (fibroma ameloblástico, fibrodentinoma ameloblástico, fibroodontoma ameloblástico, odontoameloblastoma y odontomas compuestos y complejos).

3.2 Objetivos específicos

- Establecer la frecuencia y características clínico-demográficas e histopatológicas de los TOM.
- Comparar la histomorfología y expresión de diversos marcadores inmunohistoquímicos en la zona de interfaz epitelio-mesénquima correspondientes a las zonas de potencial producción de material dentinoide entre los TOM.
- Identificar la distribución e intensidad de inmunoexpresión de CK 14 y 19 en un grupo de TOM como base para determinar el grado de maduración de las células ameloblásticas.
- Determinar y comparar la distribución e intensidad de inmunoexpresión de AMELX en los TOM y contrastarla con los hallazgos identificados en el GD.
- Cuantificar y comprar la extensión y la intensidad de inmunoexpresión de Syndecan-1 en un grupo de TOM y contrastar dichos hallazgos con los del GD.
- Cuantificar y comparar el porcentaje de proliferación celular a través de la inmunoexpresión de Ki-67 en los TOM.

4. MATERIAL Y MÉTODO

4.1 Diseño del estudio

Estudio multicéntrico, retrolectivo, observacional y comparativo que caracteriza a un grupo de tumores odontogénicos mixtos (FA, FDA, FOA, OA, OD) seleccionados de los archivos del Laboratorio de Patología Bucal de la UAM-X, de dos Servicios de Diagnóstico en Patología Bucal Privado (CDMX y Puebla) y de la Facultad de Odontología de la Universidad Federal de Rio de Janeiro (UFRJ), de donde fueron obtenidos bloques de parafina correspondientes a lesiones con los diagnósticos previamente descritos, durante el periodo comprendido entre 1991 y 2017.

Criterios de inclusión

Se incluyeron muestras histológicas en las que el diagnóstico histopatológico de los TOM mencionados (FA, FDA, FOA, OA, OD) correspondió con la definición propuesta por la OMS dentro de su Clasificación de Tumores de Cabeza y Cuello de 2005, los cuales contaban con suficiente tejido para la obtención de los cortes necesarios para la realización de la presente investigación.

Criterios de eliminación

Casos en los cuales la reacción de inmunohistoquímica no fue evaluable, ya fuese por pérdida de material o por problemas técnicos.

4.2 Procedimientos de laboratorio

4.2.1 Evaluación de los casos

El diagnóstico inicial de las lesiones se reevaluó y confirmó en todos los casos por dos examinadores de la UAM-X de forma independiente, obteniendo una $\kappa > 0.8$.

Tras realizar la confirmación del diagnóstico inicial de las lesiones, de acuerdo a los criterios propuestos por la OMS en la tercera edición de la Clasificación de Tumores de Cabeza y Cuello (Barnes y cols., 2005), se realizaron cortes histológicos que fueron montados en láminas procesadas en secciones de 5 μm y teñidas con hematoxilina y eosina (H&E). Es importante mencionar que se utilizaron las definiciones propuestas por la OMS en su tercera edición, ya que en la edición más actual (2017) se eliminaron los términos FDA, FOA y OA, y por ahora no se reconocen como entidades independientes.

4.2.2 Técnica inmunohistoquímica

Las reacciones inmunohistoquímicas con los anticuerpos CK14, CK19, Syndecan-1 y Ki-67 se realizaron en el Laboratorio de Patología Oral de la Facultad de Odontología de Piracicaba, en la Universidad Estatal de Campinas. A partir de tejidos previamente fijados en formol y procesados en bloques de parafina se obtuvieron secciones de 3 μm de grosor, los cuales fueron desparafinados con Xiloles (I, II) a temperatura ambiente durante 10 minutos y posteriormente hidratados en una serie de etanol con concentraciones descendentes: absoluto, al 90%, 70% y 50%, durante 2 minutos en cada uno, y lavándolos en agua corriente por 5 minutos y finalmente en agua destilada. La recuperación del antígeno se realizó colocando las laminillas en cubetas con solución de recuperación antigénica (ácido cítrico pH 6.0, o EDTA/TRIS pH 9.0) dentro de una olla de presión, dejándose enfriar a temperatura ambiente y posteriormente realizando un lavado con agua corriente durante 5 minutos. La actividad enzimática de la peroxidasa endógena se bloqueó usando peróxido de hidrógeno al 10% en 5 baños, cada uno de 5 minutos. Posteriormente, las preparaciones se lavaron en solución salina tamponada de fosfato PBS (pH 7,4), y fueron incubadas durante la noche con el anticuerpo. Todos los portaobjetos se incubaron

con un anticuerpo secundario biotinilado, y posteriormente con estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano (Kit LSAB; Dako Cytomation, Carpinteria, CA, EE. UU.) por 40 minutos a 36°C cada uno, y posteriormente con tetrahidrocloruro de diaminobencidina (DAB; Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EE. UU) para su revelado. Finalmente, las secciones de tejido fueron teñidas con hematoxilina de Carazzi por 5 minutos y lavadas con agua corriente y agua destilada. Adicionalmente se realizó la técnica inmunohistoquímica para evaluar la reacción de AMELX en el Laboratorio del Posgrado de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Chihuahua, de acuerdo al protocolo propuesto por los fabricantes de los reactivos y modificado por Martínez-Mata y cols (Martínez-Mata y cols., 2007). A partir de tejidos procesados previamente en parafina se obtuvieron cortes de 3 μm que fueron montados en laminillas electrocargadas. Los cortes fueron desparafinizados en xilol a temperatura ambiente por 10 minutos (dos cambios), seguido por hidratación en concentraciones decrecientes (etanol absoluto, etanol al 90%, etanol al 70%, y etanol al 50%). La recuperación antigénica se realizó mediante el dispositivo Decloaking Chamber™-Biocare Medical, usando como recuperador antigénico la solución Diva Decloacker 10X (Biocare Medical-San Francisco, CA) (pH 6.0) durante 3 minutos a 100°C; enseguida, se dejaron enfriar a temperatura ambiente, seguido por lavado en agua tridestilada (tres cambios). El bloqueo de la peroxidasa endógena se llevó a cabo con agua oxigenada (10 volúmenes) en 5 cambios de 5 minutos cada uno, seguido por lavados en agua tridestilada y solución salina tamponada con fosfato pH 7.4 PBS. Posteriormente se incubaron los tejidos con el anticuerpo primario diluidos en PBS en cámara húmeda por 12 hrs a 4°C; después se realizaron tres lavados en solución de PBS e incubación con el anticuerpo secundario (MACH-1 Universal HRP-Polymer, Biocare Medical) durante 60

min a 37°C, seguido por tres lavados en PBS. Las reacciones fueron reveladas con el substrato cromogénico 3'3 diaminobencidina-DAB (Biocare Medical).

Las láminas fueron contrateñidas con hematoxilina de Harris por 2 minutos y lavadas en agua corriente y tridestilada. Todos los cortes fueron deshidratados en 3 baños de alcohol absoluto, seguido por la diafanización en xilol y finalmente montados con cubreobjetos y resina Entellan®.

En el cuadro 6 se observan las especificaciones de los anticuerpos empleados

Cuadro 6. Panel inmunohistoquímico de anticuerpos utilizados					
Anticuerpo	Tipo de anticuerpo	Expresión	Tejido control	Fabricante/clona	Dilución
Citoqueratina 14	Monoclonal	Citoplasma	Piel	Dako: Clone 34βE12	1:200
Citoqueratina 19	Monoclonal	Citoplasma	Piel	Dako: Clone RCK108	1:200
Amelogenina (AMELX)	Monoclonal	Citoplasma	Glándula mamaria	Biocare Medical: Clone 3B5	1:40
Syndecan-1	Monoclonal	Membrana	Amígdala	Dako: Clone MI15	1:100
Ki-67	Monoclonal	Nuclear	Linfoma	Dako: Clone MIB-1	1:100

4.2.3 Análisis inmunohistoquímico

4.2.3.1 Citoqueratinas 14 y 19

En el caso de las CKs, se calculó la extensión de la positividad de la reacción del marcador tanto en la zona central tipo retículo estrellado como en el epitelio periférico cuboidal o columnar de las islas de epitelio odontogénico de los 5 campos seleccionados.

La expresión de estas proteínas se evaluó en el citoplasma de las células epiteliales, clasificándola de acuerdo al porcentaje de células positivas y con base en el protocolo descrito por Bologna-Molina y cols. (2018) de la siguiente forma: “0” cuando había <5%

de células (negativo); “1” cuando el marcaje abarcaba de 5-50% de células (baja intensidad), y “2” cuando había >50% de células positivas (alta intensidad).

4.2.3.2 Amelogenina

Se analizó la expresión de AMELX y se consideró la positividad de reacción del marcador en las islas de epitelio odontogénico (epitelio odontogénico central tipo retículo estrellado y en el epitelio odontogénico periférico cuboidal o columnar) de acuerdo la metodología mencionada para las citoqueratinas. La expresión de esta proteína se evaluó en el citoplasma de las células epiteliales.

4.2.3.3 Syndecan-1

La evaluación se realizó de acuerdo al protocolo propuesto por Bologna-Molina y cols. (2018), en el cual se analiza el porcentaje de células positivas al marcador empleando el software ImageJ. El proceso consistió en los siguientes pasos:

1. Se colocó cada laminilla en un microscopio óptico bajo el objetivo de 40x y se realizó la toma de fotografías digitales de cinco campos representativos.
2. Se abrió el archivo fotográfico en el programa Power Point y a continuación se colocó sobre la imagen una gradilla realizada con una tabla de 6x6.
3. La imagen cuadriculada en programa ImageJ, permitió realizar el conteo manual de las células positivas y negativas al marcador. Este conteo se realizó siguiendo un orden preestablecido, iniciando con el cuadro superior izquierdo y terminando en el cuadro superior derecho (Figura 1).

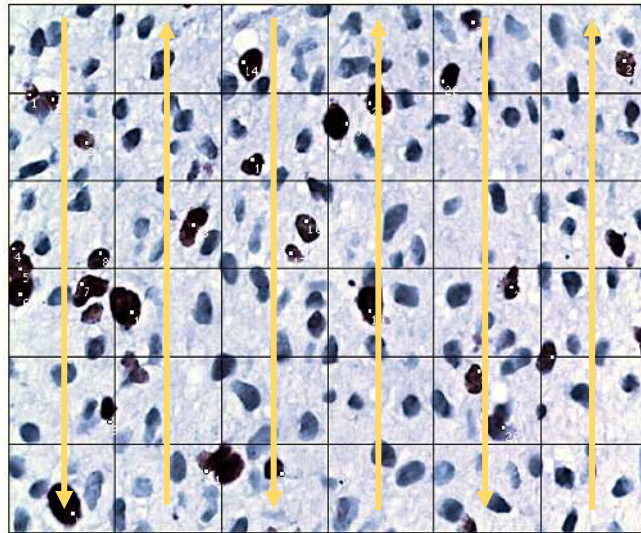


Figura 1. Conteo manual (programa Image J).

4. Posteriormente se realizó el vaciado de los datos obtenidos con el programa ImageJ a la gradilla creada en Power Point y se realizó el cálculo de la proporción de células positivas de la siguiente manera: porcentaje de células positivas igual a células positivas entre el total de células x 100.

De los cinco campos se reportaron los resultados obtenidos en las tres localizaciones (estroma, epitelio odontogénico central tipo retículo estrellado y epitelio odontogénico periférico) con las mismas categorías que para las CKs. La expresión de Syndecan-1 se evaluó en la membrana de las células.

4.2.3.4 Ki-67

El conteo se realizó de acuerdo al protocolo descrito por Bologna-Molina y cols. (2018). Se evaluó la proporción de células positivas al inmunomarcador en cinco campos de alto poder (40x) por lesión, evaluando por separado el estroma y epitelio odontogénico, calculándolo con el método previamente detallado en el apartado del marcador Syndecan-1.

4.3 Variables

El cuadro 7 resume los tipos de variables, escala de medición y operacionalización empleadas en la presente investigación.

Cuadro 7. Operacionalización de variables			
Variable	Tipo de variable	Escala de medición	Operacionalización
Dependientes			
Expresión:CK 14 y 19, AMELX, Syndecan-1	Cualitativa	Nominal	Negativo, baja intensidad, alta intensidad. *
Expresión: Ki-67	Cuantitativa	Continua	Porcentaje de células
Independientes			
Sexo	Cualitativa	Nominal	Hombre, mujer
Edad	Cuantitativa	Discreta	Edad en años
Localización	Cualitativa	Nominal	Maxilar, mandíbula

* Será clasificado: “0” <5% de células (negativo); “1” 5-50% de células (baja intensidad); “2” >50% de células (alta intensidad).

4.4 Análisis estadístico

Se elaboró una base de datos con la información de la ficha de recolección diseñada para el estudio, la cual incluyó características demográficas, clínicas, histopatológicas e inmunohistoquímicas (Anexo 1). El análisis estadístico se efectuó con el paquete estadístico *JMP V12 (Campus Drive Cary, NC, USA)*. Se efectuó el cálculo de medidas de tendencia central (medias y medianas) y dispersión de los valores (desviación estándar [DE±] y cuartiles [Q¹-Q³]). Para las variables continuas se realizó la prueba de T de Student y, en caso de no tener distribución normal, la prueba Kruskal-Wallis. Para comparar el tipo de lesión, la intensidad y porcentajes de inmunoexpresión se utilizó análisis de varianza (ANOVA). El nivel de significancia estadística se estableció con un valor de $p \leq 0.05$.

4.5 Consideraciones bioéticas

Actualmente las investigaciones que involucran materiales biológicos humanos (tejidos, órganos, ADN, ARN, etc.) provenientes de individuos que se someten a procedimientos diagnósticos o terapéuticos, suelen recopilarse expresamente con el propósito de investigaciones futuras, a pesar de que los proyectos específicos no se conozcan en ese momento; la responsabilidad del profesional y del equipo de trabajo incluye prever los posibles desenlaces que sus actos generan o generarán en el individuo, así como comprender las expectativas del paciente y de la institución donde éstas se desarrollan.

Es fundamental la confidencialidad y es necesario establecer mecanismos que aseguren ésta en el acceso a las muestras y diagnósticos, para proteger la intimidad del paciente y evitarle un posible perjuicio. El hecho de que los servicios de patología sean custodios transitorios de muestras y bloques almacenados, obliga a controlar el acceso a ellos, resguardándolos para su empleo en futuras investigaciones, con apego a principios éticos generales, de conducta profesional y médica.

El presente estudio se encuentra definido dentro del apartado 4.1.7 de la NOM-037-SSA3-2016 publicado en el Diario Oficial de la Federación el 21 de Febrero del 2017, en el cual se menciona que el estudio que utiliza técnicas de inmunohistoquímica es un procedimiento histológico que permite demostrar antígenos en células y tejidos utilizando anticuerpos específicos con fines de diagnóstico, pronóstico y predicción de respuesta al tratamiento, y actualmente éste tipo de investigación está dentro de los lineamientos del artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, debido a que se considera sin riesgo, ya que emplea técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio.

5. RESULTADOS

Características demográficas, clínicas e histopatológicas

En el presente estudio se incluyeron 32 casos de TOM (10 FA, 2 FDA, 8 FOA, 1 OA y 11 OD); En el cuadro 8 se presenta la distribución por edad y localización de las distintas lesiones incluidas. Se observó una mediana de edad menor (5 años) en el FOA, en comparación con los demás tumores. Con respecto a la localización, 17 casos (54.8%) se presentaron en mandíbula, 14 (45.1%) en maxilar y en uno se desconoce. En el cuadro 9 se describen los aspectos histopatológicos de los TOM. Los 32 casos correspondieron con las características descritas en la clasificación de la OMS de 2005 (Barnes y cols., 2005). En relación con la evaluación histomorfológica del componente mesenquimatoso, 17 casos (53.1%) se observaron paucicelulares, mientras que 12 (37.5%) fueron hipercelulares, y estos correspondieron a 7 casos de FA, los 2 casos de FDA, 2 casos de FOA y el caso de OA, mientras que en los 3 casos restantes (2 OD complejos y 1 compuesto) los campos no fueron evaluables por pérdida de material; es relevante notar que en la zona de interacción epitelio-mesénquima de los casos de FOA y OD se observó una capa periférica cuboidal, mientras que esta celularidad estuvo constituida por células columnares con polaridad inversa en aquellas áreas donde se identificó formación de material mineralizado, las cuales estuvieron presentes en la mayoría de los casos (21/65.6%); esto contrasta con algunas zonas de los casos de FDA, en los cuales no siempre se identificaron células cuboidales adyacentes al material dentinoide (Figura 2).

Evaluación del panel inmunohistoquímico

CK14

De los 32 casos de TOM que conformaron la muestra, la expresión de CK14 fue evaluable en 31 (10 FA, 2 FDA, 8 FOA, 1 OA Y 10 OD), debido a que en un caso de OD complejo el material se perdió en el procesamiento. Todos los casos (31/100%) mostraron expresión de CK14; esta se observó de forma intensa (>50% de positividad) tanto en el componente epitelial central como en el periférico en 26 de los casos (Figura 3), mientras que en un caso de FDA, 2 FOA y 2 OD complejos la expresión fue baja (<50% de positividad total) como se observa en el cuadro 10. Los resultados no fueron estadísticamente significativos con respecto a la comparación de la intensidad de expresión ($p=0.220$).

CK19

En la evaluación de la reacción de CK19 la muestra final consistió en 25 TOM (10 FA, 2 FDA, 6 FOA, 1 OA, 6 OD). El cuadro 11 muestra los valores de intensidad de expresión, así como la media y DE_{\pm} para cada uno de los grupos de TOM. Se observó una diferencia estadísticamente significativa en la expresión de CK19 entre los diferentes tipos de tumores ($p=0.001$). En donde hubo menos del 5% de inmunoexpresión o falta total de expresión se encuentran 8 casos de FA y los 2 casos evaluados de FDA, los que en conjunto representan el 40% de la muestra total. Una característica que comparten 3 casos de FOA, así como los casos de OD complejos y compuestos fue que en ambos grupos se observó alta intensidad, constituyendo el 36% de la muestra, y este marcaje se ubicó en componente periférico y central de forma generalizada. Únicamente 6 TOM (24% de la muestra) presentaron intensidad baja, incluyendo 2 FA, 3 FOA y el OA; un hallazgo en los casos de FOA es que la expresión se localizó exclusivamente en el componente epitelial periférico, constituido

por células columnares con polaridad inversa (Figuras 4 y 5). En relación con el valor de la media, éste fue más alto en los casos OD, que presentaron una media de 88.4% (± 16.3), seguido de los casos de FOA con una media de 53.3% (± 38.5), lo que contrasta con la mayoría de los FA, así como con los dos casos de FDA que mostraron negatividad para CK19.

Amelogenina

La expresión de AMELX fue evaluable en 22 casos (9 FA, 2 FDA, 6 FOA, 1 OA y 4 OD compuestos). Se observó alta intensidad en 14 (66.3%), correspondientes a 5 FA, 5 FOA y 4 OD compuestos, mientras que 3 casos de FA y 1 FOA (18.1%) mostraron baja intensidad; un caso de FA, ambos FDA y el caso de OA resultaron negativos (13.6%). Los valores de intensidad de expresión y media de cada uno de los grupos se pueden observar en el cuadro 12. Se comparó la expresión de AMELX entre los grupos de TOM, la cual no mostró diferencia estadísticamente significativa ($p=0.071$); sin embargo, en uno de los casos de FA la expresión de este marcador se identificó en el componente epitelial central (que recuerda al retículo estrellado) de todos los campos evaluados y también en la periferia (células columnares con polaridad invertida). Los patrones de expresión se pueden observar en las figuras 5, 6, 7, 8 y 9 en casos de FA, FDA, FOA y OD compuesto.

Syndecan-1

Este marcador fue evaluable en 27 casos (10 FA, 2 FDA, 8 FOA, 1 OA, 2 OD complejos y 4 OD compuestos). La media de expresión en la mayoría se encontró dentro del rango de 60.6-98.7% en el componente epitelial, pero es relevante mencionar que únicamente el caso de OA fue negativo, a diferencia de los casos de OD, en los que se observó alta intensidad (componente epitelial y mesenquimatoso) como se muestra en los cuadros 13 y 14. El

componente mesenquimatoso de los casos de FDA presentó una media de 28.9%, característica que contrasta y difiere del resto los TOM, en los cuales fue mayor a 68.1% (Cuadro 14). Por otra parte, los resultados no fueron estadísticamente significativos con respecto a la comparación de la intensidad entre los componentes epitelial ($p=0.065$) y mesenquimatoso ($p=0.112$). Los patrones de expresión se pueden observar en la figura 10.

Ki-67

La evaluación se pudo realizar en 27 casos (Cuadro 15). En relación con el componente epitelial de FA, se obtuvo una media de 8.9% y $DE\pm 6.1$, y se observó una mayor expresión en el componente epitelial periférico, mientras que los casos de FOA presentaron una media de 7.3%, seguido del caso de OA con 5.1%. Por su parte, en los casos de OD compuestos y complejos los valores fueron considerablemente más bajos, con una media de 0 y 3.7% respectivamente, y por último, en los casos de FDA se obtuvo una media de 2.8%. Con respecto a la evaluación del componente mesenquimatoso, los casos de FA expresaron los porcentajes más altos, de forma similar a lo identificado en el componente epitelial, con una media de 7.3% y $DE\pm 3.9$, exhibiendo como localización más frecuente las áreas adyacentes al componente epitelial (Figura 11), mientras que en los casos de FOA, FDA, OD complejo, OD compuesto y OA se observó menor expresión, con valores de 3.8%, 3.2%, 2.4%, 1.7%, 1.2% respectivamente, y de igual forma pudo observarse que la mayor expresión de Ki-67 se registró en el componente mesenquimatoso adyacente al componente epitelial. Al comparar los grupos de TOM, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los índices de proliferación en los componentes epitelial ($p=0.067$) y mesenquimatoso evaluados ($p=0.147$).

Cuadro 8. Características demográficas y clínicas en 32 casos de TOM.

Características	FA (n=10) n (%)	FDA (n=2) n (%)	FOA (n=8) n (%)	OA (n=1) n (%)	ODCI (n=5) n (%)	ODCm (n=6) n (%)
Sexo						
Femenino	7 (77.7)	1 (50)	4 (50)		4 (80)	3 (50)
Masculino	2 (22.2)	1 (50)	4 (50)	1 (100)	1 (20)	3 (50)
Mediana de edad (Q₁-Q₃) años						
	11 (5-12)	11 (10-12)	5 (2.5-12)	18	22 (15.5-33)	10 (7.5-14)
Localización						
Maxilar	1 (11.1)	1 (50)	4 (50)	1 (100)	3 (60)	4 (66.6)
Mandíbula	8 (88.8)	1 (50)	4 (50)		2 (40)	2 (33.3)

FA=fibroma ameloblástico; FDA=fibrodentinoma ameloblástico; FOA= fibro-odontoma
 OA=odontoameloblastoma; ODCI=odontoma complejo; ODCm=odontoma compuesto; (Q₁-Q₃)
 intercuartilar. ^aKruskal-Wallis test.

Cuadro 9. Características histopatológicas de los 32 casos de TOM con respecto a los componentes epitelial y mesenquimatoso.

Características	FA	FDA	FOA	OA	ODCl	ODCm
	(n=10)	(n=2)	(n=8)	(n=1)	(n=5)	(n=6)
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Disposición del componente epitelial						
SCE	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (60.0)	3 (50)
Yemas y cordones	10 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Mixto ¹	0 (0)	2 (100)	8 (100)	0 (0)	2 (40.0)	3 (50)
Plexiforme	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
Componente epitelial periférico						
SCE	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (60.0)	3 (50)
Cuboidal	9 (90)	1 (50)	1 (12)	0 (0)	0 (0)	2 (33)
Columnar	1 (10)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Mixto ¹	0 (0)	1 (50)	7 (87)	1 (100)	2 (40)	1 (16)
Polaridad						
Sin PI	9 (90)	1 (50)	1 (12)	0 (0)	3 (60)	6 (100)
Con PI	1 (10)	1 (50)	7 (87)	1 (100)	2 (40)	0 (0)
Componente epitelial central						
Tipo RE	10 (100)	1 (50)	7 (87)	1 (100)	2 (40)	0 (0)
Componente mesenquimatoso						
Paucicelular	3 (30)	0 (0)	6 (75)	0 (0)	3 (60)	5 (83)
Hiperelular	7 (70)	2 (100)	2 (25)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
Interacción epitelio-mesénquima						
Células aplanadas	0 (0)	0 (0)	1 (12)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Cuboidal	8 (80)	1 (50)	1 (12)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Columnar PI	2 (20)	1 (50)	6 (75)	1 (100)	5 (100)	6 (100)
Inducción de material dentinoide						
Sin inducción	10 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Con inducción	0 (0)	2 (100)	8 (100)	1 (100)	5 (100)	6 (100)
Inducción de esmalte						
Sin matriz de esmalte	10 (100)	2 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
Con matriz de esmalte	0 (0)	0 (0)	8 (100)	0 (0)	5 (100)	6 (100)

TOM=tumores odontogénicos mixtos; SCE=sin componente epitelial evaluable; Mixto¹=(yemas, islas, cordones, mantos); FA=fibroma ameloblástico; FDA=fibro-dentinoma ameloblástico; FOA=fibro-odontoma ameloblástico; OA=odontoameloblastoma; ODCl=odontoma complejo; ODCm=odontoma compuesto; PI=polaridad invertida; RE=retículo estrellado.

Cuadro 10. Intensidad de inmunexpresión de CK14 en 31 casos evaluados de TOM.

Dx histopatológico	CK14				P
	Baja		Alta		
	n	(%)	n	(%)	
FA (n=10)	0	(0)	10	(100)	0.220 ^a
FDA (n=2)	1	(50)	1	(50)	
FOA (n=8)	2	(40)	6	(60)	
OA (n=1)	0	(0)	1	(100)	
ODCl (n=4)	2	(50)	2	(50)	
ODCm (n=6)	0	(0)	6	(100)	

Dx= diagnóstico; FA=fibroma ameloblástico; FDA=fibroentinoma ameloblástico; FOA=fibro-odontoma ameloblástico; OA=odontoameloblastoma; ODCl= Odontoma complejo; ODCm= Odontoma compuesto. Será clasificado: 0”<5% de células (negativo); “1” 5-50% de células (baja intensidad); “2” >50% de células (alta intensidad). ^aKruskal-Wallis test.

Cuadro 11. Intensidad y promedio de inmunexpresión de CK19 en 25 casos evaluados de TOM.

Dx histopatológico	CK19						Media (\pm DE)
	Negativo		Baja		Alta		
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	
FA (n=10)	8	(80)	2	(20)	0	(0)	3.7 (\pm 7.6)
FDA (n=2)	2	(100)	0	(0)	0	(0)	0 (nd)
FOA (n=6)	0	(0)	3	(50)	3	(50)	53.3 (\pm 38.5)
OA (n=1)	0	(0)	1	(100)	0	(0)	43.2 (nd)
ODCI (n=2)	0	(0)	0	(0)	2	(100)	88.4 (\pm 16.3)
ODCm (n=4)	0	(0)	0	(0)	4	(100)	90.6 (\pm 13.5)

Dx= diagnóstico; FA=fibroma ameloblástico; FDA=fibro-dentinoma ameloblástico; FOA=fibro-odontoameloblastoma; ODCl= Odontoma complejo; ODCm= Odontoma compuesto. Será clasificado: (negativo); “1” 5-50% de células (baja intensidad); “2” >50% de células (alta intensidad); nd=no hay dato test.

Cuadro 12. Intensidad y promedio de inmunexpresión de AMELX en 22 casos evaluados de TOM.

Dx histopatológico	AMELX						Media (\pm DE)
	Negativo		Baja		Alta		
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	
FA (n=9)	1	(11.1)	3	(33.3)	5	(55.5)	69.2 (\pm 38.4)
FDA (n=2)	2	(100)	0	(0)	0	(0)	0.0 (nd)
FOA (n=6)	0	(0)	1	(16.6)	5	(83.3)	85.6 (\pm 35.1)
OA (n=1)	1	(100)	0	(0)	0	(0)	0.0 (nd)
ODCm (n=4)	0	(0)	0	(0)	4	(100)	100 (nd)

Dx= diagnóstico; FA=fibroma ameloblástico; FDA=fibro-dentinoma ameloblástico; FOA=fibro-odontoma; OA=odontoameloblastoma; ODcl=odontoma complejo; ODCm=Odontoma compuesto. Será clasificado: (negativo); “1” 5-50% de células (baja intensidad); “2” >50% de células (alta intensidad); nd=no hay dato test.

Cuadro 13. Intensidad y promedio de inmunoexpresión de Syndecan-1 (componente epitelial) en 27 TOM.

Dx histopatológico	Syndecan-1						Media (\pm DE)
	Negativo		Baja		Alta		
	N	(%)	n	(%)	n	(%)	
FA (n=10)	0	(0)	0	(0)	10	(100)	85.2 (\pm 15.0)
FDA (n=2)	0	(0)	0	(0)	2	(100)	94.3 (\pm 7.9)
FOA (n=8)	0	(0)	1	(12.5)	7	(87.5)	68.5 (\pm 19.8)
OA (n=1)	1	(100)	0	(0)	0	(0)	0.0 (nd)
ODCI (n=2)	0	(0)	0	(0)	2	(100)	98.7 (\pm 1.7)
ODCm (n=4)	0	(0)	2	(50)	2	(50)	60.6 (\pm 25.1)

Dx= diagnóstico; FA=fibroma ameloblástico; FDA=fibrodentinoma ameloblástico; FOA=fibro-odonto OA=odontoameloblastoma; ODcl=odontoma complejo; ODCm= Odontoma compuesto. Será clasificado: (negativo); “1” 5-50% de células (baja intensidad); “2” >50% de células (alta intensidad); nd=no hay dato test.

Cuadro 14. Intensidad y promedio de inmunexpresión de Syndecan-1 (componente mesenquimal) en los tipos de TOM evaluados de TOM.

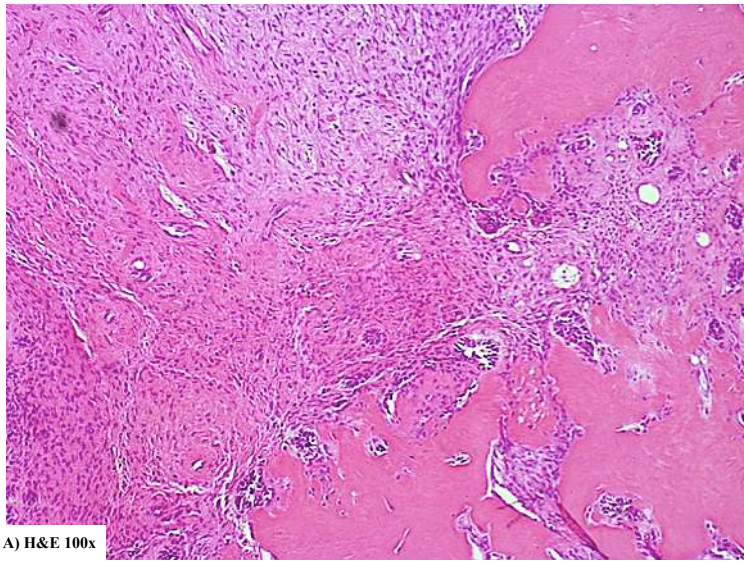
Dx histopatológico	Syndecan-1				Media (±DE)
	Baja		Alta		
	n	(%)	n	(%)	
FA (n=10)	3	(30)	7	(70)	68.1 (±22.2)
FDA (n=2)	2	(100)	0	(0)	28.9 (± 6.9)
FOA (n=8)	2	(25)	6	(75)	68.1 (±23.1)
OA (n=1)	1	(100)	0	(0)	5.0 (nd)
ODCl (n=2)	0	(0)	1	(100)	100 (nd)
ODCm (n=4)	0	(0)	4	(100)	75.6 (±19.7)

Dx= diagnóstico; FA=fibroma ameloblástico; FDA=fibrodentínoma ameloblástico; FOA= fibroodontoma ameloblástico; OA=odontoameloblastoma; ODCl=odontoma complejo; ODCm=Odontoma compuesto. Será clasificado: 0”<5% de células (negativo); “1” 5-50% de células (baja intensidad); “2” >50% de células (alta intensidad); nd=no hay dato. ^aKruskal-Wallis test.

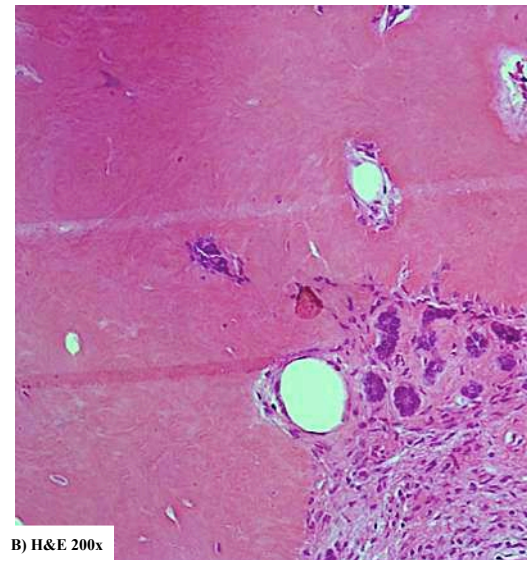
Cuadro 15. Promedio de inmunexpresión de Ki-67 en componente epitelial y mesenquimatoso de 27 casos

Dx histopatológico	Media (±DE) epitelio		Media (±DE) mesénquima
FA (n=9)	8.9 (±6.1)		7.3 (±3.9)
FDA (n=2)	2.8 (±2.8)		3.2 (±3.7)
FOA (n=8)	7.3 (±10.1)	<i>P= 0.067^a</i>	3.8 (±4.8)
OA (n=1)	5.1 (nd)		1.2 (nd)
ODCI (n=3)	0.0 (nd)		2.4 (±2.7)
ODCm (n=4)	3.7 (± 2.5)		1.7 (±2.7)

Dx= diagnóstico: FA=fibroma ameloblástico; FDA=fibro-dentinoma ameloblástico; FOA=fibro-odontoma; OA=odontoameloblastoma; ODCl=odontoma complejo; ODCm= Odontoma compuesto; nd=no hay dato. ^aKruskal-V



A) H&E 100x



B) H&E 200x

Figura 2. A) FDA componente mesenquimatoso hipercelular, con presencia de material mineralizado dentinoide. B) Se aprecia presencia de cordones y nidos epiteliales conformados por células cuboidales adyacentes al material mineralizado.

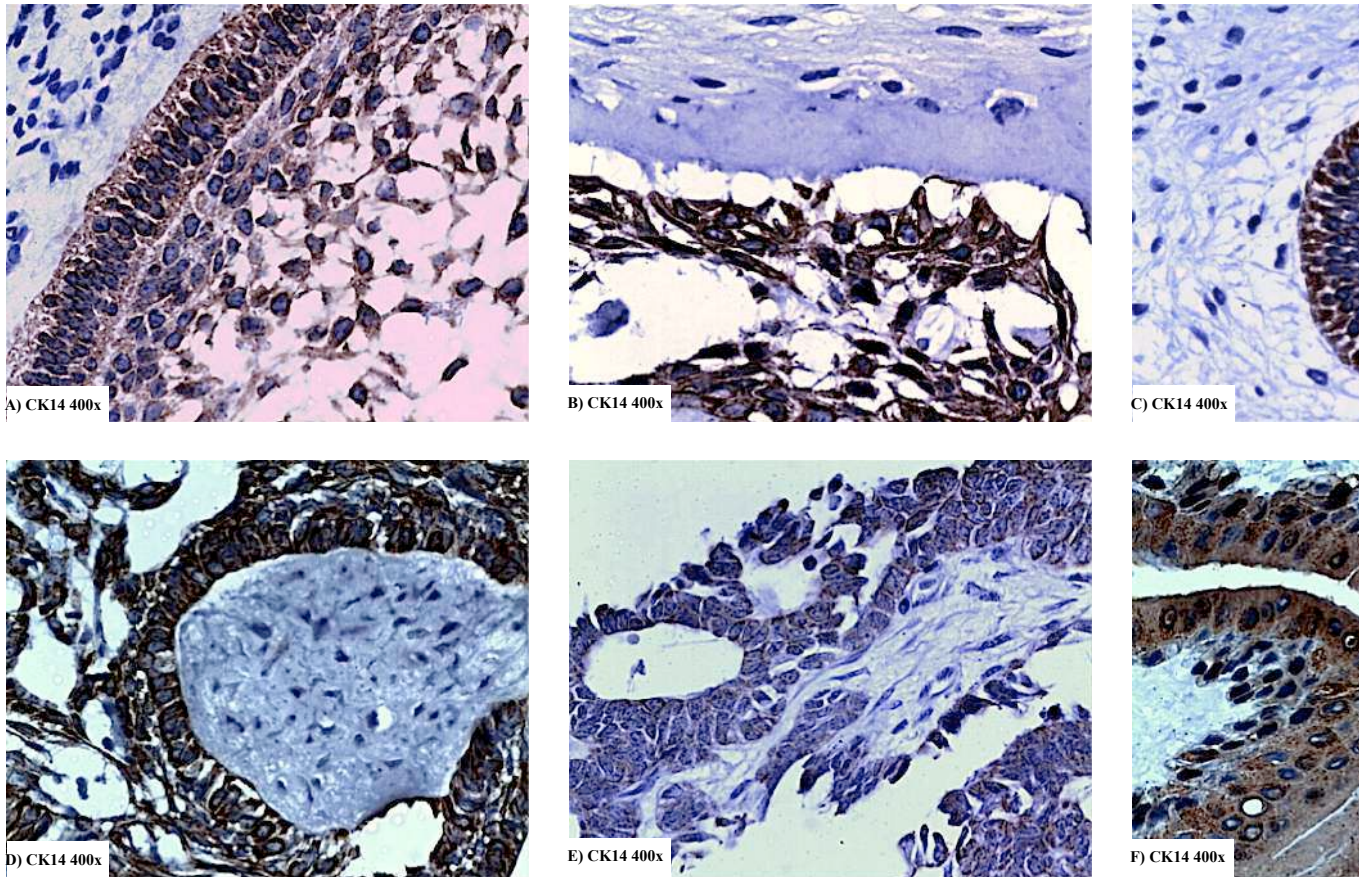


Figura 3. A) FA; B) FDA C) y D) FOA; E) OA; F) OD compuesto. Expresión de CK14 en el compo
periférico

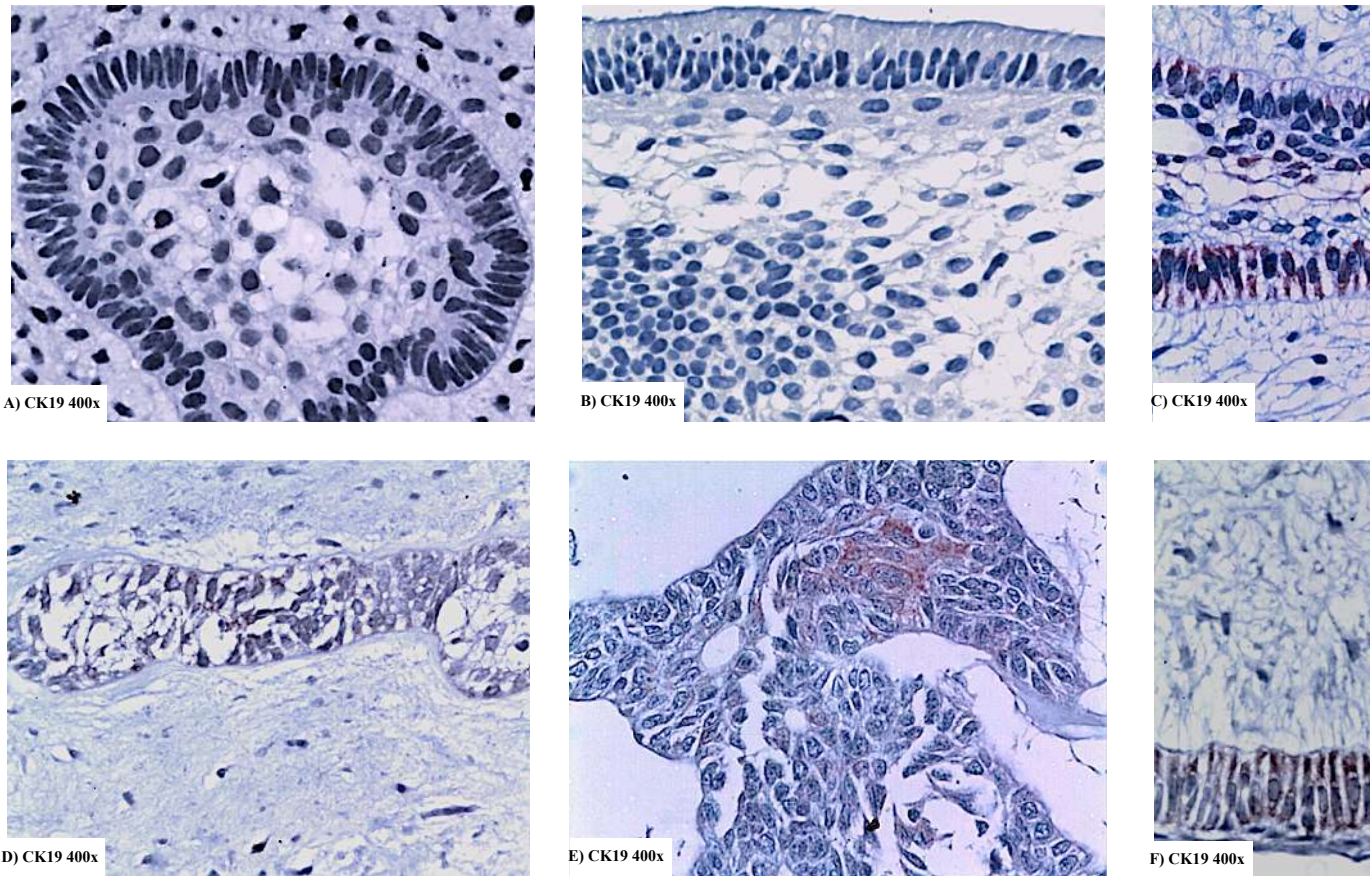


Figura 4. Expresión de CK 19. A) FA y B) FDA negatividad en el componente epitelial; C) y D) FA y FDA positividad en el componente epitelial periférico; E) OA expresión de baja intensidad en los cordones epiteliales; F) OD expresión de alta intensidad en el componente epitelial periférico.

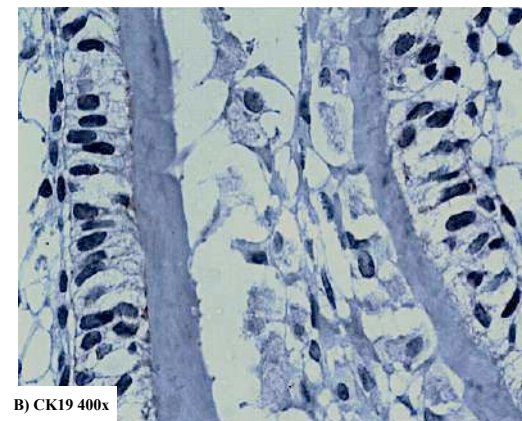
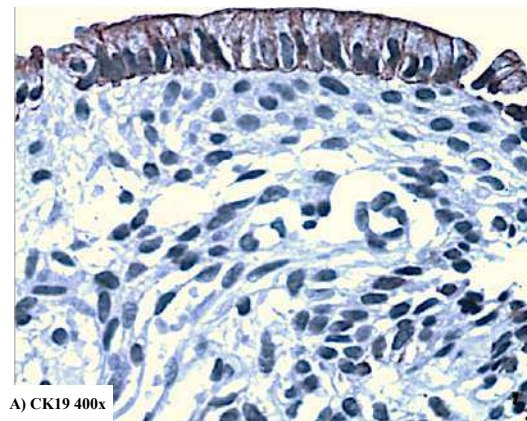


Figura 5. Expresión de CK19. A) y B) FOA que muestra positividad en las células epiteliales columnar, componente periférico; B) Síntesis de material mineralizado distal a las células de polaridad invertida, característica presente en ameloblastos secretores.

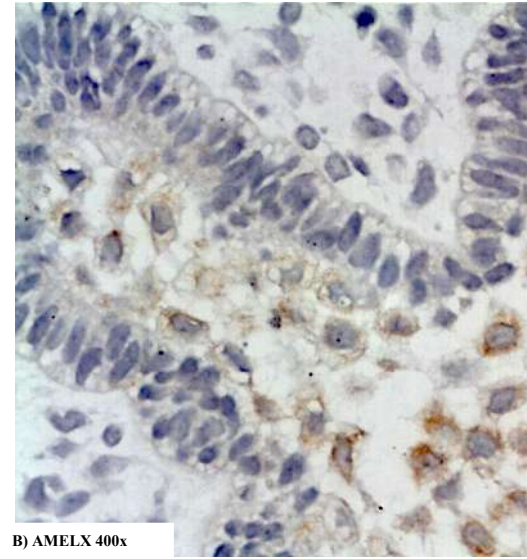
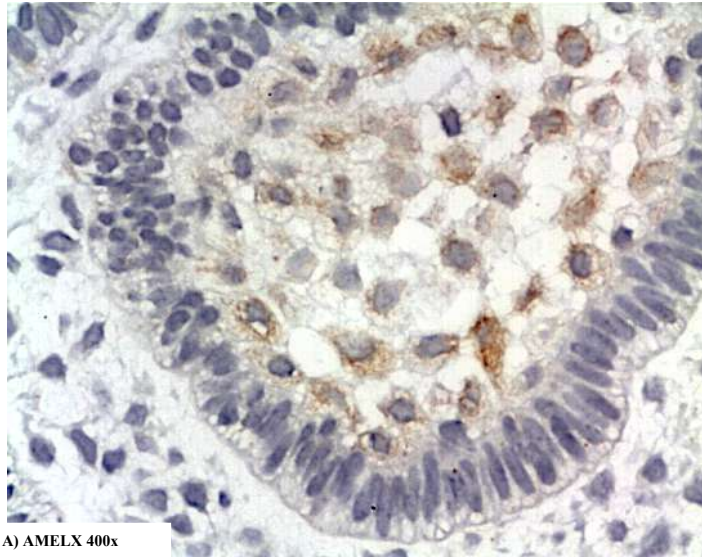


Figura 6. A) y B) FA expresión citoplasmática de Amelogenina en el componente epitelial central

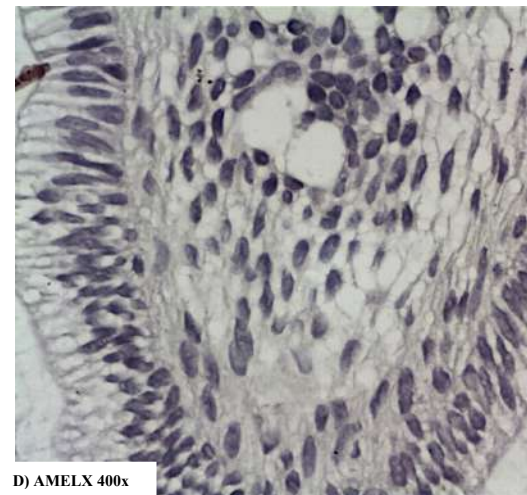
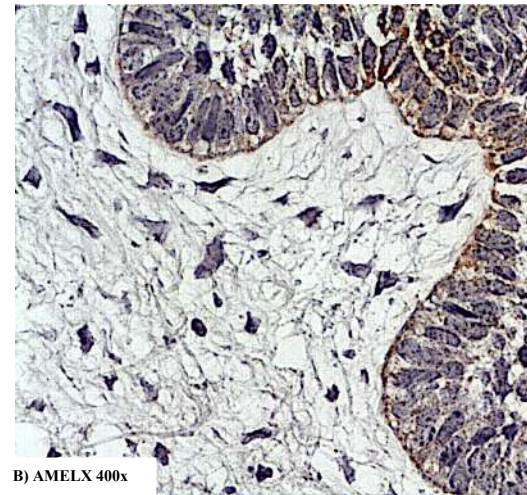


Figura 7. Expresión de Amelogenina. A) FA positividad generalizada en los cordones epiteliales; B) se observa un acercamiento a un cordón epitelial; C) y D) FDA negatividad componente epitelial central y periférico.

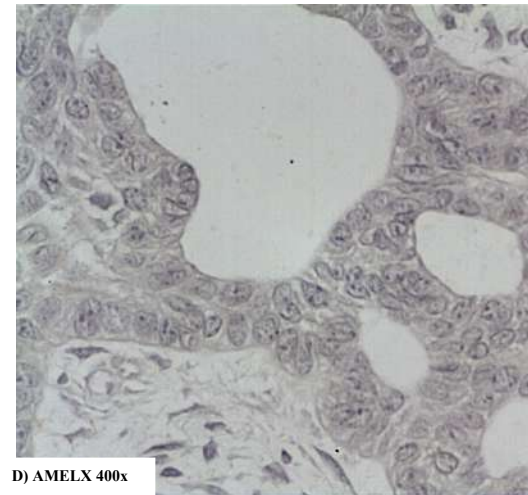
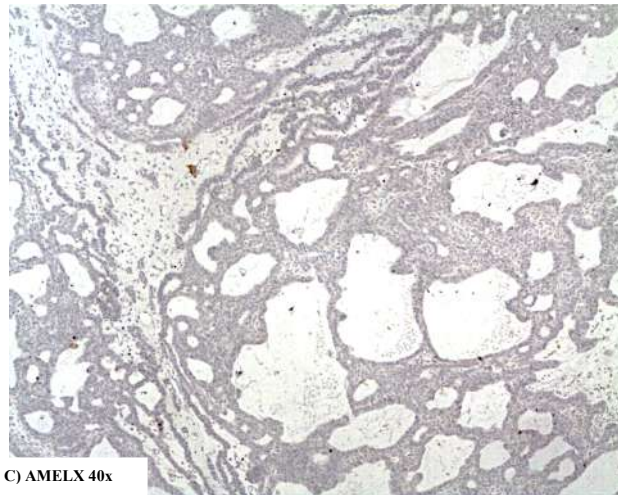
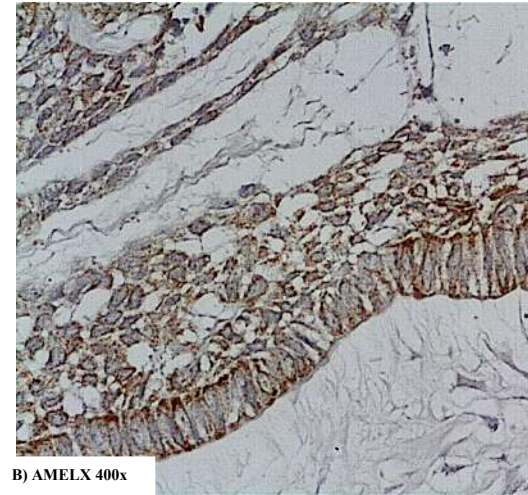
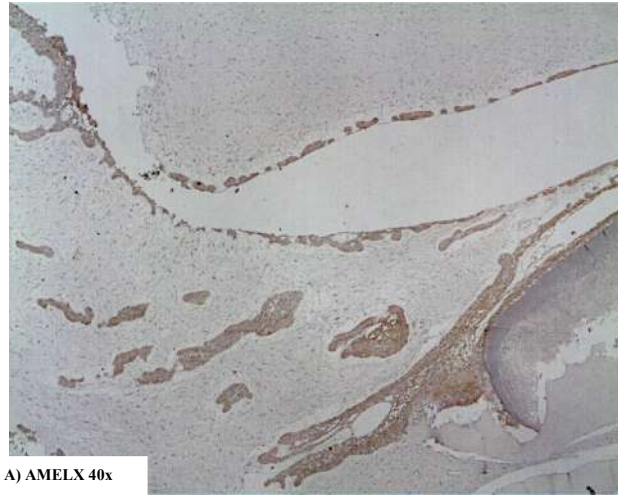


Figura 8. Expresión de Amelogenina. A) y B) FOA con alta intensidad en el componente conectivo adyacente a material mineralizado compatible con matriz de esmalte; C) y D) FOA con baja intensidad de expresión en el componente conectivo.

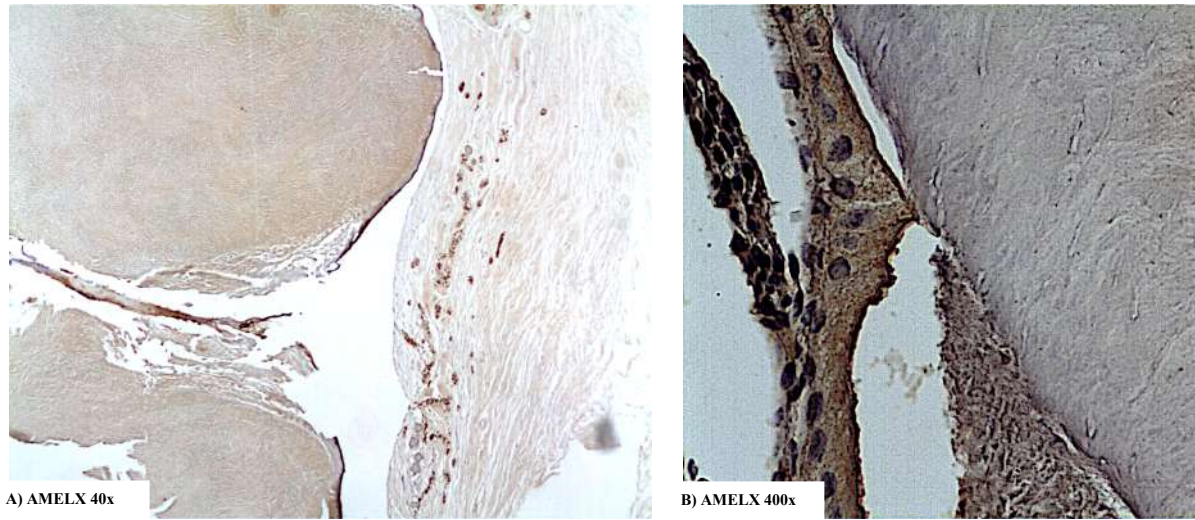


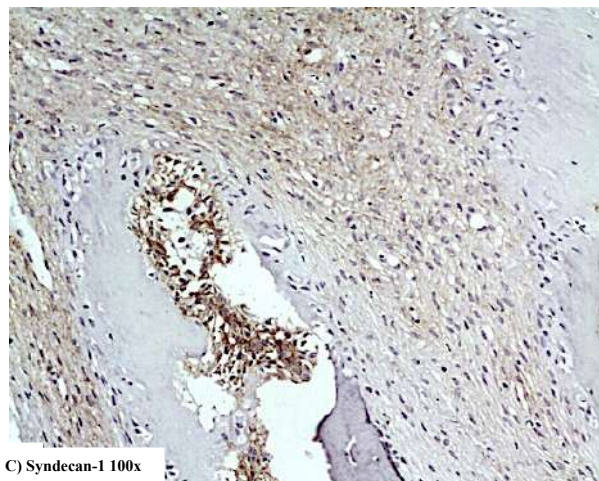
Figura 9. Expresión de Amelogenina. A) OD compuesto alta intensidad de marcaje en los epiteliales, B) se puede apreciar condensación de tinción en el material mineralizado adyacente.



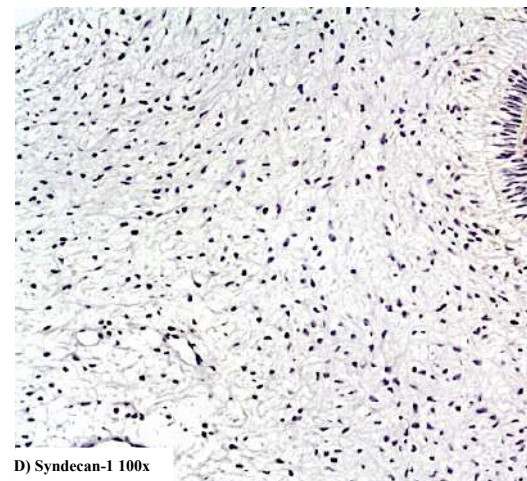
A) Syndecan-1 40x



B) Syndecan-1 40x



C) Syndecan-1 100x



D) Syndecan-1 100x

Figura 10. Expresión de Syndecan-1. A) y B) Alta intensidad en casos de FA en el componente epitelial y difuso en el componente mesenquimatoso adyacente. C) FDA con áreas de mineralizado adyacente al componente mesenquimatoso que demuestra positividad; D) positividad en el componente epitelial central que recuerda al retículo estrellado del órgano esmalte.

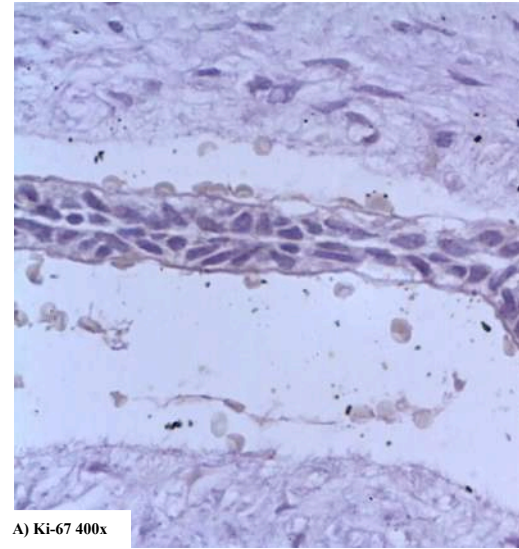
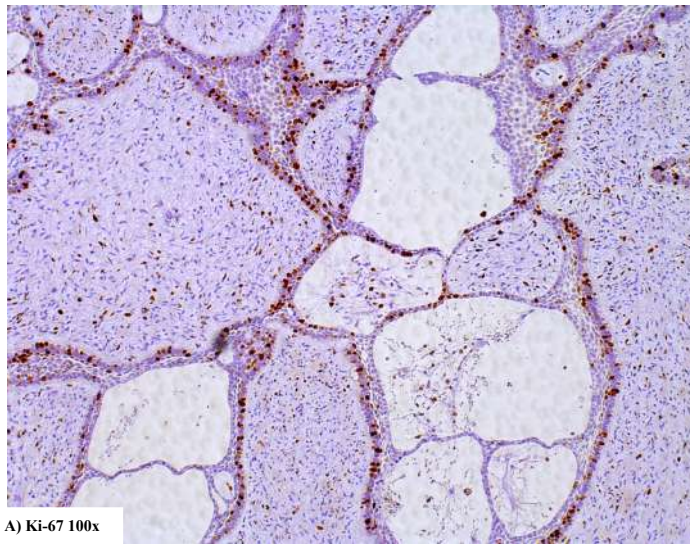


Figura 11. A) FA exhibiendo alta intensidad de Ki-67 en el componente epitelial periférico y mesenquimatoso. B) OD en el que se observa expresión de Ki-67 menor al 5% en componente epitelial.

6. DISCUSIÓN

La relevancia de la evaluación de los aspectos moleculares en los componentes epitelial y mesenquimatoso de los TOM surge a partir de la controversia que existe con respecto a los conceptos y criterios utilizados a lo largo de las últimas siete décadas para definir y clasificar a estas lesiones; asimismo, enfatiza la importancia de los aspectos clínico-demográficos como elementos necesarios para poder establecer de manera correcta la correlación diagnóstica en estas entidades, y el análisis de ambos aspectos en conjunto tiene la finalidad de generar nueva evidencia que permita sustentar o modificar los conceptos existentes sobre el origen común de los TOM con predominio de componente ameloblástico.

Con respecto a las características clínicas, en la literatura no se tiene identificada una predilección por sexo para este grupo de entidades (Ebenezer y Ramalingam, 2011; Sekerci y cols. 2014; Lima-Verde-Osterne y cols., 2017; Aly y cols., 2018; de Medeiros y cols., 2018; Kurimoto y cols., 2019); así, mientras que nuestros resultados están en concordancia con estudios como los de Santos y cols. (2001) y Kirjavainen y cols. (2016), los cuales muestran ligera predilección por las mujeres (61.2%), hay información como la señalada en la revisión sistemática realizada por Chrcanovic y Gomez, en la que existe mayor prevalencia en hombres en proporción de 2:1 (Chrcanovic y Gomez, 2018). La edad representa una variable relevante, ya que a pesar de que los TOM son más frecuentes en las primeras dos décadas de la vida, existen casos que se desarrollan en periodos posteriores, principalmente las lesiones con aparente comportamiento neoplásico (Philipsen y cols., 1997). En este sentido, en estudios previos se ha observado que el FA y el FDA presentan una distribución etaria bimodal (Chrcanovic BR y Gomez RS., 2018), por lo que se ha sugerido que existen dos variantes de estas entidades, una hamartomatosa y otra neoplásica,

y se ha considerado que las lesiones desarrolladas después de la segunda década serían probablemente verdaderas neoplasias (Buchner y Vered, 2013; Chen y cols., 2007; Mustafa y cols., 2016; Royer y cols., 2016; Kirjavainen y cols., 2018), debido a que las lesiones formadas en esa etapa no demuestran maduración hacia la formación de OD (El-Naggar y cols., 2017). En el presente estudio también encontramos una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.031$) entre los grupos estudiados, lo que apoya dicha interpretación en cuanto a posibles diferencias en la naturaleza de algunos TOM con respecto a la edad de presentación.

En relación con la localización, nuestros hallazgos son similares a lo que se reporta en la literatura, en donde se señala que con excepción de los OD compuestos, el resto de los TOM ocurren con mayor frecuencia en la región posterior de la mandíbula (Mosqueda y cols., 1997; Philipsen y cols., 1997; Hidalgo-Sánchez y cols., 2008; Saghravarian y cols., 2010), que es la ubicación de los TOM que expresan mayor agresividad o los que tienen menor grado de maduración (histo y morfodiferenciación). Esta situación podría estar relacionada con diferencias en el tejido odontogénico de origen, pues se especula que algunos tumores que tienen predilección por la zona posterior de los maxilares se originan de la lámina dental pre-funcional, que representa el componente epitelial odontogénico menos diferenciado, misma que es más abundante distalmente a los terceros molares (Mosqueda-Taylor., 2008); sin embargo, con los recursos actuales no es posible aún demostrar dicho origen y consecuentemente, resulta de gran importancia considerar que para lograr establecer el diagnóstico preciso de este grupo de entidades se tienen que tomar en cuenta la edad, la localización anatómica y la conducta clínica, ya que se ha visto que los TOM que comienzan su desarrollo o se detectan en periodos posteriores a la odontogénesis, los que se originan en los segmentos posteriores de los maxilares y aquellos que presenten

un comportamiento expansivo o destructivo local tienen menos probabilidades de corresponder a entidades consideradas como odontomas en desarrollo o lesiones hamartomatosas (Muller y cols., 1995; Buchner y Vered, 2013).

Algunos de los casos que se desarrollaron en la zona posterior de la mandíbula y que fueron analizados en el presente estudio, especialmente FA y FDA, presentaron una conformación en cordones epiteliales constituidos por células cuboidales bajas, lo que recuerda a los estadios más tempranos de la odontogénesis, correspondientes con las etapas de brote o casquete (Nanci, A y Ten, C, 2003), lo que contrasta con las características microscópicas del epitelio de los OD, en los que existe la presencia de ameloblastos maduros (Bernardes y cols., 2008). Dicha diferencia también se asocia con los hallazgos registrados en nuestro estudio en el epitelio de FDA adyacente a la dentina o material dentinoide en formación, en donde las células periféricas no muestran el aspecto distintivo de células columnares con diferenciación pre-ameloblástica que se encontraría en lesiones con capacidad de producción de matriz de esmalte, lo que nos hace sugerir que este hallazgo podría ser indicativo de un trastorno en la diferenciación, favoreciendo el concepto de neoplasia sobre el de hamartoma; sin embargo, sería conveniente evaluar un número mayor de casos de esta entidad y conocer su evolución clínica para tener una mayor precisión en esta observación.

En este sentido se puede argumentar que dicha diferencia también se asocia con los hallazgos registrados con respecto a la expresión de las CKs, ya que en la mayoría de FA y FDA se observó una alta intensidad para CK14, lo que sugiere mayor compatibilidad con preameloblastos jóvenes sin capacidad secretora (Dos Santos y cols., 2009; Arzi y cols., 2011; Domingues y cols., 2000) y esto se complementó al observar que en la reacción con CK19 la mayoría (8/80%) de FA y los dos casos de FDA (100%) fueron negativos, lo cual sugiere que el componente epitelial no tiene la capacidad de síntesis de esmalte, y por lo

tanto no se encuentran en un estado de maduración avanzada, lo que contrasta con la mayoría de FOA y todos los OD, los cuales presentaron una alta expresión para este marcador. En cuanto al caso de OA incluido en la serie, la proliferación ameloblástica presentó una baja expresión de CK19, en concordancia a ser una lesión con menor grado de diferenciación.

Respecto a los resultados obtenidos al evaluar la expresión de AMELX, de forma similar a lo reportado en otros estudios (Tanaka y Sawamoto., 2013) se observó que en los dos casos de FDA, el OA y un caso de FA la expresión fue negativa, pero no así en los casos de FOA y OD, lo que concuerda con lo descrito en el estudio de Nel y cols. (2011), quienes mencionan que en el desarrollo del GD la positividad de AMELX se evidencia en ameloblastos pre-secretores y que puede existir una positividad difusa en ameloblastos diferenciados en la etapa secretora, hallazgos que sugieren que los cambios que permiten la expresión de este marcador se desarrollan en la etapa de campana avanzada (Nanci, A y Ten, C., 2003). Nuevamente estos hallazgos parecen apoyar la hipótesis que sugiere que algunos FA y todos los FDA tendrían un limitado proceso de maduración de las células cuboidales y serían lesiones con componente más primitivo y posiblemente neoplásico, hallazgo que también se compartió en relación con la zona ameloblástica del caso estudiado de OA, a pesar de que esta entidad posee la capacidad de producir material mineralizado; sin embargo, es conveniente señalar que debido a que no se incluyó tejido adyacente a la zona de producción de tejidos dentales mineralizados, solo es posible especular que en dicho tumor existen zonas con diferentes grados de maduración del epitelio odontogénico. En los casos analizados de OD, la producción de tejidos dentales maduros se asocia a una adecuada interacción entre el epitelio ameloblástico y la diferenciación mesenquimatosa; así, durante la evaluación de los OD se confirmó que en estas lesiones habían

características histomorfológicas semejantes a las encontradas en la etapa de campana tardía en el GD, consistentes en la presencia de células epiteliales columnares con polaridad invertida y secreción de material mineralizado, cuya expresión IHQ de CKs y AMELX resultaron similares a lo reportado en el epitelio odontogénico en dicha etapa (Anigol y cols., 2014; Zacaraia y cols., 2018), al igual que la presencia de componente mesenquimatoso diferenciado (odontoblastos), con evidencia de material mineralizado compatible con dentina (Nanci, A y Ten, C, 2003; Bernardes y cols., 2008), por lo que algunos autores consideran que la formación del OD es similar al proceso de desarrollo de un diente supernumerario, pero con una expresión desorganizada (Custódio y cols., 2018; Pippi, 2014).

Al contrastar nuestros hallazgos con lo reportado en cuanto a las características IHQ de la odontogénesis normal, se considera que la pérdida de la expresión de CK14 en algunos TOM podría ser consecuencia de la aparición de actividad secretora (Crivelini y cols., 2003), lo que sugiere que existen diferencias de expresión que apoyan la separación de algunas de las entidades clasificadas como TOM con base en el grado de diferenciación, lo que en conjunto con los hallazgos clínicos podría permitir su caracterización como entidades independientes.

La media más alta del índice de proliferación evaluado mediante la expresión de Ki-67 se registró en los casos de FA, de manera similar a lo reportado por otros autores (Sano y cols., 1998; Kavya y cols., 2017); la expresión se apreció mayormente en el tejido mesenquimatoso adyacente al epitelio, lo que sugiere que dicha zona se encuentra en una etapa de proliferación activa, como se ha descrito en algunos TO considerados de naturaleza neoplásica (Yoshida y cols., 2013; Gilani y cols., 2014). Asimismo, este hallazgo resalta la importancia de la evaluación de la celularidad, especialmente en los

casos de FA, ya que son lesiones que tienden a malignizar con mayor frecuencia que otros TO, en los que aparentemente hay una progresión gradual a FSA cuando se detecta un aumento en la celularidad, mayor proliferación del componente mesenquimatoso, y una reducción sucesiva del componente epitelial (Bregni y cols., 2001; Chen y cols., 2007).

Con respecto al resultado obtenido en la evaluación de Ki-67 en el caso de OA (5.1% en el componente epitelial y 1.2% en el componente mesenquimatoso), es interesante señalar que aunque no existen reportes en los cuales se haya evaluado IHQ a esta entidad, estas cifras se encuentran dentro del rango mencionado en la literatura para ameloblastomas, en los que se reporta un rango de 1.9-22.9% (Bologna y cols., 2013), por lo que sería conveniente mantener la consideración de que se trata de una entidad que difiere de los OD convencionales.

La baja expresión registrada de Syndecan-1 en el componente mesenquimatoso de los casos de FDA y OA constituye un aspecto notable, ya que de acuerdo con estudios realizados en otros tumores, su disminución podría estar relacionada con mayor agresividad, o apoyar un comportamiento neoplásico (Al-Otaibi y cols., 2013; Bologna-Molina y cols., 2009); en ese sentido, la baja expresión registrada particularmente en los FDA, podría significar que la lesión corresponde a una sola etapa del desarrollo, lo que difiere a lo observado en los OD, que son entidades con mayor potencial de expresión de Syndecan-1 debido a que no todo el tejido en formación de estas entidades se encuentra en la misma etapa evolutiva, por lo que no sería raro encontrar en ellos múltiples áreas positivas que representen los inicios de la odontogénesis, al mismo tiempo que se detectan zonas con baja expresión por hallarse en etapas avanzadas del proceso. En relación con el OA, la ausencia de expresión en el componente epitelial y la baja expresión registrada en el componente mesenquimatoso resulta similar con lo reportado en ameloblastomas convencionales, en los que se sugiere

que la disminución de expresión de Syndecan-1 guarda relación con su comportamiento neoplásico y una mayor agresividad en comparación con otros subtipos, como el desmoplásico (Bologna y cols., 2008) y por lo tanto, este hallazgo constituye un aspecto a evaluar en futuros estudios como posible diferencia con respecto al componente epitelial de los OD, el cual puede ser morfológicamente similar, pero distinto a nivel de la expresión de factores asociados con mayor potencial de crecimiento e invasividad.

Entre las limitaciones del presente estudio podemos mencionar su carácter retrospectivo, la deficiencia en la descripción de algunas de las variables clínicas y de la información precisa en relación con el tiempo de evolución, localización, patrón radiográfico, así como del tratamiento, pronóstico y seguimiento de los individuos incluidos en el estudio; sin embargo, es importante mencionar que es la metodología que generalmente se emplea al analizar tumores con baja incidencia y en la cual son recurrentes dichas limitantes por falta de datos completos en los registros. Adicionalmente, debido al reducido tamaño de la muestra se dificulta el poder realizar aseveraciones estadísticas, pero se tiene que destacar que el presente trabajo se deriva de un esfuerzo en conjunto de diversos centros de referencia durante un periodo de tiempo amplio, lo cual evidencia la rareza de las entidades estudiadas y por lo tanto, aporta información relevante para el contraste de información.

Las perspectivas de este estudio se orientan al desarrollo de futuras investigaciones sobre los aspectos moleculares, tales como la aplicación de algunos resultados obtenidos en ensayos *in vivo*, y otras técnicas recientemente propuesta por grupos de otros países (Pereira y cols., 2019; Coura BP y cols., 2020) con la finalidad de dilucidar probables guías terapéuticas en el manejo de los diversos tipos de TOM.

7. CONCLUSIONES

En la evaluación histomorfológica de la interfaz epitelio-mesénquima correspondiente a las zonas de material dentinoide de los casos de OD y FOA se observó una adecuada interacción entre el epitelio ameloblástico y la diferenciación mesenquimatoso, mientras que en los casos de FA, FDA y OA no siempre se identificaron ameloblastos diferenciados adyacentes al material mineralizado; este hallazgo podría ser indicativo de un trastorno en la diferenciación, favoreciendo el concepto de neoplasia sobre el de hamartoma para estas tres entidades.

La identificación y correlación de inmunexpresión de CKs 14 y 19 evidenció una alta expresión de CK14 y baja expresión o negatividad de CK19 en los casos de FA, FDA y OA, lo que sugiere que el componente epitelial de dichas lesiones no tiene la capacidad de síntesis de esmalte, y por lo tanto, no se encuentra en un estado de maduración avanzada; por su parte, los casos de FOA y OD presentaron una alta intensidad de expresión para este último marcador, lo que concuerda con los hallazgos registrados en epitelio ameloblástico con potencial secretor.

La inmunexpresión de AMELX fue negativa en casos de FA, FDA y OA, lo que contrasta con la positividad en los casos de FOA y OD, que fue similar a lo descrito en el GD. Esto puede sugerir que algunos FA y todos los FDA tienen un grado de maduración epitelial limitado, y por lo tanto podrían ser lesiones menos diferenciadas y posiblemente neoplásicas.

Syndecan-1 presentó alta intensidad de expresión en el componente epitelial de los TOM estudiados (excepto OA), de manera similar a lo observado en las etapas tempranas de la odontogénesis; sin embargo, en los casos de FDA y OA la expresión de Syndecan-1 en el

componente mesenquimatoso es relevante, ya que la disminución registrada podría estar relacionada con un comportamiento de mayor agresividad de dichos tumores.

Los hallazgos obtenidos mediante la evaluación de Ki-67 en los TOM evidencian valores epiteliales más altos en los casos de FA, FDA, FOA y OA, en contraste con los OD, como cabría esperar al comparar lesiones posiblemente neoplásicas con entidades hamartomatosas con potencial limitado de crecimiento.

Finalmente, resulta importante mencionar que entre las características relevantes a evaluar en los casos de TOM se debe incluir su edad de presentación, localización y comportamiento clínico, pues como se ha sugerido en otros estudios, y los resultados de este trabajo lo corroboran, cuando dichas lesiones comienzan su desarrollo en periodos posteriores a los de la odontogénesis o cuando presentan un comportamiento expansivo o destructivo local, disminuyen las probabilidades de tratarse de un odontoma en desarrollo, lo que además se apoya en que las lesiones con dichas características presentan una mayor actividad proliferativa, menor grado de madurez epitelial, y con frecuencia se originan en las zonas posteriores de los maxilares.

8. REFERENCIAS

- Ahire MS, Tupkari JV, Chettiankandy TJ, Thakur A, Agrawal RR. Odontogenic tumors: A 35-year retrospective study of 250 cases in an Indian (Maharashtra) teaching institute. *Indian J Cancer*. 2018;55(3):265-72.
- Al-Otaibi O, Khounganian R, Anil S, Rajendran R. Syndecan-1 (CD 138) surface expression marks cell type and differentiation in ameloblastoma, keratocystic odontogenic tumor, and dentigerous cyst. *J Oral Pathol Med*. 2013; 42:186-93.
- Aly N, Amer H, Khatib OE. Ameloblastic fibro-odontoma with chondroid tissue formation. *Contemp Oncol*. 2018;22(1):50-3.
- Anigol P, Kamath VV, Satelur K, Anand N, Yerlagudda K. Amelogenin in odontogenic cysts and tumors: An immunohistochemical study. *Natl J Maxillofac Surg*. 2014;5(2):172–179.
- Apellaniz D, Nieves S, Tapia G, Maglia A, Mosqueda-Taylor A, Bologna-Molina R. Análisis inmunohistoquímico de CK14 y CK19 en germen dentario y ameloblastoma. *Odontoestomatol*. 2015;17:4-10.
- Aregbesola B, Soyele O, Effiom O, Gbotolorun O, Taiwo O, Amole I. Odontogenic tumours in Nigeria: A multicentre study of 582 cases and review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2018;23(6):e761-e766.
- Arzi B, Murphy B, Nemeč A, Vapniarsky N, Naydan DK, Verstraete FJ. Expression of cytokeratins in the epithelium of canine odontogenic tumours. *J Comp Pathol*. 2011;145(4):345-51.
- Avelar RL, Primo BT, Pinheiro-Nogueira CB, Studart-Soares EC, de Oliveira RB, de Medeiros JR, et al. Worldwide incidence of odontogenic tumors. *J Craniofac Surg*. 2011;22:2118-23.
- Badger KV, Gardner DG. The relationship of adamantinomatous cranio-pharyngioma to ghost cell ameloblastoma of the jaws: a histopathologic and immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med*. 1997;26(8):349-55.
- Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sindransky D. Pathology and genetics of head and neck tumours. 3th Edition. Lyon France: IARC; 2005: 308-12.
- Bernardes VF, Cota LOM, Costa FO, Mesquita RA, Gomez RS. Gingival peripheral odontoma in a child: case report of an uncommon lesion. *Brazilian J Oral Sci*. 2008;7(26):1624-6.
- Bille MLB, Nolting D, Kjær I. Immunohistochemical studies of the periodontal membrane in primary teeth. *Acta Odontol Scand*. 2009;67: 382-7.

- Bologna-Molina R, Mosqueda-Taylor A, Lopez-Corella E, Almeida OP, Carrasco-Daza D, Garcia-Vazquez F, et al. Syndecan-1 (CD138) and Ki-67 expression in different subtypes of ameloblastomas. *Oral Oncol.* 2008;44(8):805-11.
- Bologna-Molina R, Mosqueda-Taylor A, Lopez-Corella E, de Almeida OP, Carrasco-Daza D, Farfán-Morales JE. Comparative expression of Syndecan-1 and Ki-67 in peripheral and desmoplastic ameloblastomas and ameloblastic carcinoma. *Pathol Int.* 2009;59(4):229-33.
- Bologna-Molina R, Mosqueda-Taylor A, Molina-Frechero N, Mori-Estevez AD, Sánchez-Acuña G. Comparison of the value of PCNA and Ki-67 as markers of cell proliferation in ameloblastic tumors. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2013;18(2):e174-9.
- Bologna-Molina R, Salazar-Rodríguez S, Bedoya-Borella AM, Carreón-Burciaga RG, Tapia-Repetto G, Molina-Frechero N. A histopathological and immunohistochemical analysis of ameloblastic fibrodentinoma. *Case Rep Pathol.* 2013:604560.
- Bologna-Molina R, Mikami T, Pereira-Prado V, Tapia-Repetto G, Pires FR, Carlos R, Mosqueda-Taylor A. Primordial odontogenic tumor: Subepithelial expression of Syndecan-1 and Ki-67 suggests origin during early odontogenesis. *Oral Dis.* 2018;24(1-2):72-7.
- Bregni RC, Taylor AM, García AM. Ameloblastic fibrosarcoma of the mandible: report of two cases and review of the literature. *J Oral Pathol Med.* 2001;30(5):316-20.
- Broca P. *Traité des Tumeurs*, Vol. 2. Paris, Asselin P, Libraire de la Faculté de Médecine, 1869.
- Buchner A, Merrell PW, Carpenter WM. Relative frequency of central odontogenic tumors: a study of 1,088 cases from Northern California and comparison to studies from other parts of the world. *J Craniofac Surg.* 2006; 64:1343-52.
- Buchner A, Vered M. Ameloblastic fibroma: a stage in the development of a hamartomatous odontoma or a true neoplasm? Critical analysis of 162 previously reported cases plus 10 new cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2013;116(5):598-606.
- Cahn LR, Blum T. Ameloblastic odontoma: case report critically analyzed. *J Oral Surg.* 1952;10:169-70.
- Chen Y, Wang JM, Li TJ. Ameloblastic fibroma: a review of published studies with special reference to its nature and biological behavior. *Oral Oncol.* 2007;43:960-9.

- Chrcanovic BR, Gomez RS. Ameloblastic Fibrodentinoma and Ameloblastic Fibro-Odontoma: An Updated Systematic Review of Cases Reported in the Literature. *J Oral Maxillofac Surg.* 2017;75(7):1425-37.
- Christner PJ, Lally ET, Miller RD, Leontzwich P, Rosenbloom J, Herold RC. Monoclonal antibodies to different epitopes in amelogenins from fetal bovine teeth recognize high- molecular-weight components. *Arch Oral Biol.* 1985; 30:849-54.
- Chu PG, Weiss LM. Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology.* 2002;40(5):403-39.
- Chung BM, Rotty JD, Coulombe PA. Networking galore: intermediate filaments and cell migration. *Curr Opin Cell Biol.* 2013;25(5):600-12.
- Crivelini MM, de Araújo VC, de Sousa SO, de Araújo NS. Cytokeratins in epithelia of odontogenic neoplasms. *Oral Dis.* 2003;9(1):1-6.
- Crivelini MM, Felipini RC, Miyahara GI, de Sousa SC. Expression of odontogenic ameloblast-associated protein, amelotin, ameloblastin, and amelogenin in odontogenic tumors: immunohistochemical analysis and pathogenetic considerations. *J Oral Pathol Med.* 2012;41(3):272-80.
- Coura BP, Bernardes VF, Ferreira de Sousa, Diniz MG, Moreira RG, Benevenuto de Andrade BA, et al. Targeted next-generation sequencing and allele-specific qPCR of laser capture microdissected samples uncover molecular differences in mixed odontogenic tumors. *J Mol Diagn.* 2020;S1525-1578(20)30460-8.
- Daley TD, Wysocki GP, Pringle GA. Relative incidence of odontogenic tumors and oral and jaw cysts in a Canadian population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994;77(3):276-80.
- De Medeiros WK, da Silva LP, Santos PP, Pinto LP, de Souza LB. Clinicopathological analysis of odontogenic tumors over 22 years period: Experience of a single center in northeastern Brazil. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2018;23(6):e664-e671.
- Domingues MG, Jaeger MM, Araújo VC, Araújo NS. Expression of cytokeratins in human enamel organ. *Eur J Oral Sci.* 2000;108(1):43-7.
- Dos Santos JN, Oliveira GQ, Gurgel CA, de Souza RO, Sales CB, de Aguiar Pires Valença Neto A, et al. Altered expression of cytokeratins in primary, recurrent and syndrome keratocystic odontogenic tumors. *J Mol Histol.* 2009;40(4):269-75.
- Ebenezer V, Ramalingam B. A cross-sectional survey of prevalence of odontogenic tumours. *J Maxillofac Oral Surg.* 2011;9(4):369–74.

- El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ. HO Classification of Head and Neck Tumours. 4th Edition. Lyon France: IARC; 2017. Cap 8, pp 222-6.
- Etemad-Moghadam S, Alaeddini M. A comparative study of syndecan-1 expression in different odontogenic tumors. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2017;7(1):23-6.
- Eversole LR, Tomich CE, Cherrick HM. Histogenesis of odontogenic tumors. *Oral Surg.* 1971;32:569-81.
- Farias JG, Souza RCA, Hassam SF, Cardoso JA, Ramos TCF, Santos HKA. Epidemiological study of intraosseous lesions of the stomatognathic or maxillo-mandibular complex diagnosed by a Reference Centre in Brazil from 2006-2017. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2019;57(7):632-7.
- Friedrich RE, Siegert J, Donath K, Jäkel KT. Recurrent ameloblastic fibro-odontoma in a 10-year-old boy. *J Oral Maxillofac Surg.* 2001;59(11):1362-6.
- Gao Z, Mackenzie IC, Cruchley AT, Williams DM, Leigh I, Lane EB. Cytokeratin expression of the odontogenic epithelia in dental follicles and developmental cysts. *J Oral Pathol Med.* 1989;18(2):63-7.
- Gilani SM, Raza A, Al-Khafaji BM. Ameloblastic fibrosarcoma: a rare malignant odontogenic tumor. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis.* 2014;131(1):53-6.
- Gomes da Silva W, Ribeiro Bartholomeu Dos Santos TC, Cabral MG, Azevedo RS, Pires FR. Clinicopathologic analysis and syndecan-1 and Ki-67 expression in calcifying cystic odontogenic tumors, dentinogenic ghost cell tumor, and ghost cell odontogenic carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2014;117(5):626-33.
- Gómez-Herrera Z, Molina-Frechero N, Damián-Matsumura P, Bologna-Molina R. Proteoglycans as potential biomarkers in odontogenic tumors. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2018;22(1):98-103.
- Gorlin R J, Meskin LH, Brodey R. Odontogenic tumors in man and animals: pathologic classification and clinical behavior. *Ann N Y Acad Sci.* 1963;108:722-71.
- Günhan O, Erseven G, Ruacan S, Celasun B, Aydintug Y, Ergun E, et al. Odontogenic tumours. A series of 409 cases. *Aust Dent J.* 1990;35(6):518-22.
- Hamamoto Y, Nakajima T, Ozawa H, Uchida T. Production of amelogenin by enamel epithelium of Hertwig's root sheath. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996;81(6):703-9.

- Heikinheimo K, Hormia M, Stenman G, Virtanen I, Happonen RP. Patterns of expression of intermediate filaments in ameloblastoma and human fetal tooth germ. *J Oral Pathol Med.* 1989;18(5):264-73.
- Heikinheimo K , Jee KJ, Niini T, Aalto Y, Happonen RP, Leivo I, et al. Gene expression profiling of ameloblastoma and human tooth germ by means of a cDNA microarray. *J Dent Res.* 2002;81:525-30.
- Hidalgo-Sánchez O, Leco-Berrocal MI, Martínez-González JM. Metaanalysis of the epidemiology and clinical manifestations of odontomas. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2008;13(11):E730-4.
- Hunter KD, Speight PM. The diagnostic usefulness of immunohistochemistry for odontogenic lesions. *Head Neck Pathol.* 2014;8(4):392-9.
- Inage T, Shimokawa H, Teranishi Y, Iwase T, Toda Y, Moro I. Immunocytochemical demonstration of amelogenins and enamelin secreted by ameloblasts during the secretory and maturation stages. *Arch Histol Cytol.* 1989;52(3):213-29.
- Inki P, Jalkanen M. Regulation of cell morphology and growth by syndecan-1: altered expression in malignancy. *The Cytoskeleton: A Multi-Volume Treatise.* 1996;3:305-24.
- James R, Bradshaw RA. Polypeptide growth factors. *Annu Rev Biochem.* 1984;53(1):259-92.
- Jernvall J, Thesleff I. Reiterative signaling and patterning during mammalian tooth morphogenesis. *Mech Dev.* 2000;92(1):19-29.
- Juuri E, Isaksson S, Jussila M, Heikinheimo K, Thesleff I. Expression of the stem cell marker, SOX2, in ameloblastoma and dental epithelium. *Eur J Oral Sci.* 2013;121(6):509-16.
- Kasper M, Karsten U, Stosiek P, Moll R. Distribution of intermediate-filament proteins in the human enamel organ: unusually complex pattern of coexpression of cytokeratin polypeptides and vimentin. *Differentiation.* 1989;40(3):207-14.
- Kaugars GE, Zussmann HW. Ameloblastic odontoma (odonto-ameloblastoma). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1999;71(3):371-3.
- Kero D, Kalibovic Govorko D, Vukojevic K, Cubela M, Soljic V, Saraga-Babic M. Expression of cytokeratin 8, vimentin, syndecan-1 and Ki-67 during human tooth development. *J Mol Histol.* 2014;45(6):627-40.
- Kirjavainen A, Tuovinen V, Sándor GK. Large ameloblastic fibro-odontoma in a 7-year-old girl with analysis of 108 cases. *Ann Maxillofac Surg.* 2016;6(1):15-20.

- Kjellén L, Lindahl U. Proteoglycans: structures and interactions. *Annu Rev Biochem. Review. Erratum in: Annu Rev Biochem.* 1992;61: VIII.
- Kramer IRH, Pindborg JJ, Shear M. WHO Histological Typing of Odontogenic Tumours. Second Edition. Berlin. Springer-Verlag. 1992.
- Kumamoto H. Molecular pathology of odontogenic tumors. *J Oral Pathol Med.* 2006;35(2):65-74.
- Kurimoto T, Yamanishi T, Takeshi Harada T, Keiko Matsuoko K, Uematsu S, Yamamoto Y, et al. Differential diagnosis of ameloblastic fibro-odontoma: case report and literature review. *J Oral Pathol Med.* 2019;31(1):38-42.
- Lima-Verde-Osterne R, Turatti E, Cordeiro-Teixeira R, Barroso-Cavalcante R. The relative frequency of odontogenic tumors: A study of 376 cases in a Brazilian population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2017;22(2):e193-e200.
- Lu Y, Xuan M, Takata T, Wang C, He Z, Zhou Z, et al. Odontogenic tumors. A demographic study of 759 cases in a Chinese population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;86(6):707-14.
- Manzon S, Philbert RF, Bush BF, Zola MB, Solomon M. Treatment of a recurrent ameloblastic fibroma. *N Y State Dent J.* 2015;81(1):30-2.
- Martínez-Mata G, Mosqueda-Taylor A, Carlos-Bregni R, de Almeida OP, Contreras-Vidaurre E, Vargas PA, et al. Odontogenic myxoma: clinicopathological, immunohistochemical and ultrastructural findings of a multicentric series. *Oral Oncol.* 2008;44(6):601-7.
- Martínez Martínez M, Sánchez Romero C, Rumayor Piña A, Palma Guzmán JM, de Almeida OP. Pigmented ameloblastic fibro-odontoma: clinical, histological, and immunohistochemical profile. *Int J Surg Pathol.* 2015;23(1):52-60.
- Mascitti M, Togni L, Troiano G, Caponio VCA, Sabatucci A, Balercia A, et al. Odontogenic tumours: a 25-year epidemiological study in the Marche region of Italy. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2020;277(2):527-38.
- Migaldi M, Sartori G, Rossi G, Cittadini A, Sgambato A. Tumor cell proliferation and microsatellite alterations in human ameloblastoma. *Oral Oncol.* 2008;44(1):50-60.
- Mikami T, Ohashi Y, Bologna-Molina R, Mosqueda-Taylor A, Fujiwara N, Tsunoda N, et al. Primordial Odontogenic Tumor: A case report with histopathological analyses. *Pathol Int.* 2017;67(12):638-43.

- Miyauchi M, Takata T, Ogawa I, Ito H, Nikai H, Ijuhin N, et al. Immunohistochemical observations on a possible ameloblastic fibro-odontoma. *J Oral Pathol Med.* 1996;25(2):93-6.
- Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell.* 1982;31(1):11-24.
- Montilla G, Rivera H. Odontogenic tumors: a clinicopathological analysis in a Venezuelan population. *J Oral Pathol and Med.* 2004;33:478.
- Mori M, Yamada K, Kasai T, Yamada T, Shimokawa H, Sasaki S. Immunohistochemical expression of amelogenins in odontogenic epithelial tumours and cysts. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1991;418(4):319-25.
- Mosqueda-Taylor A, Ledesma-Montes C, Caballero-Sandoval S, Portilla-Robertson J, Ruíz-Godoy Rivera LM, Meneses-García A. Odontogenic tumors in Mexico: a collaborative retrospective study of 349 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997;84(6):672-5.
- Mosqueda-Taylor A, Carlos-Bregni R, Ramírez-Amador V, Palma-Guzmán JM, Esquivel-Bonilla D, Hernández-Rojase LA. Odontoameloblastoma. Clinicopathologic study of three cases and critical review of the literature. *Oral Oncol.* 2002;38(8):800-5.
- Mosqueda-Taylor A. New findings and controversies in odontogenic tumors. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2008;13(9):E555-8.
- Muica Nagy-Bota MC, Pap Z, Denes L, Ghizdavăț A, Brînzaniuc K, Lup Coșarcă AS, et al. Immunohistochemical study of Ki67, CD34 and p53 expression in human tooth buds. *Rom J Morphol Embryol.* 2014;55(1):43-8.
- Muller S, Parker DC, Kapadia SB, Budnick SD, Barnes EL. Ameloblastic fibrosarcoma of the jaws. A clinicopathologic and DNA analysis of five cases and review of the literature with discussion of its relationship to ameloblastic fibroma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1995;79(4):469-77.
- Nanci A, Ten Cate, AR. Chapter 5: Development of the tooth and its supporting tissues. *Ten Cate's oral histology: Development, structure, and function.* 8th Ed. St. Louis, Mo: Mosby; 2003: Pp 70-94.
- Nel S, Van Heerden MB, Steenkamp G, Van Heerden WF, Boy SC. Immunohistochemical profile of odontogenic epithelium in developing dog teeth (*Canis familiaris*). *Vet Pathol.* 2011;48(1):276-82.


- Nieves S, Apellaniz D, Tapia G, Maglia A, Mosqueda-Taylor, Bologna-Molina R. Citoqueratinas 14 y 19 en quistes y tumores de origen odontogénico: Una revisión. *Odontoestomatol.* 2014;16(24), 45-55.
- Ochsenius G, Ortega A, Godoy L, Peñafiel C, Escobar E. Odontogenic tumors in Chile: a study of 362 cases. *Oral Pathol Med.* 2002;31(7):415-420.
- Odukoya O. Odontogenic tumors: analysis of 289 Nigerian cases. *J Oral Pathol Med.* 1995;24(10):454-7.
- Papagerakis P, Peuchmaur M, Hotton D, Ferkdadji L, Delmas P, Sasaki S, et al. Aberrant gene expression in epithelial cells of mixed odontogenic tumors. *J Dent Res.* 1999;78(1):20-30.
- Pereira NB, de Souza JC, Bastos VC, Fonseca FP, de Avelar GF, Castro WH, et al. Patient-derived xenografts of a case of ameloblastic fibrodentinoma. *Oral Dis.* 2019; 25(4):1229-33.
- Philipsen HP, Reichart PA, Praetorius F. Mixed odontogenic tumours and odontomas. Considerations on interrelationship. Review of the literature and presentation of 134 new cases of odontomas. *Oral Oncol.* 1997;33(2):86-99.
- Piattelli A, Trisi P. Morphodifferentiation and histodifferentiation of the dental hard tissues in compound odontoma: a study of undemineralized material. *J Oral Pathol Med.* 1992;21(8):340-2.
- Pindborg JJ, Kramer IRH. Histological typing of odontogenic tumours, jaw cysts, and allied lesions. *International histological classification of tumors.* 1st Edition. Ginebra Switzerland: Roto-Sadag S.A. 1971; pp:1-44.
- Pippi R. Odontomas and Supernumerary Teeth: Is There a Common Origin? *Int J Med Sci.* 2014; 11(12):1282-97.
- Regezi JA, Kerr DA, Courtney RM. Odontogenic tumors: analysis of 706 cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 1978;36(10):771-8.
- Reichart PA, Philipsen HP. *Odontogenic tumors and allied lesions.* London: Quintessence Publishing Co. Ltd. 2004. pp.189-97.
- Reichart PA, Jundt G. Benign "mixed" odontogenic tumors. *Pathologe.* 2008;29(3):189-98.
- Riddett SA. A composite odontoma at a very early age. *Br Dent J.* 2004; 77:129-31.
- Rincon JC, Young WG, Bartold PM. The epithelial cell rests of Malassez a role in periodontal regeneration? *J Periodontal Res.* 2006;41(4):245-52.

- Ruoslahti E, Yamaguchi Y. Proteoglycans as modulators of growth factor activities. *Cell*. 1991;64(5):867-9.
- Saghraivanian N, Jafarzadeh H, Bashardoost N, Pahlavan N, Shirinbak I. Odontogenic tumors in an Iranian population: a 30-year evaluation. *J Oral Sci*. 2010;52(3):391-6.
- Sanadi A, Shah SJ, Golgire S, Shetti S. Highly Proliferative Ameloblastic Fibroma: A Rare Entity. *Contemp Clin Dent*. 2018;9(4):656-8.
- Sano K, Yoshida S, Ninomiya H, Ikeda H, Ueno K, Sekine J, et al. Assessment of growth potential by MIB-1 immunohistochemistry in ameloblastic fibroma and related lesions of the jaws compared with ameloblastic fibrosarcoma. *J Oral Pathol Med*. 1998;27(2):59-63.
- Santos JN, Pinto LP, de Figueredo CR, de Souza LB. Odontogenic tumors: analysis of 127 cases. *Pesqui Odontol Bras*. 2001;15(4):308-13.
- Sawyer DR, Nwoku AL, Mosadomi A. Recurrent ameloblastic fibroma. Report of two cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1982;53(1):19-23.
- Sekerci AE, Nazlim S, Etoz M, Deniz K, Yasa Y. Odontogenic tumors: a collaborative study of 218 cases diagnosed over 12 years and comprehensive review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2014;20: e34–e44.
- Seti n-Olarra A, Marichalar-Mendia X, Bediaga NG, Aguirre-Echebarria P, Aguirre-Urizar JM, Mosqueda-Taylor A. MicroRNAs expression profile in solid and unicystic ameloblastomas. *PLoS One*. 2017;12(10):e0186841.
- Sharma PN, Ranka RK, Chaudhary MS, Gawande MN, Hande AH, Zade PF. Odontogenic tumors: A review of 93 cases in the Vidharba region of Maharashtra. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2020;24(1):185.
- Silva AR, Carlos-Bregni R, Vargas PA, de Almeida OP, Lopes MA. Peripheral developing odontoma in newborn. Report of two cases and literature review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2009;1;14(11):e612-5.
- Singh J, Singh B, Saigal RK. Ameloblastic fibroma. Case report. *Aust Dent J*. 1975;20(5):281-2.
- Singla M, Verma KG, Goyal T, Kakkar A, Ahuja L. Compound odontoma in primary dentition-A case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2107;3(1), 62-4.
- Siriwardena BS, Tennakoon TM, Tilakaratne WM. Relative frequency of odontogenic tumors in Sri Lanka: Analysis of 1677 cases. *Pathol Res Pract*. 2012;208(4):225-30.

- Siriwardena BS, Crane H, O'Neill N, Abdelkarim R, Brierley DJ, Franklin CD, et al. Odontogenic tumors and lesions treated in a single specialist oral and maxillofacial pathology unit in the United Kingdom in 1992-2016. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2019;127(2):151-66.
- Slavkin HC. Embryonic tooth formation. A tool for developmental biology. *Oral Sci Rev.* 1974;4(0):7-136.
- Slavkin, HC, Cummings E, Bringas P, Honig LS. Epithelial-derived basal lamina regulation of mesenchymal cell differentiation. *Prog Clin Biol Res.* 1982; 85:249-59.
- Slootweg PJ. Epithelio-mesenchymal morphology in ameloblastic fibro-odontoma: a light and electron microscopic study. *J Oral Pathol.* 1980;9(1):29-40.
- Slootweg PJ. An analysis of the interrelationship of the mixed odontogenic tumors ameloblastic fibroma, ameloblastic fibro-odontoma, and the odontomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1981;51(3):266-76.
- Sousa FB, Etges A, Corrêa L, Mesquita RA, de Araújo NS. Pediatric oral lesions: a 15-year review from São Paulo, Brazil. *J Clin Pediatr Dent.* 2002;26(4):413-8.
- Takata T, Zhao M, Nikai H, Uchida T, Wang T. Ghost cells in calcifying odontogenic cyst express enamel-related proteins. *Histochem J.* 2000;32(4):223-9.
- Takata T, Slootweg PJ. Introduction. WHO Classification of odontogenic and maxillofacial bone tumours. In: El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ. (Eds). *WHO Classification of Head and Neck Tumours (4th edition)*. IARC. Lyon. 2007. Pp: 205.
- Takeda Y, Kaneko R, Suzuki A. Ameloblastic fibrosarcoma in the maxilla, malignant transformation of ameloblastic fibroma. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1984;404(3):253-63.
- Tamme T, Soots M, Kulla A, Karu K, Hanstein SM, Sökk A, et al. Odontogenic tumours, a collaborative retrospective study of 75 cases covering more than 25 years from Estonia. *J Craniomaxillofac Surg.* 2004;32(3):161-5.
- Tanaka M, Sawamoto O. Spontaneous ameloblastic fibroma in a young Guinea pig. *J Toxicol Pathol.* 2013;26(3):325-8.
- Tawfik MA, Zyada MM. Odontogenic tumors in Dakahlia, Egypt: analysis of 82 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;109(2):e67-73.
- Thesleff I, Vaahtokari A, Kettunen P, Aberg T. Epithelial-Mesenchymal Signaling during Tooth Development. *Connect Tissue Res.* 1995;32(1-4):9-15.

- Thesleff I, Sharpe P. Signalling networks regulating dental development. *Mech Dev.* 1997;67(2):111-23.
- Uchida T, Tanabe T, Fukae M. Immunocytochemical localization of amelogenins in the deciduous tooth germs of the human fetus. *Arch Histol Cytol.* 1989;52(5):543-52.
- Vainio S, Lehtonen E, Jalkanen M, Bernfield M, Saxén L. Epithelial-mesenchymal interactions regulate the stage-specific expression of a cell surface proteoglycan, syndecan, in the developing kidney. *Dev Biol.* 1989;134(2):382-91.
- Vered M, Fowler CB, Neville B. Odontoma. En: El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ. *WHO Classification of Head and Neck Tumours.* 4th Edition. Lyon France: IARC; 2017. Cap 8, pp 224-5.
- Wright JM, Soluk Tekkesin M. Odontogenic tumors: where are we in 2017? *J Istanbul Univ Fac Dent.* 2017;51(3):S10-S30.
- Wright JM, Vered M. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Odontogenic and Maxillofacial Bone Tumors. *Head Neck Pathol.* 2017;11(1):68-77.
- Yagishita H, Taya Y, Kanri Y, Matsuo A, Nonaka H, Fujita H, et al. The secretion of amelogenins is associated with the induction of enamel and dentinoid in an ameloblastic fibro-odontoma. *J Oral Pathol Med.* 2001;30(8):499-503.
- Yamada KM. Cell surface interactions with extracellular materials. *Annu Rev Biochem.* 1983; 52:761-99.
- Yan Z, Chen G, Yang Y, Sun L, Jiang Z, Feng L, et al. Expression and roles of syndecan-4 in dental epithelial cell differentiation. *Int J Mol Med.* 2014;34(5):1301-8
- Yoshida M, Kumamoto H, Ooya K, Mayanagi H. Histopathological and immunohistochemical analysis of calcifying odontogenic cysts. *J Oral Pathol Med.* 2001;30(10):582-8.
- Yoshida M, Kumamoto H, Ooya K, Mayanagi H. Immunohistochemical Analysis of Benign Mixed and Mesenchymal Odontogenic Tumors. *Oral Med Pathol.* 2003;8(4), 125-13.
- Zakaraia S, Almohareb M, Zaid K, Doumani M, Seirawan MY. Amelogenin is a Potential Biomarker for the Aggressiveness in Odontogenic Tumors. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2018;19(5):1375-9.
- Zallen R, Preskar M, McClary S. Ameloblastic fibroma. *J Oral Maxillofac Surg.* 1982;40:513-7.

9. ANEXO

 INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS Caracterización y comparación inmuno-histomorfológica de los tumores odontogénicos mixtos			
N° de biopsia:	Centro de referencia: () SP-CDMX ₁ , UAM-X ₂ , FOBrasil ₃ , Puebla ₄	Sexo: () M ₁ , H ₂	Edad:
Características histopatológicas	Diagnóstico: () FA ₁ , FDA ₂ , FOA ₃ , OA ₄ , Odcompl ₅ , Odcompu ₆	Disposición del componente epitelial: () NE ₀ , yemas ₁ , islas ₂ , cordones ₃ , mantos ₄ , plexiformes ₅ , mixto ₆ ,	Disposición del componente epitelial periférico: () NE ₀ , cuboidal ₁ , cilindrico ₂ , mixto ₃
	Empalizada del componente epitelial periférico: () No ₁ , si ₂	Componente epitelial central: () NE ₀ , retículo estrellado ₁ , acantomatoso ₂ , mixto ₃ ,	Presencia de células fantasma: () No ₀ , si ₁
	Celularidad interacción epitelio-mesénquima: () Cuboidal bajo ₁ , cuboidal alto ₂ , cuboidal con polaridad inversa ₃ , células aplanadas (fibroblastos) ₄	Mesénquima con inducción de dentina o material dentinoide: () No ₁ , si ₂	Dentinoide/dentina con inducción de esmalte: () No ₁ , si ₂
Evaluación IHQ			
CK14 POSITIVIDAD Epitelio central: () Epitelio periférico: () No ₀ , si ₁ PORCENTAJE: () INTENSIDAD: () <5% de células (negativo) ₀ , 5-50% de células (baja intensidad) ₁ ; >50% de células (alta intensidad) ₂	CK19 POSITIVIDAD Epitelio central: () Epitelio periférico: () No ₀ , si ₁ PORCENTAJE: () INTENSIDAD: () <5% de células (negativo) ₀ , 5-50% de células (baja intensidad) ₁ ; >50% de células (alta intensidad) ₂	Amelogenina POSITIVIDAD Epitelio central: () Epitelio periférico: () No ₀ , si ₁ PORCENTAJE: () INTENSIDAD: () <5% de células (negativo) ₀ , 5-50% de células (baja intensidad) ₁ ; >50% de células (alta intensidad) ₂	Syndecan-1 POSITIVIDAD Epitelio: () Mesénquima: () No ₀ , si ₁ PORCENTAJE Epitelio: () Mesénquima: () INTENSIDAD: () <5% de células (negativo) ₀ , 5-50% de células (baja intensidad) ₁ ; >50% de células (alta intensidad) ₂
*M=mujer; H= hombre; FA= Fibroma ameloblástico; FDA= Fibrodentinoma ameloblástico; FOA= Fibro-odontoma ameloblástico; OA= Odontoma complejo; ODCm= Odontoma compuesto; NE= no evaluable; IHQ= inmunohistoquímica;			