



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EXPRESIÓN DE CD34 EN LA MICROVASCULATURA
DEL GRANULOMA PIÓGENO. PRESENTACIÓN DE UN
CASO.

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A:

PAULINA MORALES NEGRETE

TUTOR: Dra. ELBA ROSA LEYVA HUERTA

ASESORES: Dr. LUIS FERNANDO JACINTO ALEMÁN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

A mis padres, porque siempre me han brindado todo su amor, su apoyo, por la educación y valores inculcados, por ser mis guías, porque gracias a todo su esfuerzo, dedicación, logré llegar hasta esta etapa de mi vida. Gracias por siempre creer en mí, me faltan palabras para agradecer todo lo que han hecho por mí. Sin duda les debo todo. Los amo. A mi hermana, por ser mi compañera, te amo.

A mis amigos, porque aunque son pocos, sé gracias a ustedes lo que es una verdadera amistad, gracias por estar en las buenas y en las malas.

A tí, por brindarme tu apoyo incondicional, tu amor, por creer en mí y por formar parte de mi vida. Te amo.

A la UNAM, mi alma mater, por todo y por tanto. Los mejores momentos los he vivido estando dentro de esta máxima casa de estudios, agradezco todo el conocimiento y las grandes experiencias vividas, todas siempre con una enseñanza y que me han formado como una mejor persona.

A mi tutora la Dra. Elba R. Leyva Huerta y a mi tutor el Dr. Luis Fernando Jacinto Alemán, por su tiempo, paciencia, y por compartirme un poco de sus muchos conocimientos; como ustedes, pocos son aquellos profesores que día a día trabajan y dedican sus esfuerzos a mejorar y compartir la enseñanza en la Facultad de Odontología.

A todos aquellos que a lo largo de estos años contribuyeron con mi formación profesional. ¡Muchas gracias!

Índice

Resumen

1. Introducción	6
2. Granuloma Piógeno	
2.1 Antecedentes	7
2.2 Sinonimia y definición	8
2.3 Etiología	9
2.4 Características clínicas	11
2.5 Epidemiología	13
2.6 Aspectos radiográficos	14
2.7 Diagnóstico diferencial clínico	15
2.8 Características histológicas	16
2.8.1 Tipo LCH	16
2.8.2 Tipo no-LCH	17
2.9 Diagnóstico	20
2.10 Tratamiento	21
2.11 Recurrencia	22
2.12 Estudios con inmunohistoquímica	22
2.12.1 CD34	23
2.12.2 VEGF	24
3. Presentación del caso clínico	27
3.1 Diagnóstico clínico presuntivo	28
3.2 Características macroscópicas	30
3.3 Características microscópicas	31

3.4 Diagnóstico histopatológico	32
3.5 Técnica inmunohistoquímica	32
3.6 Interpretación inmunohistoquímica	33
4. Discusión	36
5. Conclusión	38
6. Referencias bibliográficas	39

Resumen

Introducción. El granuloma piógeno es una lesión pseudotumoral de tipo reactiva que clínicamente se caracteriza por su color rojo brillante debido a su alta vascularidad. Se presenta en una relación 2:1, siendo mayor en mujeres entre la segunda y quinta década de vida. Histológicamente presenta dos tipos: el granuloma piógeno LCH y el no-LCH. Su tratamiento es la escisión quirúrgica.

Objetivo: Presentar un caso clínico de granuloma piógeno y analizarla neoformación vascular por medio de CD34 y VEGF.

Presentación del caso clínico. Paciente femenino de 55 años, que acude a la Clínica de Medicina Bucal de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM con una lesión lobular en encía a nivel del central y lateral superior izquierdo, de un año de evolución. El diagnóstico clínico fue granuloma piógeno; procediendo a realizar su escisión quirúrgica. El espécimen fue analizado histológicamente e inmunohistoquímicamente para CD34 y VEGF.

Resultados. El diagnóstico histopatológico corroboró el diagnóstico clínico de granuloma piógeno tipo no-LCH. La inmunoeexpresión de CD34 y VEGF fue leve asociada a células endoteliales y angioblastos.

Conclusión. El análisis clínico, e histopatológico son necesarios para el diagnóstico de esta lesión. La expresión de CD34 y VEGF fue leve debido al largo tiempo de evolución ya que en etapas iniciales cuando la vascularización es mayor la expresión de estos anticuerpos es severa.

1. Introducción

El GP es una lesión reactiva que presenta clínicamente similitudes a otras patologías de la cavidad oral tales como el granuloma periférico de células gigantes, el fibroma osificante entre otros, por lo que, su diagnóstico representa un desafío desde su primer acercamiento. La histopatología es la forma de establecer el diagnóstico definitivo, no obstante, este tipo de lesión, modifica su apariencia histológica según el tiempo de evolución. Por lo cual se puede emplear métodos auxiliares como la inmunohistoquímica. Dentro de la gama de marcadores empleados para el diagnóstico del GP incluyen el factor von Willebrand, CD105, CD31, VEGF y CD34. Este último marcador ha sido reportado de una manera contrastante, es decir, existe controversia respecto a su inmunoexpresión en los GP ya que algunos autores reportan su alta expresividad y otros lo consideran no útil ya que su expresión es mínima o nula. En la práctica odontológica este tipo de lesión es frecuente, el llegar a un diagnóstico definitivo y congruente, puede requerir de este tipo de estudios auxiliares. Por lo que, en este caso clínico se trató de probar cual es la utilidad del marcador CD34 comparando su expresión con lo reportado por la literatura.

2. Granuloma piógeno

2.1 Antecedentes

En 1844, Hullahen describió el primer caso de granuloma piógeno en la literatura inglesa.¹

En 1897 el granuloma piógeno fue descrito como "botriomicosis hominis" por Poncet y Dor, quienes pensaron que las lesiones encontradas en la piel de cuatro pacientes eran el producto de un contagio ocasionado por caballos que mostraban lesiones semejantes y padecían una infección botriomicótica.

²

Hartzell en 1904 introdujo el término de "granuloma piógeno" (GP). Y sugería que la lesión se debía a una infección por estafilococos o por estreptococos. Sin embargo, este término no expresa exactamente las características clínicas e histopatológicas, por lo que actualmente se considera incorrecto el término granuloma piógeno, ya que la lesión no produce pus como lo sugiere la palabra; sin embargo es un tumor de tejido de granulación como lo indica el término granuloma.^{1,3}

En la actualidad se define al granuloma piógeno como una proliferación reactiva, de crecimiento rápido de las células endoteliales, generalmente en respuesta a una irritación crónica.^{4,5}

2.2 Sinonimia y Definición

El término “hiperplasia inflamatoria” se usa para describir una amplia gama de crecimientos nodulares de la mucosa oral que histológicamente están conformados por; tejido conectivo fibroso, respuesta inflamatoria aguda o crónica y tejido de granulación, dentro de estas se encuentran: la hiperplasia fibrosa, hiperplasia papilar, granuloma de células gigantes y el granuloma piógeno.

El GP ha sido reconocido con diferentes nombres como granuloma telangiectásico, papiloma fibroendotelial, granuloma botriomicoma o granuloma pediculado telangiectásico, tumor de la gestación (éplulis gravídico), éplulis granulomatoso, granuloma hemangiomaso, granuloma pediculado benigno y Hemangioma Lobular Capilar (LCH); actualmente este nombre se utiliza de manera frecuente para referirse al granuloma piógeno.
6,7, 8

El GP es una respuesta inflamatoria hiperplásica localizada, que puede simular una neoplasia o una formación pseudotumoral ¹, se caracteriza por ser una proliferación excesiva del tejido conectivo como reacción ante un estímulo o agresión conocida, también ha sido definido como un crecimiento pseudotumoral; que es común en la cavidad oral y en la piel, donde representa el 0.5% de los nódulos cutáneos en la infancia. En la cavidad bucal se encuentra frecuentemente en tejido queratinizado. ^{9, 10}

Actualmente se encuentra clasificado dentro de los tumores vasculares benignos según la clasificación de las anomalías vasculares designada por el International Society for the Study of Vascular Anomalies (ISSVA); en el siguiente cuadro se muestran las diferentes lesiones agrupadas de acuerdo a esta clasificación.¹¹ (Tabla 1)



Tabla 1. ISSVA Clasificación de los tumores vasculares

Tumores vasculares benignos
Hemangioma infantil / Hemangioma de la infancia
Hemangioma congénito
De rápida involución (RICH)
No involución (NICH)
Involución parcial (PICH)
Angioma en penacho
Hemangioma
Hemangioma epiteliode
Granuloma Piógeno (hemangioma lobular capilar)
Tumores vasculares localmente agresivos o delimitado
Hemangioendotelioma kaposiforme
Hemangioendotelioma retiforme
Hemangioendotelioma intralinfatico papilar
Hemangioendotelioma compuesto
Sarcoma de Kaposi
Otros
Tumores vasculares malignos
Angiosarcoma
Hemangioendotelioma epiteliode

2.3 Etiología

Originalmente se consideró que el GP era causado por microorganismos; no existiendo evidencia que confirmará esta teoría; pero como se mencionó anteriormente, en la actualidad es considerada como una lesión pseudotumoral de tipo reactiva que surge en respuesta a diferentes estímulos; dentro de los factores etiológicos se encuentran: la mala higiene oral, irritantes locales como presencia de cálculo, dientes fracturados, espículas óseas, extracción de dientes principalmente de terceros molares y en respuesta a la presencia de irritantes en el alveolo; así como

restauraciones y prótesis desajustadas e interferencias oclusales; también está asociado a traumatismos localizados y crónicos, a trauma por dientes deciduos, periodontitis, algunas drogas como la ciclosporina y factores hormonales.^{3, 5,7}

Aproximadamente una tercera parte de las lesiones ocurren después de un traumatismo; por ejemplo, Aguilo L en 2001 informó sobre la formación de un GP como resultado de un traumatismo por un diente primario, Fowler y cols en 1996 lo reportaron asociado a una membrana de regeneración tisular; así mismo, se ha reportado el desarrollo de este adyacente a implantes, posiblemente ocasionado por una interferencia para realizar los procedimientos de higiene óptimos y debido a una periimplantitis recurrente.^{3, 12, 13}

Es frecuente la presencia de esta lesión durante la pubertad y en mujeres durante el embarazo, debido a cambios hormonales y otros factores que pueden modificar la respuesta gingival ante las agresiones, estos cambios hormonales modifican el curso clínico de esta entidad, ya que los niveles de estrógeno y progesterona están incrementados marcadamente en estas etapas en el endotelio gingival y pareciera que ejercen un efecto proliferativo para su crecimiento sin embargo, esto no se considera como un factor condicionante para el desarrollo de la lesión.^{6, 7,14}

Actualmente, se considera que el estrógeno y la progesterona inducen la sobreexpresión/sobreproducción del Factor de Crecimiento Endotelio Vascular (VEGF), por lo que las hormonas sexuales femeninas actúan indirectamente en la formación y desarrollo del granuloma por medio de la sobreproducción de VEGF en el embarazo, y que estos factores angiogénicos, sean los responsables directos de la formación del GP, en conjunto con irritantes locales; y que ante la disminución de estos factores después del parto se provoque la regresión de la lesión en algunos casos; no

obstante, no se conoce cuál es la proporción de regresión de esta lesión en este tipo de pacientes. El GP se presenta en pacientes embarazadas en un 5%, por lo general a partir del tercer mes de embarazo, probablemente por factores como la acumulación local de placa o cálculo que actúan como irritantes en relación con los cambios hormonales durante el embarazo y su asociación con los factores angiogénicos.¹⁵

2.4 Características clínicas

El GP clínicamente se observa cómo un crecimiento exofítico de superficie lisa o lobulada, con base pediculada y en ocasiones sésil, donde las lesiones sésiles suelen ser las más recurrentes; es blando a la palpación, con tendencia a la hemorragia ya sea espontánea o después de un traumatismo leve.¹⁶

Su color varía del rosa, rojo y azulado a púrpura, dependiendo del tiempo de evolución de la lesión y de su vascularidad. Algunas lesiones presentan coloración café cuando se ha presentado hemorragia dentro del tejido.⁴

La superficie de la lesión se encuentra generalmente ulcerada, y es posible observar una membrana fibrinosa de color amarillo que cubre la úlcera.

Los GP recientes son muy vascularizados, ya que están compuestos de tejido de granulación hiperplásico en donde sus capilares son prominentes; por lo que un pequeño trauma en la lesión, puede causar un sangrado considerable. Las lesiones en el embarazo tienden a sangrar más que las que se presentan en los demás pacientes.¹⁰

Las lesiones con un mayor tiempo de evolución gradualmente van presentando obliteración de los capilares, por lo que son menos vasculares, y se vuelven más fibrosos; clínicamente presentan un color menos intenso como el rosa; esta maduración de los elementos del tejido conectivo se interpreta como un signo de cicatrización de la lesión.

El crecimiento de la lesión es lento y asintomático, pero también puede crecer rápidamente, su tamaño varía de pocos milímetros a varios centímetros.

Raramente excede un tamaño mayor a 2.5 cm. y usualmente alcanza su tamaño en semanas o meses. También se ha reportado que los dos tipos histológicos del GP; el hemangioma capilar lobular y el hemangioma capilar no lobular (LCH y no-LCH; que se describen más adelante) presentan características clínicas diferentes, basados en que: el GP LCH se presenta más frecuentemente en la encía en un 80% de los casos y está también presente en labios, además se encuentra más en su forma sésil en un 67%. Mientras que el GP no-LCH se localizó sólo en encía y se presentó más de forma pediculada en un 77%.^{17,18}



Figura 1. Diferentes formas clínicas del granuloma piógeno. a) Se observa una lesión muy vascular. b) La lesión presenta una membrana de fibrina. c) Lesión con superficie multilobulada. d) Lesión que involucra tanto la superficie vestibular como la superficie lingual, se observa el color característico del GP.

Imágenes obtenidas del archivo de la clínica de patología bucal de la DEPeI.

Se ha demostrado que pacientes con lesiones gingivales mayores a 1cm y de un tiempo de evolución igual o mayor a 12 meses, pueden alterar al periodonto y conducir a la formación de defectos óseos, generando así un desequilibrio periodontal localizado, como: pérdida interseptal de hueso, ensanchamiento del ligamento periodontal, formación de bolsas periodontales, pérdida de inserción clínica, pérdida localizada de la tabla ósea bucal o lingual, movilidad dental de grado variable sugiriendo una naturaleza más agresiva de la lesión. Por lo que es probable que factores de la respuesta vascular e inmune puedan actuar sincronizadamente para promover la resorción ósea y la destrucción tisular observada en la lesión. Actualmente se ha puesto mayor atención en la alteración periodontal que el granuloma piógeno puede causar, no contemplado anteriormente; por lo que el diagnóstico temprano así como la escisión quirúrgica oportuna, podrían ayudar a prevenir la destrucción periodontal observado en algunas de estas lesiones.¹⁹

2.5 Epidemiología

Dentro de las hiperplasias inflamatorias orales, el granuloma piógeno es el más común y representa el 1.8% de todas las biopsias de la cavidad oral; clínicamente se caracteriza por tener predilección por la encía en el 75% de los casos, pero también se puede encontrar en carrillos, labios, lengua, paladar, mucosa bucal, y frenillo, estos representando el 25%.⁶

Se pueden observar lesiones múltiples desarrollándose simultáneamente, pero este fenómeno generalmente ocurre en su forma cutánea más que en la mucosa, aunque se han reportado casos con formas diseminadas o satelitosis; después de la escisión de un GP solitario. Estos GPs diseminados pueden progresar por un tiempo limitado y por último estabilizarse o presentar regresión.^{2, 16}

Las lesiones gingivales se encuentran en el 56% de los casos en la maxila y son más frecuentes que en la mandíbula donde representan el 44% de los casos y son más frecuentes en la superficie vestibular y anterior que en la palatina y posterior. Algunas lesiones pueden llegar a extenderse de la superficie vestibular a la superficie palatina.^{6,7}

Aunque se presentan a cualquier edad, la mayoría de los casos son más frecuentes entre la segunda y quinta décadas de vida. Con mayor frecuencia en mujeres, con un rango de edad de los 18 a 39 años, y una relación con los hombres de 2:1.⁷

En pacientes embarazadas ocurren diversos cambios gingivales en un 50% de los casos, aunque el GP se presenta en un 5% de las pacientes gestantes, se desarrolla generalmente a partir del tercer mes de embarazo.

2.6 Aspectos radiográficos

Usualmente, no se observan datos radiográficos importantes, sin embargo en casos donde la lesión presenta un tiempo de evolución más largo, puede causar reabsorción ósea localizada.³

2.7 Diagnóstico diferencial clínico

Al examen clínico se debe diferenciar de otras lesiones que se desarrollan en la mucosa gingival, como el granuloma periférico de células gigantes, fibroma osificante periférico, sarcoma de Kaposi, linfoma no-Hodgkin, angiomatosis bacilar, angiosarcoma, hemangioma, e hiperplasia fibrosa gingival.^{7,10} (Figura 2)



Figura 2. Imágenes clínicas de los distintos diagnósticos diferenciales del GP. a) Granuloma periférico de células gigantes. b) Fibroma osificante c) Hemangioma d) Sarcoma de Kaposi e) Hiperplasia fibrosa

Imágenes obtenidas del archivo de la clínica de patología bucal de la DEPEI.

2.8 Características histológicas

Como se mencionó anteriormente, histológicamente, existen dos tipos de granuloma piógeno, estos se clasifican en: hemangioma capilar lobular (LCH, por sus siglas en inglés) y en hemangioma capilar no lobular (no-LCH).¹⁷ (Figura 3)

2.8.1 Tipo LCH

Se caracteriza por la proliferación de vasos sanguíneos organizados en agregados lobulares, la lesión frecuentemente sufre cambios como edema, dilatación capilar o reacción inflamatoria de tejido de granulación. El GP LCH a su vez puede presentar un área de aspecto lobular y una superficial usualmente ulcerada.^{3, 17}

El área lobular se encuentra debajo del área ulcerada o cubierta por epitelio intacto en ausencia de úlcera. Se caracteriza por una proliferación lobular de los elementos vasculares, es decir, que los vasos sanguíneos muestran un patrón agrupado organizados en lóbulos, separados por tabiques fibrosos. Algunos patólogos sugieren que los vasos deben presentar esta organización para emitir el diagnóstico de Hemangioma Globular Capilar. A un menor aumento, especialmente en los bordes laterales, se puede observar que esta disposición se interrumpe abruptamente en la base donde se localizan canales vasculares de forma irregular, es en esta zona donde algunos canales anastomosados pueden ser ocasionalmente identificados.

Cada lóbulo está compuesto de células ovoides a fusiformes y rodeado por una fina capa de colágeno. A un mayor aumento, se puede observar un aspecto muy notable de la lesión: la presencia de un gran número de espacios vasculares de pequeños capilares revestidos de endotelio, rodeados por una capa de pericitos y con pequeño diámetro luminal.^{1, 9}

El área superficial, se caracteriza por la presencia de tejido de granulación inflamatorio debajo de las úlceras. La superficie se encuentra cubierta con una capa de fibrina y neutrófilos atrapados. Así mismo, existe proliferación de células endoteliales de pequeños y grandes vasos finos.¹⁷

El diámetro de la luz vascular en el GP LCH varía desde 2.5 a 54 μm

El estroma contiene edema, linfocitos, células plasmáticas, histiocitos y un gran número de neutrófilos.

Se describió que los GP histológicamente de tipo LCH, son los más frecuentes.³

2.8.2 Tipo no-LCH

En este tipo histológico se observan dos áreas topográficamente similares al GP LCH, se distingue: un área central vascular, con proliferación, rodeadas de células endoteliales y un mayor infiltrado de células inflamatorias crónicas, que se asemeja al tejido de granulación con focos de tejido fibroso, en un 15%; y un área superficial ulcerada.^{9, 17}

El revestimiento epitelial puede estar intacto, atrófico, o puede mostrar áreas de ulceración cubiertas por una membrana de fibrina o incluso, el epitelio presenta acantosis.¹⁹

El diámetro de la luz vascular varía de 2.4 a 294 μm .

Existe un diámetro luminal mayor, por lo que en el área central un número significativo de vasos sanguíneos con células mesenquimales perivasculares reactivas para actina músculo liso (SMA) y para actina muscular específica pueden estar presentes y en ocasiones se pueden detectar.^{3,17}

Los vasos son maduros y funcionales, y se asocian con la maduración vascular y el mantenimiento de su arquitectura normal. La presencia de pericitos alrededor de los canales vasculares, muestra también la presencia de vasos maduros.²⁰

El GP puede presentar maduración fibrosa, y esto ocurre generalmente en el tipo no-LCH, lo que sugiere que los dos tipos del GP tienen diferentes caminos de evolución; sin embargo, esta maduración fibrosa no está del todo ausente del GP LCH.¹⁷

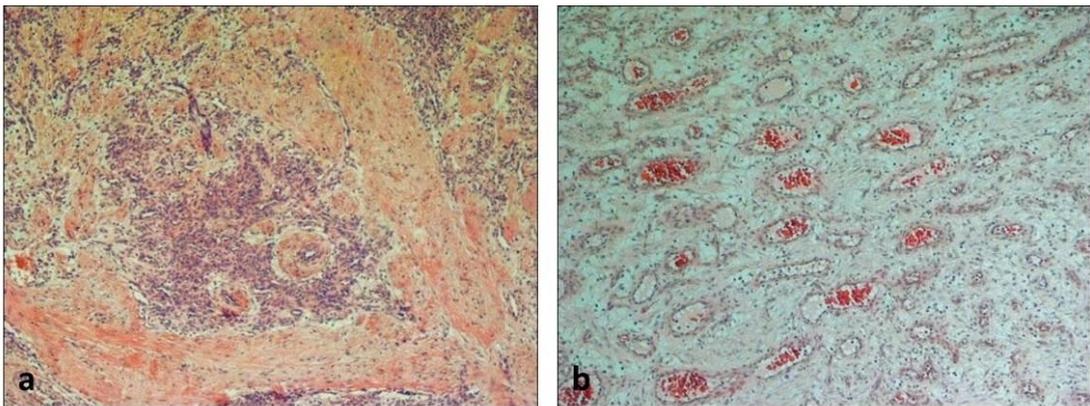


Figura 3. a) Patrón lobular en la porción profunda del GP LCH b) Patrones dispersos de los capilares en la porción profunda del GP no-LCH. (H&E a 100x)
Fuente: Rezvani¹⁸

En resumen, la apariencia histológica del GP se caracteriza por una gran proliferación vascular, con canales vasculares anastomosados que pueden estar ingurgitados con eritrocitos y rodeados de células endoteliales formando patrones medulares, y se asemeja al tejido de granulación; sin embargo, las luces vasculares pueden ser inexistentes, ranuradas o prominentes.⁷

En general, la superficie del GP está usualmente ulcerada y es reemplazada por una membrana de grosor variable de exudado fibrinoso con leucocitos atrapados con infiltrado mixto de células inflamatorias, con neutrófilos abundantes cerca y por debajo de la superficie ulcerada, la respuesta inflamatoria es más intensa cerca de la superficie y menor en el centro. Las células inflamatorias crónicas, están presentes generalmente a lo largo del estroma edematoso con formación de microabscesos. Los fibroblastos son grandes, y la actividad mitótica puede ser observada en células estromales. Se ha observado ocasionalmente un predominio de células plasmáticas.^{1, 4, 21}

En las lesiones más antiguas se pueden observar cicatrices en algunas de estas lesiones, por lo que se considera que existe maduración del proceso de reparación del tejido conectivo. ⁹ (Figura 4)

Se considera que la historia natural de la lesión sigue tres fases:

- 1) En la fase celular los lóbulos son compactos y celulares con la pequeña formación del lumen.
- 2) En la fase capilar los lóbulos se vuelven francamente vasculares con abundantes eritrocitos intraluminales, uno o más vasos centrales desarrollan una gran luz con una capa muscular parecida a una vena y
- 3) En la fase involutiva, hay una tendencia para la fibrosis intra y perilobulillar con el aumento de la diferenciación vascular. ⁹

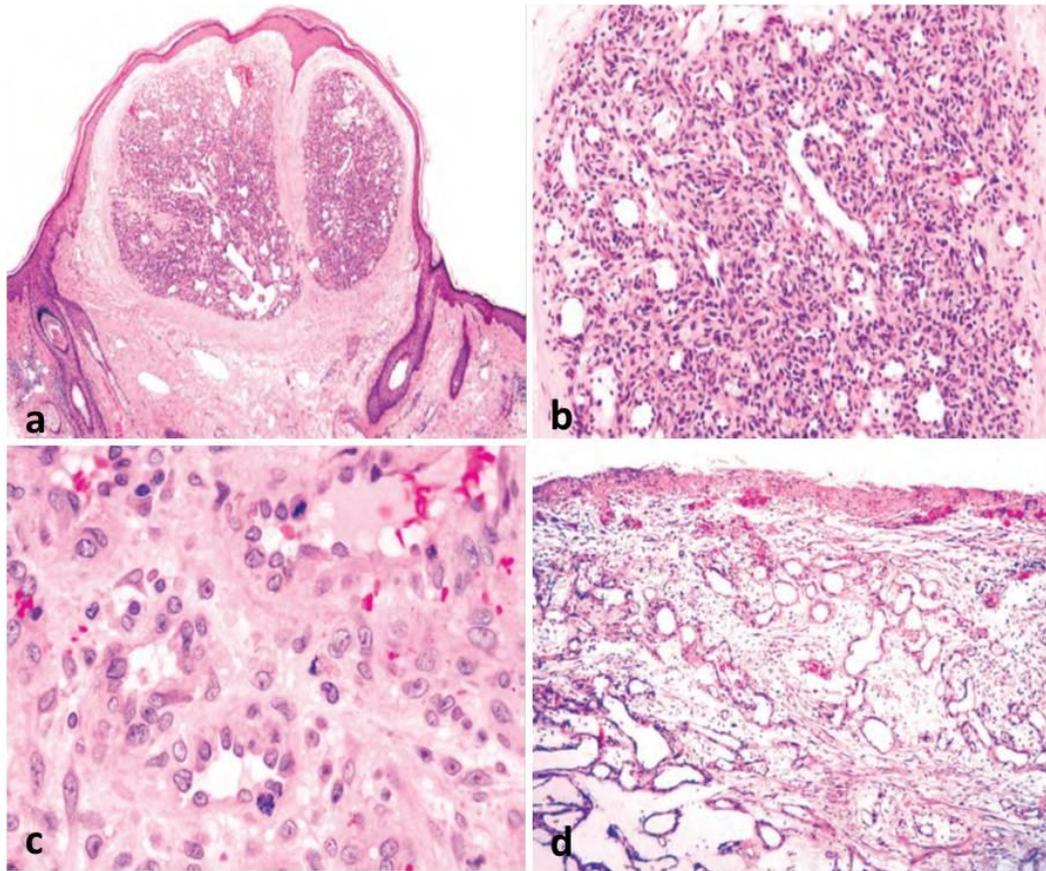


Figura 4. Características histológicas del GP. a) La lesión se caracteriza por un crecimiento exofítico. b) Se observa una conformación lobular de los vasos. c) Se observa actividad mitótica en el estroma y en células endoteliales en el GP. d) Edema estromal separado por vasos sanguíneos.

Fuente: Enzinger¹⁶

2.9 Diagnóstico

El diagnóstico se realiza a través del interrogatorio, exploración intraoral, toma de biopsia y estudio histopatológico. Todos estos parámetros ayudan a establecer el diagnóstico definitivo, adicionalmente se pueden emplear métodos auxiliares como estudios inmunohistoquímicos.

2.10 Tratamiento

Consiste en la escisión quirúrgica y la toma de biopsia de la lesión, para su estudio histopatológico. El tratamiento debe incluir la eliminación de agentes irritantes como placa bacteriana, cálculo dental, bolsas periodontales, materiales extraños, y la fuente del trauma. Así mismo se debe legar toda la zona subyacente a la inserción hasta el periostio y a través del raspado y alisado radicular de los dientes adyacentes, eliminar todas las fuentes visibles de irritación para evitar recidivas.^{3, 5, 8}

En casos donde la escisión quirúrgica pueda producir una deformación marcada, se ha recomendado la reconstrucción o remodelación de la zona afectada, como lo es la colocación de un injerto libre para devolver estética a la zona afectada.²⁴

Se han propuesto otros tratamientos en lugar de la escisión quirúrgica, entre los que se encuentra la criocirugía y se reporta como un tratamiento muy útil, mostrando además buenos resultados estéticos. Así mismo se han utilizado agentes esclerosantes como el tetradecil sulfato de sodio (STS) y la solución oleato de monoetanolamina, la electrodesecación y, por su parte, Parisi y cols. reportaron el uso de una serie de inyecciones intralesionales con corticosteroides para lesiones recurrentes. También se ha reportado el uso del láser, mostrando menor riesgo de sangrado, comparado con otras técnicas quirúrgicas.⁹

El tratamiento de elección del GP durante el embarazo, es la escisión quirúrgica de este después del parto, sin embargo esto puede variar en cada paciente.

Si se decide realizar su escisión, ya sea porque interfiere con la masticación o por problemas estéticos, esta se puede llevar a cabo durante el segundo trimestre, y se debe mantener una continua vigilancia y cuidado

posoperatorios hasta después del parto. Adoptando, además, medidas como el cuidado de la higiene oral: remover la placa dental, y el uso de cepillo dental suave.

La recurrencia de la lesión es frecuente en pacientes embarazadas, por lo que, para que el tratamiento sea exitoso, se debe esperar hasta después del parto, donde la lesión puede o no recurrir por sí sola, y si no es el caso, se procede a su escisión quirúrgica. ¹

2.11 Recurrencia

Las lesiones gingivales muestran mayor recurrencia que las lesiones de otro sitio de la mucosa bucal. ⁴

La escisión incompleta de la lesión, el fracaso en la remoción de los factores etiológicos, contribuyen a la recurrencia de la lesión, donde su tasa tras la extirpación es relativamente elevada, presentándose hasta en un 15%. Y en las pacientes embarazadas esta recurrencia es más frecuente.

2.12 Estudios con inmunohistoquímica

Los marcadores biológicos con afinidad para epítopes específicos en células endoteliales, como el factor Von Willebrand o factor VIII, CD31, CD44, CD105, CD34 y VEGF se usan para investigar la patogénesis de hemangiomas y lesiones pseudotumorales, como el granuloma piógeno y, aquellas que usualmente muestran características clínicas e histopatológicas similares que dificultan su diagnóstico. ^{22, 23}

La formación de tejido de granulación hiperplásico, migración de células inflamatorias, migración y proliferación de células endoteliales vasculares y

fibroblastos, así como síntesis de la matriz extracelular, consiste en un proceso que puede ser el resultado de la activación de las vías pro y antiinflamatorias reguladas por factores asociados a la angiogénesis, donde está implícito un desequilibrio entre factores antiangiogénicos y proangiogénicos, con la sobreexpresión de VEGF y FGF (Factor de Crecimiento Fibroblástico).^{19, 20} Además se conoce que otros factores como el óxido nítrico y el CTGF (Factor de Crecimiento de Tejido Conectivo), están también involucrados en la angiogénesis y el rápido crecimiento del GP.⁹

Vasconcelos MG²³ reportó el papel de los Factores Angiogénicos en la etiopatogenia del GP, reportando que CD34 mostró ser más efectivo que CD105 para la identificación de vasos sanguíneos; sin embargo, CD105 parece estar más relacionado con malformaciones vasculares. Adicionalmente describe que la expresión de CD34 es intensa únicamente en el 50 % de los casos; sin embargo Kang YH y cols. reportaron la expresión de CD31 y CD34 en hemangiomas y GP sugiriendo una expresión negativa de CD34 para los granulomas piógenos.

2.12.1 CD34

Las células del sistema inmunitario expresan una cantidad de moléculas de superficie que son importantes en la diferenciación celular y en la comunicación intercelular. Estas moléculas superficiales también sirven como marcadores de la identidad celular.

El International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens es el responsable de la nomenclatura de estos marcadores y asignaciones de los conjuntos de diferenciación (CD).²⁵

CD34 es una glicoproteína transmembranal y funciona también como un factor de adhesión célula-célula.

Se expresa selectivamente en la superficie de células progenitoras y células madre linfohematopoyéticas, en células endoteliales de vasos sanguíneos, en algunas células del tejido nervioso fetal y adulto, y en las células estromales de médula ósea; además se cree que es importante en la regulación del reconocimiento y tráfico celular. Así también puede mediar en la unión de las células madre a la matriz extracelular de la médula ósea o directamente a las células del estroma. ^{26,27}

En el endotelio vascular, se expresa mayormente cuando existe proliferación de las células endoteliales y como antígeno de membrana, CD34 se expresa típicamente en un patrón de membrana, es más obvio en las células de morfología epidermoide.

Esta proteína se expresa en varias neoplasias como la leucemia y tumores vasculares, lo que sugiere que la inmunotinción de CD34 puede ser usada como un marcador diagnóstico y pronóstico de estos tumores. ²³

2.12.2 VEGF

El factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) también conocido como factor de permeabilidad vascular (VPF) o vasculotropina. Es una glicoproteína homodimérica que tiene gran actividad angiogénica y mitogénica e inhibe la apoptosis. ²⁸

Tiene afinidad por unirse a dos receptores distintos: VEGF-R1 y VEGF-R2, que están presentes en las células endoteliales. La región extracelular de los receptores VEGF-R es un dominio similar a las inmunoglobulinas y el dominio intracelular tiene actividad tirosina cinasa. ²⁹

VEGF es producido por muchos tipos de células incluyendo macrófagos, monocitos, fibroblastos, plaquetas, queratinocitos y células tumorales. Su función es la formación de vasos sanguíneos y el crecimiento de pericitos.²⁵

Se considera a VEGF como el factor más importante para el desarrollo de la vasculatura, ya que induce la angiogénesis y vasculogénesis, por medio del crecimiento y la proliferación de células endoteliales, promueve la migración celular y la permeabilización de los vasos sanguíneos, su actividad es específica para células endoteliales de arterias, venas, y vasos linfáticos.

Las actividades de VEGF no se limitan al sistema vascular, también juega un papel importante en las funciones fisiológicas normales, tales como la formación de hueso, hematopoyesis, la curación de la herida y el desarrollo.

Su expresión desregulada contribuye al desarrollo de tumores sólidos mediante la promoción de la angiogénesis tumoral. VEGF puede funcionar como un factor de angiogénesis tumoral in vivo debido a que su patrón de expresión es consistente con un papel en la angiogénesis embrionaria.^{28, 30,31}

Los vasos sanguíneos se forman por dos mecanismos o vías:

1. Angiogénesis. Es la formación, crecimiento y desarrollo de nuevos vasos sanguíneos a partir de los preexistentes, y se observa en el embrión y en el adulto. Es un proceso dinámico y complejo que está regulado e inducido por diversos factores de crecimiento, como ya se mencionó el más importante es el VEGF, que estimula la proliferación y migración de células endoteliales, y está asociado a la permeabilidad vascular, y por consecuencia, da lugar al proceso de formación de capilares a partir de la vasculatura ya existente. El FGF-2 también participa en la angiogénesis, mediante la estimulación de la proliferación de células endoteliales.

Durante la angiogénesis, los vasos de nueva formación son permeables porque las uniones entre las células endoteliales no se han completado y porque el VEGF aumenta la permeabilidad vascular. Esta permeabilidad explica la apariencia edematosa del tejido de granulación.³²

2. Vasculogénesis. Consiste en la diferenciación de angioblastos en células endoteliales, que constituyen una red vascular de novo. Durante la vasculogénesis el FGF-2 induce a las células mesodérmicas a formar hemangioblastos, después el VEGF influye en los hemangioblastos para su transformación en células endoteliales y se unen entre ellas para formar vasos.^{23, 25,33}

La vasculogénesis reaparece en los adultos cuando los blastocitos endoteliales se movilizan y son reclutados hacia regiones en las que se forman vasos sanguíneos nuevos. La presencia de estos blastocitos endoteliales circulantes sugiere que el crecimiento de los vasos sanguíneos nuevos se produce por vasculogénesis y no por angiogénesis como se creía.

25

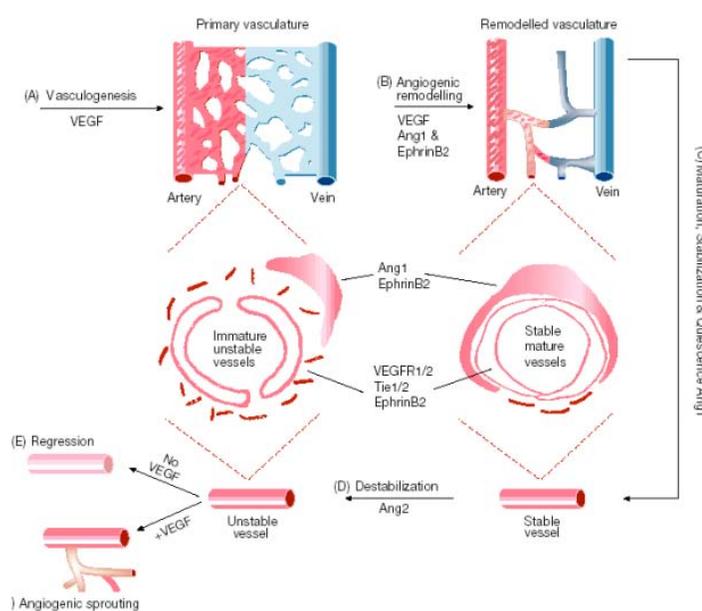


Figura5. Ilustración de la vasculogénesis y angiogénesis.

Por otra parte la angiogénesis es fundamental para una serie de eventos fisiológicos y patológicos que ocurren en la cavidad bucal, como la respuesta inflamatoria, la reparación tisular, el crecimiento tumoral, y la invasión y metástasis, además de una serie de alteraciones como son los hemangiomas y el granuloma piógeno.²²

La angiogénesis en el GP implica un desequilibrio entre los factores pro y antiangiogénicos, siendo el más prominente la sobreexpresión de VEGF y de FGF. El hallazgo histopatológico característico en el GP es un crecimiento capilar prominente dentro de un tejido de granulación hiperplásico, un hecho que sugiere actividad angiogénica. En los últimos años varios marcadores angiogénicos han sido identificados que puede proporcionar información diagnóstica y pronóstica acerca de estas lesiones vasculares.²²

El objetivo del presente trabajo fue presentar un caso clínico de granuloma piógeno y determinar la utilidad de la inmunexpresión de CD34 y VEGF para observar la neoformación vascular.

3. Presentación del caso clínico

Paciente femenino de 55 años de edad que se presenta a la Clínica de Medicina Bucal de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM por presentar aumento de volumen en la encía a nivel del central y lateral superior izquierdo, de un año de evolución.

Como antecedentes personales patológicos refiere al interrogatorio:

- Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) tratada con salbutamol, budesonida, beclometasona, bromuro de ipratropio 18mg.

-
-
- Hipertensión arterial controlada con nifedipina 10mg al día.
 - Alergia a las quinolonas.

A la exploración clínica intraoral se observó un aumento de volumen lobular de aproximadamente 1.5 x 1.5 cm, localizado tanto en la encía la libre como en la encía insertada, abarcando desde la cara mesial del central superior derecho a la cara mesial del lateral superior izquierdo, de un año de evolución, la lesión se presentó asintomática, móvil, ulcerada, de color violáceo con áreas eritematosas.

Se observó también extrusión y movilidad grado II del central superior izquierdo, por lo que se decide tomar en esa misma sesión una radiografía dentoalveolar.

En la radiografía se observó ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal (Figura 7).

3.1 Diagnóstico Clínico presuntivo

Una vez obtenidos tanto los datos clínicos como radiográficos se emitió el Diagnóstico de granuloma piógeno y se programó la cita para la toma de la biopsia. Una semana después el procedimiento se llevó a cabo en la clínica de Medicina Bucal de la DEPEI de la UNAM; se inició con la anestesia local, infiltrando en fondo de saco a nivel del incisivo central superior y por palatino. Se realizó la biopsia excisional por medio de bisturí, se cureteó el periostio y se verificó que no quedara tejido remanente de la lesión, el lecho quirúrgico se lavó con suero fisiológico; se realizó hemostasia.

Finalmente de colocó apósito quirúrgico y se dieron indicaciones posoperatorias, citando a la paciente 8 días después para revisión.

El espécimen se colocó en formol al 10% para su fijación y procesado convencional e inclusión en parafina para el estudio histopatológico.

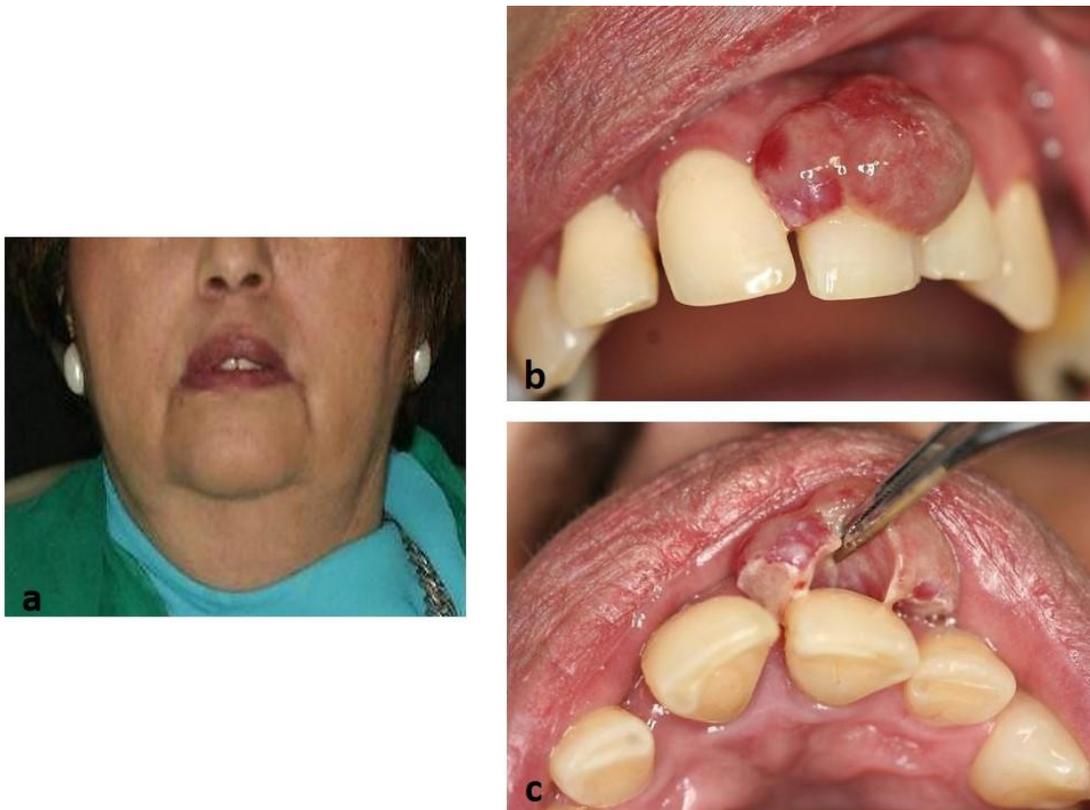


Figura 6. a) Fotografía frontal de la paciente. b) Fotografía intraoral. c) Se muestra la movilidad de la lesión.

Imágenes obtenidas del archivo de la clínica de patología bucal de la DEPel.



Figura 7. a) Radiografía dentoalveolar donde se observa ensanchamiento del ligamento periodontal. b) Acto quirúrgico. c) Se observa pérdida de tabla ósea vestibular. d) Especimen de 1.5 x 1.0 x 0.6 mm.

Imágenes obtenidas del archivo de la clínica de patología bucal de la DEPeI.

3.2 Características macroscópicas

En el laboratorio de Histopatología de DEPeI de la UNAM, se recibió espécimen de tejido blando, de 1.5 x 1.0 x 0.6 mm de forma nodular con superficie lobulada, de color café vinoso y base hemorrágica, de consistencia blanda; al corte fue de aspecto sólido y se seccionó en tres 3 fragmentos que se colocaron en una cápsula.

Se procesó de manera convencional para su inclusión en parafina, por medio del Histokinett. Primero se realizó el deshidratado por medio de alcoholes a diferente concentración: 70%, 80%, 90% y 100% consecutivamente, para seguir con el aclaramiento para la inclusión del tejido en parafina líquida; posteriormente se pasó a xilol.

Una vez obtenidos los cortes para su tinción con hematoxilina y eosina, se pasó al tren de tinción donde se aclaró, rehidrató y tiñó con hematoxilina y eosina (H&E). Posteriormente se deshidrató, aclaró y se montó en el cubreobjetos.

3.3 Características microscópicas

El tejido procesado consistió en una lesión cubierta parcialmente de epitelio escamoso estratificado con pérdida de continuidad sustituido por fibrina con infiltrado inflamatorio agudo. Un estroma de tejido conjuntivo fibroso, muy vascularizado entremezclado con infiltrado inflamatorio crónico de predominio plasmocitario. El GP corresponde al tipo no-LCH. (Figura 8)

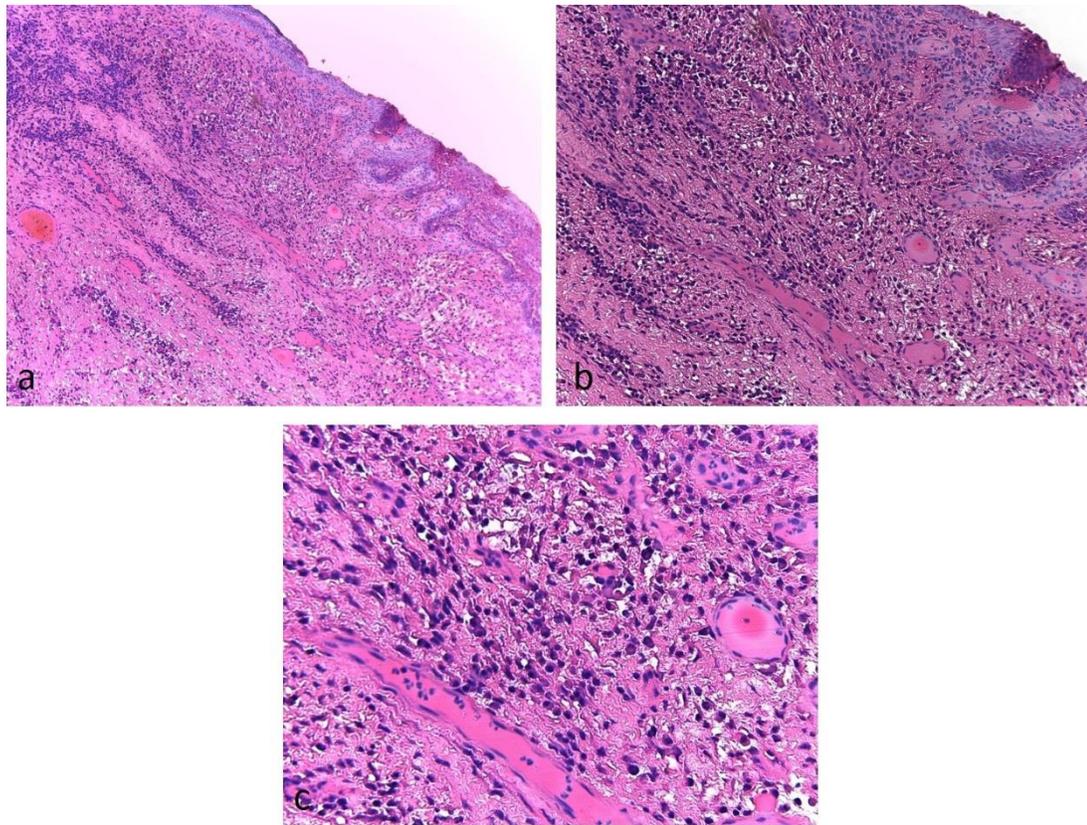


Figura 8. Fotomicrografías del GP. Teñidas con H&E. a. objetivo 10x, b. objetivo 20x y c. objetivo 40x. Respectivamente se observa epitelio escamosos estratificado paraqueratinizado que cubre tejido conjuntivo con abundantes vasos sanguíneos hemocongestionados de variable calibre en asociación con infiltrado inflamatorio crónico de predominio linfocitario dispuesto de manera difusa.

3.4 Diagnóstico Histopatológico

Se emitió el diagnóstico histopatológico de granuloma piógeno.

3.5 Técnica inmunohistoquímica

Los cortes histológicos se colocaron en laminillas silanizadas previamente. El desparafinado y rehidratado se realizó de manera convencional en inmersiones en xilol y diferentes grados de alcohol. Se lavaron en agua corriente por 3 minutos. Para la recuperación antigénica se realizó mediante buffer de citratos al 0.01M, empleando calentamiento por

microondas a 700W por 3'30''. Posteriormente se dejó enfriar lentamente hasta alcanzar la temperatura ambiente. Se realizaron tres lavados de 3 minutos cada uno con PBS (solución buffer de fosfatos). En seguida se incubó durante 20 minutos en peróxido de hidrógeno al 3%, se lavó con PBS. Posteriormente se incubó con albúmina al 2% por 20 minutos, se lavó con PBS e incubó con Tritón x-100 por 20 minutos. Se volvió a lavar con PBS antes de incubar con los anticuerpos primarios CD34 y VEGF (Santacruz Biotechnology, sc-17587 y sc-7269, respectivamente, CA) a una dilución 1:100 durante toda la noche a una temperatura de 4°C. El control negativo, consistió en sustituir el anticuerpo primario con PBS.

Posteriormente, se lavó con PBS para incubar con el anticuerpo secundario del sistema Mouse/Rabbit Immunodetector (BioSB, BSB 005, CA) por 20 minutos, transcurrido este tiempo se lavó con PBS, para incubar con el link HRP (peroxidasa exógena de rábano) por 20 minutos, enseguida se lavó con PBS y se reveló con DAB durante 3 minutos, se eliminó el excedente y lavó con PBS. Se realizó contratinción de núcleos con hematoxilina, se lavó con agua corriente hasta eliminar remanentes del colorante. Posteriormente se deshidrató y aclaró con inmersiones en alcohol ascendente y xilol para proceder al montaje del cubreobjetos mediante resina hidrofóbica. La inmunoexpresión fue analizada en el microscopio óptico Leica DM750. Se valoró la inmunoexpresión cualitativamente clasificando la expresión en: negativa 0, leve (+), moderada (++) e intensa (+++) y se tomaron microfotografías de las zonas más representativas.

3.6 Interpretación inmunohistoquímica

El análisis de inmunoexpresión tanto de CD34 como de VEGF, sugirió un nivel leve, asociado a las estructuras vasculares y células próximas a ellas. La zona celular de expresión fue el citoplasma para ambos

marcadores, a un menor aumento se observó positividad en la luz de algunos vasos sanguíneos (Fig. 9).

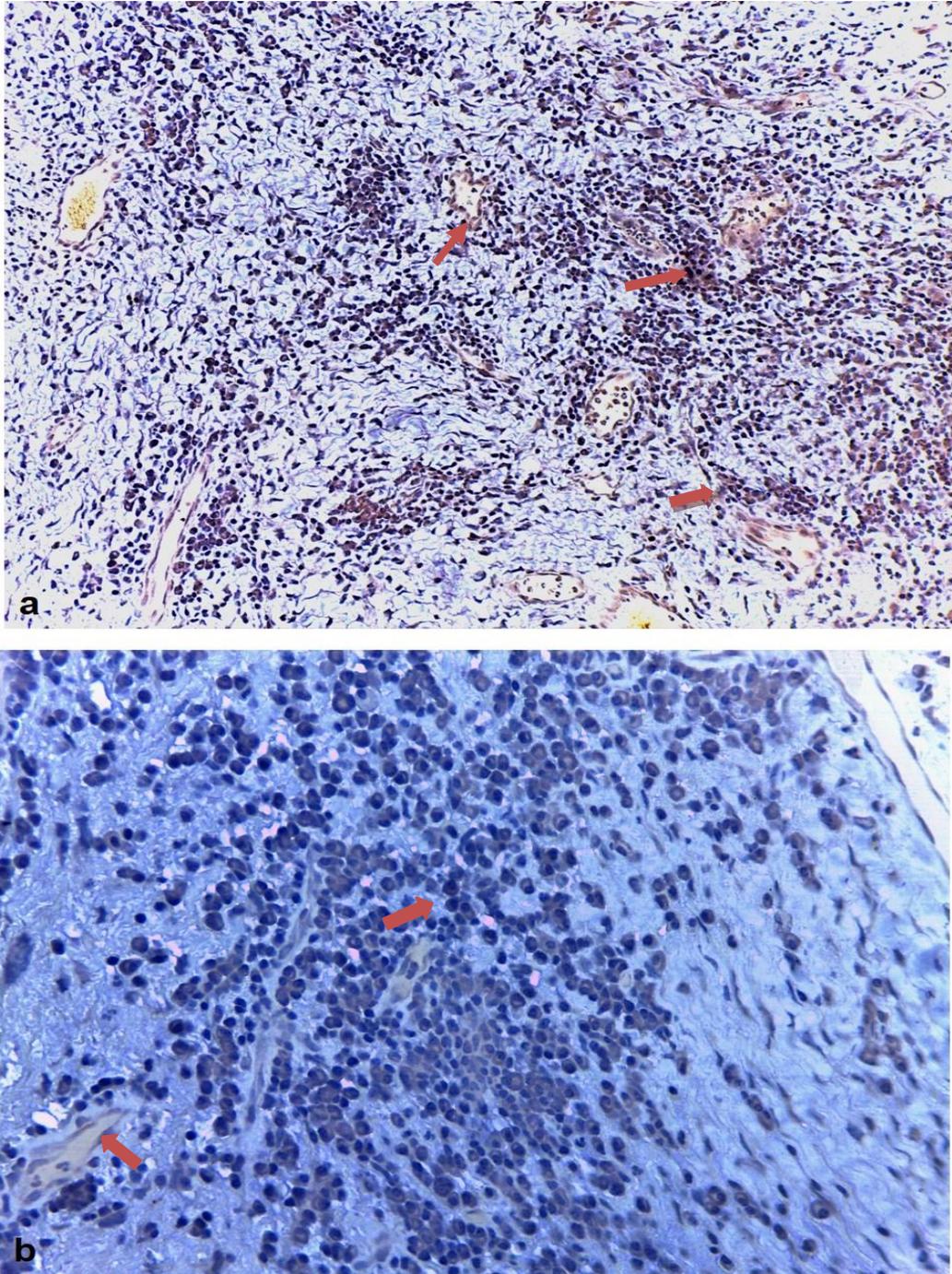


Figura 9. CD34 VEGF a 20 y 40x a) imagen superior. Se observa numerosas células inflamatorias con tinción negativa, presencia de angioblastos con reacción intracitoplasmática y múltiples vasos sanguíneos cuyas células endoteliales también son positivas al marcador. b) Observamos inmunoreacción leve de VEGF en células endoteliales (flechas) y un infiltrado inflamatorio con predominio plasmocitario rodeando y adyacente a los vasos.

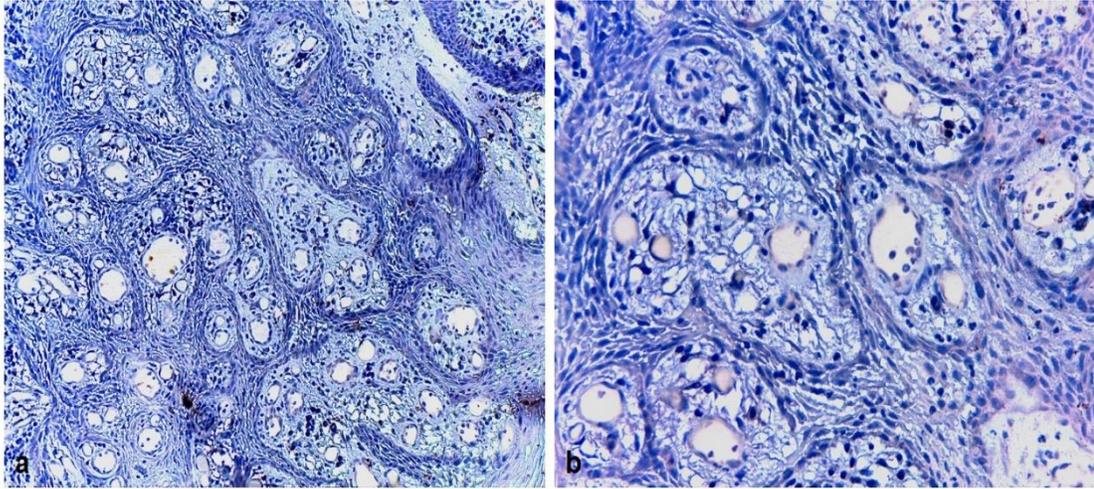


Figura 10. Inmunohistoquímica. Muestra control negativo. a. Corresponde a un objetivo 20x y b. corresponde a un objetivo 40x. Indican ausencia de marcaje en vasos sanguíneos.

4. Discusión

En nuestro caso clínico, el GP se presentó como una lesión lobular, de superficie ulcerada con áreas eritematosas y una membrana de fibrina en la pared de contacto a la superficie dental. Se localizó en el maxilar, en la encía vestibular correspondiente al diente 21. Thomson ⁷ describe al GP como una lesión de superficie lobulada, que puede presentar una membrana de fibrina y presencia de úlceras y que por ser altamente vascular, se presenta generalmente con un color rojo a morado, pero que en lesiones más antiguas este color es más rosado por su tendencia a fibrosarse, como en el presente caso donde su color es rojizo, con una coloración más parecida al de la mucosa adyacente. Esto es la característica clínica por la que pueden existir distintos diagnósticos diferenciales, razón que refuerza el emplear métodos de diagnóstico tales como la biopsia y estudio histopatológico.

Al eliminar esta lesión se observó un defecto óseo residual en la tabla vestibular, sin embargo los datos radiográficos únicamente indicaban el ensanchamiento del ligamento periodontal. Este hallazgo postquirúrgico puede ser el responsable de porque clínicamente se observó la extrusión y movilidad dental. González-Pérez LV y cols. en 2014 reportaron que el 30.4% de su muestra reportó alteraciones periodontales, es decir se presentó una o más de las siguientes características: pérdida hueso interseptal, ensanchamiento del ligamento periodontal, formación de bolsas periodontales, destrucción localizada de corticales y movilidad dental de grado variable. Sin embargo sugirieron que sólo el tiempo de evolución mayor o igual a 12 meses y la presencia de infiltrado inflamatorio denso de moderado a severo, se consideraron un factor determinante para presentar daño periodontal actuando mutuamente con efectos biológicos interactuando en el huésped susceptible y provocando la resorción de hueso y destrucción tisular. Los mismos autores reportaron que no existe diferencia significativa

entre los dos tipos histológicos del GP respecto a la resorción ósea en estas lesiones.

Como ya se mencionó, los GP pueden clasificarse en LCH y no-LCH, en nuestro caso clínico correspondió a un tipo histológico no-LCH. Se ha reportado que los GP no-LCH pueden presentar similar localización anatómica al GP LCH, y que microscópicamente se observa un área central de proliferación vascular y un mayor infiltrado de células inflamatorias crónicas, así como un área superficial ulcerada.^{9, 17} Estos datos concuerdan con nuestro caso clínico. Se sabe que en los GP no-LCH los vasos sanguíneos son maduros y funcionales, con una presencia importante de pericitos alrededor de los canales vasculares, ya que es una lesión con mayor tiempo de evolución, por lo cual es común observar una maduración fibrosa.²⁰ Este tipo de hallazgos histológicos pueden ser analizados inmunohistoquímicamente. Los marcadores empleados siempre serán enfocados a detectar vasos sanguíneos. Los más comunes son el factor Von Willebrand o factor VIII, CD31, CD44, CD105, CD34 y VEGF, no obstante, estos marcadores pueden modificar su expresión según el estado de maduración de la lesión. En nuestro análisis inmunohistoquímico tanto CD34 como VEGF presentaron una expresión leve, citoplasmática asociada a células endoteliales de las estructuras vasculares. Kang YH y cols¹³ reportaron que la expresión de CD34 era negativa para su análisis, esto puede derivar del tipo histológico y grado de maduración de la lesión, es decir, cuando los GP son no-LCH con un tiempo de evolución largo, es común que la angiogénesis sea menor, por lo cual la expresión de este marcador sea disminuida. VEGF también ha sido asociado a esta conducta, lo cual fue comprobado en nuestro caso clínico, ya que la expresión de ambos marcadores fue similar. Freitas y cols²² reportaron que VEGF mostró positividad en macrófagos y fibroblastos en GPs. Así mismo se reportó que la inmunoexpresión de VEGF fue mayor en GPs en asociación con hormonas

durante la gestación, sugiriendo que las hormonas no solo aumentan la expresión de los factores angiogénicos en tejido inflamado, sino que también disminuyen la apoptosis en las células del granuloma para extender su efecto angiogénico; sin embargo, cuando estos niveles decrecen después del parto es cuando la lesión tiende a su regresión. La positividad observada en la luz de los vasos sanguíneos tanto para CD34 como para VEGF deriva de la congestión vascular, lo cual favoreció la precipitación del anticuerpo secundario, ya que en nuestro control negativo el cual carecía de anticuerpos primarios, se observó un patrón similar.

5. Conclusión

Estas lesiones pueden presentar alteraciones periodontales. Se recomienda el diagnóstico y tratamiento temprano de la lesión para evitar posibles alteraciones periodontales. Cuando estas alteraciones ya están presentes, un tratamiento integral (periodontal, protésico, etc.) debe ser efectuado. Tanto el análisis clínico, como el radiográfico e histopatológico son necesarios para emitir un diagnóstico definitivo de un granuloma piógeno u otra lesión. Histológicamente fue clasificado como no-LCH ya que se observó proliferación vascular, células endoteliales y sus precursores (angioblastos o pericitos) infiltrado inflamatorio crónico en un estroma fibroso. Al tener el diagnóstico histológico se puede emitir si se requieren tratamientos adicionales o pronosticar cuál será la evolución de este caso.

6. Referencias bibliográficas

1. Shafer WG, Hine MK, Levy BM, Tomich CE. Tratado de patología bucal. 4ª ed. México, D.F: Nueva Editorial Interamericana; 1988. p 365-367.
2. Gorlin RJ, Goldman HM. Thoma Patología oral. Barcelona: Salvat editores,S.A.; 1973. p 951.
3. Gomes SR, Shakir QJ, Thaker PV, Tavadia JK. Pyogenic granuloma of the gingiva: A misnomer?-A case report and review of literature. J Indian Soc Periodontol 2013;17: 514-9.
4. Sapp JP, Eversole LR, Wysocki GP. Patología oral y maxilofacial contemporánea. 2ª ed. España, Madrid: Elsevier; 2005. p 318,319.
5. Regezi JA, Sciubba JJ. Patología Bucal. 1ª ed. México, D.F: Nueva Editorial Interamericana; 1991.
6. Bhaskar SN, BDS, DDS, MS, PhD. Synopsis of oral pathology. 6th ed. St. Louis: The C.V. Mosby Company; 1981. p 498,501,502.
7. Thomson, Wenig, Nelson, Muller. Diagnóstico en Patología Cabeza y Cuello. España: Marbán; 2013. p
8. Bagán JV. Medicina bucal. 2ª ed.Valencia, España: Edita Medicina oral S.L.; 2010.
9. Jafarzadeh H, Sanatkhan M, Mohtasham N. Oral pyogenic granuloma: a review. J Oral Sci 2006;48(4):167-175.
10. Kamal R, Dahiya P, Puri A. Oral pyogenic granuloma: Various concepts of etiopathogenesis. J Oral Maxillofac Pathol 2012;16:79-82
11. ISSVA classification for vascular anomaliesInternational Society for the Study of Vascular Anomalies[Online] 2014 April [citado 2015 Oct] Hallado en: URL:issva.org/classification
12. Dojcinovic I, Richter M, Lombardi T. Occurrence of a pyogenic granuloma in a relation to a dental implant2010;J Oral Maxillofac Surg 68:1874-1876.
13. Kang YH, et al. Co-development of pyogenic granuloma and capillary hemangioma on the alveolar ridge associated with a dental implant: a case report. J Med Case Rep2014;8:192.
14. Rebolledo CM, Harris RJ, Cantillo PO, Carbonell MZ. Granuloma telangiectásico en cavidad oral. Odontostomatol 2010;26(5):249-253.
15. Andrikopoulou M, Chatzistamou I, Gkilas H, Vilaras G, Sklavounou A.Assessment of angiogenic markers and female sex hormone receptors in pregnancy tumor of the gingiva. J Oral Maxillofac Surg 2013;71:1376-1381.
16. Goldblum JR, Folpe AL, Weiss SW. Enzinger and Weiss's soft tissue tumors [libro digital] 6th ed. Elsevier.

-
-
17. Epivatianos A, et al. Pyogenic granuloma of the oral cavity: Comparative study of its clinicopathological and immunohistochemical features. *Pathol Int* 2005;55:391-397.
 18. Rezvani G, Azarpira N, Bitá G, Zeynab R. Proliferative activity in oral pyogenic granuloma: A comparative immunohistochemical study. *Indian J Pathol Microbiol* 2010 Oct 22;53(3):403-407
 19. González-Pérez LV Association study between clinicopathological variables and periodontal breakdown in gingival pyogenic granuloma. *Clin Oral Invest* 2014;18:2137-2149.
 20. Vassilopoulos SI, Tosios KI, Panis VG, Vrotsos JA. Endothelial cells of oral pyogenic granulomas express eNOS and CD105/endothelin: an immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med* 2011;40:345-351.
 21. Neville, Damm, Allen, Bouquot. *Oral and maxillofacial pathology*. [Libro digital] 3th ed. Elsevier;2009.
 22. Freitas T, Miguel M, Silveira E, Freitas R, Galvao H. Assessment of angiogenic markers in oral hemangiomas and pyogenic granulomas. *Exp Mol Pathol* 2005;79:79-85.
 23. Vasconcelos MG, Alves PM, Vasconcelos RG, Dantas da Silveira EJ, Medeiros AM, Queiros LM. Expression of CD34 and CD105 as markers for angiogenesis in oral vascular malformations and pyogenic granulomas. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2011;268:1213-1217.
 24. Lindhe J, Lang NP, Karting T. *Periodontología clínica e implantología odontológica*. 5ª ed. España: Médica panamericana; 2009.
 25. Rubin R, Strayer DS. *Patología: fundamentos clinicopatológicos en medicina*. 6a ed. Barcelona: LIPPINCOTT Williams & Wilkins; 2012.
 26. Santa cruz biotechnology, INC CD34 [Online] [Citado en 2015 Oct] Hallado en: URL:<http://datasheets.scbt.com/sc-19587.pdf>
 27. Miettinen M. Immunohistochemistry of soft tissue tumours – review with emphasis on 10 markers. *Histopathology* 2014;64:101–118.
 28. R&D systems. VEGF: products. [Online] [Citado en 2015 Oct] Hallado en: URL:https://www.rndsystems.com/search?common_name=VEGF
 29. Kierszenbaum AL. *Histología y biología celular: introducción a la anatomía patológica*. 3ª ed. Barcelona: Elsevier; 2012. p 382-383.
 30. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *Faseb J* 1999;13:9–22.
 31. Santacruzbiotechnology, INC VEGF [Online] [Citado en 2015 Oct] Hallado en: URL:<http://datasheets.scbt.com/sc-7269.pdf>
 32. Porth CM. *Fundamentos de fisiopatología*. 3ª ed. Barcelona: Lippincott Williams & Williams; 2011. p 80-81.

33. Sadler TW. Langman Embriología médica. 12^a ed. Barcelona: Lippincott Williams & Williams; 2012. p 75-76.