



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

**EXPRESIÓN POR INMUNOHISTOQUÍMICA DE RECEPTORES
DE CALCITONINA, GLUCOCORTICOIDES Y α -ACTINA
MÚSCULO LISO EN LESIONES CENTRALES DE CÉLULAS
GIGANTES.**

Que para obtener el grado de
Maestra en Patología y Medicina Bucal

Presenta

Nancy Noya Maíz

Comité Tutorial:

Co-directora: Mtra. De la Rosa García Estela

Co-directora: Dra. Irigoyen Camacho María Esther

Asesor externo: Dr. Carrasco Daza Daniel

Asesor externo: Mtro. en C. García Vázquez Francisco Javier

México, D. F.

Enero 2013

“La Especialización y Maestría en Patología y Medicina Bucal de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACyT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el convenio PFP-20-93”.

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

Nancy Noya Maiz

Comité tutorial:

Co-directora: Mtra. De la Rosa García Estela

Co-directora: Dra. Irigoyen Camacho María Esther Josefina

Asesor externo: Dr. Carrasco Daza Daniel †

Asesor externo: Mtro. en C. García Vázquez Francisco Javier

Jurado:

Sinodal:

Sinodal:

Sinodal:

A mis Padres, Esposo, Hijos y Hermanos.

Doy gracias a su apoyo incondicional
y desinteresado, por sus sacrificios y esfuerzos constantes,
Por compartir conmigo tristezas, alegrías,
éxitos y fracasos y por creer en mí.
Porque a través de sus consejos, logré forjar un camino
guiarme y alentarme ante los obstáculos
que se me presentaron para lograr el éxito
en mi superación como profesional.
Por ustedes lo obtuve, y a ustedes se los brindo.
Su forma de luchar fue mi ideal.
Su sacrificio mi aliento y su esfuerzo constante.
la fuerza de mi voluntad.
Con Amor, Admiración y Respeto.

GRACIAS

A la Dra. Esther Irigoyen Camacho, por su disposición permanente e incondicional
apoyo y dedicación.

Maestro Francisco García Vázquez y Dr. Daniel Carrasco Daza †
por su valiosa colaboración, consejos, enseñanzas y buena voluntad.

H.T. José Eduardo Farfán Morales y Mtra. Bertha Flores por
Compartir sus conocimientos y apoyo desinteresado.

y

*Un agradecimiento muy especial a mi estimada Maestra Estela de la Rosa García por su
orientación, dedicación, sus valiosas enseñanzas y principalmente por su apoyo
incondicional y gran amistad.*

INDICE

Resumen

1. Antecedentes

1.1 Definición de la lesión.....	13
1.2 Patogénesis.....	14
1.3 Características demográficas y clínicas.....	15
1.4 Características radiográficas.....	17
1.5 Diagnóstico diferencial clínico e histológico.....	19
1.6 Características histológicas.....	20
1.6.1 Extirpe o linaje celular.....	23
1.6.2 Estudios de inmunohistoquímica para receptores de calcitonina en células gigantes como alternativa terapéutica.....	24
1.6.3 Estudios de inmunohistoquímica para receptores de glucocorticoides.....	28
1.6.4 Estudios de inmunohistoquímica para miofibroblastos.....	30
1.7 Tratamiento de las lesiones centrales de células gigantes.....	32

2. Planteamiento del problema..... 34

3. Justificación..... 35

4. Pregunta de investigación..... 36

5. Objetivos

5.1 Objetivo general.....	36
5.2 Objetivos específicos.....	36

6. Material y Método

6.1	Diseño de estudio.....	37
6.2	Consideraciones éticas.....	37
6.3	Criterios de inclusión.....	38
6.4	Criterios de exclusión.....	38
6.5	Criterios de eliminación.....	38
6.6	Variables.....	39
6.7	Metodología de proyecto	
6.7.1	Selección de los casos.....	40
6.7.2	Procedimiento de laboratorio, descripción histológica.....	40
6.7.3	Selección de la muestra en el bloque de parafina para estudiar.....	42
6.7.4	Técnica de arreglo de tejidos (microarreglos) y de inmuno- histoquímica.....	42
6.7.5	Anticuerpos usados para inmunohistoquímica.....	46
6.7.6	Valoración y cuantificación de la intensidad del marcador.....	47
6.7.7	Cuantificación celular positiva al marcador.....	48
6.7.8	Análisis estadístico.....	50
7.	Resultados.....	51
8.1	Características demográficas, clínicas y radiográficas de los casos.....	51
8.2	Descripción histológica de los casos con H&E.....	52
8.3	Expresión de los marcadores de inmunohistoquímica.....	52
8.4	Intensidad de la expresión del marcador.....	54
9.	Discusión.....	56
	68

10. Referencias	69
13. Cuadros	70
14. Figuras	82
15. Anexos	92
Anexo 1. Hoja de recolección de datos.....	
Anexo 2. Hoja de recolección características histomorfológicas.....	107
Anexo 3. Definiciones	108
.....	109

Índice de cuadros

Cuadro 1. Características radiológicas de 80 casos de LCCG.....	18
Cuadro 2. Protocolo de hidratación de muestras histológicas.....	45
Cuadro 3. Anticuerpos primarios, diluciones y controles de inmunohistoquímica.....	47
Cuadro 4. Comparación entre el sexo, edad y frecuencia de (%) de inmunoexpresión α - AML, calcitonina y glucocorticoides en células del estroma y células gigantes en LCCG.....	83
Cuadro 5. Localización de lesión central de células gigantes.....	84
Cuadro 6. Características radiográficas de 35 casos de lesión central de células gigan- tes.....	85
Cuadro 7. Características histológicas en H&E de lesión central de células gigantes.....	86
Cuadro 8. Expresión de receptores de calcitonina en CGM con edad en LCCG.....	87
Cuadro 9. Expresión de receptores de calcitonina en PCE con edad en LCCG.....	88
Cuadro 10. Intensidad de expresión de receptores de calcitonina y glucocorticoides en las células gigantes multinucleadas en LCCG.....	89
Cuadro 11. Intensidad de expresión en receptores de calcitonina y glucocorticoides en PCE en LCCG.....	90
Cuadro 12. Diferencias entre la expresión de α -AML, RCT y RGC en lesiones con – características clínicas entre no agresivas y agresivas.....	91

Índice de Figuras

Figura 1. Asimetría facial producido por lesión central de células gigantes.....	16
Figura 2. Aumento de volumen, de forma ovoide, con mucosa bucal ulcerada.....	16
Figura 3. Radiografía panorámica que muestra lesión multilocular, con adelgazamiento de corticales, giroversión, risoclasia, expansión de corticales. Lesión de comportamiento agresivo.....	19
Figura 4. Población fusocelular de lesión central de células gigantes.....	21
Figura 5. Células gigantes multinucleadas en disposición perivascular y áreas de hemorragia en lesión central de células gigantes.....	22
Figura 6. Receptores en célula gigante tipo osteoclasto.....	25
Figura 7. Expresión de receptores de calcitonina en el citoplasma de las células gigantes..	26
Figura 8. Inhibición rápida de la motilidad de osteoclastos después del tratamiento con calcitonina (sCT) in vitro.....	27
Figura 9. Expresión de receptores de glucocorticoides en el citoplasma de las células gigantes, con expresión en las células mononucleares.....	28
Figura 10. Unión de receptores de glucocorticoides en el citoplasma e inicio de transcripción celular.....	29
Figura 11. Expresión de α -actina musculo liso en las membranas de las células fusocelulares, en un caso de lesión central de células gigantes.....	31
Figura 12. A. Selección de zona representativa de la lesión, el área seleccionada se encuentra demarcada por un círculo. B. Plano para identificar la localización de las muestras en el bloque final de parafina.....	43

Figura 13. Bloques de parafina con microarreglo de tejidos.....	44
Figura 14. Conteo de células gigantes multinucleadas y población de células mononucleares del estroma.....	49
Figura 15. Células gigantes multinucleadas con distribución perivascular, población de células mononucleares estromales y áreas de hemorragia extravasada en LCCG.....	93
Figura 16. Población de células mononucleares estromales y áreas de hueso reactivo en un caso de LCCG.....	94
Figura 17. Depósitos de hemosiderina en el estroma de un caso de lesión central de células gigantes.....	95
Figura 18. Expresión de α -AML en las células fusiformes del estroma, en lesión central de células gigantes.....	96
Figura 19. Expresión de α -AML en células mononucleares de aspecto fusiforme, en algunas se observa un microtendon en lesión central de células gigantes.....	97
Figura 20. Expresión de receptores de calcitonina en células gigantes multinucleares con tinción moderada en lesión central de células gigantes.....	98
Figura 21. Expresión de receptores de calcitonina en población de células mononucleares del estroma con tinción leve en un caso de lesión central de células gigantes...	99
Figura 22. Expresión negativa de receptores de calcitonina en población de células mononucleares del estroma en lesión central de células gigantes.....	100
Figura 23. Expresión de receptores de glucocorticoides en células gigantes multinucleadas con tinción intensa, en población de células mononucleares del estroma	

la intensidad es moderada.....	101
Figura 24. Expresión de receptores de glucocorticoides con tinción leve en población de células mononucleares del estroma y tinción intensa en células gigantes multinucleadas.....	102
Figura 25. Respuesta de expresión de glucocorticoides en células gigante multinucleadas	103
Figura 26. Expresión de glucocorticoides en células gigantes multinucleadas y tiempo de evolución (meses).....	104
Figura 27. Expresión de glucocorticoides en células del estroma y meses de evolución....	105

Resumen

La lesión central de células gigantes (LCCG), es una lesión intraósea de los maxilares, con comportamiento variable por lo que ha sido objeto de numerosas investigaciones. Los estudios de inmunohistoquímica han permitido determinar el linaje de las células que constituyen estas patologías, y a través de estas investigaciones se ha identificado que la expresión positiva para calcitonina y glucocorticoides en las células de la LCCG, podrían usarse como una alternativa de tratamiento.

Se realizó un estudio transversal, retrolectivo en el que se estudiaron casos de LCCG de dos Instituciones, del laboratorio de patología de la UAM-Xochimilco y el laboratorio de biología molecular, departamento de Anatomía Patológica del Instituto Nacional de Pediatría. Se realizaron estudios de inmunohistoquímica para calcitonina, glucocorticoides y α -actina musculo liso en 35 casos, para determinar la expresión y frecuencia del marcador y la posible asociación de los porcentajes positivos del marcador, y algunas variables clínicas.

Resultados. La frecuencia de inmunoexpresión para glucocorticoides, calcitonina y de α -actina musculo liso, fue consistente con otros estudios. La expresión de receptores de glucocorticoides en las células gigantes multinucleadas (CGM) fue 99% vs 86.6% en la población de células mononucleares estromales (PCME), y la expresión de receptores de calcitonina en CGM se observó en el 86% vs 11.6% de PCME. En promedio la expresión de α -actina musculo liso fue 54% en la PCME. La frecuencia de expresión de los receptores para glucocorticoides en las CGM y de PCME, disminuyó a mayor tiempo de evolución de la lesión. Se identificó mayor expresión de calcitonina en las CGM en pacientes mayores de 20 años, ($p = 0.03$).

1. ANTECEDENTES

1.1 Definición de la lesión

Las lesiones centrales de células gigantes (LCCG) son lesiones benignas no neoplásicas, osteolíticas de los huesos maxilares que representan aproximadamente el 7% de todos los tumores benignos de los maxilares.^{2,18,40,71} Sin embargo su etiología, patogénesis y comportamiento clínico no han sido claramente definidas.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) la define como una lesión intraósea no neoplásica de comportamiento variable, ocasionalmente agresivo, histológicamente constituida por tejido fibroso celular, con múltiples agrupaciones de células gigantes multinucleadas, focos de hemorragia y ocasionalmente trabéculas de hueso.^{4,40} Se encuentra dentro del grupo de lesiones relacionadas a hueso en la categoría de tumores benignos de la clasificación histológica de tumores odontogénicos de la OMS.⁴

Jaffe en 1953³³ la describe por primera vez, como un granuloma reparativo de células gigantes de los maxilares por el hecho de desarrollar trabéculas de hueso reactivo como respuesta a un proceso traumático y distinguirlo del tumor de células gigantes de los huesos largos. Debido a la falta de evidencia de ser un proceso reparativo y puesto que no cumple con los criterios histológicos para un proceso granulomatoso; sino, más bien destructor de hueso,³⁹ de etiología desconocida y en algunos casos con un comportamiento agresivo similar a una neoplasia, actualmente se evita el término de granuloma y se prefiere el de *Lesión Central de Células Gigantes*.^{4,18,49,44} También ha sido descrita como un tumor, porque histológicamente la lesión es similar al tumor de células gigantes que ocurre en huesos largos.³⁴ Sin embargo numerosos trabajos han demostrado que se trata de una lesión no neoplásica.^{3,4,44,64}

1.2 Patogénesis

La patogénesis de la lesión central de células gigantes no está completamente establecida. La causa de su desarrollo es desconocida aunque ha sido asociada a trauma local, procesos reparativos, o desordenes del desarrollo.⁷

En 1991 Miles y cols. sugirieron la hipótesis de que la lesión, es el resultado de trauma o de una lesión vascular que produce hemorragia intramedular. Sin embargo, estos trastornos vasculares pueden dar origen a otras lesiones como el quiste óseo traumático cuando el aporte vascular es interrumpido casi totalmente, pero cuando el aporte vascular se mantiene parcialmente podría formarse un quiste óseo aneurismático o una LCCG.⁴³

Se ha demostrado que existe actividad en la expresión de las proteínas del ciclo celular en las células mononucleares de la LCCG especialmente de la proteína Ki67.^{54,63} Estos hallazgos muestran la posibilidad de que la des-regularización del ciclo celular pudiera contribuir a la patogénesis de las LCCG.³⁷

En ocasiones se presenta en pacientes con anomalías de origen genético como Neurofibromatosis tipo 1, Querubismo y Síndrome de Noonan, lo que indica una posible etiología de relación genética.¹³ Por otro lado, se ha planteado la hipótesis de que las anomalías del querubismo, de LCCG y su presentación en localización restringida, pueden estar relacionadas con procesos de desarrollo dental en niños.⁴ Hay indicios de que el gen SH3BP2 juega un rol en la regulación en el incremento de osteoblastos y actividad osteoclastica, se sugiere que la mutación en este gen podría causar activación patológica de osteoclastos, posiblemente por disfunción del gen en la vía de regulación de osteoclasto-

génesis. El gen SH3BP2 tiene una influencia en la regulación de los receptores de la hormona paratiroides (PTH) y proteína relacionada a PTH (PTHrP). La PTHrP media la reducción de la expresión de osteoprotegerin (OPT) que puede causar osteoclastogénesis.¹³

1.3 Características demográficas y clínicas

La lesión es más frecuente en mujeres, con una relación de 2:1 con respecto a los hombres, en 60% se desarrolla antes de los 30 años, con una incidencia de 1.1 millón en la población por año,⁴ y un rango de recurrencia del 11 al 49%.^{13,15} Algunos autores reportan mayor frecuencia en niños y adultos jóvenes.^{2,13,49, 64}

Con respecto a las características clínicas, las LCCG se presentan como un aumento de volumen de los procesos mandibular y maxilar, de crecimiento lento que puede producir asimetría facial,² localizada con mayor frecuencia en mandíbula con 70% de los casos, principalmente en porción anterior, que en maxilar.^{64,80} Intrabucalmente se ha observado aumento de volumen, ocasionalmente de color más rojo que la mucosa adyacente y áreas ulceradas,⁷ son de consistencia firme, en ocasiones dolorosa.

Los procesos maxilares adquieren forma ovoide o redonda con coloración similar a la mucosa o grisácea amarillenta cuando se encuentra ulcerada, se aprecia también desplazamiento dental que puede ocasionar mal oclusión (Figura 1).¹³ **Puede producir asimetría facial, que puede ser interpretada como una lesión tumoral. (Figura 2.)**



Figura 1 Aumento de volumen, de forma ovoide, con mucosa bucal ulcerada.



Figura 2. Asimetría facial producida por lesión central de células gigantes

De acuerdo al comportamiento clínico, las LCCG se han clasificado como lesiones no agresivas y agresivas. Las no agresivas son asintomáticas, de crecimiento lento, sin perforación de corticales y no hay reportes de recurrencia, en contraste las lesiones agresivas se asocian a la presencia de dolor, tiene crecimiento rápido, expansión del hueso cortical y/o perforación de corticales con desplazamiento dental, parestesia y alto grado de recurrencia.⁸

1.4 Características Radiográficas

Los hallazgos radiográficos consistentes son: áreas radiolúcidas uniloculares o multiloculares, con bordes bien definidos, o en forma de festón, se puede observar desplazamiento radicular. El Cuadro 1 muestra los hallazgos radiográficos descritos por diversos autores. (Cuadro 1).

Chuong y Kaban en 1986, en un estudio radiológico con un grupo de 17 pacientes clasificó y estableció los criterios para diferenciar a las lesiones de células gigantes de tipo central desde el punto de vista radiológico, clínico e histológico como agresiva y no agresiva.

Las lesiones agresivas se caracterizaron por presencia de dolor, tener crecimiento rápido y mostrar un tamaño mayor a 5 cm. Radiográficamente se observa desplazamiento dental, resorción radicular, adelgazamiento de cortical, perforación (Figura 3) y alto grado de recurrencia que varía entre el 13% a 49%.^{7,9,81,8}

Cuadro 1. Características radiológicas de 80 casos de LCCG

Características	Mandíbula	Maxilar	Total
	n (%)	n (%)	n (%)
Bordes			
Bien definidos	34 (75.5)	11 (24.5)	45 (56.2)
Mod. Definidos	15 (62.5)	9 (37.5)	24 (30.0)
Difuso	4 (36.3)	7 (63.6)	11 (13.8)
Locularidad			
Unilocular	25 (71.5)	10 (28.5)	35 (43.8)
Multilocular	28 (68.2)	3 (31.7)	41 (51.3)
No loculados	1 (25.0)	3 (75.0)	4 (5.0)
Radiopacidad			
Radiolucido	51 (72.8)	19 (27.1)	70 (87.5)
Radiopaco	0 (0)	2 (100)	2 (2.5)
Mixta	2 (25.0)	6 (75.0)	8 (10.0)

Kaffe I y cols. 1996, Whitaker y cols. 1993, Chuong R y cols. Ficara y cols. 1987.

Por otro lado, la lesión no agresiva es asintomática, de crecimiento lento y no presentan reportes de recurrencia. Radiográficamente se aprecia una lesión radiolúcida bien delimitada que no muestra perforación de corticales y resorción ósea de los dientes afectados.^{8,9}

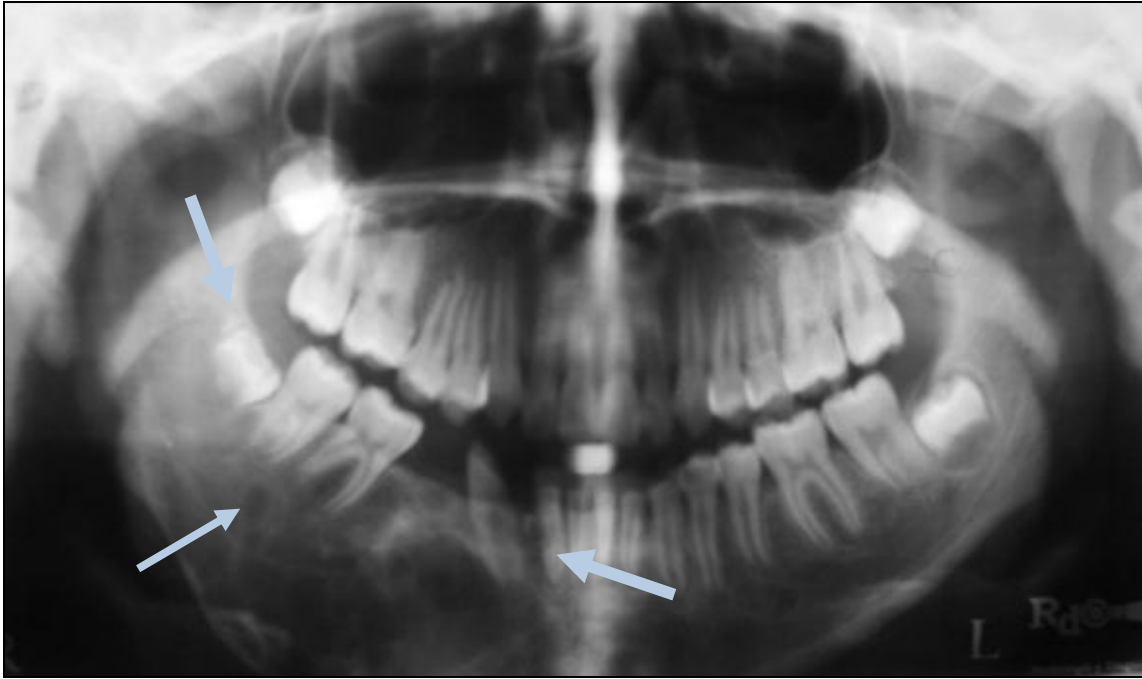


Figura 3. Radiografía panorámica que muestra lesión multilocular, con adelgazamiento de corticales, giroversión, risoclasia, expansión de corticales. Lesión de comportamiento agresivo.

1.5 Diagnóstico diferencial clínico e histológico

Entre los diagnósticos diferenciales clínicos y radiográficos se encuentran lesiones tumorales de los huesos maxilares que causan asimetría facial, lesiones osteolíticas con predominio en personas jóvenes como son; queratoquiste, ameloblastoma, mixoma, u otras lesiones multiloculares.⁵¹

Histológicamente las LCCG son similares a otras lesiones reconocidas como lesiones gigantocelulares como: lesión periférica de células gigantes, el hiperparatiroidismo, querubismo, quiste óseo aneurismático.^{43,55,81} Cada una de ellas tiene componentes de células fusocelulares, son muy vascularizadas, células gigantes multinucleadas en

cantidades diferentes y otras características especialmente clínicas, que las diferencian de las LCCG, ya que, el diagnóstico definitivo es clínico-radiológico e histológico, sin otras alteraciones sistémicas.^{43,55.81,25}

1.6 Características histológicas

La lesión se encuentra constituida por una población de células mononucleares fusiformes u ovoides de estirpe mesenquimatoso (PCME) entre las que se encuentran gran cantidad de células gigantes multinucleadas con distribución perivascular o difuso sobre un estroma fibroso, tejido vascularizado con áreas de hemorragia extravasado, depósitos de hemosiderina,^{75-77,4,80,39} macrófagos, linfocitos, granulocitos y raramente células plasmáticas, con formación de hueso metaplásico, con disposición en la periferia de la lesión, así como pequeñas islas distribuidas en el centro de la lesión (Figura 4 y 5).^{4,39}

Son lesiones no encapsuladas, aquellas con mucho tiempo de evolución pueden mostrar considerable fibrosis del estroma.^{13,39} Los bordes de lesión hacia el hueso adyacente suelen ser muy irregulares.³⁹

Estas dos fotografías pueden in en una sola página Figura 4 y Figura 5

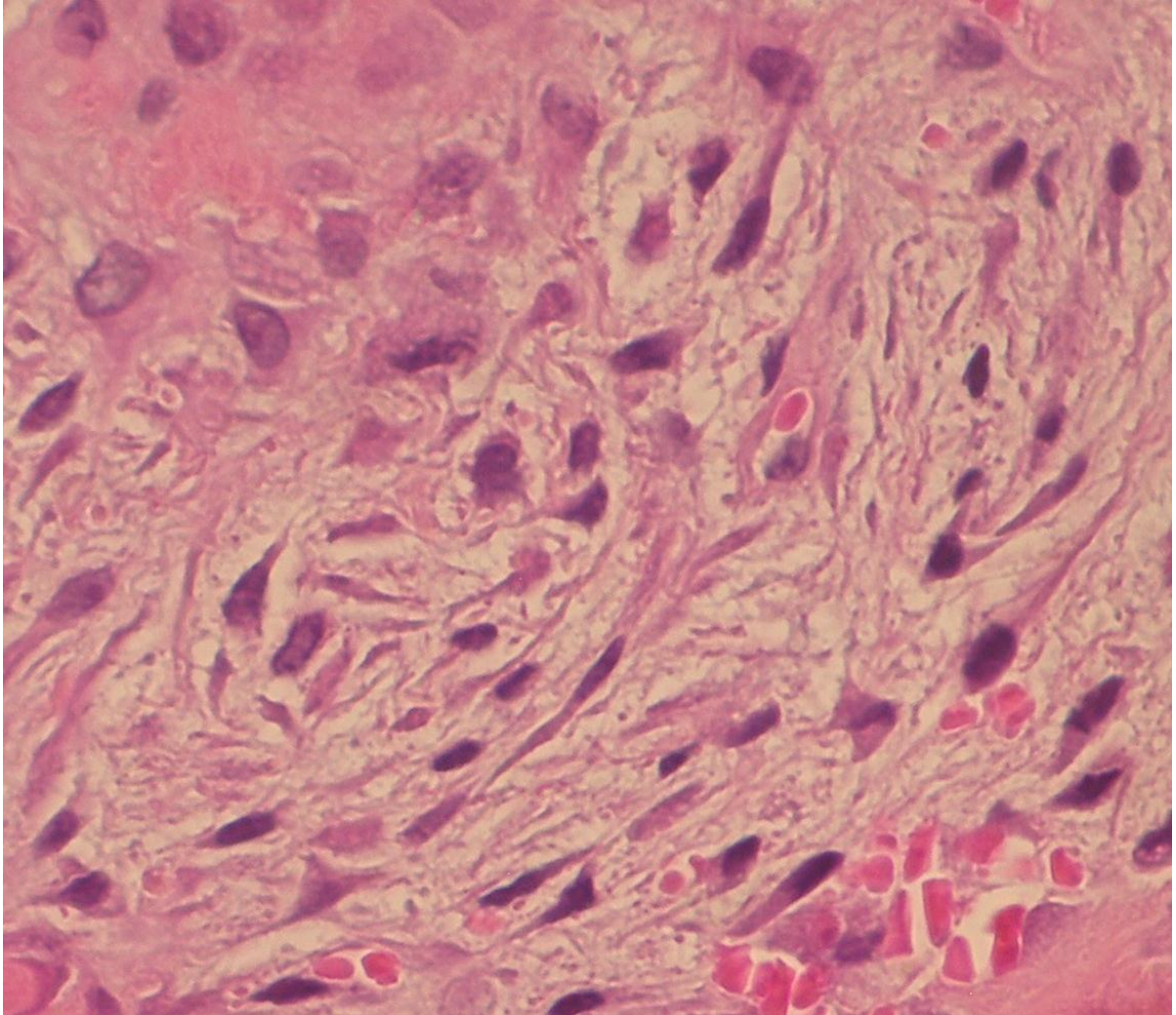


Figura 4. Población de células mononucleares del estroma de aspecto fusocelular de lesión central de células gigantes.

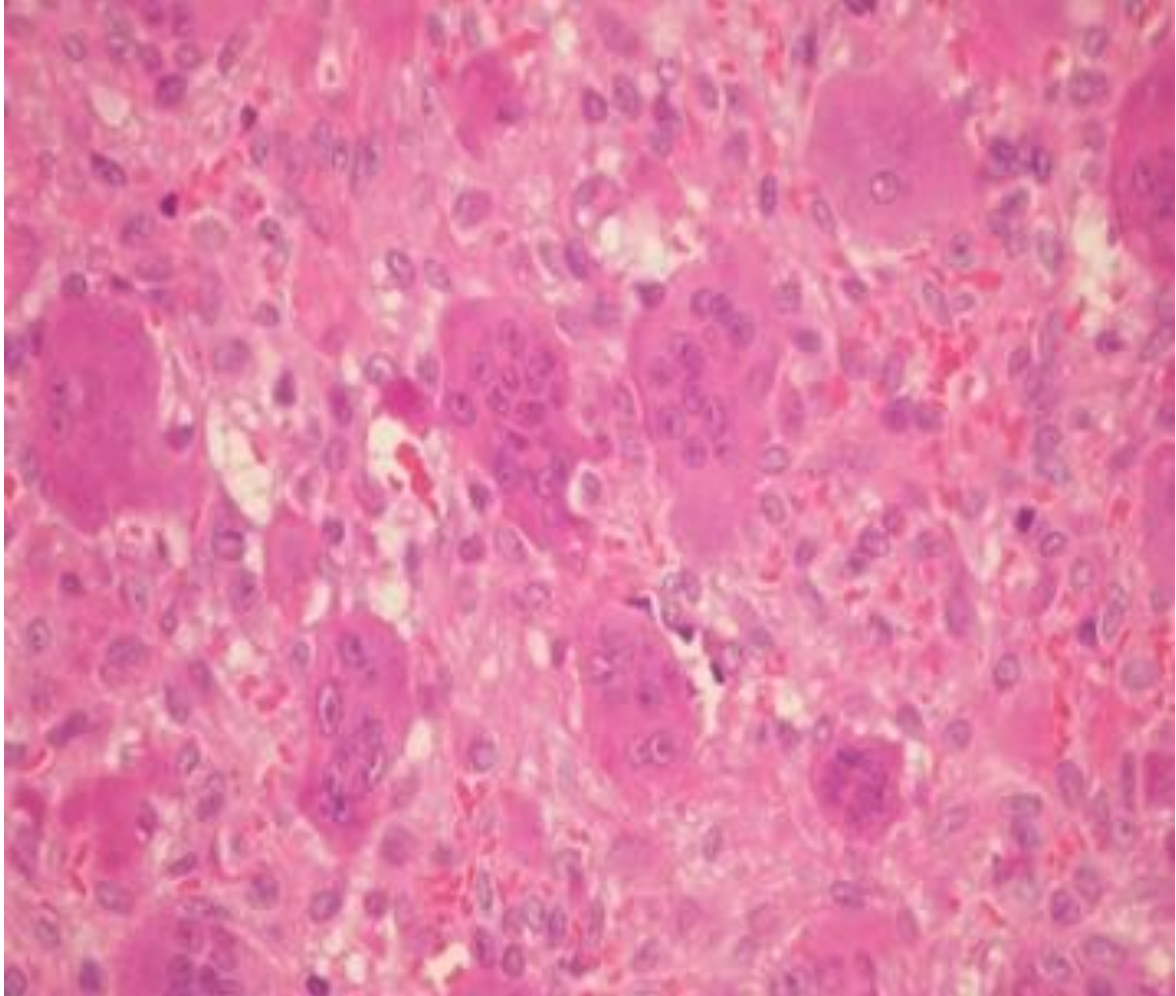


Figura 5. Células gigantes multinucleadas en disposición perivascular y áreas de hemorragia en lesión central de células gigantes.

1.6.1 Extirpe o linaje celular

A través de estudios de inmunohistoquímica se ha intentado identificar el linaje celular de estas lesiones⁵ con el fin de establecer el origen de las CGM y de la población fusocelular, y comprender si la lesión es reactiva, inflamatoria o neoplásica,^{54,70} sin embargo estas investigaciones no han permitido definir con exactitud la naturaleza de esta entidad, por lo que, se ha aceptado que las LCCG representan un grupo de lesiones heterogéneas con comportamiento variables.⁷⁶

En 1988 Flanagan y cols. en un estudio de inmunohistoquímica utilizando anticuerpos monoclonales específicos para osteoclastos (anticuerpo monoclonal de ratón 13C2, 23C6 y un panel de 10 anticuerpos monoclonales de ratón para antígenos de superficie en células humanas) demostró que las células gigantes tiene un linaje de tipo osteoclastos. También se ha reportado que las CGM son positivas a fosfatasa ácido trartato resistente (TRAP), y a fosfatasa alcalina, por lo que se les considera osteoclastos.²⁵

Tiffée y col.⁷⁰ en un estudio de inmunohistoquímica, en LCCG reportaron que el componente celular de CGM es predominantemente de células precursoras mononucleares de línea granulocítico/macrófago y son positivas a CD68.^{9,61} Por otro lado O`Malley y cols en 1997, propusieron que las CGM se originan de las células fusiformes mono-nucleares y que pueden ser también de origen miofibroblástico, lo que se ha confirmado por medio de la reacción positiva para α -músculo liso (α -AML).⁵⁴

Si bien, se ha observado que estas lesiones no son una recolección de macrófagos y no reúnen las características de un verdadero granuloma y que se trata de un proceso

proliferativo Tiffée y Aufdemorte en 1997, propusieron denominarlas como *Lesiones Centrales de Células Gigantes*, en lugar de Granuloma Central de Células Gigantes (Tiffée y Aufdemorte, 1997).⁷⁰ Esta denominación fue aceptada por la OMS en 2005.⁴

Así mismo existe evidencia de que el componente celular de la población mononuclear es de predominio células fusiformes mesenquimatosas de origen de la médula ósea,⁶² y estas células tienen la habilidad de diferenciarse en osteoblastos, fibroblastos e histiocitos^{19,21}, entre un gran componente vascular.^{45,54} Otros estudios han demostrado que las células gigantes tienen expresión positiva para marcadores osteoclasticos como fosfatasa ácido tartrate resistente (TRAP) y receptores para calcitonina y vitronectin.^{76,71,31,25}

Por lo que, algunos autores sugieren que las lesiones son parcialmente reactivas y parcialmente neoplásicas.^{76,25}

1.6.2 Estudios de inmunohistoquímica para receptores de calcitonina en las células gigantes como alternativa terapéutica.

Los receptores celulares son proteínas que permiten la interacción de sustancias (hormonas o neurotransmisores) con los mecanismos del metabolismo celular presentes en la membrana plasmática, organelos intracelulares, núcleo celular o citoplasma de las células (Figura 6).^{11,6}

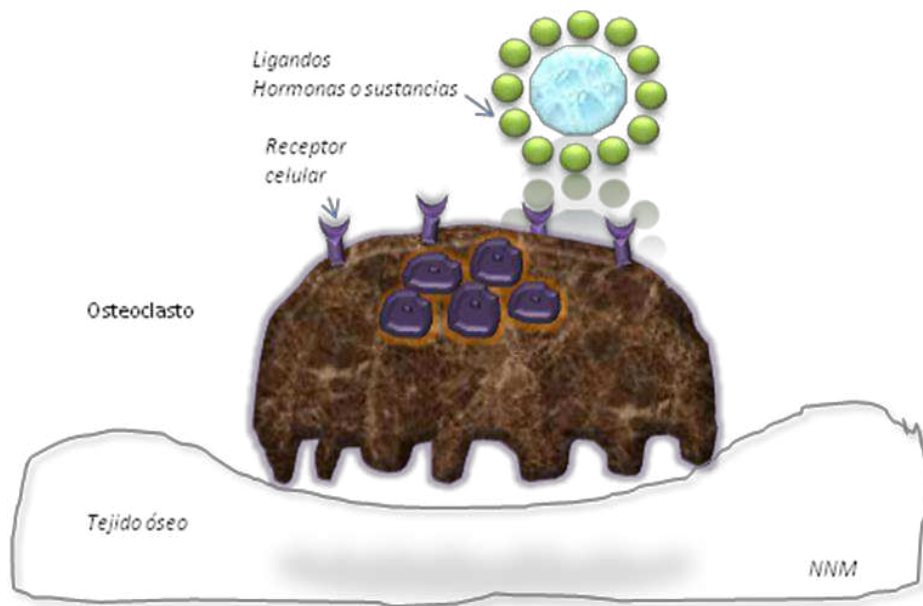


Figura 6. Receptores en célula gigante tipo osteoclasto.

Diversos autores han explorado la expresión de receptores de calcitonina en las células gigantes por inmunohistoquímica para usarla como medida terapéutica.^{52,71,76,78} Estos receptores se han expresado tanto en población mononuclear y células gigantes multinucleares (Figura 7). La calcitonina es una hormona que regula las concentraciones de calcio y fósforo, con acción en la homeostasis del metabolismo de calcio y modulador en la resorción ósea.

La terapia con calcitonina está basada en el concepto de que las células de la LCCG son osteoclastos y por lo tanto expresan receptores para calcitonina, de esta manera esta sustancia inhibiría las funciones de las células gigantes.²⁵

La Figura 8 muestra la actividad de osteoclastos 15 min. y 5 min. antes del tratamiento con calcitonina, así como 5 min y 15 min. después del tratamiento con calcitonina salmón in vitro.²⁷

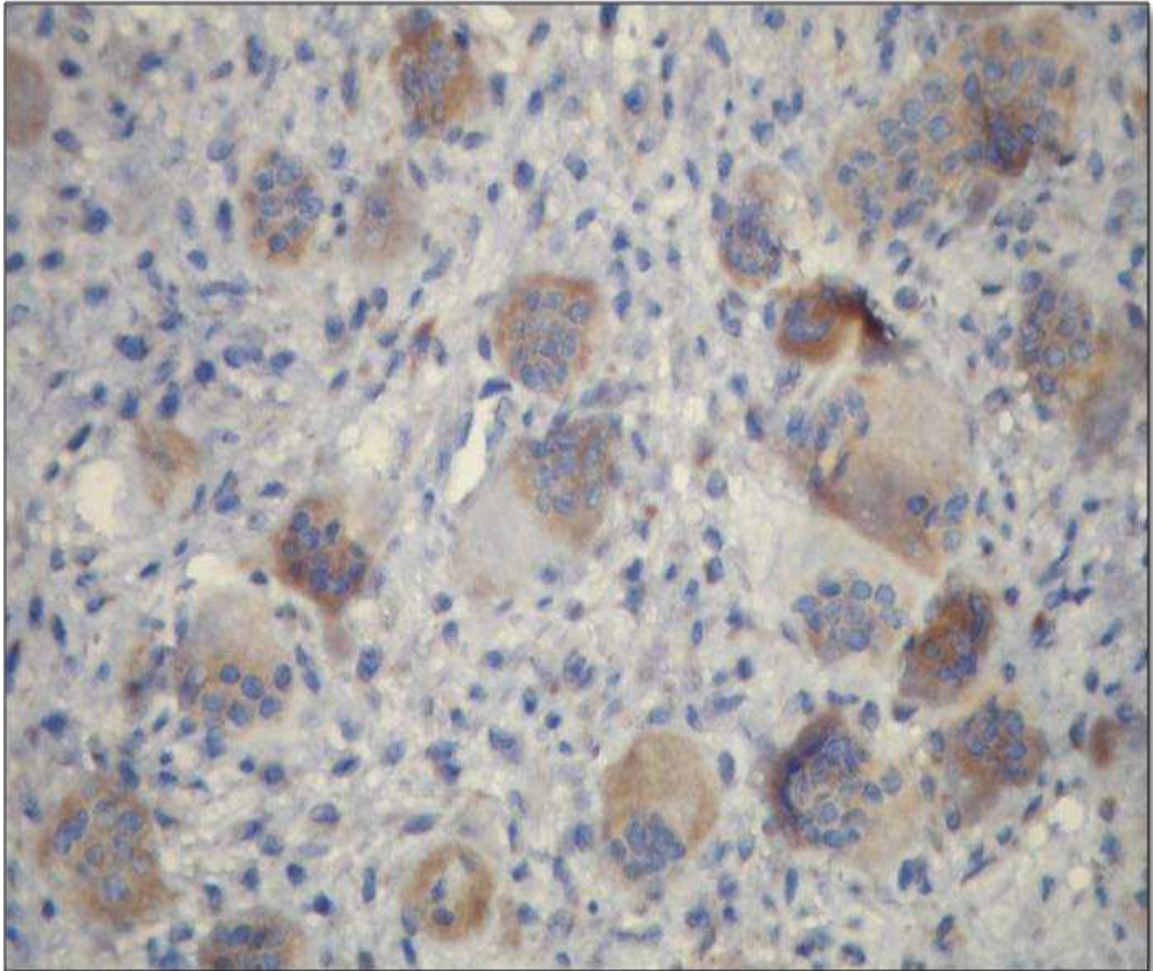


Figura 7. Expresión de receptores de calcitonina en el citoplasma de las células gigantes.

Harris en 1993 fue el primero en utilizar calcitonina humana subcutánea para el tratamiento del LCCG de manera que otros autores también la han usado con resultados variables.^{18,28,47}

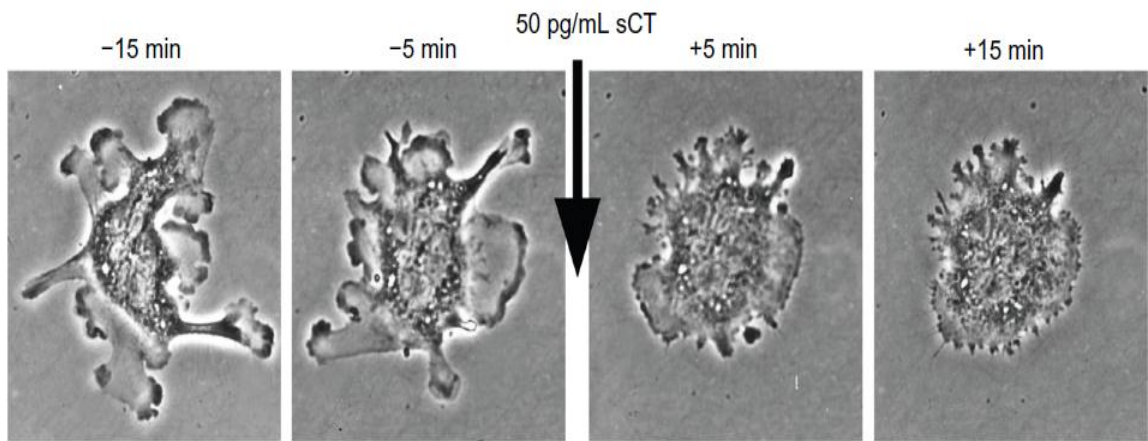


Figura 8. Inhibición rápida de la motilidad de osteoclastos después del tratamiento con calcitonina (sCT) in vitro.

*Time Arnett (University College London) and David Dempster (Columbia University)

Son escasos los estudios realizados sobre la expresión de receptores de calcitonina y glucocorticoides en LCCG. Vered y cols en 2007 realizó un estudio en 5 pacientes para valorar el tratamiento de calcitonina nasal en spray por 13 a 64 meses y observo la expresión de receptores de calcitonina y glucocorticoides en diferentes tiempos de tratamiento. Sus conclusiones fueron que el tratamiento de calcitonina nasal en spray es inefectivo comparada con la inyección de calcitonina subcutánea, lo que sugiere que debería ser evaluado la expresión de RCT y RGC en diferentes tiempos de tratamiento.⁷⁸

1.6.3 Estudios de inmunohistoquímica para receptores de glucocorticoides

Los receptores de Glucocorticoides son receptores nucleares que une el cortisol y otros glucocorticoides, codificado en humanos por el gen *NR3C1*, situado en el locus cromosómico 5q31.3. Se expresa en la mayoría de las células del cuerpo humano, regula genes implicados en desarrollo, metabolismo y respuesta inmune.

El gen del receptor se expresa en diversas isoformas, por ende tiene diferentes efectos (pleiotrópicos) en diferentes partes del cuerpo.

Estos receptores se expresan en núcleo y citoplasma de células gigantes multinucleares, células endoteliales, células mononucleares del estroma y células fusiformes del estroma (Figura 9).⁷¹

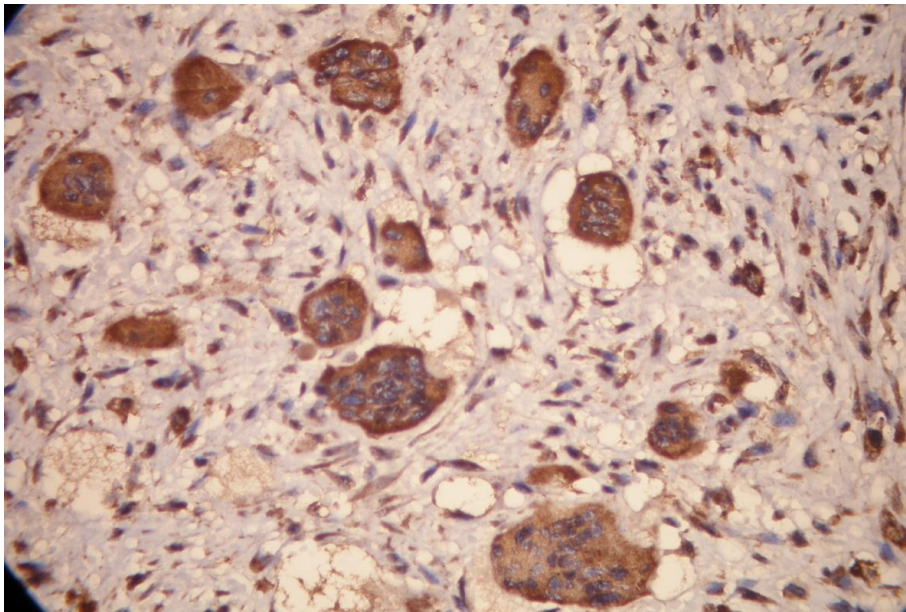


Figura 9. Expresión de receptores de glucocorticoides en el citoplasma de células gigantes, y expresión en células mononucleares

Al unirse un receptor con algún glucocorticoide, el primer mecanismo de acción que se dispara es la regulación de la transcripción. Un receptor libre (no unido a ligando) está localizado en el citoplasma de la célula, cuando se une al ligando el complejo receptor/glucocorticoide puede seguir dos rutas diferentes, si se transloca al núcleo, se activará la expresión de proteínas antiinflamatorias, si se mantiene en el citoplasma, reprimirá la expresión de proteínas proinflamatorias (impidiendo la translocación de otros factores de transcripción del citosol al núcleo). La acción de los corticoides esta mediado por los receptores de glucocorticoides (Figura. 10).^{52,71}

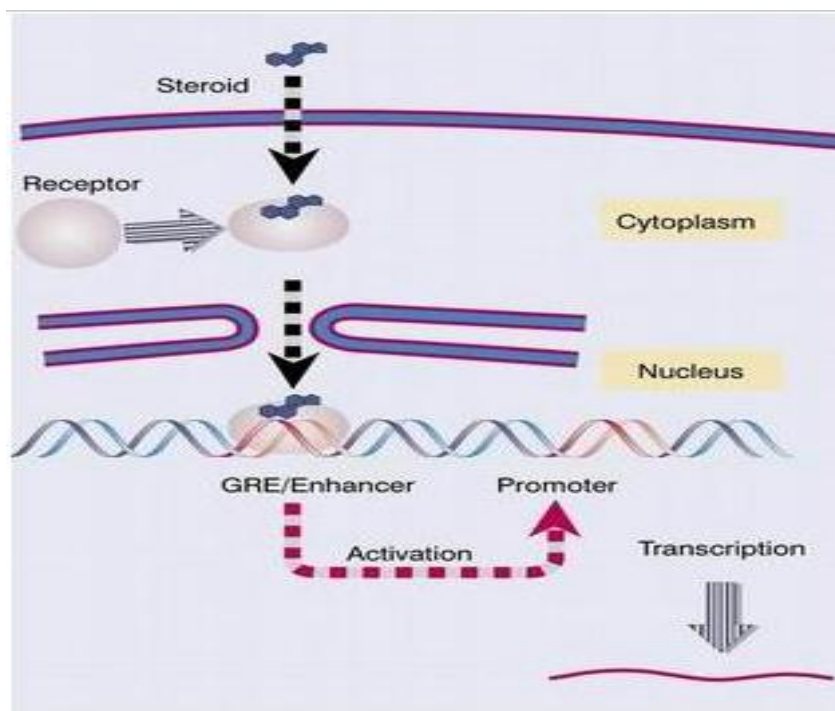


Figura 10. Unión de receptores de glucocorticoides en el citoplasma e inicio de transcripción celular.

1.6.4 Estudios de inmunohistoquímica para miofibroblastos (α -actina musculo liso)

Los miofibroblastos representan una subpoblación de fibroblastos en las LCCG.⁵⁹ Karrer en 1960³⁶ demostró que estas células son intermedias, entre fibro-blastos y células del músculo liso. Debido a que expresan *α -actina músculo liso* (α -AML) en su citoesqueleto,^{24,48,77,79} se les denominó como miofibroblastos, y se han vinculado con el comportamiento biológico agresivo de algunos tumores benigno y malignos de los huesos maxilares.^{54,77,79} Sin embargo, Vered y cols en 2007 en un estudio para tratar de explicar el comportamiento agresivo de algunas LCCG a través de inmunohistoquímica, se observó que la densidad de los miofibroblastos no es diferente, por lo que no se puede diferenciar con esta población celular entre una lesión agresiva y no agresiva.^{54,77}

Características morfológicas. Los miofibroblastos se caracterizan por su forma fusocelular, bipolar, alargadas, núcleo ovoide alargado con puntas romas, abundante matriz, procesos largos y pequeñas prolongaciones rígidas en forma de microtendones. Ultraestructuralmente se ha identificado la presencia de retículo endoplasmico rugoso, miofilamentos de tipo musculo liso, aparato de golgi con gránulos de secreción de colágeno.^{22,48} La actina es la proteína más abundante en el citoesqueleto de los miofibroblastos,²⁴ la cual se expresa en membrana celular (Figura 11).

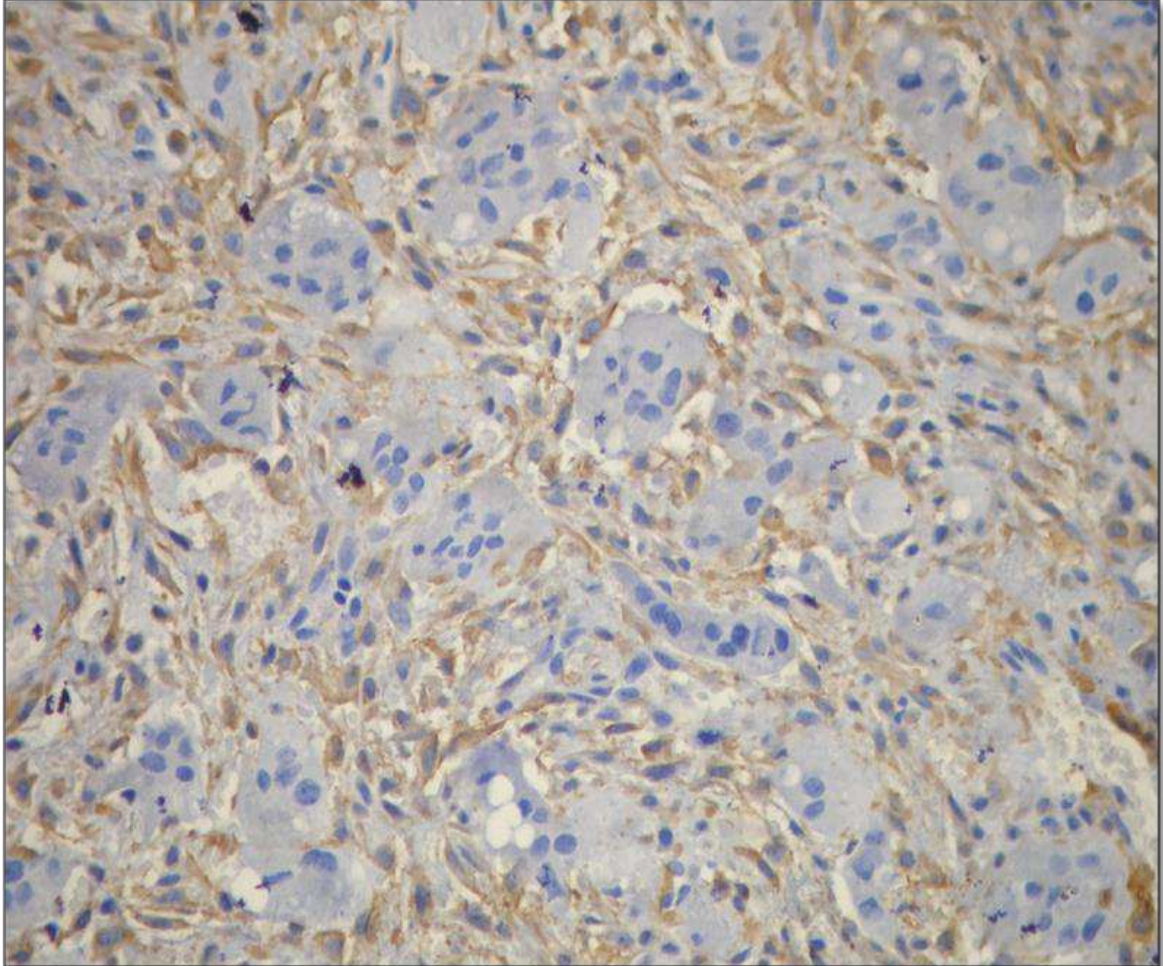


Figura 11. Expresión de α -actina musculo liso en las membranas de las células fusocelulares, en un caso de lesión central de células gigantes.

1. 7 Tratamiento de las lesiones central de células gigantes

Tradicionalmente el tratamiento recomendado en las LCCG es la intervención quirúrgica, curetaje completo de la lesión⁵⁵ y en casos más agresivos resección en bloque dejando al paciente con grandes secuelas funcionales y estéticas, con mutilación facial afectando su calidad de vida.¹⁸

Actualmente los estudios de inmunohistoquímica para glucocorticoides, calcitonina y su expresión en las células gigantes, han permitido tener diversas estrategias y opciones para su tratamiento no invasivo, especialmente el tratamiento farmacológico.

Las alternativas terapéuticas son el uso de corticosteroides intralesionales, calcitonina inyectada subcutáneamente o aspirada, y la administración de interferón alfa con resultados variables,^{9,13,42} sin embargo aún falta mucho por entender puesto que no es efectivo en todos los casos.

La terapia con corticosteroides fue descrita inicialmente por Jacaway y Terry en 1988³² remarcando la similitud microscópica entre sarcoidosis y las LCCG.⁷¹

En determinados casos la terapéutica con corticosteroides intralesionales o la administración de calcitonina sistémica no responden de manera adecuada, posiblemente a que la lesión no forma parte de una entidad homogénea, más bien representan un grupo heterogéneo que expresan varios grados de tinción para calcitonina o glucocorticoides; lo que pudiera explicar porque las lesiones responden a diferentes agentes terapéuticos.⁷⁶

Harris y cols basados en la gran similitud de características histológicas entre lesión central de células gigantes (LCCG) y el tumor pardo del hiperparatiroidismo sugirieron que LCCG podrían responder a calcitonina.²⁸ La terapia se sustenta en el concepto de que las células de la LCCG son osteoclastos y por ende expresan receptores para calcitonina, lo cual inhibiría las funciones de las células gigantes. La calcitonina de salmón es la más empleada ya que se ha demostrado tener un mejor efecto que la calcitonina sintética humana.^{13,18}

Por otro lado el interferón alfa-2^a (INF α) es un agente antiviral y antiangiogénico utilizado en tumores vasculares malignos, uno de sus efectos es la supresión de la producción de factores de crecimiento de los fibroblastos (FGF) involucrados en la neoangiogénesis de los tumores. El empleo en las LCCG está sustentado sobre el principio de que son lesiones vasculares proliferativas que posiblemente responderían a la terapia antiangiogénica o que INF actuaría en la diferenciación de las células mesenquimales en osteoblastos aumentando la formación ósea.^{13,18}

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La LCCG forman parte de un grupo de alteraciones patológicas de los huesos maxilares que tienen un comportamiento clínico variable, cuyo tratamiento inicial es quirúrgico dejando en aquellas lesiones más agresivas secuelas importantes en los pacientes. A través de estudios de inmunohistoquímica y de la expresión de marcadores celulares, se ha intentado investigar el comportamiento de estas lesiones y como alternativa auxiliar en su tratamiento. En los últimos años se han empleado alternativas terapéuticas no quirúrgicas, farmacológicas como la infiltración de corticosteroides intralesionales,^{13,18,52,78} el uso de calcitonina con infiltración subcutánea o administrada por vía nasal,^{2,13,55,78,} e interferon alfa,^{18,52,76} que han demostrado resultados satisfactorios, sin embargo se han utilizado de manera arbitraria y en la mayoría de los casos sin evaluación pre tratamiento para la presencia de los receptores de calcitonina y glucocorticoides en las LCCG^{2,9,18,42,78}

Por lo anterior, consideramos importante conocer y comparar la frecuencia de expresión de marcadores de inmunohistoquímica de receptores de calcitonina, glucocorticoides y α -actina musculo liso en LCCG para posiblemente usarlo como alternativa de tratamiento, intentando comprender el comportamiento biológico de la lesión.

3. JUSTIFICACIÓN

Además de los hallazgos histológicos con tinciones de rutina como hematoxilina & eosina los estudios de inmunohistoquímica nos permitirán caracterizar las poblaciones celulares de la lesión. El conocer la expresión de marcadores para receptores de calcitonina, glucocorticoides, α -actina músculo liso en LCCG nos permitirá identificar la frecuencia y la estirpe celular y posiblemente comprender el comportamiento variable de esta lesión de los maxilares. Sin embargo actualmente son pocos los estudios registrados en la literatura relacionados con el tema.

Se propone realizar el presente estudio, en un número de muestras sin tratamiento previo con calcitonina o glucocorticoides, con la finalidad de obtener información más precisa sobre inmunoreactividad celular y la distribución de expresión de receptores de calcitonina y glucocorticoides en las células gigantes, así como, identificar la expresión de α -actina músculo liso en lesión central de células gigantes, que pudieran servir como un precedente de nuevas líneas de investigación.

De manera que al realizar este estudio en el que a través de los hallazgos de biomarcadores obtenidos posiblemente permitan usarse como una posible herramienta para valorar y establecer un tratamiento no quirúrgico de las LCCG.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe diferencia entre la expresión de receptores para calcitonina y glucocorticoides por inmunohistoquímica y cuál es la frecuencia de α -actina músculo liso en lesión central de células gigantes de los maxilares?

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

Identificar la frecuencia y comparar la expresión de receptores de calcitonina y glucocorticoides. Así como, determinar la frecuencia de α -actina músculo liso (α -AML) en lesiones centrales de células gigantes.

5.2. Objetivos Específicos

- Describir las características clínicas, radiológicas de las lesiones centrales de células gigantes de los maxilares.
- Describir las características histomorfológicas en las lesiones centrales de células gigantes de los huesos maxilares.
- Identificar la frecuencia de inmunoexpresión de los receptores para calcitonina, glucocorticoides y α -AML en las lesiones centrales de células gigantes.
- Identificar la intensidad de inmunoexpresión en receptores para calcitonina y glucocorticoides en lesiones centrales de células gigantes.
- Comparar la expresión de marcadores entre receptores de calcitonina y glucocorticoides por inmunohistoquímica en lesiones centrales de células gigantes.

6. MATERIAL Y MÉTODO

6.1 Diseño del estudio

Se realizó un estudio transversal, retrolectivo de casos de LCCG recibidas en el laboratorio de Patología y Medicina Bucal de la Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco durante el periodo comprendido entre 1985 y 2011, así como del Departamento de Anatomía Patológica del Instituto Nacional de Pediatría.

6.2 Consideraciones éticas

La selección de muestras de tejidos en bloques de parafina y la extracción de datos de los registros de los sujetos fueron obtenidas del laboratorio de Patología Bucal de la UAM-XOC, previa autorización y firma de La Coordinadora del Posgrado y del Comité Tutorial, respetando la confidencialidad de los datos obtenidos.

El proyecto de investigación fue diseñado para responder a una pregunta de investigación y sería impracticable si el requisito del consentimiento informado fuera impuesto ya que no se tiene contacto directo con pacientes, sin embargo las muestras de tejidos almacenadas por más de 15 años sin un propósito en particular, se pueden aprovechar y obtener beneficios que puedan aportar conocimientos o información relacionada con la expresión de ciertos marcadores de inmunohistoquímica que pudieran identificar el posible comportamiento biológico de las lesiones centrales de células gigantes y servir como posible herramienta para valorar el tratamiento de las mismas, que de otra forma no podrían obtenerse. Los procedimientos a realizar implican riesgos mínimos que no violan los derechos e intereses de los pacientes y se asegura la privacidad y confidencialidad de los mismos.

6.3 Criterios de inclusión

- Bloques de parafina de casos de pacientes con LCCG, que durante la revisión de expedientes reunieron los criterios histológicos de lesión central de células gigantes.
- Bloques de parafina de pacientes con diagnóstico de LCCG con material suficientes para el estudio de inmunohistoquímica.
- Casos de pacientes con datos clínicos y radiográficos suficientes para el análisis.

6.4 Criterios de exclusión

- Bloques de parafina de pacientes con LCCG que no tengan tejido adecuado para realizar el estudio de inmunohistoquímica.
- Casos histológicos de pacientes con LCCG que durante la revisión histopatológica no correspondan a granuloma central de células gigantes.
- Casos de pacientes que hayan tenido tratamiento previo de calcitonina o glucocorticoides.
- Casos de pacientes que no cuenten con datos clínicos y radiográficos suficientes.

6.5 Criterios de eliminación

- Casos que durante el procedimiento de inmunohistoquímica se contaminaron con otro reactivo diferente al del presente estudio y no se pudo repetir el proceso para los marcadores del presente estudio.

6.6 Variables

Variables dependientes

- Expresión de receptores de glucocorticoides
- Expresión de receptores de calcitonina
- Expresión de receptores de α - actina músculo liso

Variables independientes

- La edad de los pacientes
- El sexo de los pacientes
- Las características clínicas de los casos de pacientes con LCCG

6.7 Metodología de proyecto

El presente es proyecto de investigación interinstitucional, transversal, retrolectivo, en el que participan el Instituto Nacional de Pediatría de la ciudad de México y la Universidad Autónoma Metropolitana plantel Xochimilco. La realización de la técnica de inmunohistoquímica de los casos histológicos, se llevó a cabo en el laboratorio de Patología Molecular del Departamento de Anatomía Patológica del Instituto Nacional de Pediatría con la asesoría y supervisión del Mtro. en C. Francisco Javier García y Dr. Daniel Carrasco Jefe del Departamento de Anatomía Patológica.

6.7.1 Selección de los casos

Los casos de pacientes con LCCG, teñidos con H &E fueron seleccionados, revisados y confirmados o en su caso excluidos por tres observadores Especialistas en Patología y Medicina Bucal.

Se usó una hoja de recolección de datos, para recabar los datos demográficos, clínicos y radiológicos de los pacientes que se obtuvieron de las solicitudes para el estudio de histopatología, del archivo del laboratorio de Patología de UAM-Xochimilco, y archivos del laboratorio del Departamento de Anatomía Patológica del Instituto Nacional de Pediatría. (Anexo No. 1).

Para determinar si la LCCG era de comportamiento clínico agresivo, o no agresivo, se emplearon los criterios clínicos y radiológicos propuestos por Choung y cols.⁸

6.7.2 Procedimiento de laboratorio, descripción histológica.

La evaluación de las laminillas para determinar el predominio de la población celular y la descripción de las características histológica de las lesiones, se realizó un recorrido de todo el espécimen en la laminilla teñida con H & E con el objetivo de 10X. Los criterios histológicos fueron los descritos por la OMS para las LCCG.⁴ El criterio de evaluación fue objetivo, se valoró mayor o menor frecuencia de la población celular a estudiar y se realizó por dos observadores que fueron la tutora del proyecto y la alumna de Maestría.

El tejido conectivo se analizó con la observación objetiva de la cantidad de tejido fibroso y fascículos de colágeno maduro, la población fusocelular se determinó con presencia objetiva de células fusiformes de acuerdo al predominio de toda la laminilla estudiada.

La distribución y el número de las células gigantes, se calculó con el objetivo 40X recorriendo en forma aleatoria y seleccionando un campo, se determinó si la distribución era perivascular o se encontraban distribuidas en forma difusa en toda la lesión, el número se categorizó en tres campos estudiados, contando las células y dando tres categorías: menos de 10 células por campo, más de 10 o 20 células por campo.

La presencia o ausencia de hueso reactivo se estimó explorando toda la laminilla en todas sus direcciones y se categorizó como presente o ausente y si se encontraba en una, dos o tres áreas de la lesión.

La vascularidad y el tamaño de los espacios vasculares se estimó de forma objetiva de acuerdo a el tamaño de los espacios vasculares, la hemorragia intralesional se determinó cuando los eritrocitos eran de color rojo y se encontraban fuera de los espacios vasculares en determinadas áreas y/o distribuidos en forma difusa, para los focos de hemosiderina se consideró cuando los eritrocitos eran de color ambarino o café oscuro, generalmente distribuidos en forma aleatoria dentro de la lesión.

El infiltrado inflamatorio se categorizó como presente o ausente y de acuerdo al predominio agudo, linfoplasmocitario o mixto. (Anexo2)

6.7.3 Selección de la muestra en el bloque de parafina para estudiar.

Para el estudio inmunohistoquímico se obtuvieron laminillas con cortes tisulares fijados en formol e incluidos en parafina en secciones de 3 a 4 μ m.

Para determinar la muestra a estudiar, se evaluó toda laminilla teñida con H&E, y de forma aleatoria, se seleccionó una sección la más representativa de la lesión, procurando no tomar una sección con infiltrado inflamatorio, para posteriormente tomar con un sacabocado una muestra representativa que fue la que se usó para las tinciones de inmunohistoquímica.

Se analizó la expresión de tres diferentes biomarcadores de inmunohistoquímica; receptores de calcitonina (que tiñe el citoplasma de CGM, núcleo de células endoteliales y células de musculo liso), glucocorticoides (tinción en núcleo y citoplasma de CGM, células endoteliales y células de musculo liso), y α - actina musculo liso (tinción de membrana de células mononucleares).

6.7.4 Técnica de arreglos de tejidos (microarreglos) y de inmunohistoquímica

Para el desarrollo de la técnica se utilizó la técnica de arreglo de tejidos INP (TATINP) para los 3 marcadores, para lo cual se seleccionó la zona representativa de la lesión tomando como referencia una laminilla con corte histológico teñido con hematoxilina y eosina (HE). Empleando un sacabocado dermatológico de 4 mm de diámetro, se tomó un cilindro del bloque de parafina seleccionado, posteriormente se colocó en un plano previamente elaborado para identificar la localización de la muestra cuando se reincluyó con los demás (Figura 12). Estos pasos se repitieron en cada uno de los bloques seleccionados. Posteriormente se reincluyeron nuevamente en un bloque, organizándolos

de forma ordenada de acuerdo a la lista de referencia de los casos para el estudio, al final estos bloques de parafina contenían de 5 ha 16 muestras (Figura 13).

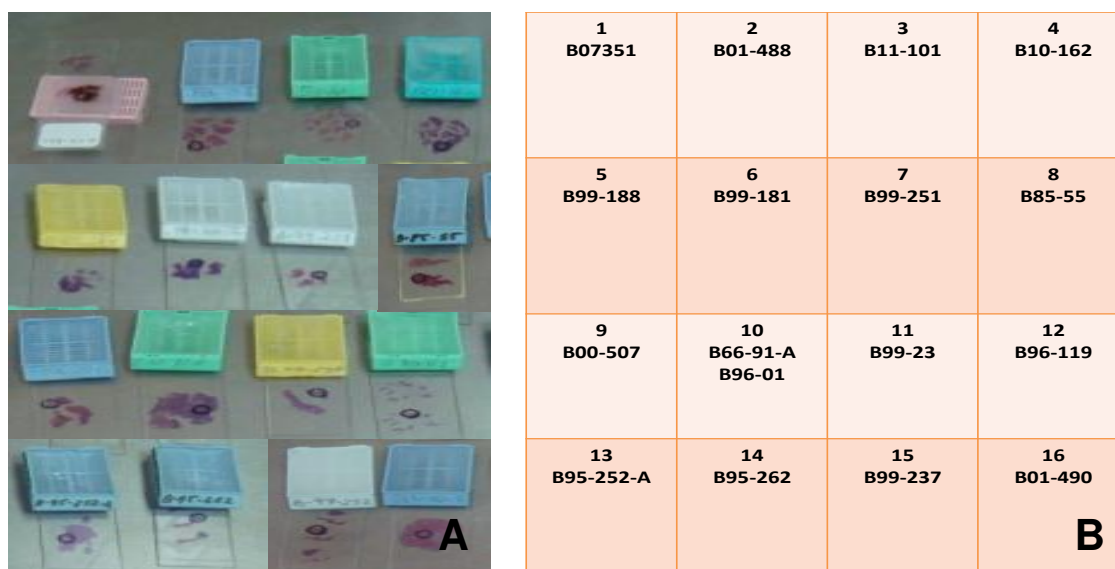


Figura 12. A. Selección de zona representativa de la lesión, el área seleccionada se encuentra demarcada por un círculo. B. Plano para identificar la localización de las muestras en el bloque final de parafina.

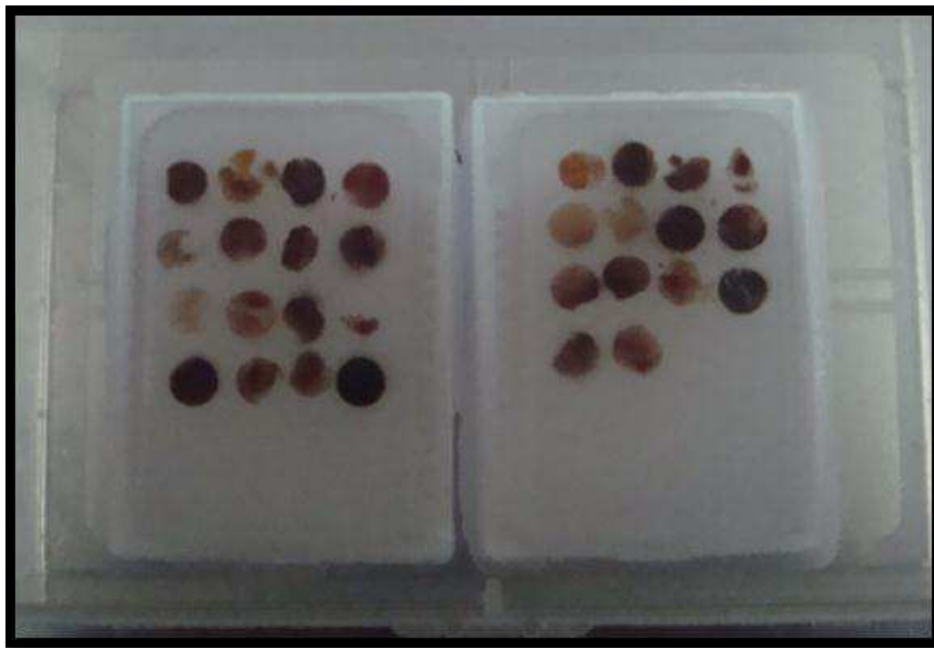


Figura 13. Bloques de parafina con microarreglo de tejidos.

Con esta técnica se obtuvieron cortes de 2 μm de grosor de cada bloque de microarreglos y se colocaron en laminillas tratadas con poli-lisina, posteriormente se inició el proceso de fundir la parafina de los cortes histológicos por un periodo de 30 minutos entre 56°C y 59°C, inmediatamente después de este periodo se desparafinó en Xilol por 5 minutos y nuevamente en Xilol por 30 segundos. (pasos 1 y 2 del protocolo de hidratación de muestras histológicas)²⁶ y se continuó con la hidratación (Cuadro 2).

Cuadro 2. Protocolo de hidratación de muestras histológicas

No.	Solución	Tiempo
1	Xilol	5 min.
2	Xilol	30 seg.
3	ETOH 100% anhidro	30 seg
4	ETOH 100% anhidro	30 seg.
5	ETOH 96%	30 seg.
6	ETOH 96%	30 seg.
7	ETOH 80%	30 seg.
8	ETOH 70%	30 seg
9	ETOH 60%	30 seg
10	ETOH 50%	30 seg.
11	Agua destilada	30 seg.
12	Agua destilada	5 min.

García Vázquez, 2010

Posterior a la desparafinización y rehidratación, los portaobjetos se colocaron en un vaso de Koplín de polipropileno de alta densidad con $\frac{3}{4}$ partes de citrato de sodio 0.1 M (Ph 6.2).

Para desenmascarar los epítopes cuya finalidad es alterar la estructura de las proteínas con el empleo de una solución (citrato de sodio) para que el anticuerpo lleve a cabo su reacción, se empleó una olla de presión para microondas con 300 a 400 ml de agua destilada, se colocó dentro del horno de microondas por 5 min. A una potencia mínima de 1000 watts, se retiró la olla, se dejó liberar la presión de vapor (2 min.) y se colocó el vaso de coplin con las laminillas dentro de la olla y se programó por otros 5 min. Se retiró la olla y se dejó enfriar a temperatura ambiente, se retiró el vaso de coplin de la olla de

presión, se destapo y se coloco en un baño de agua fría y esperamos hasta que la solución estuviera a una temperatura de 12-24°C. Se realizaron 3 lavados con agua destilada a los portaobjetos.

Realizamos la inhibición de la peroxidasa endógena de la siguiente manera, agregamos solución de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 0.9% y se incubo por 5 min. Nuevamente se realizaron 3 lavados con agua destilada. Se colocaron las muestras con PBST sobre coverplates (Thermo Shandon), y se montaron sobre un bastidor (Rank).

6.7.5 Anticuerpos usados para inmunohistoquímica

Se usó anticuerpo monoclonal anti-ratón (3D5) para receptores de glucocorticoides (Abcam). Y anticuerpo policlonal anti-cabra CT-R (N-20) para receptores de calcitonina (Santa Cruz Biotech). Agregamos 100 µl de anticuerpo primario por 45 min. Lavamos con PBST por 4 min., agregamos anticuerpos biotinizados antirratón/anticonejo (anticuerpo secundario) por 30 min., lavamos nuevamente por otros 4 min., por ultimo agregamos la solución del complejo estreptavidina/peroxidasa (LSAB + Lebeled streptavidin-Biotin, Dako), se incubaron por 30 min., lavamos por 4 min. con PBST.

Por último revelamos con deaminobencidina (DAB) al 0.3% (Dako) y posteriormente se contrasta con Hematoxilina de Gill. Cada anticuerpo fué comparado con un control positivo adecuado (Cuadro 3).

Cuadro 3. Anticuerpos primarios, diluciones y controles de inmunohistoquímica

Anticuerpo	Clona/marca	Dilución
Anticuerpo primario		
α AMA *	Dako TM , 1A4	1:50
Calcitonina CT-R **	Santa Cruz Biotech, N20	1:25
Glucocorticoides ***	Abcam TM , 3D5	1:50
Controles		
Apéndice *	Dako TM , 1A4	1:400
Tiroides **	Santa Cruz Biotech, N20	1:25
LCCG	Abcam	1:25

6.7.6 Valoración y cuantificación de la expresión y la intensidad del marcador.

Cada microarreglo fue evaluado con microscopía de luz. La expresión de los biomarcadores se consideró positiva o negativa. La intensidad de la inmunoreacción para los receptores de calcitonina y glucocorticoides fue subjetiva y se consideró leve (1), moderada (2) e intensa (3) para CGM en el citoplasma y para la PCME en la membrana celular.

6.7.7 Cuantificación celular positiva al marcador

La cuantificación celular positiva al biomarcador, se llevó a cabo por medio del uso de una cámara digital adaptada a un microscopio y el uso de una computadora personal. De manera aleatoria de cada uno de los micro-arreglos de tejidos, se tomaron 3 fotomicrografías de un campo 40X de zonas representativa por caso, posteriormente de manera aleatoria se seleccionó solo una fotografía utilizando el programa de Randomization Plan (www.randomization.com).

El conteo celular positivo se desarrollo de la siguiente manera, se contaron las células (positivas) expresadas por campo con una gradilla cuadrangular con 6 celdilla utilizando el programa Microsoft Office PowerPoint 2007. Se inició el conteo a partir del lado izquierdo de la gradilla iniciando en la primera columna de la fila uno al final, posteriormente en la columna 2 se inicia de la última fila a la primera fila y en la columna 3 se inicia en la fila uno al final y así sucesivamente (Figura 14).

Se contaron número de membranas + (positivas) ó núcleos entre el total de células por campo y se obtuvo el % de expresión del marcador.

$$\frac{\text{Núm. de membranas + ó núcleos}}{\text{Total de células por campo}} = \% \text{ de expresión}$$

CM=13 13+ CGM=2 2+	CM=14 14+ CGM=1 1+	CM=10 9+ CGM=1 1+	
CM=24 24+ CGM=0	CM=17 17+ CGM=3 3+	CM=27 27+ CGM=1 1+	CM=169 167 CM=98.8 CGM=15 15+ CGM=100%
CM=28 28+ CGM=0	CM=21 20+ CGM=3 3+	CM=15 15+ CGM=4 4+	

Figura 14. Conteo de células gigantes multinucleadas y población de células mononucleares de estroma.

Se obtuvo el promedio de las células mononucleares y se dividió en tre.....

7. ANALISIS ESTADÍSTICO

EL tamaño de muestra para diferencia de proporciones ($n = 11$) ($\alpha = 0.5$, $\beta = .20$) (se comparó la proporción de células inmureactivas a receptores de corticosteroides y calcitonina obtenidas del estudio de Vered 2006). La descripción histológica de los casos en H&E fue descriptiva con frecuencia y porcentajes. Se estudio la frecuencia de la presencia de células inmunoreactivas para cada uno de los marcadores, se compararon los tres marcadores a través de una prueba de X^2 de independencia, en caso de celdas con valores esperados menores a 5 se utilizó la prueba exacta de Fisher. Para la prueba de diferencia de medias del número de células inmunoreactivas se realizaron pruebas no paramétricas (Kurskal-Wallis). Se realizó una análisis de regresión lineal entre la presencia de receptores de glucorticoides y calcitonina en relación al número de meses de evolución, controlado por la edad. Se comparó la intensidad de la tinción usando la distribución de X^2 , las pruebas se realizaron con un nivel de confianza de $p \leq 0.05$. Se usó el paquete JMP V9.

8. RESULTADOS

8.1. Características demográficas, clínicas y radiográficas de los casos

Durante el período de los años 1985-2012 se obtuvieron 35 casos de pacientes con LCCG, 31 correspondieron al laboratorio de histopatología de la UAM-Xochimilco, dos al Instituto Nacional de Pediatría y dos casos pertenecieron a un cirujano maxilofacial de práctica privada.

De los 35 casos 11 (31.4%) fueron hombres y 24 (68.6%) mujeres con mediana de edad de 22 y un intervalo de (7-80) años. El tiempo mediano de evolución de la lesión fue de 9 años con un recorrido de menor a mayor de (9-60) años.

El Cuadro 4 muestra una descripción total del número de casos, sexo, edad, y los porcentajes de expresión en células gigantes multinucleadas y población de células mononucleares del estroma en los 35 casos estudiados, mostrando que 10 casos presentaron características con comportamiento agresivo.

Como se aprecia en el Cuadro 5, la mandíbula fue el sitio afectado con mayor frecuencia 20 (57%) vs 14 (40%) casos del maxilar.

En cuanto a los síntomas, los datos obtenidos demostraron que 12 (34.3%) pacientes manifestaron haber tenido dolor durante el desarrollo de la lesión, 3 (8.6%) reportaron parestesia en el tiempo de evolución de la lesión, y en 5 casos se registró recurrencia de la lesión.

El cuadro 6 muestra las características radiográficas de los 35 casos. Destacando que el desplazamiento dental y reabsorción radicular se observó en 8/35 (23%) respectivamente, el adelgazamiento del hueso cortical se mostró en 6 (17%) de los casos incluidos en el estudio.

De acuerdo a los criterios propuestos por Chuong y cols. 1986⁸ para clasificar las lesiones en no agresivas y agresivas, 23 (65.7%) casos fueron clasificados como no agresivos vs 12 (34.3%) casos que reunieron los criterios de agresivos; de los cuales (8/66;7%) fueron mujeres y (4/33;3%) hombres, con un promedio de edad de 23 años \pm 20.6 años, y un tiempo de evolución de 7 meses (7-48) recorrido. El 66.7% eran menores de 20 años.

8.2 Descripción histológica de los casos con H&E

En relación a la descripción de las características histológicas, con la tinción de H & E, destacó que en 57% de los casos la lesión presentaba células fusiformes mesenquimales, en 40% el número de las CGM fue mayor de 20 células por campo en el aumento de 40X (Figura 15); la formación de hueso reactivo se presentó en 48.6% en al menos en un área de la lesión (Figura 16), la distribución perivascular de las CGM se observó en 94.3% y los depósitos de hemosiderina en el 28.6 % (Figura 17) de todos los casos. (Cuadro 7)

8.3 Expresión de los marcadores de inmunohistoquímica

La expresión positiva para receptores de α -actina musculo liso, se observó en los 35 (100%) casos, un promedio de inmunoexpresión de 54% en la población de células mononucleares del estroma (Figura 18 y 19).

La inmunexpresión positiva de receptores para calcitonina en las CGM se observó en un 86% (DE \pm 21) en los 35 casos, en promedio se encontró 9 ± 6 células teñidas por campo (Figura 20). En la población de células mononucleares estromales, calcitonina se expresó en 13% de con valores de 1.2% a 53% y una mediana de 15 (min- max 2 - 81) células teñidas por campo en 32 (91%) de los casos (Figura 21 y 22).

La inmunexpresión de receptores de glucocorticoides en las células gigantes multinucleares y PCME, se observó en promedio expresión de 99% en las células gigantes multinucleadas con 15 ± 7 células teñidas (Figura 23). En cuanto a la inmunexpresión en la PCME se observó en promedio en 86.7% con 309 ± 95 células teñidas (Figura 24).

Al comparar la inmunexpresión de receptores de calcitonina en las CGM con la edad, en las lesiones centrales de células gigantes, se observó que en 16 casos en que los pacientes tenían menos de 20 años, en promedio la inmunexpresión fue de 80%; en contraste en 18 casos en los que los pacientes tenían más de 20 años, la inmunexpresión fue de 92% observando una diferencia estadísticamente significativa $p = 0.03$ (Cuadro 8). No se observó diferencia estadísticamente significativa en la inmunexpresión de receptores de calcitonina en las células mononucleares $p = 0.53$ (Cuadro 9).

Así mismo no se observó diferencias estadísticamente significativas con relación a la inmunexpresión de α -actina musculo liso y receptores de calcitonina tanto en células gigantes multinucleares y población de células mononucleares del estroma con el género. En promedio se observo inmunexpresión de α -actina musculo liso en el 49% de población

de células mononucleares del estroma en hombres y un 56% en PCME de mujeres, $p = 0.43$.

En cuanto a la inmunexpresión para calcitonina en las células gigantes se observó en 88% en hombres y un 86% en mujeres $p= 0.68$, la inmunexpresión en células mononucleares en un 10% en hombres y un 12% en mujeres con una $p = 0.88$.

8.4 Intensidad de la expresión del marcador

Como se demuestra en el Cuadro 10, las frecuencias de la intensidad de la inmunexpresión para los receptores de glucocorticoides en las CGM de las lesiones estudiadas fueron predominantemente intensa (Figura 23). Para la calcitonina la frecuencia de inmunexpresión intensa fue en el 51% de los casos.

En contraste, como se observa en el Cuadro 11, la intensidad de la inmunexpresión para glucocorticoides fue intensa en la población de células del estroma y en ningún caso la calcitonina se expresó en forma intensa, sin embargo, en forma leve se presentó en 82% de los casos (Figura 21).

La Figura 25 muestra la respuesta de expresión positiva de receptores de glucocorticoides en células gigantes multinucleadas en un 99% y predice la expresión de 100%, con una significancia de $p=0.003$.

En el análisis de regresión lineal, usando la expresión de receptores de glucocorticoides como variable dependiente y el tiempo de evolución controlando por la edad, como variable independiente se observó una asociación significativa, para los receptores en células

gigantes multinucleadas que disminuyen en número a mayor tiempo de evolución $p=0.002$ (Figura 26), por cada mes que pasa en la evolución de la lesión la expresión de receptores disminuye -0.14% de células reactivas. De igual manera se observó una disminución en la expresión de receptores en la población de células estromales a mayor tiempo de evolución $p=0.038$ (Figura 27) por cada mes que pasa disminuye -0.50 el porcentaje de células reactivas.

Como se aprecia en el Cuadro 12, no se observó ninguna asociación significativa entre las frecuencias de la expresión positiva de los inmunomarcadores de α - actina músculo liso, glucocorticoides, y calcitonina en las poblaciones celulares de CGM y células del estroma en los casos clasificados como No agresivos y agresivos.

9. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio demostraron que las frecuencias observadas para los RGC, RCT y α -actina músculo liso en las LCCG, fueron consistentes a lo previamente reportado. Las lesiones con mayor tiempo de evolución presentaron disminución en el porcentaje de inmunexpresión de receptores para glucocorticoides, en las CGM y en la población de células mononucleares del estroma. También se identificó mayor expresión de receptores de calcitonina en las CGM, en pacientes mayores de 20 años. No se observó diferencia entre la expresión de marcadores de RGC, RCT y de α - actina músculo liso, entre las lesiones caracterizadas como agresivas y no agresivas.

En los resultados demográficos y clínicos el 68.6% de los casos correspondieron al sexo femenino, con una relación 2:1, estos hallazgos son similares a los reportados por la mayoría de los autores.^{56,75,13,49,12,81} Esta predilección por las mujeres ha sido estudiada, McGowa en 1969 fue el primero en sugerir que la frecuencia en las mujeres está dada por la influencia hormonal, principalmente por estrógenos, sin embargo, en los estudios de inmunohistoquímica realizados por Whitaker y Bouquot en 1994 no hallaron una influencia directa de estas hormonas en la LCCG.⁸⁰ Por lo que aún no se ha determinado definitivamente que los estrógenos sean la posible causa de alta incidencia en el sexo femenino.

En cuanto a la edad, se observó una mediana de 22 años con intervalos de 7 a 80 años, hallazgos similares a los reportados por diferentes autores,^{60,73,66,81} los cuales refieren que la aparición de la lesión puede ser en cualquier grupo de edad, sin embargo es con mayor frecuencia antes de los 30 años de edad.^{60,67,75,13,40,15,12,23}

El sitio de presentación o localización más frecuente para LCCG es la mandíbula con una proporción reportada entre 66% a 77% vs 23% a 29% en maxilar (2:1).^{56,60,67,68,75,73,35,13,15,49,30} En este trabajo se observó que en 57% de los casos, la localización fue en la mandibular, como la mayoría de los estudios lo reportan, ya sea series grandes o en estudios con series pequeñas.^{40,15,34,23} En aproximadamente el 51% de los casos la lesión se localiza en el área posterior, en la región de molares o rama de la mandibular, esta situación posiblemente se debe a la pérdida prematura de los primeros molares permanentes.^{34,81} Se observó que el mentón fue afectado en 14%, diferente a lo observado por otros estudios, quienes lo han reportan entre 30% a 50% en la zona anterior como el sitio más frecuente del hueso mandibular, sin embargo, actualmente no existe una explicación para esta distribución clínica.^{75,49,15,81}

Respecto a los síntomas (12/35;34.3%) pacientes manifestaron haber tenido dolor durante el desarrollo de la lesión, tres pacientes informaron parestesia (3/35;8.6%) en el tiempo de evolución, síntomas importantes ya que de acuerdo a los criterios informados por Choung y cols, estos casos, fueron caracterizados como lesiones con comportamiento agresivo, el dolor o las alteraciones en la sensación en la mandíbula son síntomas asociados con las LCCG con comportamiento agresivo.^{40,8}

Radiográficamente la lesión es por excelencia radiolúcida, con frecuencias de 39 a 85%,^{13,65} no obstante, puede presentar diversas imágenes mixtas; con bordes definido o indefinidos, uniloculares o multiloculares, la imagen radiológica más reportada es la multilocular con bordes óseos adelgazados, con proporciones de 51% a 61% de los casos.^{12,65,34,81} Las

imágenes multiloculares frecuentemente son significativamente más grandes, se ha observado correlación entre las dimensiones y la multilocularidad de LCCG.³⁴ En este estudio la imagen multilocular se observó en 17%, el desplazamiento dental y resorción radicular se observó en 23% respectivamente, lo cual es semejante a lo reportado en la literatura, que va de 12% a 43% de resorción radicular, el desplazamiento dental entre 18 % a 80%,^{66,34,81} estos hallazgos radiográficos son de suma importancia como indicadores de agresividad de la LCCG, así como para la evaluación de su correcto diagnóstico y tratamiento.

Por otra parte, de acuerdo a los hallazgos radiográficos y clínicos observados en esta serie de casos, para categorizar las lesiones en: agresivas o no agresivas,⁸ doce casos (12/35; 34.3 %) se clasificaron como lesión agresiva, (8/12; 66.7%) fueron mujeres, y (8/12; 66.7 %) con edad menores de 20 años, confirmando lo reportado por diversos autores quienes refieren que las mujeres y las persona jóvenes son las más afectadas por esta lesión potencialmente agresiva.^{40,52,13,54,23} La resorción radicular y perforación de la cortical, únicamente se observó en los casos que se categorizaron como agresivos, (5/35; 14%) reportaron recidivas, otros autores han reportado recidivas entre 20 a 70% .⁷⁷ El reporte de recidiva es uno de los criterios importantes para denominarlos como lesión presuntivamente agresivas.^{8,40} Uno de los conflictos con el cual nos enfrentamos para clasificar clínicamente, entre lesiones agresivas o no agresivas fue que los datos se obtuvieron de fuentes indirectas, es decir de expedientes clínicos.

Con respecto a las características histológicas, se observó que la mayoría de las lesiones tenían predominio de células fusiformes mesenquimales, células gigantes multinucleares

(CGM) mayor a 20 células por campo, formación de hueso reactivo en al menos un área de la lesión, así como distribución perivascular de las CGM, presencia de pequeños vasos y eritrocitos extravasados. Es decir, estas características histológicas son las descritas por la OMS y múltiples autores para el diagnóstico de LCCG, y no hubo ningún predominio celular. Cabe mencionar que el diagnóstico definitivo de LCCG debe ser clínico-radiológico e histológico.^{56,74,35,13,8}

Si bien, se han realizado investigaciones con la intención de encontrar criterios histológicos que permitan predecir el comportamiento biológico de la LCCG.^{77,45,64,54,23} Actualmente, no se ha llegado a una conclusión que establezcan características celulares que diferencien entre lesiones no agresivas y agresivas.^{77,23} Se ha sugerido que posiblemente la agresividad de las lesiones se ve influenciada por la población de miofibroblastos ya que este tipo celular se ha identificado en otras lesiones de carácter agresivo como ameloblastoma, tumor queratoquístico odontogénico, tumores de estirpe mesenquimatoso, fascitis nodular, o neoplasias malignas bucales.^{69,53,77,79,38}

En este sentido, en el presente estudio, se observó que en promedio el 54% de PCME con aspecto fusiformes, fueron positivas para α -actina musculo liso, que indica que son miofibroblastos. Como la mayoría de los autores refieren, en el análisis estadístico no se identificó ninguna diferencia entre agresivos y no agresivos en la población de miofibroblastos con α -actina musculo ($p=0.63$).⁷⁷ Vered y Nasrallah en 2007 realizaron un estudio en la población de miofibroblastos, con la intención de identificar asociación entre la presencia de estas células y el comportamiento biológico de la lesión, reportaron inmunoexpresión de miofibroblastos en 20.8% en lesiones no agresivas y 23.7% en las

lesiones agresivas.⁷⁷ Concluyeron que los miofibroblastos son un componente celular activo en estas lesiones, que no se encuentran relacionadas con el comportamiento agresivo de estas lesiones.⁷⁷ De igual manera, O'Malley y Pogrel en su serie de 28 casos, no reportaron diferencias en la inmunexpresión de miofibroblastos entre agresivos y no agresivos.⁵⁴ Estas investigaciones se han realizado sobre la base de que los miofibroblastos en el estroma de ciertos tumores odontogénicos, favorecen el comportamiento agresivo.⁵³

Los miofibroblastos se caracterizan por participar en la síntesis y secreción de citocinas, interleucinas, quimiocinas, factores de crecimiento, diversos mediadores fisiológicos, moléculas de la matriz extracelular, MMPs (metaloproteinasas) que desempeñan un papel importante en la embriogénesis, inflamación, reparación, cicatrización y diferentes procesos de regeneración y reparación que ocurren en distintos órganos.^{10,59} Así mismo pueden promover el desarrollo de lesiones tumorales lo cual puede deberse probablemente a la estimulación directa de citocinas⁷⁹ que estimulan células cancerígenas, la vascularización y la capacidad de los miofibroblastos para producir enzimas que degradan (metaloproteinasas) o moléculas que aumentan la integridad estructural de la matriz (actividad migratoria para acceder a los vasos),²² similar a los descritos en el estroma del carcinoma de la cavidad bucal.⁶⁹

Inmunexpresión de receptores para glucocorticoides y calcitonina

Por otro lado, y de acuerdo al objetivo de este estudio, se han realizado estudios de inmunohistoquímica para determinar la frecuencia de inmunexpresión de dos receptores específicos: glucocorticoides y calcitonina en los componentes celulares de las LCCG,

para usarlas como propuestas alternativas terapéuticas, no quirúrgicas y brindar mejores opciones de tratamiento no mutilatorios.

En este contexto, diversos autores han demostrado que la expresión positiva para RGC y RCT ha permitido realizar tratamientos no invasivos.^{76,78,71,52} Vered en 2006 propuso que el análisis de estos inmunomarcadores en las LCCG, pueden ayudar al clínico a decidir una mejor y apropiada terapéutica.^{76,52} Sin embargo, estudios en los que no se ha valorado la expresión de estos marcadores en LCCG, han demostrado resultados variables, generalmente favorables.^{58,2,13,42,55}

Si bien, el origen del linaje celular de las CGM es controversial, el uso de glucocorticoides está sustentado en estudios, en los que se demostró que las células gigantes multinucleadas de LCCG y PCME tienen expresión positiva para CD-68 (macrófagos) y α -1 antiqumiotripsina por lo que se ha sugerido que son de origen histiocito/macrófago.^{61,25,70,45,54,52,18}

Así mismo, se ha demostrado, que tienen receptores para calcitonina, fosfatasa ácida tartrato resistente, RANK (Receptor activador de NF-KB), por lo que son consideradas de linaje osteoclástico.^{70,76,31,71} Itonaga I y cols 2003, analizaron los componentes celulares de las LCCG, para determinar el fenotipo de las CGM y PCME, concluyeron, que la expresión positiva para TRAP + receptores de vitronectin (VNP) y receptores de calcitonina en las CGM, sugiere que tienen características de osteoclastos con capacidad de resorción ósea. Adicionalmente los histiocitos y las células mononuclear estromales se diferencian en osteoclastos bajo la influencia de la expresión positiva de RANK.^{52,3,76,71,45,31} Por lo tanto, la expresión positiva para RGC apoya el uso de esteroides y la positividad de RCT

sustentan el uso de inhibidores de la resorción ósea, como la calcitonina sistémica en el tratamiento de las LCCG.

En este sentido, buscando otras alternativas de tratamiento, se han realizado estudios de receptores celulares de los mecanismos de la resorción ósea en estas lesiones. Uno de ellos en los que se analizó la expresión de RANK (Receptor activador de NF-kB) en 37 casos de LCCG caracterizadas como agresivas y no agresivas, sin observar diferencia significativa, concluyeron que las CGM son similares a osteoclastos, con fenotipo diferente que sugiere distintos precursores.⁷¹ Así mismo se analizó la expresión moderada e intensa de RANK y de glucocorticoides, más otro marcador el GRalpha (receptor de glucocorticoides alfa) lo que indicó que las CGM tienen receptores para actividad de resorción ósea, y el uso de inhibidores de la resorción ósea está indicado como terapéutica en las LCCG.⁷¹

Vered y cols 2006 en un estudio en el que se evaluó la inmunoexpresión de RGC y de RCT en 41 casos de LCCG, con el propósito de desarrollar una herramienta práctica para la elección de tratamiento más adecuado, reportaron que la inmunoexpresión para receptores de glucocorticoides fue positiva en casi toda la población celular, en las CGM y en la población mononuclear, en 50% de los casos las CGM y las mononucleares del estroma expresaron tinción intensa; en 31.7% hubo heterogeneidad de la tinción, y la tinción fue débil en (7/41;17%) en ambas poblaciones celulares. En contraste para calcitonina únicamente fueron positivas en 23 casos (56%); de los cuales (15/41; 36%) se expresó intensamente en las CGM y las mononucleares. Estos resultados revelan, que tanto los receptores para glucocorticoides y calcitonina se expresan positivamente e intensamente en estas lesiones, y que la población celular es variable. Los autores propusieron que se realice

un análisis para evaluar la cantidad de expresión para cada caso, y de acuerdo a la cantidad mayormente expresada tomar la decisión terapéutica más apropiada.⁷⁶ También señalan que estas lesiones se encuentran en constante transformación celular fenotípica, que posiblemente se asocie al comportamiento biológico de las LCCG.

En todos nuestros casos (100%), la inmunoexpresión para RGC fue positiva en las CGM y en la población de células mononucleares del estroma; en 89% de las CGM la tinción fue intensa, en 43% la tinción fue de moderada a intensa en las células mononucleares del estroma. Los porcentajes observados en este estudio, fueron mayores a los reportados por Vered y Buchner en 2006, una explicación a este hallazgo posiblemente se encuentre relacionado a la técnica de conteo celular, ellos reportaron la intensidad de la tinción del inmunomarcador considerando intensa cuando el 50% o más de las células fueron teñidas, en el presente estudio, el conteo fue metódico y muy detallado por cada campo; el valor de la intensidad de la tinción fue subjetiva, se analizó cada caso con microfotografías que mostraron los 3 grados de intensidad (intensa, moderada y leve). No obstante, nuestros hallazgos son consistentes con los reportados por Nogueira y Faria quienes en una serie de 21 casos, en los que se evaluó la respuesta de la infiltración intra-lesional de esteroides, observaron que aquellas lesiones que expresan altos porcentajes de RGC en las poblaciones celulares, tienen mejor respuesta al tratamiento. Así mismo reportaron que cuando la intensidad de la tinción (H-score) de RGC en las CGM es mayor a 48%, con intensidad de moderada a intensa tiene un valor predictivo para una buena respuesta al tratamiento intralesional con corticosteroides. Por lo que se concluyen que los receptores para glucocorticoides, proveen una herramienta para seleccionar una estrategia de tratamiento.⁵²

Los receptores de glucocorticoides son receptores nucleares que une el cortisol y otros glucocorticoides. Regulan genes implicados en el desarrollo, metabolismo y respuesta inmune. Estos receptores se expresan en núcleo y citoplasma de células gigantes multinucleares, osteoblastos, osteocitos, células mesenquimales del estroma y en células endoteliales.⁷¹ La acción de corticosteroides disminuye la secreción de proteasas lisosomales [cathepsin B, cathepsin L, glucoronidasa β , lisosima y fosfatasa ácido tartrate resistente (TRAP)] las cuales median la resorción ósea.⁷¹ Lo cual podría explicar el comportamiento del medicamento infiltrado. Hirayama y cols 2002, en sus estudios realizados in vitro sobre el efecto de los corticosteroides (dexametasona) sobre la formación y actividad de osteoclastos humanos demostraron que la dexametasona por un lado estimula la proliferación y diferenciación de precursores de osteoclastos, pero por otro lado inhiben la resorción lacunar por osteoclastos maduros aislados en tumores de células gigantes.²⁹

Un hallazgo de interés del presente estudio, muestra que en lesiones con mayor tiempo de evolución, los RGC van disminuyendo en frecuencia. Lo cual podría sugerir que el tratamiento en estas lesiones responde de una manera menos efectiva o tener una respuesta terapéutica más lenta. Posiblemente debido a que los componentes celulares van cambiando y transformándose con el tiempo, ya que se ha reportado en LCCG áreas de fibrosis y menos población celular especialmente de mononucleares. La población celular de las LCCG es una población dinámica que se encuentra en constante diferenciación, asociados a cambios funcionales o terapéuticos.⁷⁸ La frecuencia de los RGC y de RCT tampoco es constante ni estable, ya que se han observado cambios activos con el tiempo, o con el tratamiento.⁵² Como lo refiere Nogueira y cols, en los que observó, que los RGC van disminuyendo con la infiltración de esteroides, lo cual podría deberse a un fenómeno de

transdiferenciación, que podría afectar la terapéutica empleada, sugiriendo que es necesario evaluar de manera regular incluso con biopsias programadas la expresión de estos receptores durante el tratamiento.⁵²

En cuanto a la expresión de RCT, Vered y Buchner en 2006, en el mismo estudio que analizaron la inmunoexpresión de RGC, evaluaron la expresión de calcitonina en LCCG, observaron que la frecuencia para RCT fue menor y la intensidad de la tinción fue variable. Es decir, ambos marcadores se expresan positivamente pero en diferentes frecuencias o porcentajes.⁷⁶ Por lo que sugieren que la elección adecuada del tratamiento debería individualizarse para cada caso, de acuerdo a la frecuencia de la expresión de los marcadores tanto para RGC como para los RCT.

En este estudio, la expresión para RCT se observó en toda la población de CGM (100%), con un recorrido de (17% a 100%) de frecuencias, la intensidad de la tinción en CGM de leve a moderada; y en la PCME, si bien fue de 91% con recorridos de (1.2% a 30.5%), en general la intensidad se observó de leve a negativa. Estos hallazgos diferentes a lo informado por Vered y cols en 2006, en 41 pacientes, reportó que los RCT se presentaron en (23/41; 56.1%) de los casos; de los cuales (15/41; 36.6%) tiñeron intensamente ambas poblaciones celulares (CGM y células mononucleares) y únicamente en (7/41; 17%), fueron positivas en un tipo celular. La variabilidad en los porcentajes de expresión para RCT posiblemente podría explicar porque es menos efectivo el tratamiento con calcitonina, en algunos casos de LCCG.^{76,78,13,14}

Así mismo, se observó mayor expresión de receptores de calcitonina en CGM en pacientes mayores de 20 años. Este hallazgo puede deberse a que el número y tipo de receptores que expresa una célula para una hormona determinada, varía de acuerdo a las circunstancias que lo rodea.⁶ Por un lado, las células no expresan la totalidad de los receptores para los cuales tienen información (se mantienen en equilibrio dinámico), sino que van haciendo una expresión selectiva de aquellos receptores que necesitarán para realizar sus funciones de síntesis e inserción en la membrana celular, de acuerdo a su programa predeterminado de diferenciación.⁶ Como lo reportan algunos estudios que demuestran que el fenotipo de receptores de calcitonina es dinámico.⁵⁷

Los RCT tienen un comportamiento inconstante, Nogueira y cols en 2012, reportaron que la expresión de RCT va disminuyendo después de iniciar el tratamiento (de 100% a 61.5% con esteroides intralesionales. Posiblemente debido a que los esteroides son reguladores de la expresión RCT, y aumenta la expresión de los RCT en el tratamiento inicial.^{52,41}

También se ha informado que la administración de calcitonina causa alteraciones morfológicas y fisiológicas, que da lugar a involución o forma irregular del citoplasma e inhibición de la síntesis de DNA en las células monocucleares neoplásicas.⁴⁶ Lo que provoca una disminución en la actividad de los receptores de calcitonina, la cual puede ser causada por la desaparición de receptores o por la disminución en la afinidad a la calcitonina.⁴⁶

Por otro lado, la población celular de las LCCG tiene la capacidad de adaptarse a las condiciones que las rodean. La respuesta de las células, y de los RGC y RCT disminuyen por la exposición prolongada (calcitonina), esta disminución del número de receptores

puede deberse a que los receptores no permanecen estáticos en la membrana (se degradan o se destruyen, o son reciclados nuevamente a la membrana celular), lo que traerá como consecuencia una disminución en la respuesta celular.

El principal efecto biológico de la calcitonina es inhibir la resorción ósea por los osteoclastos, dentro de los pocos minutos de la administración la calcitonina causa una contracción en el tamaño del osteoclasto y disminución de la actividad de resorción ósea.^{71,16} Estudios de los mecanismos de acción de la calcitonina muestran que la unión de calcitonina a receptores específicos induce cambios morfológicos en los osteoclastos, inhibiendo su motilidad y causando su inactividad que resultan en la inhibición de la resorción ósea.⁵⁰ La fisiología de la calcitonina consiste en aumentar el calcio de entrada en los huesos, funciona como un antagonista para la hormona paratiroidea.¹⁴ También se ha observado que actúa como agente antiinflamatorio, y promueve la cicatrización ósea en las fracturas.¹⁶ El efecto de la edad y la secreción de la calcitonina es controversial, en el recién nacido los niveles séricos en sangre, son altos y progresivamente van declinando en los adultos, esto es controversial ya que otros estudios no reportan esta observación.¹⁷

10.-CONCLUSIONES **Es parte de la discusión**

La expresión de inmunomarcadores para RGC y RCT en la población celular de las LCCG, se ha usado como un posible instrumento para la elección de tratamientos alternativos no mutilatorio en estas lesiones de los huesos maxilares. Los resultados del presente trabajo mostraron que tanto las CGM como las PCME presentaron proporciones diferentes, en la inmunoexpresión para RCT y RGC. La expresión de receptores de glucocorticoides en la PCME y CGM, fue menor en aquellos casos con mayor tiempo de evolución de la lesión, lo que sugiere que la respuesta al tratamiento con glucocorticoides podría no ser satisfactoria en aquellas lesiones con mayor tiempo de evolución. Al igual que otros autores se observó que la expresión de receptores de calcitonina y glucocorticoides en la PCME, fue diferente, la cual sugiere que el linaje celular de CGM tienen un origen monocito/macrófago y de tipo osteoclasto. La expresión de α -actina musculo liso fue mayor de 50% en la mayoría de los casos y no se asoció al comportamiento clínico de la (agresivo vs. no agresivo) lesión. La propuesta del estudio, es realizar trabajos con mayor número de casos y con otros elementos de estudio, como los marcadores de la resorción ósea, o de metaloproteinasas de matriz 1 (MMP-1 y MMP-9), para investigar el papel de estos marcadores con el comportamiento clínico de las LCCG.

El promedio de la expresión de glucocorticoides fue mayor que el de calcitonina, lo que sugiere que el tratamiento con glucocorticoides intralesionales puede ser una mejor opción terapéutica no mutiladora para LCCG.

11.-COMENTARIOS DE INTERES Es parte de la discusión

Para concluir, una debilidad del trabajo consistió en que los datos clínicos y radiográficos fueron recabados de solicitudes de estudio histopatológico y no tuvimos acceso directo a estudios radiográficos. Así mismo los datos para la clasificación propuesta por Chuong para lesiones no agresivos y agresivos estuvo sustentada con la información remitida por los cirujano maxilofacial o los solicitantes del estudio histopatológico.

10 REFERÊNCIAS

1. Abu EO, Horner A, Kusec V, Triffitt JT, Compston JE. The localization of the functional glucocorticoid receptor alpha in human bone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(2):883-9.
2. Allon DM, Anavi Y, Calderon S. Central giant cell lesion of the jaw: Nonsurgical treatment with calcitonin nasal spray. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;107(6):811-8.
3. Aragão Mdo, Piva MR, Nonaka CF, Freitas R de A, de Souza LB, Pinto LP. Central giant cell granuloma of jaws and giant cell tumor of long bones: an immunohistochemical comparative study. *J Appl Oral Sci* 2007;15(4):310-6.
4. Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidranky D. (Eds). World Health Organization Classification of Tumours Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. IARC Press: Lyon 2005
5. Bilodeau E, Chowdhury K, Collins B. A Case of recurrent multifocal central giant cell granulomas. *Head Neck Pathol* 2009;3(2):174–8.
6. Bloom & Fawcet. Tratado de Histología. 12ª ed. Edit. Interamericana - McGraw Hill 1995.
7. Borges HO, Machado RA, Vidor MM, Beltrão RG, Heitz C, Filho MS. Calcitonin: a non-invasive giant cells therapy. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2008;72(7):959-63.

8. Chuong R, Kaban LB, Kozakewich H, Perez-Atayde A. Central giant cell lesions of the jaws: a clinicopathologic study. *J Oral Maxillofac Surg* 1986;44(9):708-13.
9. Crestanello Nese JP, Fernández Luzardo C, Robano Navatta A. Corticoides intralesionales en lesiones a células gigantes. *Rev Esp Cirug Oral Maxilofac* 2004; 25:351-360.
10. Damasceno LS, Goncalves Fda S, Costa e Silva E, Zenóbio EG, Sauza PE, Horta MC. Stromal myofibroblasts in focal reactive overgrowths of the gingiva. *Braz Oral Res* 2012;26(4):373-7.
11. David H. Cormack. *Histología de Ham*. 9a. ed. Edit. Oxford 2007.
12. De la Rosa GE, Ruíz GLM, Mondragón PA, Gómez RC, Meneses GAA. Estudio comparativo clinicopatológico y de expresión inmunohistoquímica de CD68, Ki-67, bcl2 y PS-100 en 50 casos de lesiones de células gigantes de la cavidad bucal. *Gaceta Mexicana de Oncología* 2003; 2:23-29.
13. de Lange J, van den Akker HP, van den Berg H. Central giant cell granuloma of the jaw: a review of the literature with emphasis on therapy options. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;104(5):603-15.
14. de Lange J, Rosenberg AJ, van den Akker HP, Koole R, Wirts JJ, van den Berg H. Treatment of central giant cell granuloma of the jaw with calcitonin. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1999;28(5):372-6.

15. de Lange J, van den Akker HP. Clinical and radiological features of central giant-cell lesions of the jaw. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99: 464-70.
16. Deftos L J. Calcitonin. En *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Sixth Edition. American Society for Bone and Mineral Research. Washington. DC, 2006. p115-117.
17. Deftos LJ, Weisman MH, Williams GW, Karpf DB, Frumar AM, Davidson BJ, Parthemore JG, Judd HL Influence of age and sex on plasma calcitonin in human beings. *N Engl J Med*. 1980 Jun 12;302(24):1351-1353.
18. Delgado-Azañero WA, Concha-Cusihualpa H, Cabello-Morales E, Beltrán-Silva J, Guevara-Canales JO. Granuloma central de células gigantes en un niño tratado con corticoide intralesional. *Rev Estomatol Herediana*. 2007;17(2):76-83.
19. Dizek NC, Hodialva-Dilke K, Jefferey R y cols. Bone marrow contribution to tumor-associated myofibroblasts and fibroblasts. *Cancer Res* 2004;64:6482-6485.
20. el-Labban NG. Intravascular fibrin thrombi and endothelial cell damage in central giant cell granuloma. *J Oral Pathol Med* 1997;26(1):1-5.
21. Emura I, Inoue Y, Ohnishi Y, Morita T, Saito H, Tajima T. Histochemical, immunohistochemical and ultrastructural investigations of giant cell tumors of bone. *Acta Phatol Jpn* 1986;36(5):691-702.

22. Eyden B. The myofibroblast in health and disease. El miofibroblasto en tejidos normales y en situaciones patológicas. *Rev Esp Patol* 2008;41(1):3-10.
23. Ficarra G, Kaban LB, Hansen LS. Central giant cell lesions of the mandible and maxilla: a clinicopathologic and cytometric study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1987;64(1):44-49.
24. Filioreanu AM, Popescu E, Cotrutz C, Cotrutz CE. Immunohistochemical and transmission electron microscopy study regarding myofibroblasts in fibroinflammatory epulis and giant cell peripheral granuloma. *Rom J Morphol Embryol.* 2009;50(3):363-368.
25. Flanagan AM, Nui B, Tinkler SM, Horton MA, Williams DM, Chambers TJ. The multinucleate cells in giant cell granulomas of the jaw are osteoclasts. *Cancer* 1988;62(6):1139-45.
26. García Vázquez FG. Manual de Instrucciones técnicas de inmunohistoquímica e hibridación in situ. Instituto Nacional de Pediatría 2010.
27. Hamdy RC, Daley DN. Oral calcitonin. *Int J Womens Health.* 2012;4:471-9.
28. Harris M. Central giant cell granulomas of the jaws regress with calcitonin therapy. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1993;31(2):89-94.
29. Hirayama T, Sabokbar A, Athanasou NA. Effect of corticosteroids on human osteoclast formation and activity. *J Endocrinol.* 2002;175(1):155-63.

30. Horner K. Central giant cell granuloma of the jaws: a clinic radiological study. *Clin Radiol* 1989;40:622-6
31. Itonaga I, Hussein I, Kudo O, Sabokbar A, Watt-Smith S, Ferguson D, et al. Cellular mechanisms of osteoclast formation and lacunar resorption in giant cell granuloma of the jaw. *J Oral Pathol Med*. 2003;32(4):224-31.
32. Jacoway JR, Howell FV, Terry BC. Central giant cell granuloma: an alternative to surgical therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1988;66:572.
33. Jaffe H. Giant cell reparative granuloma, traumatic bone cyst, and fibrous (fibro-osseous) dysplasia of the jaw bones. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1953;6:159-75.
34. Kaffe I, Ardekian L, Taicher S, Littner MM, Buchner A. Radiologic features of central giant cell granuloma of the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1996;81:720-726.
35. Kaplan I, Manor I, Yahalom R, Hirshberg A. Central giant cell granuloma associated with central ossifying fibroma of the jaws: a clinicopathologic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;103(4):35-41.
36. Karrer ME. Electron microscopic study of developing chick embryo aorta. *J Ultrastruct Res* 1960;4:424-454.
37. Kauzman A, Li SQ, Bradley G, Bell RS, Wunder JS, Kandel R. Central giant cell granuloma of the jaws: assessment of cell cycle proteins. *J Oral Pathol Med* 2004;33(3):170-6.

38. Kawana T, Yamamoto H, Deguchi A, Oikawa T, Izumi H. Nodular fasciitis of the upper labial fascia: cytometric and ultrastructural studies. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1986;15(4):464-468.
39. Kramer IR. The histopathology of some central non-odontogenic tumors and tumor-like conditions of the jaws. *Trans Int Conf Oral Surg.* 1973;4:28-32.
40. Kruse-Lösler, Diallo R, Gaertner C, Mischke KL, Joos U, Kleinheinz J. Central giant cell granuloma of the jaws: A clinical, radiologic, and histopathologic study of 26 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(3):346-54.
41. Kurokawa M, Michelangeli VP, Findlay DM. Induction of calcitonin receptor expression by glucocorticoids in T47D human breast cancer cells. *J Endocrinol.* 1991;130(2):321-6.
42. Kurtz M, Mesa M, Alberto P. Treatment of a central giant cell lesion of the mandible with intralesional glucocorticosteroids. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001;91:636-7.
43. Langlais R, Langland O, Nortje. *Diagnostic imaging of the jaws.* Williams & Wilkins. Baltimore 1995.
44. Lim L, Gibbins JR. Immunohistochemical and ultrastructural evidence of modified microvasculature in the giant cell granuloma of the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995;79(2):190-8.

45. Liu Bo, Yu SF, Li TJ. Multinucleated giant cells in various forms of giant cell containing lesions of the jaws express features of osteoclasts. *J Oral Pathol Med* 2003;32(6):367-75.
46. Maeda A; Matsui H; Kanamori M; Yudoh K; Tsuji H Calcitonin receptors on neoplastic mononuclear cells cultured from a human giant-cell tumor of the sacrum. *J Cancer Res Clin Oncol* 1994;120 (5):272-8.
47. Masi L, Brandi ML. Calcitonin and calcitonin receptors. *Clin Cases Miner Bone Metab* 2007;4(2):117-22.
48. Mosqueda TA. Clínicas oncológicas de Iberoamérica, Tópicos selectos de oncología bucal. PyDESA; 2008 .
49. Motamedi HM, Eshghyar N, Jafari SM, Lassemi E, Navi F, Abbas FM et al.. Peripheral and central giant cell granulomas of the jaws: A demographic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;103(6):39-43.
50. Naot D, Cornish J. The role of peptides and receptors of the calcitonin family in the regulation of bone metabolism. *Bone*. 2008;43(5):813-8.
51. Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquo JE. Oral and maxillofacial pathology. Philadelphia: Saunders; 2002.
52. Nogueira RL, Faria MH, Osterne RL, Cavalcante RB, Ribeiro RA, Rabenhorst SH. Glucocorticoid and calcitonin receptor expression in central giant cell lesions: implications for therapy. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2012;41(8):994-1000

53. 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(3):230-7.
54. O'Malley M, Pogrel MA, Stewart JC, Silva RG, Regezi JA. Central giant cell granulomas of the jaws: phenotype and proliferation-associated markers. *J Oral Pathol Med* 1997;26(4):159-63.
55. O'Regan EM, Gibb DH, Odell EW. Rapid growth of giant cell granuloma in pregnancy treated with calcitonin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001;92(5):532-8.
56. Papanicolaou P, Chrysomali E, Stylogianni E, Donta C, Vlachodimitropoulos D. Increased TNF- α , IL-6 and decreased IL-1 β immunohistochemical expression by the stromal spindle-shaped cells in the central giant cell granuloma of the jaws. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012;17(1):56-62.
57. Pondel M. Calcitonin and calcitonin receptors: bone and beyond. Blackwell Science Ltd. *Int. J. Exp. Path.* 2000;81:405-422
58. Rachmiel A, Emodi O, Sabo E, Aizenbud D, Peled M. Combined treatment of aggressive central giant cell granuloma in the lower jaw. *J Craniomaxillofac Surg* 2012;40(3):292-7.

59. Ramos AC, Becerril BC, Cisneros LJ, Montano RA. El miofibroblasto, una célula multifuncional en la patología pulmonar. *Rev Inst Nal Enf Resp Méx* 2004;17(3):215-231.
60. Reddy V, Saxena S, Aggarwal P, Sharma P, Reddy M. Incidence of central giant cell granuloma of the jaws with clinical and histological confirmation: an archival study in Northern India. *Br J Oral and Maxillofac Surgery* 2012;50(7):668–72.
61. Regezi JA, Zarbo R, Lloyd R. Muramidase, α -1 Antitripsin, α -1 Antichymotripsin, and S-100. Protein Immunoreactivity in Giant Cell Lesions. *Cancer* 1987;59(1):64-8.
62. Regezi JA. Comments on the pathogenesis and medical treatment of central giant cell granuloma. *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62(1):116-8.
63. Souza PE, Mesquita RA, Gomez RS. Evaluation of p53, PCNA, Ki67, MDM2 and AgNOR in oral peripheral and central giant cell lesions. *Oral Dis* 2000;6(1):35-9.
64. Souza PE, Paim JF, Carvalhais JN, Gomez RS. Immunohistochemical expression of p53, MDM2, Ki67 and PCNA in central giant cell granuloma and giant cell tumor. *J Oral Pathol Med* 1999;28(2):54-8.
65. Stavropoulos F, Katz J. Central giant cell granulomas: a systematic review of the radiographic characteristics with the addition of 20 new cases. *Dentomaxillofac Radiol.* 2002;31(4):213-7.

66. Sun ZJ, Cai Y, Zwahlen RA, Zheng YF, Wang SP, Zhao YF. Central giant cell granuloma of the jaws: clinical and radiological evaluation of 22 cases. *Skeletal Radiol.* 2009;38(9):903-9
67. Teixeira RC, Horz HP, Damante JH, Garlet GP, Santos CF, Nogueira et al. SH3BP2-encoding exons involved in cherubism are not associated with central giant cell granuloma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2011;40(8):851–5.
68. Theologie-Lygidakis N, Telona P, Michail-Strantzia C, Iatrou I. Treatment of central giant-cell granulomas of the jaws in children: conservative or radical surgical approach? *J Craniomaxillofac Surg* 2011;39(8):639-44.
69. Thode C, Jorgensen TG, Dabelsteen E, Mackenzie I, Dabelsteen S. Significance of myofibroblasts in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2011;40(3): 201–7.
70. Tiffée JC, Aufdemorte TB. Markers for macrophage and osteoclast lineages in giant cell lesions of the oral cavity. *J Oral Maxillofac Surg* 1997;55(10):1108-12.
71. Tobón-Arroyave SI, Franco-González LM, Isaza Guzmán DM, Floréz-Moreno GA, Bravo-Vásquez T, Castañeda-Peláez DA et al. Immunohistochemical expression of RANK, GR α and CTR in central giant cell granuloma of jaws. *Oral Oncol* 2005;41(5):480-8.
72. Tobón-Arroyave SI, Mideros-Simarra SM, Castaño-Ramírez LM, Flórez-Moreno GA, Isaza-Guzmán DM. Overexpression of matrix metalloproteinase (MMP)-1 and -9 in

- central giant cell lesions of the jaws: implications for clinical behavior. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010;110(6):755-63..
73. Tosco P, Tanteri G, Iaquinta C, Fasolis M y cols. Surgical treatment and reconstruction for central giant cell granuloma of the jaws: A review of 18 cases. *J Craniomaxillofac Surg.* 2009;37:380-387.
74. Tosios KI, Gopalakrishnan R, Koutlas IG. So-called hybrid central odontogenic fibroma/central giant cell lesion of the jaws. A report on seven additional cases, including an example in a patient with cherubism, and hypotheses on the pathogenesis. *Head Neck Pathol.* 2008; 2(4): 333-8.
75. Triantafillidou K, Venetis G, Karakinaris G, Iordanidis F. Central giant cell granuloma of the jaws: a clinical study of 17 cases and a review of the literature. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2011;120(3):167-74.
76. Vered M, Buchner A, Dayan D. Immunohistochemical expression of glucocorticoid and calcitonin receptors as a tool for selecting therapeutic approach in central giant cell granuloma of the jawbones. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2006;35(8):756–60.
77. Vered M, Nasrallah W, Buchner A, Dayan D. Stromal myofibroblasts in central giant cell granuloma of the jaws cannot distinguish between non-aggressive and aggressive lesions. *J Oral Pathol Med* 2007;36(8):495-500.
78. Vered M, Shohat I, Buchner A, Dayan D, Taicher S. Calcitonin nasal spray for treatment of central giant cell granuloma: Clinical, radiological, and histological

- findings and immunohistochemical expression of calcitonin and glucocorticoid receptors. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;104:226-39.
79. 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(10):1028-33.
80. Whitaker SB, Bouquot JE. Estrogen and progesterone receptor status of central giant cell lesion of the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1994;77(6):641-4.
81. Whitaker SB, Waldron CA. Central giant cell lesions of the jaws. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993;75(2):199-208.

CUADROS

Cuadro 4. Comparación entre el sexo, edad y frecuencia de (%) de inmunoexpresión de α -AML, calcitonina y glucocorticoides en células del estroma y células gigantes en LCCG.

No. Caso	Sexo	Edad	α -AML (%)	R-CT CGM (%)	R-CT PCE (%)	R-GC CGM (%)	R-GC PCE (%)
*1	F	11	96.0	90.0	13.0	100	99.4
2	F	22	26.9	23.0	0	100	55.9
*3	M	7	82.9	90.0	8.0	100	98.7
*4	F	80	29.7	100	4.7	100	100
*5	M	17	22.1	78.5	10.9	100	57.9
*6	M	22	26.3	100	13.1	100	82.9
7	F	28	74.4	100	28.1	100	99.0
8	M	11	84.0	66.6	4.4	100	97.8
*9	F	19	59.5	60.0	9.5	100	99.4
10	F	37	34.1	100	1.2	100	98.8
11	F	53	12.2	83.3	10.5	100	100
12	F	34	71.2	100	6.3	100	100
*13	F	29	66.3	100	6.6	100	100
14	F	59	91.4	94.7	12.8	83.3	82.3
15	M	11	20.6	100	8.7	100	95.1
16	F	11	47.6	16.6	0	100	58.2
17	M	8	12.7	100	6.5	100	76.8
18	F	--	89.8	100	28.2	100	98.9
*19	M	42	48.0	100	17.2	100	89.2
20	F	8	79.0	100	6.7	100	97.9
21	F	11	29.5	75.0	2.7	100	78.2
22	F	42	44.9	100	3.2	100	78.3
23	F	32	22.4	91.6	53.0	100	78.3
*24	F	11	77.7	100	25.4	100	97.8
25	F	23	51.3	100	4.4	100	62.1
*26	F	17	17.2	66.6	3.4	100	95.2
27	F	42	99.0	100	1.4	100	100
28	F	51	49.4	67.8	39.3	100	74.2
29	M	50	98.0	100	2.5	100	99.3
30	M	29	39.3	95.4	29.6	93.5	65.6
31	F	25	24.2	100	4.9	100	75.5
32	M	12	66.2	50.0	1.2	100	99.5
33	M	10	42.7	90.0	0	100	46.7
*34	F	9	91.9	100	5.2	95.0	94.8
*35	F	9	54.3	100	30.5	100	100

* Lesiones con comportamiento agresivo

R-CT; Receptores de calcitonina, R-GC; Receptores de glucocorticoides, CGM; Células gigantes multinucleadas
PCE; Población de células del estroma.

Cuadro 5. Localización de lesión central de células gigantes

Lesión central de células gigantes			
		n = 35	(%)
Localización			
Mandíbula		20	(57.0)
Maxilar		14	(40.0)
Sin datos		1	(3.0)

Cuadro 6. Características radiográficas de 35 casos de lesión central de células gigantes

Lesión central de células gigantes	n = 35 (%)	
Datos Radiográficos		
Desplazamiento OD	8	(22.9)
Reabsorción radicular	8	(22.9)
Adelgazamiento corticales	6	(17.1)
Perforación corticales	6	(17.1)
Bordes irregulares	7	(20.0)
Multilocular	6	(17.1)

Cuadro 7. Características histológicas en H&E de lesión central de células gigantes

Lesión central de células gigantes	n= 35	(%)
Tejido conectivo		
Células fusiformes	20	(57.1)
Fascículos de colágeno maduro	8	(22.9)
Ambos	7	(20.0)
No. células gigantes 40x		
Menos de 10 por campo	12	(34.3)
Más de 10 por campo	9	(25.7)
Más de 20 por campo	14	(40.0)
Distribución perivascular	33	(94.3)
Formación de Hueso	17	(48.6)
1 área	4	(23.5)
2 áreas	7	(41.2)
3 áreas	6	(35.3)
Hemorragia		
Intralesional	34	(97.1)
Hemosiderina	10	(28.6)
Espacios vasculares	19	(54.2)
Pequeños	16	(45.8)
Grandes		
Infiltrado inflamatorio	9	(25.8)
Crónico		

H & E; Hematoxilina y eosina

Cuadro 8. Expresión de receptores de calcitonina en CGM con edad en LCCG

Edad	n= 35	Promedio (%)	<i>P</i>
< Menores de 20 años	16	80	
Mayores > de 21 años	18	92	<i>P</i> = 0.03 *
Sin dato	1	---	

CGM; Células gigantes multinucleadas, LCCG; Lesión central de células gigantes

Cuadro 9. Expresión de receptores de calcitonina en PCME con edad en LCCG

Edad	n= 35	Promedio (%)	P
< Menores de 20 años	16	8.5	
Mayores >21	18	13.3	<i>P</i> = 0.53
Sin dato	1	---	

PCME; Población de células mononucleares del estroma, LCCG; Lesión central de células gigantes

Cuadro 10. Intensidad de expresión de receptores de calcitonina y glucocorticoides en células gigantes multinucleadas en LCCG.

	R-Glucocorticoides	R-Calcitonina
	n = 35 (%)	n = 35 (%)
Intensa (3)	31 (89)	18 (51)
Moderada (2)	3 (8)	9 (26)
Leve (1)	1 (3)	8 (23)

LCCG; Lesión central de células gigantes
Prueba X^2 $P > 0.05$

Cuadro 11. Intensidad de expresión en receptores de calcitonina y glucocorticoides en PCME en LCCG.

	R-Glucocorticoides	R-Calcitonina
	n = 35 (%)	n = 35 (%)
Intensa (3)	15 (43)	---
Moderada (2)	15 (43)	3 (9)
Leve (1)	5 (14)	29 (82)
Sin expresión	---	3 (9)

PCME; Población de células mononucleares del estroma, LCCG; Lesión central de células gigantes.
Prueba X^2 $P=0.003$

Cuadro 12. Diferencias entre la expresión de α -AML, RCT y RGC en lesiones con características clínicas entre no agresivas y agresivas.

	No agresivos	Agresivos	<i>*P</i>
	n= 23 (%)	n =12 (%)	
Receptores α -AML PCME	52.6	55.9	0.63
Calcitonina CGM PCME	84.9 11.3	90.4 12.0	0.75 0.56
Glucocorticoides CGM PCME	98.8 83.4	99.5 93.9	0.70 0.95

*Wilcoxon / Kruskal-Wallis Tests (Rank Sums)

PCME, Población de células mononucleares estromales, α -AML; α - actina musculo liso, RCT; Receptores de calcitonina, RGC; Receptores de glucocorticoides.

FIGURAS

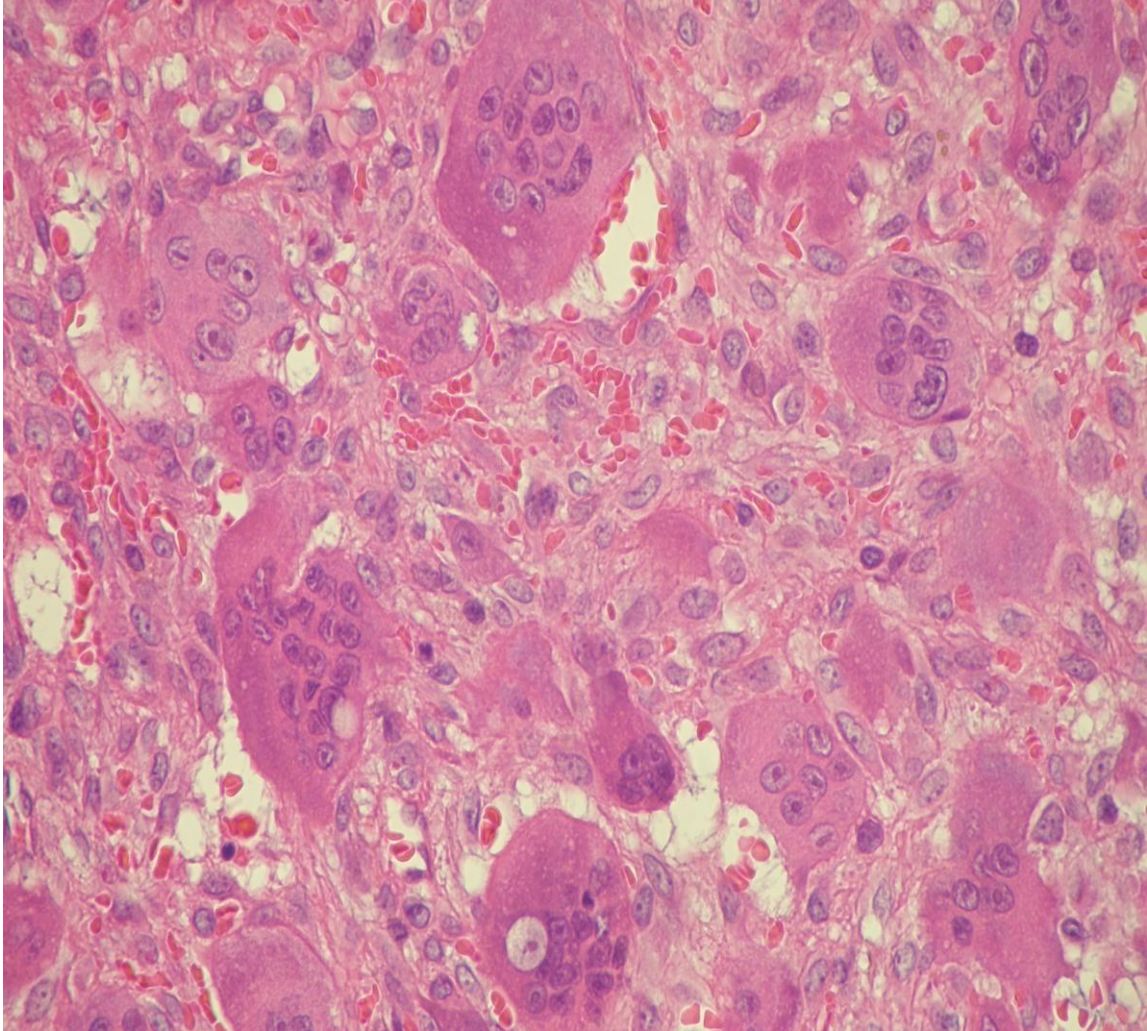


Figura 15. Células gigantes multinucleadas con distribución perivascular, población de células mononucleares estromales y áreas de hemorragia extravasada en LCCG.

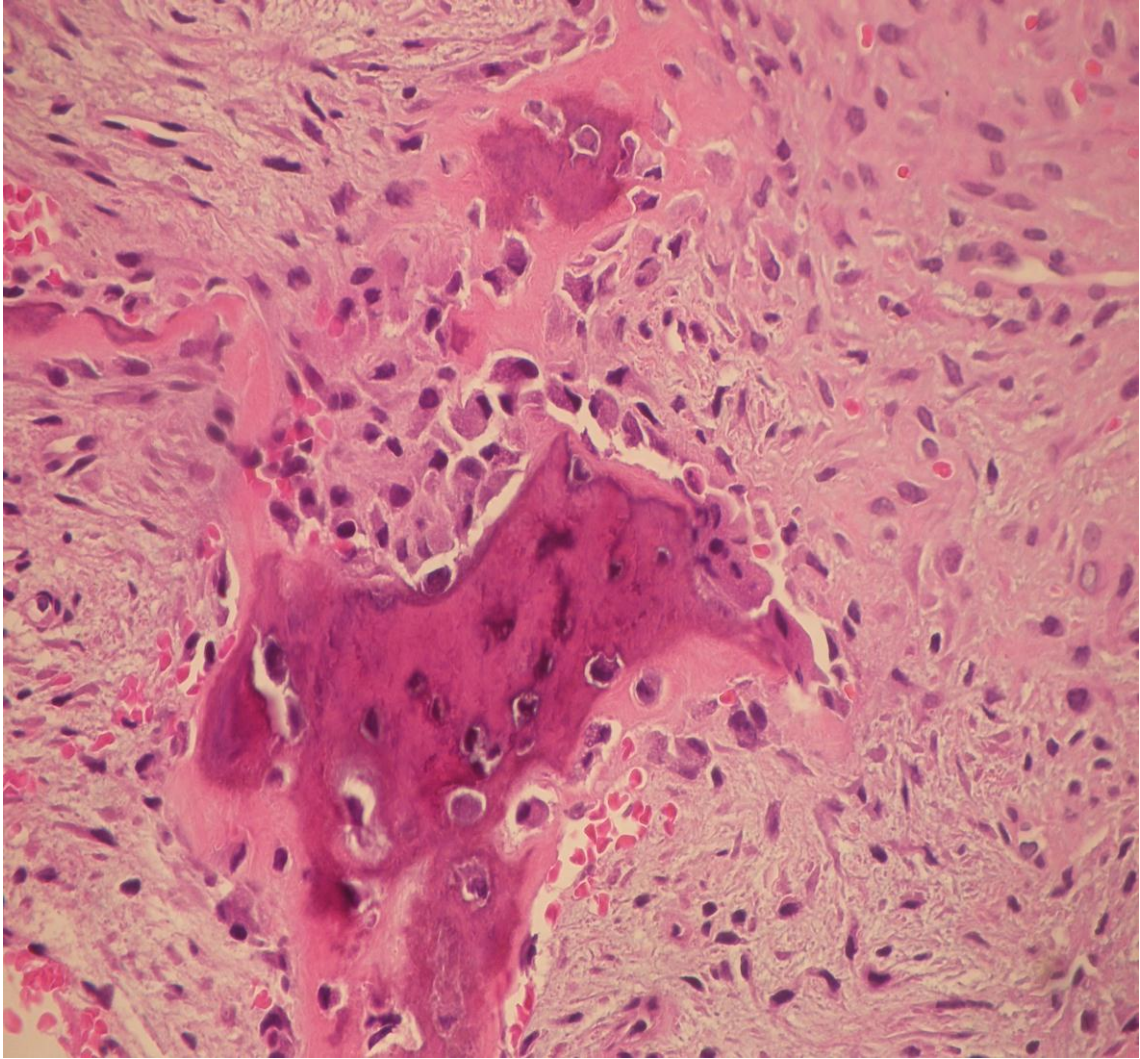


Figura 16. Población de células mononucleares estromales y áreas de hueso reactivo en un caso de LCCG.

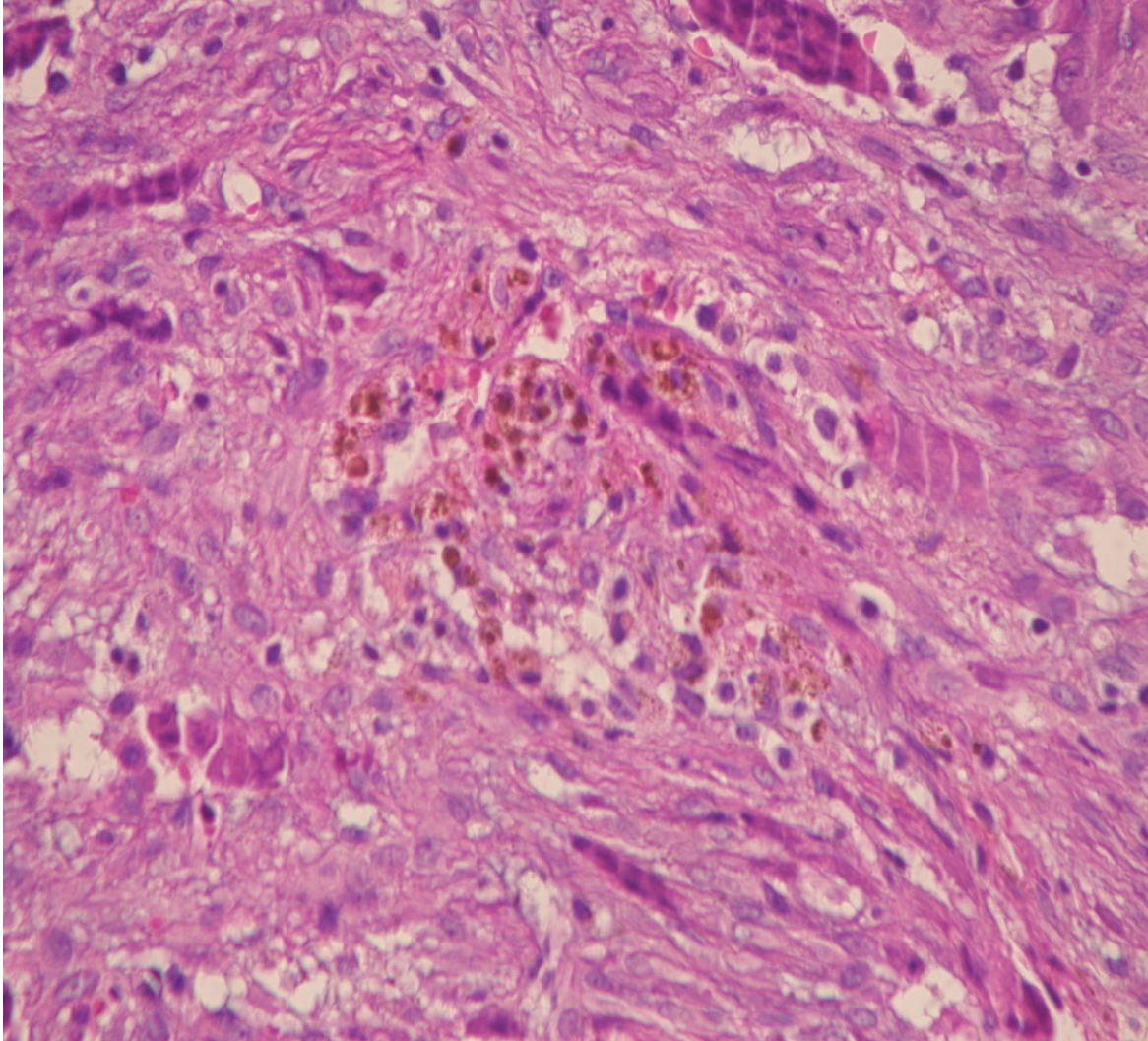


Figura 17. Depósitos de hemosiderina en el estroma de un caso de lesión central de células gigantes.

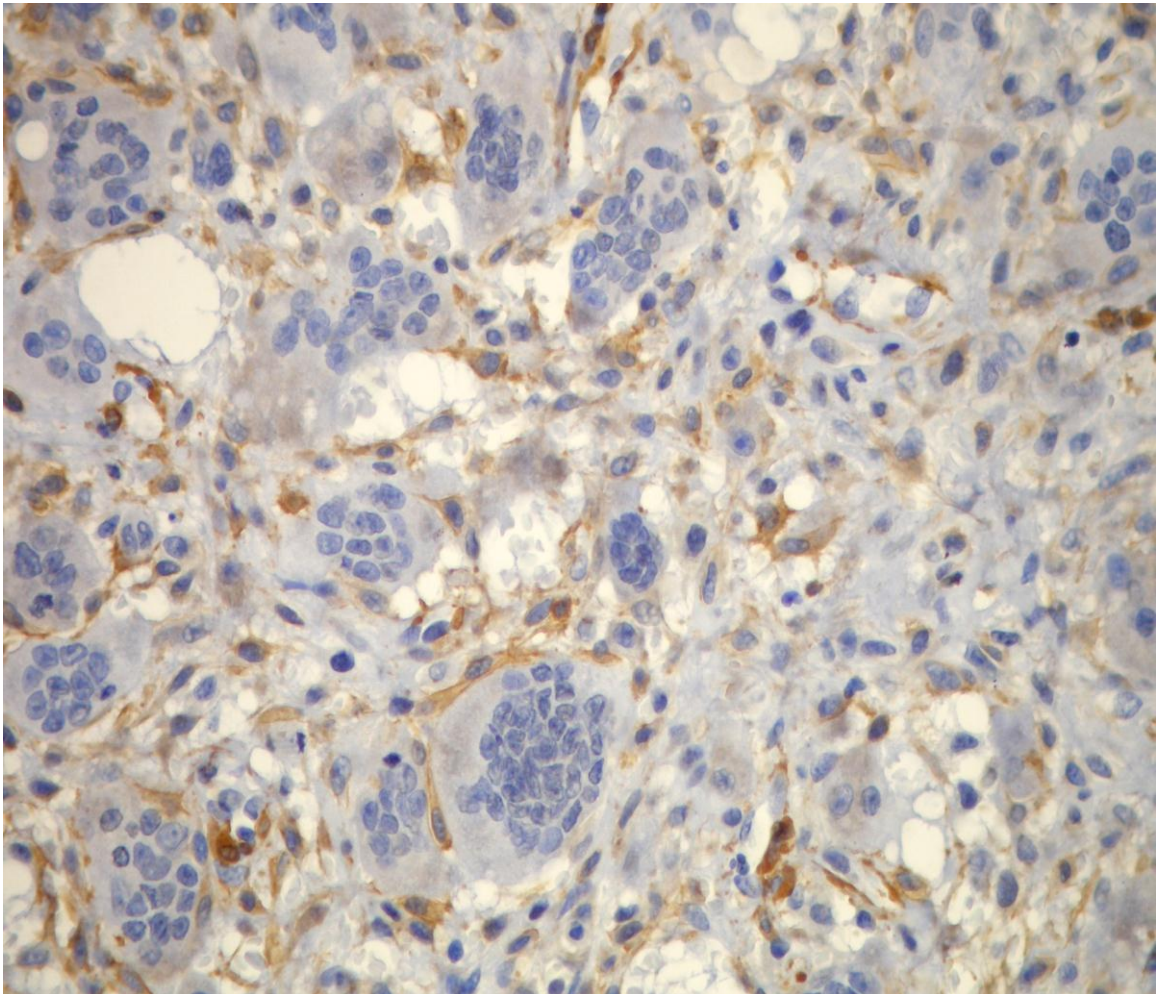


Figura 18. Expresión de α -AML en las células fusiformes del estroma, en lesión central de células gigantes.

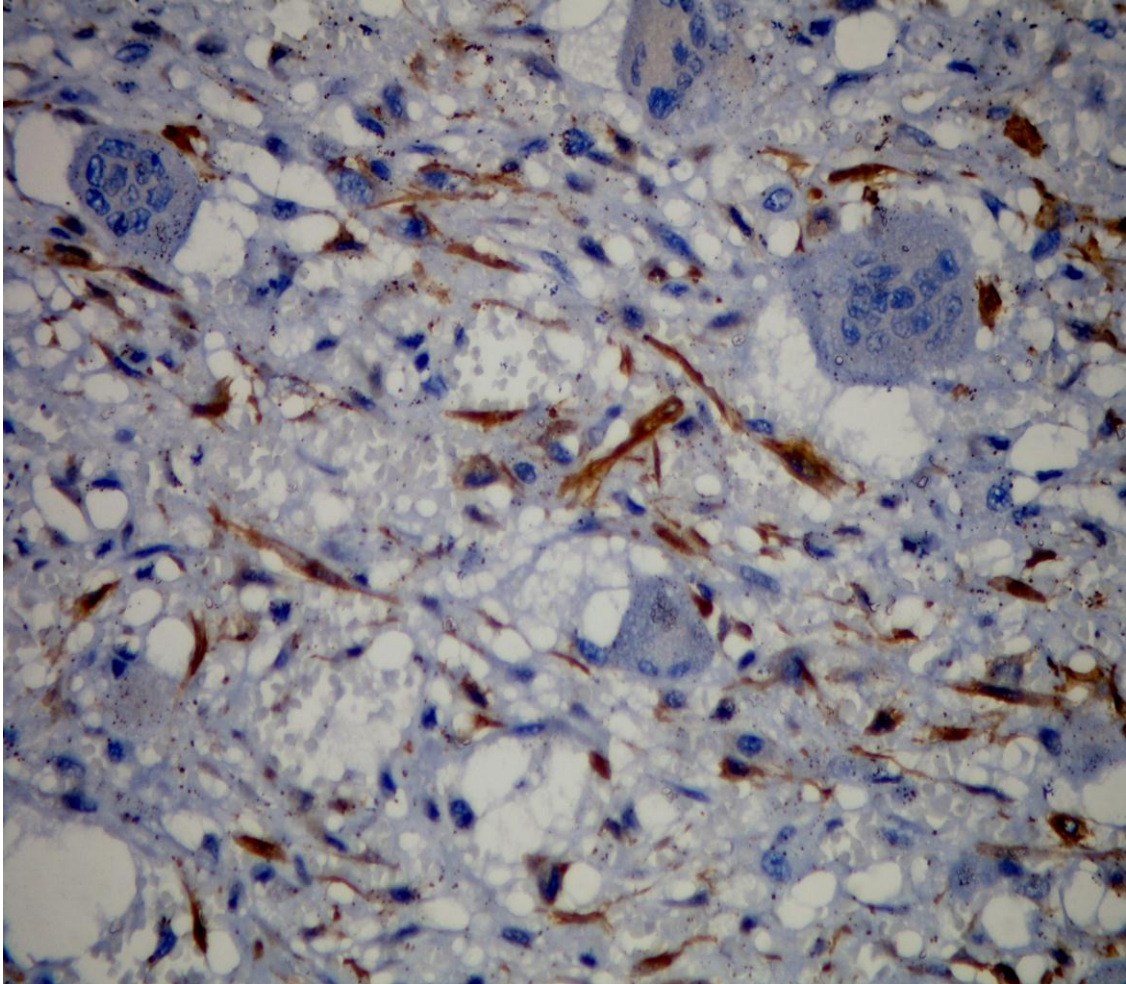


Figura 19. Expresión de a-AML en células mononucleares de aspecto fusiforme, en algunas se observa microtendones en lesión central de células gigantes.

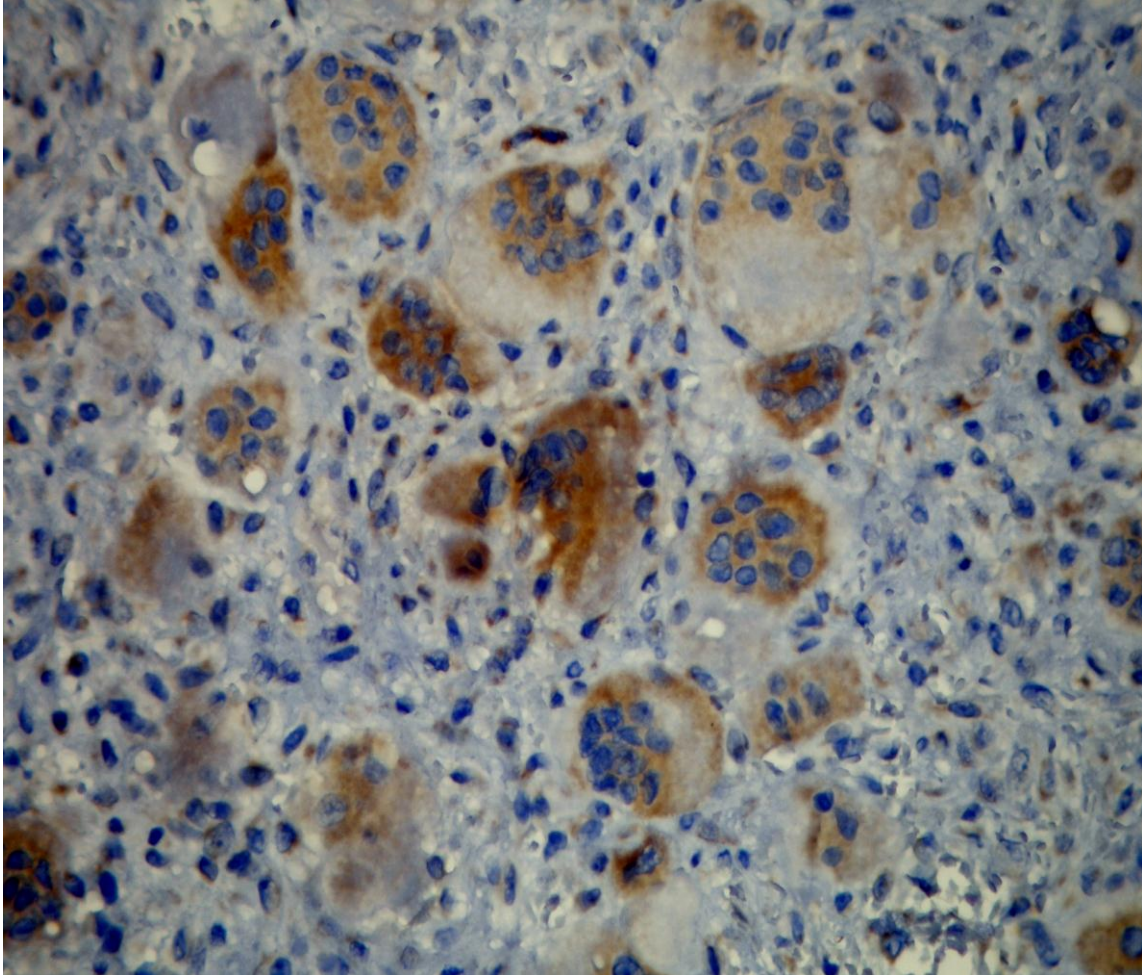


Figura 20. Expresión de receptores de calcitonina en células gigantes multinucleares con tinción moderada en lesión central de células gigantes.

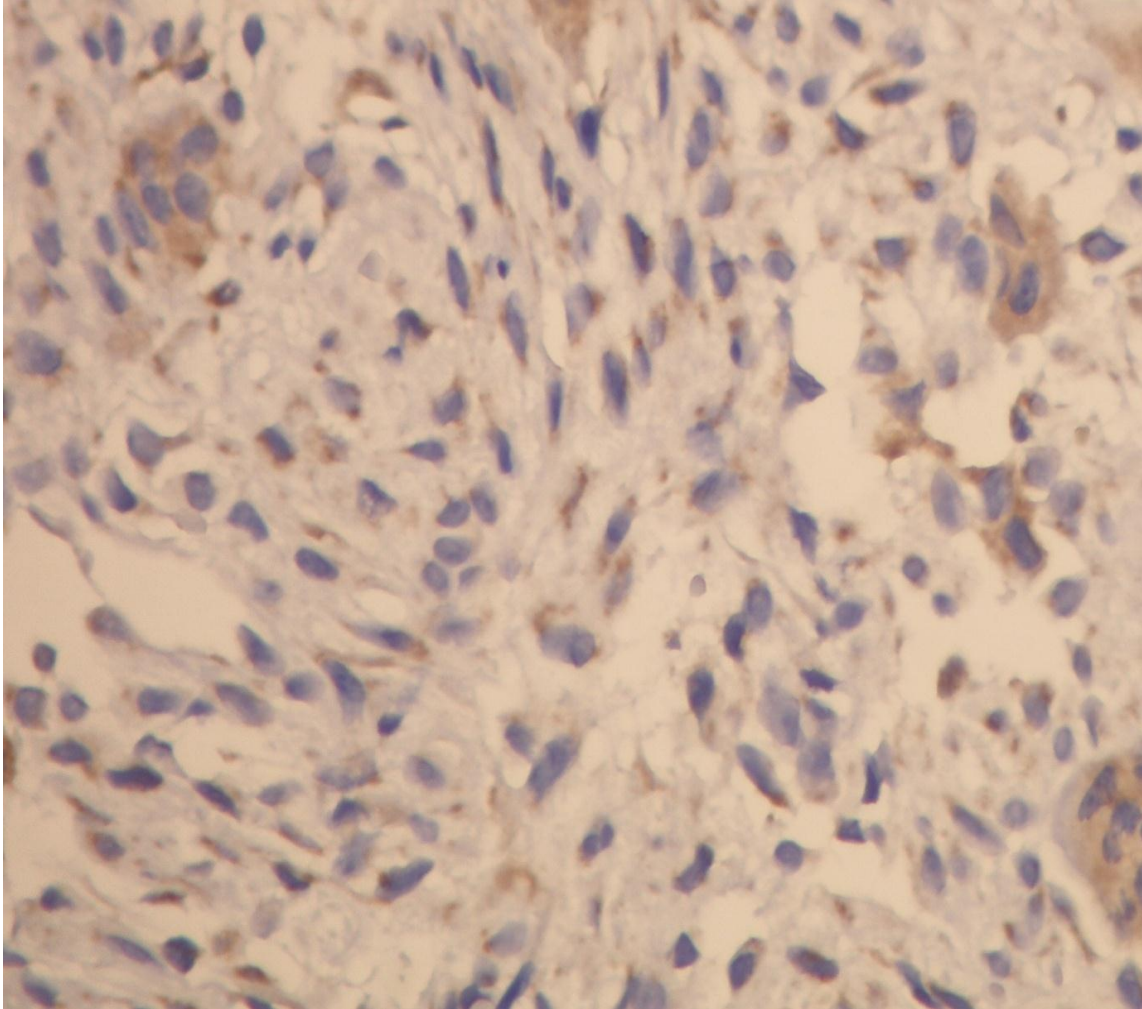


Figura 21. Expresión de receptores de calcitonina en población de células mononucleares del estroma con tinción leve en un caso de lesión central de células gigantes.

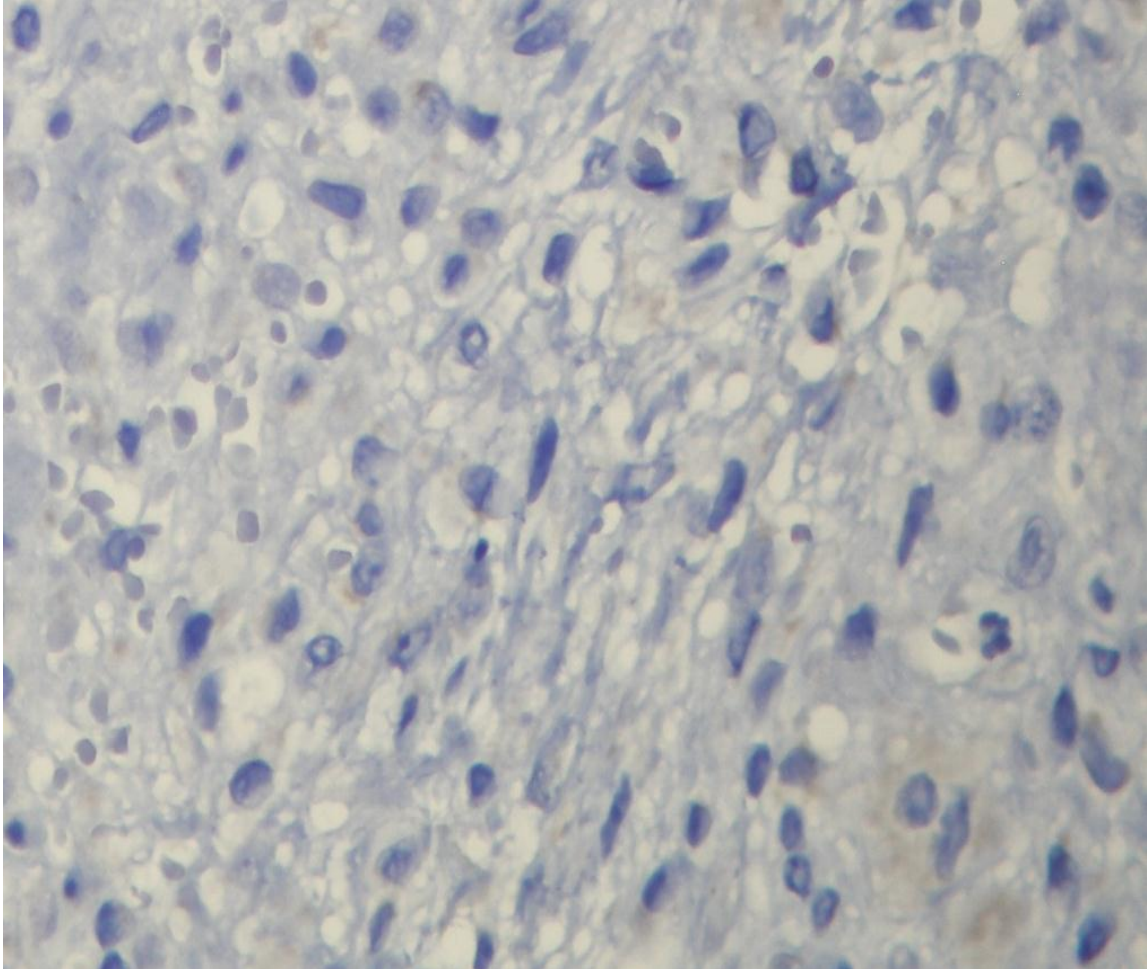


Figura 22. Expresión negativa de receptores de calcitonina en población de células mononucleares del estroma en lesión central de células gigantes.

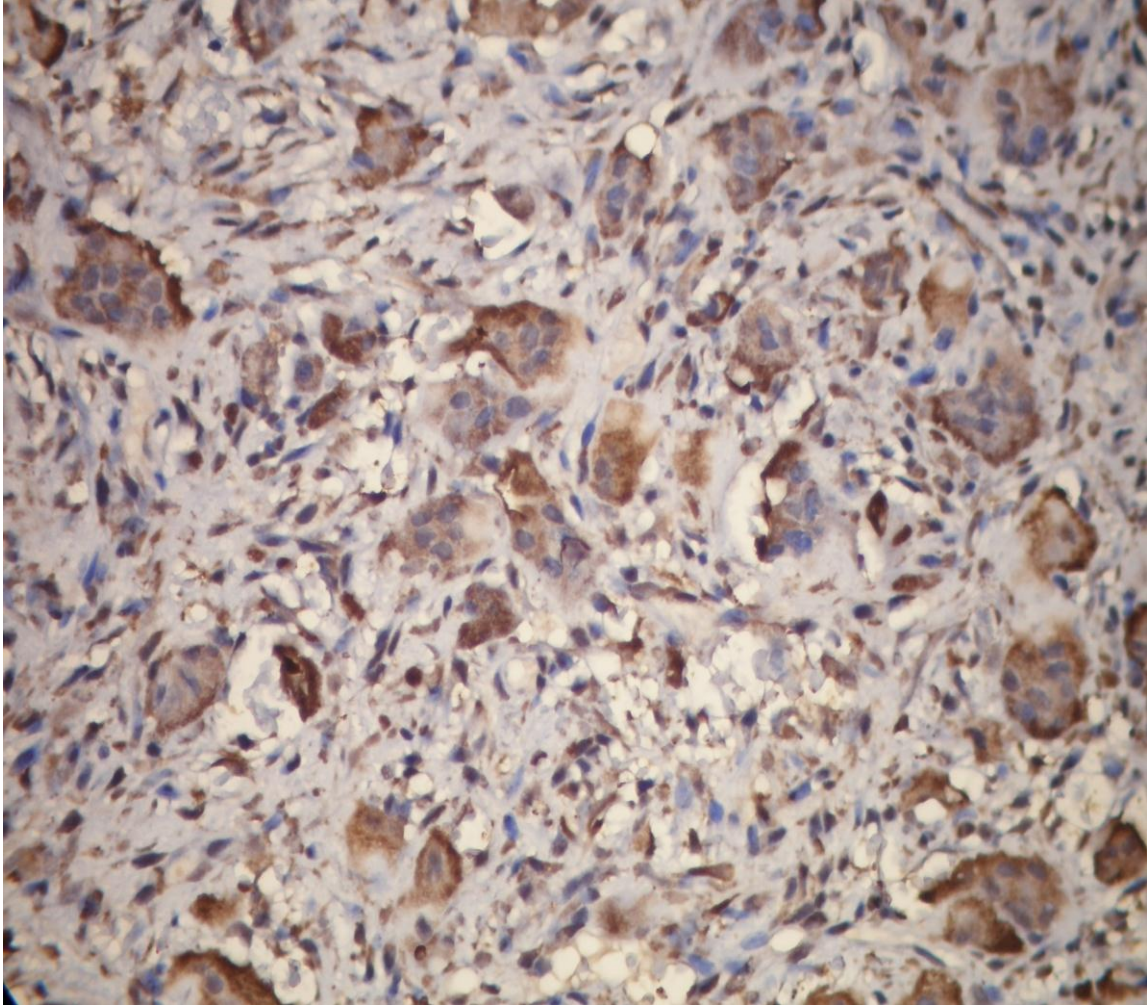


Figura 23. Expresión de receptores de glucocorticoides en células gigantes multinucleadas con tinción intensa, en población de células mononucleares del estroma la intensidad es moderada.

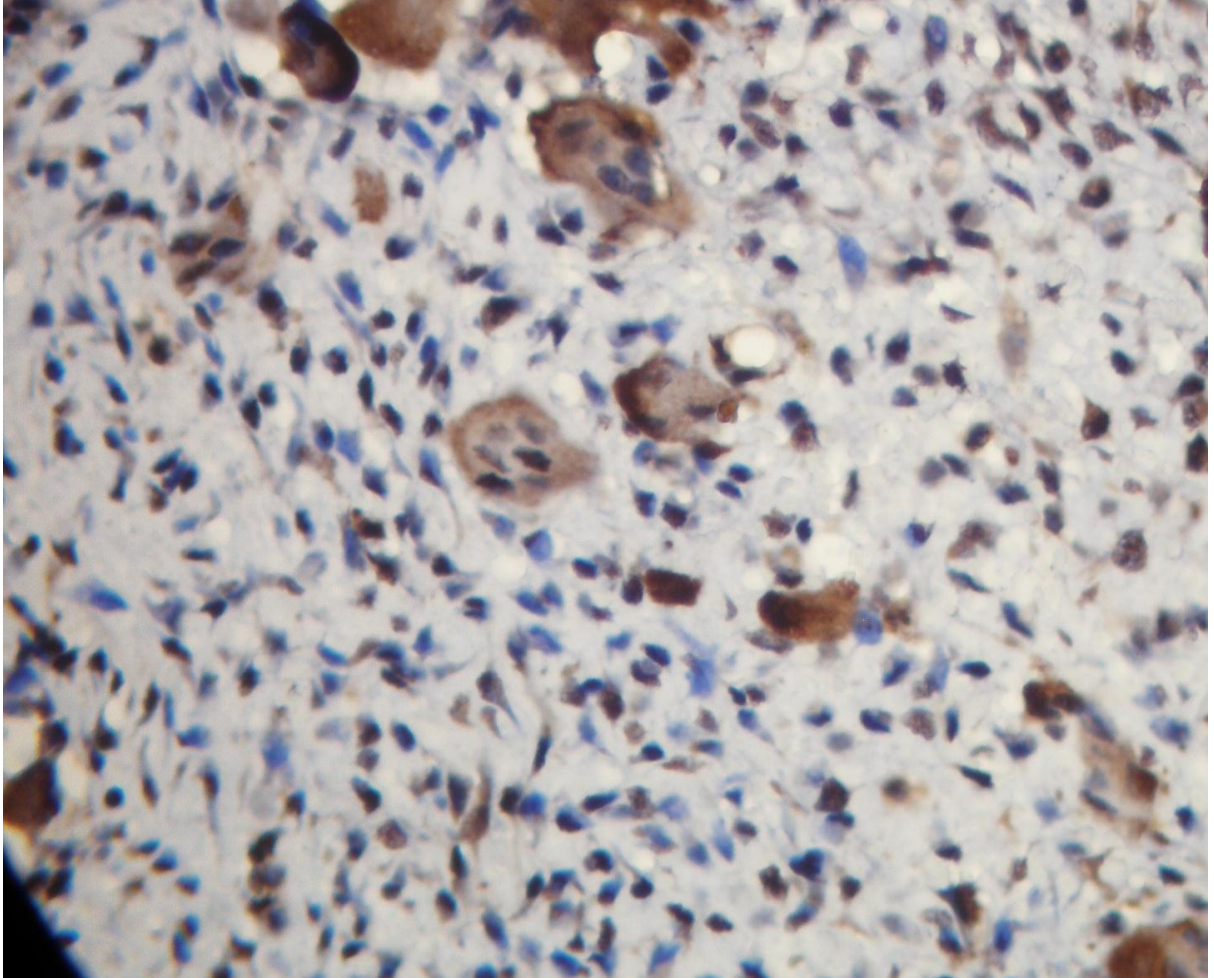
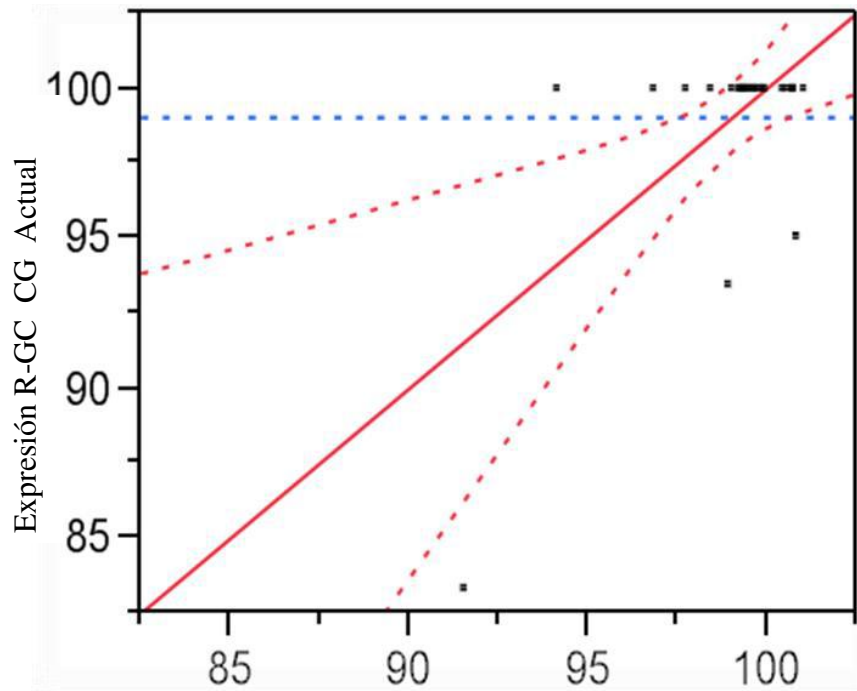


Figura 24. Expresión de receptores de glucocorticoides con tinción leve en población de células mononucleares del estroma y tinción intensa en células gigantes multinucleadas.

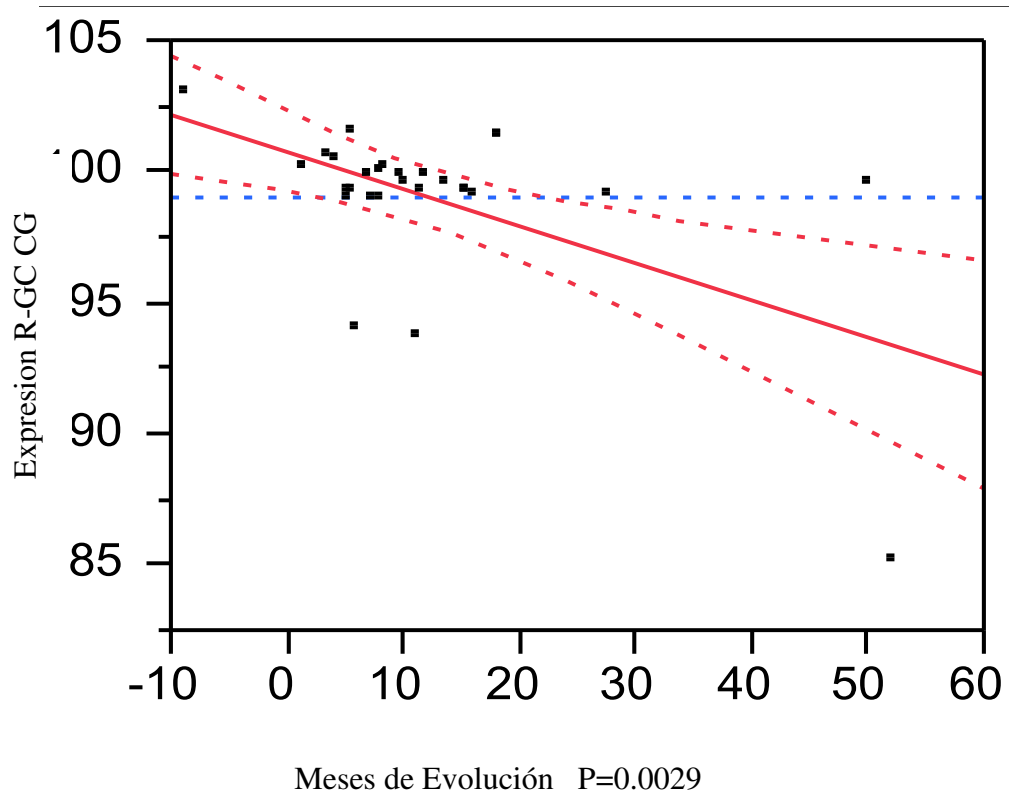
Figura 25. Respuesta de expresión de glucocorticoides en células gigantes multinucleadas.



Expresión R-GC CG Predicción
P=0.0034 RSq=0.37 RMSE= 2.8388

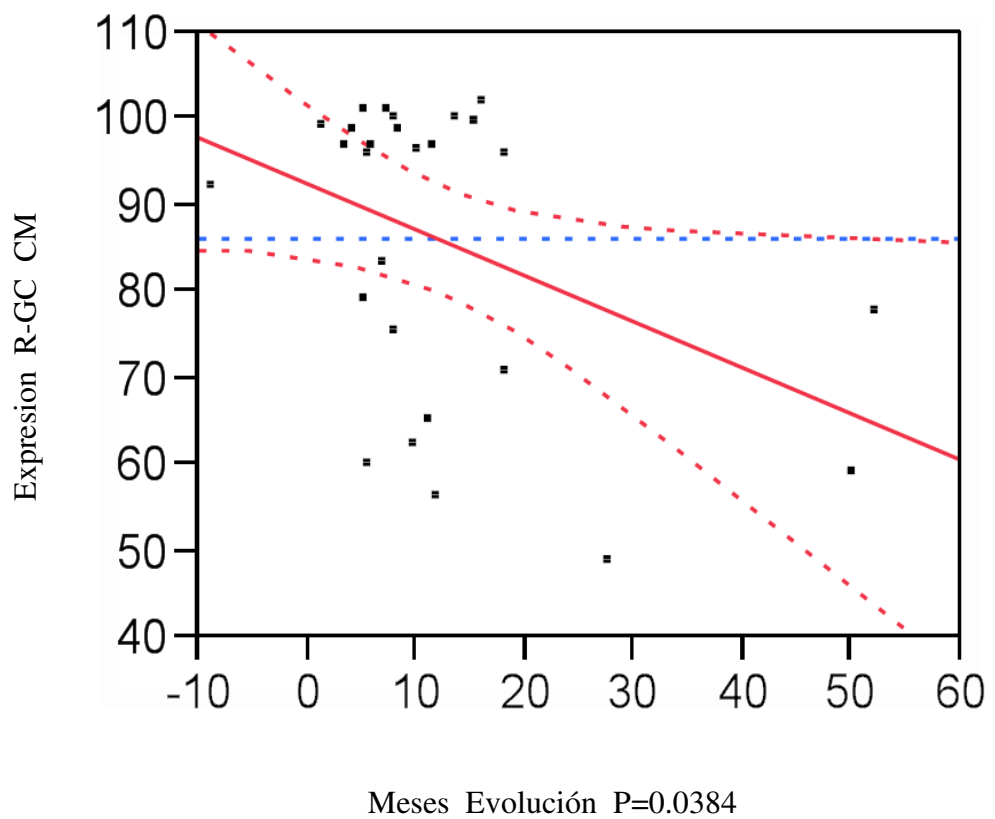
Prueba de análisis de regresión lineal.

Figura 26. Expresión de glucocorticoides en células gigantes multinucleadas y tiempo de evolución (meses).



Usando la prueba de análisis de regresión lineal, se muestra que mientras más tiempo de evolución de la lesión los receptores de glucocorticoides van disminuyendo en frecuencia.

Figura 27. Expresión de glucocorticoides en células del estroma y meses de evolución.



ANEXOS

Anexo 1. Hoja de recolección de datos



Expresión por inmunohistoquímica de receptores de calcitonina, glucocorticoides y α -actina musculo liso en lesiones centrales de células gigantes.

DATOS DEMOGRÁFICOS

No. de expediente _____ Nombre _____ Fecha _____
 Sexo _____ 0 [masculino] 1 [femenino]. Edad _____
 No. de bloque y laminilla _____

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Sintomatología 0 [asintomático] 1 [dolor] 9 [dato faltante]. Parestesia 0 [no] 1 [si]
 Recurrencia 0 [no] 1 [si]. Desplazamiento dental 0 [no] 1 [si]. Evolución meses.
 Localización 1 [mandíbula] 2 [maxilar] 3 [zona/mentón (canino a canino)] 4 [maxilar y mandíbula] 9 [dato faltante]

CARACTERÍSTICAS RADIOGRÁFICAS

Radiolúcida 0 [no] 1 [si]. Multilocular 0 [no] 1 [si]. Bordes 0 [bien definidos] 1 [irregulares].
 Perforación de corticales 0 [no] 1 [si]. Adelgazamiento/corticales 0 [no] 1 [si]
 Desplazamiento radicular 0 [no] 1 [si] Reabsorción radicular 0 [no] 1 [si]

ANÁLISIS DE INMUNOHISTOQUÍMICA

	CD68	α -AML	R-CT	R-GC
	No. cel. Teñidas No. cel. Observadas	No. cel. Teñidas No. cel. Observada	No. cel. Teñidas No. cel. Observadas	No. cel. Teñidas No. cel. Observada
PORCENTAJE CEL. +				
INTENSIDAD/ TINCIÓN				

NEGATIVA (0), LEVE (1), MODERADA (2), INTENSA (3)

Anexo 2. Hoja de características histomorfológicas



Expresión por inmunohistoquímica de receptores de calcitonina, glucocorticoides y α -actina musculo liso en lesiones centrales de células gigantes.

DATOS DEMOGRÁFICOS

No. de bloque y laminilla: _____ No Folio _____ Fecha: _____

Nombre: _____ Sexo: _____ 0 [masculino] 1 [femenino].

Edad: _____

CARACTERÍSTICAS HISTOMORFOLÓGICAS

Tejido conectivo predomina	
Células fusiformes	n0 (0) si (1)
Fascículos de colágeno maduro	

Hemorragia presente	
Intralesional (eritrocitos extravasados)	0 NO (1) si
Focos de hemosiderina	

N de Células gigantes	
10 X un campo	
40 X un campo	

Espacios vasculares 10X	
Pequeños neoformados	
Grandes lumen grande	

Distribución perivascular	número CGM
Células Gigantes 40X	
focos no perivascular	

Infiltrado inflamatorio	
Agudo presente (1) ausente 0	
Linfoplasmocitario	

Formación / Hueso 10X	
Ausente (0)	
Presente (1)	
2 áreas (2)	
3 áreas (3)	

Anexo 3. Definiciones

CATEPSINAS: Son proteasas (enzimas que degrada proteínas). Existen aproximadamente una docena de miembros de esta familia, las cuales se distinguen por su estructura, mecanismo catalítico y proteínas que desdoblan. Su actividad se encuentra casi en su totalidad a los organelos. **Catepsina β** ; parece actuar destruyendo las proteínas que causan placa amiloidea, degradan miosina y en menor grado actina. **Catepsina *L***; degrada miosina, actina, α -AML, troponina T y troponina I. Tanto la catepsina β y *L* son enzimas más importantes en la degradación de colágena.

CD68: (cúmulo de diferenciación 68) es una glicoproteína expresada en la membrana plasmática de los macrófagos. La función de CD68 parece ser la captación de lipoproteínas de baja densidad.

CELULAS GIGANTES MULTINUCLEADAS: (CGM) Se originan de la fusión de monocitos o macrófagos activados, células multinucleadas de gran tamaño, que contienen de 2 a varios núcleos. Estas células reciben nombres especiales según su origen, localización o función. Ejemplo: células gigantes de cuerpo extraño, osteoclastos, células de Langerhans (TBC), célula de Touton, etc.

FOSFATASA ALCALINA (orto-fosfórico-monoéster hidrolasa): La fosfatasa alcalina (ALP) es una enzima hidrolasa responsable de eliminar grupos de fosfatos de varios tipos de moléculas como nucleótidos, proteínas y alcaloides. El proceso de eliminar el grupo fosfático se denomina des-fosforilación. Como sugiere su nombre, las fosfatasas alcalinas son más efectivas en un entorno alcalino. Se encuentran presentes en casi todos los tejidos

del organismo, siendo particularmente alta en huesos, hígado, placenta, intestinos y riñón. Tanto el aumento, así como su disminución en plasma tienen significado clínico.

GLUCORONIDASA: Enzima que cataliza la hidrólisis de glucuronósidos a glucuconatos y alcoholes.

HIPERPARATIROIDISMO: Estado metabólico en el que se produce un aumento en la secreción de hormona paratiroidea (PTH), de etiología múltiple; la forma primaria suele deberse a un tumor benigno (adenoma paratiroideo) de alguna de las cuatro glándulas paratiroides, que produce hormona en exceso. Dentro de las manifestaciones de esta enfermedad, los tumores pardos representan un ejemplo de lesión focal.

HORMONA PARATIROIDES (PTH): Su función principal es el control del metabolismo del calcio. Es una hormona proteica secretada por la glándula paratiroides que interviene en la regulación del metabolismo del calcio; aumentando la resorción ósea al estimular a los osteoclastos para degradar el hueso, lo que libera más calcio al torrente sanguíneo. Además, regula los niveles de iones fósforo en la sangre, de tal forma que hace descender la concentración de ellos en este medio al aumentar su excreción renal (hiperfosfaturia). En el hueso: activa la función de los osteoclastos, para aumentar la resorción (pérdida) de hueso y así aumentar los niveles plasmáticos de calcio. En el riñón: estimula la reabsorción renal de calcio, en intercambio con el fósforo, que es eliminado (hiperfosfaturia e hipocalciuria). En intestino: actúa sobre la mucosa intestinal favoreciendo la absorción de calcio.

INMUNOHISTOQUIMICA: Procedimiento histopatológico cuyo principio es la utilización de reactivos basados en anticuerpos específicos, previamente marcado mediante un

enlace químico con enzimas que puede transformar un sustrato en visible, sin afectar la capacidad del anticuerpo para formar un complejo con el antígeno, aplicado a una muestra de tejido orgánico.

Ki67: Marcador del ciclo y proliferación celular, con reacción nuclear.

LISOZIMA: Enzima lítica que hidroliza la mureína de la pared bacteriana atacando la unión entre el ácido N-acetil-murámico y la N-acetilglucosamina. La lisozima es abundante en numerosas secreciones como saliva, lágrimas y moco. Está presente también en los gránulos citoplasmáticos de los neutrófilos polimorfonucleares *PMN*.

METALOPROTEINASAS: Las MMP constituyen una familia de endopeptidasas neutras dependientes de zinc, capaces de degradar los componentes esenciales de la matriz extracelular, implicados en procesos fisiológicos y patológicos e intervienen en la rotura de la matriz extracelular (ECM). Se han descrito 25 miembros de la familia MMP, clasificadas en cinco subfamilias: colagenasas, gelatinasas, estromelisin, metaloproteasas de membrana (MT-MMP) y otras MMP. **La MMP1** involucradas en la progresión tumoral, **Las MMP2 y MMP9** (gelatinasas A y B), se distinguen por la inserción de tres repeticiones ricas en cisteína en el dominio catalítico. Estos insertos se parecen a las repeticiones de unión al colágeno tipo II de la fibronectina y se requieren para unirse y romper colágeno y elastina. La degradación de la ECM es crucial para el crecimiento tumoral maligno, invasión, metástasis y angiogénesis.

NEUROFIBROMATOSIS TIPO 1: Padecimiento neurocutáneo progresivo de transmisión autosómica dominante, causado por mutaciones en el gen de NF1 localizado en el

cromosoma 17, tiene expresividad clínica variable; como: aparición de numerosos neurofibromas, manchas café con leche, nódulos de Lisch (hamartomas melanocíticos en la superficie del iris), glioma óptico, lesiones óseas (escoleosis y displasias congénitas), problemas de aprendizaje (hipotonía, alteraciones en la coordinación y trastornos por déficit de atención).

OSTEOCLASTOS: Células multinucleadas que interviene en el crecimiento óseo.

OSTEOPROTEGERIN (OPG) (TNFRSF11B) (OCIF): Factor inhibidos de la osteoclastogénesis. Miembro de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral (TNFR) cuya principal función parece ser la inhibición de la maduración de osteoclastos y de su activación.

POBLACIÓN DE CELULAS MONONUCLEARES DEL ESTROMA: (PCME)

Células del estroma caracterizadas por poseer un único núcleo; como monocitos, fibroblastos, mio-fibroblastos y linfocitos.

PROTEINA RELACIONADA A PTHyP: Proteína con actividad biológica en la homeostasis del calcio y fosfato es indistinguible de la hormona paratiroidea, capaz de regular el crecimiento celular y la apoptosis por vía intracrina.

QUERUBISMO: Enfermedad hereditaria autosómico dominante caracteriza por distención simétrica de mandíbula, lo cual conduce a la típica expresión facial. Las características histológicas son indistinguibles de la lesión central de células gigantes.

RANK (RECEPTOR ACTIVADOR NF-Kb): Codificado por un gen del cromosoma 18q22.1. Su RNAm se expresa en osteoclastos maduros y en sus progenitores aislados de

médula ósea, se encuentra principalmente en células de la estirpe monocítica-macrófaga, preosteoclastos, células T y B, células dendríticas y fibroblastos. Su activación conlleva no sólo una reorganización en el citoesqueleto del osteoclasto y cambios fundamentales para su activación, movilidad y establecimiento en la superficie ósea a resorber, desencadena una señal de supervivencia en el osteoclasto maduro.

RANKL: (ligando de unión al Receptor Activador de NF-kB), molécula del metabolismo óseo. Se encuentra en la superficie de la membrana de osteoblastos, células del estroma y linfocitos T. Su principal función es la activación de los osteoclastos, células implicadas en la resorción ósea. La superproducción de RANKL está implicada en gran variedad de enfermedades degenerativas del tejido óseo, como la artritis reumatoide o la artritis psoriásica.

RECEPTORES DE CALCITONINA

RECEPTORES DE GLUCOCORTICOIDES

RECEPTOR VITRONECTIN: Receptor ubicuo que interactúa con varios ligandos como: vitronectina, Fibronectina, osteopontina, y metaloproteinasa MMP-2. Desempeña un papel biológico en diversos procesos: como migración celular, invasión tumoral, resorción ósea, angiogénesis, y la capacidad de respuesta inmune.

SH3BP2: Gen cuya mutación está asociado a querubismo. La proteína codificada por este gen; Funciona como una proteína adaptadora citoplasmática, para regular positivamente la transcripción actividad en linfocitos T, natural killer (NK) y células basófilas.

SINDROME DE NOONAN: Desorden congénito, autosómico dominante, clínicamente con características faciales distintivas (Ojos de base amplia o inclinados hacia abajo, Hipoacusia(varía), orejas de implantación baja o de forma anormal, párpados caídos (ptosis), cuello corto con pliegues (pterigium colli), estatura corta, deformidad de pecho, cardiopatía congénita, retraso mental leve en un 25% de los casos, manifestaciones dermatológicas (ictiosis y oscurecimiento de la piel). Los análisis de sangre detectan valores bajos de testosterona y valores altos de dos hormonas pituitarias: hormona luteinizante y foliculoestimulante. Caracterizado por presencia de lesiones centrales de células gigantes.

TRANSCRIPCIÓN: Mecanismo celular por el cual la información genética contenida en el ADN es transferida a una molécula de ARN, mediante la enzima ARN polimerasa.

TRAP (FOSFATASA ACIDO TARTRATO RESISTENTE): Juega un papel importante en la resorción ósea. Es el único de los marcadores de remodelado que evalúa la actividad directa del osteoclasto. Los niveles plasmáticos de TRAP están elevados en pacientes con enfermedades óseas metabólicas que cursan con un aumento en la velocidad del remodelado óseo.

TUMOR PARDO DEL HIPERPARATIROIDISMO: Lesión reparativa de células gigantes, se observan como una lesión osteolítica, por lo general multilocular, bien delimitada y con adelgazamiento de corticales óseas, pueden aparecer en cualquier parte del esqueleto; en cabeza y cuello, afectan generalmente la mandíbula, se han descrito tumores en otras áreas del macizo facial incluida la región orbitaria. Es importante el diagnóstico diferencial con otras lesiones de células gigantes que afectan a los maxilares.

A-1 ANTIQUIMOTRIPSINA: Enzimas de macrófagos que se han empleado como marcadores inmunológicos. La inmunoreactividad de las células muestra antígenos de diferenciación de macrófagos en varios tipos de neoplasias.