



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

**ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO E HISTOQUÍMICO DE LOS
ELEMENTOS CELULARES Y EXTRACELULARES
RELACIONADOS CON LA EXPANSIÓN DE QUERATOQUISTES
ODONTOGÉNICOS Y QUISTES DENTÍGEROS CON Y SIN
PROCESO INFLAMATORIO**

Idónea Comunicación de Resultados

Para obtener el grado de

Maestra en Patología y Medicina Bucal

P R E S E N T A

C.D. Angela Vianeth Ordaz Arango

COMITÉ TUTORIAL

Co-Director: M. en C. Adalberto A. Mosqueda Taylor

Co-Director: Dr. Ronell E. Bologna Molina

Asesora: Dra. María Esther Irigoyen Camacho

Asesora externa: Dra. Celeste Sánchez Romero

Ciudad de México; Mayo, 2021.

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

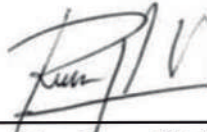
El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la
Unidad Xochimilco aprobó la ICR que presentó:

Angela Vianeth Ordaz Arango

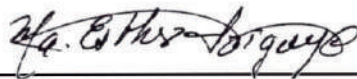
COMITÉ TUTORIAL



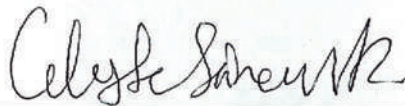
Co-Director: M.en C. Adalberto A. Mosqueda Taylor



Co-Director: Dr. Ronell E. Bologna Molina

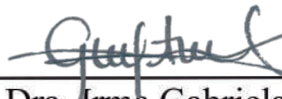


Asesora: Dra. María Esther Irigoyen Camacho



Asesora externa: Dra. Celeste Sánchez Romero

Jurado:



Presidenta: Dra. Irma Gabriela Anaya Saavedra



Secretaria: Dra. Jessica Lissete Maldonado Mendoza



Vocal interna: Dra. Martha Beatriz González Guevara



Vocal externo: Dr. Eugenio Deister Mateos

ÍNDICE	Pág.
Abreviaturas	I
Índice de Cuadros	III
Índice de Figuras	IV
Resumen	V
1. Introducción	6
2. Antecedentes	6
2.1 Queratoquiste odontogénico	7
2.2 Quiste dentígero.....	9
2.3 Epidemiología y origen de quistes odontogénicos	11
2.4 Factores involucrados en la alteración de la interfaz epitelio-mesénquima en quistes odontogénicos.....	12
2.4.1 Disposición y madurez de las fibras de colágena en quistes odontogénicos del desarrollo.....	17
2.4.2 La inflamación en quistes odontogénicos del desarrollo.....	18
2.4.3 Angiogénesis en quistes odontogénicos del desarrollo	19
2.5 Marcadores de proliferación celular MCM-2 y Ki-67.....	22
2.6 Marcadores vasculares CD105 y CD34.....	23
2.7 Histoquímica.....	24
2.7.1 Rojo picrosirio.....	24
3. Pregunta de investigación.....	26
4. Planteamiento del problema.....	26
5. Justificación	27
6. Objetivos	27

6.1	Objetivo general.....	27
6.2	Objetivos específicos.....	27
7.	Materiales y métodos.....	28
7.1	Diseño del estudio.....	28
7.1.1	Cálculo y tamaño de muestra	28
7.2	Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.....	29
7.3	Criterios diagnósticos	30
7.4	Técnica de inmunohistoquímica e histoquímica.....	30
7.4.1	Inmunohistoquímica	30
7.4.2	Histoquímica.....	31
7.5	Análisis inmunohistoquímico.....	32
7.5.1	Descripción de análisis inmunohistoquímico en epitelio de revestimiento en quistes odontogénicos del desarrollo.....	33
7.5.2	Descripción de análisis inmunohistoquímico en la cápsula de quistes odontogénicos del desarrollo.....	33
7.6	Análisis histoquímico.....	34
7.6.1	Descripción de análisis histoquímico en tejido fibroconectivo capsular en quistes odontogénicos del desarrollo.....	34
7.7	Operacionalización de variables.....	35
7.8	Análisis estadístico.....	35
8.	Consideraciones Bioéticas	37
9.	Resultados	38
9.1	Características clínicas y demográficas.....	38

9.1.1	Análisis inmunohistoquímico Ki-67 y MCM-2 en QOQ y QD con y sin proceso inflamatorio.....	38
9.1.2	Análisis inmunohistoquímico CD34 y CD105 en QOQ y QD con y sin proceso inflamatorio	38
9.1.3	Correlación de la expresión de marcadores de proliferación y angiogénesis en QOQ y QD con y sin inflamación.....	39
9.1.4	Análisis histoquímico con rojo picrosirio y luz polarizada.....	39
9.1.5	Correlación de la expresión de marcadores de proliferación y madurez de las fibras de colágena en QOQ y QD con y sin inflamación.....	40
9.1.6	Correlación de la expresión de marcadores de angiogénesis y madurez de las fibras de colágena en QOQ y QD con y sin inflamación.....	40
10.	Discusión.....	53
11.	Conclusiones y perspectivas.....	61
12.	Referencias.....	63
13.	Anexos.....	80
Anexo 1.	Criterios diagnósticos según Shear y Speight (2007) y OMS (2017).....	81
Anexo 2.	Ficha de recolección de datos	82
Anexo 3.	Características clínicas y demográficas de los quistes incluidos en este estudio.....	83

Abreviaturas

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AM	Ameloblastoma
ASM	Ameloblastoma Sólido Multiquístico
AMV	Área media vascular
ATV	Área total vascular
AU	Ameloblastoma Uniquístico
CA	Carcinoma Ameloblastico
CD105	Glicoproteína de membrana celular (Endoglina)
FD	Folículo dentario
GP	Granuloma Piógeno
I	Inflamado
Ig A	Inmunoglobulina A
Ig G	Inmunoglobulina G
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
MCM	Mantenimiento de minimicrosomas
MEC	Matriz extracelular
MMP	Metaloproteinasas de matriz
MNM	Media de número de microvasos
MDV	Microdensidad vascular
MDVI	Microdensidad vascular intratumoral
NI	No inflamado

OMS	Organización Mundial de la Salud
PCNA	Antígeno nuclear celular proliferativo
PGE2	Prostaglandina E2
PMN	Polimorfonucleares
RNS	Especies Reactivas de Nitrógeno
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
RPS	Rojo picrosirio
QD	Quiste dentífero
QO	Quistes odontogénicos
QOO	Queratoquiste odontogénico
QR	Quiste radicular
TNF	Factor de necrosis tumoral
TOA	Tumor odontogénico adenomatoide
UAM-X	Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco
UACH	Universidad Autónoma de Chihuahua
UNICAMP	Universidad Estatal de Campinas

ÍNDICE DE CUADROS	Pág.
Cuadro 1. Clasificación de los quistes odontogénicos intra-óseos de acuerdo a su origen.....	7
Cuadro 2. Frecuencia relativa de los principales quistes odontogénicos a nivel internacional.....	13
Cuadro 3. Características de los anticuerpos utilizados en el análisis inmunohistoquímico.....	31
Cuadro 4. Operacionalización de variables.....	36
Cuadro 5. Comparación de la expresión de marcadores inmunohistoquímicos en QO y QD con y sin presencia de inflamación.....	41
Cuadro 6. Comparación de la expresión de marcadores inmunohistoquímicos en quistes del desarrollo inflamados.....	42
Cuadro 7. Comparación de la expresión de marcadores inmunohistoquímicos en quistes no inflamados.....	42
Cuadro 8. Correlación ρ (rho) ^a entre los marcadores inmunohistoquímicos en queratoquistes odontogénicos y quistes dentígeros inflamados y no inflamados.....	43
Cuadro 9. Evaluación histoquímica mediante la tinción de rojo picrosirio (RPS) con luz polarizada en quistes odontogénicos del desarrollo inflamados y no inflamados.....	44
Cuadro 10. Correlación ρ (rho) ^a entre los marcadores inmunohistoquímicos de proliferación celular (Ki-67/ MCM-2) y reacción histoquímica de rojo picrosirio (RPS) en fibras de colágena de la cápsula en queratoquistes odontogénicos y quistes dentígeros inflamados y no inflamados.....	45
Cuadro 11. Resultados de correlación ρ (rho) ^a entre los marcadores inmunohistoquímicos de angiogenesis (CD34/CD105) y reacción histoquímica de rojo picrosirio (RPS) en fibras de colágena de la cápsula en queratoquistes odontogénicos y quistes dentígeros inflamados y no inflamados.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Tamaño de muestra de QO incluidos para el análisis de variables de este estudio.....	29
Figura 2.	Formato de gradilla utilizada para colocar en fotomicrografía para conteo celular y orden de evaluación de los hallazgos.....	47
Figura 3.	Muestra de fotomicrografía para la secuencia de conteo desde el recuadro superior izquierdo al superior derecho.....	47
Figura 4.	Fotomicrografía de QO, se observa el conteo total de las células en el revestimiento quístico a 400X (Ki-67) con ImageJ.....	48
Figura 5.	Fotomicrografía de QO, conteo de células positivas a Ki-67 en el revestimiento quístico a 400X con ImageJ.....	48
Figura 6.	Fotomicrografía de QD inflamado a 400X CD34 en cápsula quística.....	49
Figura 7.	Fotomicrografía de QD inflamado a 400X CD105 en cápsula quística.....	49
Figura 8.	Fotomicrografía de QO sin pérdida de la continuidad epitelial RPS (100X).....	50
Figura 9.	Fotomicrografía RPS en QO con luz polarizada. Se identifica zona, disposición de fibras colágena y tipo de birrefringencia (100X).....	50
Figura 10.	Fotomicrografía comparativa a 400X inmunexpresión de marcadores de proliferación celular Ki-67 y MCM-2 en QO. A) QQOI Ki-67, B) QDI Ki-67, C) QQONI MCM-2, D) QDNI MCM-2.....	51
Figura 11.	Fotomicrografía comparativa a 400X inmunexpresión de marcadores de angiogénesis CD34 y CD105 en QO. A) QQOI CD34, B) QDI CD105, C) QQONI CD105, D) QDNI CD34.....	52

Resumen

Introducción. Los quistes odontogénicos del desarrollo, en particular los queratoquistes odontogénicos (QOO) y quistes dentígeros (QD), frecuentemente presentan características clínicas e imagenológicas similares, aunque poseen un comportamiento biológico distinto. Su origen y mecanismos de expansión involucran elementos celulares y extracelulares en el revestimiento epitelial y en su cápsula, los cuales pueden verse modificados por la inflamación.

Objetivo. Identificar la posible asociación entre la presencia de inflamación y la expresión inmunohistoquímica de marcadores de proliferación celular (Ki-67 y MCM-2) y de angiogénesis (CD34 y CD105), así como la distribución y madurez de fibras colágenas estudiadas por histoquímica de rojo picrosirio (RPS) en QOO y QD.

Método. Estudio transversal, descriptivo y retrolectivo, en el que se comparó el índice de proliferación celular (Ki-67, MCM-2), la angiogénesis (CD34 y CD105) y la distribución y maduración de las fibras de colágeno (RPS) en QOO y QD, con y sin presencia de inflamación. Para el análisis estadístico se utilizó el programa *JMP*, se realizaron pruebas de Kruskal-Wallis, multiniveles, prueba de correlación Pearson y Spearman ($p \leq 0.05$).

Resultados. Se incluyeron 70 quistes odontogénicos (35 QOO y 35 QD), los QOO presentaron una mayor expresión de Ki-67 ($p < 0.001$). El análisis de correlación entre los marcadores de proliferación y angiogénesis mostró que al aumentar la angiogénesis (CD34) en QDI, se incrementa el índice de proliferación (Ki-67). La correlación entre MCM-2 y Ki-67 en los QOOI confirma que ambos marcadores de proliferación presentan índices elevados. Por otra parte, los QOOI presentaron correlación entre Ki-67/MCM-2 con la birrefringencia verde-amarillenta (BV-A), lo que sugiere que al incrementarse el índice proliferativo existe un mayor porcentaje de fibras inmaduras tipo III (BV-A). También se observó correlación entre los marcadores de angiogénesis (CD34/CD105) y la BV-A en QOOI, lo que indica que al incrementar la vascularidad, aumentan las fibras inmaduras tipo III.

Conclusiones. La inflamación favorece la proliferación epitelial y la angiogénesis, sin que ello signifique necesariamente que influya hacia una mayor agresividad de las lesiones, ya que la capacidad intrínseca de proliferación epitelial está determinada más por la naturaleza y el comportamiento biológico distinto de las entidades estudiadas. Los resultados del presente estudio sugieren que la inflamación crónica en los QD propicia la maduración de las fibras de colágena, mientras que en QOO la producción de fibras inmaduras se induce por un crecimiento quístico continuo, corroborado con su índice de proliferación mayor al del QD.

1. Introducción

Un quiste se define como una cavidad patológica que presenta un contenido fluido, semifluido o gaseoso, la cual no es creada por acumulación de pus (Kramer, 1974). La mayoría de los quistes de la región bucal y maxilofacial están revestidos por epitelio, pero existen algunos, tales como el quiste de extravasación mucosa de las glándulas salivales, el quiste óseo aneurismático y el quiste óseo solitario que están desprovistos de revestimiento epitelial.

En esta región anatómica se reconocen cuatro tipos de quistes de acuerdo a su origen y localización:

- Quistes odontogénicos
- Quistes no odontogénicos de los maxilares
- Quistes de tejidos blandos
- Quistes no epiteliales (Shear & Speight, 2007)

A nivel intra-óseo los quistes odontogénicos (QO) son los que se presentan con mayor frecuencia. Actualmente la Organización Mundial de la Salud (OMS) los clasifica de acuerdo a su origen en inflamatorios y del desarrollo (Cuadro 1).

2. Antecedentes

Los QO del desarrollo son lesiones que afectan al esqueleto maxilofacial y/o tejidos blandos que los revisten, y pueden surgir del epitelio reducido del órgano del esmalte, los restos de Serres o de la lámina dental pre-funcional (Güler y cols., 2012). También se ha considerado al epitelio gingival como una fuente potencial de origen de este tipo de quistes, así como de algunos tumores odontogénicos a nivel extra-óseo o periférico (Dayan y cols., 1988; Ide y cols., 2002; Shear y Speight., 2007).

Cuadro 1. Clasificación de los quistes odontogénicos intra-óseos de acuerdo a su origen*

Quistes inflamatorios	Quistes del desarrollo
<ul style="list-style-type: none"> - Radicular (apical o periapical) / residual - Quistes colaterales inflamatorios: <ol style="list-style-type: none"> 1. Paradental 2. Mandibular bucal de la bifurcación 	<ul style="list-style-type: none"> -Quiste dentífero -Queratoquiste odontogénico -Quiste lateral periodontal/ botriode odontogénico -Quiste odontogénico glandular (sialo-odontogénico) -Quiste odontogénico calcificante -Quiste odontogénico ortoqueratinizado

*El-Naggar KA, Chan KC, Grandis R; Takata T SP. WHO Classification of Head and Neck Tumours. 4th edition. Lyon. 2017.

El QD en conjunto con el QGO constituyen la mayoría de quistes del desarrollo, y a pesar que el primero se inicia a partir de la activación de mecanismos hemodinámicos relacionados a incapacidad eruptiva, el segundo se origina por activación de restos de la lámina dental y ambos pueden presentar características clínicas e imagenológicas comunes.

2.1 Queratoquiste odontogénico

El QGO es una lesión que con frecuencia se presenta en la segunda y tercera décadas de la vida, con una incidencia ligeramente mayor en hombres, involucrando al cuerpo y rama ascendente de la mandíbula en aproximadamente el 80% de los casos, y relacionado la mayor parte de las veces, a uno o varios dientes retenidos (Browne, 1975; Shear & Speight., 2007; El-Naggar y cols., 2017).

Histológicamente se caracteriza por presentar una cápsula delgada de tejido fibroconectivo en la que ocasionalmente se observan islas de epitelio odontogénico y formación de microquistes; el revestimiento está conformado por epitelio escamoso estratificado libre de procesos interpapilares, con superficie ondulada paraqueratinizada, el cual presenta 5 a 8 capas de espesor y cuya capa basal exhibe células cuboidales a columnares dispuestas en empalizada, a menudo desprendida de la cápsula (Brannon, 1977; Woolgar y cols., 1987). La forma de queratinización es exclusivamente paraqueratinizada en un 80-90% de los casos (Brannon, 1977; Cohen y Shear, 1980).

El QOO es una lesión quística localmente agresiva, con tasas de recurrencia del 2.5% al 62.5% (Bell y cols., 2003; Shear & Speight, 2007; Khan y cols., 2019; Vallejo y cols., 2020; Borrás y cols., 2020). Entre las posibles causas de esta gran variabilidad se encuentra la presencia de islas epiteliales o quistes satélites en la cápsula, los cuales pueden quedar retenidos después de la enucleación o la marsupialización de la lesión, así como factores intrínsecos al quiste, como el elevado índice de proliferación celular de su revestimiento epitelial, la delgadez de su cápsula, lo que favorece su ruptura y dificulta la eliminación de la lesión en su totalidad, aunado a la producción de colagenasas que rompen la unión epitelial-capsular, lo que favorece la persistencia de epitelio en el lecho quirúrgico (Shear & Speight., 2007; Mendes y cols., 2010).

Este quiste suele ser asintomático, por lo que algunas veces se desconoce su existencia hasta que produce expansión, fractura patológica, o cuando es descubierto como hallazgo radiográfico. En la imagenología puede aparecer como un área radiolúcida bien delimitada con márgenes escleróticos, los que algunas veces son festoneados y sugieren una actividad

de crecimiento desigual (Browne, 1970; McIvor, 1972; Smith y Shear, 1978; Forssell, 1988).

Se han sugerido diversos mecanismos para explicar su crecimiento, el cual está dado principalmente por la alta proliferación celular del revestimiento epitelial, aunque otros factores juegan un papel importante en su expansión, tales como la presión osmótica, exudado inflamatorio (en pocos casos está presente), actividad de metaloproteinasas de matriz y prostaglandinas, angiogénesis y algunas interleucinas, principalmente la interleucina-1 (IL-1) (Harris y Toller, 1975; Meghji y cols., 1989; Man y cols., 2018).

Si bien los QO no son de origen inflamatorio, se ha estudiado el efecto que poseen algunos mediadores de la inflamación sobre su morfofisiología, en especial la IL-1 y el factor de necrosis tumoral (TNF); así, algunos estudios refieren los efectos de la presión positiva generada por la expansión quística para la expresión de IL-1 α , metaloproteinasas de matriz (MMPs) y prostaglandina E₂ (PGE₂) en la cápsula del QO y sugieren que dicha presión estimula la producción de citocinas inflamatorias, mismas que tendrían un papel importante en el crecimiento quístico y resorción ósea (Harvey y cols., 1984; Meghji y cols., 1989; Oka y cols., 2005; Sá y cols., 2017; Man y cols., 2018).

2.2 Quiste dentígero

El QD es el quiste de desarrollo más común (Shear and Speigh., 2007; Lin y cols., 2013; Zerrin y cols., 2014), se encuentra en relación a la corona de un diente no erupcionado, y su crecimiento se basa en la expansión de su folículo y acumulación de transudado entre éste y la superficie del esmalte. Se presenta con mayor frecuencia en la segunda y tercera décadas

de la vida, con predilección por el sexo masculino, y los dientes mas comúnmente afectados son el tercer molar mandibular, seguido por el canino permanente superior, los premolares mandibulares y el tercer molar maxilar, así como por dientes supernumerarios (Shear & Speigh., 2007; Lin y cols., 2013).

Clínicamente es una lesión asintomática y de crecimiento lento que genera expansión y deformidad local, pero que con frecuencia se descubre como hallazgo radiográfico al evaluar algún diente no erupcionado (Zerrin y cols., 2014; Lin y cols., 2013), observándose como un área radiolúcida unilocular asociada con la corona del diente involucrado, con márgenes escleróticos bien definidos.

Histológicamente presenta una cápsula fibrosa frecuentemente mixoide, formada por fibroblastos jóvenes ampliamente separados por cantidades variables de sustancia fundamental rica en mucopolisacáridos, la cual es derivada del folículo dental (Shear & Speight, 2007). El revestimiento epitelial consiste de 2-3 capas de células planas o cuboidales que corresponden al epitelio reducido del órgano del esmalte, el que ocasionalmente puede presentar células mucosecretoras, células ciliadas y no es raro que presente metaplasia escamosa en parte o la totalidad del revestimiento, mientras que en la cápsula fibrosa es común el hallazgo de nidos, islas o cordones de epitelio odontogénico inactivo, así como ocasionales focos de mineralización distrófica y cuerpos hialinos de Rushton en zonas de inflamación (Lin y cols., 2013; Thompson, 2018).

El QD se desarrolla por la acumulación de fluido entre el folículo dental y la superficie de la corona, y se ha sugerido como posible explicación de su origen a que la presión ejercida

por un diente en vías de erupción sobre el folículo dental es una fuerza capaz obstruir el flujo venoso, lo que induce la transudación a través de las paredes capilares, causando que este fluido plasmático (transudado) se acumule en el sitio de menor resistencia tisular, que es la unión del epitelio reducido del esmalte y la superficie coronal, y como consecuencia de esto el incremento de la presión hidrostática inicia el proceso de expansión (Main, 1970).

Por su parte, Browne sugirió que además del fluido que contiene el QD en algunos casos se puede encontrar exudado, el cual proviene de los vasos presentes en la cápsula fibrosa del quiste cuando el folículo está inflamado, lo que pudiese jugar un papel adicional en la expansión del mismo (Browne, 1975). Las células epiteliales descamadas y las células inflamatorias dentro de la cavidad quística se transforman en proteínas solubles, las que en conjunto a otros componentes similares (p.ej. el exudado celular y las inmunoglobulinas) pueden contribuir al aumento de la presión osmótica, incrementando la cantidad de líquido atraído hacia el interior de la cavidad y acrecentando la presión hidrostática sobre las paredes óseas, lo que estimula la síntesis y activación de diversos factores de resorción (Harris y Toller, 1975; Shear y Speight, 2007).

2.3 Epidemiología y origen de los quistes odontogénicos

Diversos estudios han reportado que el quiste radicular (QR), el quiste dentígero (QD) y el queratoquiste odontogénico (QOO) representan en conjunto más del 80% de todos los quistes odontogénicos (QO), como se muestra en el cuadro 2.

En el cuadro 2 se observa el total de lesiones quísticas estudiadas a nivel internacional, donde se identifica que en países primermundistas como Australia, Cánada y Reino Unido presentan un mayor registro del total de la muestra; entre los estudios agregados el porcentaje va del 66.5 al 97.5 % de lesiones quísticas odontogénicas en las que se incluye al QOO y QD. Es importante mencionar que en México los estudios son del año 2000, 2002 y 2017, por lo tanto se requiere de un mayor control en el registro y seguimiento para datos de prevalencia en nuestro país.

2.4 Factores involucrados en la alteración de la interfaz epitelio-mesénquima en quistes odontogénicos del desarrollo

La interacción entre el epitelio y el tejido conectivo juega un papel importante en la patogénesis de los quistes odontogénicos, ya que se ha demostrado que la expansión implica, entre otros procesos, la proliferación epitelial, acumulación de contenido, degradación de la matriz ósea y generación de factores activadores de osteoclastos, así como modificaciones en los componentes de la matriz extracelular (MEC) (Hirshberg y cols., 1999; Aggarwal y cols., 2011; Shetty y cols., 2015).

La proliferación en el revestimiento epitelial es indispensable para el crecimiento de los quistes odontogénicos, pero el tejido conectivo capsular se puede considerar como una parte funcional del quiste y no solo como un apoyo estructural, y por lo tanto, ambos componentes desempeñan un papel interactivo en la patogénesis y en el comportamiento biológico de estas entidades y aunque son histomorfológicamente distintos, constituyen estructuras interdependientes (Vij y cols., 2011; Kaijkar y cols., 2014; Shetty y cols., 2015).

Cuadro 2. Frecuencia relativa de los principales quistes odontogénicos a nivel internacional

Autores y año	País	n	Quiste radicular		Quiste dentígero		Queratoquiste		Total	
			n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Shear y cols. 1978	Sudáfrica	3,498	1,825	(52.2)	599	(17.1)	355	(10.2)	2,779	(79.5)
Daley y cols. 1994	Canadá	6,879	4,468	(65.1)	1,622	(24.0)	335	(4.9)	6,425	(94.0)
Ledesma-Montes y cols. 2000	México	304	118	(38.8)	108	(35.5)	57	(18.8)	283	(93.1)
Mosqueda-Taylor y cols. 2002	México	856	342	(39.9)	283	(33.0)	184	(21.5)	809	(94.4)
Jones y cols. 2006	Reino Unido	7,121	3,724	(52.3)	1,292	(18.1)	828	(11.6)	5,844	(82.0)
Ochsenius y cols. 2007	Chile	2,944	1,494	(50.7)	546	(18.5)	42	(14.3)	2,082	(66.5)
Grossmann y cols.2007	Brasil	2,812	1,772	(61.0)	735	(23.5)	208	(7.2)	2,715	(91.7)
Tortorici y cols. 2008	Italia	1,273	1,107	(84.5)	149	(11.4)	17	(1.3)	1,273	(97.2)
Avelar y cols. 2009	Brasil	507	265	(2.2)	156	(30.7)	0	(0)	421	(82.9)
Tekkesin y cols. 2011	Turquía	5,003	2,802	(52.0)	529	(10.3)	1,048	(20.6)	4,379	(83.0)
Sharifian y cols. 2011	Irán	1,227	465	(37.8)	303	(24.7)	239	(19.4)	1,007	(81.9)
Souza y cols. 2010	Brasil	1,019	626	(61.4)	205	(0.1)	65	(6.4)	896	(87.9)
Manor y cols. 2012	Israel	322	155	(48.0)	80	(25.0)	23	(7.0)	258	(80.0)
Açikgöz y cols. 2012	Turquía	452	251	(54.7)	122	(26.6)	15	(3.3)	388	(84.6)
Johnson y cols. 2013	Australia	18,297	9,982	(54.6)	3,772	(20.6)	2,145	(11.7)	15,899	(86.9)
Khosravi y cols. 2013	Irán	1,603	563	(35.1)	413	(25.7)	362	(22.5)	1,338	(83.3)
Del Corso y cols. 2014	Italia	1,117	538	(47.3)	120	(10.6)	193	(17.0)	851	(74.9)
Lei y cols. 2014	Taiwan	255	209	(81.9)	21	(8.2)	7	(2.7)	237	(92.8)
Kambalimath y cols. 2014	India	150	73	(48.6)	26	(17.3)	12	(8.0)	111	(73.9)
Jaeger y cols. 2017	Brasil	4,920	2,594	(65.9)	978	(24.8)	268	(6.8)	3,840	(97.5)
Villasis y cols. 2017	México	753	408	(54.1)	309	(41.0)	0	(0)	717	(95.1)
de Silva y cols. 2018	Brasil	294	145	(46.8)	93	(30.0)	22	(7.1)	260	(83.9)
Silva y cols. 2018	Brasil	491	268	(54.6)	26	(5.4)	72	(14.7)	366	(74.7)
Bath y cols. 2019	India	125	76	(60.8)	28	(22.4)	17	(13.6)	121	(96.8)
Kammer y cols. 2019	Brasil	406	187	(46.1)	57	(14.0)	61	(15.0)	305	(75.1)
Tamiolakis y cols. 2019	Grecia	5,294	3,035	(57.3)	766	(14.5)	436	(8.2)	4,237	(80.0)
Hosgor y cols. 2019	Corea	475	216	(63.7)	77	(22.6)	23	(6.7)	340	(92.8)
Joseph y cols. 2019	Kuwait	158	37	(23.4)	48	(35.3)	24	(15.2)	109	(73.9)
Aquilanti y cols. 2020	Italia	2,150	1,216	(56.6)	502	(23.4)	227	(12.9)	1,945	(92.9)

El papel que juega la MEC en la patogénesis y el comportamiento de las lesiones quísticas odontogénicas sugiere que existe una relación compleja entre el epitelio y el mesénquima, pero aún no se comprende completamente la función de este último para mantener al tejido epitelial. Diversos autores mencionan que Syndecan-1 (CD138) es un proteoglicano que interviene en el mantenimiento del contacto intercelular e interactúa con la MEC, incluyendo colágeno tipos I, III, V, fibronectina, tenascina y laminina, ya que se cree que funciona como un receptor de matriz que traduce información entre la MEC y el epitelio. Asimismo, la evidencia sugiere que la pérdida de la expresión de Syndecan-1 es un indicador pronóstico desfavorable en neoplasias epiteliales y en quistes odontogénicos al facilitar la separación intercelular y la posible invasión del epitelio a la cápsula y tejidos adyacentes (Bologna-Molina y cols., 2009; Aggarwal y cols., 2011; Al-Otaibi y cols., 2013; Shetty y cols., 2015; Brito y cols., 2018; Hammad y cols., 2020).

En las dos últimas décadas se publicaron algunos estudios dirigidos a conocer los índices de proliferación celular mediante el análisis de PCNA y Ki-67 en el revestimiento epitelial del QO y otras lesiones quísticas como QD y QR, los cuales confirman un índice de proliferación mucho mayor en el QO; además, los QO muestran mayor expresión suprabasal en comparación con QD y QR, lo que apoya el concepto de un comportamiento más agresivo (Orgen y cols., 1992; Li y cols., 1996; Paula y cols., 2000; de Oliveira y cols., 2008).

Güler y cols. (2012), compararon la proliferación epitelial y su asociación con la presencia de inflamación en quistes odontogénicos (QR, QD y QO) y folículos dentales (FD) mediante la expresión de Ki-67 y MCM-2, y encontraron una diferencia significativa en la

expresión de MCM-2 en QR y QOO ($p < 0.01$), y sugieren que el factor inflamatorio promueve una mayor sensibilidad en la expresión de MCM-2 en comparación con Ki-67.

Brito y cols. (2018), analizaron la expresión de Ki-67, Syndecan-1 y la tríada molecular RANK, RANKL y OPG en 22 QOO, 19 ameloblastomas unicuísticos (AU) y 17 QD, y encontraron una mayor expresión de Ki-67 en QOO en comparación con AU ($p < 0.001$), lo que les hizo sugerir que la mayor tasa de proliferación observada en QOO podría estar relacionada con su continuo crecimiento a nivel medular intraóseo, mientras que la mayor expresión de RANKL tanto en la cápsula como en el revestimiento epitelial, en conjunto con la reducción de la expresión de Syndecan-1 registrados en AU, podrían estar asociados con un mayor potencial invasivo y destructivo en comparación con QOO y QD.

Estudios dirigidos a evaluar el papel de elementos extracelulares como las metaloproteinasas de matriz (MMPs) han demostrado que MMP-2 y MMP-9 están presentes en la cápsula de las lesiones quísticas odontogénicas, así como en las células del revestimiento epitelial. Teronen y cols. (1995), observaron MMPs en los extractos tisulares de los quistes radiculares, dentígeros y queratoquistes, y sugirieron que tanto MMP-2 como MMP-9 presentaban una alta actividad proteolítica y podrían jugar un papel activo en favorecer la expansión quística (Teronen y cols., 1995). Otros autores también consideran que los mecanismos de crecimiento, invasión y el potencial destructivo resultante de algunos quistes y tumores odontogénicos podrían estar influenciados por la producción de MMPs, y que la expresión elevada de MMP-9 en el componente mesenquimal del QOO contribuye al comportamiento más agresivo de esta lesión y promueve la degradación de la matriz extracelular, mientras que la mayor expresión de MMP-9 en el revestimiento

epitelial puede ser responsable de la degradación de la membrana basal (de Oliveira y cols., 2014). De igual forma, otros investigadores también encontraron mayor expresión de MMP-9 en la cápsula fibrosa de QO en comparación con QD y QR, lo que sugiere que la expresión de MMP-9 en el componente mesenquimatoso de los QO contribuye a su comportamiento más agresivo en comparación con otras lesiones quísticas (de Andrade Santos y cols., 2011; Silveira y cols., 2007).

Por otra parte, existen estudios que sugieren que la angiogénesis juega un papel importante en la patogénesis de quistes y tumores odontogénicos; al respecto, Aleaddini y cols. (2009), evaluaron la microdensidad vascular (MDV) mediante la expresión de CD34 en 53 lesiones odontogénicas (20 QO, 13 QD y 20 ameloblastomas (AM)), y reportaron una expresión significativamente mayor de MDV en AM y QO, así como una mayor expresión de CD34 en QO y QD, lo que sugiere que la angiogénesis puede contribuir a un comportamiento biológico más agresivo de QO y AM. Por su parte, Gadbail y cols. (2013), compararon la angiogénesis mediante la expresión de CD105 en 36 QO, 28 AM y 28 QD, encontrando una diferencia significativa entre AM y QO, así como entre QO y QD, tanto en área vascular total (AVT) como área media vascular (AMV); sin embargo, no encontraron diferencias de MDV entre el AM y QO, lo que también sugiere que la mayor angiogénesis presente en QO y AM podría contribuir al comportamiento biológico localmente agresivo de estas lesiones (Gadbail y cols., 2013).

2.4.1 Disposición y madurez de las fibras de colágena en quistes odontogénicos del desarrollo

En un estudio dirigido a evaluar la estructura y disposición de las fibras de colágena en la cápsula de 15 QO, 15 QD y 15 QR con la tinción de rojo picrosirio (RPS), Hirshberg y cols. (1999), observaron un predominio de birrefringencia verde a amarillo verdoso de las fibras de los casos analizados, reportando datos similares a los de Mahajan y cols. (2013), quienes evaluaron las fibras de colágeno en QO, QD, QR y tumor odontogénico adenomatoide (TOA) y observaron un predominio de fibras con birrefringencia verde a amarillo verdoso en QO y TOA en comparación con el QD y QR. A diferencia de las fibras con birrefringencia roja (fibras compactas y más gruesas), las fibras con birrefringencia verde o amarillo verdoso corresponden a fibras inmaduras, delgadas y poco empaquetadas, debido posiblemente a que están compuestas de procolágenos, colágenos intermedios o colágenos patológicos, principalmente en QO, lo que sugiere una mayor actividad del estroma (Hirshberg y cols., 1999; Mahajan y cols., 2013).

En un estudio realizado en la India, se comparó la disposición y tipo de fibras de colágeno en 15 QO y 15 AM, reportando birrefringencia variable en el tejido fibroconectivo de las lesiones analizadas, en las que la cantidad de fibras de color amarillo verdoso fue similar en ambas lesiones, y por lo tanto, infirieron que el QO tiene una estructura capsular similar al estroma del AM. Sin embargo, las áreas alejadas del epitelio quístico en los QO presentaron aumento en las fibras de color amarillento-anaranjado densamente empaquetadas, mientras que los casos de AM mostraron fibras de color amarillo verdoso sueltas, lo que sugiere que la producción de fibras inmaduras en el QO es menor en comparación con la del AM (Peddapelli y cols., 2019).

2.4.2 La inflamación en los quistes odontogénicos del desarrollo

Algunos estudios sugieren que la inflamación afecta la patogénesis, el potencial proliferativo y la diferenciación del revestimiento epitelial en QOO y QD, todo ello provocado por la liberación de citocinas y factores de crecimiento que además de modificar al epitelio promueven la proliferación de fibroblastos y la producción de matriz extracelular (MEC), alterando su comportamiento biológico (Rodu y cols., 1987; de Paula y cols., 2000; Hirshberg y cols., 2007). Sheedhar y cols. (2014), analizaron el efecto de dicho fenómeno sobre el comportamiento biológico de QOO y QD usando un marcador de proliferación celular (PCNA) y otro antiapoptótico (Bcl-2) en ambos tipos de quistes, inflamados y no inflamados, divididos en 4 grupos de 10 casos (20 QOO y 20 QD). La presencia de inflamación se asoció con un incremento significativo en la expresión de PCNA en comparación con los no inflamados, por lo que concluyeron que la presencia de este factor podría influir en el cambio del comportamiento biológico del QOO (Sreedhar y cols., 2014).

La inflamación es responsable de la liberación de diversas moléculas, como las metaloproteinasas de matriz (MMPs), que además de su acción colagenolítica, modifican el revestimiento quístico epitelial (Kumamoto y cols., 2003). Las MMPs promueven el movimiento celular al realizar la hidrólisis de cadherinas, que son proteínas de unión intercelular. Las MMPs 3, 7 y 9 rompen el dominio extracelular de E-cadherina, estimulando el movimiento celular, la invasión y proliferación (Pereira y cols., 2016). La mayor expresión de MMP-9 en la cápsula fibrosa de QOO en comparación con QD podría estar asociada con la regulación de factores implicados en la proliferación y migración celular, entre otras funciones que favorecen la mayor agresividad del QOO (De Andrade

Santos y cols., 2011). Ribeiro y cols., mencionan que la identificación de estas proteínas y sus funciones podría servir para proporcionar información sobre el comportamiento de estas lesiones y podría auxiliar a identificar en un futuro posibles blancos terapéuticos (Ribeiro y cols., 2012). Meghji y cols. (1989), demostraron una actividad significativa de IL-1 en cápsulas de quistes odontogénicos, asociándola a favorecer su expansión.

En un estudio dirigido a conocer el efecto de la inflamación sobre la pared de QOO por medio de la evaluación de fibras de colágena teñidas con RPS, Hirshberg y cols. (2007), seleccionaron 50 casos de QOO e investigaron el efecto de la inflamación sobre la disposición de las fibras de colágena, concluyendo que la inflamación sí tiene un impacto en el empaquetamiento de las mismas en la pared del QOO, ya que en presencia de inflamación intensa, el porcentaje de fibras con birrefringencia verde disminuye, pero aumenta la proporción de fibras con birrefringencia roja, las cuales corresponden a fibras compactas y más gruesas (Hirshberg y cols., 2007).

2.4.3 Angiogénesis en quistes odontogénicos del desarrollo

La angiogénesis es un proceso en el cual se producen vasos sanguíneos nuevos que surgen de la vasculatura preexistente, en el que las células endoteliales degradan la membrana basal de los microvasos secretando enzimas proteolíticas, incluidas las MMPs (Ruíz y cols., 2010). Es un elemento importante en muchos procesos biológicos, ya que el estroma es esencial para el mantenimiento del tejido epitelial a través del diálogo molecular continuo, pues es uno de los factores más conocidos que participan en la progresión tumoral (Jamshidi y cols., 2017).

La proteína CD105 es un marcador de neovascularización con especificidad que otros marcadores para identificar la vasculatura tumoral recién formada, y que se ha correlacionado con la supervivencia en pacientes con cáncer de pulmón, carcinoma hepatocelular y carcinoma de mama, así como tumores metastásicos de mama y colorrectal (Duff y cols., 2003; Nassiri y cols., 2011; Tabdir y cols., 2012; Kumar y cols., 2015; González-Galván y cols., 2015; Jamshidi y cols., 2017). Adicionalmente, el marcador pan-endotelial CD34 se expresa en las células endoteliales de los vasos sanguíneos sin distinguir entre los vasos sanguíneos recién formados y los maduros, pero su papel más importante reside en la evaluación de la MDV (Seifi y cols., 2011; Jamshidi y cols., 2017).

Dado que la expresión de CD105 ocurre principalmente en células endoteliales de vasos sanguíneos recién formados, como los que rodean y permean tumores sólidos, tales como cáncer de próstata y mama, es considerado un marcador de utilidad para cuantificar la microdensidad de vasos intratumorales (MDVI), siendo más específico en comparación con otras moléculas panendoteliales como CD34, CD31 y factor VIII (Weidner y cols., 1991; Fonsatti y cols., 2003).

La expansión del QD ocurre como resultado de la acumulación de líquido en la cavidad quística debido a fenómenos hemodinámicos de transudación, sin que hasta la fecha se haya determinado con precisión el posible papel que pudiese jugar la angiogénesis. Al respecto, Gabbail y cols. (2011), compararon la angiogénesis (CD105) con la actividad proliferativa (Ki-67) en 38 QO y 27 QD, y observaron que CD105 se expresó con mayor frecuencia en QO en comparación con QD, por lo que sugieren que la angiogénesis puede estar

asociada con la mayor actividad proliferativa epitelial y por ende con el comportamiento biológico localmente agresivo del QO.

Otro estudio realizado en Irán en el 2013 evaluó la expresión de CD34 en 20 QO inflamados, 20 QO no inflamados y 20 QR, y se encontró mayor expresión en QO en comparación con QR ($p < 0.001$) pero no entre QO inflamado y no inflamado, lo que sugiere que no hay diferencia en cuanto a la expresión de vasos maduros en dichas lesiones (Alaeddini y cols., 2013). Jamshidi y cols. (2014), evaluaron 10 QO y 30 AM y observaron una mayor MDV en AM con CD105 y CD34 ($p = 0.005$, $p < 0.0001$, respectivamente) por lo que sugieren que la angiogénesis podría ser uno de los mecanismos que puede contribuir a que algunas lesiones tengan un compartamiento más agresivo (Jamshidi y cols., 2014), lo cual confirmaron posteriormente al comparar la expresión de CD34 y CD105 en 15 casos de QO y 15 QD, en los que observaron que la MDV fue significativamente más alta en QO en comparación con QD ($p < 0.05$) (Jamshidi y cols., 2017).

Un estudio interesante realizado por González Galván y cols. (2015), en el que compararon la MDV mediante la expresión de CD105 en folículos dentales (elementos relacionados en estructura a la cápsula del QD) y mixomas odontogénicos, concluyó que la expresión fue similar en ambas entidades cuando los mixomas eran pequeños (< 3 cm), pero fue significativamente menor en los mixomas mayores a 3 cm, lo que sugiere que la proliferación vascular juega un papel limitado en los mecanismos de crecimiento tardío y en el comportamiento agresivo de esta neoplasia, pero es fundamental para el inicio de la misma y para el mantenimiento de la actividad resorptiva del FD.

2.5 Marcadores de proliferación celular MCM-2 y Ki-67

Las proteínas de mantenimiento de minicromosomas (MCM) comprenden alrededor de 10 polipéptidos expresados durante la mitosis, los cuales se degradan y juegan un papel crítico en el inicio de la síntesis y replicación de ADN que debe preceder a cada división celular para que su expresión se correlacione con la proliferación, y entre estas destacan seis proteínas conocidas como MCM-2 a MCM-7 (Vargas y cols., 2008; Soares y cols., 2011).

MCM-2 es un marcador nuclear específico que se expresa en la replicación celular durante la mitosis. La expresión de MCM-2 podría ser más específica que otros marcadores de proliferación (Vargas y cols., 2008; Soares y cols., 2011; Güler y cols., 2012), y ha sido considerado como marcador diagnóstico, pronóstico y de comportamiento biológico en estudios sobre diversas lesiones, tales como leucoplasia verrugosa proliferativa, displasia epitelial leve, moderada y severa, así como en carcinoma de células escamosas y en neoplasias benignas y malignas de glándulas salivales (Vargas y cols., 2008; Gouvêa y cols., 2010; Zakaria y cols., 2016).

También ha sido estudiado en algunos quistes odontogénicos, entre los que se incluyen QD, QR y QQO, y su expresión se ha comparado con la de Ki-67 en FD y en los quistes odontogénicos antes mencionados, encontrando que es significativamente mayor en QQO y QR ($p < 0.01$) asociados a inflamación, lo que sugiere que MCM-2 es un marcador de proliferación epitelial más sensible ante la presencia de inflamación, lo que podría estar relacionado a la diferente expresión de Ki-67 y MCM-2 durante el ciclo celular (Kodani y cols., 2001 y 2003; Gouvêa y cols., 2010; Güler y cols., 2012), ya que mientras que Ki-67 se expresa en las fases activas del ciclo celular (G2, S, G1 y mitosis); MCM-2 se expresa en

todo el ciclo celular, incluyendo G0 (Scholzen y cols., 2000; Cabbar y cols., 2008; de Vicente y cols., 2010; Razavi y cols., 2015; Niranján y cols., 2018).

2.6 Marcadores vasculares CD105 y CD34

La proteína CD105, también conocida como endoglina, es una glicoproteína de membrana celular homodimérica, que presenta dos isoformas (L y S) con la capacidad de unirse al factor de crecimiento transformante beta (TGF- β). Las células endoteliales de los vasos sanguíneos son la fuente principal de CD105 (Duff y cols., 2003; Tadbir y cols., 2012), la cual modula la angiogénesis al regular la proliferación, diferenciación y migración celular, por lo que esta proteína desempeña un papel importante como marcador de neovascularización (Tadbir y cols., 2012; González-Galván y cols., 2015), y tiene por lo tanto una mayor especificidad para demostrar la vasculatura tumoral recién formada que los marcadores pan-endoteliales CD31, CD34 y Factor VIII (Duff y cols., 2003; Tadbir y cols., 2012; Kumar y cols., 2015; Jamshidi y cols., 2017). Se ha comprobado el papel de CD105 como marcador confiable para cuantificar la densidad de microvasos intratumorales en tumores sólidos y hematopoyéticos, incluidos el cáncer de mama, próstata, cervical, colorectal, cáncer de pulmón y en mieloma múltiple (Fonsatti y cols., 2003).

La proteína CD34 es una glucoproteína monomérica transmembranosa de la superficie celular que se expresa en las células endoteliales (Jamshidi y cols., 2017); sin embargo, no suele distinguir entre los vasos sanguíneos recién formados y los vasos maduros, mientras que CD105 se expresa únicamente en vasos que se encuentran en angiogénesis activa; sin embargo, esta disminuye para permitir la estabilización del vaso y el reclutamiento de células murales (maduración del vaso) (Seifi y cols., 2011; Ollauri-Ibáñez y cols., 2020).

La interacción entre el epitelio odontogénico y el componente mesenquimatoso en los quistes y tumores odontogénicos juega un papel fundamental en su formación, por lo que se considera que la cantidad y densidad de los vasos sanguíneos presentes en la cápsula de los quistes podrían estar relacionadas a la capacidad de crecimiento y proliferación de su epitelio mediante el adecuado suministro de oxígeno y nutrientes (De Andrade Santos y cols., 2011; Jamshidi y cols., 2017). Se ha observado una mayor MDV en el AM, especialmente con CD34 ($p < 0.001$), al compararlo con la vascularidad de los QO y AM (Jamshidi y cols., 2014). Posteriormente, el mismo grupo de trabajo iraní evaluó la MDV en QO y QD con ambos marcadores, obteniendo una mayor expresión en QO en comparación con QD ($p < 0.05$), notando también que la MDV obtenida por CD34 fue significativamente mayor que la registrada con CD105 ($p < 0.05$), con lo que concluyen que la angiogénesis podría ser uno de los mecanismos implicados en el comportamiento biológico más agresivo de las lesiones estudiadas (Jamshidi y cols., 2014; Jamshidi y cols., 2017).

2.7 Histoquímica

2.7.1 Rojo picrosirio

El rojo picrosirio (RPS) es una tinción histoquímica comúnmente utilizada para visualizar el grosor y la disposición del colágeno en secciones de tejido incluidas en parafina. Se ha utilizado en microscopía de luz estándar o luz polarizada, en la que da como resultado diversos patrones de birrefringencia de las fibras de colágeno. Es importante señalar que esta tinción no solo caracteriza el colágeno de manera específica de acuerdo a su tipo, sino que también muestra muy claramente su disposición dentro de diversas estructuras normales y patológicas (Aggarwal y cols., 2011; Vogel y cols., 2015).

El colágeno intersticial presenta moléculas que son ricas en aminoácidos básicos que reaccionan fuertemente con los colorantes ácidos como RPS. El mecanismo de tinción y la cuantificación de la birrefringencia, así como las condiciones para una tinción óptima son: influencia de la fijación, concentración del colorante, concentración de ácido pícrico, tiempo de tinción, pH y lavado. Las fibras colágenas han sido estudiadas por Junqueira y cols., quienes demostraron que la birrefringencia observada es específica para la detección de colágenos tipos I, II y III (Junqueira y cols., 1979; Junqueira y cols., 1982). El colágeno tipo I se muestra grueso, fuertemente birrefringente, amarillo o rojo, mientras que el colágeno tipo II, presente en los cartílagos hialinos y elásticos, muestra una birrefringencia débil con un color variable, y el colágeno tipo III aparece delgado, débilmente birrefringente, con fibras verdosas que podrían identificarse como fibras reticulares (Junqueira y cols., 1982).

Se ha analizado el carácter de las fibras de colágeno mediante la tinción de RPS y su evaluación con luz polarizada en algunos quistes odontogénicos y si su morfología pudiese estar asociada con factores relacionados a su expansión. Al respecto, Hirshberg y cols. (2007), observaron predominio de fibras con birrefringencia verde en QOO, lo cual sugiere que el colágeno que se encuentra en QOO está poco ordenado, suele ser inmaduro y estar compuesto de procolágeno, colágenos intermedios o patológicos en lugar de las fibras compactas que se observan en los QD y QR (Hirshberg y cols., 2007). Posteriormente estos autores analizaron 50 QOO inflamados, clasificados en 3 grupos dependiendo el grado de inflamación (leve, moderada y severa), para determinar el posible efecto de la misma sobre el epitelio de revestimiento y el empaquetamiento de las fibras de colágeno a nivel capsular, y encontraron que además de presentarse un cambio en el epitelio, al pasar de

paraqueratinizado a no queratinizado en todos los casos, se observó disminución de birrefringencia verde-amarillenta y aumento de birrefringencia roja en las fibras colágenas esto en asociación a inflamación severa, por lo que sugieren que tanto el epitelio como las fibras de colágeno se ven afectadas por la inflamación (Adyanthaya y cols., 2011).

3. Pregunta de investigación

¿Existe asociación entre la presencia de inflamación y la expresión de marcadores de proliferación celular y de angiogénesis, así como entre esta y la madurez de la colágena en queratoquistes odontogénicos y quistes dentígeros?

4. Planteamiento del problema

Los quistes odontogénicos son la principal causa de destrucción del esqueleto maxilofacial, y a menudo presentan dificultades diagnósticas porque en ocasiones pueden presentar similitudes histomorfológicas entre sí, por lo que su identificación requiere de una adecuada correlación clínico-patológica, debido a que su comportamiento biológico es distinto. Un factor que modifica las características de estas lesiones es la presencia de inflamación, la cual interviene como un elemento que altera tanto la tasa de proliferación celular del epitelio quístico, como su aspecto histomorfológico, haciendo en ocasiones difícil diferenciarlas. La inflamación también puede alterar la formación de los elementos extracelulares de la cápsula fibrosa, lo que podría impactar en su potencial de crecimiento. Adicionalmente, se ha sugerido que la angiogénesis actúa sobre factores que pudiesen estar implicados en los mecanismos de expansión de este tipo de lesiones.

5. Justificación

El estudio inmunohistoquímico e histoquímico de las lesiones quísticas odontogénicas con y sin inflamación podría representar un elemento útil para evaluar las diferencias histomorfológicas entre los QD y los QOO. Se ha sugerido que el índice de proliferación celular, la angiogénesis, y la estructura y disposición de las fibras de colágena capsulares pueden generar cambios que afectan su comportamiento biológico. Por lo anterior, se realizó un estudio en los quistes odontogénicos del desarrollo más frecuentes (QD y QOO) con el propósito de comparar la expresión de marcadores de proliferación y vascularización en lesiones con y sin la presencia de inflamación, así como evaluar la disposición y grado de maduración de las fibras de colágeno en ellas. Esta información contribuirá a una mejor comprensión del papel que juegan dichos factores en la patogénesis, conducta biológica e histomorfología de estos quistes odontogénicos, todo ello como elemento de apoyo para el diagnóstico y para determinar la mejor elección terapéutica.

6. Objetivos

6.1 Objetivo general

Identificar la asociación entre la presencia de inflamación y la expresión inmunohistoquímica de marcadores de proliferación celular (Ki-67 y MCM-2), de angiogénesis (CD34 y CD105) e histoquímica (rojo picrosirio) en elementos celulares y extracelulares de queratoquistes odontogénicos y quistes dentígeros.

6.2 Objetivos específicos

- Comparar la inmunoexpresión de Ki-67, MCM-2, CD34 y CD105 en QOO y QD con y sin presencia de infiltrado inflamatorio.

- Identificar la correlación entre la inmunoexpresión de Ki-67, MCM-2, CD34 y CD105 en QO y QD con y sin presencia de infiltrado inflamatorio.
- Comparar el grado de madurez del tejido fibroso capsular mediante evaluación histoquímica con RPS en QO y QD, con y sin presencia de infiltrado inflamatorio.
- Identificar la correlación entre la inmunoexpresión de Ki-67, MCM-2, CD34 y CD105 y el grado de madurez del tejido fibroso capsular mediante evaluación histoquímica con RPS en QO y QD con y sin presencia de infiltrado inflamatorio.

7. Materiales y métodos

7.1 Diseño de estudio

Estudio de corte transversal, descriptivo y retrolectivo, que se desarrolló con muestras histológicas de casos provenientes de dos servicios de diagnóstico histopatológico de la Ciudad de México (Laboratorio de Patología Bucal de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco y el Servicio de Diagnóstico en Patología Bucal y Maxilofacial Peribact) recibidas de 2013 a 2018.

7.1.1 Cálculo y tamaño de muestra

Se utilizaron los datos del estudio de Güler y cols. (2012), sobre los promedios de expresión de MCM-2 para quiste dentígero y queratoquiste con el propósito de calcular el número de quistes que se requerían para analizar en el estudio (Figura 1).

7.2 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

Criterios de inclusión

Lesiones quísticas que cumplan con los criterios histológicos para diagnóstico de QD y QOO publicados en la más reciente clasificación de tumores de cabeza y cuello de la OMS (2017) y con los criterios sugeridos por Shear y Speight (2007).

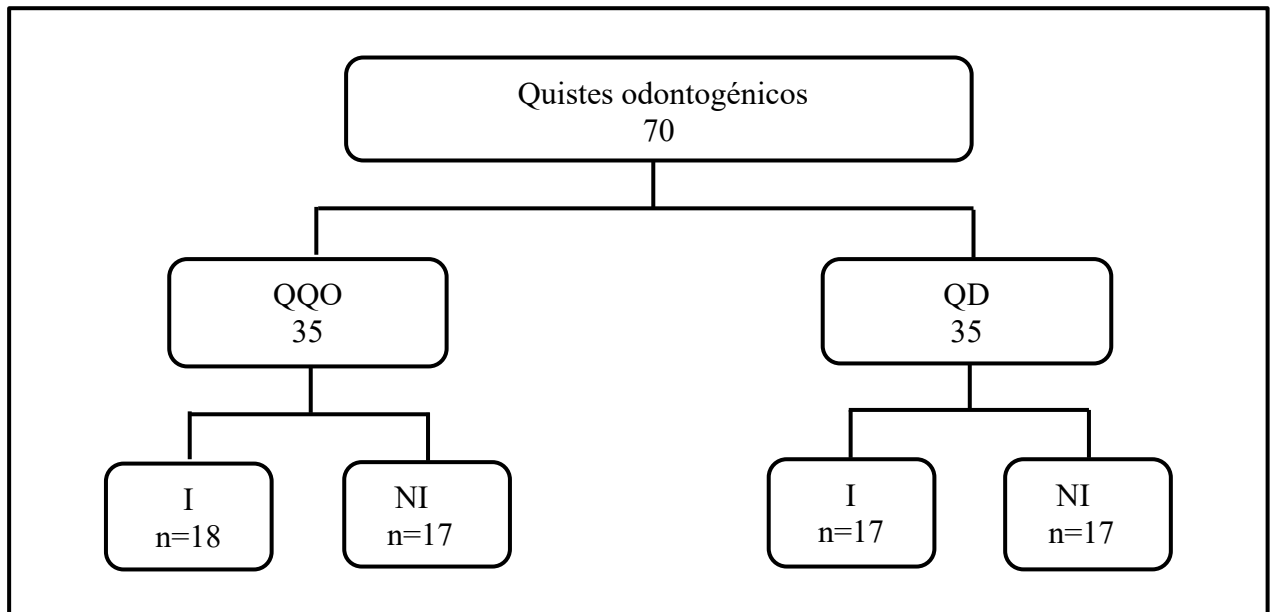


Figura 1. Tamaño de muestra de QO incluidos para el análisis de variables de este estudio.

Criterios de exclusión

Queratoquistes odontogénicos obtenidos de pacientes con síndrome de carcinoma basocelular nevoide.

Presencia de cambios displásicos evidentes en el revestimiento epitelial de las lesiones incluidas que modifique la expresión de los marcadores utilizados para su evaluación.

Criterios de eliminación

Muestras que después de realizar las técnicas inmunohistoquímicas e histoquímicas presenten daño que no permita realizar su evaluación histomorfológica.

7.3 Criterios diagnósticos

El diagnóstico de los quistes se re-evaluó y confirmó de acuerdo a los criterios histopatológicos propuestos por Shear y Speight (2007) y por la OMS (2017) por dos patólogos (AMT, AVOA), alcanzando una kappa κ 0.8 (ver anexo1).

7.4 Técnicas de inmunohistoquímica e histoquímica

7.4.1 Inmunohistoquímica

Las técnicas de inmunohistoquímica para Ki-67, CD34 y CD105 fueron estandarizadas y realizadas en el laboratorio de patología bucal de la Facultad de Odontología de Piracicaba de la Universidad Estatal de Campinas (UNICAMP), Brasil, durante el período de julio a agosto de 2018. Las correspondientes a MCM2 se efectuaron en el Laboratorio de Patología Bucal de la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH) del 19 al 23 de noviembre de 2018. Las técnicas para las reacciones inmunohistoquímicas consistieron en obtener secciones de 3 μ m de tejido fijado en formol amortiguado y embebido en parafina, las que fueron montadas en laminillas con poli-L-lisina (electrocargadas). Las secciones de tejido fueron desparafinadas en una estufa a 60° C por 30 minutos para ser colocadas en xilol por 10 minutos e hidratadas en concentraciones decrecientes de alcohol absoluto (90,70 y 50%) y posteriormente se enjuagaron con agua destilada. La recuperación del antígeno se realizó sumergiendo las secciones en una solución de citrato de sodio (pH 6,0) para Ki-67, CD34 y CD105 y Diva Decloaker para MCM-2; las secciones se colocaron en una olla de presión (cámara de recuperación antigénica) a 100° C por 10-15 minutos para Ki-67, CD34 y MCM-2, mientras que para CD105, en la digestión enzimática se aplicó proteinasa K durante 5 minutos (DAKO, Cytomation, Carpinteria, CA, EE.UU., lista para usar). La actividad de peroxidasa endógena se bloqueó usando peróxido de hidrógeno al 10% en 5

baños, cada uno de 5 minutos. Posteriormente, se lavaron en solución de tampón fosfato PBS (pH 7,4) y se incubaron por 2 horas (día) Ki-67, CD34 y CD105, y MCM-2 por 17 horas (noche) con los anticuerpos monoclonales antihumano de ratón anti MCM-2 (Bio SB dilución 1:150); anti-CD34 (dilución 1:50), anti-CD105 (Endoglin dilución 1:50) y anti-Ki-67 (dilución 1:100) (Dako Cytomation, Carpinteria, CA, EE. UU), con sus respectivos controles (Cuadro 3). Posteriormente las secciones fueron expuestas al complejo de avidina-biotina y a los reactivos de peroxidasa de rábano picante (LSAB) por 30 minutos cada uno a 37°C, y se aplicó diaminobencidina tetrahidrocloreuro (DAB) durante 3-4 minutos para visualizar la reacción con ayuda de este agente cromógeno. Finalmente, las secciones de tejido fueron contrateñidas con hematoxilina de Carazzi y montadas con resina para su posterior evaluación.

Cuadro 3. Características de anticuerpos utilizados en el análisis inmunohistoquímico.

Anticuerpo	Clona	Laboratorio	Dilución	Control	Marcaje
Ki-67	MIB-1	Dako	1:100	Linfoma	Nuclear
MCM-2	RBT-MCM-2	BIO SB	1:150	Carcinoma	Nuclear
CD34	QEnd/10	Dako	1:50	GP	Citoplasmático
CD105	SN6h	Dako	1:50	GP	Citoplasmático

7.4.2 Histoquímica

Solución de rojo sirio- ácido pícrico:

Rojo sirio F3BA al 1 por 100 (10 ml).

Solución acuosa saturada de ácido pícrico (90 ml).

La solución se realizó añadiendo cristales de ácido pícrico para saturar la solución colorante rojo sirio (F3BA). La solución se dejó reposar 48 horas antes de usarla. En el laboratorio de Histopatología bucal de la UAM-X se realizaron cortes del tejido en parafina de 5 μ m, los cuales se desparafinaron con xilol por 10 minutos e hidrataron en concentraciones decrecientes de alcohol absoluto (90, 70 y 50%), para posteriormente incubar con solución de rojo sirio al 0.1% durante 1 hora, después se lavaron durante 2 minutos, se deshidrataron con alcohol absoluto y posteriormente se aclararon en xilol, y finalmente fueron contrateñidas con hematoxilina de Harris y montadas con resina sintética (Entellan®) para su posterior evaluación, con su respectivo control de tinción de hiperplasia fibrosa. (Hirshberg y cols., 2007; Jahagirdar y cols., 2015; Saiq y cols., 2017).

7.5 Análisis inmunohistoquímico

7.5.1 Descripción del análisis inmunohistoquímico en epitelio de revestimiento en quistes odontogénicos del desarrollo

Inmunomarcadores: Ki-67 y MCM-2

Positividad: Nuclear

Evaluación: Se seleccionaron 5 campos representativos del epitelio de revestimiento que no presentara daños por procesamiento y cumplieran los criterios histológicos para QO y QD establecidos por la OMS y por Shear y Speight, (2007). Con un microscopio Olympus CX31 mediante el objetivo de 40x, se obtuvo una fotomicrografía por campo (400x), las cuales fueron guardadas para ser agregadas en el programa Microsoft Power Point, en donde se colocó una tabla 6 x 6 que fue sobrepuesta en la totalidad de la fotomicrografía y entonces convertidas en archivos JPEG de acuerdo al procedimiento propuesto por Bologna y cols. (2011). El conteo se realizó iniciando en el marco superior izquierdo y terminó en el

marco superior derecho (Figuras 1 y 2); las células positivas y negativas fueron contadas con el programa Image J (Figuras 3 y 4), y teniendo el conteo se calculó el porcentaje de marcación utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de células positivas} = \frac{\text{núcleos celulares positivos} \times 100}{\text{Total de núcleos celulares}}$$

El índice de expresión se enunció en porcentaje y fue calculado en cada caso.

En este trabajo consideramos adecuado incluir Ki-67 por ser un marcador de proliferación celular internacionalmente reportado en diversos estudios de lesiones benignas y malignas de origen odontogénico (Bologna y cols., 2009; de Vicente y cols., 2010; Güler y cols., 2012; Bologna y cols., 2013; Brito y cols., 2018), y de esta forma tomarlo como base para comparar con MCM-2, el cual ha sido sugerido como de mayor sensibilidad para el registro de la actividad proliferativa (de Vicente y cols., 2010; Güler y cols., 2012).

7.5.2 Descripción del análisis inmunohistoquímico en la cápsula de quistes odontogénicos del desarrollo.

Inmunomarcadores: CD34 y CD105

Positividad: Citoplasmática

Evaluación: Se seleccionaron 5 campos representativos de la cápsula quística debajo del epitelio de revestimiento; la inmunoexpresión se observó en células endoteliales de vasos sanguíneos (Figuras 5 y 6).

Se realizó el conteo de los vasos sanguíneos positivos tanto para CD34 como para CD105 y se obtuvo la media del número de microvasos (MNM) de acuerdo a la metodología propuesta en estudios previos (Vered y cols., 2006; Bologna-Molina y cols., 2011;

González-Gálvan y cols., 2018) y que se describe a continuación: Se obtuvieron cinco fotomicrografías en campos de 400x con microscopio Olympus CX31 para cuantificar los vasos ubicados en las áreas de intersección. En los casos en que la pared o la luz del vaso interceptaron más de un punto, solo se contó como uno. El recuento comenzó en el marco superior izquierdo de la cuadrícula y terminó en el marco superior derecho (Figuras 5 y 6). El número de vasos positivos se contó manualmente en cada imagen, para posteriormente obtener el promedio de vasos cuantificados por lesión y grupo para el análisis estadístico.

7.6 Análisis histoquímico

7.6.1 Descripción de análisis histoquímico en tejido fibroconectivo capsular de quistes odontogénicos del desarrollo.

Se obtuvieron cortes teñidos con RPS, se seleccionaron cuatro áreas representativas, cada una con adecuada continuidad entre la superficie epitelial (revestimiento) y el tejido fibroconectivo (sin ulceración o separación) para ser evaluadas en un campo de 100x mediante luz polarizada (Fig.7) (Jahagidar y cols., 2015; Kulkarni y cols., 2017) en un microscopio óptico LED Leica DM2500 (Suiza). En cada caso se describió el patrón de orientación y el tipo de birrefringencia de las fibras de colágena. Cada área se dividió en tres zonas: 1) subepitelial, 2) intermedia y 3) periférica (Fig.8) (Vij y cols., 2011; Shetty y cols., 2015) y el patrón de orientación de las fibras se clasificó en 1: no paralelo; 2: mixto y 3: paralelo, en relación al epitelio de revestimiento. Para cada zona se registro el número correspondiente a la disposición, se obtuvo el promedio por lesión y el porcentaje por grupo (Singh y cols., 2012). La birrefringencia se codificó en verde-amarillenta (1) y naranja-amarillenta (2) y se obtuvo el promedio de la birrefringencia de las 4 áreas representativas

por lesión para posteriormente obtener el porcentaje de birrefringencia presente en cada grupo de las lesiones estudiadas.

7.7 Operacionalización de variables

En el cuadro 4 se observan las variables del presente estudio, y en el anexo 2 la ficha de recolección de datos que se utilizó para el registro de las mismas.

7.8 Análisis estadístico

Se efectuaron medidas de tendencia central y dispersión

Se realizaron pruebas de Kruskal-Wallis, prueba de Pearson y Spearman con una significancia estadística $p \leq 0.05$

Los datos se procesaron en el programa estadístico *JMP V12 (Campus Drive Cary, NC, USA)*.

Cuadro 4. Operalización de las variables

Variable	Tipo	Escala	Operacionalización
<i>Sexo</i>	Cualitativa	Nominal	Masculino / Femenino
<i>Edad</i>	Cualitativa	Continua	Edad en años
<i>Localización</i>	Cualitativa	Nominal	Maxilar / Mandíbula
<i>Zona</i>	Cualitativa	Nominal	Posterior/ Anterior
<i>Tamaño</i>	Cuantitativa	Continua	Medición en cm (≤ 5 cm, ≥ 5 cm)
<i>Grado de inflamación</i>	Cualitativa	Nominal	No inflamado, inflamado (5 cél/40X) Grado 0 NI, Grado 1 I
Inmunomarcaje (Ki-67, MCM-2)	Cuantitativa	Continua	Porcentaje de células (+)
Inmunomarcaje (CD-34, CD-105)	Cuantitativa	Continua	Promedio de vasos (MDV)
Tipo de colágena: fibras maduras (I), fibras inmaduras (III)	Cualitativa	Nominal	Birrefringencia (B N-A: naranja amarillenta, B V- A: verde amarillenta)
Zonas de evaluación a nivel de cápsula quística	Cualitativa	Nominal	Subepitelial, intermedia y periférica
Disposición de fibras	Cualitativa	Nominal	No Paralela, paralela, mixta

8. Consideraciones Bioéticas

El artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, expresa que este estudio puede clasificarse dentro del grupo de investigaciones sin riesgo, explicando que estos trabajos emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los sujetos que participan en el estudio, entre los que se consideran: cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, mismos en los que no se les identifica ni se tratan aspectos sensibles de su conducta, por lo cual se asegura la confidencialidad de los datos clínicos de los sujetos involucrados, los cuales se utilizan únicamente con fines estadísticos y en pro de la investigación.

El estudio presenta un beneficio debido a que las muestras estaban resguardadas en el laboratorio de Patología Bucal de la UAM-X y en el servicio de diagnóstico Peribact y el riesgo es inexistente; sin embargo, es importante aclarar que los servicios de patología son custodios de bloques almacenados y controlan el acceso a ellos, por lo tanto, se implementó un consentimiento informado respetando la confidencialidad de los datos existentes para poder trabajar solo con los tejidos y de esta manera incrementar el conocimiento y las líneas de investigación.

Adicionalmente, los resultados obtenidos en este estudio permitirán la implementación de otras investigaciones dirigidas a la mejor comprensión del problema de estudio, ya que estas lesiones presentan una prevalencia significativa en nuestra población.

9. Resultados

9.1 Características clínicas y demográficas

Se incluyeron 35 QO (18 inflamados y 17 no inflamados) y 35 QD (17 inflamados y 18 no inflamados), cuyas características clínicas y demográficas se describen en el anexo 3.

9.1.1 Análisis inmunohistoquímico de Ki-67 y MCM-2 en QO y QD con y sin proceso inflamatorio

Como se observa en el cuadro 5, la expresión de Ki-67 y MCM-2 se evaluó exclusivamente en el revestimiento epitelial (Figs. 3 y 4). Los QO inflamados (QOI) (n=18) tuvieron una mayor cantidad de células positivas para Ki-67, en comparación con los QO no inflamados (QONI) (p=0.001). El promedio de células positivas a MCM-2 en QOI fue significativamente superior al de QONI (p=0.010). Con respecto a los QD inflamados (QDI), el promedio de células positivas a Ki-67 en comparación con los QD no inflamados (QDNI) (p<0.001) fue significativamente mayor, en tanto que el promedio de MCM-2 en los QDI y QDNI (p=0.021), presentó diferencia significativa en ambas lesiones con y sin presencia de inflamación. Asimismo, se comparó el índice de proliferación epitelial entre los QO y QD con y sin proceso inflamatorio, obteniendo diferencias significativas en el promedio de proliferación celular para Ki-67 entre los QO y QD con inflamación (p<0.001), así como entre los QO y QD no inflamados (p<0.001), siendo siempre mayor en los QO.

9.1.2 Análisis inmunohistoquímico de CD34 y CD105 en QO y QD con y sin proceso inflamatorio

En el cuadro 5 se presentan los resultados de la expresión de los marcadores de angiogénesis CD34 y CD105 en los 70 casos incluidos en este estudio, obteniendo diferencias en QOI en comparación QONI para CD34 (p<0.001) y CD105 (p<0.001).

Al comparar la expresión de estos dos marcadores en QD se observó una mayor expresión de CD34 y CD105 en QDI en comparación con QDNI ($p < 0.001$); sin embargo, al comparar la expresión de CD34 y CD105 entre QQOI y QDI, solo se observó diferencia significativa en CD34 ($p = 0.011$). No hubo diferencias entre QQONI y QDNI para ningún marcador vascular evaluado (Cuadros 6 y 7).

9.1.3 Correlación de la expresión de marcadores de proliferación y angiogénesis en QQO y QD con y sin inflamación.

En el cuadro 8 se muestran los resultados de correlación entre los marcadores de proliferación (Ki-67/MCM-2) y de angiogénesis (CD34/CD105), en donde se aprecia que hubo una correlación positiva en QDI entre CD34 y Ki-67, lo que sugiere que al aumentar la angiogénesis en estas lesiones, se incrementa el índice de proliferación (ρ (rho) = 0.568, $p = 0.017$). En QQOI se observó una correlación positiva entre MCM-2 y Ki-67, lo que confirma que ambos marcadores de proliferación en esta lesión presentan índices elevados, a diferencia de QQONI, QDI y QDNI (ρ (rho) = 0.453, $p = 0.059$); asimismo, se identificó correlación positiva entre CD105 y CD34 en QQOI (ρ (rho) = 0.573, $p = 0.012$) y en QDNI (ρ (rho) = 0.624, $p < 0.001$).

9.1.4 Análisis histoquímico con rojo picrosirio y luz polarizada

En el cuadro 9 se muestran los resultados de la evaluación del tejido fibroconectivo presente en la cápsula quística con la tinción de rojo picrosirio a través de luz polarizada. Se observó un predominio de BV-A (fibras inmaduras) en QDI (88.2%) y en QQONI (82.3%) sin encontrar diferencias significativas entre QQO y QD con y sin presencia de inflamación. Se observó predominio en la disposición mixta de las fibras de colágeno en las tres áreas evaluadas, registrándose esta en la zona subepitelial en el 94.4% de las fibras en QDNI y 58.9% en QQONI, mientras que en la capa intermedia se encontró en 77.8% en el

QDNI y 72.2% en QQOI; por su parte, la capa periférica del QDI presentó 94.2% de fibras mixtas, mientras que en QQONI esta disposición se observó en 76.4%.

9.1.5 Correlación de la expresión de marcadores de proliferación y madurez de las fibras de colágena en QOO y QD con y sin inflamación

Se realizó un análisis de correlación entre los marcadores de proliferación (Ki-67 y MCM-2) y la madurez de las fibras de colágena a través de RPS en los QO incluidos. Los resultados mostraron una correlación positiva entre los marcadores de proliferación (Ki-67/MCM-2) con la BV-A en QQOI, lo que sugiere que al incrementarse el índice proliferativo se observa un mayor porcentaje de fibras inmaduras tipo III en este grupo de lesiones (Cuadro 10).

9.1.6 Correlación de la expresión de marcadores de angiogénesis y madurez de las fibras de colágena en QOO y QD con y sin inflamación

En el cuadro 11 se presenta el análisis de correlación entre los marcadores de angiogénesis (CD34 y CD105) y la madurez de las fibras de colágena evaluadas a través de luz polarizada con RPS en los QO incluidos en este estudio. Los resultados mostraron una correlación positiva en QQOI y QDNI entre los marcadores de angiogénesis (CD34/CD105) y la BV-A, lo que sugiere que al incrementar la vascularidad se observa un aumento de las fibras inmaduras tipo III, mientras que en QQOI se observó que al presentarse un aumento en las fibras maduras tipo I (BN-A) había disminución en la expresión de los marcadores de angiogénesis (CD34 y CD105).

Cuadro 5. Comparación de la expresión de marcadores inmunohistoquímicos en QOO y QD con y sin presencia de inflamación.

	QOOI (n=18)	QQONI (n=17)	<i>p^b</i>	QDI (n=17)	QDNI (n=18)	<i>p^b</i>
<i>Ki-67</i>						
Promedio (DE±)	12.84 (4.69)	7.23 (2.12)		5.18 (3.83)	2.48 (2.20)	
Mediana (Q ₁ -Q ₃)	11.7 (9.1-16.3)	7.6 (5.2-9.1)	<0.001 ^b	4.2 (3.0-4.9)	1.9 (0.9-3.0)	<0.001 ^b
<i>MCM-2</i>						
Promedio (DE±)	4.70 (3.95)	2.93 (2.40)		3.31 (2.22)	1.56 (1.57)	
Mediana (Q ₁ -Q ₃)	3.8 (1.8-6.2)	2.8 (0.5-5.2)	0.010 ^b	3.2 (1.9-4.3)	1.0 (0.3-2.5)	0.021 ^b
<i>CD34</i>						
Promedio (DE±)	5.59 (1.46)	2.81 (0.78)		4.40 (1.14)	2.42 (0.71)	
Mediana (Q ₁ -Q ₃)	5.7 (4.9-6.4)	2.6 (2.2-3.4)	<0.001 ^b	4.6 (3.6-5.1)	2.3 (2-2.9)	<0.001 ^b
<i>CD105</i>						
Promedio (DE±)	5.10 (1.87)	2.81 (1.60)		4.14 (1.29)	2.41 (1.04)	
Mediana (Q ₁ -Q ₃)	4.6 (3.4-6.4)	2.4 (1.9-3.2)	0.002 ^b	3.8 (3.2-4.5)	2.3 (1.6-3.0)	0.001 ^b

QOO=Queratoquiste odontogénico; QOOI= Queratoquiste odontogénico inflamado; QQONI= Queratoquiste odontogénico no inflamado QD= Quiste dentígero; QDI= Quiste dentígero inflamado; QDNI= Quiste dentígero no inflamado, b= Prueba de Kruskal-Wallis

Cuadro 6. Comparación de la expresión de marcadores inmunohistoquímicos en quistes del desarrollo inflamados.

	QOOI (n=18)	QDI (n=17)	<i>p</i> ^a
<i>Ki-67</i>			
Mediana (<i>Q₁-Q₃</i>)	11.7 (9.1-16.3)	4.2 (3.0-4.9)	<0.001
<i>MCM-2</i>			
Mediana (<i>Q₁-Q₃</i>)	3.8 (1.8-6.2)	3.2 (1.9-4.3)	0.212
<i>CD34</i>			
Mediana (<i>Q₁-Q₃</i>)	5.7 (4.9-6.4)	4.6 (3.6-5.1)	0.011
<i>CD105</i>			
Mediana (<i>Q₁-Q₃</i>)	4.6 (3.4-6.4)	3.8 (3.2-4.5)	0.089

a= Prueba de Kruskal-Wallis

Cuadro 7. Comparación de la expresión de los marcadores inmunohistoquímicos en los quistes de desarrollo no inflamados.

	QQONI (n=17)	QDNI (n=18)	<i>p</i> ^a
<i>Ki-67</i>			
Mediana (<i>Q₁-Q₃</i>)	7.6 (5.2-9.1)	1.9 (0.9-3.0)	<0.001
<i>MCM-2</i>			
Mediana (<i>Q₁-Q₃</i>)	2.8 (0.5-5.2)	1.0 (0.3-2.5)	0.053
<i>CD34</i>			
Mediana (<i>Q₁-Q₃</i>)	2.6 (2.2-3.4)	2.3 (2-2.9)	0.134
<i>CD105</i>			
Mediana (<i>Q₁-Q₃</i>)	2.4 (1.9-3.2)	2.3 (1.6-3.0)	0.385

a= Prueba de Kruskal-Wallis

Cuadro 8. Correlación ρ (rho)^a entre los marcadores inmunohistoquímicos en queratoquistes odontogénicos y quistes dentígeros inflamados y no inflamados

	QOI (n=18)	QONI (n=17)	QDI (n=17)	QDNI (n=18)
Ki-67	CD34	CD34	CD34	CD34
	ρ (rho) 0.1352 ^a 0.5927 ^b	ρ (rho) 0.3463 ^a 0.1733 ^b	ρ (rho) 0.5681 ^a 0.0174 ^b	ρ (rho) 0.1541 ^a 0.5415 ^b
Ki-67	CD105	CD105	CD105	CD105
	ρ (rho) -0.1236 ^a 0.6250 ^b	ρ (rho) 0.2529 ^a 0.3273 ^b	ρ (rho) 0.0505 ^a 0.8474 ^b	ρ (rho) 0.1605 ^a 0.5245 ^b
MCM-2	Ki-67	Ki-67	Ki-67	Ki-67
	ρ (rho) 0.4530 ^a 0.0590 ^b	ρ (rho) -0.1632 ^a 0.5314 ^b	ρ (rho) 0.2132 ^a 0.4112 ^b	ρ (rho) 0.1435 ^a 0.5699 ^b
MCM-2	CD34	CD34	CD34	CD34
	ρ (rho) -0.0322 ^a 0.8989 ^b	ρ (rho) -0.0923 ^a 0.7246 ^b	ρ (rho) 0.2465 ^a 0.3403 ^b	ρ (rho) 0.1521 ^a 0.5469 ^b
MCM-2	CD105	CD105	CD105	CD105
	ρ (rho) -0.0478 ^a 0.8506 ^b	ρ (rho) -0.2415 ^a 0.3503 ^b	ρ (rho) 0.1601 ^a 0.5393 ^b	ρ (rho) 0.0161 ^a 0.9496 ^b
CD105	CD34	CD34	CD34	CD34
	ρ (rho) 0.5738 ^a 0.0128 ^b	ρ (rho) 0.3577 ^a 0.1587 ^b	ρ (rho) 0.3703 ^a 0.1435 ^b	ρ (rho) 0.6244 ^a 0.0056 ^b

QO=Queratoquiste odontogénico; QOI= Queratoquiste odontogénico inflamado; QONI= Queratoquiste odontogénico no inflamado QD= Quiste dentígero; QDI= Quiste dentígero inflamado; QDNI= Quiste dentígero no inflamado, a coeficiente de correlación de Spearman, b Valor de p del coeficiente de correlación.

Cuadro 9. Evaluación histoquímica mediante la tinción de rojo picrosirio (RPS) con luz polarizada en quistes odontogénicos del desarrollo inflamados y no inflamados.

	QQOI	QQONI	<i>P</i>	QDI	QDNI	<i>P</i>
	(n=18)	(n=17)		(n=17)	(n=18)	
	n (%)	n (%)		n (%)	n (%)	
<i>Tinción RP</i>						
<i>Birrefringencia</i>						
BV-A	14 (77.8)	14 (82.3)	0.735 ^a	15 (88.2)	12 (66.7)	0.128 ^a
BN-A	4 (22.7)	3 (17.7)		2 (11.8)	6 (33.3)	
<i>Subepitelial</i>						
Paralela	2 (16.7)	4 (23.5)	0.613 ^a	0 (0.00)	1 (5.6)	0.222 ^a
Mixta	6 (50.0)	10(58.9)		6 (35.3)	17 (94.4)	
No par	4 (33.3)	3 (17.6)		1 (5.8)	0 (0.00)	
<i>Intermedia</i>						
Paralela	3 (16.7)	3 (17.6)	0.597 ^a	0 (0.00)	2 (11.1)	0.347 ^a
Mixta	13 (72.2)	10 (58.9)		10 (77.0)	14 (77.8)	
No par	2 (11.1)	4 (23.5)		3 (23.0)	2 (11.1)	
<i>Periférica</i>						
Paralela	3 (16.7)	1 (5.8)	0.602 ^a	0 (0.00)	1 (5.5)	0.615 ^a
Mixta	12 (66.6)	13 (76.4)		16 (94.2)	16 (88.8)	
No par	3 (16.7)	3 (17.6)		1 (5.8)	1 (5.5)	

BV-A Birrefringencia verde –amarillenta, BN-A Birrefringencia naranja-amarillenta. QQO=Queratoquiste odontogénico; QQOI= Queratoquiste odontogénico inflamado; QQONI= Queratoquiste odontogénico no inflamado QD= Quiste dentígero; QDI= Quiste dentígero inflamado; QDI= Quiste dentígero no inflamado. Exclusión Zona Subepitelial (6 QQI, 10 QDI) Zona Intermedia (4 QDI). ^aPearson

Cuadro 10. Correlación ρ (rho)^a entre los marcadores inmunohistoquímicos de proliferación celular (Ki-67/ MCM-2) y reacción histoquímica de rojo picosirio (RPS) en fibras de colágena de la cápsula en queratoquistes odontogénicos y quistes dentígeros inflamados y no inflamados

	QQOI (n=18)	QQONI (n=17)	QDI (n=17)	QDNI (n=18)
<i>BV-A</i>				
	Ki-67	Ki-67	Ki-67	Ki-67
	ρ (rho)	ρ (rho)	ρ (rho)	ρ (rho)
<i>MCM-2</i>	0.5956 ^a	0.0529 ^a	0.1571 ^a	0.3636 ^a
	0.0246 ^b	0.8576 ^b	0.5760 ^b	0.2453 ^b
<i>*BN-A</i>				
	Ki-67	Ki-67	Ki-67	Ki-67
	ρ (rho)	ρ (rho)	ρ (rho)	ρ (rho)
<i>MCM-2</i>	-0.4000 ^a	-1.000 ^a	1.000 ^a	-0.8857 ^a
	0.6000 ^b	<.0001 ^b	<.0001 ^b	0.0188 ^b

BV-A Birrefringencia verde-amarillenta, BN-A Birrefringencia naranja-amarillenta. QOO=Queratoquiste odontogénico; QQOI= Queratoquiste odontogénico inflamado; QQONI= Queratoquiste odontogénico no inflamado QD= Quiste dentígero; QDI= Quiste dentígero inflamado; QDI= Quiste dentígero no inflamado, a coeficiente de correlación de Spearman, b Valor de p del coeficiente de correlación. *p inestable por el tamaño de muestra.

Cuadro 11. Resultados de correlación ρ (rho)^a entre los marcadores de angiogénesis (CD34/CD105) y reacción histoquímica de rojo picosirio (RPS) en fibras de colágena de la cápsula en queratoquistes y quistes dentígeros inflamados y no inflamados.

	QQOI (n=18)	QQONI (n=17)	QDI (n=17)	QDNI (n=18)
BV-A				
	CD34	CD34	CD34	CD34
	ρ (rho)	ρ (rho)	ρ (rho)	ρ (rho)
CD105	0.7762 ^a	0.1944 ^a	0.3908 ^a	0.6637 ^a
	0.0014 ^b	0.5053 ^b	0.1498 ^b	0.0186 ^b
*BN-A				
	CD34	CD34	CD34	CD34
	ρ (rho)	ρ (rho)	ρ (rho)	ρ (rho)
CD105	- 0.9487 ^a	1.000 ^a	1.000 ^a	0.6571 ^a
	0.0513 ^b	<.0001 ^b	<.0001 ^b	0.1562 ^b

BV-A Birrefringencia verde –amarillenta, BN-A Birrefringencia naranja-amarillenta. QQO=Queratoquiste odontogénico; QQOI= Queratoquiste odontogénico inflamado; QQONI= Queratoquiste odontogénico no inflamado QD= Quiste dentígero; QDI= Quiste dentígero inflamado; QDI= Quiste dentígero no inflamado, a coeficiente de correlación de Spearman, b Valor de p del coeficiente de correlación. *p inestable por el tamaño de muestra.

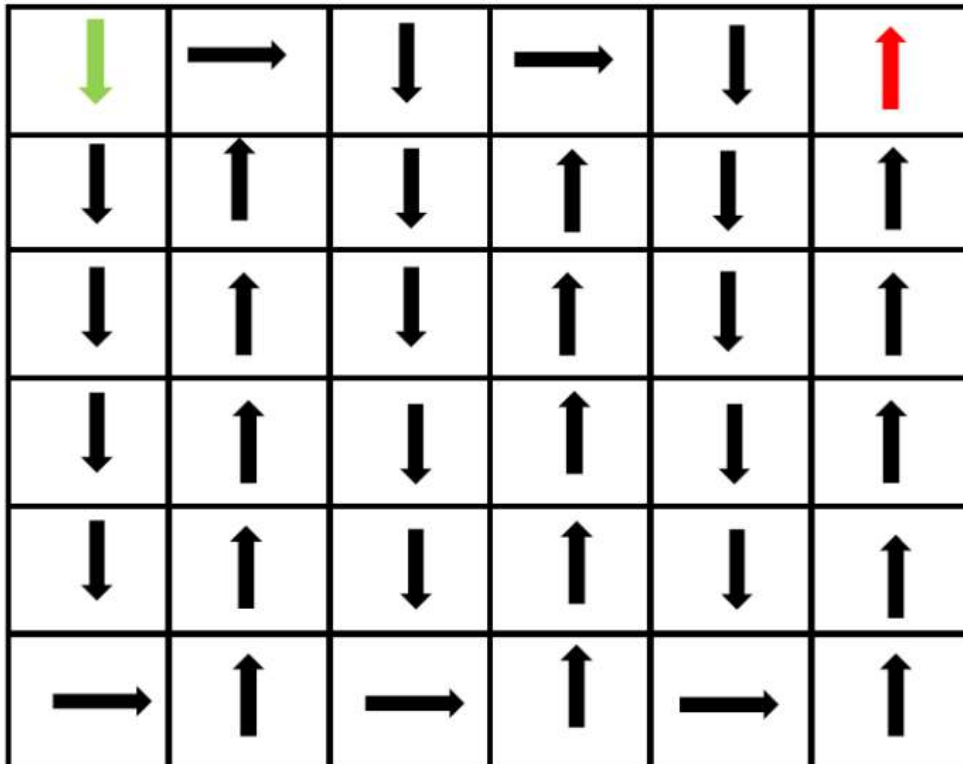


Figura 2. Formato de gradilla utilizada para colocar en fotomicrografías para conteo celular y orden de evaluación de los hallazgos.

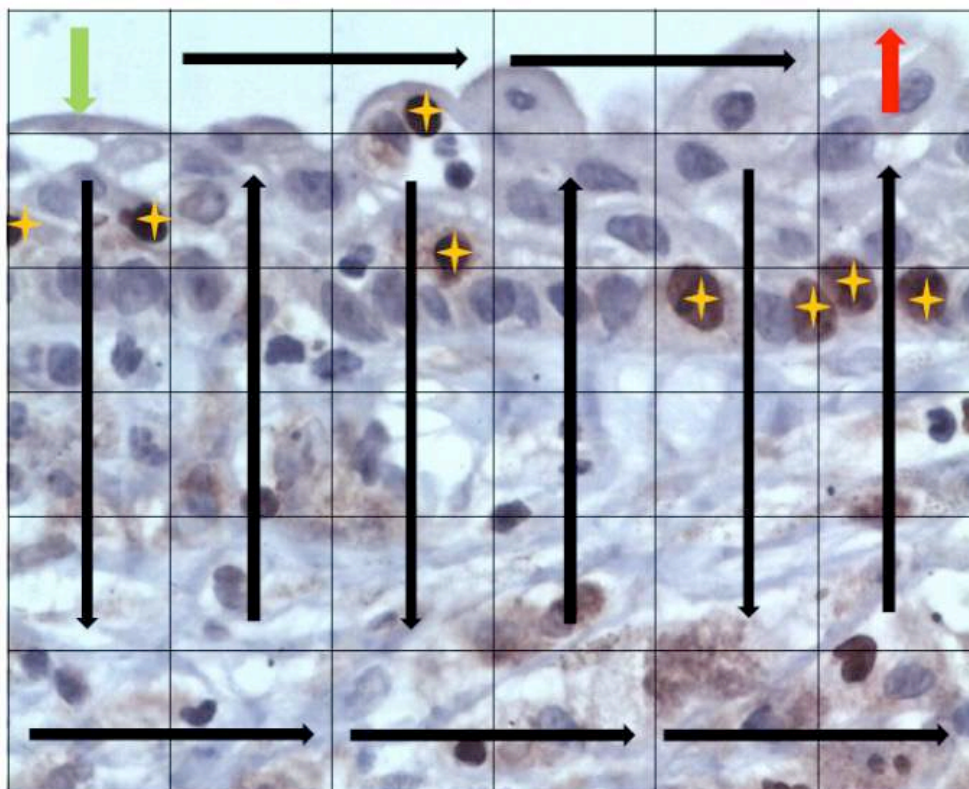


Figura 3. Muestra de fotomicrografía para la secuencia de conteo del recuadro superior izquierdo al superior derecho.

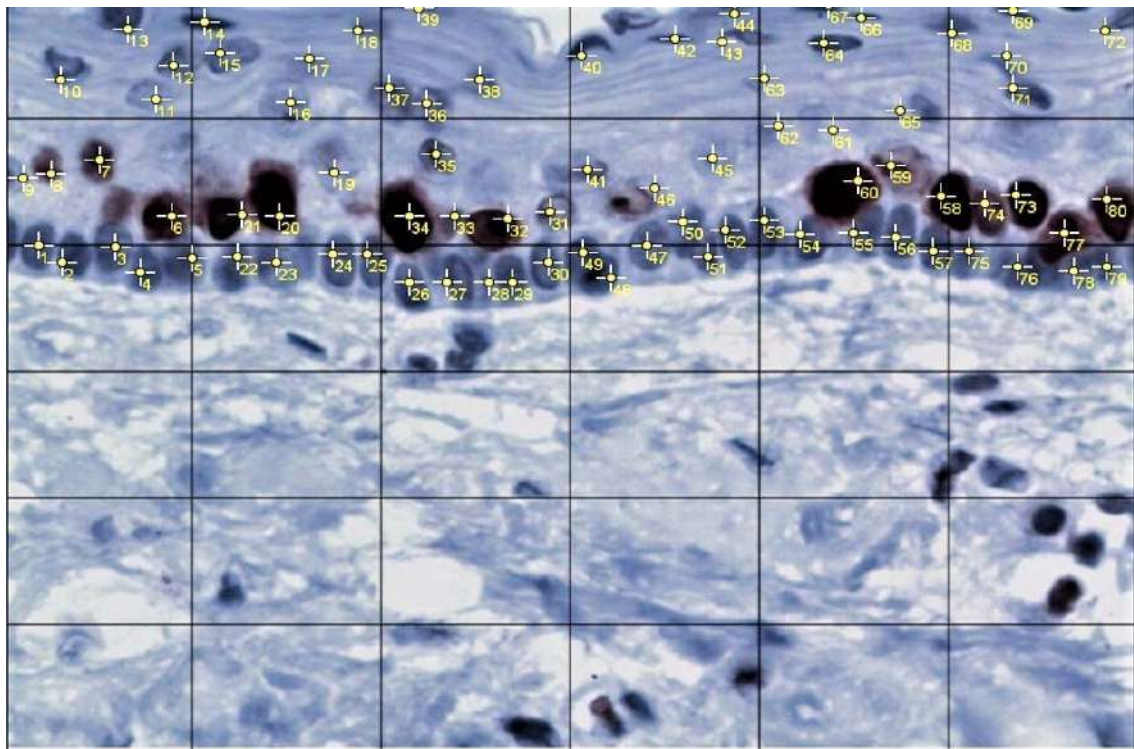


Figura 4. Fotomicrografía de QO, se observa el conteo total de las células en el revestimiento quístico a 400X (Ki-67) con ImageJ

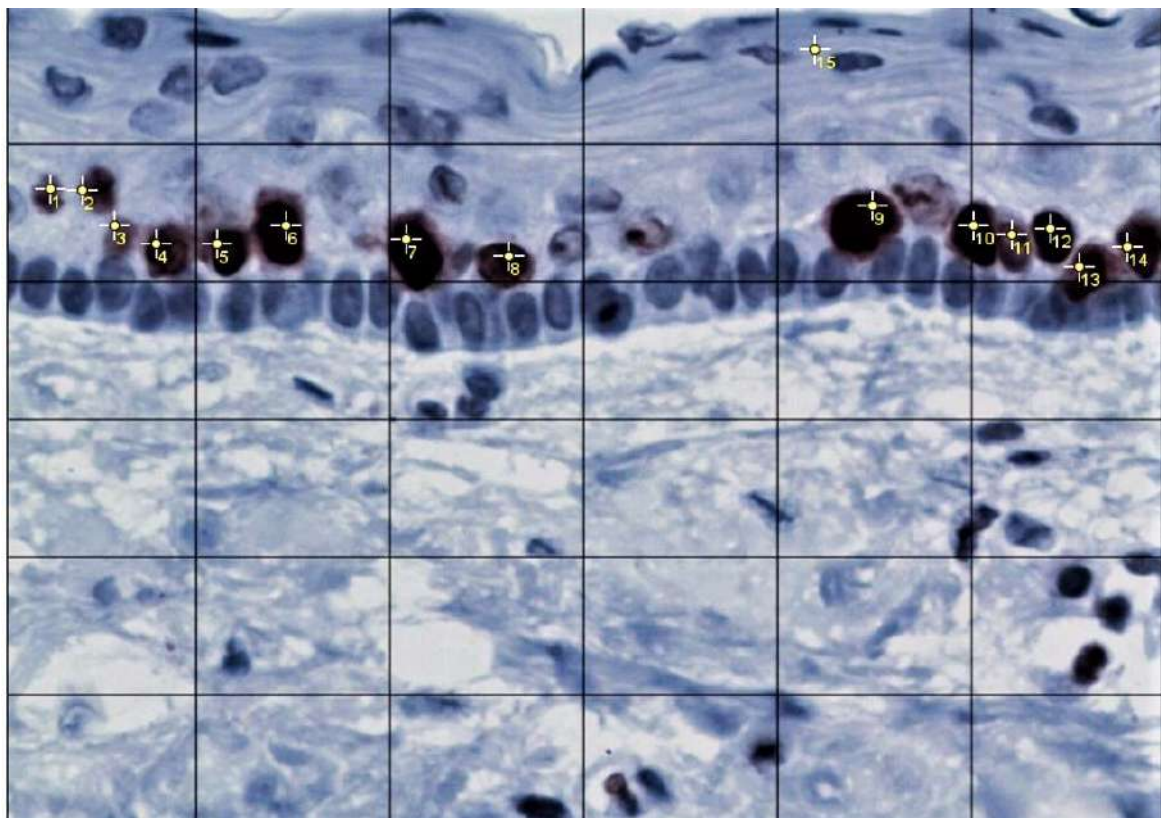


Figura 5. Fotomicrografía de QO, conteo de células positivas en el revestimiento epitelial quístico a 400X (Ki67) con ImageJ.

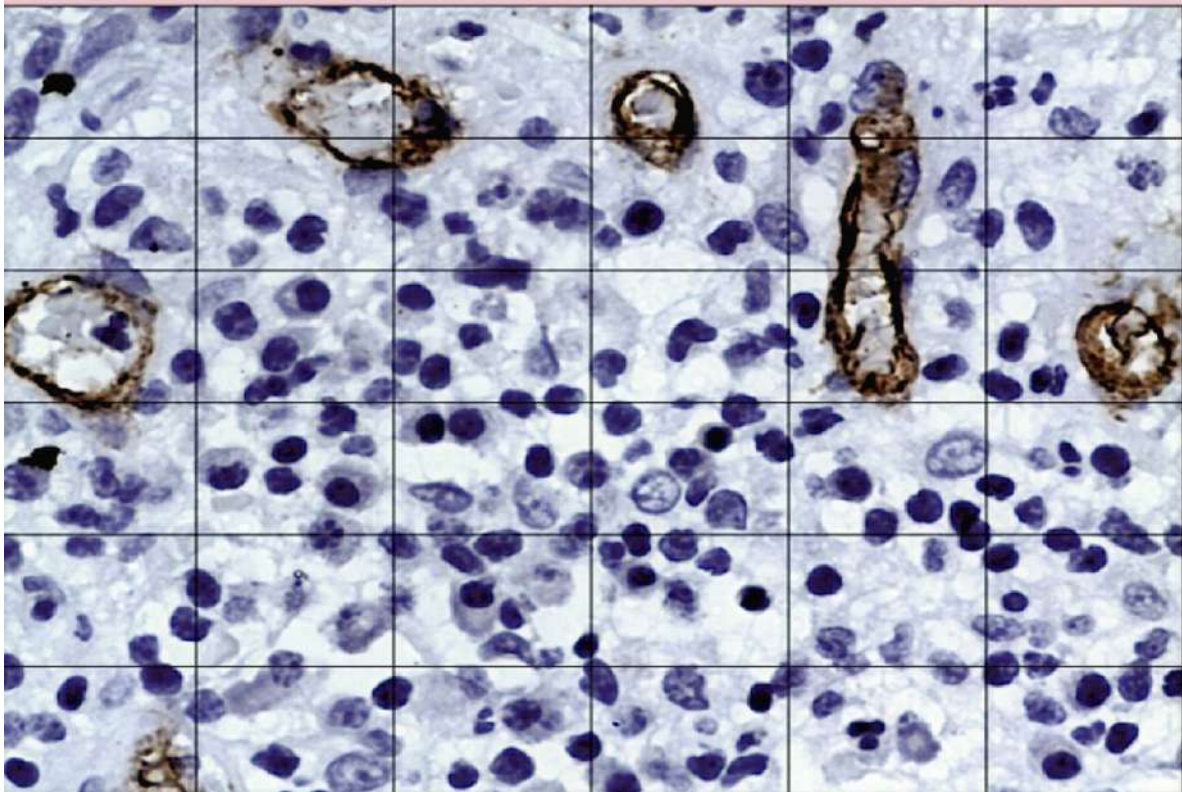


Figura 6. Fotomicrografía de QD inflamado a 400X. CD34 en cápsula quística

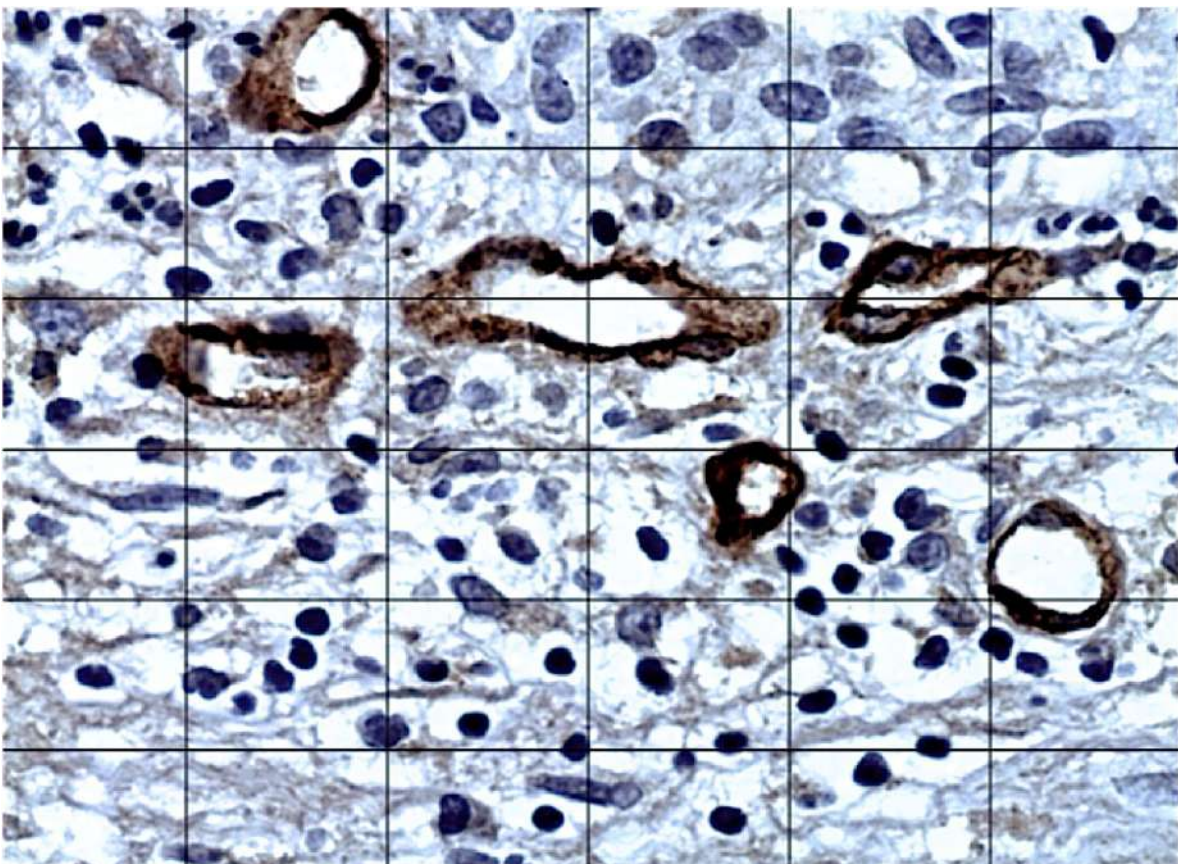


Figura 7. Fotomicrografía de QD inflamado a 400X. CD105 en cápsula quística.

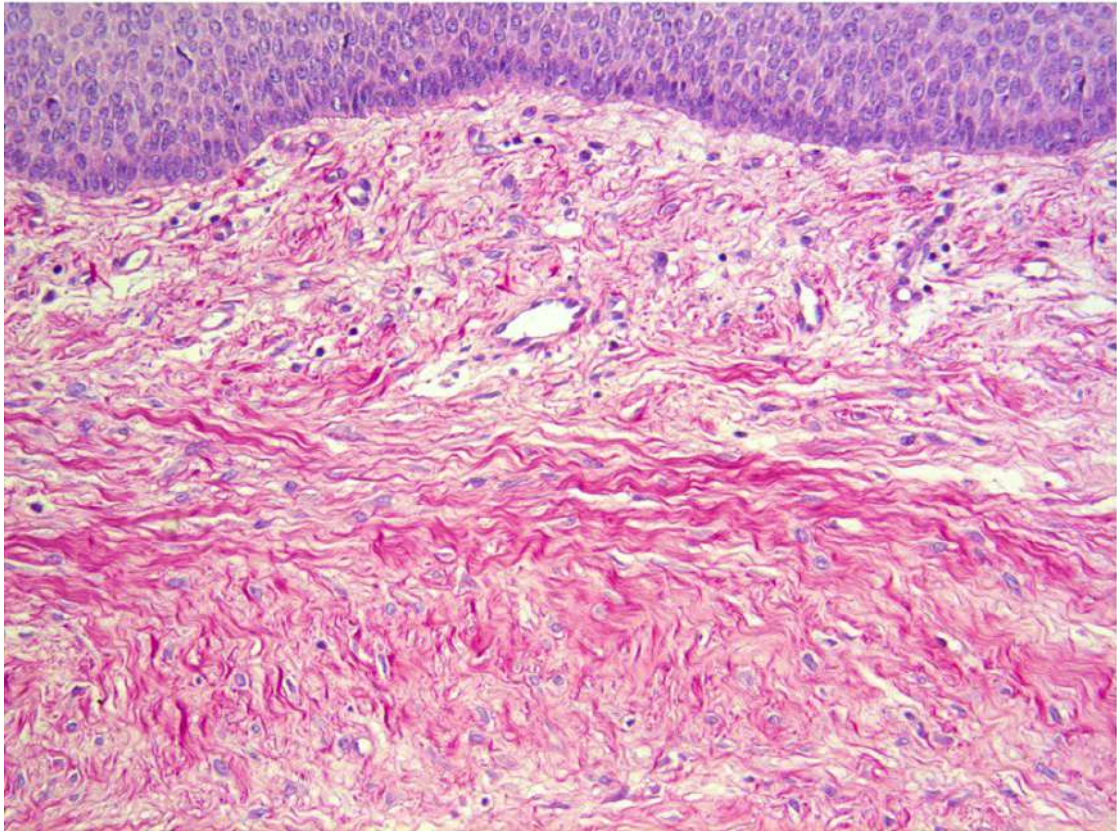


Figura 8. Fotomicrografía de QOO sin pérdida de la continuidad epitelial con RPS (100X).

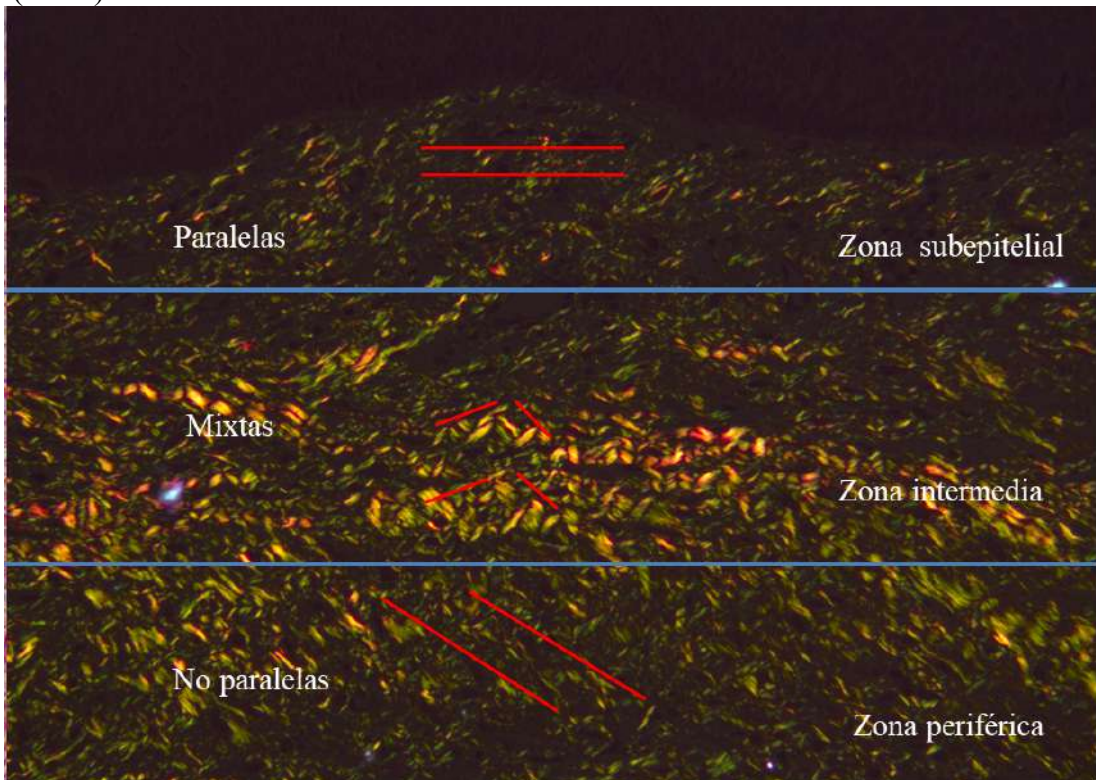


Figura 9. Fotomicrografía RPS en QOO con luz polarizada. Se identifica zona, disposición de fibras colágena y tipo de birrefringencia (100X).

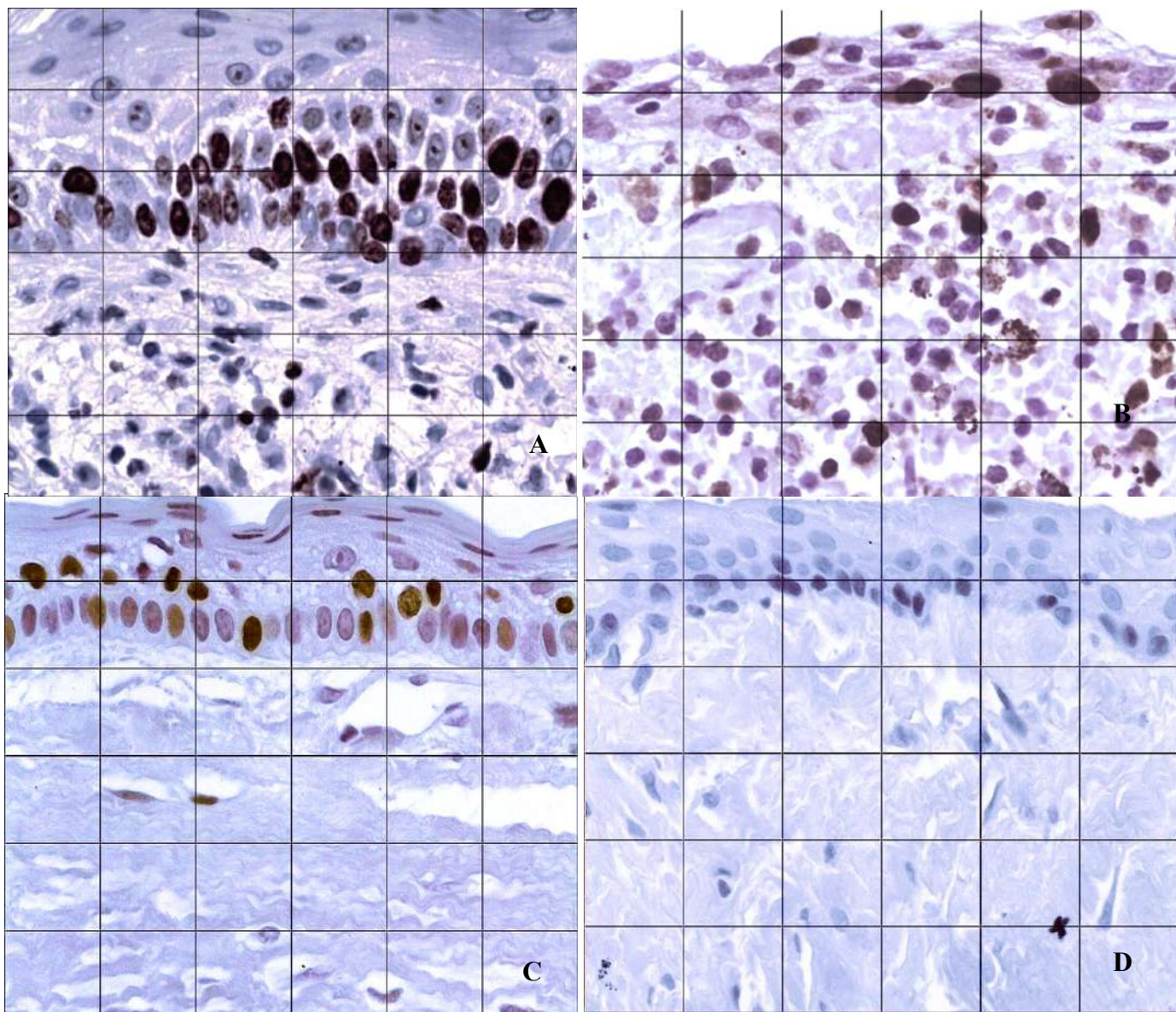


Figura 10. Fotomicrografía comparativa a 400X inmunexpresión de marcadores de proliferación celular Ki-67 y MCM-2 en QO. A) QQOI Ki-67, B) QDI Ki-67 C) QQONI MCM-2 D) QDNI MCM-2.

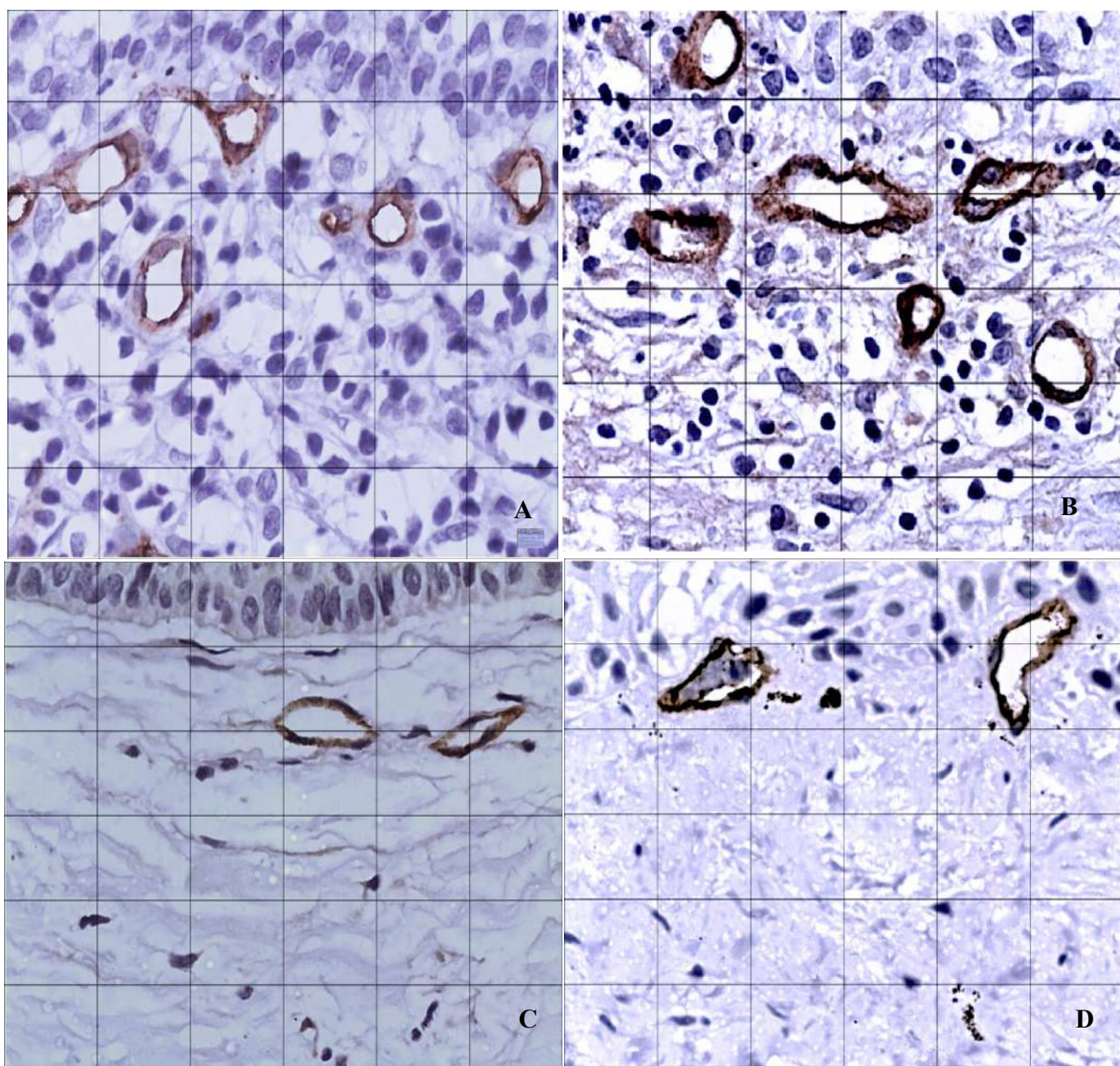


Figura 11. Fotomicrografía comparativa a 400X inmunoexpresión de marcadores de angiogénesis CD34 y CD105 en QO. A) QQOI CD34, B) QDI CD105 C) QQONI CD105 D) QDNI CD34.

10. Discusión

La inflamación presente en los QOO y QD se asocia a una mayor proliferación y angiogenesis, sin que esta determine el comportamiento biológico de las lesiones quísticas estudiadas.

Los QOO y QD en este estudio se presentaron en un amplio rango de edad, observándose con mayor frecuencia en la segunda y tercera décadas de la vida, de forma similar a lo descrito en otras series (Shear & Speight, 2007; Lin y cols, 2013; El-Naggar y cols, 2017). Se encontró ligera predilección por el sexo femenino en ambas entidades (54.3%), en tanto que en la literatura internacional se reportan porcentajes variables (Mosqueda y cols, 2002; Groszmann y cols., 2007; Sharifian y cols., 2011; Silva y cols., 2018). La localización más frecuente en ambos casos fue la mandíbula, principalmente en región posterior, en donde se ubicaron 88.6% de los QOO y 80% de los QD.

Un dato importante es que los QOO presentaron con mayor frecuencia un tamaño superior a los 5 cm, en comparación con los QD, lo que podría obedecer a que se trata de lesiones de crecimiento lento y expansivo, que destruyen inicialmente al hueso medular y solo en etapas avanzadas producen destrucción cortical y expansión clínicamente evidente; esto suele retrasar su diagnóstico y por ello son identificados como lesiones de mayor extensión, mientras que los QD se detectan al registrar la ausencia clínica de un diente o porque suelen producir expansión mas tempranamente y con mas frecuencia que los QOO (Anexo 3).

Diversos autores han descrito algunos de los posibles mecanismos implicados en el crecimiento y expansión de lesiones quísticas de origen odontogénico (Harris y Goldhaber,

1973; Browne y cols, 1975; Scharfetter y cols, 1989; Mahajan y cols, 2013). Con respecto a la proliferación epitelial, esta parece jugar un papel importante en algunos tipos de quiste. Estudios que han utilizado marcadores de proliferación celular como PCNA y Ki-67 demostraron que existe un mayor índice proliferativo en el epitelio de QOO en comparación a otros tipos de quistes odontogénicos, especialmente QD y QR (Orgen y cols., 1992; Meghji y cols., 1996; Li y cols., 1996; Paula y cols., 2000). Adicionalmente, se ha visto que el proceso inflamatorio que aparece en lesiones quísticas odontogénicas del desarrollo modifica la morfología del revestimiento y se asocia a una mayor tasa de proliferación (Rodu y cols., 1987; Singh y cols., 2013), e incluso se ha propuesto que la inflamación crónica a largo plazo podría actuar como factor inductor de transformación maligna en diversos quistes odontogénicos por mecanismos diversos, los cuales incluyen: la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (RNS) que tienen el potencial de dañar el DNA, la promoción de apoptosis de células normales, lo que induce una respuesta proliferativa compensatoria o puede asociarse a la inmunosupresión acompañada de disminución de la inmunovigilancia (Bodner y cols., 2011). De Paula y cols. estudiaron 20 QOO con y sin inflamación, y observaron un aumento significativo en la proliferación epitelial de los inflamados en comparación con los no inflamados mediante la evaluación de la expresión de los marcadores de proliferación PCNA y Ki-67, sugiriendo que los factores de crecimiento y las citocinas liberadas por el infiltrado inflamatorio presentes en la cápsula fibrosa del QOO pudiesen ser las responsables de estimular una mayor actividad proliferativa (De Paula y cols., 2000).

Al evaluar en el presente trabajo la expresión de dos marcadores de proliferación celular diferentes (Ki-67 y MCM-2), observamos que el QOOI presentó un promedio mayor de

células positivas para ambos en comparación con QQONI, así como una mayor proliferación epitelial del revestimiento de QDI comparado con QDNI, aportando nuevas evidencias de que la inflamación promueve la proliferación epitelial, sin que ello signifique necesariamente que haya una mayor agresividad de las lesiones, pues se trata de un elemento que puede ser independiente a la conducta biológica inherente a cada entidad. Sin embargo, no todos los trabajos realizados al respecto confirman esta tendencia, ya que en un estudio con 45 casos de QO, Kaplan y Hirshberg (2004), en Israel, analizaron áreas con y sin inflamación mediante la expresión de Ki-67 y PCNA y no encontraron diferencias significativas; no obstante, la evaluación de los marcadores en dicho estudio fue realizada en campos consecutivos, lo que no permite descartar el efecto de la inflamación sobre las zonas vecinas aparentemente no relacionadas a inflamación en ese momento, por lo que la conclusión que proponen, sugiriendo que el infiltrado inflamatorio en este tipo de quiste en particular no afecta su potencial proliferativo, no parece ser aceptable (Kaplan y Hirshberg., 2004). La posibilidad de que el distinto potencial proliferativo reportado en los dos quistes estudiados sea mas bien la consecuencia de factores intrínsecos a la naturaleza de los mismos y no debida principalmente a la inflamación, se ve apoyada en cierta medida por nuestros resultados, los que muestran que la expresión de los dos marcadores de proliferación evaluados (Ki-67 y MCM-2) es mayor tanto en QO inflamados y no inflamados en comparación con ambos grupos de QD.

Sreedhar y cols. (2014), analizaron el efecto de la inflamación sobre el comportamiento biológico y patogénesis de QO y QD mediante la evaluación del marcador proliferativo PCNA y el anti- apoptótico Bcl-2, y reportaron una mayor expresión de PCNA en QO y QD inflamados en comparación con los no inflamados, por lo que al igual que otros autores

argumentan que la inflamación es responsable de los cambios en el epitelio, mientras que la expresión de Bcl-2 fue mayor en QO en comparación con QD ($p < 0.001$), por lo que los autores también sugieren que existe una posible relación entre la naturaleza agresiva de QO y una mayor supervivencia de las células epiteliales de su revestimiento (Sreedhar y cols, 2014). Este hallazgo también coincide con lo encontrado en este trabajo, aunque es conveniente señalar que no se pueden hacer comparaciones directas debido a que actualmente PCNA es poco utilizado, ya que algunos estudios han demostrado que Ki-67 es un marcador mucho más confiable para evaluar la proliferación celular (Bologna y cols., 2013).

El crecimiento quístico obedece también a la acción de los elementos celulares y extracelulares propios de la cápsula, entre los que destaca la producción vascular (angiogénesis), la cual podría jugar un papel importante en el crecimiento de dichas lesiones. Diversos estudios han analizado la expresión de CD34 y CD105 en los quistes del desarrollo, y al respecto Alaeddini y cols. (2009), compararon la vascularidad existente mediante la expresión de CD34, obteniendo diferencias estadísticamente significativas entre QO, QD y A, con mayor expresión en A. Por su parte, Gadbail y cols. (2013), evaluaron la expresión de CD105 y reportaron una mayor expresión de este marcador en QO y QD en comparación con la mucosa oral, y concluyeron que la angiogénesis parece jugar un papel importante en el comportamiento biológico de dichas lesiones (Alaeddini y cols., 2009; Hande y cols., 2011; Gadbail y cols., 2013).

En el presente estudio no se registraron diferencias significativas en la expresión de CD34 al evaluar QO y QD en ausencia de infiltrado inflamatorio, contrario a lo registrado en QO y QD inflamados, en los que se observó mayor expresión en QOI en comparación

con QDI, así como cuando se comparó individualmente cada lesión (QO/QD) en presencia y ausencia de inflamación, lo que indica una asociación entre la angiogénesis y el proceso inflamatorio y sugiere, en conjunto con lo obtenido al evaluar los marcadores de proliferación celular, que las diferencias en el comportamiento biológico de ambas lesiones no están determinadas por dicho proceso.

Al hacer la correlación entre los marcadores de proliferación y de angiogénesis (Ki-67/MCM-2/CD34/CD105) el QDI mostró una correlación positiva entre CD34 y Ki-67, lo que sugiere que al aumentar la vascularidad en estas lesiones, se incrementa el índice de proliferación. En QOI se observó una correlación positiva entre MCM-2 y Ki-67, lo que confirma que ambos marcadores de proliferación en esta lesión presentan índices elevados, a diferencia de QONI, QDI y QDNI; asimismo, se identificó correlación positiva entre CD105 y CD34 en QOI, lo que sugiere que en los QO aumenta el número de vasos neoformados y persistentes en presencia del infiltrado inflamatorio, lo que en conjunto con un alto índice de proliferación observado tanto en los QO inflamados como no inflamados parece indicar que el proceso inflamatorio es un factor independiente al comportamiento de estas lesiones, aunque es evidente que la inflamación juega un papel importante en proveer elementos que modifican la fisiología de la cápsula y alteran consecuentemente la histomorfología del epitelio, el cual a menudo pierde su aspecto característico paraqueratinizado y puede mostrar zonas de acantosis, espongirosis, exocitosis y formación de cuerpos de Rushton.

Algunos estudios se han dirigido a evaluar la estructura y organización de las fibras de colágena en el tejido conectivo de la cápsula de lesiones quísticas con objeto de conocer si

estas se relacionan con su naturaleza y comportamiento biológico (Hirshberg y cols, 1999; Hirshberg y cols, 2007; Kumar y cols., 2013; Kaijkar y cols., 2015; Raj y cols., 2015; Shetty y cols., 2015), y han concluido que el predominio de fibras inmaduras tipo III en estas lesiones se debe a la presencia de colágeno alterado, lo que sugiere que su aparición esta relacionada a una mayor actividad del tejido capsular, hallazgos que coinciden con los resultados obtenidos en esta investigación, donde se observó un predominio de BV-A en QDI y en QQONI, pero sin encontrar diferencias significativas entre QQOI y QDNI. El predominio de fibras de colágena inmaduras en QDI y QQONI, como sugieren Hirshberg y cols., podría deberse a que estas representan fibras de colágeno intermedio o patológico, debido probablemente a su estructura proteínica alterada en el caso de QQO o a un incremento en su producción durante el proceso inflamatorio y la fase de reparación que lo acompaña, como ocurriría en QDI, lo que disminuye la proporción de fibras maduras (Hirshberg y cols., 1999; Hirshberg y cols., 2007).

En este trabajo se correlacionó la actividad proliferativa con la madurez de fibras de colágena y se observó correlación positiva entre los marcadores de proliferación (Ki-67/MCM-2) y la BV-A en QQOI, lo que sugiere que el índice de proliferación elevado presenta un mayor porcentaje de fibras inmaduras tipo III y viceversa. En contraste, los QQONI presentaron una correlación negativa entre las fibras maduras tipo I (BN-A) y el índice de proliferación, sugiriendo que al tener fibras maduras, el índice de proliferación es menor, o que la inflamación pudiese ser un factor que promueve la producción de fibras inmaduras al incrementar el crecimiento y expansión de la lesión.

Adicionalmente se observó correlación entre la expresión de Ki-67/ MCM-2 con las fibras maduras tipo I (BN-A) en QDI, lo que sugiere que al aumentar el índice de proliferación en estos quistes se observa un mayor porcentaje de fibras maduras tipo I, mientras que para QDNI la correlación fue negativa entre los marcadores de proliferación y la BN-A, lo que parece indicar que al haber predominio de fibras maduras y ausencia de inflamación el índice de proliferación disminuye, por lo cual, al comparar con lo observado en QOO se podría especular que la inflamación en QOO no es debida a un proceso crónico de larga evolución, y por ende no los afecta igual que a los QD que están inflamados por más tiempo al encontrarse asociados a procesos inflamatorios adyacentes y persistentes, tales como pericoronitis o periodontitis apical de dientes vecinos, lo que permite la maduración de las fibras de colágena, mientras que en QOO la inflamación sería de menor duración y la alteración en las fibras se podría deber a que su producción sería estimulada por el crecimiento quístico continuo, lo que se corrobora al relacionarse con un índice de proliferación mayor al observado en QD.

Con respecto a la posible asociación entre MDV y la madurez de las fibras de colágena, los resultados mostraron una correlación positiva en QQOI para CD34/CD105 con la BV-A, lo que sugiere que el incremento en concentración de fibras inmaduras tipo III se asocia con un aumento en la expresión de los marcadores vasculares y viceversa, en contraste con lo observado en los QQONI, en donde se presentó una correlación positiva entre CD34/CD105 y las fibras maduras tipo I (BN-A), en tanto que al disminuir la angiogénesis se observó que el porcentaje de fibras maduras se incrementa en los QQOI, lo que sugiere que la presencia de inflamación en QOO aumenta la presencia de fibras inmaduras y la MDV. Por su parte, el QDI presentó una correlación positiva entre CD34 y CD105 y BN-

A, lo que significa que al aumentar la angiogénesis, el porcentaje de fibras maduras es mayor, mientras que cuando se incrementa la angiogénesis en QDNI aumenta la presencia de fibras inmaduras (BV-A). Por lo antes descrito, parecería ser que el proceso inflamatorio en QGO es un factor asociado al aumento de la producción de fibras inmaduras y la vascularidad, mientras que en QDI se presentó un aumento en las fibras maduras y angiogénesis, lo que podría significar que la inflamación es un elemento independiente al comportamiento biológico de las lesiones quísticas estudiadas, a pesar de influir directamente en la dinámica de producción y maduración del tejido conjuntivo capsular.

Algunas de las posibles limitaciones de esta investigación incluyen el hecho de que, al ser un estudio retrospectivo, no se obtuvieron los datos clínicos e imagenológicos completos para el análisis demográfico y clínico-patológico.

Por otra parte, al no existir métodos internacionalmente aceptados para el conteo celular y vascular, no se pueden hacer comparaciones directas con otros estudios, por lo que se optó por utilizar las técnicas descritas en algunos trabajos publicados en revistas con factor de impacto. La selección de los campos representativos también presentó dificultad cuando alguna parte de la muestra se vio afectada durante la técnica o era pequeña; sin embargo, se tuvo precaución en la selección de la misma, de tal forma que se pudiera garantizar la inclusión del número de campos necesarios para realizar su evaluación de manera adecuada y cumplir así con la metodología propuesta.

Entre las fortalezas de este trabajo destaca el número de casos que se seleccionaron para el estudio comparativo, así como el haber incluido dos marcadores respectivamente para

evaluar proliferación celular (Ki-67/MCM-2) y angiogénesis (CD34/CD105), por lo que se hizo posible realizar correlaciones entre estos y con la madurez de las fibras de colágeno y se obtuvieron datos que aportan nuevos conocimientos para comprender mejor los mecanismos de expansión quística, los que además promoverán la realización de nuevos estudios en esta área.

11. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El presente estudio complementa información pre-existente y aporta nuevos datos sobre la asociación que existe entre inflamación, proliferación del revestimiento epitelial, angiogénesis y la madurez de las fibras de colágeno en QO y QD.

De acuerdo con los resultados de esta investigación, la inflamación es un factor que promueve la proliferación epitelial, sin que ello signifique necesariamente que haya una mayor agresividad de las lesiones, ya que la capacidad intrínseca de dicha proliferación está determinada principalmente por la naturaleza distinta de las dos entidades estudiadas.

Del mismo modo, la asociación registrada entre angiogénesis y el proceso inflamatorio sugiere que las diferencias existentes en cuanto al comportamiento de ambas lesiones no están determinadas por dicho proceso, sino que la inflamación es un factor independiente que tiene capacidad de producir cambios histomorfológicos que pueden añadir algunas modificaciones en la fisiología de los componentes celulares y extracelulares de los quistes odontogénicos, las cuales no necesariamente influyen en su conducta biológica.

A nivel capsular se registró un mayor porcentaje de fibras inmaduras tipo III, lo que demuestra que estas lesiones presentan alto contenido de colágeno intermedio o patológico, el cual de acuerdo a las correlaciones realizadas entre la evaluación con RPS y la expresión de los marcadores incluidos en este estudio, sugiere deberse a la alteración en la estructura de dicha proteína o a un incremento en su producción durante el proceso inflamatorio y la fase de reparación que lo acompaña, lo que podría ocasionar la mayor frecuencia de formas inmaduras sobre las producidas de manera natural en condiciones no inflamatorias.

Consideramos que con estos resultados se puede apoyar la realización de futuros estudios dirigidos a correlacionar otros elementos participantes en el desarrollo y expansión quística, así como para evaluar y comparar dichos marcadores con lo observado en otras lesiones quísticas más agresivas (por ej. en ameloblastoma unikuístico y en quiste odontogénico glandular), y de esta forma continuar analizando los componentes quísticos como estructuras interdependientes e implementar algunas técnicas biomoleculares para estudios complementarios con respecto a otros posibles factores asociados a su distinto comportamiento biológico.

12. REFERENCIAS

- Açıkgöz A, Uzun-Bulut E, Özden B, Gündüz K. Prevalence and distribution of odontogenic and nonodontogenic cysts in a Turkish population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2012;17(1):e108-e115.
- Adyanthaya S, Shetty P. The effect of inflammation on the epithelial lining and polarization colors of collagen fibres in odontogenic keratocysts: A retrospective histopathological study. *J Int Oral Health*. 2011;3(4):15–21.
- Aggarwal P, Saxena S. Stromal differences in odontogenic cysts of a common histopathogenesis but with different biological behavior: a study with picosirius red and polarizing microscopy. *Indian J Cancer*. 2011;48(2):211-5.
- Alaeddini M, Mostafaloo E, Mirmohammadkhani O, Eshghyar N, Etemad-Moghadam S. Exploring the concept of "inflammatory angiogenesis" in keratocystic odontogenic tumor. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013;18(2):e241-5.
- Alaeddini M, Salah S, Dehghan F, Eshghyar N, Etemad-Moghadam S. Comparison of angiogenesis in keratocystic odontogenic tumours, dentigerous cysts and ameloblastomas. *Oral Dis*. 2009;15(6):422-7.
- 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 (2):186-93.
- Avelar RL, Antunes AA, Carvalho RW, Bezerra PG, Oliveira Neto PJ, Andrade ES. Odontogenic cysts: a clinicopathological study of 507 cases. *J Oral Sci*. 2009;51(4):581-6.
- Aquilanti L, Mascitti M, Togni L, Rubini C, Nori A, Tesei A, et al. Non-neoplastic jaw cysts: a 30-year epidemiological study of 2150 cases in the Italian population. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2020;15 (20) : 30398-3.

- Bell RB, Dierks EJ. Treatment options for the recurrent odontogenic keratocyst. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am.* 2003;15(3):429-46.
- Bhat A, Mitra S, Chandrashekar C, Solomon M, Kulkarni S. Odontogenic cysts and odontogenic tumors in a large rural area from India. A 10-year reflection. *Med Pharm Rep.* 2019;92(4):408-12.
- Bodner L, Manor E, Shear M, van der Waal I. Primary intraosseous squamous cell carcinoma arising in an odontogenic cyst – a clinicopathologic analysis of 116 reported cases. *J Oral Pathol Med.* 2011;40:733-8.
- Bologna-Molina R, Damián-Matsumura P, Molina-Frechero N. An easy cell counting method for immunohistochemistry that does not use an image analysis program. *Histopathology.* 2011;59 (4):801-3.
- Bologna-Molina R, Mosqueda-Taylor A, López-Corella E, de Almeida, OP, Carrasco-Daza D, Farfán-Morales JE, et al. 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-e179.
- Borrás-Ferreres J, Sánchez-Torres A, Alberdi-Navarro J, Aguirre-Urizar JM, Mosqueda-Taylor A, Gay-Escoda C. Therapeutic management of the odontogenic keratocyst. An energetic approach with a conservative perspective and review of the current therapeutic options. *J Clin Exp Dent.* 2020;12(8):e794-e799.
- Brannon RB. The odontogenic keratocyst. A clinicopathologic study of 312 cases. Part II. Histologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1977;43(2):233-55.

- Brito-Mendoza L, Bologna-Molina R, Irigoyen-Camacho ME, Martinez G, Sánchez-Romero C, Mosqueda-Taylor A. A Comparison of Ki67, Syndecan-1 (CD138), and Molecular RANK, RANKL, and OPG Triad Expression in Odontogenic Keratocysts, Unicystic Ameloblastoma, and Dentigerous Cysts. *Dis Markers*. 2018;2018:7048531.
- Browne RM. The odontogenic keratocyst. Clinical aspects. *Br Dent J*. 1970;128:225-31.
- Browne RM. The odontogenic keratocyst. Histological features and their correlation with clinical behaviour. *Br Dent J*. 1971;131(6):249-59.
- Browne RM. The pathogenesis of odontogenic cysts: a review. *J Oral Pathol*. 1975;4(1):31-46.
- Cabbar F, Güler N, Comunoglu N, Sençift K, Cöloğlu S. Determination of potential cellular proliferation in the odontogenic epithelia of the dental follicle of the asymptomatic impacted third molars. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008;66(10):2004-11.
- Carreón-Burciaga RG, González-González R, Molina-Frechero N, Bologna-Molina R. Immunoexpression of Ki-67, MCM2, and MCM3 in Ameloblastoma and Ameloblastic Carcinoma and Their Correlations with Clinical and Histopathological Patterns. *Dis Markers*. 2015;2015: 683087.
- Cohen MA, Shear M. Histological comparison of parakeratinised and orthokeratinised primordial cysts (keratocysts). *J Dent Assoc S Afr*. 1980;35(3):161-5.
- da Silva LP, Gonzaga AK, Severo ML, Barros CC, de Medeiros AM., de Souza LB, et al. Epidemiologic study of odontogenic and non-odontogenic cysts in children and adolescents of a Brazilian population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2018;23(1):e49-e53.

- 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.
- Dayan D, Buchner A, Gorsky M, Harel-Raviv M. The peripheral odontogenic keratocyst. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1988;17(2):81-3.
- de Andrade Santos PP, de Aquino AR, Oliveira Barreto A, de Almeida Freitas R, Galvão HC, de Souza LB. Immunohistochemical expression of nuclear factor κ B, matrix metalloproteinase 9, and endoglin (CD105) in odontogenic keratocysts, dentigerous cysts, and radicular cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112(4):476-83.
- de Oliveira MG, Lauxen Ida S, Chaves AC, Rados PV, Sant'Ana Filho M. Immunohistochemical analysis of the patterns of p53 and PCNA expression in odontogenic cystic lesions. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2008;13(5):E275-E280.
- de Oliveira Ramos G, Costa A, Meurer MI, Vieira DS, Rivero ER. Immunohistochemical analysis of matrix metalloproteinases (1, 2, and 9), Ki-67, and myofibroblasts in keratocystic odontogenic tumors and pericoronal follicles. *J Oral Pathol Med.* 2014;43(4):282-8.
- de Paula AM, Carvalhais JN, Domingues MG, Barreto DC, Mesquita RA. Cell proliferation markers in the odontogenic keratocyst: effect of inflammation. *J Oral Pathol Med.* 2000;29(10):477-82.
- de Souza LB, Gordón-Núñez MA, Nonaka CF, de Medeiros MC, Torres TF, Emiliano GB. Odontogenic cysts: demographic profile in a Brazilian population over a 38-year period. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010;15(4):e583-e590.

- de Vicente JC, Torre-Iturraspe A, Gutiérrez AM, Lequerica-Fernández P. Immunohistochemical comparative study of the odontogenic keratocysts and other odontogenic lesions. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010;15(5):e709-e715.
- González-Galván MC, Aguirre-Urizar JM, Bologna-Molina R, Farfán-Morales JE, Gainza-Cirauqui ML, Marichalar-Mendia X, et al. Assessment of CD-105 as an Angiogenic Modulator in Odontogenic Myxomas and Dental Follicles. *Int J Surg Pathol*. 2016;24(4):315-9.
- Del Corso G, Righi A, Bombardi M, Rossi B, Dallera V, Pelliccioni GA, et al. Jaw cysts diagnosed in an Italian population over a 20-year period. *Int J Surg Pathol*. 2014;22(8):699-706.
- Duff SE, Li C, Garland JM, Kumar S. CD105 is important for angiogenesis: evidence and potential applications. *FASEB J*. 2003;17(9):984-92.
- El-Naggar KA, Chan KC, Grandis R, Takata T, Slootweg PJ. WHO Classification of Head and Neck Tumours. 4th edition. IARC. Lyon. 2017.
- Fonsatti E, Altomonte M, Nicotra MR, Natali PG, Maio M. Endoglin (CD105): a powerful therapeutic target on tumor-associated angiogenetic blood vessels. *Oncogene*. 2003;22(42):6557-63.
- Forssell K, Forssell H, Kahnberg KE. Recurrence of keratocysts. A long-term follow-up study. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1988;17(1):25-8.
- Gadbail AR, Hande A, Chaudhary M, Nikam A, Gawande M, Patil S, et al. Tumor angiogenesis in keratocystic odontogenic tumor assessed by using CD-105 antigen. *J Oral Pathol Med*. 2011;40(3):263-9.

- Gadbail AR, Mankar Gadbail MP, Hande A, Chaudhary MS, Gondivkar SM, Korde S, et al. Tumor angiogenesis: role in locally aggressive biological behavior of ameloblastoma and keratocystic odontogenic tumor. *Head Neck*. 2013;35(3):329-34.
- Gomes CC, Diniz MG, Gómez RS. Review of the molecular pathogenesis of the odontogenic keratocyst. *Oral Oncol*. 2009;45(12):1011-4.
- González-Galván MC, Mosqueda-Taylor A, Bologna-Molina R, Setien-Olarrá A, Marichalar-Mendia X, Aguirre-Urizar JM. Evaluation of the osteoclastogenic process associated with RANK / RANK-L / OPG in odontogenic myxomas. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2018;23(3):e315-e319.
- Gouvêa AF, Vargas PA, Coletta RD, Lopes MA. Clinicopathological features and immunohistochemical expression of p53, Ki-67, Mcm-2 and Mcm-5 in proliferative verrucous leukoplakia. *J Oral Pathol Med*. 2010;39(6):447-52.
- Graziani F, Vano M, Viacava P, Itró A, Tartaro G, Gabriele M. Microvessel density and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human radicular cysts. *Am J Dent*. 2006;19(1):11-4.
- Grossmann SM, Machado VC, Xavier GM, Moura MD, Gomez RS, Aguiar MC, et al. Demographic profile of odontogenic and selected nonodontogenic cysts in a Brazilian population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007;104(6):e35-e41.
- Güler N, Comunoglu N, Cabbar F. Ki-67 and MCM-2 in dental follicle and odontogenic cysts: the effects of inflammation on proliferative markers. *Sci World J*. 2012; 94(6) 1-8.
- Hammad HM, Nagrash OM, Safadi RA. Maspin, Syndecan-1, and Ki-67 in the Odontogenic Keratocyst: An Immunohistochemical Analysis. *Int J Dent*. 2020;14;2020:7041520.

- Hande AH, Gadbail AR, Sonone AM, Chaudhary MS, Wadhwan V, Nikam A. Comparative analysis of tumour angiogenesis in solid multicystic and unicystic ameloblastoma by using CD 105 (endoglin). *Arch Oral Biol.* 2011;56(12):1635-40.
- Harris M, Goldhaber P. The production of a bone resorbing factor by dental cysts in vitro. *Br J Oral Surg.* 1973;10(3):334-8.
- Harris M, Toller P. The pathogenesis of dental cysts. *Br Med Bull.* 1975;31(2):159-63.
- Harvey W, Guat-Chen F, Gordon D, Meghji S, Evans A, Harris M. Evidence for fibroblasts as the major source of prostacyclin and prostaglandin synthesis in dental cyst in man. *Arch Oral Biol.* 1984;29(3):223-9.
- Hirshberg A, Sherman S, Buchner A, Dayan D. Collagen fibres in the wall of odontogenic keratocysts: a study with picosirius red and polarizing microscopy. *J Oral Pathol Med.* 1999;28(9):410-2.
- Hirshberg A, Lib M, Kozlovsky A, Kaplan I. The influence of inflammation on the polarization colors of collagen fibers in the wall of odontogenic keratocyst. *Oral Oncol.* 2007;43(3):278-82.
- Hosgor H, Tokuc B, Kan B, Coskunes FM. Evaluation of biopsies of oral and maxillofacial lesions: a retrospective study. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2019;45(6):316-23.
- Ide F, Shimoyama T, Horie N. Peripheral odontogenic keratocyst: a report of 2 cases. *J Periodontol.* 2002;73(9):1079-81.
- Jaeger F, de Noronha MS, Silva ML, Amaral MB, Grossmann SM, Horta MC, et al. Prevalence profile of odontogenic cysts and tumors on Brazilian sample after the reclassification of odontogenic keratocyst. *J Craniomaxillofac Surg.* 2017;45(2):267-70.

- Jaafari-Ashkavandi Z, Mehranmehr F, Roosta E. MCM3 and Ki67 proliferation markers in odontogenic cysts and ameloblastoma. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2019;9(1):47-50.
- Jahagirdar PB, Kale AD, Hallikerimath S. Stromal characterization and comparison of odontogenic cysts and odontogenic tumors using picosirius red stain and polarizing microscopy: A retrospective and histochemical study. *Indian J Cancer.* 2015;52(3):408-12.
- Jamshidi S, Zargaran M, Baghaei F, Shojaei S, Zare Mahmoodabadi R, Dehghan A, et al. An Immunohistochemical Survey to Evaluate the Expression of CD105 and CD34 in Ameloblastoma and Odontogenic Keratocyst. *J Dent (Shiraz).* 2014;15(4):192-8.
- Jamshidi S, Zargaran M, Roshanaei G, Hadadi F, Dehghani Nazhvani A. Immunohistochemical Comparison of the Expression of CD34 and CD105 in Odontogenic Keratocyst and Dentigerous Cyst. *J Dent (Shiraz).* 2017;18(1):43-6.
- Johnson NR, Gannon OM, Savage NW, Batstone MD. Frequency of odontogenic cysts and tumors: a systematic review. *J Investig Clin Dent.* 2014;5(1):9-14.
- Jones AV, Craig GT, Franklin CD. Range and demographics of odontogenic cysts diagnosed in a UK population over a 30-year period. *J Oral Pathol Med.* 2006;35:500-7.
- Joseph BK, Ali MA, Dashti H, Sundaram DB. Analysis of oral and maxillofacial pathology lesions over an 18-year period diagnosed at Kuwait University. *J Investig Clin Dent.* 2019;10(4):e12432.
- Junqueira LC, Bignolas G, Brentani RR. Picosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J.* 1979;11(4):447-55.
- Junqueira LC, Montes GS, Sanchez EM. The influence of tissue section thickness on the study of collagen by the Picosirius-polarization method. *Histochemistry.* 1982;74:153-6.

- Kaijkar M, Joshi P, Chougule M. A comparative study of influence of inflammation and collagen deposition in the cystic wall of infected and non-infected odontogenic keratocyst using picosirius red and polarizing microscopy. *Indian J Oral Sci.* 2014;5(2):83-7.
- Kammer PV, Mello FW, Rivero ERC. Comparative analysis between developmental and inflammatory odontogenic cysts: retrospective study and literature review. *Oral Maxillofac Surg.* 2020;24(1):73-84.
- Kambalimath DH, Kambalimath HV, Agrawal SM, Singh M, Jain N, Anurag B, et al. Prevalence and distribution of odontogenic cyst in Indian population: a 10 year retrospective study. *J Maxillofac Oral Surg.* 2014;13(1):10-5.
- Kaplan I, Hirshberg A. The correlation between epithelial cell proliferation and inflammation in odontogenic keratocyst. *Oral Oncol.* 2004;40(10):985-91.
- Khan AA, Qahtani SA, Dawasaz AA, Saquib SA, Asif SM, Ishfaq M, Kota MZ, Ibrahim M. Management of an extensive odontogenic keratocyst: A rare case report with 10-year follow-up. *Medicine (Baltimore).* 2019;98(51):e17987.
- Khosravi N, Razavi SM, Kowkabi M, Navabi AA. Demographic distribution of odontogenic cysts in Isfahan (Iran) over a 23-year period (1988-2010). *Dent Res J. (Isfahan).* 2013;10(2):162-7.
- Kodani I, Osaki M, Shomori K, Araki K, Goto E, Ryoke K, et al. Minichromosome maintenance 2 expression is correlated with mode of invasion and prognosis in oral squamous cell carcinomas. *J Oral Pathol Med.* 2003;32(8):468-74.
- Kodani I, Shomori K, Osaki M, Kuratate I, Ryoke K, Ito H. Expression of minichromosome maintenance 2 (MCM2), Ki-67, and cell-cycle-related molecules, and

- apoptosis in the normal-dysplasia-carcinoma sequence of the oral mucosa. *Pathobiology*. 2001;69(3):150-8.
- Kramer IR. Changing views on oral disease. *Proc R Soc Med*. 1974;67(4):271-6.
 - Kubota Y, Ninomiya T, Oka S, Takenoshita Y, Shirasuna K. Interleukin-1alpha-dependent regulation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) secretion and activation in the epithelial cells of odontogenic jaw cysts. *J Dent Res*. 2000;79(6):1423-30.
 - Kulkarni PG, Kumari MA, Jahagirdar A, Nandan S, Reddy DSP, Keerthi M. Collagen and Its Role in predicting the Biological Behavior of Odontogenic Lesions. *J Contemp Dent Pract*. 2017;18(2):137-41.
 - Kumamoto H, Yamauchi K, Yoshida M, Ooya K. Immunohistochemical detection of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med*. 2003;32(2):114-20.
 - Kumar V, Abbas AK, Mitchell RN, Fausto N. *Patología Humana*. 9na. Edición, Barcelona España, Elsevier. 2013.
 - Kumar DV, Hemavathy S, Kulkarni D, Rudraiah PM, Sidramayya Mathpati SK, Priya S. Expression of CD105 in tumor angiogenesis a comparative study (ameloblastoma, keratocystic odontogenic tumor and dentigerous cyst). *J Int Oral Health*. 2015;7(6):23-7.
 - Ledesma-Montes C, Hernández-Guerrero JC, Garcés-Ortíz M. Clinico-pathologic study of odontogenic cysts in a Mexican sample population. *Arch Med Res*. 2000; 31(4):373-6.
 - Lei F, Chen JY, Wang WC, Lin LM, Huang HC, Ho KY, et al. Retrospective study of oral and maxillofacial lesions in older Taiwanese patients. *Gerodontology*. 2015;32(4):281-7.
 - Li TJ, Browne RM, Prime SS, Paterson IC, Matthews JB. p53 expression in odontogenic keratocyst epithelium. *J Oral Pathol Med*. 1996;25(5):249-55.

- Lin HP, Wang YP, Chen HM, Cheng SJ, Sun A, Chiang CP. A clinicopathological study of 338 dentigerous cysts. *J Oral Pathol Med.* 2013;42(6):462-7.
- Mahajan AM, Mahajan MC, Ganvir SM, Hazarey VK. The role of stroma in the expansion of odontogenic cysts and adenomatoid odontogenic tumor: A polarized microscopy study. *J Nat Sci Biol Med.* 2013;4(2):316-20.
- Man QW, Zhang LZ, Zhao Y, Liu JY, Zheng YY, Zhao YF, Liu B. Lymphocyte-derived microparticles stimulate osteoclastogenesis by inducing RANKL in fibroblasts of odontogenic keratocysts. *Oncol Rep.* 2018 ;40(6):3335-3345.
- Main DM. The enlargement of epithelial jaw cysts. *Odontol Revy.* 1970;21(1):29-49.
- Manor E, Kachko L, Puterman MB, Szabo G, Bodner L. Cystic lesions of the jaws-a clinicopathological study of 322 cases and review of the literature. *Int J Med Sci.* 2012;9(1):20-6.
- McIvor M. The radiological features of odontogenic keratocysts. *Br J Oral Surg.* 1972;10(2):116-25.
- Meghji S, Harvey W, Harris M. Interleukin 1-like activity in cystic lesions of the jaw. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1989;27(1):1-11.
- Meghji S, Qureshi W, Henderson B, Harris M. The role of endotoxin and cytokines in the pathogenesis of odontogenic cysts. *Arch Oral Biol.* 1996;41(6):523-31.
- Mendes RA, Carvalho JF, van der Waal I. Biological pathways involved in the aggressive behavior of the keratocystic odontogenic tumor and possible implications for molecular oriented treatment-an overview. *Oral Oncol.* 2010;46(1):19-24.

- Mendes RA, Carvalho JF, van der Waal I. Characterization and management of the keratocystic odontogenic tumor in relation to its histopathological and biological features. *Oral Oncol.* 2010;46(4):219-25.
- Mosqueda-Taylor A, Irigoyen-Camacho ME, Díaz-Franco MA, Torres-Tejero MA. Odontogenic cysts. Analysis of 856 cases. *Med Oral.* 2002;7(2):89-96.
- Mourão RV, Júnior EC, Barros Silva PG, Turatti E, Mota MR, Alves AP. Study of the relationship between mononuclear inflammatory infiltrate and Ki-67 and basement membrane and extracellular matrix protein expression in radicular cysts. *Int Endod J.* 2016;49(5):447-53.
- Niranjana KC, Sarathy NA, Alrani D. MCM-2 expression differentiates potentially malignant verrucous lesions from oral carcinomas. *Ann Diagn Pathol.* 2018;34:72-76.
- Nonaka CF, Maia AP, Nascimento GJ, de Almeida Freitas R, Batista de Souza L, Galvão HC. Immunoexpression of vascular endothelial growth factor in periapical granulomas, radicular cysts, and residual radicular cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106(6):896-902.
- Ochsenius G, Escobar E, Godoy L, Peñafiel C. Odontogenic cysts: analysis of 2,944 cases in Chile. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2007;12(2):E85-E91.
- Ogden GR, Chisholm DM, Kiddie RA, Lane DP. p53 protein in odontogenic cysts: increased expression in some odontogenic keratocysts. *J Clin Pathol.* 1992;45:1007-10.
- Oka S, Kubota Y, Yamashiro T, Ogata S, Ninomiya T, Ito S, et al. Effects of positive pressure in odontogenic keratocysts. *J Dent Res.* 2005;84(10):913-18.

- Ollauri-Ibáñez C, Núñez-Gómez E, Egido-Turrión C, Silva-Sousa L, Díaz-Rodríguez E, Rodríguez-Barbero A, et al. Continuous endoglin (CD105) overexpression disrupts angiogenesis and facilitates tumor cell metastasis. *Angiogenesis*. 2020;23(2):231-47.
- Peddapelli K, Rao V, Kumar MP, Sravya T, Rakesh D. Analysis of collagen fibers in keratocystic odontogenic tumor and ameloblastoma: A polarizing microscopic study. *Indian J Dent Res*. 2019;30(5):731-5.
- Pereira Prado V, Asquino N, Apellaniz D, Tapia G, Bologna Molina R. Metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs) en Odontología. *Odontoestomatología*. 2016; 18:20-9.
- Raj Y, Sekhar MS, Shylaja S, Bhavani SN, Ramanand OV, Patha S, et al. Evaluation of the Nature of Collagen Fibers in KCOT, Dentigerous Cyst and Ameloblastoma using Picrosirius Red Stain - A Comparative Study. *J Clin Diagn Res*. 2015;9(11):ZC01-ZC4.
- Razavi SM, Jafari M, Heidarpoor M, Khalesi S. Minichromosome maintenance-2 (MCM2) expression differentiates oral squamous cell carcinoma from pre-cancerous lesions. *Malays J Pathol*. 2015;37(3):253-8.
- Ribeiro AL, Nobre RM, Alves-Junior SM, Kataoka MS, Barroso RF, Jaeger RG, et al. Matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases, and growth factors regulate the aggressiveness and proliferative activity of keratocystic odontogenic tumors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012;114(4):487-96.
- Rodu B, Tate AL, Martínez MG Jr. The implications of inflammation in odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol*. 1987;16(10):518-21.
- Ruiz PA, Toledo OA, Nonaka CF, Pinto LP, Souza LB. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-9 in radicular and residual radicular cysts. *J Appl Oral Sci*. 2010;18(6):613-20.

- Sá MC, de Matos FR, Conceição TS, Leitão AC, Freitas RA. Immunoexpression of tumour necrosis factor- α , interleukin-1 α and interleukin-10 on odontogenic cysts and tumours. *Int Endod J.* 2017;50(5):437-445.
- Scharffetter K, Balz-Herrmann C, Lagrange W, Koberg W, Mittermayer C. Proliferation kinetics-study of the growth of keratocysts. Morpho-functional explanation for recurrences. *J Craniomaxillofac Surg.* 1989;17(5):226-33.
- Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol.* 2000;182(3):311-22.
- Seifi S, Shafaie S, Ghadiri S. Microvessel density in follicular cysts, keratocystic odontogenic tumours and ameloblastomas. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011;12(2):351-6.
- Sharifian MJ, Khalili M. Odontogenic cysts: a retrospective study of 1227 cases in an Iranian population from 1987 to 2007. *J Oral Sci.* 2011;53(3):361-7.
- Shear M, Speight P. *Cyst of the Oral and Maxillofacial Regions. Fourth Edition.* Oxford. Blalwell-Munksgaard. 2007; 123-42.
- Shetty A, Tamgadge A, Bhalerao S, Periera T, Tamgadge S, Gotmare S. Study of polarization colors in the connective tissue wall of odontogenic cysts using picrosirius red stain. *J Orofac Sci.* 2015;7 (2):119-24.
- Silva LP, Serpa MS, Sobral A, Arruda J, Silva L, Noronha MS, et al. A retrospective multicentre study of cystic lesions and odontogenic tumours in older people. *Gerodontology.* 2018;35(4):325-32.
- Silveira ÉJD, Piva MR, Galvão HC, Souza LB, Freitas RDA. Participação das metaloproteinases da matriz na etiopatogenia dos cistos odontogênicos. *J Bras Patol Med Lab.* 2007;43(3):203–9.

- Singh HP, Shetty DC, Wadhwan V, Aggarwal P. A quantitative and qualitative comparative analysis of collagen fibers to determine the role of connective tissue stroma on biological behavior of odontogenic cysts: A histochemical study. *Natl J Maxillofac Surg.* 2012;3(1):15-20.
- Smith I, Shear M. Radiological features of mandibular primordial cysts. (Keratocysts). *J Maxillofac Surg.* 1978;6(2):147-54.
- Soares AB, Altemani A, de Araújo VC. Study of histopathological, morphological and immunohistochemical features of recurrent pleomorphic adenoma: an attempt to predict recurrence of pleomorphic adenoma. *J Oral Pathol Med.* 2011;40(4):352-8.
- Sreedhar G, Raju MV, Metta KK, Manjunath S, Shetty S, Agarwal RK. Immunohistochemical analysis of factors related to apoptosis and cellular proliferation in relation to inflammation in dentigerous and odontogenic keratocyst. *J Nat Sci Biol Med.* 2014;5(1):112-5.
- Tadbir AA, Pardis S, Ashkavandi ZJ, Najvani AD, Ashraf MJ, Taheri A, et al. Expression of Ki67 and CD105 as proliferation and angiogenesis markers in salivary gland tumors. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(10):5155-9.
- Tamiolakis P, Thermos G, Tosios KI, Sklavounou-Andrikopoulou A. Demographic and Clinical Characteristics of 5294 Jaw Cysts: A Retrospective Study of 38 Years. *Head Neck Pathol.* 2019;13(4):587-96.
- Tekkesin MS, Olgac V, Aksakalli N, Alatli C. Odontogenic and nonodontogenic cysts in Istanbul: analysis of 5088 cases. *Head Neck.* 2012;34(6):852-5.

- Teronen O, Salo T, Konttinen YT, Rifkin B, Vernillo A, Ramamurthy NS, et al. Identification and characterization of gelatinases/type IV collagenases in jaw cysts. *J Oral Pathol Med.* 1995;24(2):78-84.
- Tortorici S, Amodio E, Massenti MF, Buzzanca ML, Burrzano F, Vitale F. Prevalence and distribution of odontogenic cysts in Sicily: 1986-2005. *J Oral Sci.* 2008;50(1):15-8.
- Vargas PA, Cheng Y, Barrett AW, Craig GT, Speight PM. Expression of Mcm-2, Ki-67 and geminin in benign and malignant salivary gland tumours. *J Oral Pathol Med.* 2008;37(5):309-18.
- Thompson LD. Dentigerous cyst. *Ear Nose Throat J.* 2018;97(3):57
- Vallejo-Rosero KA, Camolesi GV, de Sá PLD, Bernaola-Paredes WE. Conservative management of odontogenic keratocyst with long-term 5-year follow-up: Case report and literature review. *Int J Surg Case Rep.* 2020;66:8-15.
- Vedtofte P, Holmstrup P, Dabelsteen E. Human odontogenic keratocyst transplants in nude mice. *Scand J Dent Res.* 1982;90(4):306-14.
- Vedtofte P, Praetorius F. Recurrence of the odontogenic keratocyst in relation to clinical and histological features. A 20-year follow-up study of 72 patients. *Int J Oral Surg.* 1979;8(6):412-20.
- Vered M, Buchner A, Dayan D. Giant cell granuloma of the jawbones a proliferative vascular lesion? Immunohistochemical study with vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor. *J Oral Pathol Med.* 2006;35(10):613-9.
- Vered M, Peleg O, Taicher S, Buchner A. The immunoprofile of odontogenic keratocyst (keratocystic odontogenic tumor) that includes expression of PTCH, SMO, GLI-1 and bcl-2 is similar to ameloblastoma but different from odontogenic cysts. *J Oral Pathol Med.* 2009;38(7):597-604.

- Vij R, Vij H, Rao NN. Evaluation of collagen in connective tissue walls of odontogenic cysts a histochemical study. *J Oral Pathol Med.* 2011;40(3):257-62.
- Villasis-Sarmiento L, Portilla-Robertson J, Melendez-Ocampo A, Gaitan-Cepeda LA, Leyva-Huerta ER. Prevalence and distribution of odontogenic cysts in a Mexican sample. A 753 cases study. *J Clin Exp Dent.* 2017;9(4):e531-e538.
- Vogel B, Siebert H, Hofmann U, Frantz S. Determination of collagen content within picosirius red stained paraffin-embedded tissue sections using fluorescence microscopy. *Methods X.* 2015;2:124-34.
- Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J. Tumor angiogenesis and metastasis--correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med.* 1991;324(1):1-8.
- Woolgar JA, Rippin JW, Browne RM. The odontogenic keratocyst and its occurrence in the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1987;64(6):727-30.
- Zakaria Samar HMD, Farag Heba A, Khater Dina S. Immunohistochemical Expression of MCM-2 in Oral Epithelial Dysplasias. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2018;26(7):509-13.
- Zerrin E, Husniye DK, Peruze C. Dentigerous cysts of the jaws: Clinical and radiological findings of 18 cases. *J Oral Maxillofac Radiol.* 2014; 2(3):77-81.

ANEXOS

Anexo 1.

Criterios histopatológicos según Shear & Speight (2007) y OMS (2017)

QOO

Revestimiento epitelial

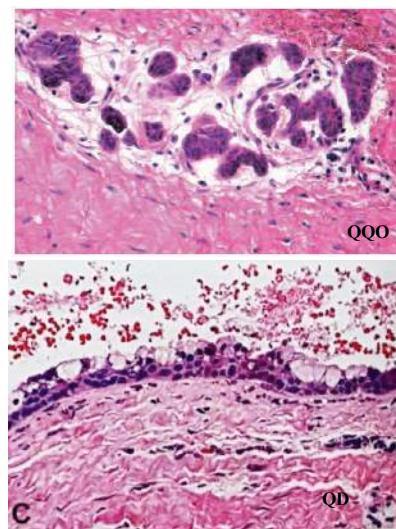
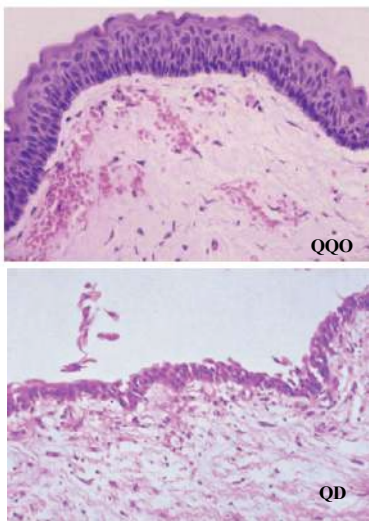
Cápsula

Epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado compuesto de 5-8 capas de espesor, sin procesos interepiteliales, superficie corrugada, la capa basal exhibe células cuboidales a columnares dispuestas en empalizada, a menudo el epitelio se desprende de la cápsula.

Suele ser delgada con pocas células ampliamente separadas por un estroma que es a menudo rico en mucopolisacáridos, puede haber una infiltración leve de linfocitos y monocitos.

En presencia de inflamación intensa el epitelio pierde su superficie queratinizada

En presencia de inflamación se puede observar metaplasia mucosa, cuerpos hialinos (Rushton) y hendiduras de colesterol. A veces contiene quistes satélites e islas de epitelio odontogénico.



QD

Revestimiento epitelial

Cápsula

Consiste de 2-3 capas de células planas o cuboidales que corresponden al epitelio reducido del órgano del esmalte, el que ocasionalmente puede presentar células mucosecretoras, células ciliadas y no es raro que presente metaplasia escamosa en parte o la totalidad del revestimiento, así como cuerpos hialinos de Rushton en zonas de inflamación.

Fibrosa frecuentemente mixoide, formada por fibroblastos jóvenes ampliamente separados por cantidades variables de sustancia fundamental rica en mucopolisacáridos, la cual es derivada del folículo dental.

Es común el hallazgo de nidos, islas o cordones de epitelio odontogénico inactivo, así como ocasionales focos de mineralización distrófica.

Ficha de recolección

Datos generales

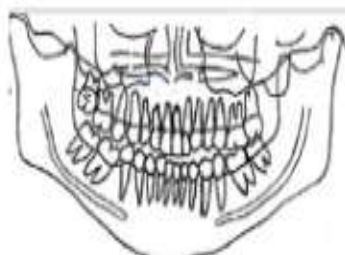
Edad	Sexo ()	Nº de biopsia
	Cod. 1 Femenino 2 Masculino	

Quiste Odontogénico

Cod. inflamación (0)NO (1)SI

Localización

QOQ	QD
()	()
Grado de inflamación	Grado de inflamación
()	()



Tamaño
≤ 5cm ()
≥ 5cm ()

Análisis Inmunohistoquímico e histoquímico

Campo	Ki-67			MCM-2			CD34	CD105
	# Total	Células (+)	%	# Total	Células (+)	%	# vasos	#vasos
1								
2								
3								
4								
5								
Promedio								

RPS			
Áreas	Zonas Cód.	Disposicion Cód.	Birefringencia Cód.
	1)Subepitelial 2)Intermedia 3)Periférica	1)No-paralelo 2)Paralelo 3)Misto	1)B-VA 2)B-NA
1			
2			
3			
4			
Total			

Anexo 2. Ficha de recolección de datos

Anexo 3. Características clínicas y demográficas de los quistes incluidos en este estudio

	QQO (n=35)		QD (n=35)	
	n	(%)	n	(%)
Sexo				
Femenino	19	(54.3)	19	(54.3)
Masculino	Anexo 2. Ficha de recolección de datos		(45.7)	
Mediana de edad (Q₁-Q₃)				
	27 (18-35)		35 (11-56)	
Localización				
Mandíbula	25	(71.5)	29	(82.8)
Maxilar	10	(28.5)	6	(17.2)
Zona				
Posterior	31	(88.6)	28	(80.0)
Anterior	4	(11.4)	7	(20.0)
Tamaño (n=33)				
≤5cm	10	(58.8)	15	(93.7)
≥5cm	7	(41.2)	1	(6.3)

QQO=Queratoquiste odontogénico, QD= Quiste dentígero; a = Pearson b= Kruskal Wallis. Se desconoce el tamaño de 18 QQO y 19QD.