



**LESIONES FIBRO-ÓSEAS DE LOS MAXILARES, ANÁLISIS CLÍNICO-
PATOLÓGICO Y PATRÓN DE EXPRESIÓN ESPACIAL DE LOS
MARCADORES STRO-1, CD146, CEMP-1, CAP, OCN Y BSP EN CASOS
SELECCIONADOS**

Idónea comunicación de resultados

Que para obtener el grado de

Maestra en Patología y Medicina Bucal

P R E S E N T A

Karla González Alvarado.

Comité tutorial:

Co-Directora: Dra. Martha González Guevara.

Co-Director: Dr. Higinio Arzate.

Asesora: Dra. María Esther Irigoyen Camacho.

Asesora: MP y MB. Jessica Lissete Maldonado Mendoza.

Ciudad de México, junio 2017.

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

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

KARLA GONZÁLEZ ALVARADO

Comité Tutorial:

Co-Directora: Dra. Martha González Guevara

Co-Director: Dr. Higinio Arzate

Asesor: Dra. María Esther Irigoyen Camacho

Asesor: Jessica Lissete Maldonado Mendoza

Jurado:

Dra. Irma Gabriela Anaya Saavedra

Dra. Lia Alioth Hoz Rodríguez

Dra. Velia Aydée Ramírez Amador

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y mis hermanos, mi fortaleza y mayor inspiración en la vida, por su amor y apoyo incondicional.

A mi compañero de vida por sus consejos, paciencia y cariño.

A los docentes del posgrado de Patología por haberme dado la oportunidad de seguir aprendiendo, en especial a mi Co-directora Dra. Martha González por creer en mí. Para ustedes mi respeto y admiración.

A el Laboratorio de Tejidos Mineralizados de la Universidad Autónoma de México por el apoyo material y académico, en especial a mi Co-director Dr. Higinio Arzate, a la Dra. Lia Hoz y a Sonia por abrirme las puertas, por su confianza y apoyo en este proyecto.

A mis amigos y compañeros, especialmente a la Dra. Daniela Muela por sus consejos y orientación.

A la familia Concha y a todas esas personas que desinteresadamente me brindaron su apoyo en mi estadía por la CDMX.

La autora también agradece el apoyo económico recibido por parte de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco y CONACYT.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	I
ÍNDICE DE CUADROS	II
ÍNDICE DE FIGURAS	III
RESUMEN	IV
1 ANTECEDENTES	1
1.1 Introducción	1
1.2 Prevalencia de LFOB	2
1.3 Displasia fibrosa	3
1.4 Fibroma osificante	7
1.4.1 Fibroma osificante central	7
1.4.2 Fibroma osificante juvenil	9
1.5 Displasia ósea	10
1.6 Marcadores de inmunohistoquímica y moleculares.....	13
1.7 Células troncales mesenquimales	14
1.8 Ligamento Periodontal.....	16
1.9 Cemento dental	17
1.9.1 Sialoproteína ósea (BSP)	18
1.9.2 Osteocalcina (OCN)	19
1.9.3 Proteína de adhesión al cemento (CAP).....	20
1.9.4 Proteína específica de cemento CEMP-1	21
2 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	25
3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
4 JUSTIFICACIÓN.....	27
5 OBJETIVOS.....	28
5.1. Objetivo general.....	28
6 MATERIALES Y MÉTODO	29
6.1 Diseño de estudio	29
6.2 Universo de estudio	29
6.2.1 Grupo de estudio	29
6.2 Criterios de inclusión	30

6.3	Criterios de exclusión	30
6.4	Criterios de eliminación	30
6.5	Selección de submuestra para estudio de inmunofluorescencia	30
6.6	Variables	31
6.8	Fases del estudio	33
6.8.1	Fase 1. Elaboración de ficha de datos	33
6.6.1	Fase 2. Recolección de datos	33
6.6.2	Fase 3. Revisión de las muestras histológicas	34
6.6.3	Fase 4. Técnica de inmunofluorescencia	35
6.6.4	Fase 5. Evaluación de la Inmunoexpresión de STRO-1, CD146, CEMP-1, CAP, BSP Y OCN en los casos seleccionados	36
6.7	Análisis estadístico	37
7	RESULTADOS	38
7.1	Características demográficas	38
7.2	Características clínicas	38
7.3	Características radiográficas	39
7.4	Características histológicas	40
7.5	Análisis inmunofluorescencia	41
7.5.1	Fibroma Osificante	41
7.5.2	Displasia Fibrosa	44
7.5.3	Displasia Ósea	46
8	DISCUSIÓN	54
9	CONCLUSIONES	66
10	REFERENCIAS	67
	ANEXOS	76

ABREVIATURAS

ALP	Fosfatasa alcalina.
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero.
BSP	Sialoproteína ósea.
CAP	Proteína de adhesión al cemento.
CDHE	Células troncales de dientes humanos deciduos exfoliados.
CEMP-1	Proteína específica de cemento 1.
CT-FD	Células troncales del folículo dental.
CT-G	Células troncales gingivales.
CT-LPD	Células troncales del ligamento periodontal.
CTM	Células troncales mesenquimales.
CTMMM	Células troncales mesenquimatosas multipotentes maduras.
CTM-TD	Células troncales mesenquimales derivadas de tejidos dentarios.
CT-PA	Células troncales de la papila apical.
CT-PD	Células troncales de la pulpa dental.
DO	Displasia ósea.
DOF	Displasia ósea focal.
DOFI	Displasia ósea florida.
DOP	Displasia ósea periapical.
DF	Displasia fibrosa.
DFP	Displasia fibrosa polioestótica
FO	Fibroma osificante.
FOJPs	Fibroma osificante juvenil psamomatoide.
FOJTr	Fibroma osificante juvenil trabecular.
LFOB	Lesiones fibro-óseas benignas.
LPD	Ligamento periodontal.
OCN	Osteocalcina.
OPN	Osteopontina
TM-HPT	Síndrome de tumor maxilar- hiperparatiroidismo.

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación de las lesiones fibro-óseas de los maxilares OMS 2017	50
Cuadro 2. Estudios sobre frecuencia de lesiones fibro-óseas benignas de los maxilares ...	50
Cuadro 3. Características clínicas en 98 pacientes con lesiones con LFOB de los maxilares	51
Cuadro 4. Características radiográficas en 98 pacientes con LFOB de los maxilares	51
Cuadro 5. Características histológicas en 81 casos diagnosticados con LFOB de los maxilares.....	52
Cuadro 6. Expresión de marcadores BSP, OCN, STRO-1, CD146, CAP Y CEMP-1 en os 6 casos seleccionados	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mutación en GNAS.....	5
Figura 3. Ortopantomografía de un caso correspondiente a DF.....	39
Figura 4. Fotomicrografías en H & E en casos de FO.....	40
Figura 5. Fotomicrografías en H & E en casos de DF.....	41
Figura 6. Inmunotinción doble y co- localización de proteínas BSP, OCN, STRO-1, CD 146, CEMP-1, CAP en el caso 1 FO.	42
Figura 7. Inmunotinción doble y co- localización de proteínas BSP, OCN, STRO-1, CD 146, CEMP-1, CAP en el caso 2 FO.	43
Figura 8. Inmunotinción doble y co- localización de proteínas BSP, OCN, STRO-1, CD 146, CEMP-1, CAP en el caso 1 DF	45
Figura 9. Inmunotinción doble y co- localización de proteínas BSP, OCN, STRO-1, CD 146, CEMP-1, CAP en el caso 2 DF	46
Figura 10. Inmunotinción doble y co- localización de proteínas BSP, OCN, STRO-1, CD 146, CEMP-1, CAP en el caso 1 DÓ.....	47
Figura 11. Inmunotinción doble y co- localización de proteínas BSP, OCN, STRO-1, CD 146, CEMP-1, CAP en el caso 2 DÓ.....	48

RESUMEN

Introducción. Las lesiones fibro-óseas benignas (LFOB) son un grupo heterogéneo de entidades que comparten características histológicas, sin embargo la etiopatogenia y el comportamiento biológico del fibroma osificante (FO), la displasia fibrosa (DF) y la displasia ósea (DO) es distinta. En nuestro país hay escasos estudios que describan las características clínico- patológicas de estas entidades; adicionalmente, se carece de información sobre su relación con el ligamento periodontal (LP) específicamente de células troncales mesenquimales (CTM) presentes en este tejido.

Objetivos. Identificar características clínicas, radiográficas e histológicas de un grupo de casos obtenidos del archivo del laboratorio de patología y medicina bucal de la UAM- X de enero 1980 a diciembre 2015, diagnosticados como LFOB y observar la expresión espacial de inmunomarcadores de CTM, cemento radicular y hueso en una submuestra de las mismas.

Método. Estudio transversal, observacional, retrolectivo y analítico en el que se incluyeron casos que cumplieron con los criterios de selección. Se recolectaron mediante una ficha de datos, características clínicas y radiográficas relevantes. Previa estandarización de los examinadores ($Kappa= 0.80$), se realizó análisis de las características histológicas. Se seleccionaron dos casos por lesión para el análisis por inmunofluorescencia con los marcadores CEMP-1, STRO-1 CAP, CEMP-1, BSP, OCN. El análisis estadístico se realizó con el programa JMP V.10., se efectuaron las pruebas X^2 , exacta de Fisher, Tukey- Kramer suma de rangos Wilcoxon y Kruskal-Wallis, según fue necesario, con una $\alpha \leq 0.05$.

Resultados. De 10,734 biopsias, el .91% correspondió a LFOB. Se observaron 98 casos (71.4%) mujeres, y una mediana de edad 28 años, hubo diferencias estadísticamente significativas entre el género femenino y el diagnóstico ($p < 0.001$). Tanto en el DF como en FO predominó la apariencia radiográfica mixta, mientras que en DO radiopaca. El 81.2% de DO presentó tejido de aspecto cementoide; mientras que en DF predominaron las lesiones con hueso inmaduro y lamelar. El 80% de las lesiones con cápsula correspondieron a FO y sólo 19 casos presentaron bordes en cepillo. Los espacios de retracción se relacionaron a DF ($p < 0.001$), a su vez, estas lesiones no presentaron anillo osteoblástico asociado a hueso inmaduro ($p = 0.001$). Se observó alta expresión de marcadores cementogénicos y de CTM-LP en lesiones correspondientes a FO.

Conclusiones. La sobreposición de las características histológicas dificulta el diagnóstico en las LFOB. En busca de marcadores que ayuden a diferenciar a estas entidades se ha olvidado retomar su relación con CTM-LP. Nuestros hallazgos muestran que el uso de estos marcadores en conjunto con CEMP-1, puede ser una herramienta para diferenciar FO.

1 ANTECEDENTES

1.1 Introducción

Las lesiones fibro-óseas benignas (LFOB) constituyen un grupo de entidades clasificadas dentro de los tumores benignos no odontogénicos que afectan el área cráneo-facial, descritas por primera vez en 1936 por Lichtenstein. De acuerdo a la clasificación propuesta por Waldron en 1993, estas lesiones fueron nombradas y separadas en displasia fibrosa, displasia cemento-ósea y fibroma cemento-osificante (Suarez-Soto *et al*, 2013). En la última edición del libro de tumores de cabeza y cuello de la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2017, incluyen a la displasia ósea focal, periapical y florida dentro de las displasias óseas (DO) retirando el término cemento-óseo, a su vez se retira el término fibroma cemento osificante usado en la clasificación de 1992 de la OMS, y se designa a la entidad, fibroma osificante (FO), a su vez se incluyen las variantes juveniles psamomatoide y trabecular (Worawongvasu and Songkapol, 2010) como se observa en el cuadro 1.

Las LFOB tienen en común el remplazamiento de hueso normal por tejido fibroconectivo con diversos grados de mineralización (Eversole *et al*, 2008). Sin embargo se considera al FO como una verdadera neoplasia, mientras que la DF y DO se encuentran clasificadas como una lesión hamartomatosa y una lesión reactiva respectivamente (El-Mofty, 2014). A lo largo de la historia de estas lesiones y debido a la dificultad que implica su diagnóstico, se han tratado de establecer criterios histológicos como el tipo de tejido mineralizado presente en la lesión, la presencia de anillo osteoblástico, la disposición del tejido fuso-celular proliferante, la presencia de espacios de retracción; sin embargo la significancia diagnóstica de estos criterios histológicos ha sido cuestionada por varios autores (Maheshwari *et al*, 2013).

Las LFOB como FO y DF se han visto más relacionadas a problemas funcionales y estéticos en comparación con la DO (Waldron, 1993; Lee *et al*, 2012), además estas lesiones presentan distintos patrones de progresión, como consecuencia el tratamiento es diferente en cada una (Lee *et al*, 2012).

1.2 Prevalencia de LFOB

Las LFOB son lesiones poco frecuentes, existen estudios aislados donde se ha estudiado su frecuencia, generalmente en grupos que acuden a centros de referencia como universidades y observan sus características clínicas, radiográficas e histológicas, sin embargo estos estudios carecen de homogeneidad y el tamaño de la muestra no suele ser representativo de la población en estudio, es por esto que se hace difícil establecer estudios de frecuencia y prevalencia de estas lesiones, véase cuadro 2.

El tipo de lesión predominante varía en cada población, aunque el FO y la DF son las más observadas, publicaciones como las realizadas en China y Brasil han reportado DO con más frecuencia (Alsharif *et al*, 2009; De Noronha Santos Netto *et al*, 2013). En la mayoría de estudios, con excepción del realizado en China (Alsharif *et al*, 2009), las LFOB parecen afectar con mayor frecuencia a mujeres, con un rango de edad variable, siendo la DO la lesión observada en pacientes de mayor edad, de la cuarta a quinta década de vida (Ogunsalu *et al*, 2001; Worawongvasu and Songkapol, 2010; De Noronha Santos Netto *et al*, 2013).

Las lesiones de FO y DO afectan en mayor proporción a la mandíbula, mientras que DF a maxilar, junto con lesiones de fibroma osificante juvenil de tipo psamomatoide (FOJPs) (Ogunsalu *et al*, 2001; Abdulai *et al*, 2004; Worawongvasu and Songkapol, 2010; De Noronha Santos Netto *et al*, 2013). Por lo general, las lesiones de FO presentan una imagen

radiográfica que varía de radiolúcida a radiopaca, mientras que en la mayoría de los estudios describen una apariencia radiopaca para DO (Alsharif *et al*, 2009; De Noronha Santos Netto *et al*, 2013; Phattarataratip *et al*, 2013). El aspecto de vidrio esmerilado y radiomixto han sido reportados como el hallazgo más común para lesiones de DF (Ogunsalu *et al*, 2001; Abdulai *et al*, 2004; Alsharif *et al*, 2009; De Noronha Santos Netto *et al*, 2013; Phattarataratip *et al*, 2013).

1.3 Displasia fibrosa

La DF es un proceso displásico benigno de osteogénesis alterada que interviene en la maduración y la remodelación ósea normal y como consecuencia el tejido óseo medular y cortical es sustituido por un tejido óseo fibroso desorganizado (Pimenta *et al*, 2006). La prevalencia exacta de la displasia fibrosa es difícil de establecer, ya que la enfermedad puede ser asintomática y se cree que representan el 5-7% de todos los tumores óseos benignos (Dorfman, 2010). La DF es un padecimiento de huesos en crecimiento (El-Mofty, 2014), la mayoría de casos reportados se han identificado niños y adolescentes (Abdulai *et al*, 2004).

Puede afectar múltiples huesos (poliostótica) o sólo un hueso (monostótica). La DF poliostótica es menos común, y en algunos de los casos puede asociarse con poliendocrinopatía o con el síndrome Mc Cune-Albright, también puede estar asociada con mixomas de tejidos blandos como en el síndrome Mazabraud (Dorfman, 2010). El esqueleto craneofacial puede verse involucrado en ambos tipos de DF, pero es su variante monostótica la que ocurre con más frecuencia en esta zona, particularmente en maxila y en mandíbula (El-Mofty, 2014).

La base molecular de este grupo relacionado de enfermedades es una mutación en el gen que codifica la proteína de la subunidad alfa de G (Gs-alfa) que une cAMP a los receptores de hormonales (Cohen and Howell, 1999; Lumbroso *et al*, 2004). La presentación de la enfermedad, se explica por mosaicismo somático que implica una activación de la mutación de la proteína G de transducción de señales, que se produce postcigóticamente en células troncales embrionarias pluripotentes (Robey *et al*, 2007).

Si el defecto genético ocurre temprano en el desarrollo embrionario, un gran número de células hijas se verán afectadas, algunas de las cuales aún sin haber migrado a su sitio esquelético eventual. Cuando estas células migran en varias zonas del esqueleto, producen displasia fibrosa poliostótica. Si se produce el defecto genético en una fase aún más temprana del desarrollo embrionario, la célula original puede producir células hijas que migrarán a primordios de hueso, de piel y hacia algunos primordios de las glándulas endocrinas, produciendo síndromes como el de Mc Cune-Albright (Robey *et al*, 2007), véase figura 1.

En la región cráneo-facial, la DF monostótica ocurre tanto en maxilares como en huesos craneales, frontal, etmoides y temporal, este tipo de DF se clasifica como displasia fibrosa cráneo-facial (DFC-F) (MacDonald-Jankowski, 2004). Estas lesiones son detectadas de la primera a la segunda década de vida sin predilección racial ni de género (Eversole *et al*, 2008). Afectan en mayor proporción maxilar y su presentación clínica se caracteriza por expansión ósea, generalmente indolora y crecimiento lento que regularmente provoca asimetría facial, siendo esta última una de las primeras manifestaciones (Waldron, 1993; MacDonald-Jankowski, 2004), la sintomatología en estas lesiones se relaciona a compresión vascular o nerviosa ocasionada por el crecimiento de la lesión (Suarez-Soto *et al*, 2013).

Generalmente las lesiones en pacientes jóvenes pueden presentar un crecimiento rápido con expansión cortical y el desplazamiento de las estructuras adyacentes como globos oculares y dientes (Lee *et al*, 2012).

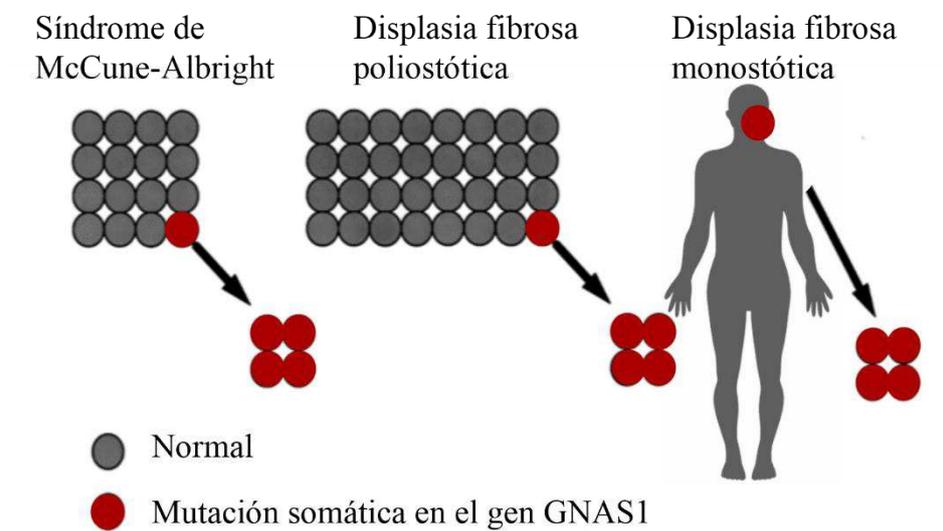


Figura 1. La manifestación de la enfermedad relacionada a mutación en GNAS depende si se presenta durante el desarrollo embrionario o durante la vida postnatal. (Tomado y modificado de Cohen y cols. *Oral Maxillofac Surg.* 1999; 28: 366-371).

En general los estudios de imagen en DF muestran lesiones de márgenes poco definidos con respecto al hueso adyacente y su aspecto radiográfico depende del estadio de la enfermedad. En fases tempranas se observan lesiones radiolúcidas, conforme se da el proceso de mineralización, se puede observar una imagen radiomixta con radiopacidades difusas que le confieren un aspecto de vidrio esmerilado (Prado- Ribeiro *et al*, 2012). En DFC-F la obliteración de los senos paranasales y el desplazamiento de la orbitas son hallazgos radiográficos comunes (El-Mofty, 2014).

Las características histológicas incluyen una pronunciada osteogénesis con trabéculas delgadas y anastomosantes de osteoide que parecen originarse directamente del estroma de

tejido fibroconectivo. El estroma fibroblástico es proliferativo e hiper celular con ausencia de pleomorfismo. Conforme a la evolución de la lesión, las trabéculas se engrosan y asumen el clásico aspecto de letras chinas, muy características de esta lesión (Slootweg and Müller, 1990). Estas estructuras típicamente están compuestas por hueso inmaduro rico en osteoide, ausentes de anillo osteoblástico y con actividad osteoclástica ocasional.

Con muy poca frecuencia se pueden presentar nódulos de cartílago hialino que pueden observarse como pequeñas esférulas hasta extensas masas (El-Mofty, 2014) . Las clasificaciones esféricas, psamomatoides y los cementículos no son tan frecuentes y generalmente no son un componente prominente. En estadios tardíos de la enfermedad, el hueso inmaduro es remplazado por hueso lamelar trabecular. El extenso remodelado óseo en estas lesiones puede observarse en las marcadas líneas reversas presentes en el tejido óseo (De Mesquita Netto *et al*, 2013; Speight and Carlos, 2015).

El tratamiento de este tipo de lesiones se base en la edad del paciente, el grado de maduración esquelética y la evolución de la lesión. Muchos casos de DFC-F entran en una fase inactiva donde se detiene su crecimiento y esto sucede después de la pubertad (El-Mofty, 2014); sin embargo existen reportes de caso en los que persiste el crecimiento en pacientes adultos (Ricalde and Horswell, 2001). En población joven se opta por esperar la edad de maduración ósea y realizar contorneado óseo, en casos agresivos se sugiere cirugía de resección en bloque (Lee *et al*, 2012) con una recurrencia de hasta un 50% (Suarez-Soto *et al*, 2013). Transformación maligna ha sido reportada en pocos casos de DF, la mayoría de los cuales han sido osteosarcomas y en menor proporción fibrosarcoma o condrosarcoma. La mayoría de estos casos tuvieron historia previa de terapia con radiación, la cuál era utilizada en el

pasado para el tratamiento de estas lesiones (Yabut *et al*, 1988; El-Mofty, 2014).

1.4 Fibroma osificante

Esta LFOB es considerada como una verdadera neoplasia, ya que exhibe capacidad proliferativa progresiva; además la lesión crece delimitada del tejido óseo normal. Estas lesiones pueden presentar diferencias en el sitio de predilección, presentación clínica, edad, sexo y apariencia microscópica. Dentro del FO se encuentran clasificadas dos entidades clínico-patológicas: la variante juvenil ya sea trabecular o psamomatoide y el FO convencional o también llamado FO de origen odontogénico (Eversole *et al*, 2008).

1.4.1 Fibroma osificante central

El FO convencional o FO NOS es la forma más común, ocurre en áreas relacionadas a órganos dentarios en los maxilares y tiene un supuesto origen odontogénico proveniente de células del ligamento periodontal (Speight and Carlos, 2015) Marx y Stern han indicado que el FO ocurre frecuentemente en los maxilares ya que probablemente estas lesiones produzcan una inducción exagerada de células mesenquimales a hueso y a cemento, requeridas en la odontogénesis (Triantafillidou *et al*, 2012), se cree que estas células se derivan de las células progenitoras de la membrana periodontal y que son capaces de diferenciarse a fibroblastos, osteoblastos y cementoblastos (El-Mofty, 2014). Estudios sobre su osteogénesis han mencionado la mutación del gen HRTF2 que codifica parafibromina, sin embargo no se encuentra presente en todos los casos de FO (Eversole *et al*, 2008; De Mesquita Netto *et al*, 2013).

El FO involucra al hueso mandibular más que el maxilar, especialmente en zona posterior, en región de molares y premolares, generalmente se observa en pacientes entre la cuarta y

quinta década de la vida con ligera predilección por el sexo femenino (Alsharif *et al*, 2009). Usualmente, se presenta como una masa redondeada u ovoide, indolora, de crecimiento expansivo y que generalmente expande corticales (Speight and Carlos, 2015); puede causar desplazamiento de los dientes y en algunas ocasiones resorción radicular (Chang *et al*, 2008). Aunque la mayoría son lesiones únicas, existen reportes de lesiones múltiples y hasta sincrónicas (Prado- Ribeiro *et al*, 2012).

Radiográficamente se observa unilocular con bordes bien definidos que delimitan la lesión del hueso cortical adyacente. Su imagen puede ser radiolúcida o puede mostrar varios grados de opacidades, dependiendo de la cantidad de tejido calcificado presente. En mandíbula, las lesiones de gran tamaño tienden a expandirse hacia el borde inferior provocando adelgazamiento de esta cortical (Eversole *et al*, 2008).

Histológicamente se observa como una lesión bien circunscrita y algunas veces encapsulada (El-Mofty, 2014). El FO se encuentra compuesto por tejido fibroso hiper celular con escasas fibras colágenas dispuestas generalmente en un patrón estoriforme, presenta estructuras mineralizadas de diferentes patrones, generalmente se compone por trabéculas delgadas e irregulares de hueso inmaduro que pueden estar rodeadas de anillo osteoblástico o que parecen emerger del tejido fibroso. También se pueden observar calcificaciones cementoides o masas irregulares de tejido mineralizado (Slootweg and Müller, 1990).

El FO puede ser removido quirúrgicamente y de manera conservadora mediante curetaje o enucleación sin recurrencia en la mayoría de los casos. Las lesiones de mayor tamaño pueden requerir como tratamiento la resección en bloque (El-Mofty, 2014).

1.4.2 Fibroma osificante juvenil

El término fibroma osificante juvenil (FOJ) es usado en la literatura para describir dos entidades clínico- patológicas distintas: el fibroma osificante juvenil trabecular (FOJTr) y el fibroma osificante juvenil psamomatoide (FOJPs) (Tabareau-Delalande and Pinieux, 2016).

FOJTr afecta predominantemente a niños, adolescentes y ocasionalmente a adultos jóvenes. Se localiza, por lo general, en huesos maxilares, siendo poco frecuentes en zona sinonasal (Speight- Roman Carlos, 2006). El FOJPs se presenta en la mayoría de los casos en adolescentes y adultos jóvenes, afecta predominantemente a huesos craneofaciales extragnáticos, particularmente hueso frontal y etmoides (Hall, 2012). Estas lesiones, a diferencia de FO, tienen un comportamiento clínico más agresivo, generalmente de crecimiento rápido, no se encuentra bien delimitadas y pueden ser infiltrativas (MacDonald-Jankowski, 2004). Aunque histológicamente no son bien delimitadas, radiográficamente se pueden apreciar bien circunscritas, radiomixtas, algunas veces multiloculares y con apariencia de vidrio esmerilado en la variante trabecular (El-Mofty, 2002).

Histológicamente FOJTr presenta un estroma muy celular compuesto de células fusiformes con poca producción colágena. El osteoide parece originarse directamente del estroma de tejido fibroconectivo donde se observa tejido mineralizado en forma de trabéculas de hueso inmaduro, delgadas y anastomosantes. Estas estructuras carecen de anillo osteoblástico y no muestran evidencia de maduración. Es común observar agregados de células gigantes multinucleadas de tipo osteoclasto en el estroma (El-Mofty, 2014). Se ha reportado la formación de quiste óseo aneurismático en algunos casos (Slootweg and Müller, 1990). El FOJPs se caracteriza por presentar múltiples osículos pequeños y uniformes llamados

cuerpos psamomatoides sobre estroma de tejido fibroconectivo muy celular. Los cuerpos psamomatoides son estructuras esferoidales, densamente mineralizadas, de aspecto basófilos y con presencia de líneas reversas que semejan la estructura del cemento dental (Speight and Carlos, 2015); estas estructuras tienden a coalescer y formar trabéculas o masas. Al igual que FOJTr puede observarse degeneración quística en estas lesiones o estar asociado a un quiste óseo aneurismático (El-Mofty, 2014).

En cuanto al tratamiento, las lesiones pequeñas pueden tratarse de forma conservadora mediante curetaje o enucleación. Por otra parte, las lesiones más grandes requieren de una resección quirúrgica radical, con una tasa de recidiva varía del 6% al 28% siendo más frecuente en maxilar debido a las dificultades de extirpación quirúrgica por el área anatómica (Gondivkar *et al*, 2011).

1.5 Displasia ósea

La DO representa el subtipo más común de LFOB. Estas lesiones se observan en proximidad a los dientes situados por arriba del canal mandibular (Eversole *et al*, 2008). La localización de este tipo de lesiones en los maxilares y la presencia, en muchas de las lesiones, de material mineralizado de aspecto cementoide, ha sugerido que este tipo de LFOB se origina de células en el ligamento periodontal (LPD) (Brannon and Fowler, 2001; De Noronha Santos Netto *et al*, 2013).

La DO es considerada una lesión de naturaleza reactiva, dependiendo de su localización y de su evolución se clasifica en displasia ósea focal (DOF), displasia ósea periapical (DOP) y displasia ósea florida (DOFI) (MacDonald-Jankowski, 2015). A excepción de la DOFI, la DOP y la DOF son usualmente asintomáticas y son apreciadas mediante hallazgos

radiográficos (MacDonald-Jankowski, 2004). Mientras que la de tipo florida se presenta de forma multifocal y extensa en los maxilares pero con la misma apariencia microscópica (El-Mofty, 2014; Abramovitch and Rice, 2016).

La DOP involucra múltiples áreas en ápices de incisivos mandibulares con vitalidad pulpar que rara vez exceden el centímetro de diámetro, mientras que la DOF se presenta como una lesión solitaria en región posterior de la mandíbula, usualmente se observa en sitios con extracciones dentales previas y rara vez exceden los 2 centímetros de diámetro (Eversole *et al*, 2008).

Estas lesiones no se han asociado a algún agente etiológico, pero es conocida su predilección por el sexo femenino. Una gran proporción de los casos se diagnostica entre la tercera y quinta década de la vida. Generalmente los pacientes con DO focal o periapical se muestran asintomáticos y el diagnóstico es incidental cuando se realizan radiografías dentales; sin embargo se han reportado casos de expansión ósea y sintomatología dolorosa (Su *et al*, 1997).

Radiográficamente, al igual que otras LFOB, presentan una imagen que depende del grado de maduración y se desarrolla a través de tres fases: fases temprana, intermedia y tardía. La fase inicial se presenta clásicamente con una zona radiolúcida, dicha imagen puede ser diagnosticada erróneamente como una infección dental. Las lesiones en su etapa intermedia demuestran un patrón radiomixto. Las lesiones maduras presentan estructuras mineralizadas que le dan una apariencia radiopaca (Eversole *et al*, 2008).

La DOFI en la mayoría de los casos, afecta la mandíbula de forma bilateral y puede involucrar o no maxilar. La mayoría de los pacientes son mayores de 45 años, pero se ha visto en

pacientes más jóvenes; se ha visto predilección por mujeres de raza negra (Su *et al*, 1997). Estas lesiones pueden presentar sintomatología dolorosa. Una infección odontogénica en dientes relacionados a la lesión puede provocar una infección generalizada que generalmente evoluciona en una osteomielitis aguda supurativa con posterior secuestro óseo. De hecho, la osteomielitis puede ocurrir como una complicación de la biopsia incisional (Eversole *et al*, 2008). Tanto en DOFI como en las otras DO se pueden observar cambios quísticos (Mahomed *et al*, 2005; Speight and Carlos, 2015).

Histológicamente el tejido se observa fragmentado, compuesto por estroma fibroconectivo-vascular con trabéculas de osteoide dispersas. El estroma a menudo muestra vascularización cavernosa similar a la que se asocia con la formación temprana de trabéculas óseas, identificándose también áreas hemorrágicas a lo largo de la muestra. Los osteoblastos se observan en algunas de las trabéculas de osteoide. En etapas más avanzadas de maduración, el estroma vascular se vuelve más fibroso y existe mayor formación de trabéculas de osteoide (Eversole *et al*, 2008). Las trabéculas generalmente presentan formas curvilíneas gruesas poco celulares, las cuales semejan a raíces de jengibre; además se identifican calcificaciones similares al cemento. Estas estructuras, a menudo denominados cementículos se caracterizan por ser ovoides y a menudo muestran fibras radiales semejantes a fibras de Sharpey que rodean los cementículos. El tejido cementoide también puede observarse en forma de masas de aspecto lobulado (Su *et al*, 1997).

La extirpación quirúrgica completa es innecesaria después de realizar un diagnóstico, ya que por lo general, estas lesiones son autolimitantes y no requieren tratamiento. Se sugiere un seguimiento periódico con el fin de garantizar que no se produzca un aumento en el tamaño

de la lesión y expansión cortical, características que sugieren que pueda corresponder a un FO en una etapa temprana de desarrollo (Eversole *et al*, 2008).

1.6 Marcadores de inmunohistoquímica y moleculares

Debido a que el análisis histológico sigue siendo insuficiente para realizar el diagnóstico definitivo de una LFOB, se han realizado múltiples estudios que han tenido como finalidad encontrar incompatibilidades tanto a nivel de expresión de proteínas como en la mutación de ciertos genes. Uno de los más estudiados es la mutación del gen GNAS, si bien la mutación es exclusiva de DF, esta no se presenta en todas las lesiones de este tipo, esto podría explicarse a la existencia de mosaicismo, que consiste en la coexistencia de células mutantes y no mutantes dentro de la lesión. Esta distribución particular de las células mutantes podría resultar de una mutación GNAS post-cigótica que genera, no sólo mosaicismo somático a través del cuerpo, sino también mosaicismo somático de las células osteogénicas normales y mutantes dentro de la lesión (Tabareau-Delalande *et al*, 2013).

La baja detección en la mutación GNAS también podría explicarse por una "normalización" de las células que componen la DF con el pasar del tiempo, debido a un alto nivel de apoptosis en células troncales mutantes, en comparación con las células troncales osteogénicas no mutantes; esto a su vez explica la disminución en la detección de la mutación genética en pacientes de mayor edad (Kuznetsov *et al*, 2008).

Se ha detectado en algunas lesiones de FO la mutación del gen HRPT2 que codifica para parafibromina, esta proteína ha demostrado tener propiedades antiproliferativas así como la habilidad de inhibir la expresión de ciclina D1 (Carpten *et al*, 2002; Woodard *et al*, 2005), debido a esto se ha sugerido la capacidad neoplásica de la mutación de HRPT2, sin embargo

no es una constante en FO. Las mutaciones de línea germinal e inactivación del gen HRTP2 se han asociado a la presencia de lesiones fibro-óseas benignas pero asociadas al síndrome de tumor maxilar- hiperparatiroidismo (TM-HPT) donde también se observan tumores paratiroides, quistes renales y tumor de Wilms (Iacobone *et al*, 2009).

Se han realizado análisis inmunohistoquímicos con marcadores osteogénicos tales como la osteopontina y DMP1 los cuales no mostraron diferencia significativa entre DF y el FO; sin embargo, en el estudio de Toyosawa y cols, encontraron que la OCN mostró diferencias en su expresión entre las dos lesiones. Su expresión fue mayor en DF, concluyendo que el material calcificado en estas lesiones semeja más al hueso normal en comparación a FO (Toyosawa *et al*, 2007).

Andrew E Horvai y colaboradores, realizaron un estudio de inmunohistoquímica para B-catenina y análisis de la mutación de CTNNb1 y APC en LFOB, justificando que la vía b-catenina Wnt juega un papel crítico en la regulación del desarrollo y la homeostasis ósea. Además argumentaron que las mutaciones somáticas en componentes de la vía / b-catenina Wnt han sido implicadas en algunas neoplasias y tumores odontogénicos de los maxilares; sin embargo la inmunorreacción nuclear a B-catenina se detectó en sólo 34 tumores (20%) de su muestra y no se encontró ninguna asociación entre la positividad nuclear y variables como la edad, sexo, patrón y calcificación del tejido mineralizado (E. Horvai and C. Jordan, 2014).

1.7 Células troncales mesenquimales

Las células troncales tienen dos características importantes: la auto-renovación y el potencial de diferenciación (Bassir *et al*, 2016). La auto-renovación se refiere a la habilidad de

renovación de las propias células mediante mitosis, después de largos periodos de inactividad (Bianco *et al*, 2010). El potencial de diferenciación implica la capacidad de las células para diferenciarse en diversos fenotipos (Bassir *et al*, 2016). En conjunto, estas dos cualidades, permiten que las células troncales proliferen y regeneren los tejidos perdidos o comprometidos. Sobre la base de su potencial de diferenciación, las células troncales pueden ser categorizadas como células totipotenciales (capaz de diferenciarse en células de las tres líneas germinales, así como células del tejido extraembrionario), células pluripotentes (capaces de diferenciarse en células de las tres líneas germinales pero no en células del tejido extraembrionario), multipotentes (capaces de diferenciarse en células de sólo una o dos líneas germinales), y unipotente (capaces de diferenciarse en un solo tipo de célula) (Bassir *et al*, 2016).

Con base a su derivación o método de generación, las células troncales se denominan: células troncales embrionarias, células troncales postnatales. Las células troncales embrionarias son células pluripotentes derivadas de la masa celular interna del blastocisto, estas tienen la capacidad de formar derivados de las tres capas germinales embrionarias (Bassir *et al*, 2016). En contraste con las células troncales embrionarias, las células troncales postnatales son multipotentes, y por lo tanto son más limitadas en su potencial de diferenciación (Jing *et al*, 2008), estas células troncales postnatales se han aislado de una variedad de tejidos, incluyendo la médula ósea, el epitelio, tejido adiposo, hígado, sistema nervioso, y de tejidos relacionados a estructuras dentales (Gronthos *et al*, 2000; Seo *et al*, 2004; Barker, 2014; Codega *et al*, 2014).

Las células troncales mesenquimales derivadas de tejidos dentarios (CTM-TD) poseen

potencial de multidiferenciación, además tienen la capacidad de derivar en varios linajes celulares como osteo/odontogénico, adipogénico, neurogénico, condrogénico y miogénico (Huang *et al*, 2009); siempre y cuando se encuentren bajo condiciones específicas (Wei *et al*, 2007). En la actualidad, se conocen seis tipos de células troncales que se originan a partir de los tejidos dentales, incluyendo las células troncales de la pulpa dental (CT-PD), células troncales de dientes humanos deciduos exfoliados (CDHE), células troncales de la papila apical (CT-PA), células troncales del ligamento periodontal (CT-LPD), células troncales del folículo dental (CT-FD), y células troncales gingivales (CTG) (Seo *et al*, 2004; Morsczeck *et al*, 2005; Zhang *et al*, 2014) véase figura 2.

1.8 Ligamento Periodontal

El ligamento periodontal (LPD) es una estructura que deriva de la cresta neural, está conformado por tejido conectivo. Se encuentra localizado entre el cemento de la raíz dental y el hueso alveolar en los maxilares (Mori *et al*, 2013). El LPD no sólo es responsable de anclaje y soporte del diente dentro de los alveolos, sino que también contribuye a su nutrición, homeostasis y a la reparación de daños tisular (Shimono *et al*, 2003). El LPD contiene poblaciones celulares heterogéneas (Lekic *et al*, 2001; Murakami *et al*, 2003) entre las que se encuentran células troncales mesenquimales (CTM) que pueden diferenciarse en linajes cementogénicos, osteogénicos, adipogénicos, condrogénicos, miogénicos, angiogénicos, vasculogénicos y neurogénicos (Isaka *et al*, 2001). Estas CT-LPD al igual que las células troncales encontradas en medula ósea y pulpa dental, se caracterizan por ser células progenitoras STRO-1 / CD146 positivas (Seo *et al*, 2004), estos dos marcadores junto con CD45, CD73, CD105, CD146, CD166, SSEA4, 3G5, CD90, CD24, CD44 son biomarcadores específicos de CTM (Acharya *et al*, 2010).

Estudios previos, han indicado que las células del LPD poseen el potencial para formar nódulos mineralizados in vitro (Arceo *et al*, 1991) y que además expresan marcadores relacionados a hueso como sialoproteína ósea (BSP), osteocalcina (OCN) y hormonas características de la regulación ósea (Nuñez *et al*, 2010).

1.9 Cemento dental

El cemento es un tejido mineralizado altamente especializado producido por los cementoblastos, el cual cubre a las superficies de las raíces de los dientes. La función principal del cemento es propiciar una superficie para la inserción de las fibras del ligamento periodontal (Yamamoto *et al*, 2016). Parecen existir diferencias morfológico- histológicas y funcionales a lo largo de la longitud de la raíz, el cemento se clasifica en: cemento intermedio (que se encuentra en la unión cemento-esmalte), cemento acelular (que se encuentra en las partes coronal y media de la raíz) y el cemento celular (presente en las porciones apicales e inter-radicular de la raíz, que contiene cementoblastos) (Arzate *et al*, 2002).

En contraste con el hueso, el cemento es un tejido conectivo a vascular, no innervado, que carece de organización lamelar. El cemento, no presenta un proceso dinámico de remodelación y aumenta de grosor a lo largo de la vida. Aunque son tejidos diferentes el hueso y el cemento tienen una composición similar. El cemento se compone en un 61% en tejido mineral, un 27% de matriz orgánica y un 12% de agua (Yamamoto *et al*, 2016).

Como en el hueso y la dentina, el componente orgánico principal de cemento es el colágeno (Yamamoto *et al*, 2016). El principal tipo de colágeno es colágeno tipo I, que representa el 90% de todos los colágenos y desempeña un papel estructural durante el proceso de biomineralización, sirviendo como depósito para la nucleación de hidroxapatita, que se

desarrolla en cristales de apatita intrafibrilar (Yamamoto *et al*, 2016). El colágeno de tipo III, que recubre las fibrillas de colágeno tipo I, también está presente, aunque en cantidades menores. Además de colágeno, están presentes mucopolisacáridos carboxilados y sulfatados (glicosaminoglicanos), la sialoproteína ósea (BSP), osteopontina (OPN), osteoclastina (OCN), vitronectina, fibronectina, ácido gamma carboxiglutámico, osteoectina, proteoglicanos y factores de crecimiento (Saygin *et al*, 2000).

En algunos estudios se ha encontrado la presencia de actividad de factores de transcripción y diferenciación osteoblástica RUNX2 y de fosfatasa alcalina (ALP) en células con fenotipo cementoblástico (Bartold and Bartold, 2006). Otras proteínas actualmente estudiadas son las específicas de cemento, como la proteína de adhesión al cemento CAP (Arzate *et al*, 2015) y cols, 1992) y CEMP-1 que se han visto expresadas tanto en cementoblastos como en subpoblaciones celulares del ligamento periodontal (Alvarez-Pérez *et al*, 2006).

1.9.1 Sialoproteína ósea (BSP)

Es una proteína fosforilada y sulfatada al igual que la osteopontina, representa una de las proteínas no colágenas principales de la matriz extracelular asociada a tejidos mineralizados y el constituyente principal del cemento (Bosshardt and Selvig, 1997). Constituye del 8 al 12% del total de proteínas no colágenas que conforman al hueso y al cemento (Jono *et al*, 2000). Esta proteína juega un papel importante en el llenado de los espacios creados durante el ensamblaje de las fibras colágenas y ayuda a la unión con el tejido mineralizado, por lo que permite que la deposición de mineral se extienda a través de toda la malla de colágeno (Nanci y cols, 1999). El papel propuesto para estas proteínas es la de regular la nucleación de cristales de hidroxiapatita y el crecimiento de los mismos, ya que tiene una alta afinidad

al calcio y a la hidroxiapatita (Diercke *et al*, 2012).

Se ha sugerido que la osteopontina y sialoproteína son necesarias para la iniciación de la formación de cristales en la red de fibrillas de colágeno tipo I (Xu *et al*, 2009); además BSP se ha visto involucrada en señalización celular y esto, incrementa la actividad resortiva ósea en osteoclastos y promueve la diferenciación osteoblástica así como la calcificación ósea (Diercke *et al*, 2012). El cemento contiene BSP, que, durante la formación de la raíz, se localiza en las células que recubren la superficie del mismo. Estudios de inmunohistoquímica han demostrado la expresión de BSP durante la formación de cemento, resaltando con esto su importancia en la inducción de la cementogénesis (Ogasawara *et al*, 2004), se ha sugerido que la sialoproteína modula el proceso de cementogénesis y está implicado en el proceso de quimioatracción, adhesión y diferenciación de precementoblastos (Arzate *et al*, 2002). En su estudio Diercke y colaboradores encontraron que durante la maduración de la matriz ósea los osteoblastos expresan altos niveles de BSP en comparación con los cementoblastos, que presentaron una expresión más débil de este marcador, demostrando que estas células comparten características con los osteoblastos en una etapa temprana de diferenciación (Diercke *et al*, 2012).

1.9.2 Osteocalcina (OCN)

La OCN es una proteína pequeña restringida a células de tejidos mineralizados que incluyen al hueso, dentina y cemento. Esta proteína no colágena tiene afinidad por los iones de calcio y promueve la adsorción a la hidroxiapatita (Chen *et al*, 2015). Es producida por osteoblastos maduros durante la fase de mineralización, y ha demostrado ser un regulador de la formación de hueso (Chen *et al*, 2015). Se incrementan sus niveles en suero durante la síntesis y

formación de hueso; también se sugiere que la OCN es un importante factor en el reclutamiento de osteoclastos a regiones de resorción ósea (Chen *et al*, 2015). En la raíz dental, la expresión de OCN se localiza en las células que recubren el cemento celular y cemento acelular; además, las células en la zona inter-radicular también la expresan (Arzate *et al*, 2015).

1.9.3 Proteína de adhesión al cemento (CAP)

CAP fue la primera proteína de cemento dental en ser aislada y desempeña un papel importante en el reclutamiento y la diferenciación celular durante la formación de cemento radicular (Treves *et al*, 2013). CAP ARNm es expresado en células de cemento y sólo marginalmente, en algunas células del ligamento periodontal y espacio endosteal, esto a su vez puede ser explicado por la presencia de precursores de cementoblastos en el espacio endosteal del hueso alveolar (Sonoyama *et al*, 2006).

CAP tiene la capacidad de dirigir la migración de las células de hueso alveolar, sin embargo; las poblaciones celulares del LPD difieren en su capacidad para reconocer y responder a CAP. El quince por ciento de los clones de los cultivos de células del ligamento periodontal se unen fuertemente a ella y esta capacidad de unión es similar a la de las células de hueso alveolar, lo que sugiere que el origen de los precursores cementoblásticos podría ser osteogénica (Arzate *et al*, 2015).

CAP se une selectivamente a células del ligamento periodontal y apoya su unión a las superficies de la raíz (Pitaru *et al*, 1995). Una quimiotaxis selectiva y la unión mediante CAP pueden representar la vía natural por el cual los progenitores cementoblásticos son atraídos a la superficie de la raíz durante la homeostasis y la regeneración. (Arzate *et al*, 2015).

Se ha reportado que CAP está directamente relacionado con la expresión de la fosfatasa alcalina, la formación de tejido mineralizado y se ha involucrado en actividades biológicas como unión y diferenciación celular (Arzate *et al*, 1998). Los anticuerpos contra estas proteínas se han reconocido en la capa cementoide, en las capas de células cementoblásticas adyacentes, cementocitos, células progenitoras localizadas cerca de los vasos sanguíneos en el ligamento periodontal así como células localizadas en el espacio endosteal del hueso alveolar humano, células derivadas del folículo dentario y células residentes del ligamento periodontal (Arzate *et al*, 2002).

1.9.4 Proteína específica de cemento CEMP-1

La proteína específica de cemento (CEMP-1) como su nombre lo indica es un marcador específico de cemento, experimentos *in vitro* han demostrado que CEMP-1 promueve la adhesión celular, diferenciación, la tasa de deposición y afecta la composición y morfología de cristales de hidroxiapatita formados por cementoblastos (Alvarez- Pérez *et al*, 2003; Carmona-Rodríguez *et al*, 2007). Esta proteína es sintetizada por cementoblastos y su expresión se restringe a células localizadas en el ligamento periodontal (precursores de cementoblastos). Juega un papel como regulador en la diferenciación a células de fenotipo mineralizante (Alvarez-Pérez *et al*, 2006). Parece ser una proteína fosforilada, la presencia de fosfato favorece la unión de Ca^{2+} a la proteína, y proteínas tales como la BSP y la OPN asociados con el proceso de mineralización (Jono *et al*, 2000). Por lo tanto, CEMP-1 puede desempeñar un papel en las primeras etapas de mineralización durante la formación de fosfato de octacalcio (Arzate *et al*, 2015).

Estudios con CEMP-1 sugieren que tiene un efecto en la proliferación y quimiotaxis celular;

además regula la expresión de la fosfatasa alcalina, factor asociado a las etapas tempranas del proceso de mineralización, así como de BSP, la cual se ha visto asociada en el proceso de nucleación y el crecimiento de los cristales de hidroxiapatita (Alvarez- Pérez *et al*, 2003). Asimismo CEMP-1 regula la expresión de la osteopontina en los estadios tardíos del proceso de mineralización (Villarreal-Ramírez *et al*, 2009).

En estudios *in vitro* con inmunocitoquímica se ha observado la expresión de CEMP-1 por las células derivadas del cementoblastoma y de células del ligamento periodontal. El 95% de la población de células derivadas del cementoblastoma fueron positivas, mientras que sólo el 6% de las células del ligamento periodontal fueron positivas para CEMP-1. Esta proteína también se expresa en una población pequeña (3%) de células osteoblástica *in vitro*. Estas pequeñas poblaciones positivas en ligamento y en osteoblastos podrían representar precursores de cementoblastos, lo que sugiere que cementoblastos y osteoblastos podrían tener un ancestro común y que CEMP-1 podría ser un marcador para el linaje cementoblástico (Arzate *et al*, 2002).

Los estudios de inmunohistoquímica utilizando tejidos periodontales humanos han mostrado que la localización de CEMP-1 se da a través de la superficie del cemento, incluida la fase cementoide del cemento celular y acelular, en cementocitos y en las células cerca de los vasos sanguíneos en el ligamento periodontal. Estas células se consideran como células progenitoras cemento (Arzate *et al*, 2002). CEMP-1 no ha sido expresada en ningún otro tejido humano, indicando con esto que se trata de una proteína tejido- específica, restringido a los cementoblastos y a sus células progenitoras; además podría tener un papel como regulador local de diferenciación, proliferación celular y en la mineralización de la matriz

extracelular (Alvarez- Pérez *et al*, 2003).

La función de CEMP-1 se estudió en algunos ensayos mediante su transfección en células de fenotipo no mineralizante, tales como los fibroblastos gingivales humanos. En contraste con los fibroblastos gingivales humanos normales, estas células mostraron aumento de la proliferación, la formación de nódulos mineralizados, aumento de la actividad fosfatasa alcalina y la expresión de novo de OCN, osteopontina, BSP, entre otras proteínas y factores de transcripción asociados con la formación de hueso y cemento (Carmona-Rodríguez *et al*, 2007). Estos estudios apoyan firmemente la idea de que CEMP-1 tiene la capacidad de cambiar el fenotipo de las células de no mineralizante, como los fibroblastos gingivales, a mineralizante como osteoblastos y cementoblastos mediante la regulación de la proliferación y la expresión génica, lo que resulta en la diferenciación de estas células y la producción de una matriz extracelular mineralizada semejante al cemento (Arzate *et al*, 2015).

Parece posible que CEMP-1 ejerza un papel de diferenciación en la población de células del LPD mediante células troncales multipotentes específicas con capacidad de diferenciarse en diversos fenotipos celulares (Xu *et al*, 2009), o como un inductor de las diferentes poblaciones celulares en el LPD teniendo un efecto sobre las células en distintos grados de diferenciación (Arzate *et al*, 2015). Esto explica también la expresión de CEMP-1 en las subpoblaciones de células del LPD que representan precursores de cementoblastos, osteoblastos, o ambos (Gould *et al*, 1980; Arzate *et al*, 2002; Alvarez-Pérez *et al*, 2006).

Se ha demostrado que CEMP-1 aumenta la actividad de la fosfatasa alcalina, los altos niveles de esta también se asocia con el cartílago hipertrófico y la formación de hueso, la fosfatasa alcalina se considera un marcador para la diferenciación de los condrocitos, ya que su

actividad parece estar aumentada durante la hipertrofia de los condrocitos (Eversole *et al*, 2008). La expresión de marcadores de cartílago sugiere que las células del ligamento periodontal tienen el potencial de diferenciarse en condrocitos y después progresar rápidamente a madurar y formar hueso (Arzate *et al*, 2015).

Los estudios sobre la regeneración de cemento, utilizando un modelo de perro para la necrosis de la pulpa dental, demostraron la capacidad de CEMP-1 para reclutar CT-LPD y promover la proliferación y la mineralización de estas células. En estudios *in vivo* se observó la co-localización de CEMP-1 y STRO-1 y se encontraron células positivas adyacentes a la superficie de la raíz donde es depositado el cemento en neoformación, indicando que las células responsables de la deposición de cemento reparativo son de origen mesenquimal (Paula-Silva *et al*, 2010). *In vitro*, CEMP-1 promueve la proliferación y la migración de células del ligamento periodontal, con el frente de migración que comprende células STRO-1-positivas. Estos estudios sugieren que CEMP-1 es un mediador en la cicatrización de heridas y la regeneración periodontal, ya que estimula la proliferación y migración de células del ligamento periodontal; a su vez CEMP-1 promueve la migración de las células STRO-1-positivas y proporciona un posible mecanismo para el reclutamiento de células mesenquimales (Paula-Silva *et al*, 2010). El papel de CEMP-1 como un quimioatrayente y como promotor de la mineralización se ve apoyado por los hallazgos de que la mineralización se reduce tras su bloqueo *in vitro*. En las células derivadas del cementoblastoma, el bloqueo de CEMP-1 disminuye la actividad de la fosfatasa alcalina y la expresión de osteopontina y BSP, pero no altera la proliferación celular (Alvarez-Pérez *et al*, 2006).

2 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son las características clínicas, radiográficas e histológicas de un grupo de casos diagnosticados como LFOB de los maxilares y cuál es el patrón de expresión espacial de los marcadores de células troncales mesenquimales: STRO-1, CD146; de cemento radicular: CEMP-1 y CAP y de hueso: OCN y BSP en una submuestra seleccionada de estas lesiones?

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Sí bien existen publicaciones acerca de LFOB de los maxilares donde se señala su frecuencia así como las principales características clínicas, radiográficas e histológicas, en nuestro país son escasos los informes publicados sobre estas lesiones que mencionen su frecuencia, características importantes sin mencionar estudios de caracterización de proteínas y mutaciones presentes en ellas.

Por otra parte las LFOB aún representan un reto diagnóstico para el patólogo bucal, por compartir y traslapar sus patrones histológicos. Hasta la fecha se desconoce algunos de los mecanismos involucrados en la etiopatogénesis de estas lesiones. No obstante, se sabe que DF se encuentra asociada a la mutación en el gen GNAS y algunas lesiones de FO presentan mutación en el gen HRTP2. Sin embargo, la presencia de mutación se ha encontrado de forma distinta entre los pacientes afectados. Además, por la relación existente entre lesiones como DO y FO con el LPD, se ha sugerido la presencia de células troncales del ligamento periodontal en su desarrollo, aunque no ha sido corroborado fehacientemente.

En años recientes, distintos autores han llevado a cabo estudios para diferenciar entre las LFOB a través del uso de proteínas celulares y marcadores moleculares; sin embargo, sus hallazgos no han sido concluyentes. La presencia de las proteínas OCN y BSP han sido estudiadas previamente en LFOB, permitiendo encontrar diferencias entre el componente mineralizado de acuerdo a la evolución y grupo de lesión evaluada. De igual manera, trabajos experimentales para evaluar la regeneración de tejidos periodontales, han utilizado marcadores celulares que identifican células troncales provenientes de los tejidos periodontales capaces de producir tejido mineralizado. Entre dichas proteínas, se puede mencionar a CEMP-1 y CAP, que han sido observadas en cemento radicular y proteínas CTM-LPD (STRO-1 y CD146) identificadas en células troncales de la pulpa dental y del ligamento periodontal.

Por lo anterior en este estudio se plantea describir las principales características clínicas, radiográficas e histológicas de LFOB en un grupo de casos de población mexicana y observar el patrón de expresión espacial de los marcadores STRO-1, CD146, CEMP-1, CAP, OCN y BSP en una submuestra seleccionada de ellas.

4 JUSTIFICACIÓN

Las LFOB de los maxilares en general presentan baja morbilidad, sin embargo lesiones como el FO y la DF pueden presentar un crecimiento progresivo causando deformidad y parafunciones en los pacientes, es por ello que se vuelve imperante realizar un diagnóstico adecuado para cada lesión.

La diferenciación histológica de estas lesiones y el desconocimiento de los mecanismos involucrados en la etiopatogénesis de estas entidades siguen siendo problemas actuales. Por otra parte, se cuenta con evidencia de la utilidad que podrían tener los marcadores de CT-LPD y de proteínas específicas de cemento radicular para diferenciar las entidades como FO y DO y confirmar su origen.

Los resultados obtenidos en este estudio enriquecerán la información sobre estas lesiones en nuestro país, reportando la frecuencia y las características clínico-radiográficas e histológicas de lesiones provenientes de un centro de referencia en México; a su vez los hallazgos del presente estudio aportará información exploratoria acerca de la Inmunoexpresión de proteínas específicas de cemento radicular CEMP-1, CAP, y otros marcadores encontrados en el proceso de formación y mineralización de hueso y cemento (OCN y BSP) de las estructuras mineralizadas presentes tanto en el FO, DF y DO.

5 OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Identificar las principales características clínicas, radiográficas e histológicas de un grupo de casos obtenidos del archivo del laboratorio de patología y medicina bucal de la UAM- X, diagnosticados como LFOB de los maxilares y observar la expresión espacial de marcadores moleculares de CTM, cemento radicular y hueso en una submuestra seleccionada de las lesiones.

5.2. Objetivos específicos.

- Determinar la frecuencia de las LFOB durante en un periodo de 35 años (enero 1980- diciembre 2015) del Laboratorio de Patología y Medicina Bucal de la UAM- Xochimilco.
- Comparar las características clínicas, radiográficas e histológicas entre los tres tipos de lesiones.
- Establecer la asociación entre el tipo de lesión y las características epidemiológicas, clínicas, radiográficas e histológicas.
- Determinar la positividad de la inmunodetección de los marcadores STRO-1, CD146, CEMP-1, CAP, OCN y BSP en la submuestra seleccionada de LFOB.

6 MATERIALES Y MÉTODO

6.1 Diseño de estudio

Estudio transversal, observacional, retrolectivo y analítico en el que se seleccionaron casos con diagnóstico histológico de LFOB de los maxilares, del archivo de histopatología del Laboratorio de Patología y Medicina bucal de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, mediante un muestreo consecutivo, no probabilístico.

6.2 Universo de estudio

6.2.1 Grupo de estudio

Correspondieron a casos de pacientes del archivo del Laboratorio de Patología y Medicina bucal de la UAM-Xochimilco, recibidos durante el periodo de enero de 1980 hasta diciembre del 2015 que presentaron diagnóstico confirmado histopatológicamente de LFOB.

De las 10,734 biopsias recibidas durante un periodo de 35 años 98 casos fueron diagnosticados como LFOB (FO, FOJPs, FOJTr, DO, DOF, DOFl, DOP, DF, DFP), de los cuales se excluyeron 17 casos que no contaban con muestra para realizar el estudio histopatológico. El número final de muestras fue de 81 casos, de los cuales 21 casos correspondieron a FO, 44 casos a DF y 16 a DO.

6.2 Criterios de inclusión

- Casos de pacientes con LFOB diagnosticados en el Laboratorio de Patología y Medicina bucal de la UAM-Xochimilco durante el periodo de enero de 1980 hasta diciembre del 2015
- Casos de lesiones que cuenten con datos clínicos, radiográficos, laminilla y bloque de parafina, cuya muestra tisular sea adecuada en calidad y cantidad para el análisis histológico.

6.3 Criterios de exclusión

- Casos con diagnóstico el LFOB que reportaron estar bajo tratamiento con bifosfonatos o radiación.

6.4 Criterios de eliminación

- Casos incluidos que sufran daño tisular durante el procedimiento.

6.5 Selección de submuestra para estudio de inmunofluorescencia

Se seleccionaron dos casos de cada lesión (DO, DF, FO) con características histológicas representativas, excluyendo casos de DF polioestótica, FO juveniles y DOFl. Los casos seleccionados presentaron las siguientes características:

- Muestras histológicas que presentaran tejido mineralizado acelular de tipo cementoide.
- Muestras con más de un 20% de tejido fusocelular.

6.6 Variables

Definición operacional de variables			
Variable	Tipo	Escala de medición	Operacionalización
<i>Dependiente</i>			
Diagnóstico: DO,DF, FO	Cualitativa	Nominal	De acuerdo a la clasificación clínica, radiográfica e histológica
<i>Independientes</i>			
Edad	Cuantitativa	Continua	Años cumplidos
Sexo	Cualitativa	Dicotómica	Hombre, mujer
Localización de la lesión	Cualitativa	Nominal	Maxilar, mandíbula, maxilar-mandíbula
Sintomatología	Cualitativa	Dicotómica	Sintomático, asintomático
Aspecto radiográfico	Cualitativa	Nominal	Radiolúcido, radiopaco, radiomixto, vidrio esmerilado
Celularidad estromal	Cualitativa	Dicotómica	Celular, colagenizado
Estructuras mineralizadas	Cualitativa	Nominal	Hueso inmaduro, hueso lamelar, inmaduro- lamelar, cementoide, cementoide-inmaduro, cementoide-lamelar.
Cápsula	Cualitativa	Dicotómica	Presencia, ausencia
Bordes en cepillo	Cualitativa	Dicotómica	Presencia, ausencia
Espacio de retracción	Cualitativa	Dicotómica	Presencia, ausencia
Actividad osteoclástica	Cualitativa	Dicotómica	Presencia, ausencia
Anillo osteoblástico	Cualitativa	Nominal	Ausente, solo en hueso lamelar, hueso lamelar- inmaduro.
Hemorragia	Cualitativa	Dicotómica	Presencia, ausencia

6.7 Consideraciones bioéticas

En consideración del artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, este estudio puede clasificarse dentro del grupo de investigaciones sin riesgo, ya que sólo se emplea información obtenida de forma retrolectiva en las que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada de las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en este estudio.

En el presente estudio se respetó la confidencialidad de los datos clínicos, los fragmentos de tejido correspondientes a cada caso sólo se utilizaron para ser estudiados y en algunos de los casos se utilizaron para realizar estudios de inmunofluorescencia. Las muestras histológicas destinadas para esta investigación servirán para obtener información relevante sobre estas lesiones.

6.8 Fases del estudio

6.8.1 Fase 1. Elaboración de ficha de datos

Para llevar un registro de actividad se elaboró una ficha de recolección de datos, esta se dividió en 4 secciones; la primera consistió en la información demográfica para caracterizar a la población, donde se incluyó la edad y género de cada paciente, así como la asignación de un folio. En el segundo apartado se incluyeron las características clínicas como son el tamaño de la lesión en centímetros, la localización de la lesión, sintomatología, tiempo de evolución. El tercer apartado menciona las características radiográficas tales como la apariencia radiográfica y los bordes de la lesión. El cuarto rubro incorporó características histopatológicas de las LFOB tomando en cuenta criterios previamente establecidos por la literatura, tales como; celularidad estromal, tipo de tejido mineralizado encontrado, presencia de cápsula, presencia de espacios de retracción, anillo osteoblástico, presencia de osteoclastos, hemorragia y bordes en cepillo. Para los seis casos analizados por inmunofluorescencia se agregó un último apartado donde se especificó la positividad o negatividad de los marcadores estudiados. Anexo 1.

6.6.1 Fase 2. Recolección de datos

Del registro de expedientes del laboratorio se obtuvieron los números correspondientes a los casos recibidos en el periodo comprendido de enero de 1980 hasta diciembre del 2015.

Después, se revisó cada uno de los mismos a fin de seleccionar los casos con diagnóstico de LFOB, obteniendo datos clínicos y radiográficos especificados en la solicitud de biopsia anexada al expediente. Se realizó la estandarización de los observadores para la evaluación histopatológica donde se obtuvo un índice Kappa de concordancia interobservador ($K=0.80$).

6.6.2 Fase 3. Revisión de las muestras histológicas

Con el número de expediente, se obtuvieron bloques histológicos y laminillas de cada caso y con ellos se realizó la evaluación de las características histológicas en cortes teñidos en H&E. El componente de tejido mineralizado fue categorizado como hueso lamelar, hueso inmaduro y tejido mineralizado acelular; dependiendo del tipo o tipos de tejido mineralizado predominante se categorizó en: muestras con predominio de hueso inmaduro, hueso lamelar o cantidades semejantes de ambos, muestras con tejido acelular de aspecto cementoide-lamelar y muestras con tejido cementoide- hueso inmaduro (Waldron, 1993).

El estroma de la lesión se clasificó como celular o colagenizado dependiendo de la celularidad, en 5 campos representativos de 40x, se trazó una línea meridiana al eje central y se contaron los núcleos atravesados por la misma, las áreas en las que la línea cruzó 10 o más núcleos se consideró celular, áreas de menos de 9 células fueron considerados moderadamente celular o colagenizado (Slootweg and Müller, 1990).

La presencia de cápsula, hemorragia, osteoclastos, bordes en cerdas de cepillo y espacios de retracción se interpretaron como presentes o ausentes. Los bordes en cerdas de cepillo, se consideraron como fibras que se disponen de forma radial alrededor de las estructuras mineralizadas de aspecto cementoide y los espacios de retracción a los espacios o hendiduras que separan las estructuras mineralizadas del estroma de tejido fibroconectivo que las rodea. La presencia de anillo osteoblástico se clasificó como ausente, presente solo en hueso lamelar y presente en hueso lamelar e inmaduro; por último, se evaluó la presencia de hemorragia intralesional y se categorizó como ausente o presente.

6.6.3 Fase 4. Técnica de inmunofluorescencia

Se seleccionaron seis casos, dos casos con características histológicas representativas de cada lesión, que presentaran tejido mineralizado acelular con forma de cementículos y más de un 20 % de tejido fusocelular. La técnica de inmunofluorescencia fue estandarizada y llevada a cabo en el Laboratorio de Biología Periodontal y Tejidos Mineralizados de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se realizaron 8 cortes de cada bloque de parafina de 5 μ m de grosor y posteriormente se colocaron en portaobjetos sialinizados. Los cortes fueron desparafinados con xilol en concentración decreciente, 10 minutos para cada una de las concentraciones 80% y 70%, después se hidrataron las secciones mediante la inmersión en alcoholes graduados de 2 a 3 minutos en cada concentración, se realizaron 3 lavados en solución salina amortiguada por Fosfatos (PBS) durante 5 minutos bajo agitación para después delimitar el tejido con lápiz hidrofóbico y bloquear los sitios inespecíficos de unión antigénica con albúmina de suero bovino 1% (BSA).

Los anticuerpos para la técnica fueron de tipo monoclonal incluyéndose: CD146 Mel-CAM (sc- 18837, Santa Cruz), STRO-1 (sc-47733, Santa Cruz), CAP (sc- 53947, Santa Cruz). De los anticuerpos policlonales se incluyeron: OCN (sc- 30044, Santa Cruz), BSP II (sc- 292393, Santa Cruz), CEMP-1(hecho en el Laboratorio de Biología Periodontal y Tejidos Mineralizados de la UNAM). En cada corte se incubaron dos anticuerpos uno monoclonal y uno policlonal en el siguiente orden: OCN- CAP, BSP-CD146, CEMP-1-CAP, CEMP-1-STRO-1, BSP-CAP, CEMP-1-CD146, OCN-CD146 y un negativo.

Primero se incubaron los anticuerpos primarios tanto monoclonales como policlonales a una dilución de 1:100 durante 12 horas en oscuridad en cámara húmeda a 4°centígrados, posteriormente se realizaron 2 lavados con PBS twin al 2% durante 5 minutos y dos lavados con PBS al 1% durante otros 5 minutos cada uno. Se colocó el anticuerpo secundario FITC en una dilución de 1:100 y Alexa en 1:400 y se incubaron en las muestras 2 horas a temperatura ambiente en oscuridad en cámara húmeda, para finalmente lavar 2 veces con PBS y montar el cubreobjetos con medio de montaje acuoso o 90% de glicerol en PBS.

6.6.4 Fase 5. Evaluación de la Inmunoexpresión de STRO-1, CD146, CEMP-1, CAP, BSP Y OCN en los casos seleccionados

Las laminillas montadas fueron observadas por dos patólogos bucales mediante un microscopio de fluorescencia equipado con cámara digital (Zeiss LSM 510), se tomaron fotografías de áreas representativas a 20x y 40x visualizadas mediante el programa Zen. Dichas imágenes fueron utilizadas para la descripción de la expresión de la inmunotinción celular. Las fotografías de inmunofluorescencia fueron comparadas con su correspondiente laminilla teñida con tricrómica de Masson, de tal forma que se pudiera establecer la relación topográfica de las células positivas a la inmunotinción.

Se evaluó la positividad de la inmunotinción separando las células en cuatro grupos: osteocitos, osteoblastos, células estromales y células perivasculares, clasificándolas como positivas o negativas.

6.7 Análisis estadístico

Los datos de la ficha de recolección fueron codificados, capturados y analizados en el programa estadístico JMP v.10. Las variables continuas se expresaron mediante medidas de tendencia central (medias y medianas) y de dispersión (desviación estándar y rangos). Las variables nominales fueron presentadas en proporciones. Se analizó la asociación entre el diagnóstico de la lesión y las características clínicas, radiográficas e histológicas mediante X^2 o prueba exacta de Fisher según fuera necesario. Para comparar variables ordinales entre grupos se utilizó prueba de suma de rangos Wilcoxon y Kruskal-Wallis, así como la prueba de Tukey- Kramer para comparación de medias. La prueba de hipótesis se realizó a un nivel de confianza de $\alpha \leq 0.05$.

7 RESULTADOS

De 10,734 biopsias recibidas en el laboratorio de patología y medicina bucal de la UAM-X durante un periodo de 35 años (1980-2015) sólo el .91% de los casos correspondió a LFOB. De un total de 98 casos con diagnóstico de LFOB (FO, FOJPs, FOJTr, DO, DOF, DOFl, DOP, DF, DFP), se excluyeron 17 casos que no contaban con muestra para realizar el estudio histopatológico. El número final de muestras fue de 81 casos, de los cuales 21 casos (25.9%) correspondieron a FO, 44 casos (54.3%) a DF y 16 (19.7%) a DO.

7.1 Características demográficas

En este estudio, se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el sexo del paciente y el diagnóstico de la lesión ($p < 0.001$) encontrándose una mayor proporción de mujeres en las tres lesiones con un total de 56 casos (69.1%), siendo la relación hombre-mujer de 2.3:1. La media de edad de los pacientes fue de 29.6 años ($DE \pm 16.7$), con un rango de 3 a 89 años. El tipo de lesión se observó relacionado con la edad de los pacientes ($p < 0.001$) se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las edades de pacientes con FO y DF, así como DF y DO (Cuadro 3).

7.2 Características clínicas

La localización más frecuente fue en mandíbula 41 casos (50.6%), 32 casos (39.5%) se observaron en maxilar y sólo 8 casos (9.8%) se localizaron tanto en maxilar como en mandíbula, 7 de los cuales correspondieron a DF. En cuanto al tamaño de la lesión se observó una media de 3.6 cm ($DE \pm 2.24$ cm) con una rango mínimo de 0.5cm de una lesión que

correspondió a DO y un máximo de 15 cm, correspondiente a un FO de tipo juvenil. La mayoría de los casos reportó curso asintomático, 61 casos (75.3%) y 20 casos sintomáticos (24.6%); el grupo de lesiones con más casos sintomáticos fue el FO, ya que de los 21 casos observados el 38% presentó algún tipo de sintomatología (Cuadro 3).

La mayoría de las lesiones fueron reportadas con una evolución de años 63 de los casos (77.7%) y solo 18 de los 81 (22.2%) se registraron como lesiones de tiempo de evolución menor.

7.3 Características radiográficas

Las lesiones con aspecto radiográfico mixto fueron las más frecuentes (40.7%), sólo el (8.1%) de los casos presentaron apariencia radiográfica de vidrio esmerilado y de estas más del 80% correspondió a DF. La mayoría de las lesiones radiopacas correspondieron a DO (68.7%) y se encontró una mayor cantidad de lesiones radiolúcidas en el FO en comparación a DO y DF ($p=0.001$) (Cuadro 4).

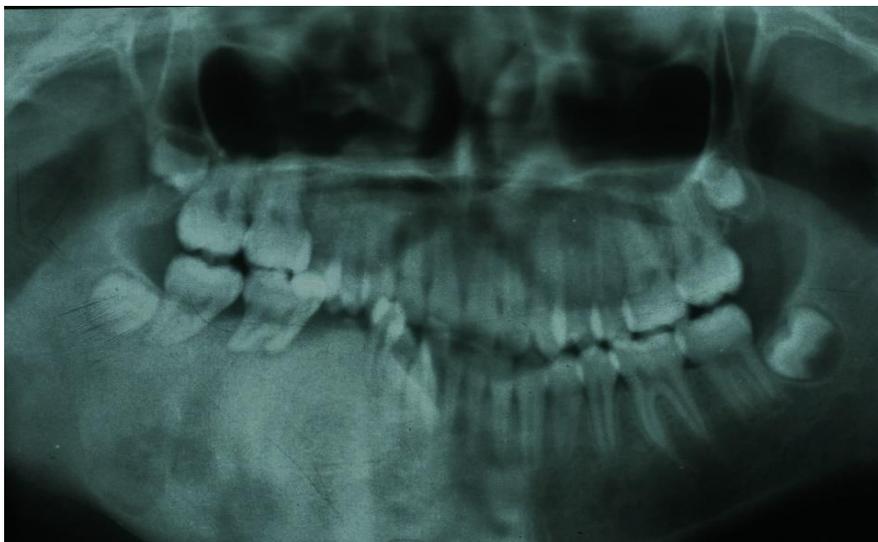


Figura 2. Ortopantomografía de un caso correspondiente a DF, la lesión es expansiva con bordes poco definidos y apariencia de vidrio esmerilado

7.4 Características histológicas

Las lesiones más celulares fueron los FO 17/21 (80.9%), mientras que DF presentó el mayor número de lesiones con poca celularidad 28/44 (66.6%). De la totalidad de las lesiones, más de la mitad (54.3%) presentó hueso lamelar, de los casos diagnosticados como DO, el (81.2%) presentó tejido mineralizado acelular de aspecto cementoide. Se encontró una mayor asociación entre la presencia de estructuras mineralizadas de aspecto cementoide con el diagnóstico de FO y DO en relación a lesiones de DF ($p=0.0001$).

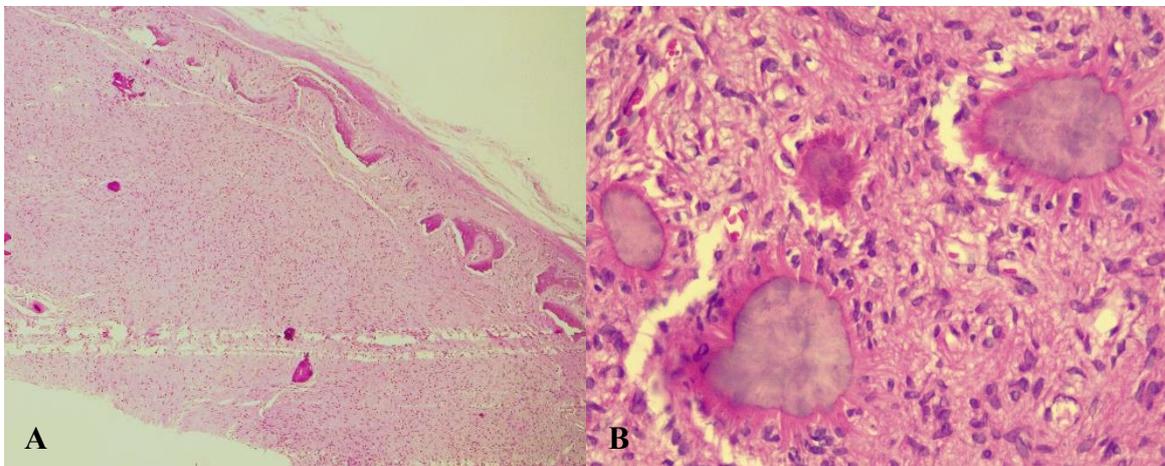


Figura 3. Fotomicrografías en H & E en casos de Fibroma Osificante. **A** Lesión delimitada por tejido fibroconectivo, presencia de trabéculas óseas y estructuras de aspecto cementoide dispersas en estroma fibroso hiper celular (4x). **B** Estructuras esferoidales de aspecto cementoide con bordes en cepillo (40x)

Solamente 15 de las 81 lesiones estudiadas (18.5%) presentó en la periferia hallazgos compatibles con cápsula de tejido fibroconectivo, de los cuales, 12 correspondieron a FO (80%) asociándose la presencia de cápsula a lesiones de FO ($p=0.0004$). Se observó que a la periferia de los cuerpos de aspecto cementoide el (23.46%) presentó fibras radiales con aspecto de bordes de cepillo, la mayoría de las lesiones que lo presentaban correspondieron a FO y DO.

Los espacios de retracción alrededor de las estructuras mineralizadas fue un hallazgo asociado a lesiones de DF ($p < 0.001$), de los 44 casos observados, 34 presentaban esta característica histológica (82.9%). En las lesiones donde se observó mayor presencia de actividad osteoclástica fue en el FO ya que de las 21 lesiones en 15 se encontró presencia de osteoclastos (71.43%). Por lo que respecta a la presencia de anillo osteoblástico las lesiones diagnosticadas con DF no presentaron anillo osteoblástico asociado a hueso inmaduro a comparación de lesiones de DF y FO ($p = 0.001$). Finalmente, sólo 29 de 81 casos (35.8%) presentó áreas de hemorragia intralesional, más de la mitad de las lesiones con diagnóstico de DO (56.2%) presentó hemorragia (cuadro 5).

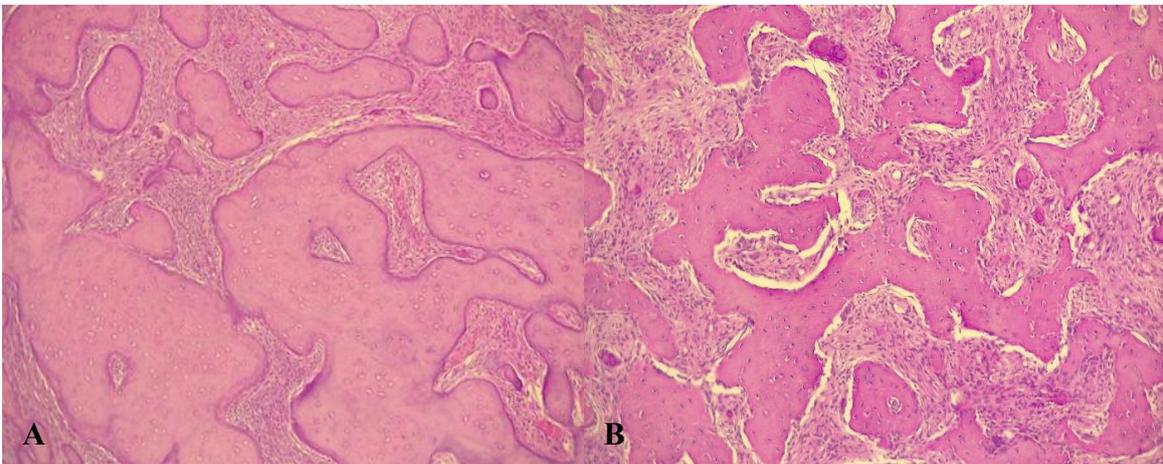


Figura 4. Fotomicrografías en H & E en casos de Displasia Fibrosa. **A** Trabéculas óseas con ausencia de anillo osteoblástico sobre una estroma fusocelular (10x). **B** Trabéculas óseas de forma irregular separadas del tejido conectivo por espacios de retracción (10x).

7.5 Análisis inmunofluorescencia

7.5.1 Fibroma Osificante

Los especímenes revisados correspondieron a FO de tipo convencional o NOS. Las dos muestras se caracterizaron por su alta celularidad, la presencia de tejido óseo de tipo osteoide, lamelar y depósitos basófilos de aspecto cementoide, así como la presencia de una

pseudocápsula de tejido fibroconectivo rodeando fragmentos de lesión, tanto los marcadores osteogénicos, cementogénicos y de CTM fueron positivos en ambas lesiones (Figura 6 y 7).

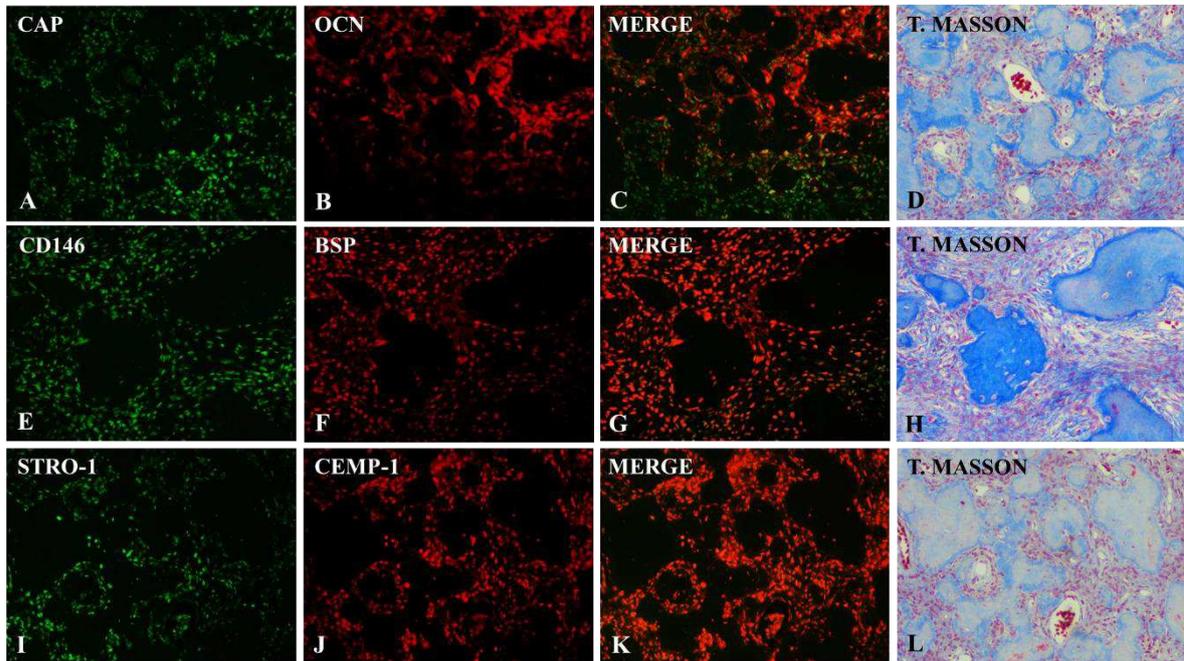


Figura 5. Inmunotinción doble y co-localización de proteínas BSP, OCN, STRO-1, CD 146, CEMP-1, CAP en el caso 1 de Fibroma Osificante. CAP, CEMP-1, STRO-1, CD146 Y BSP se localizaron en CE, OC y OB que rodean tejido mineralizado de aspecto óseo y cementoide (A, E, F, I, J). La Osteocalcina se depositó en matriz extracelular, se localizó en OC y en escasas subpoblaciones de OB y CE (B). La co-localización entre CAP y OCN se observó en OC y en pequeñas subpoblaciones de CE y OB (C). La co-localización de CD146 y BSP se observó en OC, OB, pequeñas subpoblaciones de CE fueron solo positivas a CD146 (G). Co-localización de STRO-1 Y CEMP-1 indicó distribución homóloga en OC, OB y CE (K). Secciones teñidas con tricrómica de Masson para orientación morfológica. Fotomicrografías tomadas a 20 x. OC: Osteocitos; OB: Osteoblastos; CE: Células estromales.

Ambos casos de FO correspondieron a pacientes femeninas de 27 y 38 años respectivamente ambas lesiones localizadas en cuerpo mandibular. Como se puede observar en el cuadro 6, en el caso 2 se observó positividad solo en CD146 en células perivasculares. Los marcadores cementogénicos se observaron positivos en los fragmentos de lesión estudiados, la positividad se localizó en células dentro del tejido mineralizado y periféricas a las mismas.

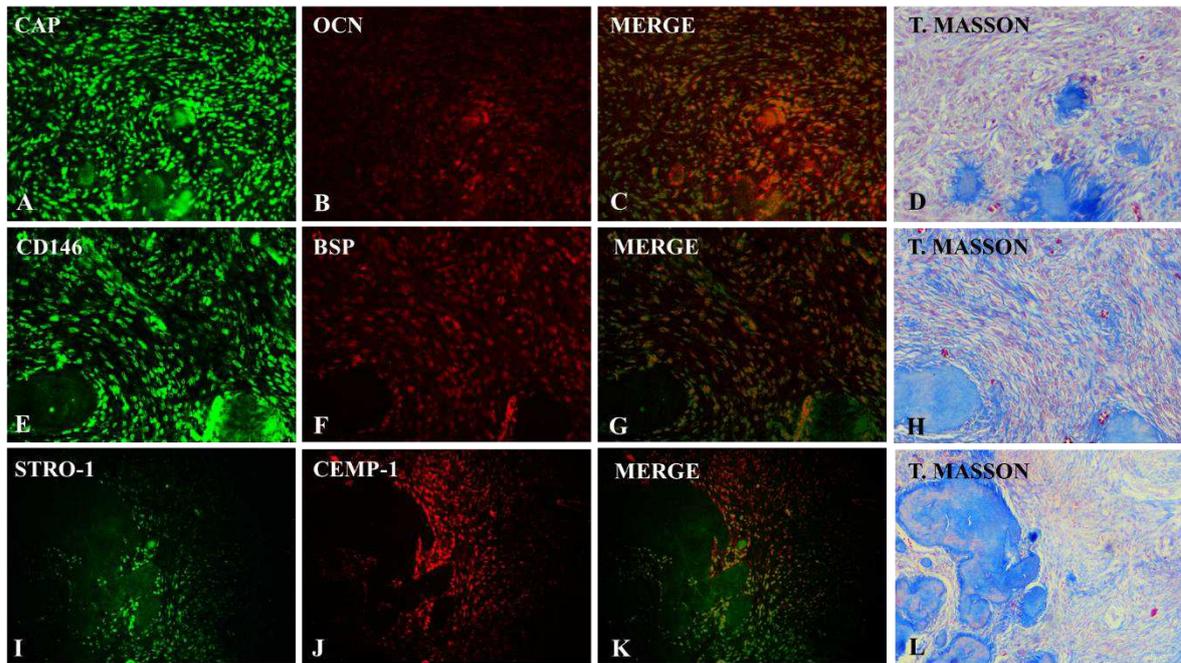


Figura 6. Inmunotinción doble y co- localización de proteínas BSP, OCN, STRO-1, CD 146, CEMP-1, CAP en el caso 2 de Fibroma Osificante. CAP, CEMP-1, STRO-1, CD146 Y BSP se localizaron en CE, OC y OB que rodean tejido mineralizado de aspecto óseo y cementoide (A, E, F, I, J). La Osteocalcina se depositó en matriz extracelular, se localizó en OC y en escasas subpoblaciones de OB y CE (B). La co-localización entre CAP y OCN se observó en OC y pequeñas subpoblaciones de CE y OB, siendo la mayoría de población celular positiva a CAP (C). La co- localización de CD146 y BSP se observó en OC, OB, subpoblaciones de CE fueron solo positivas a CD146, mientras que BSP se depositó en matriz extracelular (G). Co- localización de STRO-1 Y CEMP-1 se observó en OC, subpoblaciones de OB y CE, predominando la expresión de CEMP-1 en OB y STRO-1 en CE(K). Secciones teñidas con tricrómica de Masson para orientación morfológica. Fotomicrografías tomadas a 20 x (D, H) 40x (L). OC: Osteocitos; OB: Osteoblastos; CE: Células estromales.

Las células estromales y perivasculares también mostraron positividad, hubo zonas donde CAP sólo se localizó en subpoblaciones de células estromales y osteocitos. Los marcadores osteogénicos como BSP y OCN se observaron positivos, mostrando depósito en matriz extracelular y localización en subpoblaciones de osteocitos, células estromales y células periféricas a tejido de aspecto cementoide. Estas lesiones se mostraron positivas para los marcadores de CTM: STRO-1 y CD146, localizándose no solo en células perivasculares, las células estromales, osteocitos y células periféricas a tejido mineralizado se observaron positivas también. La co- localización entre STRO-1 y CEMP-1 fue un hallazgo importante que se observó en ambos casos.

7.5.2 Displasia Fibrosa

Los especímenes revisados correspondieron a DF monostótica. Ambas muestras presentaban una alta celularidad así como tejido óseo de tipo osteoide, lamelar y depósitos basófilos de aspecto cementoide, reunían además características histológicas distintivas como áreas de hueso trabecular continuas a la cortical externa, espacios de retracción y ausencia de anillo osteoblástico relacionado a hueso lamelar. En estas lesiones se observó positividad de los marcadores, sin embargo la localización fue focal (Figura 8 y 9).

Ambos casos se presentaron en maxilar, el primer caso correspondió a una paciente femenina de 30 años mientras que el caso 2 se observó en un masculino de 11 años. Como se observa en el cuadro 6, los marcadores osteogénicos BSP, OCN se localizaron principalmente en osteocitos de tejido óseo trabecular y focalmente en subpoblaciones de osteoblastos y células estromales. CAP se observó focalmente en células estromales y en subpoblaciones de células periféricas al tejido mineralizado en el caso 1, mientras que CEMP-1 fue positivo en todos los grupos celulares estudiados. Los marcadores de CTM fueron localizados en escasas células estromales y perivasculares que solo presentaron positividad para CD146.

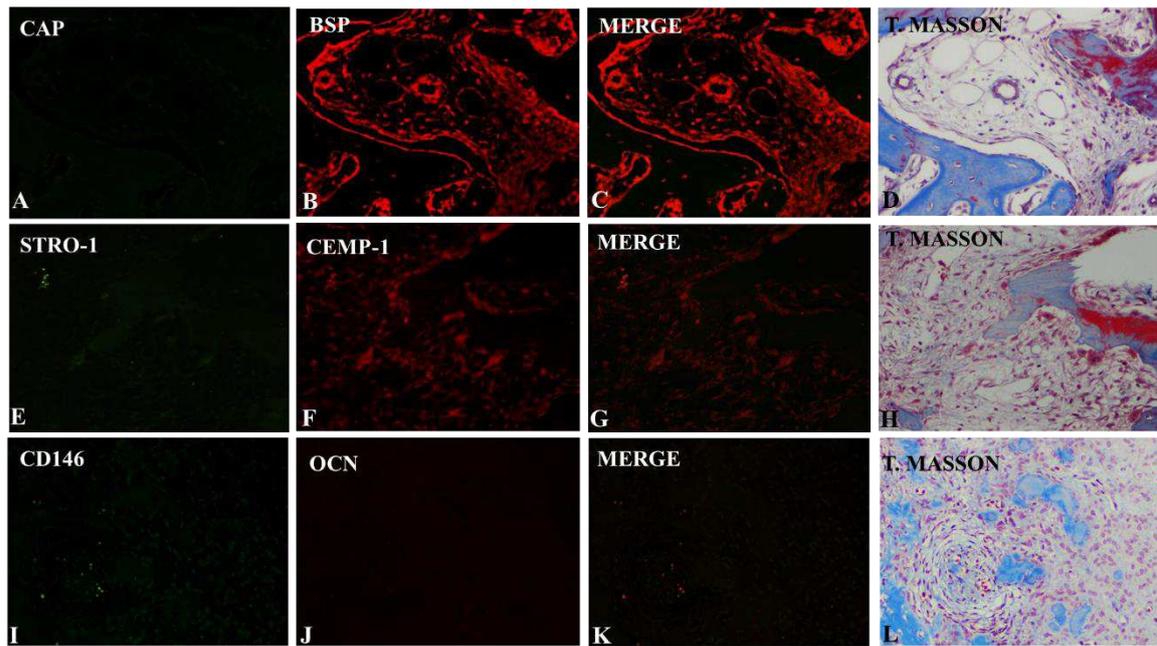


Figura 7. Inmunotinción doble y co-localización de proteínas BSP, OCN, STRO-1, CD 146, CEMP-1, CAP en el caso 1 de Displasia Fibrosa. BSP se localizó en CE, OC, PV y OB que rodean tejido mineralizado de aspecto trabecular así como en células en espacios medulares (B). CEMP-1 se expresó focalmente en OB, OC, CE y PV (F). CD146 mostró poca intensidad focal en CE (I). OCN, CAP, STRO-1 negativos (A,E,J). Secciones teñidas con tricrómica de Masson para orientación morfológica. Fotomicrografías tomadas a 20 x. OC: Osteocitos; OB: Osteoblastos; CE: Células estromales; PV, Perivasculares.

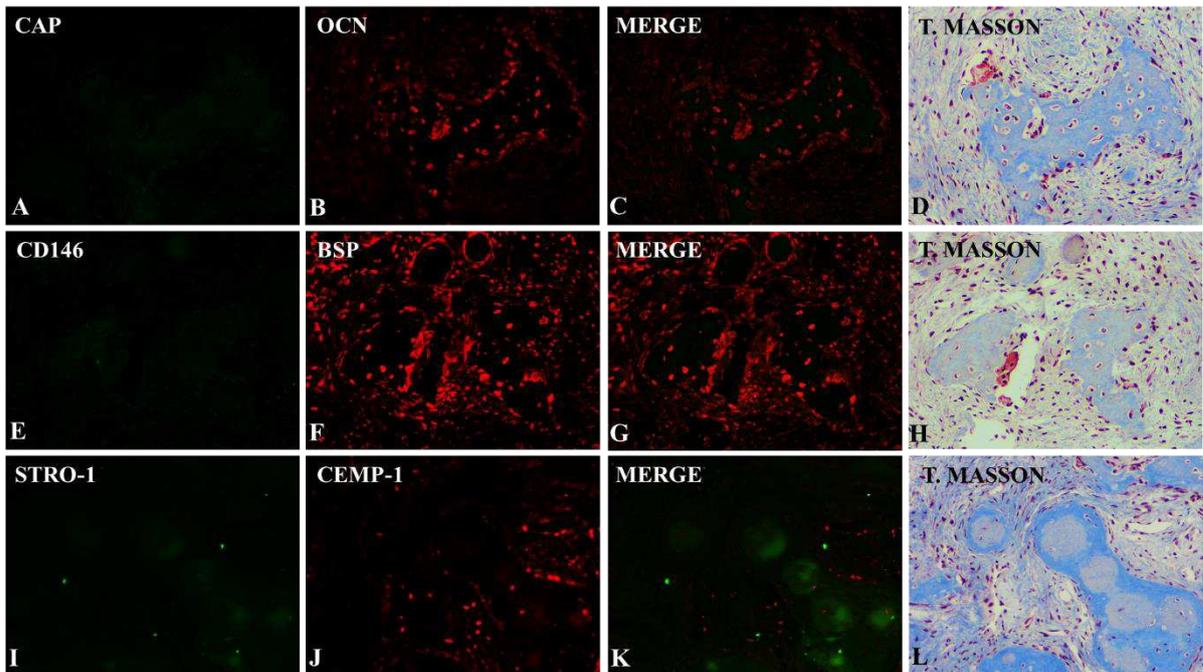


Figura 8. Inmunotinción doble y co- localización de proteínas BSP, OCN, STRO-1, CD 146, CEMP-1, CAP en el caso 2 de Displasia Fibrosa. OCN se localizó en OC, OB y focalmente en CE (B). BSP se localizó en subpoblaciones de CE y OC (F). CEMP-1 se localizó en subpoblaciones de OB, OC, CE y PV (J). CAP, CD146, STRO-1 negativos (A,E,I). Secciones teñidas con tricrómica de Masson para orientación morfológica. Fotomicrografías tomadas a 20 x. OC: Osteocitos; OB: Osteoblastos; CE: Células estromales; PV, Perivasculares.

7.5.3 Displasia Ósea

Los especímenes revisados correspondieron a DO de tipo focal. Las dos muestras presentaron tejido óseo de tipo osteoide, lamelar y depósitos basófilos de aspecto cementoide así como características distintivas de este tipo de lesiones tales como muestras fragmentadas, masas de tejido mineralizado acelular y hemorragia intralesional. Hubo diferencias notorias entre ambos casos con respecto a la expresión de marcadores, mientras que el caso 1 se observó localización focal, en el caso 2 la mayoría de marcadores se observaron negativos (Figura 10 y 11).

Ambos casos fueron de pacientes de sexo femenino de 47 y 45 años respectivamente, el caso 1 se observó en maxilar mientras que el caso 2 en mandíbula. Los marcadores BSP Y OCN

se observaron en tejido mineralizado y en células periféricas a estas estructuras, escasas subpoblaciones de células estromales fueron positivas en el caso 1. Los marcadores de CTM fueron negativos en el caso 2 mientras que en el caso 1 se observaron de forma focal en células relacionadas a tejido mineralizado. El caso 2 sólo presentó positividad focal a CEMP-1, mientras que en el caso 1 ambos marcadores se observaron positivos en células relacionadas a tejido mineralizado y estromales.

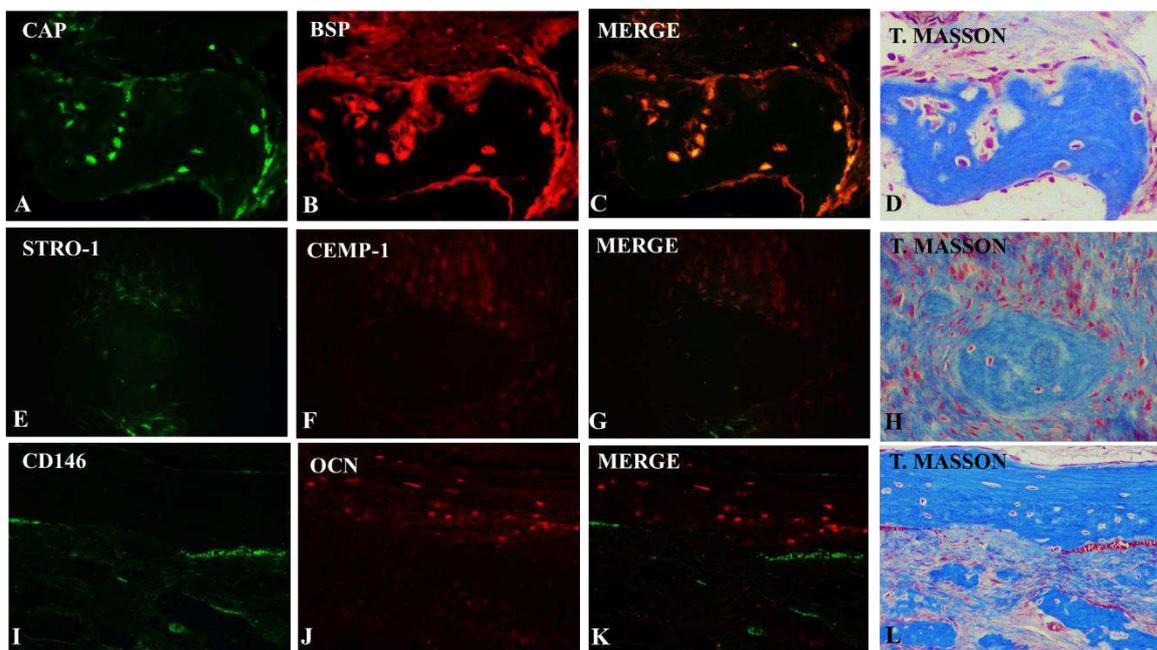


Figura 9. Inmunotinción doble y co-localización de proteínas BSP, OCN, STRO-1, CD 146, CEMP-1, CAP en el caso 1 de Displasia Ósea. CAP se localizó en OC, OB y focalmente en CE (A). BSP se localizó en OB y OC, depositándose en matriz extracelular (B). STRO-1 y CEMP-1 se localizaron en subpoblaciones de OB, OC, CE (E,F). CD146 mostró una leve tinción en subpoblaciones de OC (I). OCN se localizó en subpoblaciones de OC (J). La co-localización entre CAP y BSP se observó en OC y OB, con escasas subpoblaciones positivas sólo a CAP en CE (C). Co-localización de STRO-1 Y CEMP-1 se observó en subpoblaciones de OC y CE, predominando la expresión de CEMP-1 en CE (G). Secciones teñidas con tricrómica de Masson para orientación morfológica. Fotomicrografías tomadas a 20 x (L) 40x (D, H). OC: Osteocitos; OB: Osteoblastos; CE: Células estromales; PV, Perivasculariales.

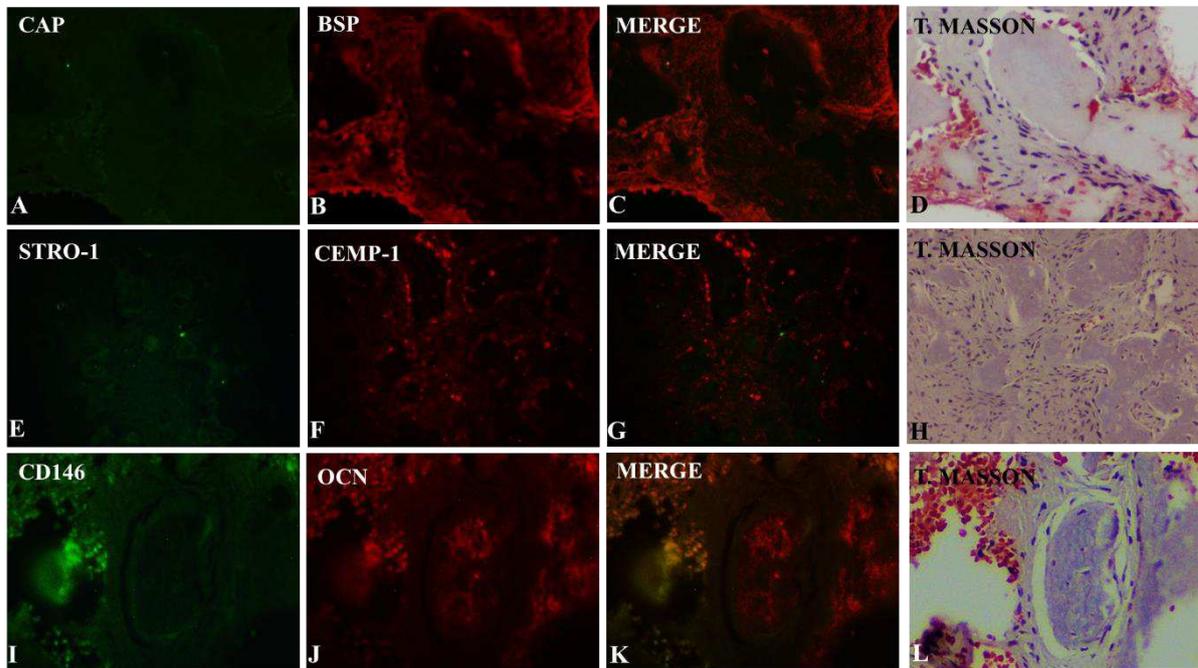


Figura 10. Inmunotinción doble y co-localización de proteínas BSP, OCN, STRO-1, CD 146, CEMP-1, CAP en el caso 2 de Displasia Ósea. BSP se localizó en subpoblaciones de OC (B). CEMP-1 se localizó en subpoblaciones de OB, OC, CE y (F). CAP, CD146, STRO-1 y OCN negativos (A,E,I,J). Secciones teñidas con tricrómica de Masson para orientación morfológica. Fotomicrografías tomadas a 20x (D,L) Y 40x (H). OC: Osteocitos; OB: Osteoblastos; CE: Células estromales; PV, Perivasculares.

Cuadros

Cuadro 1. Clasificación de las lesiones fibro-óseas de los maxilares OMS 2017

1. Displasia fibrosa
 - Displasia fibrosa monostótica
 - Displasia fibrosa poliostótica
2. Displasia ósea
 - Displasia ósea periapical
 - Displasia ósea focal
 - Displasia ósea florida
3. Fibroma osificante
 - Fibroma osificante
 - Fibroma osificante juvenil trabecular
 - Fibroma osificante juvenil psamomatoide

Tomado y modificado del libro de tumores de cabeza y cuello, OMS 2017.

Cuadro 2. Estudios sobre frecuencia de lesiones fibro-óseas benignas de los maxilares

Autor y año	Periodo/años	País	Población						
			n	FO	(%)	DF	(%)	DO	(%)
Abdulai y cols, 2004	14	Ghana	52	32	(61.5)	16	(30.7)	4	(7.6)
Alsharif y cols, 2009	20	China	127	55	(43.3)	29	(22.8)	43	(33.8)
Worawongvasu y cols, 2010	34	Tailandia	122	65	(53.2)	52	(42.6)	5	(4.1)
Santos Netto y cols, 2013	9	Brasil	143	22	(15.4)	21	(14.6)	100	(70.0)
Phattarataratip y cols, 2014	38	Tailandia	207	80	(38.6)	76	(36.7)	51	(24.6)

Cuadro 3. Características clínicas en 98 pacientes con lesiones con LFOB de los maxilares

	Fibroma osificante	Displasia fibrosa	Displasia ósea	<i>p</i>
	(n=23)	(n=54)	(n=21)	
	n (%)	n (%)	n (%)	
Sexo*				
Masculino	3 (13.0)	24 (44.4)	1 (4.7)	<0.001 ^a
Femenino	20 (87.0)	30 (55.5)	20 (95.2)	
Edad				
\bar{x} , DE, rango años	31.4, (±18.8), 7-89	24.7, (±14.3), 3-78	42.3, (±12), 13-64	<0.001 ^b
Localización				
Mandíbula	13 (56.5)	26 (48.1)	13 (61.9)	0.153 ^a
Maxilar	9 (39.1)	18 (33.3)	8 (38.1)	
Mandíbula-maxilar	1 (4.3)	10 (18.5)	0 (0.0)	
Tamaño de la lesión				
\bar{x} , DE, rango cm	4.0, (±3.0) 1-15	3.9, (±1.8) 0.3-8	2.3, (±1.5), 0.5-6	0.012 ^b
Sintomatología				
Asintomático	15 (65.2)	41 (75.9)	17 (74.4)	0.458 ^a
Sintomático	8 (34.7)	13 (24.1)	4 (25.5)	

*Diferencia significativa entre FO vs DF $p=0.008$, DF vs DO $p=0.001$, Análisis por Chi cuadrada^a, Kruskal-Wallis^b, comparación de medias, prueba de Tukey- Kramer^c, diferencia significativa entre DO y DF.

Fuente: Laboratorio de patología y medicina bucal UAM-X.

Cuadro 4. Características radiográficas en 98 pacientes con LFOB de los maxilares

	Fibroma osificante	Displasia fibrosa	Displasia ósea	<i>p</i>
	(n=23)	(n=54)	(n=21)	
	N (%)	n (%)	n (%)	
Apariencia radiográfica				
Radiolúcido	8 (34.8)	12 (22.2)	2 (9.5)	0.001
Radiopaco	3 (13.0)	9 (16.7)	12 (57.1)	
Radiomixto	11 (47.8)	22 (40.7)	7 (33.3)	
Vidrio esmerilado	1 (4.4)	11 (20.4)	0 (0.0)	

Análisis por Chi cuadrada.

Fuente: Laboratorio de patología y medicina bucal UAM-X.

Cuadro 5. Características histológicas en 81 casos diagnosticados con LFOB de los maxilares

	Fibroma osificante	Displasia fibrosa	Displasia ósea	<i>p</i>
	(n=21)	(n=44)	(n=16)	
	n (%)	n (%)	n (%)	
<i>Celularidad estromal</i>				
Celular	17 (80.0)	16 (36.3)	6 (37.5)	0.002
Colagenizado	4 (20.0)	28 (63.6)	10 (62.5)	
<i>Estructuras mineralizadas predominantes*</i>				
Hueso inmaduro	1 (4.7)	5 (11.3)	0 (0.0)	<0.001 ^a
Hueso lamelar	1 (4.7)	14 (31.8)	3 (18.7)	
Inmaduro-lamelar	3 (14.2)	13 (29.5)	0 (0.0)	
Cementoide	7 (33.3)	2 (4.5)	6 (37.5)	
Cemento-inmaduro	6 (28.5)	6 (13.6)	4 (25.0)	
Cemento-lamelar	3 (14.2)	4 (9.0)	3 (18.7)	
<i>Cápsula</i>	12 (57.1)	3 (6.8)	0 (0.0)	
<i>Bordes en cepillo</i>	8 (38.1)	6 (13.6)	5 (31.2)	0.066
<i>Espacio retracción</i>	3 (14.2)	34 (77.2)	4 (25.0)	<0.001 ^c
<i>Osteoclastos</i>	15 (71.4)	22 (50.0)	2 (12.5)	0.001
<i>Anillo osteoblástico</i>				
Ausente	8 (38.1)	10 (22.7)	10 (62.5)	0.001
Sólo hueso lamelar	5 (23.8)	34 (77.2)	5 (31.3)	
Lamelar -inmaduro	8 (38.1)	0 (0.0)	1 (11.1)	
<i>Hemorragia</i>	5 (23.8)	15 (34.9)	9 (56.2)	0.117

* Se agruparon las lesiones que contenían material cementoide para su análisis. Análisis por Chi cuadrada. ^a Diferencia significativa ente DO vs DF $p=0.0001$, DF vs FO $p=0.0001$. ^b diferencia significativa entre DF vs FO, prueba exacta de Fisher $p= 0.0004$. ^c diferencia significativa entre DF vs FO $p< 0.0001$, DF vs DO $p=0.0002$.

Fuente: Laboratorio de patología y medicina bucal UAM-X.

Cuadro 6. Expresión de marcadores BSP, OCN, STRO-1, CD146, CAP Y CEMP-1 en os 6 casos seleccionados

Marcador	Fibroma osificante		Displasia fibrosa		Displasia ósea	
	Caso 1	Caso 2	Caso 1	Caso 2	Caso 1	Caso 2
BSP						
<i>Osteocitos</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Osteoblastos</i>	+	+	+	+	+	-
<i>Estroma</i>	+	+	+	+	-	-
<i>Perivasculares</i>	-	-	+	-	-	-
OCN						
<i>Osteocitos</i>	+	+	+	+	+	-
<i>Osteoblastos</i>	+	+	-	+	+	-
<i>Estroma</i>	+	+	-	+	+	-
<i>Perivasculares</i>	-	-	-	-	-	-
STRO-1						
<i>Osteocitos</i>	+	+	-	-	+	-
<i>Osteoblastos</i>	+	+	+	+	+	-
<i>Estroma</i>	+	+	+	+	+	-
<i>Perivasculares</i>	+	-	-	-	-	-
CD146						
<i>Osteocitos</i>	+	+	-	-	+	-
<i>Osteoblastos</i>	+	+	-	-	-	-
<i>Estroma</i>	+	+	+	+	-	-
<i>Perivasculares</i>	+	+	+	+	-	-
CAP						
<i>Osteocitos</i>	+	+	+	-	+	-
<i>Osteoblastos</i>	+	+	-	-	+	-
<i>Estroma</i>	+	+	+	+	+	-
<i>Perivasculares</i>	+	-	-	-	-	-
CEMP-1						
<i>Osteocitos</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Osteoblastos</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Estroma</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Perivasculares</i>	+	-	+	+	-	+

Expresión: (+) positivo, (-) negativo.

Fuente: Laboratorio de Biología Periodontal y Tejidos Mineralizados UNAM.

8 DISCUSIÓN

En el presente estudio, es uno de los pocos trabajos que han determinado la frecuencia de LFOB en un grupo de individuos de población mexicana, así como el primero en el país que analiza en conjunto el patrón de expresión espacial de los marcadores STRO-1, CD146, CEMP-1, CAP, OCN y BSP en un grupo de estas lesiones. Se identificó una alta expresión de marcadores cementogénicos y de CTM-LP en lesiones correspondientes a FO; a su vez, hubo una marcada diferencia en las medias de edad en cada grupo y sobreposición de características histológicas observadas.

La población estudiada estuvo conformada, en su mayoría, por mujeres (71.4%), esto coincide con la mayoría de los estudios publicados con porcentajes que varían del 87% al 60% (Ogunsalu *et al*, 2001; Abdulai *et al*, 2004; Worawongvasu and Songkapol, 2010; De Noronha Santos Netto *et al*, 2013; Phattarataratip *et al*, 2013), excepto el de Alsharif y cols, realizado en China donde sólo el 44% correspondió al sexo femenino, esto probablemente se debe a que en este país el índice de masculinidad es mayor. La explicación de predilección por el sexo femenino no se encuentra bien dilucidada, lo que se conoce es la implicación de los esteroides gonadales, en especial de los estrógenos, en el metabolismo óseo (Guo *et al*, 2016); esto explica que el embarazo, la terapia hormonal y la pubertad pueden llegar a reactivar o exacerbar lesiones de DF (Stevens- Simon *et al*, 1991).

Las medianas de edad para cada grupo de lesión son similares a las encontradas en otras publicaciones, la DF y el FO que varían entre (24-34) y (26-35) años respectivamente (Ogunsalu *et al*, 2001; Abdulai *et al*, 2004; Alsharif *et al*, 2009; Worawongvasu and

Songkampol, 2010; De Noronha Santos Netto *et al*, 2013; Phattarataratip *et al*, 2013), estas lesiones como puede apreciarse, son diagnosticadas en pacientes más jóvenes en comparación con la DO, esto se debe a que generalmente esta lesión es sub-diagnosticada por su curso indolente y es observada como un hallazgo radiográfico en pacientes de mayor edad que inician un tratamiento periodontal, protésico o restaurativo. Esto difiere con otros estudios como el de China y Brazil (Alsharif *et al*, 2009; De Noronha Santos Netto *et al*, 2013) probablemente se deba al hecho de que hay clínicas o espacios donde el estudio radiográfico es obligatorio para el estudio diagnóstico de rutina y monitoreo de los pacientes. Es evidente que existe una variabilidad en la frecuencia de estas lesiones, sin embargo, debido a la escasez de información acerca de estas lesiones y la falta de uniformidad de los estudios existentes es difícil atribuir estas variaciones a factores geográficos o raciales.

En cuanto a la localización de las lesiones, el presente estudio coincide con la mayoría de los estudios publicados (Ogunsalu *et al*, 2001; Abdulai *et al*, 2004; Alsharif *et al*, 2009; Worawongvasu and Songkampol, 2010; De Noronha Santos Netto *et al*, 2013; Phattarataratip *et al*, 2013), donde el FO y DO son lesiones más frecuentes en mandíbula, mientras que la DF es una lesión que se observa más en maxilar.

La mayor proporción de pacientes con sintomatología asociada, fue en lesiones diagnosticadas como DF, dato que se encuentra bien documentado en la literatura, debido a que estas lesiones se encuentran principalmente en maxilar, el gran tamaño que pueden presentar y su capacidad de involucrar senos paranasales, orbita, cavidad nasal y base de

cráneo logrando con ello una amplia variedad de síntomas (Eversole *et al*, 2008; El-Mofty, 2014).

Las características radiográficas dependen del estadio de la enfermedad y el grado de calcificación que presente la lesión, el FO y la DF presentaron en mayor proporción aspecto radiomixto mientras que en las DO la apariencia radiográfica más común fue radiopaca, estos hallazgos se comparten con otros estudios (Alsharif *et al*, 2009; De Noronha Santos Netto *et al*, 2013; Phattarataratip *et al*, 2013), generalmente las lesiones de DO se diagnostican en estadios avanzados de maduración encontrándose extensas áreas calcificadas debido a que son lesiones asintomáticas, excepto en casos de infección o en DOFI (Eversole *et al*, 2008; El-Mofty, 2014).

En el estudio histológico, en general, se observaron algunas superposiciones en varios parámetros microscópicos. Se pudo observar que el 80% de lesiones correspondientes a FO, según la clasificación realizada, fueron lesiones celulares, concordando con el estudio de Maheshwari y colaboradores en el 2014 donde la celularidad del estroma fue un parámetro significativo ($p < 0.001$) en la diferenciación entre DF y FO. La razón de la disminución de la celularidad en DF puede atribuirse a la disminución en el número de las células mutadas ya que estas tienen una mayor tasa de proliferación en comparación con las células normales (Riminucci *et al*, 2006). Por otro lado, la poca celularidad en DO se justifica por las extensas áreas de tejido mineralizado que conforman las muestras analizadas.

Aunque el material mineralizado de aspecto cementoide se ha relacionado en mayor medida con casos de FO y DO, los nombrados cementículos se observaron hasta en un 27% en lesiones de DF, porcentaje considerable que difiere con el estudio de Phattarataratip y colaboradores en el 2014 donde describen que la presencia de material semejante al cemento, se considera inusual en DF. Se ha documentado en varios artículos que dicho tejido mineralizado puede ser observado en todos los grupos de LFOB incluyendo a DF (Ogunsalu *et al*, 2001; Worawongvasu and Songkapol, 2010; De Noronha Santos Netto *et al*, 2013). Sin embargo, se debe enfatizar que la presencia de este tejido, generalmente comprende una porción menor de la muestra. En cualquier espécimen de LFOB constituido por una cantidad considerable de material parecido a cemento, el diagnóstico de FO y DO debe ser considerado.

Hubo lesiones de DF que presentaron pseudo-cápsula de tejido fibroconectivo, aunque es bien conocido que esta característica histológica es distintiva de FO, al tratarse de una biopsia incisional aumenta la probabilidad de observar zonas en las que fragmentos de tejido fibroconectivo puedan semejar esta estructura. Aun así, es de notar que la cápsula fibrosa fue un hallazgo común en el grupo de lesiones correspondientes a FO, presente en un 57%.

Los espacios de retracción son un hallazgo histológico caracterizado por la presencia de espacios vacíos que dividen parcial o totalmente el hueso lesional del tejido fusocelular adyacente (Prado- Ribeiro *et al*, 2012) y en nuestro estudio fue un hallazgo común en lesiones de DF encontrado en un 77.2% de los casos, esta característica ya ha sido reportada en otros estudios en los cuales señalan que puede ser tomado como una característica auxiliar más no

específica de esta lesión (Eversole *et al*, 2008; Sloopweg, 2009; Speight and Carlos, 2015). Se identificó que este fenómeno se encontraba relacionado principalmente a trabéculas de hueso lamelar, esto concuerda con el estudio de identificación de espacios de retracción entre DF y FO, en donde sólo 5 casos de DF (13.5%) del total estudiado no presentaba esta característica histológica y fue asociado a casos en pacientes jóvenes con lesiones inmaduras, sugiriendo que la presencia de espacios de retracción se relacionen al grado de maduración ósea (Prado- Ribeiro *et al*, 2012).

El anillo osteoblástico alrededor del hueso lesional es una característica frecuentemente descrita en FO (El-Mofty, 2014). Se ha observado la presencia de anillo osteoblástico en un 62% de las lesiones de FO; sin embargo la presencia de dicha estructura se observó en algunas zonas de la muestra y siempre asociadas a trabéculas de hueso lamelar. Por lo tanto, este hallazgo no es totalmente específico para FO, a su vez, la ausencia de esta estructura no debe considerarse un criterio histológico específico de DF. También es de destacar la presencia de hemorragia lesional, esta característica se pudo observar en todas las LFOB; Sin embargo, fue más común en DO, lo cual coincide con otras publicaciones que consideran esta característica histológica (Phattarataratip *et al*, 2013).

En cuanto a los marcadores estudiados, STRO-1 y CD146 corresponden a marcadores de superficie observados en células mesenquimales dentro del LPD, capaces de diferenciarse a un fenotipo osteoblástico-cementoblástico (Paula-Silva *et al*, 2010). Dichas células mesenquimales progenitoras forman parte de una población heterogénea en el LPD (Xu *et al*, 2009), sin embargo, existen estudios como el realizado por Xu y colaboradores donde se

observa que esta subpoblación celular STRO-1/CD146 positiva conforma un porcentaje menor del 3% en LPD de dientes sanos (Xu *et al*, 2009).

En el presente estudio pudimos observar positividad en la expresión de estos marcadores en lesiones de FO y en escasas células en lesiones de DF en donde se observaron poblaciones, en su mayoría, negativas a CD146. Ambas lesiones de FO presentaban una alta celularidad y los marcadores se observaron positivos en células estromales y en células relacionadas a tejido mineralizado. La presencia de estas células positivas tanto a STRO-1 como a CD146 coincide con el estudio realizado por Qin y colaboradores donde se demostró que las células proliferantes en lesiones de FO corresponden a CTM, en este estudio las células también fueron positivas a CD90, CD105, negativas para marcadores para linaje hematopoyético CD34 y CD45 y al implantarse subcutáneamente en ratones inmunocomprometidos fueron capaces de generar lesiones tipo FO (Qin *et al*, 2015). La presencia de células mesenquimales progenitoras en lesiones como el FO explica en gran manera, su capacidad proliferativa y la diferenciación a células capaces de formar tejido mineralizado (Wang *et al*, 2012).

En la mayoría de estudios de regeneración periodontal donde se observan CTM- LPD se utilizan en conjunto STRO-1 y CD146, aunque STRO-1, por sí solo ha sido descrito como un fuerte marcador para CTM, la heterogeneidad en la expresión de marcadores existente en estas subpoblaciones celulares obliga a utilizar otros marcadores como CD146, que inicialmente se describió como marcador de células endoteliales, comúnmente utilizado para caracterizar células troncales multipotentes perivasculares en tejido conectivo (Bakopoulou *et al*, 2013). La positividad a CD146 realza un origen perivascular en estas células, esto

explica que algunas células sean positivas a uno solo de los marcadores, como pudimos observar en el caso 1 de DF STRO-1⁺/CD146⁻ y el caso 1 de DO STRO-1⁻/CD146⁺.

Un estudio realizado por Gothard y colaboradores en el 2014 mostró que no todas las poblaciones STRO-1 positivas tenían el mismo potencial de diferenciación osteogénica, encontrando que poblaciones STRO-1⁺/CD146⁺ positivas mostraron una mayor propensión a la diferenciación osteogénica sugerida por el aumento de la expresión de marcadores osteogénicos tempranos y tardíos (Gothard *et al*, 2014) como OCN y BSP que vimos mayormente expresados en lesiones de FO. Aunque no se pudo realizar un estudio de co-localización entre STRO-1 Y CD146 debido a que ambos anticuerpos eran monoclonales, se encontró positividad de estos marcadores en las dos lesiones de FO en las células de los campos observados, ambas lesiones tenían en común una alta celularidad y la formación de tejido mineralizado de aspecto cementoide y de tejido óseo en diversos grados de mineralización.

Una de las interrogantes acerca de las LFOB se centra en la presencia de los cuerpos esferoidales de aspecto cementoide, que comparten características histológicas con el cemento dental, debido a esto en este estudio se buscó la presencia de marcadores específicos de células capaces de producir este tejido. Observamos que en los dos casos de FO hubo positividad tanto para CAP como para CEMP-1, en las demás lesiones la expresión de los marcadores no fue tan consistente, la positividad generalmente se observó en células estromales.

Ambos marcadores se han visto expresados en progenitores cementoblásticos en ligamento periodontal humano (Alvarez-Pérez *et al*, 2006), viéndose involucrados en diversas actividades biológicas como la adhesión, reclutamiento y diferenciación celular (Pitaru *et al*, 1995). Si bien estos marcadores no son expresados en células osteogénicas (Arzate *et al*, 1998), CEMP-1 y CAP se expresan en CTM localizadas en el área paravascular de LPD (Arzate *et al*, 2002; Carmona-Rodríguez *et al*, 2007). La expresión de estos marcadores sugiere que estas células tienen un fenotipo mineralizante fuertemente asociado a LPD, pero no son específicas para diferenciar entre cementoblastos o células mesenquimales no diferenciadas.

Es de importancia recordar que las LFOB en especial la DO se presentan con una relación cercana al LPD detectado en estudios de imagen. Estudios sobre CEMP-1 han observado altos niveles de expresión de esta proteína en subpoblaciones de células en LPD sugiriendo que CEMP-1 podría desempeñar un papel en el metabolismo local y como regulador de diferenciación en estas células. También se ha demostrado que la transfección del gen CEMP-1 en células con fenotipo "no mineralizante", tales como los fibroblastos gingivales humanos, induce la expresión de las proteínas asociadas al cemento/hueso y la mineralización de la matriz extracelular (Carmona-Rodríguez *et al*, 2007). Entonces la localización de estas lesiones en los maxilares y su cercanía a LPD podría justificar la expresión positiva de proteínas como CEMP-1 Y CAP en las muestras de tejido estudiadas en casos, por ejemplo, de DF. Sin embargo la relación que presentaban las muestras obtenidas con el LPD se desconoce ya que las muestras corresponden a biopsias, en su mayoría, de tipo incisional.

Otros estudios como el realizado por Hoz Lía y colaboradores sugieren que CEMP-1 ejerce un papel de diferenciación en poblaciones específicas en LPD correspondientes a células mesenquimales multipotentes (Hoz *et al*, 2012) resaltando la importancia en la colocalización de STRO-1 Y CEMP-1 observada en ambos casos de FO.

La positividad celular a ambos marcadores ya ha sido observada en células de LPD, en dientes sanos, las poblaciones CEMP-1⁺/STRO-1⁺ se han localizado hacia la capa cementoblástica del cemento radicular, siendo escasas en hueso alveolar y osteoblastos. En estudios in vivo en dientes en reparación se ha observado colocalización CEMP-1⁺/STRO-1⁺ en células adyacentes a la superficie radicular asociadas a depósito neocemento en un porcentaje mayor a las observadas en cemento de dientes sanos, sugiriendo que las células que depositan el cemento son de origen mesénquimal (Paula-Silva *et al*, 2010).

CEMP-1 se ha observado como mediador en el proceso de regeneración periodontal, ya que estimula la proliferación y migración en células de LPD, además conduce a la migración de las células STRO-1-positivo, lo que sugiere un posible mecanismo para el reclutamiento de células mesenquimales hacia una señal CEMP-1 (Paula-Silva *et al*, 2010). El papel de CEMP-1 como quimioatrayente y como promotor de la mineralización se apoya además en los hallazgos de que la mineralización se reduce al bloquear la función CEMP-1 in vitro (Alvarez- Pérez *et al*, 2003). Los hallazgos encontrados en los dos casos de FO y la diferencia en la expresión de marcadores como STRO-1, CEMP-1, CAP y CD146 en relación a DF resalta diferencias importantes en su etiopatogenia. En ninguna otra lesión se observó colocalización de STRO-1 y CEMP-1, quizás en las lesiones estudiadas de FO la

proliferación de las células de aspecto fusiforme y su capacidad de formar tejido mineralizado se deban a su fuerte asociación con CTM-LPD.

Pudimos observar que la expresión de BSP y OCN fue positiva en la mayoría de los casos estudiados con excepción del caso 2 diagnosticado como DO y esto se debe a la presencia de tejido mineralizado en las muestras, sin embargo no sólo las células asociadas a hueso trabecular, inmaduro y tejido de aspecto cementoide como osteocitos y osteoblastos fueron positivas, se observaron también positivas células de estroma de aspecto fusiforme confirmando la capacidad de estas células para producir este tejido mineralizado.

Estas proteínas no colágenas junto con osteopontina, vitronectina, factores de crecimiento y colágena tipo I y III forman parte de la composición de la matriz de cemento dental (Alvarez-Pérez *et al*, 2006), sin embargo estas moléculas no son cemento específicas y también son observadas en la matriz ósea, y han presentado afinidad por la fase de mineralización, en la cual se da el crecimiento y maduración de cristales de apatita (Carmona-Rodríguez *et al*, 2007).

BSP promueve la nucleación de hidroxiapatita así como la inhibición del crecimiento de cristal de hidroxiapatita, también participa en la señalización celular y, por lo tanto, aumenta la actividad de resorción ósea en osteoclastos, así como promueve la diferenciación osteoblástica y la calcificación ósea. A su vez se ha demostrado una expresión de BSP durante la formación de cemento indicando un papel central en la inducción de la cementogénesis (MacNeil *et al*, 1995).

Por su parte la OCN Se ve expresada en las últimas etapas de maduración, es decir, al inicio de la mineralización de matriz extracelular, esto ha sugerido que actúa como promotor, inhibidor y moderador del proceso de mineralización (Diercke *et al*, 2012). Anteriormente se ha utilizado OCN para diferenciar lesiones de DF y FO, Toyosawa y colaboradores en 2007 realizaron un estudio de inmunohistoquímica con algunos marcadores osteogénicos para diferenciar ambas entidades y la osteocalcina se vio expresada en mayor porcentaje en lesiones de DF, concluyendo que el material mineralizado presente en DF se asemeja más al hueso normal. En el presente estudio, se encontró positividad de BSP y OCN en la mayoría de los casos y a diferencia del estudio de Toyosawa, se observó una mayor expresión de estos marcadores en casos de FO (Toyosawa *et al*, 2007). Al parecer la expresión de las proteínas de la matriz ósea depende de la maduración de cada osteoblasto o cementoblasto encontrados en las lesiones (Sakamoto *et al*, 1999). Demostrando que en general, las LFOB son dinámicas y que las células presentan diferentes estadios de maduración, la positividad a estos marcadores justifican la presencia de tejido mineralizado.

Es evidente que las lesiones correspondientes a DO presentaron poca expresión de los marcadores estudiados, esto probablemente se asocie a las características histológicas y la calidad del tejido obtenido. Aunque se utilizaron muestras con un mayor porcentaje de tejido fusocelular para el estudio de inmunofluorescencia, la mayoría del tejido correspondió a tejido mineralizado poco celular, aunado a esto, hay que enfatizar que el procesamiento de muestras que contienen tejidos duros son sometidas a desmineralización. Este proceso no

solo afecta el componente inorgánico, también puede alterar o extraer componentes orgánicos estrechamente asociados con los tejidos calcificados (McKee *et al*, 1991).

Entre las limitaciones del presente trabajo, se encuentra el diseño retrolectivo del estudio, en el que el investigador tiene un control limitado en la recolección y calidad de las variables estudiadas. Los datos existentes pueden estar incompletos, ser poco precisos o no estar estandarizados, lo que hace difícil poder responder con seguridad a la pregunta de investigación, como ejemplo la descripción radiográfica poco detallada en algunos casos y el escaso material radiográfico que nos dificultó corroborar la información. Sin embargo, como pudimos observar las LFOB son lesiones de baja incidencia en comparación a otras lesiones de los maxilares y el diseño retrolectivo es la herramienta con la que se cuenta para estudiar estas lesiones recabando así mayor conocimiento de estas lesiones en nuestro país.

Aunque la muestra seleccionada para el estudio por inmunofluorescencia es muy pequeña y no significativa de la muestra recolectada es un comienzo para analizar marcadores relacionados a CTM-LP en lesiones de FO, con los hallazgos encontrados podemos proponer un estudio con mayor número de muestras que corrobore y dé mayor validez al presente trabajo.

9 CONCLUSIONES

Como se ha observado en otros estudios, la sobreposición de las características histológicas dificulta el diagnóstico en las LFOB. En busca de marcadores que ayuden a diferenciar a estas entidades se ha olvidado retomar la relación existente con células en ligamento periodontal, específicamente en CTM que han demostrado estar involucradas en el desarrollo neoplásico del FO. La realización del presente trabajo reafirmó la presencia de CTM derivadas de ligamento periodontal en FO, la presencia de positividad a STRO-1 / CD146 en la mayoría de la población celular y la co-localización de STRO-1/CEMP-1 fueron hallazgos no observados en lesiones correspondientes a DF y DO.

Los marcadores de cemento radicular CEMP-1 y CAP son ampliamente estudiados en regeneración periodontal junto a los marcadores de CTM-LP, al observar su expresión en LFOB se abre camino hacia el estudio a profundidad de la relación que guardan estas lesiones con LP, aportando información etiopatogénica. Nuestros hallazgos muestran que el uso de marcadores de CTM-LP en conjunto con marcadores cementogénicos, específicamente CEMP-1, puede ser una herramienta para diferenciar lesiones correspondientes a FO.

10 REFERENCIAS

- Abdulai A, Gyasi R, Iddrissu M (2004). Benign Fibro-osseous lesions of the facial skeleton: analysis of 52 cases seen at the korle bu teaching hospital. *Ghana Med J* **38**: 96–100.
- Abramovitch K, Rice DD (2016). Benign Fibro-Osseous Lesions of the Jaws. *Dent Clin North Am* **60**: 167–193.
- Acharya A, Shetty S, Deshmukh V (2010). Periodontal Ligament Stem Cells: An Overview. *J Oral Biosci* **52**: 275–282.
- Alsharif MJ, Sun Z-J, Chen X-M, Wang S-P, Zhao Y-F (2009). Benign fibro-osseous lesions of the jaws: a study of 127 Chinese patients and review of the literature. *Int J Surg Pathol* **17**: 122–34.
- Alvarez- Pérez MA, Pitaru S, Alvarez Fregoso O, Reyes Gasga J, Arzate H (2003). Anti-cementoblastoma-derived protein antibody partially inhibits mineralization on a cementoblastic cell line. *J Struct Biol* **143**: 1–13.
- Alvarez-Pérez MA, Narayanan S, Zeichner-David M, Rodríguez Carmona B, Arzate H (2006). Molecular cloning, expression and immunolocalization of a novel human cementum-derived protein (CP-23). *Bone* **38**: 409–419.
- Arceo N, Sauk JJ, Moehring J, Foster RA, Somerman MJ (1991). Human periodontal cells initiate mineral-like nodules in vitro. *J Periodontol* **62**: 499–503.
- Arzate H, Alvarez-Pérez M a, Aguilar-Mendoza ME, Alvarez-Fregoso O, Alvarez-Perez MA (1998). Human cementum tumor cells have different features from human osteoblastic cells in vitro. *J Periodontal Res* **33**: 249–258.
- Arzate H, Jiménez-García LF, Álvarez-Pérez MA, Landa A, Bar-Kana I, Pitaru S (2002). Immunolocalization of a Human Cementoblastoma-conditioned Medium-derived Protein. *J Dent Res* **81**: 541–546.
- Arzate H, Zeichner-David M, Mercado-Celis G (2015). Cementum proteins: Role in cementogenesis, biomineralization, periodontium formation and regeneration. *Periodontol 2000* **67**: 211–233.

- Bakopoulou A, Leyhausen G, Volk J, Koidis P, Geurtsen W (2013). Comparative characterization of STRO-1neg/CD146pos and STRO-1pos/CD146pos apical papilla stem cells enriched with flow cytometry. *Arch Oral Biol* **58**: 1556–1568.
- Barker N (2014). Adult intestinal stem cells: critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol* **15**: 19–33.
- Bartold PM, Bartold PM (2006). Periodontal tissues in health and disease: introduction. *Periodontol 2000* **40**: 7–10.
- Bassir SH, Wisitrasameewong W, Raanan J, *et al* (2016). Potential for Stem Cell-Based Periodontal Therapy. *J Cell Physiol* **231**: 50–61.
- Bianco P, Robey PG, Saggio I, Riminucci M (2010). ‘Mesenchymal’ stem cells in human bone marrow (skeletal stem cells): a critical discussion of their nature, identity, and significance in incurable skeletal disease. *Hum Gene Ther* **21**: 1057–1066.
- Bosshardt DD, Selvig KA (1997). Dental cementum: The dynamic tissue covering of the root. *Periodontol 2000* **13**: 41–75.
- Brannon RB, Fowler CB (2001). Benign fibro-osseous lesions: a review of current concepts. *Adv Anat Pathol* **8**: 126–43.
- Carmona-Rodríguez B, Álvarez-Pérez MA, Narayanan AS, *et al* (2007). Human Cementum Protein 1 induces expression of bone and cementum proteins by human gingival fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* **358**: 763–769.
- Carpten JD, Robbins CM, Villablanca A, *et al* (2002). HRPT2, encoding parafibromin, is mutated in hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome. *Nat Genet* **32**: 676–680.
- Chang CC, Hung HY, Chang JYF, *et al* (2008). Central ossifying fibroma: A clinicopathologic study of 28 cases. *J Formos Med Assoc* **107**: 288–294.
- Chen L, Jacquet R, Lowder E, Landis WJ (2015). Refinement of collagen-mineral interaction: A possible role for osteocalcin in apatite crystal nucleation, growth and development. *Bone* **71**: 7–16.
- Codega P, Silva-Vargas V, Paul A, *et al* (2014). Prospective Identification and Purification of Quiescent Adult Neural Stem Cells from Their In Vivo Niche. *Neuron* **82**: 545–559.

- Cohen MM, Howell RE (1999). Etiology of fibrous dysplasia and McCune-Albright syndrome. *Int J Oral Maxillofac Surg* **28**: 366–71.
- Diercke K, König A, Kohl A, Lux CJ, Erber R (2012). Human primary cementoblasts respond to combined IL-1 β stimulation and compression with an impaired BSP and CEMP-1 expression. *Eur J Cell Biol* **91**: 402–412.
- Dorfman HD (2010). New knowledge of fibro-osseous lesions of bone. *Int J Surg Pathol* **18**: 62S–65S.
- E. Horvai A, C. Jordan R (2014). Fibro-Osseous Lesions of the Craniofacial Bones: ??-Catenin Immunohistochemical Analysis and CTNNB1 and APC Mutation Analysis. *Head Neck Pathol* **8**: 291–297.
- El-Mofty S (2002). Psammomatoid and trabecular juvenile ossifying fibroma of the craniofacial skeleton: Two distinct clinicopathologic entities. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **93**: 296–304.
- El-Mofty SK (2014). Fibro-Osseous Lesions of the Craniofacial Skeleton: An Update. *Head Neck Pathol* **8**: 432–444.
- Eversole R, Su L, ElMofty S (2008). Benign fibro-osseous lesions of the craniofacial complex a review. *Head Neck Pathol* **2**: 177–202.
- Gondivkar SM, Gadmail AR, Chole R, Parikh R V., Balsaraf S (2011). Ossifying fibroma of the jaws: Report of two cases and literature review. *Oral Oncol* **47**: 804–809.
- Gothard D, Greenhough J, Ralph E, Oreffo RO (2014). Prospective isolation of human bone marrow stromal cell subsets: A comparative study between Stro-1-, CD146- and CD105-enriched populations. *J Tissue Eng* **5**: 2041731414551763.
- Gould TRL, Melcher AH, Brunette DM (1980). Migration and division of progenitor cell populations in periodontal ligament after wounding. *J Periodontal Res* **15**: 20–42.
- Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S (2000). Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**: 13625–13630.
- Guo Y, Sun N, Duan X, *et al* (2016). Estrogen deficiency leads to further bone loss in the mandible of CKD mice. *PLoS One* **11**: 1–11.

- Hall G (2012). Fibro-osseous lesions of the head and neck. *Diagnostic Histopathol* **18**: 149–158.
- Hoz L, Romo E, Zeichner-David M, *et al* (2012). Cementum protein 1 (CEMP-1) induces differentiation by human periodontal ligament cells under three-dimensional culture conditions. *Cell Biol Int* **36**: 129–36.
- Huang GT-J, Gronthos S, Shi S (2009). Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J Dent Res* **88**: 792–806.
- Iacobone M, Masi G, Barzon L, *et al* (2009). Hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome: A report of three large kindred. *Langenbeck's Arch Surg* **394**: 817–825.
- Isaka J, Ohazama A, Kobayashi M, Nagashima C, Takiguchi T (2001). Participation of Periodontal Ligament Cells With Regeneration of Alveolar Bone. *J Periodontol* **72**: 313–323.
- Jing D, Parikh A, Canty JM, Tzanakakis ES (2008). Stem cells for heart cell therapies. *Tissue Eng Part B Rev* **14**: 393–406.
- Jono S, Peinado C, Giachelli CM (2000). Phosphorylation of osteopontin is required for inhibition of vascular smooth muscle cell calcification. *J Biol Chem* **275**: 20197–20203.
- Kuznetsov SA, Cherman N, Riminucci M, Collins MT, Robey PG, Bianco P (2008). Age-Dependent Demise of GNAS-Mutated Skeletal Stem Cells and ‘Normalization’ of Fibrous Dysplasia of Bone. *J Bone Miner Res* **23**: 1731–1740.
- Lee JS, FitzGibbon EJ, Chen YR, *et al* (2012). Clinical guidelines for the management of craniofacial fibrous dysplasia. *Orphanet J Rare Dis* **7 Suppl 1**: S2.
- Lekic P, Rojas J, Birek C, Tenenbaum H, McCulloch CA (2001). Phenotypic comparison of periodontal ligament cells in vivo and in vitro. *J Periodontal Res* **36**: 71–79.
- Lumbroso S, Paris F, Sultan C (2004). Activating Gs α Mutations: Analysis of 113 Patients with Signs of McCune-Albright Syndrome - A European Collaborative Study. *J Clin Endocrinol Metab* **89**: 2107–2113.

- MacDonald-Jankowski DS (2004). Fibro-osseous lesions of the face and jaws. *Clin Radiol* **59**: 11–25.
- MacDonald-Jankowski DS (2015). Maxillofacial fibro-osseous lesions. *Clin Radiol* **70**: 25–36.
- MacNeil RL, Berry J, D’Errico J, Strayhorn C, Piotrowski B, Somerman MJ (1995). Role of two mineral-associated adhesion molecules, osteopontin and bone sialoprotein, during cementogenesis. *Connect Res* **33**: 1–7.
- Maheshwari P, Rao NN, Radhakrishna R (2013). Histochemical evaluation of stromal components in fibrous dysplasia, central ossifying fibroma and juvenile ossifying fibroma affecting the jaw bones. *Int J Dent Res* **2**: 3–7.
- Mahomed F, Altini M, Meer S, Coleman H (2005). Cemento-osseous dysplasia with associated simple bone cysts. *J Oral Maxillofac Surg* **63**: 1549–1554.
- McKee MD, Nanci A, Landis WJ, Gotoh Y, Gerstenfeld LC, Glimcher MJ (1991). Effects of fixation and demineralization on the retention of bone phosphoprotein and other matrix components as evaluated by biochemical analyses and quantitative immunocytochemistry. *J Bone Miner Res* **6**: 937–945.
- De Mesquita Netto AC, Gomez RS, Diniz MG, *et al* (2013). Assessing the contribution of HRPT2 to the pathogenesis of jaw fibrous dysplasia, ossifying fibroma, and osteosarcoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* **115**: 359–367.
- Mori G, Brunetti G, Ballini A, *et al* (2013). Biological characteristics of dental stem cells for tissue engineering. *Key Eng Mater* **541**: 51–59.
- Morscheck C, Götz W, Schierholz J, *et al* (2005). Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biol* **24**: 155–165.
- Murakami Y, Kojima T, Nagasawa T, Kobayashi H, Ishikawa I (2003). Novel isolation of alkaline phosphatase-positive subpopulation from periodontal ligament fibroblasts. *J Periodontol* **74**: 780–6.
- De Noronha Santos Netto J, MacHado Cerri J, Miranda ÁMMA, Pires FR (2013). Benign fibro-osseous lesions: Clinicopathologic features from 143 cases diagnosed in an oral

- diagnosis setting. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* **115**: e56–e65.
- Nuñez J, Sanz M, Hoz-Rodríguez L, Zeichner-David M, Arzate H (2010). Human cementoblasts express enamel -associated molecules in vitro and in vivo. *J Periodontal Res* **45**: 809–814.
- Ogasawara T, Katagiri M, Yamamoto A, *et al* (2004). Osteoclast Differentiation by RANKL Requires NF- B–Mediated Downregulation of Cyclin-Dependent Kinase 6 (Cdk6). *J Bone Miner Res* **19**: 1128–1136.
- Ogunsalu CO, Lewis a, Doonquah L (2001). Benign fibro-osseous lesions of the jaw bones in Jamaica: analysis of 32 cases. *Oral Dis* **7**: 155–62.
- Paula-Silva FWG, Ghosh A, Arzate H, Kapila S, Da Silva LAB, Kapila YL (2010). Calcium hydroxide promotes cementogenesis and induces cementoblastic differentiation of mesenchymal periodontal ligament cells in a CEMP-1- and ERK-dependent manner. *Calcif Tissue Int* **87**: 144–157.
- Phattarataratip E, Pholjaroen C, Tiranon P (2013). A Clinicopathologic Analysis of 207 Cases of Benign Fibro-Osseous Lesions of the Jaws. *Int J Surg Pathol* **22**: 326–333.
- Pimenta FJ, Gontijo Silveira LF, Tavares GC, *et al* (2006). HRPT2 gene alterations in ossifying fibroma of the jaws. *Oral Oncol* **42**: 735–739.
- Pitaru S, Narayanan SA, Olson S, *et al* (1995). Specific cementum attachment protein enhances selectively the attachment and migration of periodontal cells to root surfaces. *J Periodontal Res* **30**: 360–368.
- Prado- Ribeiro AC, Carlos R, Speight PM, *et al* (2012). Peritrabecular clefting in fibrous dysplasia of the jaws: An important histopathologic feature for differentiating fibrous dysplasia from central ossifying fibroma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* **114**: 503–508.
- Qin H, Qu C, Yamaza T, *et al* (2015). Erratum: Retraction Notice to: Ossifying Fibroma Tumor Stem Cells Are Maintained by Epigenetic Regulation of a TSP1/TGF- β /SMAD3 Autocrine Loop (Cell Stem Cell (2013) 13 (577-589)). *Cell Stem Cell* **16**: 569.

- Ricalde P, Horswell BB (2001). Craniofacial fibrous dysplasia of the fronto-orbital region: A case series and literature review. *J Oral Maxillofac Surg* **59**: 157–167.
- Riminucci M, Saggio I, Robey PG, Bianco P (2006). Fibrous dysplasia as a stem cell disease. *J Bone Miner Res* **21 Suppl 2**: P125–P131.
- Robey PG, Kuznetsov S, Riminucci M, Bianco P (2007). The role of stem cells in fibrous dysplasia of bone and the McCune-Albright syndrome. *Pediatr Endocrinol Rev* **4 Suppl 4**: 386–394.
- Sakamoto A, Oda Y, Iwamoto Y, Tsuneyoshi M (1999). A comparative study of fibrous dysplasia and osteofibrous dysplasia with regard to expressions of c-fos and c-jun products and bone matrix proteins: a clinicopathologic review and immunohistochemical study of c-fos, c-jun, type I collagen, osteonectin, os. *Hum Pathol* **30**: 1418–1426.
- Saygin NE, Giannobile W V, SOMERMAN MJ (2000). Molecular and cell biology of cementum. *Periodontol 2000* **24**: 73–98.
- Seo B-M, Miura M, Gronthos S, *et al* (2004). Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* **364**: 149–155.
- Shimono M, Ishikawa T, Ishikawa H, *et al* (2003). Regulatory mechanisms of periodontal regeneration. *Microsc Res Tech* **60**: 491–502.
- Slootweg PJ (2009). Lesions of the jaws. : 401–418.
- Slootweg PJ, Müller H (1990). Differential diagnosis of fibro-osseous jaw lesions. A histological investigation on 30 cases. *J Cranio-Maxillofacial Surg* **18**: 210–214.
- Sonoyama W, Liu Y, Fang D, *et al* (2006). Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in Swine. *PLoS One* **1**: 1–8.
- Speight PM, Carlos R (2015). Maxillofacial fibro-osseous lesions. *Clin Radiol* **70**: 25–36.
- Stevens- Simon C, Stewart J, Nakashima I, Withe M (1991). Exacerbation of Fibrous Dysplasia associated With an Adolescent Pregnancy. *J Adolesc Heal* **12**: 403–405.
- Suarez-Soto A, Baquero-Ruiz de la Hermosa MC, Minguez-Martínez I, *et al* (2013). Management of fibro-osseous lesions of the craniofacial area. Presentation of 19 cases

- and review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* **18**.
- Su L, Weathers DR, Waldron C a (1997). Distinguishing features of focal cemento-osseous dysplasia and cemento-ossifying fibromas. II. A clinical and radiologic spectrum of 316 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* **84**: 540–549.
- Tabareau-Delalande F, Collin C, Gomez-Bouchet A, *et al* (2013). Diagnostic value of investigating GNAS mutations in fibro-osseous lesions: a retrospective study of 91 cases of fibrous dysplasia and 40 other fibro-osseous lesions. *Mod Pathol* **26**: 911–21.
- Tabareau-Delalande F, Pinieux G De (2016). Molecular Markers of Fibro-Osseous Lesions and Osteosarcomas of the Craniofacial Complex — Current Situation and Recent Advances. *Curr Oral Heal Reports*: 102–110.
- Toyosawa S, Yuki M, Kishino M, *et al* (2007). Ossifying fibroma vs fibrous dysplasia of the jaw: molecular and immunological characterization. *Mod Pathol* **20**: 389–96.
- Treves S, Hoz L, Rachima H, *et al* (2013). Stem cells of the lamina propria of human oral mucosa and gingiva develop into mineralized tissues in vivo. *J Clin Periodontol* **40**: 73–81.
- Triantafillidou K, Venetis G, Karakinaris G, Iordanidis F (2012). Ossifying fibroma of the jaws: A clinical study of 14 cases and review of the literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* **114**: 193–199.
- Villarreal-Ramírez E, Moreno A, Mas-Oliva J, *et al* (2009). Characterization of recombinant human cementum protein 1 (hrCEMP-1): Primary role in biomineralization. *Biochem Biophys Res Commun* **384**: 49–54.
- Waldron CA (1993). Fibro-osseous lesions of the jaws. *J Oral Maxillofac Surg* **51**: 828–835.
- Wang X, Sha X-J, Li G-H, *et al* (2012). Comparative characterization of stem cells from human exfoliated deciduous teeth and dental pulp stem cells. *Arch Oral Biol* **57**: 1231–40.
- Wei X, Ling J, Wu L, Liu L, Xiao Y (2007). Expression of Mineralization Markers in Dental Pulp Cells. *J Endod* **33**: 703–708.

- Woodard GE, Lin L, Zhang J-H, Agarwal SK, Marx SJ, Simonds WF (2005). Parafibromin, product of the hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome gene HRPT2, regulates cyclin D1/PRAD1 expression. *Oncogene* **24**: 1272–1276.
- Worawongvasu R, Songkapol K (2010). Fibro-osseous lesions of the jaws: An analysis of 122 cases in Thailand. *J Oral Pathol Med* **39**: 703–708.
- Xu J, Wang W, Kapila Y, Lotz J, Kapila S (2009). Multiple differentiation capacity of STRO-1+/CD146+ PDL mesenchymal progenitor cells. *Stem Cells Dev* **18**: 487–96.
- Yabut SM, Kenan S, Sissons HA, Lewis MM (1988). Malignant transformation of fibrous dysplasia. A case report and review of the literature. *Clin Orthop Relat Res*: 281–289.
- Yamamoto T, Hasegawa T, Yamamoto T, Hongo H, Amizuka N (2016). Histology of human cementum: Its structure, function, and development. *Jpn Dent Sci Rev* **52**: 63–74.
- Zhang J, Li Z-G, Si Y-M, Chen B, Meng J (2014). The difference on the osteogenic differentiation between periodontal ligament stem cells and bone marrow mesenchymal stem cells under inflammatory microenvironments. *Differentiation* **88**: 1–9.

ANEXOS

LESIONES FIBRO-ÓSEAS DE LOS MAXILARES, ANÁLISIS

CLÍNICO- PATOLÓGICO Y PATRÓN DE EXPRESIÓN ESPACIAL DE LOS MARCADORES STRO-1, CD146, CEMP-1, CAP, OCN Y BSP Instrumento de recolección de datos



FICHA DE IDENTIFICACIÓN

Nombre del paciente:	Fecha: / /	Edad:	Género: ()	Folio:
Códigos: Género (1 Masculino, 2 femenino)				

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Tamaño(mm)	Localización()	Sintomatología ()	Tiempo de evolución ()
	Códigos: ¹ mandíbula, ² maxilar	Códigos: ⁰ asintomático, ¹ dolor inducido, ² dolor constante	Códigos: ¹ semanas, ² meses, ³ años

CARACTERÍSTICAS RADIOGRÁFICAS

Apariencia radiográfica ()	Bordes ()
Códigos: ¹ radiolúcida, ² radiopaca, ³ radiomixta, ⁴ vidrio esmerilado	Códigos: ¹ bien delimitados ² difusos

CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS

Celularidad ()	Tejido mineralizado()	Hemorragia ()	Bordes en cepillo ()
Códigos: ¹ colagenizado, ² celular	Códigos: ¹ hueso inmaduro, ² ilamlear-inmaduro, ³ hueso lamelar, ⁴ cementoide, ⁵ cemento- lamelar, ⁶ cemento- inmaduro.	Códigos: ⁰ ausencia, ¹ presencia	Códigos: ⁰ ausencia, ¹ presencia
Espacios de retracción()	Anillo osteoblástico: ()	Osteoclastos ()	Cápsula ()
Códigos: ⁰ ausencia, ¹ presencia	Códigos: ⁰ ausencia, ¹ solo en hueso maduro, ² hueso maduro e inmaduro.	Códigos: ⁰ ausencia, ¹ presencia	Códigos: ⁰ ausencia, ¹ presencia

EXPRESIÓN INMUNOFLORESCENCIA

	STRO1	CD146	OCN	BSP	CEMP-1	CAP
Positivo						
Negativo						