



**CARACTERIZACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE LOS COMPONENTES
CELULARES RELACIONADOS A LOS MECANISMOS DE CRECIMIENTO EN
LESIONES QUIÍSTICAS ODONTOGÉNICAS**

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

P R E S E N T A

C.D. LUISANA MARIBEL BRITO MENDOZA

COMITÉ TUTORIAL:

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

Co-Director: Dra. Ma. Esther Irigoyen Camacho

Asesor: Dr. Ronell Bologna Molina

Asesor: Dr. Guillermo Martínez Mata

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



El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad

Xochimilco aprobó la ICR que presentó:

Luisana Maribel Brito Mendoza

Codirector: M. en C. Adalberto Mosqueda Taylor

Codirectora: Dra. María Esther Irigoyen Camacho

Asesor: Dr. Ronell Bologna Molina

Asesor: Dr. Guillermo Martínez Mata

Jurado:

Dra. Velia Aydeé Ramírez Amador

M. en C. Martha González Guevara

Dra. Ana María Cano Valdéz



GRACIAS

Principalmente a Dios, por su maravillosa bendición que día a día me permitió continuar luchando por esta meta, a pesar de pequeñas dificultades que se fueron presentando en el camino.

A mi familia en especial a mis padres Omaira Mendoza y Luis Adolfo Brito y mi hermano Gerardo Arispe Mendoza, que han estado en cada momento especial de mi vida y siempre he contado con su apoyo y amor incondicional.

A mi novio Carlos Ernesto Contreras que durante estos últimos tres años ha sido mi compañero en esta maravillosa experiencia y en cada una de las etapas de mí vida profesional, gracias por todo el apoyo, el amor y la lealtad.

A Adalberto Mosqueda Taylor, que ha sido y será una de las personas que más he admirado en este campo, porque además ha sido mi apoyo y mi maestro durante este proceso, puliendo cada vez más todos los detalles precisos para que este trabajo tuviera la mejor calidad posible y porque además es un ejemplo de excelencia académica, profesional y humana.

A María Esther Irigoyen Camacho, por sus enseñanzas durante todo mi proceso de formación, su paciencia, cariño, su gran calidad humana y académica y por apoyo en los momentos más difíciles.

A Eduardo Farfán, Oscar Almeda, Obed Lemus, Ronell Bologna Molina, por el apoyo, la paciencia y por ser parte de este trabajo.

A todos mis profesores del posgrado de Especialización y Maestría en Patología y Medicina Bucal, por sus enseñanzas durante todo este proceso.

A Mariana Villarroel Dorrego, que gracias a su respaldo desde mis inicios en el pre-grado, me ha apoyado en todas y cada una de las etapas académicas que hasta ahora he superado, porque además es una persona que se ha convertido en mi admiración, por su alta calidad humana, académica y profesional.

A mis compañeros del posgrado por ser parte de esta maravillosa experiencia y por haberse convertido en amigos incondicionales.

Un reconocimiento especial al Dr. Daniel Carrasco, que aunque no se encuentre entre nosotros actualmente, hay personas que son tan especiales que aun estando muertas nos enseñan cosas importantes, como el mantenernos unidos en los momentos más difíciles, que su muerte sea un lección para todos los que tenemos la fortuna de seguir vivos.
¡Gracias por todo maestro, hasta luego!.

INDICE

Abreviaturas	I
Índice de Cuadros	II
Índice de Figuras	III
Resumen	IV
1. Introducción	7
2. Antecedentes	9
2.1 Epidemiología de los quistes odontogénicos	10
2.2 Epidemiología de los tumores odontogénicos	13
2.3 Características clínicas de las lesiones quísticas	16
2.3.1 Quiste dentígero	16
2.3.1.1 Características clínico-patológicas y mecanismos de crecimiento	17
2.3.2 Tumor Odontogénico Queratoquístico	20
2.3.2.1 Características clínico-patológicas y mecanismos de crecimiento	23
2.3.3 Ameloblastoma Uniquístico	31
2.3.3.1 Características clínico-patológicas y mecanismos de crecimiento	33



PDF Complete
*Your complimentary use period has ended.
 Thank you for using PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)

3. Planteamiento del problema	37
4. Justificación	38
5. Objetivo	39
5.1 Objetivo general	39
5.2 Objetivos específicos	39
6. Material y Métodos	41
6.1 Tipo de estudio	41
6.2 Materiales	41
6.3 Grupo de estudio	42
6.4 Criterios de inclusión	42
6.5 Criterios de exclusión	42
6.6 Criterios de eliminación	43
6.7 Técnica de inmunohistoquímica	43
6.8 Análisis inmunohistoquímico	44
6.8.1 Descripción del análisis inmunohistoquímico realizado al epitelio de revestimiento de las lesiones quísticas de origen odontogénico	44
6.8.2 Descripción del análisis inmunohistoquímico de la expresión de los anticuerpos analizados en el estroma de las lesiones quísticas de origen	



PDF Complete

Your complimentary use period has ended. Thank you for using PDF Complete.

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)

odontogénico	46
6.8.3 Descripción del análisis inmunohistoquímico de los marcadores de reabsorción ósea en las lesiones quísticas de origen odontogénico	49
6.8 Variables	52
6.8 Análisis estadístico	53
7. Consideraciones bioéticas	54
8. Resultados	55
8.1 Características demográficas	55
8.2 Análisis Inmunohistoquímico	56
Análisis de los índices de proliferación celular y de la expresión de Syndecan	56
Correlación de la expresión de Syndecan-1 con el índice de proliferación celular	57
Análisis de la expresión de Triptasa en células cebadas	57
Análisis de la expresión del componente vascular a través del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y microdensidad vascular y CD34	57
Análisis de la expresión de RANK, RANKL y OPG	58



PDF Complete

Your complimentary use period has ended. Thank you for using PDF Complete.

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)

9. Cuadros	60
10. Gráficos	65
11. Discusión	71
12. Conclusiones y perspectivas	83
13. Referencias bibliográficas	85
14. Anexos	VII
Anexo I Clasificación de los quistes de los maxilares	VII
Anexo 2 Instrumento de recolección de datos	IX



1. INTRODUCCIÓN

Un quiste se define como una cavidad patológica que puede contener material fluido, semifluido o gaseoso, la cual no es creada por la acumulación de pus¹. En su mayoría, los quistes se encuentran revestidos por epitelio. A las lesiones sin revestimiento epitelial muchos autores las denominan simplemente `cavidades_2; sin embargo, otros las incluyen dentro de los quistes de la región bucal y maxilofacial, independientemente del tipo de revestimiento que presenten, y proponen la clasificación que se muestra en el anexo 1³.

Esta clasificación tiene la ventaja de ofrecer al patólogo una guía para el diagnóstico, pero presenta información limitada acerca de su naturaleza y comportamiento biológico, debido a que no discrimina totalmente aquellas que poseen un origen reactivo y con potencial limitado de crecimiento de otras lesiones producto de desordenes en los mecanismos de desarrollo o de procesos neoplásicos con expresión quística, como son los casos del tumor odontogénico quístico calcificante y el queratoquiste odontogénico o tumor odontogénico queratoquístico (TOQ), entidades que hoy en día son clasificadas como tumores odontogénicos por la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁴. De igual manera, es importante señalar que entre los tumores odontogénicos existen algunos que presentan variantes de tipo quístico, tales como el tumor odontogénico adenomatoide y el ameloblastoma unikuístico (AU), los cuales en numerosas ocasiones deben ser incluidos en el diagnóstico diferencial de las lesiones quísticas intra-óseas de los huesos maxilares, pero que no son consideradas en la clasificación de quistes de los maxilares antes mencionada.

Existen estudios que han aportado información acerca de la proliferación celular del revestimiento epitelial y sobre la naturaleza de los componentes de la cápsula, así como de



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

algunos factores de crecimiento e indicadores de actividad osteoblástica y de resorción, los cuales son importantes para comprender mejor el posible origen y comportamiento de este tipo de lesiones⁵⁻⁸. El presente trabajo aporta elementos adicionales sobre la relación que existe entre la expresión de diversos marcadores inmunohistoquímicos y la conducta clínica conocida de algunas de las lesiones quísticas más frecuentemente diagnosticadas en la región maxilofacial.



2. ANTECEDENTES

Los quistes y tumores de origen odontogénico constituyen un grupo heterogéneo de lesiones responsables de un alto número de intervenciones quirúrgicas muy extensas, lo que puede deberse, al menos en parte, a su naturaleza y al tipo de crecimiento progresivo que poseen, ya que producen una gran pérdida ósea e incrementan los riesgos de fractura patológica, infecciones secundarias y diversos trastornos funcionales y estéticos de la región maxilofacial⁴.

Algunos de los tumores odontogénicos como el AU y el TOQ se caracterizan por presentar una conformación estructural similar en su apariencia clínica y radiográfica a otras lesiones quísticas no neoplásicas, y especialmente pueden simular quiste dentígero (QD), por lo que se hace necesario considerar a dicha entidad en su diagnóstico diferencial, así como conocer los elementos celulares y extracelulares que participan en los mecanismos patofisiológicos implicados en su formación y crecimiento, a fin de comprender mejor las similitudes y diferencias que existen entre ellas. Es muy importante tener en consideración que los quistes y tumores odontogénicos comprenden la mayor parte de las lesiones intra-óseas que destruyen a los huesos maxilares, pero su frecuencia relativa, comportamiento biológico y manejo terapéutico varían de acuerdo a las distintas series publicadas, por lo que a continuación se describen brevemente algunos aspectos epidemiológicos, clínicos y los relativos a la histogénesis y crecimiento de estas entidades⁹⁻²⁴.



2.1 Epidemiología de los quistes odontogénicos

El conocimiento de la frecuencia relativa de las diferentes lesiones quísticas de origen odontogénico en las distintas poblaciones es un elemento de gran valor tanto para los patólogos como para los clínicos, ya que constituye la base para establecer hipótesis acerca de su posible origen y los factores determinantes de su aparición. De igual forma es de gran importancia para el clínico conocer las características demográficas de los pacientes afectados por estas lesiones, ya que éstas pueden tener implicaciones clínicas y terapéuticas en algunos casos.

Durante las últimas dos décadas se han publicado algunos estudios sobre la frecuencia de los diversos tipos de lesiones quísticas odontogénicas en distintas poblaciones, los cuales se resumen en el Cuadro 1.

Tabla 1. Frecuencia de quistes odontogénicos en diversas poblaciones

Autores	País	Fuente de información	N° de casos	Tipo de quiste										
				Radicular		Dentígero		TOQ*		Residual		Paradental		
				N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	
Ledesma et al. ⁹	México	Laboratorio de patología bucal	304	118	38.81	108	35.52	57	18.75	15	4.93	-	-	3
Ochsenius et al. ¹⁰	Chile	Instituto de referencia de patología bucal	2944	1494	50.7	546	18.5	421	14.3	328	11.1	-	-	4
Mosqueda et al. ¹¹	México	Dos servicios de diagnóstico histopatológico bucal.	856	342	39.9	283	33.0	184	21.5	19	2.2	12	1.4	7
Jones et al. ¹²	Reino Unido	Departamento de patología bucal	7121	3724	52.3	1292	18.1	828	11.6	573	8.0	402	5.6	1
Shear & Speight ¹	Sudáfrica	Departamento de patología bucal	3498	1825	52	599	17.1	355	10.2	-	-	109	3.7	2
Grossman et al. ¹³	Brasil	Servicio de patología bucal	2905	1772	61.0	735	25.3	208	7.2	-	-	19	0.7	2
Zhang et al. ¹⁴	Canadá	Servicio de diagnóstico histopatológico bucal	6807	-	-	2020	5	-	-	-	-	-	-	4

*TOQ: Tumor Odontogénico Queratoquístico (Queratoquiste Odontogénico).



PDF Complete
Your complimentary use period has ended.
Thank you for using PDF Complete.

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Como se puede apreciar, el QD es uno de los quistes más comunes dentro de los maxilares, con una frecuencia que va desde el 5% hasta 35.52% de todos los quistes odontogénicos registrados en los diferentes estudios, solo superado por el quiste radicular inflamatorio⁹⁻¹⁴. En estudios realizados en México se han registrado las frecuencias más altas de quiste dentígero, que van del 33%¹¹ al 35.52%⁹ del total de los quistes odontogénicos diagnosticados en diferentes servicios de patología bucal, y es de llamar la atención que presenta una frecuencia aparentemente mayor que la reportada en poblaciones de Chile, Canadá, Sudáfrica y Reino Unido. Los autores de dichos estudios sugieren que aunque estas diferencias pudieran ser explicables con base en las características etno-genéticas de las distintas poblaciones, es más probable que se deban a diferencias en cuanto a la conducta diagnóstica que se sigue en cada país para la identificación y registro de dichas lesiones, ya que existe una mayor disponibilidad y acceso al estudio histopatológico de las mismas en países desarrollados, lo que conduce a una mayor referencia de lesiones inflamatorias y quísticas periapicales a los laboratorios de patología de dichos países, reduciendo en ellos la frecuencia relativa de quistes dentígeros^{1, 9-14}.



2.2 Epidemiología de los tumores odontogénicos

Se han publicado estudios sobre la frecuencia de los tumores odontogénicos en distintos países, en los que se ha podido documentar que dichas lesiones representan entre 0.7%²² y 4%¹⁵ de todos los especímenes que se reciben para estudio histopatológico en laboratorios de patología bucal y maxilofacial universitarios y privados, y en servicios de cabeza y cuello a nivel intrahospitalario¹⁵⁻²⁴.

En el cuadro 2 se presenta la frecuencia de los diversos tumores odontogénicos registrados en estudios recientes que han seguido criterios diagnósticos basados en alguna de las clasificaciones histológicas aceptadas internacionalmente para el diagnóstico de este tipo de entidades⁴.



Cuadro 2. Frecuencia de tumores odontogénicos en diversas poblaciones a nivel

N° de TO	Autores													
	Osterne RM, <i>et al</i> ²¹		Shear M & Speight P ¹		Gupta B, <i>et al</i> ¹⁶		Mosqueda-Taylor A, <i>et al</i> ¹⁷		Luo HY & Li TJ ¹⁵		Ladeinde AK, <i>et al</i> ¹⁸		Buchner A <i>et al</i> ²²	
	Brasil		Sudáfrica		India		México		China		Nigeria		EEUU	
País	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
TOQ	52	28.1	355	10.2	-	-	-	-	507	38.7	-	-	-	-
A	54	29.1	-	-	331	67.69	83	23.7	471	36.5	201	63	127	11.7
AM	-	-	-	-	207	42.3	-	-	316	24.1	-	-	69	54
AP	-	-	-	-	7	1.4	-	-	6	0.4	-	-	-	-
AU	-	-	-	-	117	23.9	-	-	149	11.3	-	-	58	46
O	36	19	-	-	38	7.7	121	36	80	6.1	8	2.5	826	75
TOQC	7	3.8	30	0.9	27	5.5	24	6.8	26	1.9	17	5.3	17	1.6
TOA	1	0.5	-	-	43	8.7	25	7.1	27	2.0	24	7.5	19	1.7
TOEC	1	0.5	-	-	4	0.8	3	0.8	6	0.4	5	1.6	5	0.5
TOE	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	0.3
FO	7	3.7	-	-	-	-	5	1.4	21	1.6	17	5.3	16	1.5
M	13	7.0	-	-	13	2.6	62	17	34	2.6	21	6.3	24	2.2
FA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	197	1.6
COCC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0.1
TOM	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	0.4

TOQ: tumor odontogénico queratoquístico, A: ameloblastoma; AM: ameloblastoma multiquistico; AP: ameloblastoma periférico; AU: ameloblastoma uniuquistico; O: odontoma; TOA: tumor odontogénico adenomatoide; TOEC: tumor odontogénico epitelial calcificante; TOE: tumor odontoesquamoso; FO: fibroma odontogénico; M: mixoma; FA: fibroma ameloide; TOM: tumores odontogénicos malignos.



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Como se puede apreciar en el Cuadro 2, la mayoría de TO (aprox. 95%) son lesiones benignas, mientras que las neoplasias odontogénicas malignas representan apenas entre 0.1% y 5.5% y la diferencia observada en la frecuencia registrada de los distintos tumores en las diversas series publicadas posiblemente se explique por la naturaleza de la fuente de origen, ya que los estudios basados en el análisis de casos provenientes de instituciones hospitalarias presentan una frecuencia relativamente mayor de TO benignos agresivos o malignos, contrario a lo observado en estudios basados en el registro de tumores en escuelas dentales y práctica privada, en los que la frecuencias de estas lesiones es considerablemente menor¹⁹.

2.3 Características clínicas de las lesiones quísticas odontogénicas incluidas en este estudio.

2.3.1 Quiste dentígero

El QD es el quiste del desarrollo más comúnmente diagnosticado en los maxilares. Esta es una lesión que envuelve la corona de un diente no erupcionado, formado acumulación de líquido entre el folículo y la superficie del esmalte, el cual se encuentra unido al cuello del diente involucrado²⁵. Es importante que esta definición sea tomada en forma estricta al conjuntar los hallazgos clínico-radiológicos con los histopatológicos, y no basarla en hallazgos clínico-radiológicos solamente, ya que otras lesiones quísticas como el tumor odontogénico queratoquístico o lesiones sólidas como el ameloblastoma, tumor odontogénico adenomatoide y otros tumores pueden encontrarse asociados a un diente no erupcionado y por lo tanto se corre el riesgo de que se dé un diagnóstico incorrecto y se efectúen tratamientos inadecuados²⁶.

Los quistes dentígeros pueden llegar a presentar un gran tamaño antes de ser diagnosticados, aunque en su mayoría estos quistes se detectan como un hallazgo radiográfico incidental o debido a la ausencia clínica de algún diente que no ha erupcionado en su tiempo normal. El QD es comúnmente asintomático, pero puede presentar ocasionalmente dolor, particularmente por un proceso infeccioso sobreagregado, o aparecer como un aumento de volumen que produce expansión ósea de tamaño variable con o sin desplazamiento de dientes adyacentes en la zona afectada³.

Radiográficamente, se aprecia como una radiolucencia unilocular asociada a la corona de un diente no erupcionado. Por lo general presenta márgenes bien definidos, pero esto puede



modificarse cuando se encuentra infectado. En muy raras ocasiones se pueden observar algunas trabeculas óseas internas, lo que puede simular multilocularidad^{27, 28}.

Hay tres variantes radiográficas del QD, de acuerdo a la posición de la lesión y su tamaño:

1. La variante central, en donde la corona se encuentra envuelta de forma simétrica; 2. La variante lateral, en donde se da la apariencia de que el folículo se encuentra dilatado en un lado de la corona dentaria, y 3. La variante circunferencial, en donde el diente entero pareciera estar envuelto por el quiste. La importancia de esta última variante es que puede llegar a confundirse con mayor frecuencia con un TOQ o con otras lesiones³.

El QD posee un comportamiento biológico no agresivo. En diversos estudios se han tratado estas lesiones mediante enucleación simple, ya sea preservando o no el diente retenido, con buenos resultados; en otros casos se ha realizado la descompresión de la lesión quística, tratando de manera exitosa el diente involucrado y llevándolo a oclusión de nuevo, gracias a las técnicas ortodónticas. En ningún caso se ha observado recidiva de la lesión²⁹⁻³⁵.

2.3.1.1 Mecanismos de expansión y crecimiento del quiste dentígero

Tomando en cuenta que los quistes dentígeros se desarrollan alrededor de un diente no erupcionado, gracias a la acumulación de fluido entre el folículo dental y la superficie de la corona (de allí el nombre de `quiste folicular_ utilizado como sinónimo de QD por muchos autores), Main²⁶ sugirió 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 de obstruir el flujo venoso, lo que induce la transudación a través de las paredes capilares, y este fluido plasmático (transudado) busca una vía de drenaje y consecuentemente se acumula en el sitio de menor resistencia tisular, que es la zona de unión del epitelio

reducido del esmalte y la superficie coronal. Como consecuencia de esto, el incremento de la presión hidrostática causada por esta acumulación de fluidos separa al folículo de la corona, con o sin la totalidad del epitelio reducido del esmalte, e inicia el proceso de expansión de los QD.

Adicionalmente, el estudio realizado por Browne³⁶ sugiere que además del fluido que contiene el QD, se puede encontrar exudado que proviene de los vasos presentes en la cápsula fibrosa del quiste, cuando el folículo está inflamado, al que se añaden inmunoglobulinas sintetizadas localmente a partir de las células plasmáticas presentes, contribuyendo con ello a incrementar la presión osmótica. Esto es particularmente posible cuando los QD muestran evidencia de inflamación aguda y crónica en sus paredes, en cuyo caso la exudación pudiese jugar un papel adicional en la expansión del quiste. Además, la presencia de células epiteliales descamadas, así como de células inflamatorias dentro de la cavidad del quiste pueden también contribuir, al degradarse, a aumentar la presión osmótica dentro de la cavidad quística, lo que promueve los mecanismos de expansión de estas lesiones, incrementando la cantidad de líquido atraído hacia el interior de la cavidad y acrecentar la presión hidrostática sobre las paredes óseas³, con la consecuente liberación de factores activadores de osteoclastos y sustancias que favorezcan la resorción ósea para favorecer el crecimiento quístico^{37, 38}.

En un estudio más reciente Ninomiya *et al.*³⁹ compararon la expresión de IL-1 mRNA en TOQ después de haber sido tratados con marsupialización y en quistes dentígeros que fueron tratados con enucleación, y encontraron que la señalización de IL-1 mRNA, fue significativamente más alta en los TOQ (100% de los casos analizados) en comparación con los QD (56% de los casos analizados)³⁹. De igual forma dichos autores estudiaron la

concentración de citocinas (IL-1 , IL-6 y TNF-) en el líquido intraquístico del QD y TOQ, encontrando que la concentración de IL-1 , era significativamente menor en los QD en comparación con los TOQ, a diferencia de la IL-6, cuyos niveles de concentración en el QD fueron considerablemente más altos en comparación con el TOQ³⁹. También demostraron en un estudio *in vitro* en TOQ, que la IL-1 posee la capacidad de estimular la expresión de ciertas metaloproteasas de matriz (MMP), específicamente MMP-9, MMP-3 y MMP-2, por lo que se puede inferir que debido a la baja expresión de estas citocinas en el QD, estas lesiones poseen un comportamiento biológico menos agresivo que el TOQ³⁹.

Adicionalmente, se han estudiado diversos factores relacionados con los componentes epiteliales y mesenquimatosos de los quistes y tumores odontogénicos, debido a que estos participan en su regulación y crecimiento, y se identificó que la expresión de proteínas específicas de la matriz extracelular (MEC) asociadas con la exuberante presencia de MMPs y la ausencia de expresión de los inhibidores de metaloproteasas (TIMPs) puede influenciar el comportamiento biológico de estas lesiones^{40, 41}. Asimismo, otro estudio evaluó la expresión inmunohistoquímica de colágeno IV, MMP-9 y TIMPs en QD y quistes radiculares (QR) y la comparó con la encontrada en TOQ y ameloblastomas, a fin de contribuir a un mejor entendimiento del rol que cumplen estas proteínas en el comportamiento biológico de estas lesiones⁴². Entre los resultados se observó que la mayoría de los QD (65%) y de los QR (55%), exhibieron una tinción continua para colágeno tipo IV en la membrana basal del epitelio de revestimiento de estas lesiones, a diferencia de los ameloblastomas y de los TOQ, los que presentaron discontinuidad de la membrana basal en aproximadamente 75%. De igual forma, la expresión de MMP-9 fue moderadamente difusa en el componente epitelial y mesenquimatoso de todas las lesiones



estudiadas, pero específicamente en el componente mesenquimatoso de los QD fue positiva en un 20%, a diferencia de la que se observó en los ameloblastomas y en los TOQ, en los que fue de más del 70%; así mismo, la expresión de TIMP-2 fue muy similar en todas las lesiones excepto en el ameloblastoma. La distribución de la inmunotinción fue difusa en el epitelio de revestimiento y en el tejido conectivo del QD y se observó que el 100% de los casos de QD presentaron una inmunotinción positiva en el epitelio de revestimiento. Debido a estos resultados, se sugiere que la interacción entre la producción de MMP-9 y TIMP-2 y el mantenimiento de los componentes de la membrana basal, puede contribuir con el comportamiento biológico benigno de lesiones como el QD, en comparación con otras lesiones de comportamiento más agresivo como el ameloblastoma y el TOQ que expresan una alta producción de MMP-9 así como un incremento en la degradación y reducción del colágeno tipo IV⁴².

2.3.2. Tumor odontogénico queratoquístico (Queratoquiste odontogénico)

De acuerdo con la más reciente clasificación de tumores odontogénicos de la Organización Mundial de la Salud, el queratoquiste odontogénico ha sido incluido como una neoplasia de estirpe epitelial, re-nombrado como Tumor Odontogénico Queratoquístico y definido como 'un tumor benigno de origen odontogénico, intraóseo, uni o multiquistico, con un revestimiento característico de epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado, que presenta una conducta potencialmente agresiva y crecimiento infiltrante. Puede presentarse como lesión solitaria o múltiple, y en esta última situación puede estar asociado al síndrome de carcinomas basocelulares nevoides⁴.



PDF Complete
Your complimentary use period has ended.
Thank you for using PDF Complete.

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)

El patrón histológico característico incluye un revestimiento epitelial uniforme, de 8 a 10 capas celulares, libre de procesos interpapilares, cuya capa basal exhibe células cuboidales a columnares dispuestas en empalizada que suelen presentar núcleos uniformes, y la capa más superficial es ondulada y paraqueratinizada. Ocasionalmente se pueden observar en la cápsula fibrosa islas de epitelio o la formación de microquistes. Esta cápsula usualmente es delgada y por lo general se presenta sin inflamación^{4, 43, 44}.

Múltiples estudios han demostrado que esta lesión presenta una alta tasa de recurrencia, la cual varía de acuerdo al tipo de tratamiento empleado para su control, y va desde 3% hasta 62%³⁵⁻⁷³.

Shear y Speight³ mencionan que las razones por las que el TOQ puede presentar una tasa de recurrencia tan alta son múltiples. Entre las posibles explicaciones sugieren la presencia de quistes satélites en la cápsula de algunas lesiones, los que pueden llegar a ser retenidos durante la enucleación incompleta o durante la marsupialización de la lesión. De igual forma se ha observado que cuando se utiliza la técnica de enucleación, se presentan las mayores tasas de recurrencia, opuesto a lo observado en casos de resección, con la que se presentan menores posibilidades de recurrencia, que incluso llegan a evitarse en su totalidad⁷⁴.

Otro factor que puede explicar la frecuente recurrencia observada en los TOQ reside en el hecho que el revestimiento epitelial es muy delgado y con frecuencia se desprende de la cápsula, particularmente en lesiones de gran tamaño, lo que dificulta su eliminación completa. Algunos autores como Philipsen *et al*⁷⁵ y Donoff *et al*⁷⁶ han demostrado que dicha separación puede obedecer tanto a la falta de procesos interpapilares del epitelio de



revestimiento, como a la producción de colagenasas que debilitan la unión entre este tejido y la cápsula fibrosa, lo que favorecería la permanencia de restos viables del epitelio en el lecho quirúrgico. De igual forma se ha observado que la tasa de recurrencia es menor cuando la lesión es enucleada en una sola pieza, a diferencia de cuando se realiza la enucleación en múltiples fragmentos, e igualmente se considera que cuando la lesión se encuentra cercana a estructuras vitales como nervios, dientes etc. y por razones de conservación de dichas estructuras no se elimine por completo la lesión, se incrementa la posibilidad de recidiva^{75, 76}.

Otra posible razón para que esta lesión recidive, es que se encuentre asociada al síndrome de carcinomas basocelulares nevoides (síndrome de Gorlin-Goltz), ya que estos pacientes presentan una predisposición genética a formar TOQ a partir de los restos de la lámina dental⁷⁷. Los TOQ asociados a este síndrome suelen ser múltiples, aparentemente presentan una mayor tasa de crecimiento e infiltración y poseen una mayor tendencia a la recurrencia^{72- 79}.

En general, la mayoría de las recurrencias suelen presentarse dentro de los primeros 5-7 años y estas pueden ir de 0-62%, por lo que es recomendable un seguimiento a 10 años para poder confirmar su eliminación completa^{59, 73, 80-82}.

Debido a lo anterior, se han intentado múltiples opciones de tratamiento a este tumor, las cuales incluyen desde la descompresión y marsupialización, hasta la enucleación con o sin osteotomía marginal y la resección marginal o segmentaria de la región afectada^{3, 83}.

Adicionalmente, Pogrel y Jordan⁸³ informaron que mediante estudios de inmunohistoquímica se logró identificar que el TOQ posee mayores niveles de interleucina-

1(IL-1) que el QD, y demostraron que luego de la marsupialización dichos niveles disminuyen considerablemente. La IL-1, juega un rol importante en la expansión quística mediante la inducción de secreción del factor de crecimiento de queratinocitos a partir de fibroblastos interactivos, por lo que los mencionados autores sugieren que la marsupialización puede constituir una primera fase en el manejo de lesiones extensas, e incluso en algunos casos ser el tratamiento definitivo para el TOQ.

2.3.2.1 Mecanismos de crecimiento y expansión del tumor odontogénico queratoquístico.

El TOQ es una neoplasia benigna, pero localmente infiltrante, por lo que los mecanismos postulados para su crecimiento residen principalmente en la alta tasa de proliferación celular de su revestimiento epitelial, la cual es comparativamente mayor a la de otros tipos de quistes odontogénicos, como lo ha demostrado el estudio realizado por Odgen *et al.*⁵ y es comparable con el de otras neoplasias odontogénicas localmente agresivas, como el ameloblastoma^{3, 4, 26, 36}. De igual forma, existen otros factores que juegan un papel muy importante en el crecimiento y expansión del TOQ, entre los que se encuentran la presión osmótica, el exudado inflamatorio (en caso de estar presente), la actividad de los glucosaminoglucanos, al igual que la presencia de algunas interleucinas (IL), especialmente la interleucina-1 (IL-1)^{1, 26, 36, 37, 84}.

La razón para este crecimiento persistente fue estudiada inicialmente por Main²⁶ y por Toller³⁶. Main explica que la razón principal quizás resida en el alto índice de mitosis del revestimiento epitelial, el que encontró en un rango de 0-19 con una media de 8.0. Esta cifra fue similar a la registrada en ameloblastomas y en la lámina dental, pero más alta que la encontrada en otros quistes del desarrollo, los que tuvieron una media de índice mitótico



de 2.3²⁶. Es conveniente mencionar que la estimación de dichos índices mitóticos en estas lesiones fueron obtenidos en trabajos realizados antes del empleo de la inmunohistoquímica, por lo que el registro se hacía visualmente sobre el número de figuras mitóticas observadas por unidad de superficie. De manera complementaria, en un estudio realizado por Gunhan *et al.*⁸⁵ en el que se estudiaron las variables morfométricas nucleares del epitelio de revestimiento de 20 TOQ y fueron comparadas con las de 10 QD y 10 QR, se encontró que el número de células en la capa basal del TOQ es mayor que las observadas en las otras lesiones. Además, observaron que los núcleos de las células basales del TOQ tenían un aspecto más ovoide que las células basales de las otras lesiones estudiadas⁸⁵.

De igual forma, otros autores han estudiado la configuración estructural del TOQ y han demostrado que esta lesión tiende a crecer principalmente a través del hueso esponjoso de la mandíbula, sin producir durante mucho tiempo ningún tipo de expansión en las placas corticales, por lo que cuando se produce este efecto, es porque ya estos casos presentan un gran tamaño³. Al respecto, Forssell⁶¹ estimó la tasa de crecimiento del TOQ con base al estudio radiográfico secuenciado, y encontró que esta varía de 2 a 14 mm por año, con una media de aproximadamente 7 mm, lo que sugiere que la mayoría de casos tienen una larga evolución al momento de su diagnóstico, y que además la tasa de recurrencia es mayor si el paciente presenta una edad mayor a los 50 años. El punto principal que se deriva de este trabajo es que la tasa de crecimiento del TOQ en un período determinado puede no ser tan grande como la que se presenta en otros quistes de los maxilares, pero a diferencia de ellos, esta lesión presenta un crecimiento de tipo persistente, lo que hace que al cabo del tiempo se manifieste como una lesión de mayor tamaño y con marcada destrucción ósea^{26, 37, 61}. Adicionalmente, otros estudios han concluido que la liberación de moléculas de glucosaminoglucanos en el lumen puede contribuir a producir un aumento en la presión

osmótica e hidrostática y por lo tanto ayudar a mantener el crecimiento del quiste de forma persistente^{86, 87}.

Aunque los TOQ son lesiones que poseen un origen no inflamatorio, se ha estudiado el efecto que poseen factores inflamatorios sobreagregados sobre su expansión. Al respecto, la Interleucina 1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral (TNF), son citoquinas que están particularmente asociadas con la inflamación crónica en estas lesiones. Meghji *et al.*⁸⁴ propusieron que además de que la IL-1 era la principal citoquina producida por el revestimiento epitelial de los TOQ, ésta puede ser capaz de contribuir a la reabsorción ósea e induce de forma indirecta la proliferación del epitelio de revestimiento^{39, 84}.

Otro trabajo realizado por Oka *et al.*⁸⁸, estudió los efectos de la presión positiva en la expresión de la IL-1, metaloproteinasas de matriz y de la prostaglandina E₂ (PGE₂) en los TOQ para determinar si esta presión estimula la producción de citocinas inflamatorias y promueven la señalización de eventos osteoclastogénicos. Estos autores concluyen que la presión positiva puede tener un papel crucial en el crecimiento del TOQ, mediante la estimulación de la expresión de IL-1 en las células epiteliales⁸⁸. De forma similar Ninomiya *et al.*³⁹, investigaron la expresión de a IL-1 mRNA y las actividades de proliferación celular en el TOQ antes y después de que fuesen tratados con marsupialización, y los compararon con lo observado en los QD. Este grupo de autores encontró que la expresión de IL-1 era más elevada en los TOQ que en los QD y además determinaron que el epitelio de revestimiento del TOQ expresa intensamente esta interleucina, a diferencia del epitelio de revestimiento de los QD³⁹. Por último, estos investigadores encontraron que existe una relación positiva entre la presencia de la IL-1 y el índice de proliferación celular, debido a que la IL-1 tiende a estimular de manera

indirecta la proliferación del epitelio de revestimiento del TOQ, como consecuencia de la secreción de algunos factores de crecimiento, y concluyen que la presencia de estos factores promueve un comportamiento más agresivo en lesiones como el TOQ en comparación con otros quistes odontogénicos³⁹.

Adicionalmente, se han realizado estudios encaminados al análisis de los componentes extracelulares, tales como las MMP's, las cuales tienen la capacidad de degradar algunos componentes de la matriz extracelular (MEC), por lo que se ha explorado la posible correlación entre la presencia de estas y el comportamiento biológico de las lesiones quísticas de origen odontogénico^{89,90}. Así, en una serie de estudios realizados en diferentes quistes de los maxilares, se encontró que MMP-1 y MMP-9 estaban presentes en los tejidos extraídos de estas lesiones y también se encontró positividad para MMP-2 y MMP-8⁸⁹. Al respecto Tenoren *et al.*⁸⁹ consideran que la MMP-1 es un mediador muy significativo de destrucción de tejido en los quistes odontogénicos, específicamente en los QR. Además, se ha observado que las células del revestimiento epitelial de los quistes odontogénicos, y específicamente del TOQ, producen MMP-9 sin ningún tipo de estimulación⁸⁹. Debido a esto, en un estudio más reciente realizado por Leonardi *et al.*⁹⁰ en el que se investigó la expresión MMP-13 en TOQ asociados y no asociados al síndrome de carcinomas basocelulares nevoides (SCBN), estos autores encontraron que sólo 13 de los 26 TOQ que se presentaron de forma esporádica mostraron positividad a la inmunotinción, mientras que todos los TOQ asociados al SCBN resultaron positivos para el inmunomarcaje con MMP-13. Además, las lesiones sindrómicas presentaron una tinción mayor y mucho más intensa en su estroma, lo que podría ayudar a explicar la razón por la cual estas lesiones asociadas al SCBN poseen un comportamiento biológico más agresivo que aquellas no asociadas⁹⁰.



En un estudio semejante Cavalcante *et al*⁹¹ observaron una mayor expresión de MPP-1 en la cápsula fibrosa de los TOQ asociados al SCBN en comparación con los no asociados al síndrome. Estos estudios fueron dirigidos a evaluar el posible papel que las metaloproteasas de matriz juegan en la regulación e integridad de la matriz extracelular en los quistes de origen odontogénico⁹¹.

Otros estudios, como el realizado por Li *et al*⁹² han especulado que quizás la paratohormona pueda modular el crecimiento y reabsorción del hueso en los quistes odontogénicos y que incluso puede actuar en sinergismo con la IL-1 y así incrementar la reabsorción ósea o estimular a los osteoclastos a inhibir a los osteoblastos, resultando en un incremento de la destrucción tisular.

Por otra parte, durante la pasada década se publicaron diversos estudios^{5, 92} dirigidos a evaluar la expresión de índices de proliferación celular a través del análisis del antígeno de proliferación celular nuclear (PCNA), p53, Ki-67 y en menor medida regiones organizadoras nucleolares (AgNORs). Estos marcadores han sido estudiados en distintos quistes odontogénicos, pero principalmente en los TOQ, tanto asociados como no asociados al SCBN^{5, 92}. En este sentido, los estudios realizados por Ogden *et al*⁵ y Li *et al*⁹² analizaron la actividad proliferativa del epitelio de revestimiento en TOQ y la compararon con la observada en otras lesiones quísticas mediante el uso de p53, Ki-67 y PCNA, concluyendo que estos tres marcadores eran más expresados en el TOQ que en otros quistes odontogénicos.

En un estudio realizado por Kolár *et al*⁴³, en el que se analizó la utilidad de la detección de los marcadores de proliferación celular PCNA y Ki-67, de ciclo celular (p21^{Waf1} y p27^{Kip1}) y apoptosis (Bcl-2, Bax) en TOQ asociados y no asociados al SCBN, los autores

encontraron diferencias significativas en la expresión de dichos marcadores, y concluyeron que los TOQ asociados al SCBN poseen un inmunofenotipo diferente al de los TOQ esporádicos, pues estos últimos se caracterizaron por la alta expresión de Bcl-2 y p27^{Kip1}, así como menor actividad proliferativa de Ki-67 y por una menor respuesta inflamatoria. Los quistes dentígeros, radiculares y los no especificados de origen odontogénico también difieren de los TOQ asociados al SCBN, ya que presentan una menor expresión de Bcl-2, Bax, p27^{Kip1} y cerbB-2, y muestran una alta proliferación en las células de las capas basales y una baja proliferación en las células de las capas suprabasales. Por el contrario, los TOQ esporádicos conservan sólo algunas de las características de los TOQ asociados al SCBN.

De igual forma, un estudio longitudinal realizado por Kuroyanagi *et al.*⁹³, en el que se estudiaron 32 TOQ tratados con enucleación simple, reveló que de 4 casos que presentaron recurrencia, 3 tenían una expresión suprabasal para Ki-67 y p53, significativamente mayor ($p=0.025$) que la observada en los no recurrentes. Ellos concluyeron que Ki-67 es un marcador con posible valor pronóstico para estas lesiones.

En otro estudio, Li *et al.*⁶ analizaron la presencia de EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico) en quistes odontogénicos, y encontraron que este factor se encontraba más elevado en áreas adyacentes al infiltrado inflamatorio, siendo más positivas a la tinción las células basales y las suprabasales. Posteriormente, Li *et al.*⁹² determinaron la presencia de TGF- α (Factor de crecimiento transformante alfa) tanto en la capa basal como en la suprabasal de los TOQ y determinaron que 89% de ellos presentaban niveles mayores en comparación con los QD y los QR, los que presentaron una expresión similar en ambos casos.

Por su parte, González Moles *et al*⁹⁴, estimaron el índice de proliferación celular asociado con el complejo P/NK-1 en los TOQ. Para ello estudiaron 65 muestras correspondientes a TOQ solitarios no recurrentes, TOQ solitarios recurrentes, TOQ asociados al SCBN y TOQ que presentaban una diferenciación condroide en su cápsula. Estos fueron estudiados mediante el uso de técnicas de inmunohistoquímica. La expresión de estos marcadores se analizó en el infiltrado inflamatorio linfocitario, en la capsula fibrosa y en el núcleo y la membrana de las células epiteliales. La expresión de la sustancia P (SP) en el infiltrado inflamatorio se encontró significativamente asociada con la expresión de SP en la cápsula fibrosa y células epiteliales⁹⁴. Los TOQ asociados al SCBN mostraron una alta expresión de la SP en todos sus tejidos y en las células epiteliales en comparación con otros tipos de TOQ. Adicionalmente, la expresión de SP en las células epiteliales se asoció de forma positiva con la alta expresión de Ki-67 en el epitelio displásico. Se concluyó que el complejo formado por la sustancia P y el receptor NK-1 puede constituir un mecanismo para estimular la proliferación epitelial del TOQ⁹⁴.

Por otro lado, diversos estudios han intentado determinar la relación existente entre las células cebadas y diversas enfermedades como el cáncer y otras lesiones proliferativas al considerar que estas células producen una gama de moléculas, entre ellas la heparanasa, VEGF, angiopoyetina-1, heparina, TNF, y FGF-2 que pudiesen participar en su crecimiento y progresión, especialmente debido a su acción proangiogénica, como ha sido documentado en diversos estudios realizados en modelos de ratones, actuando como coadyuvantes en la progresión tumoral^{95, 96}. De esta forma, de Noronha *et al*.⁹⁷ determinaron la densidad de estas células en QR, QD y TOQ, y dentro de sus resultados observaron que en el QD inflamado y en el TOQ con y sin inflamación el promedio de



células cebadas era igual de elevado que en el QR; sin embargo, no hubieron diferencias significativas, por lo que no pudieron determinar el papel de estas células y sus productos en el desarrollo de estas lesiones.

En otras investigaciones recientes, como la realizada por Nonaka *et al*⁷, en la que se estudió la expresión del receptor activador del factor nuclear kappa B (RANKL) y la osteoprotegerina (OPG), así como el índice angiogénico y la presencia de los miofibroblastos en los tumores odontogénicos queratoquísticos asociados al SCBN y aquellos que no se asociaron al mismo, estos investigadores encontraron que el comportamiento biológico de ambos grupos de tumores no parece estar relacionado con la expresión de RANKL y OPG, y tampoco encontraron asociación con el índice angiogénico ni con la cantidad de miofibroblastos presentes, por lo que plantean que las diferencias en el comportamiento biológico de estas lesiones no parece estar relacionado a los niveles de la tríada molecular de RANK, RAKL, OPG, densidad de miofibroblastos o con el índice angiogénico, por lo que los autores sugieren que los futuros estudios deben ir dirigidos a investigar a fondo las diferencias en la vascularización y en los productos sintetizados por los miofibroblastos, tales como factores de crecimiento y proteasas, que puedan ayudar a explicar el incremento de la agresividad de los TOQ asociados al SCBN.

2.3.3 Ameloblastoma unikuístico

Los ameloblastomas son lesiones que representan el segundo lugar en frecuencia de todas las neoplasias odontogénicas⁹⁸. El AU es una variante histológica intra-ósea de ameloblastoma, distinto del tipo sólido o multikuístico, del desmoplásico y del periférico. Este puede encontrarse asociado o no a un diente no erupcionado, y con mayor frecuencia se localiza en la zona posterior de la mandíbula (hasta en un 90% de los casos)^{4, 99, 100}. Es una lesión usualmente asintomática, aunque algunos casos pueden asociarse a inflamación de forma secundaria y presentar en consecuencia dolor local. Radiográficamente se observa con mayor frecuencia como una imagen radiolucida unilocular, a menudo en situación pericoronar. Cuando se encuentra adyacente a dientes puede causar resorción radicular y por su capacidad de expansión progresiva, este tumor desplaza dientes adyacentes y es capaz de destruir una porción significativa del hueso afectado⁴.

Histológicamente, el AU puede presentar tres variantes: 1. La variante de tipo simple o luminal, que consiste en una lesión quística revestida, al menos parcialmente, por epitelio de tipo ameloblastomatoso, el cual muestra una capa basal de células cuboidales o columnares que recuerdan a los pre-ameloblastos, sobre la cual se disponen capas de células similares a las del retículo estrellado del órgano del esmalte. 2. La variante intraluminal, caracterizada por presentar proyecciones intraluminales con aspecto similar al patrón plexiforme del ameloblastoma sólido, sin invasión a la cápsula, y 3. La variante mural, que se caracteriza porque la pared fibrosa del quiste se encuentra infiltrada por epitelio de tipo ameloblastomatoso que puede presentar un patrón ya sea plexiforme o de tipo folicular. Las diversas variantes histológicas pueden ser observadas en una misma lesión^{46, 100}.



La etiología del AU aún no se ha esclarecido¹⁰¹. Al respecto, se han publicado estudios que proponen que un ameloblastoma puede originarse de un QD, aunque autores como Shear & Speight³ en un análisis cuidadoso publicado en el libro 'Quistes de la región oral y maxilofacial' comentan que no existe una evidencia real que pueda apoyar esta afirmación. Debido a la sugerencia hecha por diversos autores³ de que el AU se pueda originar del revestimiento de un QD, y también de otros tipos de quistes odontogénicos, se ha postulado a menudo que el QD debe considerarse como una lesión pre-ameloblastomatosa. Gran parte de esta confusión puede haberse originado por dos razones principales: la primera, porque un AU puede encontrarse envolviendo la corona de un diente no erupcionado, particularmente la de un tercer molar en el ángulo de la mandíbula, por lo que este hallazgo puede ser interpretado como un QD en el examen radiográfico^{3, 102}. Subsecuentemente, cuando la lesión es removida y diagnosticada histológicamente como un AU, genera la conclusión errónea de que el ameloblastoma se desarrolló a partir de un QD. La segunda razón para que algunos creen que un ameloblastoma puede originarse de un QD reside en que, ocasionalmente en las biopsias de algunos AU, puede observarse por acción de la compresión del fluido quístico un revestimiento compuesto por epitelio delgado o atrófico, el cual recuerda un tanto al epitelio del QD, derivado del epitelio reducido del órgano del esmalte^{3, 102}. Si el clínico diagnosticó de forma provisional esta lesión como QD gracias a la imagen radiográfica, el patólogo puede considerar que los hallazgos histológicos son compatibles con dicho diagnóstico provisional, pero al remover la totalidad del tumor se identifican los hallazgos característicos del AU, con lo que una vez más el diagnóstico final puede ser una malinterpretación de un AU desarrollado a partir de un QD^{3, 102}. Por otra parte, también se han clasificado de manera errónea algunos QD como ameloblastomas; así, Lucas¹⁰³ ha señalado que al parecer islas aisladas de epitelio del folículo dental algunas



veces pueden ser encontradas en la pared del QD a cierta distancia del revestimiento epitelial, y estas han sido interpretadas erróneamente como ameloblastoma, por el parecido superficial que poseen estos grupos celulares con el tumor.

Por lo anteriormente expuesto, es posible que en el pasado algunos casos de AU puedan haber sido diagnosticados como QD y viceversa; sin embargo, esta neoplasia se encuentra ahora bien documentada en la literatura, la cual se considera que surge de novo a partir de epitelio odontogénico distinto al epitelio reducido del órgano del esmalte³.

2.3.3.1 Mecanismos de crecimiento y expansión del ameloblastoma uniuquístico

Aún cuando no se han descrito con claridad en la literatura los mecanismos de crecimiento y proliferación del AU, se sugiere que debido a su naturaleza neoplásica, estos son similares a los del TOQ, basados principalmente en la proliferación del epitelio de revestimiento (alto índice mitótico) así como en la presencia de factores que coadyuvan en su expansión, tales como el aumento de la presión hidrostática y pérdida de expresión de moléculas de adhesión intercelular entre otros¹⁰⁴.

Para explicar un poco de lo mencionado anteriormente, el índice de proliferación celular del ameloblastoma ha sido estudiado desde 1995¹⁰⁵. Los núcleos positivos a Ki-67 en el ameloblastoma están principalmente localizados en las células columnares de la periferia de los folículos y zonas de tipo plexiforme del ameloblastoma sólido y en las células basales del AU^{104, 106}. Las células que asemejan al retículo estrellado en los ameloblastomas, así como las del retículo estrellado de un diente en desarrollo son negativas a este marcador, lo que sugiere que la proliferación celular y consecuentemente el crecimiento del



ameloblastoma se encuentra concentrado en las áreas periféricas compuestas por células de tipo ameloblásticas¹⁰⁶.

En 2008, Bologna-Molina *et al*¹⁰⁴, analizaron el patrón de expresión de Syndecan-1 (CD-138) y lo correlacionaron con la actividad proliferativa (expresión de ki-67) de ameloblastomas sólidos y uniuquísticos. Este estudio demostró que la expresión de Syndecan-1 fue más elevada en los AU en comparación con el ameloblastoma de tipo sólido/multiquístico, y que estos últimos presentaban mayor expresión de ki-67, por lo que los autores consideran que estos resultados sugieren que el comportamiento biológico del ameloblastoma de tipo sólido es más agresivo que su contraparte uniuquístico, debido también a que estudios previos han demostrado que la pérdida de expresión de esta proteína transmembranal se ha asociado a una mayor capacidad de infiltración de tumores epiteliales y por ende con un pronóstico peor^{104, 107}.

Así mismo, se ha intentado estudiar a todos los componentes del revestimiento epitelial de los ameloblastomas tanto sólidos como de tipo uniuquístico¹⁰⁴, pero es importante mencionar que no se pueden dejar de lado el estudio de los componentes que posee la cápsula fibrosa de estas lesiones^{97, 108-110}, debido a que algunos de estos pueden encontrarse relacionados con el crecimiento de la lesión, y además pueden colaborar en la proliferación de las lesiones quísticas de origen odontogénico, por lo que algunos estudios se han orientado a la exploración de factores relacionados a la angiogénesis y lo que ésta representa para su desarrollo, ya que además de que favorece la reparación de los tejidos, se ha visto involucrada en promover la progresión tumoral, por lo que ha sido evaluada a través de la expresión de ciertas moléculas como VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), FGF (factor de crecimiento de fibroblastos), HGF (factor de crecimiento de hepatocitos),

TGF- β (factor de crecimiento epidérmico Beta), IL-8 (interleucina-8) así como TNF- α (factor de necrosis tumoral Alfa)^{111, 112}.

Con respecto a la angiogénesis, Kumamoto *et al*¹⁰⁸ estudiaron el índice de expresión del marcador endotelial vascular (VEGF) y la vascularidad local mediante el uso del anticuerpo CD34 y observaron una mayor vascularidad para ameloblastomas malignos, así como en los gérmenes dentarios, sugiriendo que este factor puede ser clave para explicar el mayor potencial destructivo de ciertas lesiones de origen odontogénico. De igual forma, Alaeddini *et al*¹⁰⁹ realizaron un estudio en el que compararon la angiogénesis mediante el uso del anticuerpo CD34. La densidad microvascular fue analizada en 53 casos: 20 TOQ, 13 QD y 20 ameloblastomas (14 fueron sólidos y 6 de variantes unikuísticas) y encontraron que la densidad microvascular fue significativamente más alta en los ameloblastomas sólidos, y fue también significativamente más alta en los TOQ que en los QD, por lo que sugieren que la angiogénesis puede ser uno de los mecanismos que posiblemente ayude a explicar los diferentes comportamientos biológicos que presentan estas lesiones¹⁰⁹.

En años más recientes se ha estudiado la presencia de miofibroblastos en las lesiones de origen odontogénico y de estructura quística. Vered *et al*¹¹⁰ analizaron la presencia y densidad de estas células en el estroma de los quistes y tumores odontogénicos, asumiendo que quizás dichas células pueden tener una influencia en el comportamiento biológico de los mismos, debido a que estas tienen la capacidad de segregar metaloproteasas de matriz, que colaboran con la degradación de los componentes extracelulares y por lo tanto colaboran con el aumento del comportamiento agresivo de las mismas¹¹⁰. Para este estudio utilizaron anticuerpos contra α -SMA (alfa actina de músculo liso) para la detección de los miofibroblastos, y encontraron que las células positivas a este marcador eran mucho más



abundantes en el TOQ y el ameloblastoma de tipo sólido, en comparación con lesiones de comportamiento menos agresivo como el QD. Estos autores concluyeron que al tener las lesiones odontogénicas con un comportamiento más agresivo una mayor cantidad de miofibroblastos, dicho hallazgo coincidía con lo observado en la comparación encontrada entre casos de carcinoma y lesiones benignas bucales, por lo que sugirieron continuar con la evaluación de la frecuencia de los miofibroblastos en el estroma de estas lesiones y dirigir este tipo de estudios en relación a la posibilidad de generar agentes terapéuticos que tengan la habilidad de actuar como medicamentos anti miofibroblastos en pro de evitar cirugías extensas y mutilatorias, ya que se ha considerado que dichas células favorecen el crecimiento tumoral por diversos mecanismos ¹¹⁰.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar de que se cuenta con numerosos estudios realizados con respecto al origen y patogénesis de las lesiones de naturaleza quística de estirpe odontogénica, no se ha determinado con claridad si existen diferencias moleculares estructurales en los componentes celulares y matriz extracelular entre el TOQ, el QD y el AU, que pudiesen explicar si los diferentes tipos de comportamiento biológico, imagen clínica y respuesta diferente a tratamientos similares obedecen a dichas diferencias, por lo que se plantea llevar a cabo un análisis inmunohistoquímico de algunos componentes celulares y extracelulares presentes en el revestimiento epitelial y en la cápsula fibrosa de dichas lesiones, evaluados en condiciones similares (ausencia de inflamación o tratamientos previos), que incluya además la comparación de sus índices de proliferación celular, densidad de células cebadas en el estroma, angiogénesis, así como la pérdida de expresión de ciertas proteínas que mantienen la adhesión de las células en el epitelio de revestimiento, además de evaluar la expresión de la tríada molecular RANK, RANKL y OPG, tanto en el epitelio como en el estroma de estas lesiones y determinar el posible factor que esta poseen en la actividad osteoclástica de cada lesión incluida en este estudio.

Con el desarrollo de este trabajo de investigación se desea obtener información que favorezca una mejor comprensión de la patogénesis y el comportamiento biológico de estas lesiones, así como, apoyar el desarrollo de futuros estudios encaminados a evaluar las diversas modalidades terapéuticas actualmente en uso para su eliminación y control.



4. JUSTIFICACIÓN

Los quistes de origen odontogénico pertenecen a un grupo heterogéneo de lesiones de la región maxilofacial, que incluye tanto a entidades inflamatorias reactivas, como a lesiones del desarrollo y neoplasias con agresividad variable. Debido a que éstas derivan de un mismo proceso embrionario (odontogénesis), se puede considerar de forma errónea que poseen componentes semejantes, así como un comportamiento biológico similar. De igual forma, hay tumores odontogénicos que poseen similitud clínica con los quistes odontogénicos y por esta razón requieren ser incluidos en el diagnóstico diferencial de los primeros.

Lo anterior hace necesario que se realicen investigaciones encaminadas a la mejor comprensión de los elementos celulares y extracelulares que permitan explicar las diferencias existentes entre estas lesiones y el por qué presentan diferentes comportamientos biológicos en pro de comprender los aspectos clínico-patológicos y que finalmente pudiesen servir como base para aquellos estudios dirigidos a determinar posibles blancos terapéuticos de estas y otras entidades en las que participan los elementos celulares y extracelulares analizados en este tipo de investigación.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Caracterizar y comparar la expresión inmunohistoquímica de diversos elementos intra y extracelulares que participan en los mecanismos de crecimiento y proliferación celular en tres tipos de lesiones quísticas de origen odontogénico (ameloblastoma uniuquístico, tumor odontogénico queratoquístico y quiste dentígero).

5.2 Objetivos específicos

1. Comparar el índice de proliferación celular en los epitelios de revestimiento en las siguientes lesiones: quiste dentígero, tumor odontogénico queratoquístico y ameloblastoma uniuquístico.
2. Comparar la inmunorreactividad de CD138 (Syndecan-1) en el quiste dentígero, tumor odontogénico queratoquístico y ameloblastoma uniuquístico.
3. Comparar, mediante el uso del inmunomarcador triptasa, la ubicación y densidad de células cebadas en la cápsula fibrosa de las siguientes lesiones: quiste dentígero, tumor odontogénico queratoquístico y ameloblastoma uniuquístico.
4. Comparar marcadores asociados a la angiogénesis y a la microdensidad vascular y la presencia del factor de crecimiento endotelial vascular, mediante la utilización de los inmunomarcadores VEGF y CD34, de las siguientes lesiones: quiste dentígero, tumor odontogénico queratoquístico y ameloblastoma uniuquístico.



PDF
Complete

*Your complimentary
use period has ended.
Thank you for using
PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

5. Caracterizar y comparar la expresión del factor nuclear KB (RANK), el ligando del RANK (RANKL), así como la osteoprotegerina (OPG), mediante el uso de inmunomarcadores en las siguientes lesiones: quiste dentífero, tumor odontogénico queratoquístico y ameloblastoma uniuquístico.



6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Tipo de estudio

Se trata de un estudio observacional, transversal y retrolectivo.

6.2 Material

Se estudiaron casos provenientes de los archivos del laboratorio de Patología bucal de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, y de un servicio de diagnóstico en Patología bucal y maxilofacial privado en la ciudad de México (Peribact), de donde se obtuvieron 30 bloques de parafina de cada una de las siguientes lesiones quísticas de origen odontogénico: TOQ, AU y QD. El cálculo del tamaño de muestra se realizó con base en los resultados de un estudio realizado por da Silva *et al*¹¹³, en Brasil, del cual se obtuvieron las medias de inmunexpresión de RANK para los tres tipos de lesiones incluidas en el presente estudio. El cálculo de muestra se realizó para un poder de 0.80 y de 0.05. El tamaño de la muestra fue de 18 bloques para cada tipo de lesión. Posteriormente, se obtuvieron las laminillas histológicas de cada lesión; se excluyeron 22 lesiones por no contar con los criterios de inclusión, quedándonos con 68 lesiones en total y luego de realizar la técnica de inmunohistoquímica se eliminaron 10 lesiones, debido a que el tejido no era evaluable, con lo que finalmente se obtuvieron 58 lesiones que fueron incluidas en el estudio. La inmunohistoquímica de las tres lesiones fue evaluada por un examinador, previa estandarización con un patólogo experimentado y se obtuvo una kappa de $k=0.75$.

6.3 Grupo de estudio

Los bloques utilizados en el presente estudio corresponden a lesiones provenientes de pacientes con edades comprendidas entre los 5 y los 90 años, con diagnósticos de TOQ, AU y QD, identificados en el período 2002-2012, en la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco y en un servicio privado de diagnóstico en patología bucal y maxilofacial en la ciudad de México (Peribact).

6.4 Criterios de Inclusión

- Lesiones que cumplieran con los criterios histológicos propuestos por la Organización Mundial de la Salud⁴ para el diagnóstico de TOQ y AU. En el caso de quiste dentígero, se incluyeron aquellas lesiones que cumplían con los criterios clínicos e histopatológicos descritos en la clasificación realizada por Shear y Speight en su más reciente publicación de `Quistes de la Región Oral y Maxilofacial_³.
- Lesiones que tuvieran menos del 20% de infiltrado inflamatorio en el área de su interfase (entre la cápsula fibrosa y el epitelio de revestimiento).

6.5 Criterios de exclusión

- Aquellas muestras que no contaron con suficiente tejido representativo de la lesión, que presentaban daños secundarios debido a eliminación con electrofulguración, daño por aplastamiento de la muestra o daño debido a un proceso de fijación deficiente.
- Tumores odontogénicos queratoquísticos asociados al Síndrome de Carcinomas Basocelulares Nevoides.

6.6 Criterios de eliminación

- Aquellas muestras que, después de realizar la técnica de inmunohistoquímica, sufrieron algún daño en el tejido que no permitió que éste fuera evaluado.

6.7 Técnica de inmunohistoquímica

Las técnicas de inmunohistoquímicas fueron estandarizadas y llevadas a cabo en la Universidad Juárez del Estado de Durango, donde se realizaron de acuerdo al siguiente protocolo para los inmunomarcadores Ki67, Syndecan-1 (CD138), Triptasa, CD34, VEGF, RANK, RANKL y OPG:

Se realizaron cortes de 2 μ m de espesor y fueron montados en laminillas tratadas con poly-L-lisina. Los cortes fueron desparafinados en la estufa a 45° C por 30 minutos y posteriormente colocados en xilol por 5 minutos. Los cortes se hidrataron en un tren de concentraciones decrecientes de alcoholes (absoluto, 90, 70 y 50%) y enjuagues con agua destilada. Para el desenmascaramiento de los epítopes se realizó recuperación antigénica con solución de citrato de sodio 10mM (pH 6.2) con olla a presión en microondas a potencia máxima (750 W) por 5 minutos, dejando enfriar a temperatura ambiente y posteriormente se enjuagó con agua destilada. Las peroxidasas endógenas fueron bloqueadas con peróxido de hidrógeno al 0.9%, seguidos por lavados con agua destilada y solución salina amortiguada con solución salina de fosfatos pH 7.4 (PBS). Se montaron las laminillas en placas de cubiertas y colocadas en bastidores para la realización de inmunohistoquímica por capilaridad. Se incubaron los anticuerpos primarios monoclonales contra Syndecan-1 (CD-138), Ki-67, Triptasa, CD34, VEGF, RANK, RANKL y OPG por un período de 45 min. Posteriormente, los cortes fueron incubados con el segundo

anticuerpo biotinilado antiratón/anticonejo y con el complejo streptavidina/peroxidasa (LSA-B + Labeled streptavidin-biotin, Dako Corporation, Carpinteria CA, USA) por 30 minutos cada uno. Los productos de la reacción fueron visualizados con sustrato de 3,3'-diaminobenzidina-H₂O₂ (Dako Corporation, Carpintería, CA, USA). Las secciones fueron contrateñidas con hematoxilina de Mayer.

6.8 Análisis inmunohistoquímico

6.8.1 Descripción del análisis inmunohistoquímico realizado en el epitelio de revestimiento de las lesiones quísticas de origen odontogénico.

- **Inmunomarcador:** Ki67
- **Inmunopositividad:** Nuclear
- **Comparación:** Capa basal y suprabasal del epitelio de revestimiento.
- **Forma de evaluación:**

La evaluación de la expresión de Ki-67 fue realizada en áreas seleccionadas que eran ricas en células epiteliales. El índice de proliferación celular fue calculado mediante el uso del objetivo del microscopio 10x, que corresponde a un área de 5.3 mm² y con la ayuda de una cámara digital (Olympus C-7070), se tomaron fotografías al azar de las áreas representativas de la lesión. Todas las células fueron cuantificadas mediante el uso de microfotografías tomadas a 40x en cada campo. La imagen se transfirió a una gradilla y de esta forma se pudo realizar el recuento de manera más sencilla. Las microfotografías que se tomaron fueron convertidas en archivos JPEG. Cada archivo fue abierto con el uso del programa de Microsoft Power Point y con el uso de de la función tabla, se construyó una tabla de 6x6 y fue superpuesta en la imagen de la microfotografía. La tabla se agrandó y se

adaptó al tamaño de la microfotografía. En cada imagen el inicio del conteo celular se realizó desde el marco superior izquierdo y se culminó en el marco superior derecho, siguiendo un mismo orden¹¹⁴. El número de células positivas y negativas fueron contadas manualmente en cada recuadro de la gradilla. Para el cálculo adicional de los datos resultantes (por ejemplo el número de núcleos de células positivas y negativas y el número total de células) se calculó de la forma siguiente: % de las células positivas= núcleos celulares positivos/total de núcleos celulares x100. El índice obtenido se expresó en porcentaje positivos de células por milímetro cuadrado del tejido analizado. El índice de inmunotinción (número de células positivas/número total de células expresado en porcentaje) fue calculado para cada caso (Fig. 1)¹¹⁴. Se realizó la estandarización de los examinadores y se obtuvo una Kappa =0.75

- **Inmunomarcador:** CD138 (Syndecan-1)
- **Inmunopositividad:** Citoplasmática y nuclear
- **Comparación:** Epitelio de revestimiento
- **Forma de evaluación:**

El análisis inmunohistoquímico de las células positivas a CD138 (Syndecan-1), fue calculado mediante el uso de un objetivo microscópico de 10x, correspondiendo a un área de 5.3 mm², con la ayuda de una cámara digital (Olympus C-7070) se tomaron diez fotografías de campos elegidos al azar, correspondientes al epitelio de revestimiento. La intensidad de expresión fue analizada mediante el uso de microfotografías tomadas a 40x en cada campo (se tomaron cinco campos por caso). La imagen fue transferida a una gradilla, con el fin de realizar el recuento de manera más sencilla. Las microfotografías que se tomaron fueron convertidas en archivos JPEG. El índice de inmunoexpresión fue



evaluado únicamente en el epitelio de revestimiento. Se contaba con dos examinadores y cada uno de estos fue estandarizado, mediante la observación de 10 microfotografías de 20 casos, en donde se le proporcionaba un porcentaje de expresión a estas microfotografías y finalmente se obtuvo una Kappa de 0.75.

6.8.2 Descripción del análisis inmunohistoquímico de la expresión de los anticuerpos analizados en el estroma de las lesiones quísticas de origen odontogénico.

- **Inmunomarcador:** Triptasa.
- **Inmunopositividad:** Citoplasmática
- **Comparación:** Cápsula fibrosa.
- **Forma de evaluación:**

Fueron seleccionados cinco campos al azar, de secciones representativas de las lesiones. El cálculo de las células positivas se realizó mediante el uso de un objetivo microscópico de 10x, que corresponde a un área de 5.3 mm² y con la ayuda de una cámara digital (Olympus C-7070), se tomaron las fotografías de las zonas representativas de la lesión. La evaluación de la tinción de triptasa fue realizada en áreas seleccionadas que contenían células cebadas positivas en la cápsula fibrosa de las tres lesiones en estudio. Todas las células fueron contabilizadas mediante el uso de microfotografías tomadas a 40x en cada campo (se tomaron cinco campos por caso). La imagen fue transferida a una gradilla, con el fin de realizar el recuento de manera más sencilla. Luego, estos archivos fueron descargados a una computadora personal y se guardaron como archivos JPEG. Cada archivo fue abierto con el uso del programa Microsoft Power Point, y con el uso de de la función tabla se construyó una tabla de 6x6 y fue superpuesta en la imagen de la microfotografía. La tabla fue

agrandada y adaptada al tamaño de la microfotografía. En cada imagen el inicio del conteo celular se realizó desde el marco superior izquierdo y se culminó en el marco superior derecho, siguiendo un mismo orden¹¹⁴. El número de células positivas se contaron manualmente en cada recuadro de la gradilla. Luego de obtener el número de células positivas en cada lesión se realizó una comparación entre el grupo de lesiones y las células positivas. Se obtuvo la desviación estándar y el promedio de células positivas a la Triptasa de los campos estudiados de cada lesión. Se realizó la estandarización de los examinadores y se obtuvo una Kappa =0.75

- **Inmunomarcadores:** VEGF y CD34.
- **Inmunopositividad:** Citoplasmática
- **Comparación:** Vasos sanguíneos y células endoteliales de la cápsula fibrosa y epitelio de revestimiento de las lesiones quísticas de origen odontogénico.
- **Forma de evaluación:**

El análisis para el estudio del factor de crecimiento endotelial vascular se realizó con una clasificación en tres grupos: (\pm) débilmente (menos del 10% de células positivas) positiva, (+) moderada (10-50% de células positivas) y (+ +) fuerte (más del 50% de células positivas); para esto fueron seleccionados cinco campos al azar, de secciones representativas de las lesiones. El número de células positivas para VEGF se contabilizó con el uso de un objetivo microscópico a 10x que corresponde a un área de 5.3 mm², con la ayuda de una cámara digital (Olympus C-7070), se tomaron microfotografías de las zonas representativas de la lesión. La evaluación de la tinción del VEGF fue analizada en las células del estroma (endoteliales, espacios vasculares y eventualmente fibroblastos). Se tomaron microfotografías para el análisis de la tinción, las cuales registraron zonas



representativas de cada lesión. Los archivos fueron descargados a una computadora personal y se guardaron como archivos JPEG. Cada archivo fue abierto con el uso del programa de Microsoft Power Point y con el uso de de la función tabla, se construyó una tabla de 6x6 y fue superpuesta en la imagen de la microfotografía. La tabla fue agrandada y adaptada al tamaño de la microfotografía. En cada imagen el inicio del conteo celular se realizó desde el marco superior izquierdo y se culminó en el marco superior derecho, siguiendo un mismo orden¹¹⁴. El número de células positivas y negativas fueron contadas manualmente en cada recuadro de la gradilla. Se realizó la estandarización de los examinadores y se obtuvo una Kappa =0.75

Para el análisis de la microdensidad vascular mediante el uso del CD34, se utilizó como base el método propuesto por Vered *et al*¹¹⁵, el cual se adaptó a este estudio. La evaluación del CD34 fue analizado en la cápsula de las lesiones quísticas de origen odontogénico. para esto se utilizó un objetivo microscópico de 10x que representa 5.3 mm² de la lesión y con la ayuda de una cámara digital (Olympus C-7070), se tomaron cinco microfotografías a 40x para el análisis de la tinción. Los archivos fueron descargados a una computadora personal y se guardaron como archivos JPEG. Posteriormente se colocó una gradilla de 6x6 por encima de la fotografía y en cada cuadro de la gradilla se unió una línea horizontal con una línea vertical, formando con esta unión un punto de conteo. Si la pared o la luz del vaso sanguíneo interceptan en este punto, se marcó como un punto de conteo positivo y de esta manera se obtuvo el porcentaje de la microdensidad vascular en las lesiones quísticas de origen odontogénico. Se realizó la estandarización de los examinadores y se obtuvo una Kappa =0.75 (Fig. 2).

6.8.3 Descripción del análisis inmunohistoquímico de los marcadores de reabsorción ósea en las lesiones quísticas de origen odontogénico.

- **Inmunomarcador:** RANK/RANKL/OPG.
- **Inmunopositividad:** Citoplasmática y de membrana.
- **Comparación:** Epitelio y estroma (células endoteliales, fusiformes etc).
- **Forma de evaluación:**

Se seleccionaron cinco campos al azar de secciones representativas de las lesiones. El cálculo de las células positivas se realizó mediante el uso de un objetivo microscópico de 10x, que representa un área de 5.3 mm^2 , con la ayuda de una cámara digital (Olympus C-7070), se tomaron microfotografías de las zonas representativas a 40x. Luego de tomar las microfotografías de las zonas representativas de cada lesión, estos archivos fueron descargados a una computadora personal y se guardaron como archivos JPEG. El número de células fue evaluado en el epitelio y en el estroma. En el epitelio se contaron el número de células positivas, y de igual forma se realizó en el estroma (endoteliales, redondas y fusiformes). Cada archivo fue abierto con el uso del programa de Microsoft Power Point y con el uso de la función tabla se construyó una tabla de 6x6 y se superpuso en la imagen de la microfotografía. La tabla fue agrandada y adaptada al tamaño de la microfotografía. En cada imagen el inicio del conteo celular se realizó desde el marco superior izquierdo y se culminó en el marco superior derecho, siguiendo un mismo orden¹⁴. El número de células positivas y negativas fueron contadas manualmente en cada recuadro de la gradilla. Los resultados fueron resumidos a través de medias, desviación estándar y medianas del número de células positivas en las lesiones quísticas de origen odontogénico. Para obtener una



buena respetabilidad en la evaluación de los resultados de la inmunohistoquímica se realizó la estandarización de criterios del examinador contra un patólogo experimentado

El valor mínimo obtenido en la prueba de kappa fue de $Kappa = 0.75$, en los anticuerpos seleccionados.

En el cuadro 3 se muestran las características de los anticuerpos mencionados con anterioridad que fueron empleados en este estudio.



PDF Complete

Your complimentary use period has ended. Thank you for using PDF Complete.

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Características de los anticuerpos utilizados para el análisis inmunohistoquímico

Anticuerpo	Clona	laboratorio	Dilución	pH
Ki67	L26	Dako	1:50	Alto
CD138	B-A38	Biocare	1:100-1:200	Bajo
Triptasa de células cebadas	AA1	Dako	1:100	Bajo
VEGF	EP1176Y	GeneTex	1:50	Bajo
CD34	QBEnd/10	Biocare	1:50	Bajo
Anti-OPG	ab73400	Abcam	1:50	Bajo
Anti-RANK	64C1385	Abcam	1:100	Bajo
Anti-RANKL	12A668	Abcam	1:100 Prob 1:200	Bajo

6.9 Variables

Dependientes:

- Porcentaje de núcleos celulares positivos para Ki67, en las capas basal y suprabasal.
- Porcentaje de expresión de la inmunorreacción de Syndecan-1 en la membrana celular del epitelio de revestimiento.
 - Número de células cebadas positivas en el estroma, identificadas por la expresión de la triptasa.
 - Porcentaje de células positivas del estroma identificadas por la expresión del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular.
 - Número de células endoteliales positivas del estroma identificadas por la expresión de CD34.
 - Número de células epiteliales y del estroma positivas identificadas mediante la expresión de factores de reabsorción ósea como: RANK, RANKL y OPG.

Independientes:

- Edad
- Sexo
- Tipo de lesión (QD, AU y TOQ).
- Características de la lesión (tamaño, localización, tiempo de evolución)



6.10 Análisis Estadístico

Se utilizaron medidas de tendencia central y de dispersión para caracterizar la presencia de marcadores de proliferación celular como Ki-67, Syndecan-1 (CD138) y de otros marcadores inmunohistoquímicos: Triptasa, VEGF, RANK, RANKL y OPG en cada una de las tres lesiones de estudio.

Se calculó el índice de Kappa entre los dos observadores que realizaron el conteo para los diferentes inmunomarcadores y se obtuvo un valor de $\kappa \hat{=} 0.75$.

Se utilizaron pruebas no paramétricas para las comparaciones entre las tres lesiones (Kruskal Wallis). La prueba de Kruskal Wallis se aplicó para identificar las diferencias entre las medias de los valores de la inmunoexpresión entre los tres tipos de lesiones; considerando los objetivos del estudio, es útil detectar las diferencias en la inmunoexpresión de diversas combinaciones de pares de medias de las lesiones estudiadas, con este propósito se utilizó la prueba de Tukey (Honestly Significant Difference) que permite probar estas hipótesis manteniendo el error tipo I ($\alpha = 0.05$). Así mismo, se calculó la Rho de Spearman (ρ) para estudiar la correlación entre el número de células positivas (Ki67, Triptasa, CD138, CD34, VEGF, RANK, RANKL y OPG) de los diferentes tipos de lesiones. Las pruebas de hipótesis se efectuaron para $p < 0.05$. Se empleó el paquete STATA Corp V. 10.



PDF Complete
*Your complimentary use period has ended.
Thank you for using PDF Complete.*

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)

7. 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 son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio, entre los que se consideran: cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, en los que no se les identifica ni se tratan aspectos sensitivos de su conducta.

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 para los pacientes es inexistente. Así mismo, se desea incrementar el conocimiento sobre las lesiones descritas y mejorar la comprensión del problema en estudio, al considerar la mayor prevalencia que muestran estas lesiones en México de acuerdo a estudios previos.

Adicionalmente, se asegura la confidencialidad de los datos clínicos de los pacientes involucrados, los cuales sólo se utilizarán con fines estadísticos y no podrá relacionarse con ellos.

8. RESULTADOS

8.1 Características demográficas

En el cuadro 4 se presentan las características clínicas y demográficas sobresalientes de los casos incluidos en la presente investigación. Con respecto al TOQ, hubo igual número de hombres y mujeres, con un promedio de edad de 32.23 años (DE: 20.54) y no se encontraron diferencias significativas por sexo o edad ($p>0.05$). En relación a la localización, se encontró que estas lesiones se ubicaban en la misma proporción en la región del ángulo y rama mandibular (47.62%). En cuanto al tiempo de evolución, 22.73% tenían entre 1-5 años aunque es importante mencionar que el mayor número de los casos (40.91%) fueron detectados como un hallazgo radiográfico. La mayoría de las lesiones tenían un diámetro entre 3 y 5 cm (45.45%).

Con respecto a las características de los pacientes diagnosticados con QD, en este grupo se incluyeron 18 casos, y con mayor frecuencia se observó afección por el sexo masculino (86.67%), con un promedio de edad grupal de 42.92 (DE 22.14) y una mediana de 48 años. No se encontraron diferencias significativas en cuanto al sexo y a la edad ($p>0.05$). En cuanto a la localización, la mayoría de las lesiones fueron observadas en asociación a terceros molares incluidos en la zona del ángulo y rama mandibular (73.33%), mientras que en relación al tiempo de evolución, se observó que la mayoría de los que contaban con dicha información tenían de 1-5 años (18.18%), aunque es importante mencionar que la gran mayoría de los casos fueron un hallazgo radiográfico (72.73%). La mayoría de las lesiones presentaban un diámetro entre 1-2 cm (57.14%).

En el grupo de AU se incluyeron 19 casos, con ligera predilección por el sexo masculino (52.63%). El promedio de edad fue de 25.3 (DE 25.63) y una mediana de 20 años. De acuerdo al tiempo de duración de los signos y síntomas indicados por los pacientes, se identificó que 21.05% habían presentado estos signos y síntomas durante un período de 1-5 años, aunque es necesario mencionar que la mayoría de las lesiones fueron un hallazgo radiográfico (evolución desconocida) (73.78%). Con respecto a su tamaño, se encontró que la mayoría de los AU medían más de 5 cm (55.56%). En relación a la localización, la mayoría se encontraron en la región de ángulo-rama mandibular (84.21%).

8.2 Análisis inmunohistoquímico

Análisis de los índices de proliferación celular y expresión de Syndecan-1.

La expresión a Ki-67 se encontró exclusivamente en las capas basal y suprabasal del epitelio (Fig. 1). En el Cuadro 5 se presentan los resultados obtenidos. El promedio de células positivas observadas en el TOQ fue de 17.71 (\pm DE 6.29) con una mediana de 17, siendo esta la lesión que mayor número de células positivas presentó. Se identificaron diferencias significativas entre las tres lesiones ($p < 0.0001$) y al compararlas por pares se detectaron diferencias en la expresión de Ki67 entre el TOQ vs AU y entre TOQ vs QD ($p < 0.0001$), (Cuadro 5). En cuanto a la expresión de Syndecan-1 fue considerada positiva cuando la inmunorreactividad se observó en la membrana celular (Fig. 3). En el Cuadro 5 se muestran los resultados del promedio y desviación estándar de células positivas presentes en el epitelio de revestimiento de las lesiones incluidas en este estudio. Se encontró que el promedio en el TOQ fue el más elevado (87.27 ± 16.52), con una mediana de 92.5 siendo ésta la lesión que expresó una mayor cantidad de células positivas para este

marcador ($p=0.0093$). De igual forma, se encontraron diferencias significativas en la comparación de la expresión de Syndecan-1 al comparar el TOQ y AU ($p<0.0034$).

Correlación de la expresión de Syndecan-1 con el índice de proliferación celular

También se realizó una correlación (Spearman) entre el índice de proliferación celular (ki-67) con la expresión de CD138 (Gráfico 1), encontrándose que a mayor pérdida de la expresión de Syndecan-1 había menor promedio en el índice de proliferación celular.

Análisis de la expresión de Triptasa en células cebadas

La detección de las células cebadas fue considerada positiva cuando se fue identificada en el citoplasma de las células positivas al anticuerpo de triptasa (Fig. 4). En el Cuadro 6 se identifica el promedio y DE de células positivas por cada lesión. Se encontró que el TOQ presentó un promedio mayor de células cebadas (53.63 ± 13.79), con una mediana de 50.92, siendo esta la lesión que presentó el mayor número de células cebadas.

Análisis de la expresión del componente vascular a través del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y CD34

La inmunorreactividad para VEGF fue detectada principalmente en el citoplasma de las células positivas del estroma de las lesiones quísticas de origen odontogénico (Fig. 5); el promedio de células positivas en el análisis del VEGF se presenta en el Cuadro 7, notando que el TOQ fue la entidad que presentó un promedio mayor de células positivas con $0.67 (\pm 0.27)$ y una mediana de 0.75. De igual forma se analizaron los grados de expresión del VEGF, los cuales se encuentran en el Cuadro 8, dónde se observa que el TOQ mostró

mayor frecuencia de expresión intensa al VEGF (81.82%). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la expresión de VEGF entre los tres grupos de lesiones ($p=0.0206$). Asimismo, se encontraron diferencias significativas entre la expresión del TOQ vs AU ($p=0.0225$).

En cuanto a la expresión de CD34, ésta fue detectada en el citoplasma de las células endoteliales (Fig. 2). El promedio y DE de células positivas se presentan también en el Cuadro 8, en el que se aprecia que los AU tuvieron un promedio mayor de células positivas (46.20 ± 20.17), con una mediana de 43.33. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre estas tres lesiones ($p>0.05$).

Análisis de la expresión de RANK, RANKL y OPG

La expresión de RANK, RANKL y OPG fue considerada como positiva cuando se observó que el citoplasma y la membrana celular expresaron dichos anticuerpos. RANK, RANKL y OPG se analizaron en las células del revestimiento epitelial y en las células del estroma de las lesiones estudiadas (Fig. 6-8).

El promedio de células positivas para RANK (Cuadro 9) en el epitelio de TOQ fue el más alto, con $180.95 (\pm 164.02)$ y una mediana de 190.5; no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos de lesiones ($p>0.05$). De igual forma, el promedio más alto de células positivas en el estroma se presentó en el TOQ con $101.38 (\pm 55.01)$, con una mediana de 91.5. Se comparó la expresión de RANK en el estroma de las tres lesiones estudiadas y se encontró una diferencia significativa ($p=0.0206$); al comparar el TOQ vs QD se detectó una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.0036$).

En el Cuadro 9 se muestra el promedio de células positivas para RANKL en el epitelio de revestimiento del AU, el cual fue de 62.47 (\pm 20.87), y fue esta lesión la que presentó un promedio mayor de células positivas para RANKL. Cuando se comparó la expresión de RANKL en cada una de las lesiones se obtuvieron diferencias entre el QD vs AU ($p=0.0317$). De igual forma se analizó la expresión de RANKL en el estroma y se encontraron diferencias significativas entre el AU vs QD ($p<0.0001$) y entre el TOQ vs AU ($p=0.0004$). También se encontró una diferencia significativa en la comparación realizada de la expresión de RANKL en el epitelio de revestimiento entre este grupo de lesiones ($p=0.0002$), así como en el estroma de las lesiones ($p=0.0004$).

De igual manera, en el Cuadro 9 se muestra el promedio de células positivas para OPG, encontrándose que el AU fue la entidad que presentó un promedio menor de células positivas, tanto en su epitelio como en el estroma, con 6.89 (\pm 14.62) y una mediana de 4 (epitelio) y 4.00 (\pm 4.65), con una mediana de 2 (estroma). Al compararse la expresión de OPG en el epitelio de revestimiento de cada una de las lesiones se obtuvieron diferencias entre el TOQ vs AU ($p=0.0121$) y entre QD vs TOQ ($p=0.0211$). Al comparar la expresión de OPG en el estroma de las tres lesiones incluidas en este estudio, se encontró una diferencia significativa ($p=0.0022$); se encontraron diferencias significativas entre TOQ vs AU ($p=0.0018$) y QD vs TOQ ($p=0.0196$). Se encontró una correlación positiva (Spearman) entre la expresión de RANKL y OPG (epitelial) ($\equiv 0.34$) $p=0.0033$, y de igual forma se encontró una correlación entre la expresión de RANKL y OPG (estromal) ($\equiv 0.34$) $p=0.0264$.

9. CUADROS

Cuadro 4. Características demográficas y clínicas de los pacientes con tumor odontogénico queratoquístico, quiste dentígero y ameloblastoma uniuquístico.

	TQO (n=22)		QD (n=17)		AU (n=19)	
	N	(%)	N	(%)	N	%
Sexo						
Femenino	11	(50)	2	(13.33)	9	(47.37)
Masculino	11	(50)	13	(86.67)	10	(52.63)
Tamaño						
1-2 cm	6	(27.27)	8	(57.14)	2	(11.11)
3-5 cm	10	(45.45)	5	(35.71)	6	(33.33)
>5 cm	6	(27.27)	1	(7.14)	10	(55.56)
Localización						
Maxilar						
Zona anterior*	3	(5.45)	4	(26.67)	-	-
Premolar-Molar	-	-	-	-	-	-
Tuberosidad Maxilar	-	-	-	-	-	-
Mandíbula						
Zona anterior*	-	-	-	-	-	-
Premolar-Molar	8	(38.10)	-	-	3	(15.79)
Angulo y Rama	10	(47.62)	11	(73.33)	16	(84.21)
Edad						
Promedio	32.23 (20.54)		42.92 (22.14)		25.63 (14.33)	
Mediana (Min-Máx.)	26 (10-82)		48 (9-78)		20 (12-66)	

*Zona anterior (Canino a canino superior e inferior). TOQ: tumor odontogénico queratoquístico, QD: quiste dentígero y AU: ameloblastoma uniuquístico.

Cuadro 5. Promedio y mediana de la expresión de Ki67 y Syndecan-1 en el tumor odontogénico queratoquístico, quiste dentígero y ameloblastoma uniuquístico.

Promedio y mediana de las células positivas a Ki67				
Tipo de lesión	Número de casos	Ki67 (%)		P
		Promedio (± DE)	Mediana	
TOQ	22	17.71 (6.29)	17	0.0001 ^a
QD	17	7.17 (6.40)	6.92	0.0001 ^b
AU	19	6.14 (5.98)	4.41	0.0202 ^c

Promedio y mediana de la expresión del Syndecan-1 (CD138)				
Tipo de lesión	Número de casos	Syndecan-1 (%)		P
		Promedio (± DE)	Mediana	
TOQ	22	87.27 (16.52)	92.5	0.0093 ^d
QD	17	81.47 (20.05)	90	0.1017 ^e
AU	19	66.05 (28.60)	70	0.6970 ^f

TOQ: tumor odontogénico queratoquístico, QD: quiste dentígero y AU: ameloblastoma uniuquístico.
Prueba de diferencias de medias por pares de lesiones (Tukey): ^a TOQ vs AU, ^b QD vs TOQ, ^c AU vs QD, ^d TOQ vs AU, ^e QD vs TOQ, ^f AU vs QD.
 $X^2= 29.05$ (expresión de Ki67) y $X^2= 5.89$ (expresión de Syndecan-1).

Cuadro 6. Promedio y mediana de la expresión de triptasa para el análisis de las células cebadas en el tumor odontogénico queratoquístico, quiste dentífero y ameloblastoma uniuquístico

Promedio (\pm DE) y Mediana de las células cebadas por lesión				
Tipo de lesión	Número de casos	Triptasa		P
		Promedio (\pm DE)	Mediana	
TOQ	22	53.63 (13.79)	50.92	0.1007 ^a
QD	17	51.97 (14.18)	53.78	0.2535 ^b
AU	19	44.61 (14.18)	43.20	0.1250 ^c

TOQ: tumor odontogénico queratoquístico, QD: quiste dentífero y AU: ameloblastoma uniuquístico.
Prueba de diferencias de medias por pares de lesiones (Tukey): ^a TOQ vs AU, ^b QD vs TOQ, ^c AU vs QD.
 $X^2=4.15$.

Cuadro 7 Promedio y mediana de la expresión de células positivas al factor de crecimiento endotelial vascular en el tumor odontogénico queratoquístico, quiste dentífero y ameloblastoma uniuquístico

Promedio y mediana de las células positivas al VEGF			
Tipo de lesión	Número de casos	VEGF	
		Promedio (\pm DE)	Mediana
TOQ	22	0.67 (\pm 0.27)	0.75
QD	17	0.49 (\pm 0.25)	0.45
AU	19	0.42 (\pm 0.36)	0.32

TOQ: tumor odontogénico queratoquístico, QD: quiste dentífero y AU: ameloblastoma uniuquístico.
 $X^2=7.765$.

Cuadro 6. Expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y comparación de la (MDV) en el tumor odontogénico queratoquístico, quiste dentígero y ameloblastoma

Tipo de lesión	Número de casos	Expresión del VEGF						P
		(+/-)		(+)		(++)		
		N	(%)	n	(%)	n	(%)	
TOQ	22	1	(4.6)	3	(13.64)	18	(81.82)	0.0225 ^a
QD	17	-	-	11	(64.71)	6	(35.29)	0.1555 ^b
AU	19	7	(36.84)	3	(15.79)	9	(47.37)	0.7388 ^c

Expresión de VEGF: (+/-) Expresión leve, (menos del 10% de las células positivas), (+) Expresión moderada (10-50% de las intensas (más del 50% de las células positivas). $X^2= 2.211$ (microdensidad vascular).

TOQ: tumor odontogénico queratoquístico, QD: quiste dentígero y AU: ameloblastoma uniuquístico.

Prueba de diferencias de medias por pares de lesiones (Tukey): ^a TOQ vs AU, ^b QD vs TOQ, AU vs QD, ^d TOQ vs QD, ^f QD vs

las positivas para RANK, RANKL y OPG en el tumor odontogénico dentígero y ameloblastoma uniuquístico.

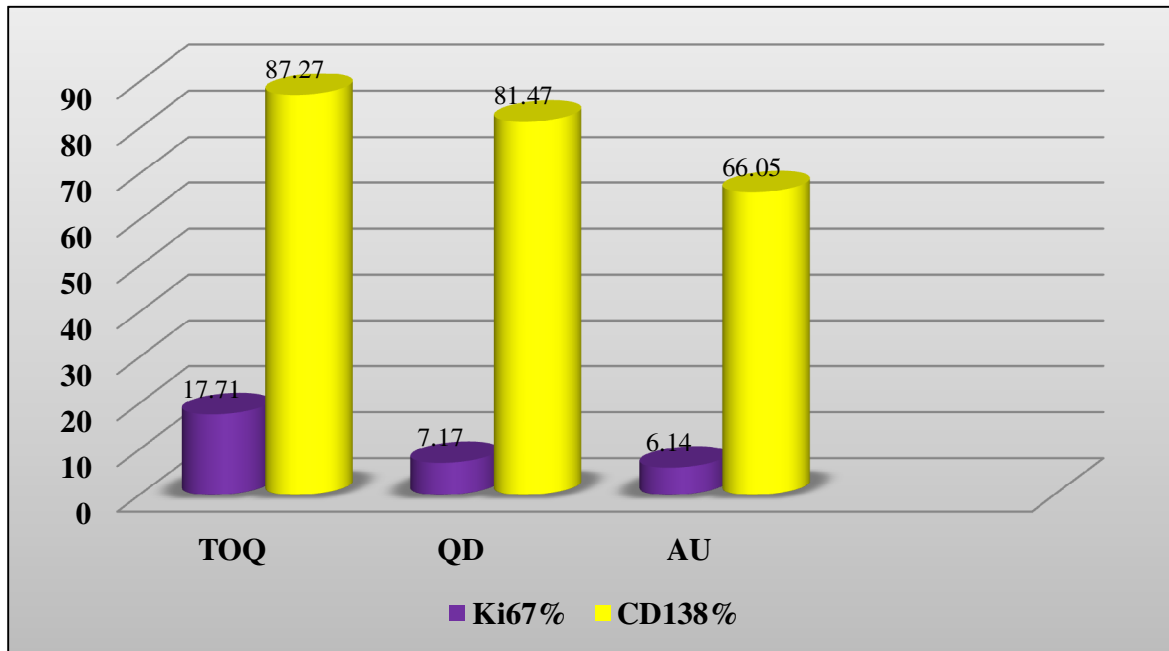
Promedio de las células positivas a RANK, RANKL y OPG

Tipo de lesión	Número de casos	RANK	p	RANKL	p
		Epitelio de revestimiento			
		Promedio (± DE)		Promedio (± DE)	P
TOQ	22	180.95 (± 164.02)	0.3879 ^a	43.59 (± 61.54)	0.4153 ^g
QD	17	249.47 (± 138.02)	0.7693 ^b	26.52 (± 21.16)	0.0317 ^h
AU	19	212.47 (± 173.11)	0.8053 ^c	62.47 (± 20.87)	0.3205 ⁱ
		Estroma			
TOQ	22	101.38 (± 55.01)	0.0036 ^d	34.27 (± 17.30)	0.0004 ^j
QD	17	169.94 (± 63.30)	0.3072 ^e	27.11 (± 17.13)	0.5292 ^k
AU	19	139.00 (± 69.04)	0.1414 ^f	60.73 (± 25.90)	0.0001 ^l

X²= 1.8886 (RANK epitelial), X²= 7.7653 (RANK estroma), X²= 13.3295 (RANKL epitelial), X²= 15.9150 (RANKL estroma), X²= 12.24 (OPG estroma). TOQ: tumor odontogénico queratoquístico, QD: quiste dentígero y AU: ameloblastoma uniuquístico. P: p-valor de significancia por pares de lesiones (Tukey): ^a TOQ vs QD, ^b QD vs AU, ^c AU vs TOQ ^d TOQ vs QD, ^e QD vs AU, ^f AU vs TOQ ^g TOQ vs AU, ^h QD vs TOQ, ⁱ AU vs QD, ^j TOQ vs AU, ^k QD vs TOQ, ^l AU vs QD ^m TOQ vs AU, ⁿ QD vs TOQ, ^o AU vs QD ^p TOQ vs AU, ^q QD vs TOQ, ^r AU vs QD

10. Gráficas

Grafica 1. Porcentaje de células positivas que expresaron Ki-67 y Syndecan-1 en el tumor odontogénico queratoquístico, quiste dentígero y ameloblastoma uniuquístico



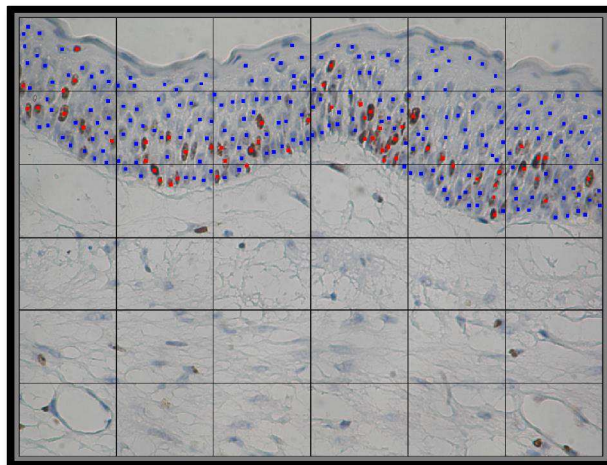


Figura 1. Imagen que ejemplifica el método utilizado para determinar el índice de proliferación celular mediante el uso de Ki67 en el tumor odontogénico queratoquístico. Se identifican las células positivas en rojo y las negativas en azul (40x)

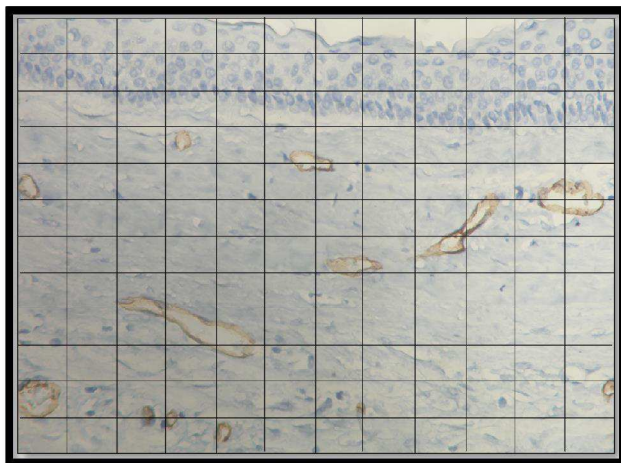


Figura 2. Imagen que ejemplifica el método empleado para la determinación de la microdensidad vascular (MDV), mediante el uso del anticuerpo CD34, en las lesiones quísticas odontogénicas. En este caso en cada punto de corte que toque la luz o la pared de un vaso será contado como positivo (40x).

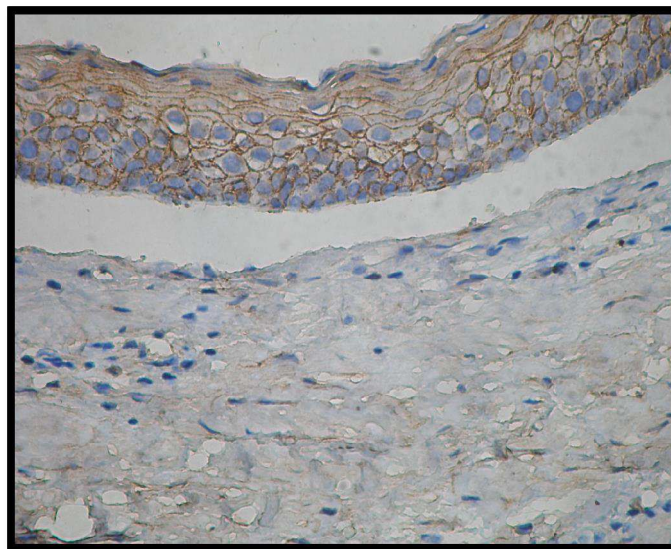


Figura 3. Expresión de Syndecan-1 en el epitelio de revestimiento del TOQ (40x)

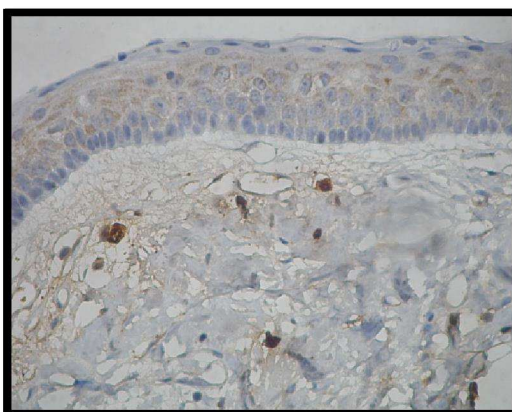
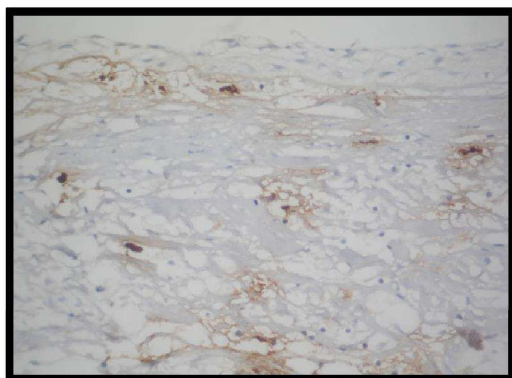
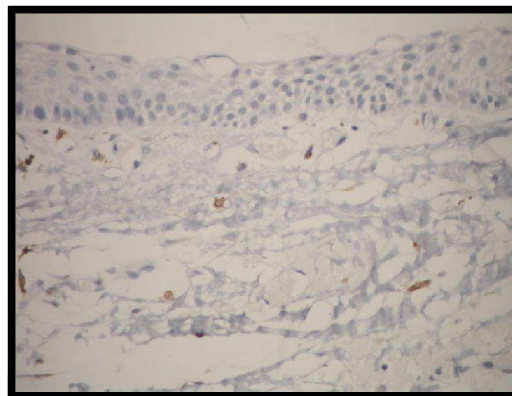


Figura 4 Expresión de Triptasa en las células cebadas en el estroma del QD, AU y TOQ (40x).

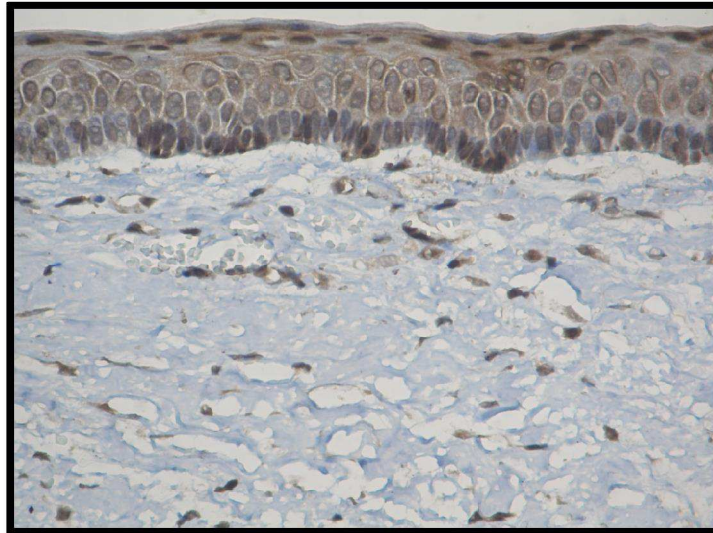


Figura 5. Expresión de VEGF en el estroma del TOQ (40x)

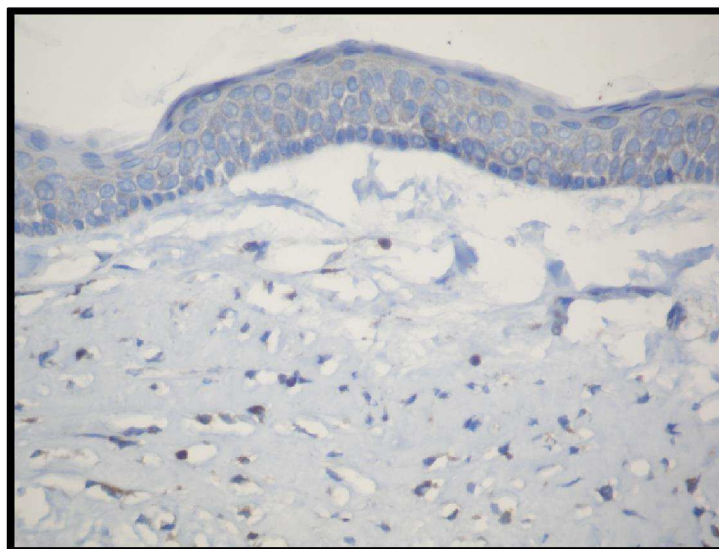


Figura 6. Expresión de RANK en el epitelio y estroma del TOQ (40x).

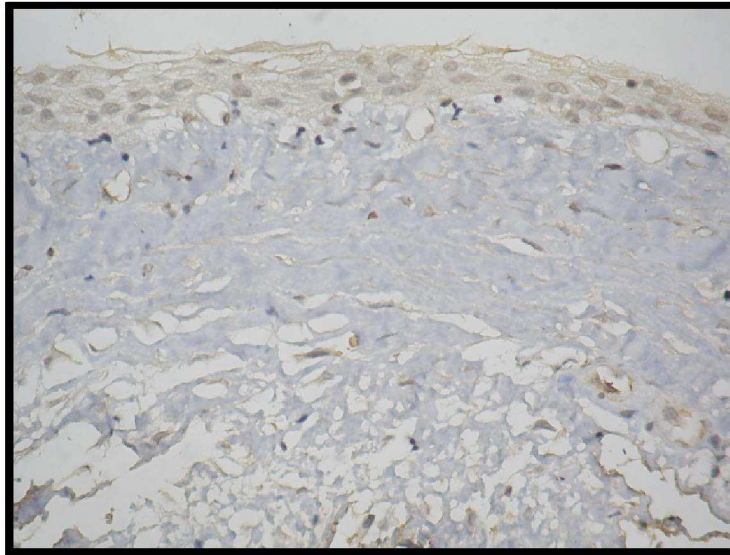


Figura 7. Expresión de RANKL en el epitelio y estroma del TOQ (40x).

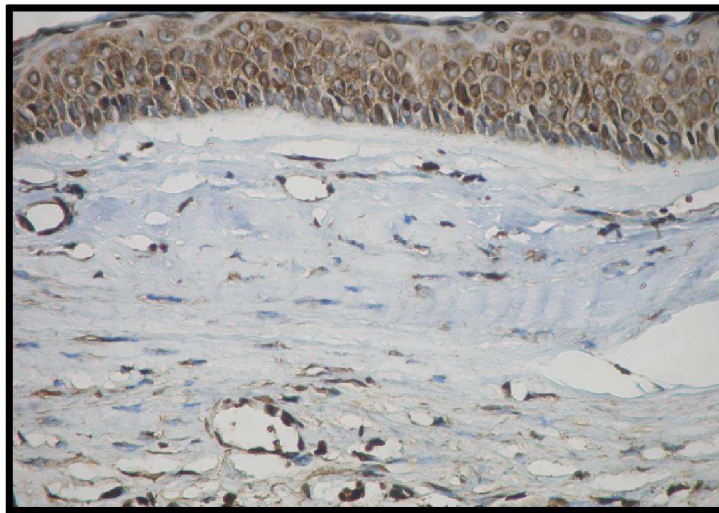


Figura 8 Expresión de Osteoprotegerina (OPG) en el epitelio y estroma del TOQ (40x).



11. DISCUSIÓN

Debido a la alta frecuencia con que se presentan estas tres lesiones dentro de la patología quística y tumoral de la región bucal y maxilofacial y a que además, en conjunto constituyen una de las principales causas de destrucción y deformidad en esta zona anatómica, su manejo requiere de cirugías mutilatorias y reconstructivas complejas y de alto costo, no siempre disponibles en todas las instituciones asistenciales, por lo que a menudo persisten secuelas tanto funcionales como estéticas de severidad variable y en ocasiones de forma permanente. Adicionalmente a lo anterior, las similitudes que presentan a nivel clínico e imagenológico las tres lesiones incluidas en este trabajo, hace necesario el empleo de todos los medios posibles para identificarlas y tratarlas oportuna y adecuadamente con base en su diagnóstico preciso, a fin de reducir la morbilidad local, evitar la recurrencia y limitar las posibles implicaciones de tipo sistémico en los individuos afectados.

Es importante recordar que aunque clínicamente los QD, TOQ y AU pueden tener similitudes, numerosos estudios han demostrado que las diferencias en su conducta biológica hace necesario realizar tratamientos distintos para cada una de estas entidades, y aún entre subtipos de las mismas. Así, mientras el quiste dentígero responde favorablemente a la enucleación, o incluso a la marsupialización, en las otras dos lesiones la descompresión con o sin marsupialización es considerada solamente como la fase terapéutica inicial, la cual debe acompañarse de una cuidadosa evaluación del tejido eliminado (para descartar invasión capsular y confirmar el diagnóstico), así como de un seguimiento estricto antes de tomar la decisión de realizar la enucleación acompañada de osteotomía marginal o de resecciones más amplias debido a su elevado potencial de



recurrencia y comportamiento localmente agresivo, e incluso, debido al eventual riesgo de malignización^{73,83}.

En diversos estudios se han postulado los posibles mecanismos de crecimiento y expansión de las lesiones quísticas de origen odontogénico^{25, 35-37} y en algunos más se han evaluado de manera individual los distintos componentes que participan en dichos fenómenos^{5-8, 39, 90-92}.

Sin embargo, aún no se ha logrado definir con precisión la función específica de los diversos elementos implicados, por lo que se requiere de trabajos como la presente investigación, que evalúen en condiciones similares a lesiones parecidas desde el punto de vista clínico, pero distintas en su histopatología y conducta biológica.

Con respecto al TOQ, desde hace varias décadas se conoce que éste presenta un comportamiento más agresivo en comparación con otros quistes odontogénicos, atribuible, entre otras razones, a su mayor índice de proliferación celular en comparación con lesiones como el QD y otros quistes odontogénicos^{4, 25, 36, 85, 116, 117}. De igual forma, diversos estudios sugieren que la capacidad proliferativa del TOQ lo hace comparable con otras neoplasias benignas como el ameloblastoma, lo que en conjunto a otras características, ha favorecido su inclusión dentro de la Clasificación Internacional de Tumores de Cabeza y Cuello como un tipo de neoplasia odontogénica quística benigna^{4, 25, 36, 42}. En concordancia con lo anterior, en nuestro estudio obtuvimos resultados semejantes, ya que el TOQ fue la lesión que presentó el índice de proliferación celular más elevado, y se encontró una diferencia significativa al compararlo con QD y AU. También se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los tres grupos de lesiones. Resultados como estos reflejan las diferencias que presentan estas entidades, y apoyan el concepto de que el TOQ es una neoplasia benigna con un índice de proliferación elevado, mismo que podría explicar su crecimiento persistente en comparación con las otras lesiones quísticas analizadas en

este estudio. Por otra parte, al correlacionar la alta tasa de proliferación con la elevada expresión de Syndecan-1 por parte del revestimiento epitelial de los TOQ y la menor expresión encontrada en los AU, se puede interpretar que dicha diferencia podría explicar el por qué es relativamente infrecuente observar invasión epitelial a la cápsula en el TOQ, mientras que los AU con frecuencia muestran proliferación mural o por lo menos capacidad de proliferación en forma de yemas o de crecimiento intraluminal^{104, 118}; en otras palabras, el elevado índice de proliferación no es criterio suficiente para explicar la conducta biológica de una lesión quística en términos de invasividad, pero sí lo puede ser para explicar su capacidad de crecimiento y expansión, mientras que la pérdida de expresión de Syndecan-1, como se ha demostrado en lesiones benignas localmente infiltrantes como los ameloblastomas¹⁰⁴, es un dato importante que se asocia con la capacidad de infiltración, por lo que la correlación de dichos factores en conjunto (Ki67 y Syndecan-1) aporta elementos para explicar las diversas conductas biológicas observadas en estas lesiones¹⁰⁴. Queda por definir si los distintos subtipos de TOQ y AU (con y sin invasión mural) tienen diferencias en la expresión de estos antígenos, para intentar definir con mayor precisión el posible comportamiento de una lesión con base en su exploración histopatológica e inmunohistoquímica^{104, 118}. A este respecto, Bologna-Molina *et al.*¹⁰⁴ realizaron un estudio comparativo entre la expresión de Syndecan-1 (CD138) y Ki67 en diferentes tipos de ameloblastomas, en el que identificaron que el ameloblastoma sólido fue la lesión que presentó un índice menor de expresión de CD138 (40.2% vs 49.7% en AU), y concluyeron que ésta puede ser una de las razones por las cuales el ameloblastoma sólido suele ser más agresivo que su variante uniuística¹⁰⁴. Así mismo, recientemente Al-Otaibi *et al.*¹¹⁸ realizaron un análisis de la expresión de CD138 en ameloblastomas sólidos y uniuísticos, TOQ y QD, y estos autores encontraron que con mayor frecuencia los AU presentaron una



disminución de la expresión de CD138, en comparación al TOQ, en el que la expresión de Syndecan-1 fue mayor al 90%, ocurriendo algo similar con los QD; además, encontraron una diferencia estadísticamente significativa al comparar la expresión de Syndecan-1 en los tres grupos (resultados muy similares a lo observado en el presente estudio)¹¹⁸.

Con respecto a la expresión de Syndecan-1 en QD, los resultados obtenidos en este trabajo no concuerdan del todo con lo encontrado recientemente por Al-Otaibi *et al*¹¹⁸, quienes encontraron que la expresión de CD138 en QD fue del 100% para todos sus casos, mientras que nosotros la observamos en el 82.35% de los casos incluidos en este estudio, lo cual pudiera explicarse por diferencias existentes en las condiciones de los tejidos examinados, ya que dichos autores no especifican si los QD estudiados presentaban inflamación o metaplasia escamosa que pudiera explicar una menor pérdida de expresión de Syndecan-1 en comparación a nuestros hallazgos.

Adicionalmente al estudio de los elementos implicados en la proliferación y adhesión epitelial, se realizó un análisis inmunohistoquímico de diversos componentes celulares y de la MEC, tales como las células cebadas, las cuales son importantes porque participan en múltiples eventos asociados al crecimiento y expansión tumoral, entre los que se incluyen, de manera especial, la inducción a la reabsorción ósea mediante la producción de FNT-¹¹⁹.

A pesar de que se han realizado algunos trabajos en cuanto a la densidad y ubicación de estas células en lesiones de origen odontogénico, en especial las que presentan una morfología quística, su función específica en ellas es aún desconocida, aunque se ha sugerido en diversos estudios que los productos de su desgranulación cumplen un rol importante en el aumento de la destrucción de la matriz extracelular de la cápsula fibrosa, estimulando también la producción de citocinas, lo que a su vez facilita la expansión y el crecimiento de estas lesiones¹²⁰. En concordancia con lo mencionado anteriormente, de



Noronha *et al.*⁹⁷ analizaron la presencia y distribución de las células cebadas en QR, QD y TOQ inflamados y no inflamados, observando diferencias significativas en la comparación realizada entre las lesiones inflamadas y las no inflamadas. En contraste, en nuestro estudio no se encontraron diferencias significativas al comparar la expresión de triptasa en el grupo de las lesiones incluidas y sugerimos que esto se debe a que el factor inflamatorio fue controlado en nuestra investigación. Sin embargo, los resultados de ambos estudios sugieren que la presencia de las células cebadas podría considerarse como fuente potencial para la producción de múltiples factores que sintetizados en respuesta a diversos factores de expansión presentes en la cápsula, pudieran estimular en mayor o menor grado el crecimiento de las lesiones odontogénicas de tipo quístico. Por otra parte, Chatterjee S *et al.*¹²⁰ evaluaron la presencia y distribución de las células cebadas en el tejido subepitelial y en el tejido conectivo profundo de QR, QD y TOQ, empleando la misma técnica utilizada por nosotros y reportaron una mayor concentración de las células cebadas en la zona subepitelial, especialmente en los TOQ¹²¹, lo que concuerda con lo encontrado en el presente trabajo, sugiriendo que en estas lesiones el elevado número de células cebadas podría producir múltiples componentes que tienen la capacidad potencial de ocasionar la ruptura de los glucosaminoglucanos presentes en la capsula fibrosa, explicando en parte el comportamiento agresivo y posiblemente también la frecuente disrupción de la membrana basal que ocasiona, junto con la acción de otros factores (colagenasas), el desprendimiento epitelial en este tipo de quiste¹²⁰. De igual forma se ha mencionado la capacidad que poseen las células cebadas de generar múltiples factores que pudieran impulsar el crecimiento de estas lesiones, como por ejemplo MMP's, triptasa, quimasa, TNF- , varios tipos de IL (IL-3, 4, 5, 6, 8, 10, 13 y 16), algunas quimiocinas, así como diversos mediadores lipídicos, sustancias algunas de ellas que colaboran con la destrucción de la ECM, promoviendo la



inflamación y el potencial angiogénico de las lesiones¹²¹⁻¹²³. Con respecto a esto último, es necesario mencionar la relación que poseen la células cebadas con la expresión de diversos tipos de MMP's, entre las que se encuentran la MMP-9 y la MMP-2, ya que diversos estudios han demostrado que la tripsina y la quimasa derivadas de las células cebadas tienen la capacidad de activar la producción de MMP's, ocasionando un sinergismo entre las células neoplásicas y del estroma en la producción de MMP's, lo cual colabora con el aumento de la degradación de la MEC para favorecer la expansión quística generada posiblemente en el crecimiento epitelial y el acumulo de contenidos intraluminales¹²⁴⁻¹²⁶.

En consecuencia a lo mencionado anteriormente, y debido a la incógnita generada en relación a los mecanismos de crecimiento y expansión de las lesiones quísticas de origen odontogénico, se ha intentado comprender en diversos estudios el papel que juegan otros factores importantes para el desarrollo de los quistes y tumores, como lo son la angiogénesis y la microdensidad vascular (MDV) presentes en estas lesiones. Es por ello que en algunas investigaciones se ha utilizado la inmunohistoquímica para evaluar la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y también la de la microdensidad vascular (MDV), mediante el uso del anticuerpo anti-CD34, pues es necesario mencionar que la angiogénesis es esencial en una amplia variedad de procesos fisiológicos y patológicos que incluyen la embriogénesis, cicatrización de heridas, inflamación y progresión de tumores, y debido a esto es que se han realizado diversos análisis en pro de determinar su presencia y la MDV en diversas lesiones de origen odontogénico. Al respecto, Alaeddini *et al*¹¹¹ compararon la MDV en TOQ, QD y Ameloblastomas (sólidos y unikuísticos), y los resultados encontrados demuestran que existen grandes diferencias entre ellos, ya que se observó una diferencia significativa entre el promedio de la MDV en TOQ, que fue de 12.57 (± 3.58), con respecto al del QD



(promedio de 5.07 ± 2.45) ($p < 0.0001$), y de igual forma se comparó el AU y el QD, presentando el AU un promedio de $9.99 (\pm 3.61)$ identificándose también una diferencia estadísticamente significativa¹¹¹. En contraste con estos resultados, nosotros identificamos que el AU fue la lesión que presentó un promedio mayor de células positivas para CD34 (46.20 ± 20.17), seguido del TOQ (45.32 ± 13.50) y en último lugar observamos el QD (42.57 ± 13.99). De igual forma se realizó una comparación entre cada grupo de lesiones y en la expresión para CD34 se observó que no existían diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos. Al respecto, es necesario mencionar que estas variaciones en los resultados radican posiblemente en las diferencias en el método utilizado por Alaeddini *et al*¹¹¹, debido a que ellos no controlaron factores como los diversos grados de inflamación presente en las lesiones, proceso que puede modificar enormemente la producción vascular.

Así como se ha mencionado el posible papel que juega la MDV dentro de los mecanismos de crecimiento y expansión de estas lesiones, es importante comentar que la angiogénesis, evaluada en diversos estudios mediante la expresión del VEGF, también parece cumplir un papel de importancia en procesos tales como: estimular la proliferación, migración y diferenciación de células endoteliales, estimular la producción de MMP's, contribuir con la formación del estroma tumoral y además atraer monocitos que producen factores angiogénicos, por lo que este factor es considerado como un elemento influyente en el comportamiento agresivo de algunas lesiones odontogénicas, especialmente las de naturaleza quística. Por consiguiente, la expresión del VEGF en el epitelio quístico puede promover la proliferación del mismo mediante un efecto autocrino, y de igual forma se ha identificado que se produce una estimulación paracrina de la red vascular que colabora con el crecimiento y la expansión de estas lesiones^{110, 127, 128}. En este trabajo se realizó un



análisis de la angiogénesis mediante la expresión del VEGF, en el que observamos que la expresión intensa de este factor se encontró con mayor frecuencia en el TOQ (81.82%), seguido por el AU (47.37%) y en último lugar se encontró el QD (35.29%), observándose diferencias significativas entre el TOQ y AU, pero no en la comparación realizada entre el TOQ y QD y QD Y AU, resultado diferente al obtenido por Mitrou *et al*¹²⁷, quienes analizaron la expresión de VEGF en TOQ, QD y QR, (epitelio y estroma), encontrando una diferencia significativa en la comparación realizada entre el TOQ y el QD¹²⁸. A este respecto, es necesario indicar que en dicho estudio no se controlaron los factores asociados a la inflamación, y quizás esta sea la explicación por la que estos autores hayan encontrado una diferencia significativa en esta comparación.

El rol de la angiogénesis y la MDV en la patogénesis de las lesiones quísticas de origen odontogénico es un elemento que debe seguir siendo evaluado, ya que la angiogénesis podría convertirse en un blanco terapéutico para el manejo de éstas y otras lesiones destructoras de los tejidos maxilofaciales.

En la presente discusión se han mencionado múltiples elementos que pueden estar implicados en los mecanismos de crecimiento y la expansión de las lesiones quísticas de origen odontogénico, pero también es importante mencionar el rol que cumplen aquellos factores que tienen la capacidad de regular la homeostasis ósea, y particularmente la maduración de los osteoclastos, como lo son el Factor Nuclear KB, el ligando de RANK y la Osteoprotegerina (RANK, RANKL y OPG). El receptor activador del factor nuclear KB pertenece a la familia del factor de necrosis tumoral (TNF) y éste es activado por RANKL, una citocina similar al TNF. RANK se encuentra en la superficie del hueso degradado y la Osteoprotegerina (OPG) es un receptor soluble que interrumpe la activación del osteoclasto



mediante la unión directa a RANK, por consiguiente, la maduración osteoclástica y la homeostasis ósea está dada por los niveles equilibrados de RANK-RANKL y OPG¹²⁹⁻¹³⁰. Como consecuencia, es necesario mencionar que la alteración de la regulación de este sistema puede ser una de las causas principales de múltiples trastornos óseos como la osteoporosis, osteopetrosis, artritis reumatoide, etc¹³¹.

Al respecto, da Silva *et al*¹¹³, realizaron la comparación de la expresión de RANK, RANKL y OPG en el epitelio de revestimiento y en el estroma del TOQ, Ameloblastomas (AU y Ameloblastoma sólido/multiquístico (AM)) y QD. Ellos no observaron diferencias en la expresión de RANKL y OPG en el epitelio de revestimiento de estas lesiones; sin embargo, en el estroma encontraron que el TOQ presentó mayor cantidad de células positivas para OPG que para RANKL, lo que difiere del AM, y también encontraron que el número de células positivas para OPG fue significativamente mayor en el TOQ y QD en comparación con el folículo dental ($p=0.003$), y que la mayoría de los casos de TOQ (62.42%) y QD (100%), mostraron más células positivas para OPG que para RANKL, a diferencia del AU que mostró una expresión mayor de células positivas para RANKL que para OPG¹¹³. Un resultado similar al reportado por estos autores fue identificado en el presente estudio, considerando que no se identificaron diferencias en la expresión de RANK en el epitelio de revestimiento de estas lesiones, e indistintamente se encontró que hubo una mayor expresión de RANK, RANKL y OPG en el epitelio de revestimiento de las lesiones en comparación con el estroma de las mismas. Por otra parte, la expresión de OPG fue menor en el epitelio y en el estroma de estas lesiones en comparación con la expresión de RANKL o RANK, aspecto que difiere con lo encontrado por da Silva *et al*.¹¹³. Adicionalmente, el AU fue la entidad que presentó mayor número de células positivas para RANKL y menor cantidad de células positivas para OPG, hallazgo que concuerda con lo encontrado por da



Silva *et al.*¹¹³, a diferencia de las otras lesiones quísticas incluidas en este estudio. En términos generales esto sugiere que la alta expresión de RANKL (en epitelio y estroma) en el AU, en combinación con la expresión baja de Syndecan-1 y un moderado índice de proliferación celular detectado en esta neoplasia, son hallazgos que promueven la capacidad de crecer mediante la invasión y destrucción de los tejidos adyacentes, pero además consideramos importante mencionar que debido a esta alta expresión de RANKL, éste podría ser un factor importante en la activación de la osteoclastogénesis, ayudando así a la expansión de estas entidades entre las paredes corticales, evento observado solo en fases tardías o muy avanzadas en el crecimiento del TOQ.

Debido a lo mencionado anteriormente, y teniendo en cuenta la capacidad osteoclástica que posee el TNF- α , se ha estudiado la expresión de este factor en los queratinocitos del epitelio de revestimiento de TOQ ausentes de inflamación, y la evidencia obtenida en dichos estudios sugiere que el epitelio de revestimiento puede producir estas citocinas (TNF, IL-1 e IL-6), estimulando así el proceso de reabsorción ósea, lo que explica la presencia de estos factores intrínsecos del proceso inflamatorio en el contenido quístico de los TOQ no inflamados⁸⁴. Tomando en cuenta los resultados obtenidos por Meghji *et al.*⁸⁴ y los obtenidos en el presente estudio, sugerimos la posibilidad de que el epitelio de revestimiento y la capsula de las lesiones estudiadas tengan la capacidad de expresar esta tríada molecular (RANK, RANKL y OPG), induciendo la reabsorción ósea y estimulando la expansión y el crecimiento de estas entidades, aún a pesar de diferencias evidentes en el grosor epitelial y cantidad de tejido en las cápsulas. En consecuencia, consideramos que la expresión de esta tríada puede esclarecer la función que posee en la patogénesis de la destrucción ósea asociada a la expansión y crecimiento de estas entidades quísticas, pero es deseable que se realicen más investigaciones encaminadas a evaluar como posibles blancos



terapéuticos a dichas moléculas, a fin de intentar modular y controlar el notable crecimiento y destrucción que ocasionan estas lesiones.

En este estudio realizamos un análisis inmunohistoquímico de los diversos componentes celulares y extracelulares que poseen las lesiones quísticas de origen odontogénico, y al igual que otros autores, consideramos que aún no se ha esclarecido el papel que pueden jugar los componentes del estroma en su crecimiento y expansión, pues la mayoría de las evidencias sugieren que este crecimiento está dado principalmente por factores intrínsecos o que afectan al epitelio de revestimiento. Sin embargo, ya que el componente capsular es el de mayor tamaño y el que contiene mayor diversidad de elementos tisulares, se requiere de más estudios que ayuden a determinar su papel específico en la patogénesis y comportamiento clínico en este tipo de lesiones.

Dentro de las limitaciones de este estudio, podemos mencionar la dificultad que puede existir con las técnicas utilizadas para el conteo celular, ya que no existen métodos internacionalmente aceptados u homologados para tal fin, por lo que se tuvo que recurrir a aquellas técnicas descritas en trabajos publicados en revistas de prestigio y a otras adaptadas a partir de los mismos, las cuales son propuestas para evaluar diversos parámetros histomorfológicos de manera estandarizada en la forma de contar células con la ayuda de un programa de análisis de imagen. Así mismo, se presentaron algunas dificultades para la selección de los campos representativos en dónde se realizó el conteo celular cuando las muestras eran pequeñas; no obstante, se tuvo precaución al momento de seleccionar estos campos, tomando en cuenta que estos fuesen los representativos de la lesión, evitando siempre aquellas zonas que presentaran inflamación.

Por otro lado, dentro de las ventajas de este estudio se incluye el hecho que es el primero en el que se comparan de manera simultánea diversos marcadores inmunohistoquímicos en pro



de analizar el índice de proliferación celular (Ki67), la expresión de moléculas de adhesión celular como el Syndecan-1, densidad de las células cebadas, microdensidad vascular, índice de angiogénesis y factores que regulan la reabsorción ósea (RANK, RANKL y OPG), por lo que consideramos que los resultados obtenidos en este trabajo aportan nuevos conocimientos que ayudan a comprender y diferenciar los mecanismos de crecimiento y expansión de las lesiones incluidas en el mismo, promoviendo además el diseño de nuevas investigaciones que ayuden a aclarar las dudas que aún persisten sobre este importante campo de la patología quística odontogénica.

12. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La correlación encontrada en este estudio entre la expresión de Ki67 y Syndecan-1, aporta elementos importantes para esclarecer los mecanismos de crecimiento que presentan las lesiones incluidas en este trabajo, especialmente el AU, debido a que éste, a diferencia del TOQ, tiene mayor capacidad de invadir áreas adyacentes debido a la pérdida de moléculas de adhesión celular (Syndecan-1) y por otra parte, la baja expresión de factores como OPG demuestran que estas lesiones tienen un potencial de destrucción ósea mayor que el quiste dentígero.

De igual forma, el TOQ posee un mayor índice de proliferación celular que las otras dos lesiones estudiadas, lo que sugiere que esta lesión crece esencialmente por la proliferación de su revestimiento epitelial, pero además expresa otros factores que pueden estimular también la proliferación celular, como es el factor de crecimiento endotelial vascular mediante un efecto autocrino.

Por otra parte, debido a la expresión de factores que estimulan la maduración osteoclástica, como se ha comprobado en otros trabajos mediante la expresión del TNF- en el epitelio de los TOQ, consideramos que puede ocurrir algo similar con la expresión de RANK y RANKL, estimulando la reabsorción ósea mediante la activación de los osteoclastos, y este factor puede ser un mecanismo coadyuvante para que estas lesiones tengan la posibilidad de expandirse en conjunto con la proliferación de su epitelio.

Es necesario mencionar que aunque no se obtuvieron diferencias significativas en cuanto a la expresión de tripsasa en la cápsula de las lesiones estudiadas, deben realizarse más estudios encaminados a determinar la función e interacciones que tienen los factores



producidos por las células cebadas en los mecanismos de crecimiento de estas y otras lesiones de los maxilares.

Por otra parte, consideramos que resultados como los aquí encontrados apoyan el que futuros estudios puedan ser dirigidos a probar blancos terapéuticos en lesiones tan agresivas como el TOQ o el AU, particularmente contra factores que estimulen la angiogénesis, los que a su vez tienen la capacidad de inducir la proliferación del revestimiento epitelial (VEGF) y también hacia aquellos que puedan estimular los mecanismos de reabsorción ósea (RANK, RANKL y OPG), a fin de facilitar la eliminación de lesiones de menor tamaño, reducir la morbilidad post-quirúrgica y mejorar su pronóstico.

De igual forma, son necesarios más estudios sobre los factores relacionados con el desarrollo de invasión epitelial en la cápsula quística y hacer comparaciones entre diversas lesiones con dicho potencial, tales como el TOQ y AU, y analizar más específicamente la expresión de moléculas de adhesión celular como Syndecan-1, en pro de determinar con mayor precisión la función que posee esta molécula en estos casos tanto para diagnóstico como para pronóstico de las mismas en biopsias incisionales.

También se sugiere que se realicen estudios similares en aquellas lesiones quísticas que hayan sido tratadas con marsupialización u otros métodos descompresivos que las reduzcan clínicamente de forma persistente, con objeto de determinar si la expresión de Syndecan-1 y la vía RANK-RANKL-OPG se ven disminuidas y correlacionarlas de la misma forma con el índice de proliferación celular, a fin de encontrar una explicación a la aparente disminución de la agresividad de estas lesiones cuando son tratadas con estas técnicas.

13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kramer IRH. Changing views on oral disease. Proc Roy Soc Med. 1974; **67**: 271-6.
2. Reichart PA Philipsen HP. Aneurysmal bone cavity (Aneurysmal bone cyst). In: Odontogenic Tumours and Allied Lesions. First Edition. London: Quintessence, 2004.
3. Shear M, Speight P. Cysts of the Oral and Maxillofacial Regions. Fourth Edition. Oxford. Blackwell-Munksgaard. 2007.
4. Barnes L, Eveson JW, Reichart P Sidransky D. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. IARC Press: Lyon; 2005.
5. 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.
6. Li TJ. Browne RM, Matthews JB. Expression of Epidermal growth factor receptors by odontogenic jaw cysts. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol. 1993; **423**: 137-44.
7. Kumamoto H, Yoshida M, Ooya K. Immunohistochemical detection of hepatocyte growth factor, transforming growth factor β and their receptors in odontogenic tumors. J Oral Pathol Med. 2002; **31**: 539-48.
8. Nonaka CF, Cavalcante RB, Nogueira RL, de Souza LB, Pinto LP. Immunohistochemical analysis of bone resorption regulators (RANKL and OPG), angiogenic index, and myofibroblasts in syndrome and non-syndrome odontogenic keratocysts. Arch Oral Biol. 2012; **57**: 230-7.
9. Ledesma MC, Hernández GJC, Garcés MO. Clinico-pathologic study of odontogenic cysts in a Mexican sample population. Arch Med Res. 2000; **31**: 373-6.
10. Ochsenius G, Escobar E, Godoy L, Peñafiel C. Odontogenic cysts: analysis of 2944 cases in Chile. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2007; **12**: 85-91.
11. Mosqueda Taylor A, Irigoyen Camacho ME, Díaz Franco MA, Torres MA. Quistes odontogénicos: Análisis de 856 casos. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2002; **7**: 89-96.

12. 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.
13. 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**: 35-41.
14. Zhang LL, Yang R, Zhang L, Li W, MacDonald-Jankowski D, Poh CF. Dentigerous cyst: a retrospective clinicopathological analysis of 2082 dentigerous cysts in British Columbia, Canada. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2010; **39**: 878-82.
15. Luo HY, Li TJ. Odontogenic tumors: a study of 1309 cases in Chinese population. *Oral Oncol.* 2009; **45**: 706-11.
16. Gupta B, Ponniah I. The pattern of odontogenic tumors in a government teaching hospital in the southern Indian state of Tamil Nadu. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; **110**: 32-9.
17. Mosqueda-Taylor A, Ledesma-Montes C, Caballero-Sandoval S, Portilla-Robertson J, Ruíz-Godoy Rivera LM, Meneses-García A. Odontogenic tumors in Mexico: A collaborative retrospective study of 349 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1997; **84**: 672-5.
18. Ladeinde AL, Ajayi OF, Ogunlewe MO, Adeyemo WL, Arotiba GT, Bamgbose BO, et al. Odontogenic tumors: A review of 319 cases in a Nigerian teaching hospital. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005; **99**: 191-5.
19. Tawfik M, Zyada M. Odontogenic tumors in Dakahlia, Egypt: analysis of 82 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; **109**: 67-73.
20. Mosqueda Taylor A, Meneses García A, Ruíz Godoy L, Suárez Roa ML, Luna Ortiz K. Tumores odontogénicos malignos. Estudio retrospectivo y colaborativo de 7 casos. *Med Oral.* 2003; **8**:110-21.
21. Osterne RL, Brito RG, Alves AP, Cavalcante RB, Sousa FB. Odontogenic Tumours: a 5-year retrospective study in a Brazilian population and analysis of 3406 cases reported in the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011; **111**: 474-81.

22. Buchner A, Merrell P, Carpenter W. Relative Frequency of Central Odontogenic Tumors: A Study of 1,088 Cases from Northern California and Comparison to Studies from Other Parts of the World. *J Oral Maxillofac Surg.* 2006; **64**:1343-52.
23. Ochsenius G, Ortega A, Godoy L, Peñafiel C, Escobar E. Odontogenic tumors in Chile: a study of 362 cases. *J Oral Pathol Med.* 2002; **31**: 415-20.
24. da-Costa DO, Maurício AS, de-Faria PA, da-Silva LE, Mosqueda-Taylor A, Lourenço SD. Odontogenic tumors: a retrospective study of four Brazilian diagnostic pathology centers. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012; **17**: 389-94.
25. Shibata Y, Asaumi J, Yanagi Y, Kawai N, Hisatomi M, Matsuzaki H. et al Radiographic examination of dentigerous cysts in the transitional dentition. *Dentomaxillofac Radiol.* 2004; **33**: 17-20.
26. Main DMG. Epithelial jaw cysts: a clinicopathological reappraisal. *Br J Oral Surg.* 1970; **8**: 114-25.
27. Mourshed F. A roentgenographic study of dentigerous cysts. Analysis of 180 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1964; **18**: 47-53.
28. Lustmann J, Bodner L. Dentigerous cysts associated with supernumerary teeth. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1988; **17**:100-2.
29. Motamedi MH and Talesh TK. Management of extensive dentigerous cysts. *Br Dent J.* 2005; **198**; 203-6.
30. Miyawaki S, Hyomoto M, Tsubouchi J, Kirita T, Sugimura M. Eruption speed and rate of angulation change of a cyst-associated mandibular second premolar after marsupialization of a dentigerous cyst. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1999; **116**: 578-84.
31. Counts AL, Kochis LA, Buschman J, Savant TD. Aggressive dentigerous cysts in a seven-year-old child. *ASDC J Dent Child.* 2001; **68**: 268-71.
32. Bodner L. Cystic lesions of the jaws in children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2002; **62**:25-9.
33. Jones TA, Perry RJ, Wake MJ. Marsupialization of large unilateral mandibular dentigerous cysts in a 6-year-old boy: a case report. *Dent Update.* 2003; **30**: 557-61.
34. Jena AK, Duggal R, Roychoudhury A, Parkash H. Orthodontic assisted tooth eruption in a dentigerous cyst: a case report. *J Clin Pediatr Dent.* 2004; **29**: 33-5.

35. Marchetti C, Bonetti GA, Pieri F, Checchi L. Orthodontic extraction: conservative treatment of impacted mandibular third molar associated with a dentigerous cyst. A case report. *Quintessence Int.* 2004; **35**: 371-4.
36. Browne RM. The odontogenic keratocyst: clinical aspects. *Br Dent J.* 1970; **3**:225-31.
37. Toller PA. Protein substances in odontogenic cysts fluids. *Br Dent J.* 1970; **128**: 317-2.
38. Harris M, Toller PA. The pathogenesis of dental cysts. *Br Med Bull.* 1975; **31**:159-63.
39. Ninomiya T, Kubota Y, Koji T, Shirasuna K. Marsupialization inhibits interleukin-1 expression and epithelial cell proliferation in odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol Med.* 2002; **31**: 526-33.
40. Pinheiro JJ, Freitas VM, Moretti AI, Jorge AG; Jaeger RG. Local invasiveness of ameloblastoma. Role played by matrix metalloproteinases and proliferative activity. *Histopathology.* 2004; **45**: 65-72.
41. Rosenthal EL, Matrisian LM. Matrix metalloproteases in head and neck cancer. *Head Neck.* 2006; **28**: 639-48.
42. Henriques AC, Vasconcelos MG, Galvão HC, de Souza LB, de Almeida Freitas R. Comparative analysis of the immunohistochemical expression of collagen IV, MMP-9, and TIMP-2 in odontogenic cysts and tumors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011; **112**: 468-75.
43. Kolár Z, Geierová M, Bouchal J, Pazdera J, Zboril V, Tvrđý P. Immunohistochemical analysis of the biological potential of odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol Med.* 2006; **35**: 75-80.
44. Cohen MA, Shear M. Histological comparison of parakeratinized and orthokeratinized primordial cysts (keratocysts). *J Dent Assoc S Afr.* 1980; **35**: 161-5.
45. Hansen J. Keratocysts in the jaws. In: Husted E and Hjorting-Hansen E., eds. *Oral Surgery II (Transactions of the Second International Conference on Oral Surgery)*. Copenhagen: Munksgaard, 1967. pp. 128-4.

46. Pindborg JJ, Hansen J. Studies on odontogenic cyst epithelium. 2. Clinical and roentgenologic aspects of odontogenic keratocysts. *Acta Pathol Microbiol Scand.* 1963; **58**:283-94.
47. Cernéa P, Kuffer R, Baumont M, Brocheriou C, Guilbert F. Naevomatose basocellulaire. *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 1969; **70**: 181-226.
48. Rud J, Pindborg JJ. Odontogenic keratocysts: a follow-up study of 21 cases. *J Oral Surg.* 1969; **27**: 323-30.
49. Panders AK, Hadders HN. Solitary keratocysts of the jaws. *J Oral Surg.* 1969; **27**:931-8.
50. Ebling H, Barbachan JJ, Quadros O, Figueiredo HS. [Keratinized cyst (report on 21 cases)] *Arq Cent Estud Fac Odontol UFMG (Belo Horiz).* 1971; **8**: 107-13. Citado por: Shear M, Speight P. *Cysts of the Oral and Maxillofacial Regions.* Fourth Edition. Oxford. Blackwell-Munksgaard. 2007.
51. Stoelinga PJW. Over kaak-kysten. MD Thesis. University of Nijmegen. Nijmegen, Centrale Drukkerij N.V. 1971. Citado por: Shear M, Speight P. *Cysts of the Oral and Maxillofacial Regions.* Fourth Edition. Oxford. Blackwell-Munksgaard. 2007.
52. Klammt J. Die Keratozysten der Kiefer. *Deuts Stomat.* 1972; **22**: 501-9.
53. Machtens E, Hjørting-Hansen E, Schmallenbach HJ, Werz L. (Keratozyste-Ameloblastom, ein klinisch diagnostisches Problem. *Dtsch Zahn Mund Kieferheilkd Zentralbl Gesamte.* 1972; **58**:157-65. Citado por: Shear M, Speight P. *Cysts of the Oral and Maxillofacial Regions.* Fourth Edition. Oxford. Blackwell-Munksgaard. 2007.
54. McIvor J. The radiological features of odontogenic keratocysts. *Br J Oral Surg.* 1972; **10**: 116-25.
55. Payne TF. An analysis of the clinical and histopathologic parameters of the odontogenic keratocyst. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1972; **33**: 538-46.
56. Borg G, Persson G, Thilander H. A study of odontogenic cysts with special reference to comparisons between keratinizing and nonkeratinizing cysts. *Swed Sven Tandlak Tidskr.* 1974; **67**: 311-25.
57. Eversole LR, Sabes WR, Rovin S. Aggressive growth and neoplastic potential of odontogenic cysts. *Cancer.* 1975; **35**: 270-82.

58. Brannon RB. The odontogenic keratocyst. A clinicopathologic study of 312 cases. Part I. Clinical features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1976; **42**:54-72.
59. Hodgkinson DJ, Woods JE, Dahlin DC, Tolman DE. Keratocysts of the jaw. Clinicopathologic study of 79 patients. *Cancer.* 1978; **41**: 803-13.
60. Vedtofte P, Praetorius F. The inflammatory paradental cyst. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1989; **68**: 182-8.
61. Forssell K. The primordial cyst. A clinical and radiographic study. *Proc Finn Dent Soc.* 1980; **76**: 129-74.
62. Voorsmit RACA, Stoelinga PJW, van Haelst UJGM. The management of keratocysts. *J Maxillofac Surg.* 1981; **9**: 228-36.
63. Anniko M, Anneroth G, Bergstedt H, Ramström G. Jaw cysts with special regard to keratocyst recurrence. A long-term follow-up. *Arch Otorhinolaryngol.* 1981; **233**:261-9.
64. Ahlfors E, Larsson A, Sjogren S. The odontogenic keratocyst: a benign cystic tumor? *J Oral Maxillofac Surg.* 1984; **42**:10-9.
65. Reff-Eberwein G, Donath K, Schmitz R. Die odontogene Keratozyste (OKC). *Dtsch Zahnarztl Z.* 1985; **40**: 514-20. Citado por: Shear M, Speight P. *Cysts of the Oral and Maxillofacial Regions.* Fourth Edition. Oxford. Blackwell-Munksgaard. 2007.
66. Niemeyer K, Schlien H-P, Habel G, Mentler C. Behandlungsergebnisse und Langzeitbeobachtungen bei 62 Patienten mit Keratozysten. *Dtsch Zahnarztl Z.* 1985; **40**: 637-40. Citado por: Shear M, Speight P. *Cysts of the Oral and Maxillofacial Regions.* Fourth Edition. Oxford. Blackwell-Munksgaard. 2007.
67. Zachariades N, Papanikolaou S, Triantafyllou D. Odontogenic keratocysts: review of the literature and report of 16 cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 1985 Mar; **43**: 177-82.
68. Partridge M, Towers JF. The primordial cyst (odontogenic keratocyst): its tumour-like characteristics and behavior. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1987; **25**: 271-9.
69. Forssell K, Forssell H, Kahnberg K.-E. Recurrence of keratocysts. A long-term follow-up study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1988; **17**: 25-8.
70. Köndell P-A, Wiberg J. Odontogenic keratocysts. A follow-up study of 29 cases. *Swed Dent J.* 1988; **12**: 57-62.

71. Stoeltinga PJW, Bronkhorst FB. The incidence, multiple presentation and recurrence of aggressive cysts of the jaws. *J Craniomaxillofac Surg.* 1988; **16**: 184-95.
72. Myoung H, Hong SP, Hong SD, Lee JI, Lim CY, Choung PH et al. Odontogenic keratocyst: review of 256 cases for recurrence and clinicopathologic parameters. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001; **91**: 328-33.
73. Stoeltinga PJW. Long term follow up on keratocysts treated according to a defined protocol. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2001; **30**:14-25.
74. Mendes AR, Carvalho JFC, 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**: 19-24.
75. Philipsen HP, Fejerskov O, Donatsky O, Hjørting-Hansen E. Ultrastructure of epithelial lining of keratocysts in nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Int J Oral Surg.* 1976; **5**: 71-81.
76. Donoff RB, Harper E, Guralnick WC. Collagenolytic activity in keratocysts. *J Oral Surg.* 1972; **30**: 879-84.
77. Soskolne WA, Shear M. Observations on the pathogenesis in primordial cysts. *Br Dent J.* 1967; **123**: 321-6.
78. Kimi K, Kumamoto H, Ooya K, Motegi K. Immunohistochemical analysis of cell-cycle- and apoptosis-related factors in lining epithelium of odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol Med.* 2001; **30**:434-42.
79. Shear M. The aggressive nature of the odontogenic keratocyst: is it a benign cystic neoplasm? Part 2. Proliferation and genetic studies. *Oral Oncol.* 2002; **38**: 323-31.
80. Meara JG, Shah S, Li KK, Cunningham MJ. The odontogenic keratocyst: a 20 year clinicopathologic review. *Laryngoscope.* 1998; **108**:280-3.
81. Woolgar JA, Rippin JW, Browne RM. A comparative study of the clinical and histological features of recurrent and non-recurrent odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol.* 1987; **16**: 124-8.
82. Lam KY, Chan ACL. Odontogenic keratocysts: a clinicopathological study in Hong Kong Chinese. *Laryngoscope.* 2000; **110**: 1328-32.

83. Pogrel MA, Jordan RC. Marsupialization as a definitive treatment for the odontogenic keratocyst. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004; **62**: 651-5.
84. Meghji S, Harvey W, Harris M. Interleukin 1-like activity in cystic lesions of the jaw. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1989; **27**: 1-11.
85. Günhan O, Yildiz E, Karşlıoğlu Y, Aydıntuğ Y, Doğan N, Celasun B. Nuclear morphometric features of epithelial cells lining keratocysts. *Anal Quant Cytol Histol.* 2003; **25**: 85-9.
86. Smith AJ, Matthews JB, Mason GI, Browne RM. Lactoferrin in aspirates of odontogenic cyst fluid. *J Clin Pathol.* 1988; **41**: 1117-9.
87. Smith G, Smith AJ, Browne RM. Glycosaminoglycans in fluid aspirates from odontogenic cysts. *J Oral Pathol.* 1984; **13**: 614-21.
88. 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**: 913-8.
89. 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**: 78-84.
90. Leonardi R, Matthews JB, Caltabiano R, Greco M, Lombardo C, Loreto C, et al. MMP-13 expression in keratocysts odontogenic tumor associated with NBCCS and sporadic keratocysts. *Oral Dis.* 2010; **16**: 795-800.
91. Cavalcante RB, Pereira KM, Nonaka CF, Nogueira RL, de Souza LB. Immunohistochemical expression of MMPs 1, 7 and 26 in syndrome and non-syndrome odontogenic keratocysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008; **106**: 923-9.
92. Li TJ, Browne RM, Matthews JB. Immunocytochemical expression of epidermal growth factor receptors by odontogenic jaw cysts. *Mol Pathol.* 1997; **50**: 21-7.
93. Kuroyanagi N, Sakuma H, Miyabe S, Machida J, Kaetsu A, Yokoi M, et al. Prognostic factors for keratocysts odontogenic tumor (odontogenic keratocysts): analysis of clinic-pathologic and immunohistochemical findings in cysts treated by enucleation. *J Oral Pathol Med.* 2009; **38**: 386-92.
94. González Moles MA, Mosqueda-Taylor A, Esteban F, Gil-Montoya JA, Díaz-Franco MA, Delgado M, Muñoz M. Cell proliferation associated with actions of the

- substance P/NK-1 receptor complex in keratocystic odontogenic Tumours. *Oral Oncol.* 2008; **44**: 1127-33.
95. Maltby S, Khazaie K, McNagny KM. Mast cells in tumor growth: angiogenesis, tissue remodelling and immune-modulation. *Biochim Biophys Acta.* 2009; **796**: 19-26.
 96. Nechushtan H. The complexity of the complicity of mast cells in cancer. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010; **42**: 551-4.
 97. de Noronha Santos Netto J, Pires FR, da Fonseca EC, Silva LE, de Queiroz Chaves Lourenço S. Evaluation of mast cells in periapical cysts, dentigerous cysts, and keratocystic odontogenic tumors. *J Oral Pathol Med.* 2012; **41**: 630-6.
 98. Ledesma-Montes C, Mosqueda-Taylor A, Carlos-Bregni R, de León ER, Palma-Guzmán JM, Páez-Valencia C et al. Ameloblastomas: a regional Latin - American multicentric study. *Oral Dis.* 2007; **13**: 303-7.
 99. Reichart PA, Philipsen HP, Sonner S. Ameloblastoma: Biological Profile of 3677 Cases. *Eur J Cancer B Oral Oncol.* 1995; **31**: 86-99.
 100. Philipsen HP, Reichart PA. Unicystic ameloblastoma. A review of 193 cases from the literature. *Oral Oncol.* 1998; **34**: 317-25.
 101. Gomes CC, Duarte AP, Diniz MG, Gomez RS. Review article: Current concepts of ameloblastoma pathogenesis. *J Oral Pathol Med.* 2010; **39**: 585-91
 102. Shear M, Singh S. Age-standardized incidence rates of ameloblastoma and dentigerous cyst on the Witwatersrand, South Africa. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1978; **6**: 195-9.
 103. Lucas RB. Neoplasia in odontogenic cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1954; **7**: 1227-35.
 104. Bologna-Molina R, Mosqueda-Taylor A, Lopez-Corella E, Almeida OP, Carrasco-Daza D, García-Vásquez F, et al. Syndecan-1 (CD138) and Ki-67 expression in different subtypes of ameloblastomas. *Oral Oncol.* 2008; **44**: 805-11.
 105. Sloomweg PJ. P53 protein and Ki-67 reactivity in epithelial odontogenic lesions. An immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med.* 1995; **24**: 393-7.

106. Jääskeläinen K, Jee KJ, Leivo I, Saloniemi I, Knuutila S, Heikinheimo K. Cell proliferation and chromosomal changes in human ameloblastoma. *Cancer Genet Cytogenet* 2002; **136**: 31-7.
107. Anttonen A, Heikkilä P, Kajanti M, Jalkanen M, Joensuu H. High Syndecan-1 expression is associated with favourable outcome in squamous cell lung carcinoma treated with radical surgery. *Lung Cancer*. 2001; **32**: 297-305.
108. Kumamoto H, Ohki K, Ooya K. Association between vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and tumor angiogenesis in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med*. 2002; **31**: 28-34.
109. Alaeddini M, Salah S, Dehghan Eshghyar N, Etemad-Moghadam S. Comparison of angiogenesis in keratocysts odontogenic tumours, dentigerous cysts and ameloblastomas. *Oral Dis*. 2009; **15**: 422-7.
110. Vered M, Shohat I, Buchner A, Dayan D. Myofibroblasts in stroma of odontogenic cysts and tumors can contribute to variations in the biological behavior of lesions. *Oral Oncol*. 2005; **41**:1028-33.
111. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other diseases. *Nat Med*. 1995; **1**:27-31.
112. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*. 1997; **18**: 4-25.
113. da Silva TA, Batista AC, Mendonça EF, Leles CR, Fukada S, Cunha FQ. Comparative expression of RANK, RANKL, and OPG in keratocystic odontogenic tumors, ameloblastomas, and dentigerous cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008; **105**: 333-41.
114. Bologna-Molina R, Matsumura PD, Molina-Frechero N. An easy cell counting method for immunohistochemistry that does not use an image analysis program. *Histopathology*. 2011; **59**: 786-803.
115. 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**: 613-9.

116. Nadalin MR, Fregnani ER, Silva Souza YTC, Perez DEC. Syndecan-1 (CD138) and Ki-67 Expression in Odontogenic Cystic Lesions. *Braz Dent J.* 2011; **22**: 223-29.
117. Soluk Tekke On M, Mutlu S, Olgaç V. Expressions of bax, bcl-2 and Ki67 in Odontogenic Keratocysts (Keratocystic Odontogenic Tumor) in Comparison with Ameloblastomas and Radicular Cysts. *Turk Patoloji Derg.* 2012; **28**: 49-55.
118. Al-Otaibi O, Khounganian R, Anil S, Rajendran R. Syndecan-1 (CD 138) surface expression marks cell type and differentiation in ameloblastoma, keratocystic odontogenic tumor, and dentigerous cyst. *J Oral Pathol Med.* 2013; **42**:186-93.
119. Brown JM, Wilson TM, Metcalfe DD. The mast cell and allergic diseases: role in pathogenesis and implications for therapy. *Clin Exp Allergy* 2008; **38**: 4-18.
120. Chatterjee S, Mahajan S, Boaz K, George T. Quantitative role of mast cells in odontogenic cystic enlargement. *Braz J Oral Sci.* 2008; **7**: 1662-7.
121. Caughey GH. Mast cell tryptases and chymases in inflammation and host defense. *Immunol Rev.* 2007; **217**:141-54.
122. Okayama Y, Ra C, Saito H. Role of mast cells in airway remodeling. *Curr Opin Immunol.* 2007; **19**:687-93.
123. Blair RJ, Meng H, Marchese MJ, Ren S, Schwartz LB, Tonnesen MG, et al. Human mast cells stimulate vascular tube formation. Tryptase is a novel, potent angiogenic factor. *J Clin Invest.* 1997; **99**:2691-700.
124. Fang KC, Raymond WW, Lazarus SC, Caughey GH. Dog mastocytoma cells secrete a 92-kD gelatinase activated extracellularly by mast cell chymase. *J Clin Invest.* 1996; **97**:1589-96.
125. Lohi J, Harvima I, Keski-Oja J. Pericellular substrates of human mast cell tryptase: 72,000 dalton gelatinase and fibronectin. *J Cell Biochem.* 1992; **50**:337-49.
126. DeClerck YA. Interactions between tumour cells and stromal cells and proteolytic modification of the extracellular matrix by metalloproteinases in cancer. *Eur J Cancer.* 2000; **36**:1258-68.



PDF Complete

Your complimentary use period has ended.
Thank you for using PDF Complete.

[Click Here to upgrade to Unlimited Pages and Expanded Features](#)

127. Mitrou GK, Tosios KI, Kyroudi A, Sklavounou A. Odontogenic keratocysts expresses vascular endothelial growth factor: an immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med.* 2009; **38**:470-5.
128. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Diseases. 7th ed. Philadelphia: Saunders; 2004. Pp 309-11.
129. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell.* 1998; **93**: 165-76.
130. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; **95**: 3597-602.
131. Horowitz M, Xi Y, Wilson K, Kacena M. Control of osteoclastogenesis and bone resorption by members of the TNF family of receptors and ligands. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2001; **12**: 9-18.