



Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Estudios Superiores Iztacala  
Hospital Juárez de México  
Cirujano Dentista



TESIS PARA OBTENER TÍTULO DE CIRUJANO DENTISTA  
PRESENTA:

PARDO PÉREZ ZAC NICTE

CON EL TÍTULO:

**ESTUDIO DE LA PLURIPOTENCIALIDAD DEL AMELOBLASTOMA  
UNIQUÍSTICO DE PACIENTES TRATADOS EN EL HOSPITAL JUÁREZ DE  
MÉXICO**

Director:  
Dr. Alejandro García Muñoz

Dictaminadores:  
Dra. Cynthia Georgina Trejo Iriarte  
C.D.E.P.O Nancy Monroy Pérez  
Dra. Claudia Marissa Calderón Torres  
C.D.E.C.M.F. Carlos Licéaga Escalera

Los Reyes Iztacala, Estado de México, 2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.



1. INTRODUCCIÓN.....	4
1.1. Tumores odontogénicos .....	5
1.2. Frecuencia de tumores odontogénicos en México.....	5
1.3. Antecedentes y clasificación de los tumores odontogénicos .....	6
1.4. Odontogénesis.....	8
1.5. Ameloblastoma .....	15
1.6. Ameloblastoma uniuíquístico .....	16
1.7. Células troncales o <i>Stem Cells</i> .....	21
1.8. Células mesénquimales.....	23
1.9. Células troncales del cáncer .....	24
1.10. Transición Epitelio-Mesénquimal .....	25
1.11. Antecedentes directos .....	29
2. HIPÓTESIS .....	30
3. OBJETIVO.....	30
3.1. Objetivo general.....	30
3.2. Objetivos específicos .....	31
4. MATERIAL Y MÉTODO .....	31
4.1. Tipo de estudio realizado.....	31
4.2. Variables de estudio .....	31
5. PROCEDIMIENTO .....	32
5.1. Obtención de muestras.....	32
5.2. Tinción con Hematoxilina y Eosina (HyE) .....	32
5.3. Inmunodetección <i>In Situ</i> .....	33
5.4. Recolección de datos.....	34
6. RESULTADOS .....	34
7. DISCUSIÓN .....	52
8. PERSPECTIVAS .....	53
9. CONCLUSIÓN .....	56
10. REFERENCIAS.....	56
11. ANEXOS .....	61

## 1. INTRODUCCIÓN

Las neoplasias se definen como: una masa anormal de tejido, con crecimiento que sobrepasa al de los tejidos normales. El estudio de las neoplasias es de suma importancia ya que anualmente más de un millón de personas descubren cada año que padecen alguna de ellas, afortunadamente muchas de estas pueden ser tratadas satisfactoriamente (Mitchell, 2007).

Al utilizar el término “neoplasia” se debe tener en cuenta que se hace referencia tanto a neoplasias benignas como malignas, en cambio, el término “cáncer” (del latín cangrejo), es sinónimo de neoplasia maligna, porque el tumor se adhiere a todo tipo de células y tejidos y ocasiona su daño (Mitchell, 2007).

Las neoplasias se clasifican según el comportamiento clínico-biológico que poseen en:

- Benignas: Neoplasia bien delimitada, que permanecen localizadas sin diseminarse
- Malignas: Neoplasia que tiende a invadir, infiltrar o destruir tejidos adyacentes y puede diseminarse a sitios distantes (metastatizar).

**TABLA 1** Comparación entre neoplasia benigna y maligna

<b>Características</b>	<b>Benignos</b>	<b>Malignos</b>
Diferenciación	Bien diferenciados, la estructura puede ser típica del tejido de origen.	Cierta falta de diferenciación, estructura a menudo típica.
Velocidad de crecimiento	Generalmente lenta y progresiva, pueden detenerse o regresar.	Errática, puede ser lenta y luego rápida.
Invasión local	Generalmente expansivas bien delimitadas que no invaden ni infiltran los tejidos vecinos.	Invasión local, infiltración de tejido normal vecino.
Metástasis	Ausentes.	Frecuentes.

Tanto las neoplasias benignas como malignas presentan dos componentes básicos:

- Parénquima: Tejido constituido por células neoplásicas proliferante
- Estroma: Tejido conectivo y vasos sanguíneos que les proporciona un armazón estructural y una adecuada irrigación al parénquima neoplásico (Mitchell, 2007).

Entre las diversas neoplasias que pueden desarrollarse en los mamíferos, existen las que se desarrollan en la cavidad oral y derivan de las células que forman a los órganos dentarios, a este tipo de neoplasias se les denomina tumores odontogénicos.

#### 1.1. Tumores odontogénicos

Los tumores odontogénicos comprenden un grupo complejo de lesiones de diversos tipos histopatológicos y comportamientos clínicos; que se sugiere se derivan de los elementos epiteliales, mesénquimales, ectomesénquimales o sus remanentes, que todavía están o han sido parte de la formación del germen dentario, término que se indica a la agregación de células en diferenciación para constituir el futuro órgano dentario (Banes, 2005) (Henry Lores, 2009).

Los tumores odontogénicos representan el 5% u 8% de las lesiones de la cavidad oral; siendo el 95% neoplasias benignas y solo el 5% son malignas (Henry Lores, 2009).

#### 1.2. Frecuencia de tumores odontogénicos en México

Los informes sobre la frecuencia de los tumores odontogénicos son escasos y los criterios en diagnóstico utilizados en los informes no son homogéneos. En México se han realizado solo dos investigaciones, una por Mosqueda Taylor y la otra por Gaitán Cepeda (Mosqueda-Taylor, 1997) (Gaitán-Cepeda, 2010)

Por un lado Mosqueda Taylor y colaboradores, en 1997, encontraron que de 349 casos, el 98.8% fueron de tumores benignos y el 1.2% de malignos. Su distribución fue de la siguiente forma: odontoma (34.6%), ameloblastoma (23.7%), mixoma (17.7%), tumor odontogénico adenomatoide (7.1%), y el quiste odontogénico calcificante (6.8%) (Mosqueda-Taylor, 1997) (Soto, 2010).

Por otro lado, Gaitán Cepeda et al, en 2010, analizaron 136 tumores odontogénicos, siendo el más frecuente el tumor odontogénico queratoquístico (38.9%), seguido del odontoma (30.8%) y el ameloblastoma (18.3%). En este estudio podemos observar un cambio radical a partir de la Clasificación de 2005 cuando el tumor odontogénico queratoquístico se incluyó en los tumores odontogénicos (Gaitán-Cepeda, 2010).

### 1.3. Antecedentes y clasificación de los tumores odontogénicos

El primer intento de clasificar a los quistes y tumores odontogénicos fue por Broca en 1868 y no fue, sino hasta la década de 1960, cuando un grupo de expertos de diferentes países patrocinados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), elaboraron una clasificación que incluyó los criterios clínico-patológicos necesarios para el diagnóstico de estas entidades. Estos esfuerzos permitieron que en 1971 se publicara la primera clasificación de los tumores odontogénicos, quistes de los maxilares y lesiones afines por Jens J. Pindborg, Ivor R.H. y Kramer. La segunda edición fue hecha en 1992 por Kramer y colaboradores (Imran, 2016).

Posteriormente, en el año 2000, la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC), realizó una nueva serie de libros: "WHO Classification of Tumours". Los cuales abarcaron criterios histopatológicos y genéticos. Después, en Julio del año 2005 se publicó el volumen de tumores de cabeza y cuello en el que se incluyó la clasificación de los tumores odontogénicos (Banes, 2005) (Philipsen, 2006).

Finalmente, la última propuesta de clasificación hecha por John M. Wright y colaboradores en 2014, está por publicarse en el presente año, donde se hace hincapié en que las clasificaciones deben ser simples, reproducibles y que tenga utilidad clínica (Wright, 2014).

Esta nueva clasificación sugiere dividir a los tumores odontogénicos en benignos y malignos, en dicha clasificación los benignos se subdividen en epiteliales, mesénquimales y mixtos (Tabla 2).



**Epiteliales**

- Ameloblastoma
- Ameloblastoma de tipo uniuquístico
- Tumor odontogénico escamoso
- Tumor odontogénico epitelial calcificante
- Tumor odontogénico adenomatoide

**Mixtos (epitelial y mesénquimal)**

- Fibroma ameloblástico
- Odontoma y odontoma del desarrollo

**Mesénquimales (con poco o sin epitelio)**

- Fibroma odontogénico
  - Tumor odontogénico de células granulares
  - Mixoma odontogénico o mixofibroma
  - Cementoblastoma
  - Fibroma cemento-osificante
  - Tumor odontogénico periférico
- 

Dado que este estudio está enfocado a los tumores derivados de células formadoras de los órganos dentarios, a continuación se presenta una revisión del proceso de *odontogénesis*.

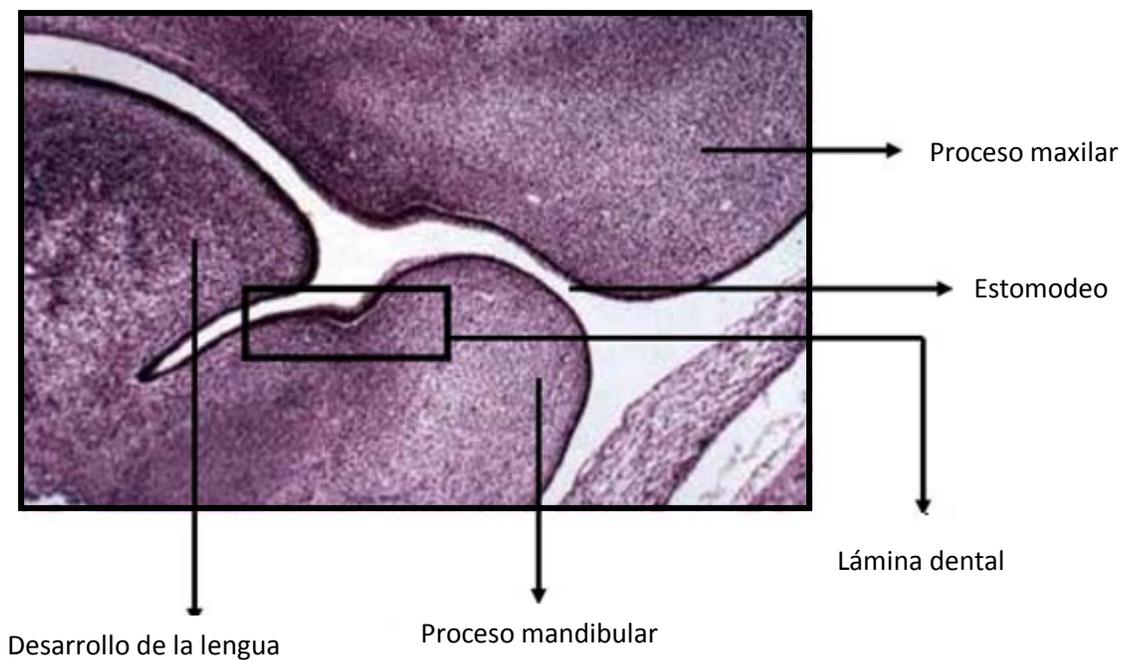
#### 1.4. Odontogénesis

Durante el desarrollo embrionario, las estructuras de la cabeza y el cuello se derivan de la porción cefálica del tubo neural, lo que da lugar a los arcos branquiales. Cada arco consta de 3 capas: ectodermo, mesodermo y endodermo. Al llegar la 4ª semana de vida intrauterina, se presenta una migración de células de la cresta neural hacia el estomodeo, a estas células se les llaman ectomesénquimales (Brand, 2013).

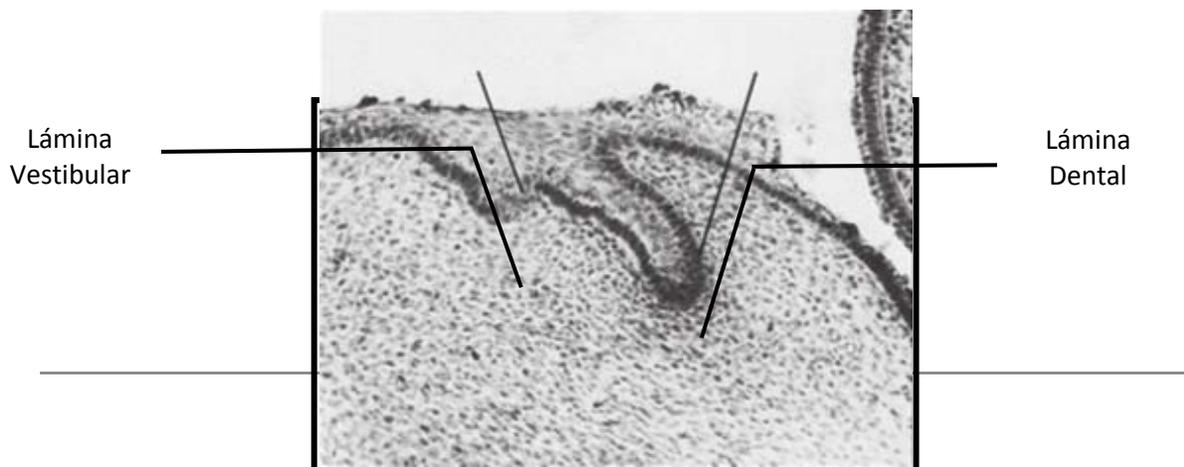
El desarrollo del diente, desde su inicio, crecimiento, morfogénesis e histodiferenciación, implica una serie de señales recíprocas de inducción entre el epitelio de la cavidad oral y el mesénquima adyacente. La comunicación celular es a través de moléculas de señalización, aproximadamente 300 genes que se transcriben y la secreción de aproximadamente 100 factores de crecimiento y factores de transcripción que regulan el desarrollo del diente (Koussoulakou, 2009).

El primer signo de formación de un diente se da aproximadamente en la 6° semana de vida intrauterina; el ectodermo oral prolifera en una banda gruesa de epitelio llamada banda epitelial primaria. La señal inicial en el desarrollo la realiza el epitelio oral, de origen ectodérmico que induce que las células mesénquimatosas de la cresta neural que a su vez respondan al epitelio (Zohrabian, 2015).

Este proceso se divide en diferentes etapas, en primer lugar las células del epitelio oral expresan y secretan el factor de transcripción PITX-2 así como moléculas de señalización tales como son; BMP, FGF, Shh, Wnt y TNF. Las moléculas de señalización, secretadas por el epitelio, activan la expresión de algunos genes de las células mesénquimatosas de la cresta neural, como son LHX-6, LHX-7, BARX-1, MSX, MSX-2, DIX-2, PAX-9, GLI-1, GLI-2 y GLI-3. Las moléculas de señalización secretadas por células mesénquimatosas activan a las células del epitelio oral para que proliferen y así forman la lámina dental (Zohrabian, 2015) (Thesleff, 2002) (Jheon, 2013)

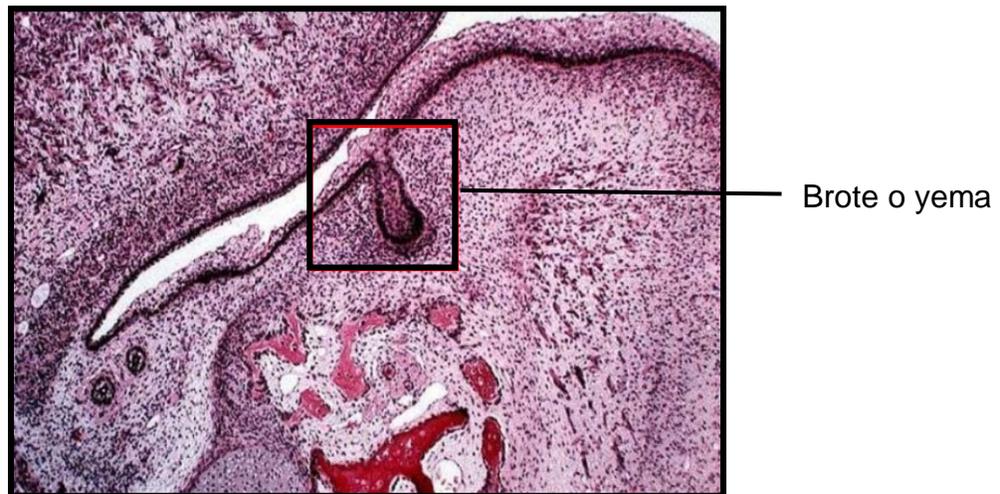


**Figura 1. Estadio de iniciación,** etapa donde el ectodermo oral prolifera una banda gruesa de epitelio llamada banda epitelial primaria (Nanci, 2007).



**Figura 2. Inicó del desarrollo dentario**, lugar en el tejido donde se forma la lámina dental y lámina vestibular (Nanci, 2007).

Este proceso ocurre llegada la 8° semana de vida intrauterina y es llamada así por la proliferación o crecimiento de la lámina dental que penetra en el mesénquima. Cada uno de estos brotes de la lámina dental, junto con el mesénquima que la rodea, desarrollarán un germen dentario y su tejido de soporte asociado (Zohrabian, 2015) (Gaitán-Cepeda, 2010) (Brand, 2013) (Avery, 2007).

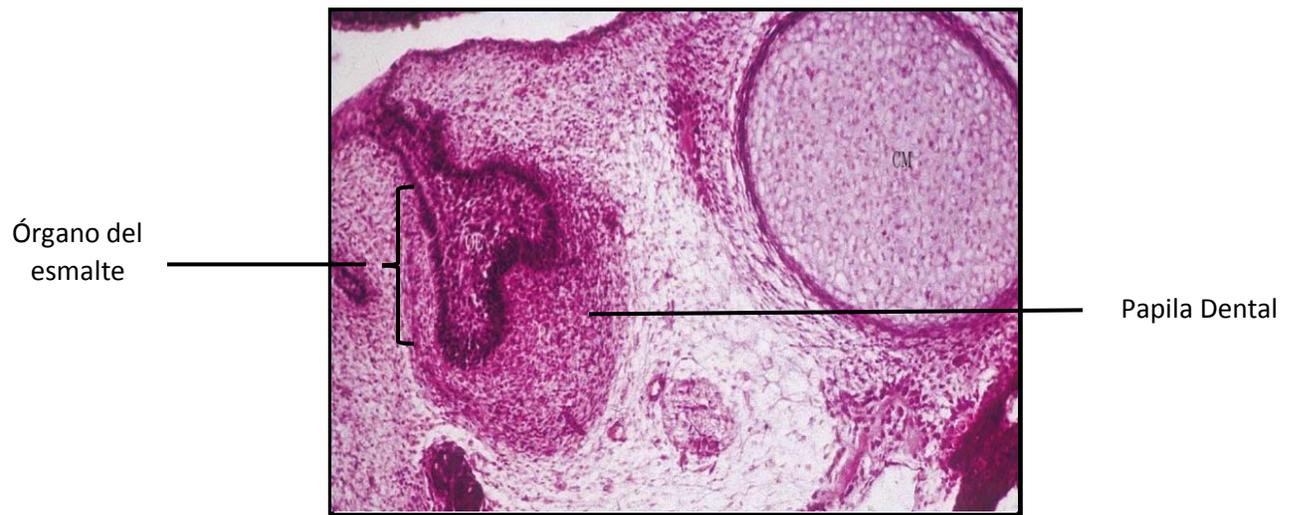


**Figura 3. Estadio de brote o yema.** Muestra la invaginación de células de la lámina dental en el mesénquima oral así como su engrosamiento, en el cuadro rojo se muestra la formación de brote o yema (Nanci, 2007).

Estadio de casquete

Alrededor de la 9° semana de vida intrauterina, la expresión de los genes RUNX-2 y FGF-3 inducen que el brote dental se invagine y adquiera un aspecto de

casquete. Su concavidad central da lugar al órgano del esmalte y debajo de esta estructura las células mesénquimatosas proliferan y se condensan para formar la papila dental, que dará origen al complejo dentinopulpar. A su vez, las células mesénquimatosas que rodean la papila dental y al órgano del esmalte componen el saco dental conjunto el germen dentario (Gómez de Ferraris, 2009) (Zohrabian, 2015).



**Figura 4. Estadio de casquete**, en la cavidad de la cara profunda se observa lo que será el germen dentario adquiriendo un aspecto de casquete (Nanci, 2008).

En esta etapa las células de la papila dental expresa las vías de señalización de BMP, FGF y Wnt e inducen al organo del esmalte a formar un nodo que regulará la morfología y crecimiento del esmalte y cuyas células expresan la proteína p21, esta proteína esta asociada con la salida del ciclo celular e inducen la expresión de las vías FGF, BMP, Wnt y Shh, que a su vez inducen el desarrollo del organo del esmalte así como induce a la papila dental para que sus células formen esmalte y dentina (Avery, 2007).

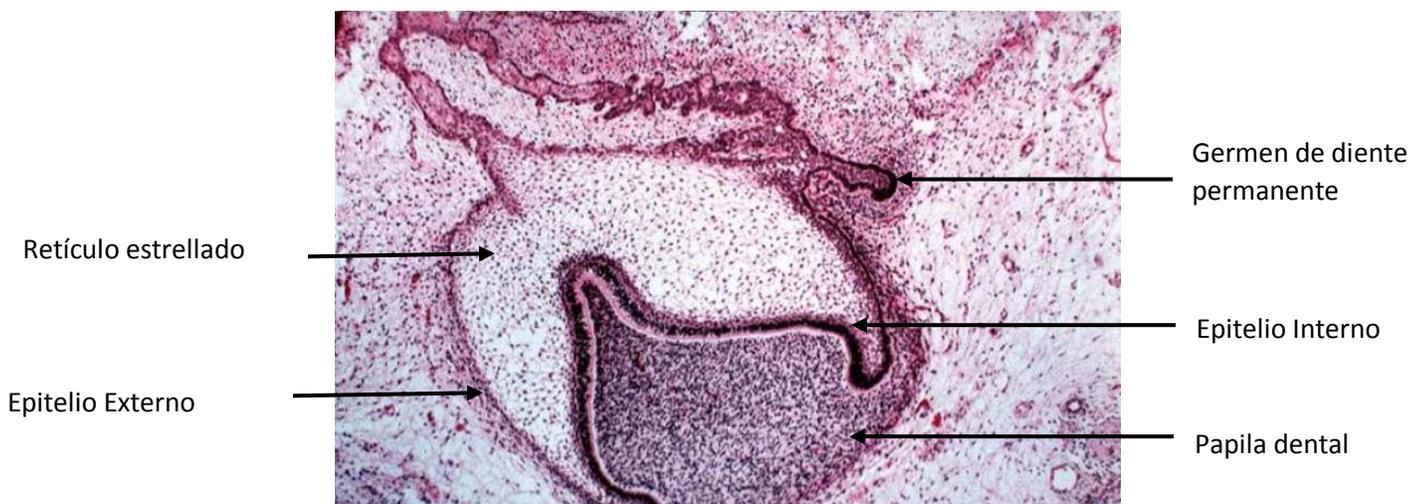
Estadio de campana

Este proceso ocurre en la 14° semana de vida intrauterina, la invaginación del epitelio dental interno aumenta adquiriendo un aspecto típico de campana.

En esta etapa el germen dentario ya está formado por:

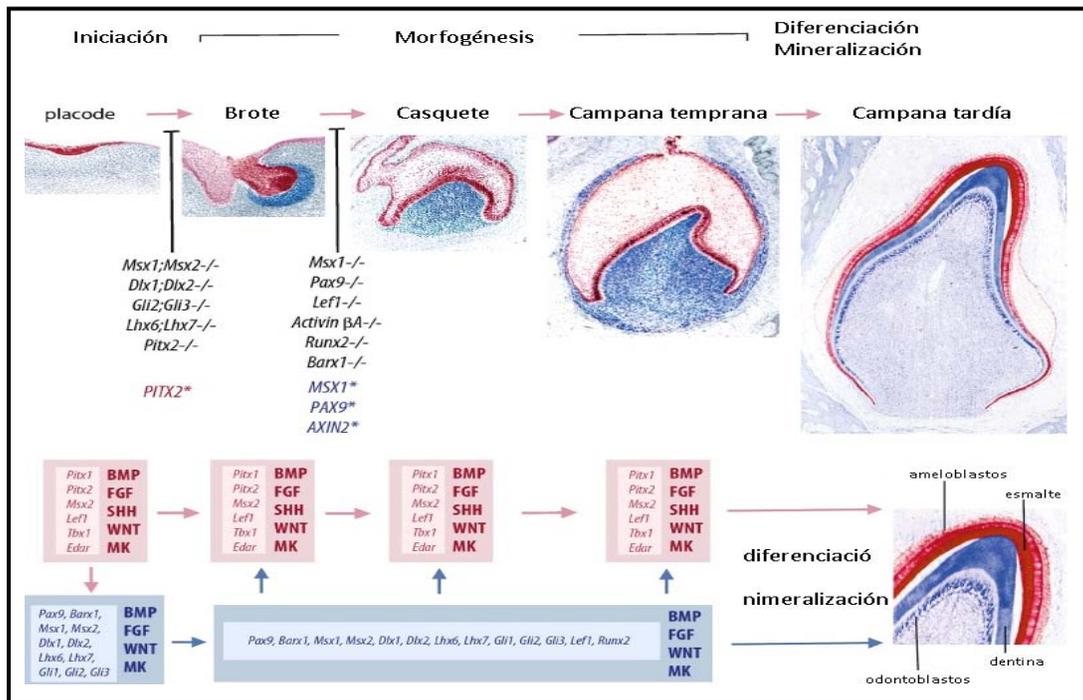
- El órgano del esmalte, constituido por un epitelio externo, epitelio interno y entre ambos epitelios se localiza el retículo estrellado, formado por células con prolongaciones celulares que unen las células unas con otras.
- La papila dental, formada por un mesénquima condensado, está situado en la concavidad del órgano del esmalte.
- El saco dental, constituido por un mesénquima que rodea al órgano del esmalte y a la papila dental.

En esta etapa, en la lámina dental que une al órgano del esmalte con epitelio de la cavidad oral comienza a formarse el brote del diente permanente. Posteriormente, lámina dental desaparece y el diente permanente continúa su desarrollo. También en esta etapa se produce la morfogénesis de la corona por la inducción del epitelio del órgano del esmalte a la papila dental (Zohrabian, 2015).



**Figura 5. Estadio de Campana**, se acentúa la invaginación del epitelio dental interno adquiriendo un aspecto típico de campana, en este estadio hay una similitud con la histología del ameloblastoma unicístico (Nanci A. , 2007)

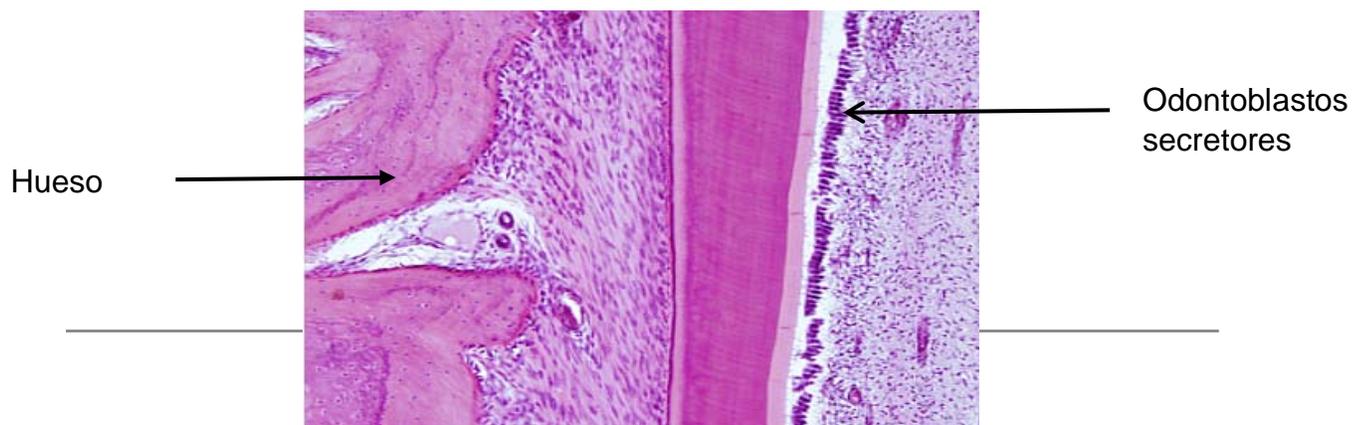
Al avanzar esta etapa, comienza la histodiferenciación del diente. El epitelio interno se diferencia en ameloblastos, que induce a las células de la superficie de la papila dental a que se diferencien en odontoblastos. Los odontoblastos secretan pre dentina hacia los ameloblastos y cuando la dentina se calcifica se convierte en dentina y cuando se forma la dentina, el centro de la papila dental se diferencia en la pulpa dental, otras células en saco dental y otras cemento y ligamento periodontal (Avery, 2007)

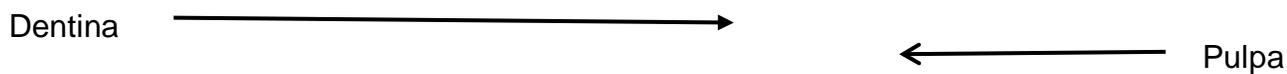


**Figura 6. Genes de expresión durante la odontogénesis**, el inicio de este proceso está mediado por el factor de transcripción PITX-2 (Mitsiadis, 2011).

### Estadio de aposición o terminal

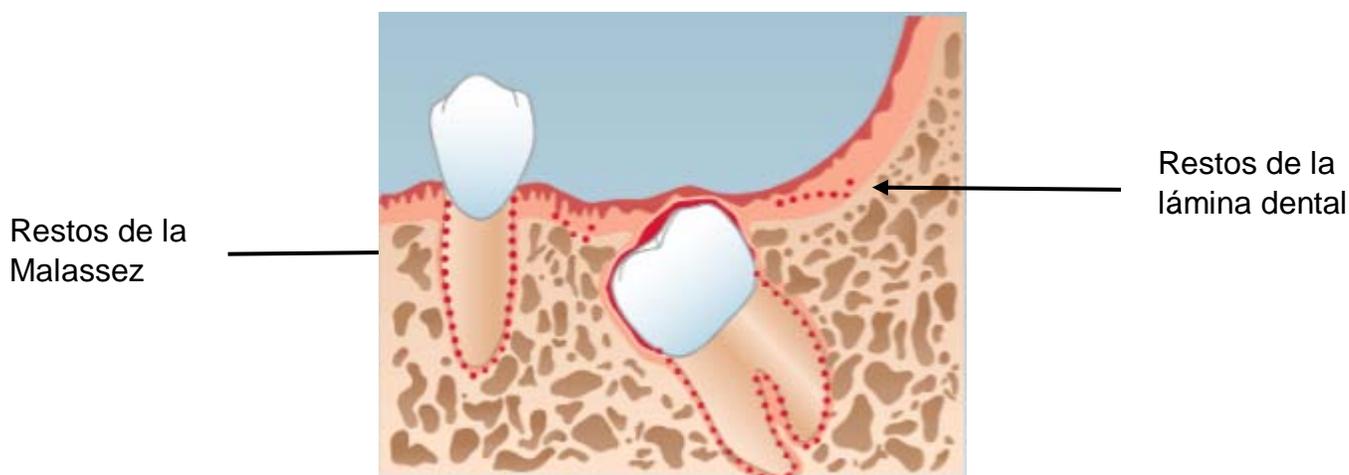
En la 18ª semana de vida intrauterina comienza la aposición, en esta etapa las futuras cúspides empiezan la formación del esmalte sobre la capa de la dentina. Los ameloblastos inducidos por los odontoblastos, comienzan a secretar el esmalte. El crecimiento aposicional del esmalte y la dentina es debido al depósito de matriz orgánica y su posterior mineralización (K. Avery, 2007).





**Figura 7. Estadio de aposición o terminal**, la formación de la raíz y elementos de soporte de los órganos dentarios se da en este estadio.

Concluido este proceso, permanecen latentes, indefinidamente, células epiteliales y mesenquimáticas de manera residual en los maxilares que pueden llegar a generar quistes y tumores odontogénicos (Gómez de Ferraris, 2009).



**Figura 8. Posibles orígenes epiteliales del ameloblastoma**, las flechas muestran los restos de la odontogénesis, sitio en donde se alojan células que pueden formar tumores o quistes odontogénicos (Sapp, 2004).

Dentro de los tumores odontogénicos benignos epiteliales se encuentra el ameloblastoma, que es el segundo tumor odontogénico más frecuente en México y será materia del presente estudio.

### 1.5. Ameloblastoma

El ameloblastoma es un tumor epitelial benigno de la cavidad oral, su término se deriva de la palabra Inglés "Amel", que significa esmalte y la palabra griega "*blastos*", que significa germen (Masthan, 2015).

El ameloblastoma fue descrito por primera vez por Cusack en 1827 y en 1868 Broca presentó el primer caso en la literatura científica; desde su inicio, despertó una gran controversia sobre su origen y sinonimia. Falkson en 1879 realizó la primera descripción histológica completa. En un principio se llamó "adamantinoma", término acuñado por Malassez en 1885 y modificado por Churchil en 1934, con el nombre que hasta hoy se le conoce (Díaz Díaz, 2014).

La Organización Mundial de la Salud define al ameloblastoma, como un tumor benigno pero localmente agresivo con una alta tendencia a la recurrencia el cual consiste en la proliferación de epitelio odontogénico con estroma fibroso (Banes, 2005) (Soto, 2010).

Hay varias teorías de su origen entre las que se encuentran las siguientes: que provienen de las células del epitelio de la lámina dental, las células del epitelio reducido del esmalte y las células del epitelio o sus remanentes de los quistes odontogénicos.

Alrededor del 80% de los ameloblastomas, se encuentran en la mandíbula siendo la región posterior la más afectada y el otro 20% restante se encuentra en el maxilar (Imran, 2016) (Ledesma-Montes, 2007).

El ameloblastoma se clasifica, según la OMS en:

- Sólido / multiquístico
- Extraóseo / periférico
- Ameloblastoma desmoplásico
- Uniquístico

## 1.6. Ameloblastoma uniuquístico

El ameloblastoma uniuquístico (AU) representa una variante del ameloblastoma, y se refiere a aquellas lesiones quísticas que muestran las características clínicas y radiológicas de un quiste odontogénico, pero histológicamente presentan epitelio de revestimiento de tipo ameloblástico (Neville, 2015).

Este tumor fue descrito por primera vez por Robinson y Martínez en 1997, de ahí que esta lesión fuera separada como una entidad distinta por ofrecer cuadros histogénéticos particulares (Avery, 2007).

Teóricamente, pueden surgir de los restos de lámina dental, del órgano de esmalte en desarrollo, del revestimiento epitelial de un quiste odontogénico o de las células basales de la mucosa oral (Neville, 2015).

### Características Clínicas

Los ameloblastomas uniuquístico representan del 10% al 46% de todos los ameloblastomas intraóseos; se observa con mayor frecuencia en pacientes jóvenes de entre 16 y 35 años de edad, siendo la edad media de 23 años; aproximadamente el 50% de estos son diagnosticados en la segunda década de vida (Neville, 2015).

Este tipo de lesiones suelen ser asintomáticas, sin embargo, en etapas avanzadas puede presentar aumento de volumen y ocasionar asimetría facial; en cuanto al sexo no hay predilección, sin embargo, se habla de una ligera prevalencia en el sexo masculino. El 90% se presenta en la mandíbula principalmente en zonas posteriores y el 10% afecta al maxilar.

Estos tumores generalmente se asocian a un órgano dentario no erupcionado. Presenta una alta recurrencia de 6.7% a 35.7% y el intervalo de recurrencia es de aproximadamente 7 años (Sapp, 2004) (Henry Loes, 2009).

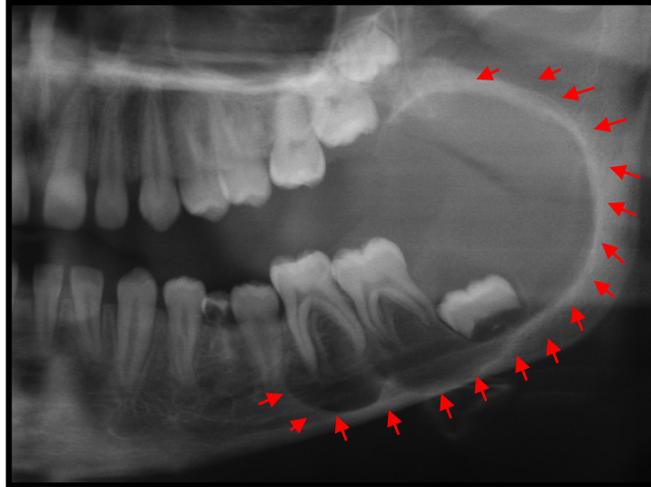


**Figura 9. Ameloblastoma uniuíquístico**, fotografía de un paciente femenino de 25 años de edad, que presenta aumento de volumen en el ángulo de la mandíbula de lado izquierdo.

#### Características Radiográficas

Esta lesión típicamente aparece como una zona radiolúcida circunscrita que rodea la corona de un órgano dentario no erupcionado principalmente la de un tercer molar impactado y en algunos casos, el área radiolúcida puede tener márgenes festoneados. Cuando la lesión se localiza en áreas de premolares, las raíces de los dientes adyacentes pueden estar desplazadas.

También se puede observar expansión de las corticales y resorción radicular. Radiográficamente, se deben considerar parámetros como: localización relación eventual con algún órgano dentario no erupcionado y la forma de la lesión (Neville, 2015).



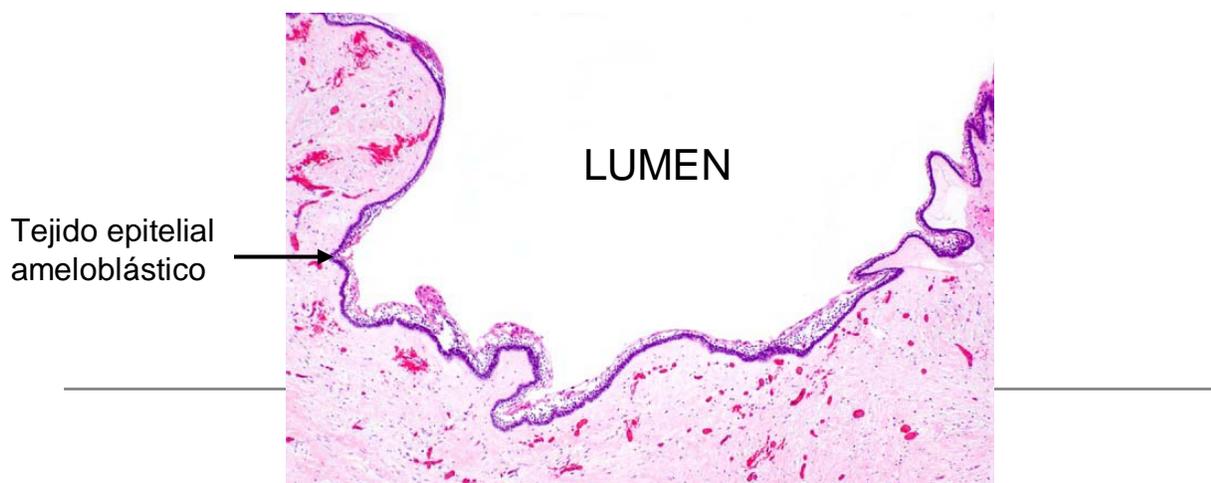
**Figura 10. Radiografía panorámica de ameloblastoma unicístico,** las flechas rojas muestra una zona radiolúcida bien delimitada y asociado a un tercer molar no erupcionado.

#### Características Histológicas

La lesión está formada por una cápsula de tejido conectivo fibroso, denso y uniformemente engrosado, que rodea la luz del quiste.

También presenta hiper cromatismo en los núcleos de las células basales, ordenamiento empalizado con polarización inversa de las células basales y vacuolización citoplasmática con espaciamiento intercelular del epitelio.

El revestimiento epitelial de la luz es de espesor uniforme; el resto de las capas se parecen a las células del retículo estrellado (Neville, 2015).

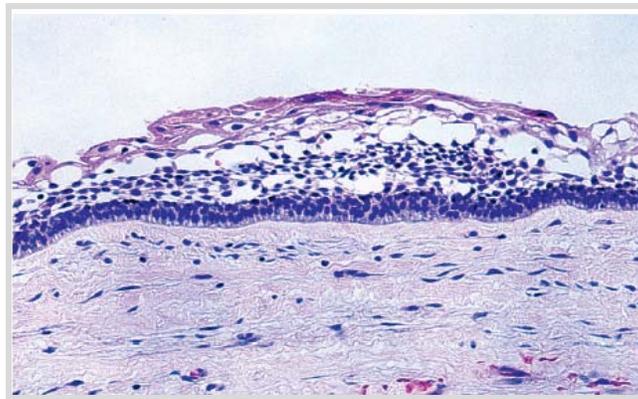


← Tejido conectivo

**Figura 11. Características histológicas generales del ameloblastoma uniuíquístico**, donde se puede observar tejido epitelial ameloblástico, tejido conectivo y el lumen (Wright, 2014).

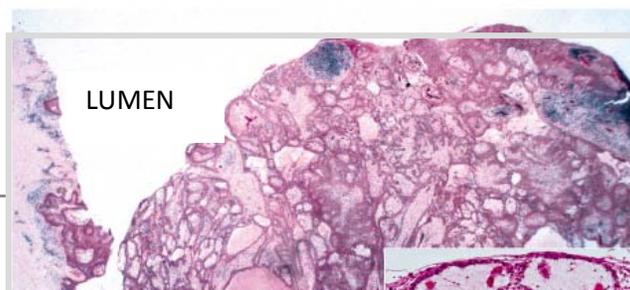
En general, se han descrito tres variantes histopatológicas del ameloblastoma uniuíquístico:

***Luminal:*** Se limita a la superficie del lumen del quiste, que contiene una pared compuesta por tejido fibroso y revestimiento total o parcial de epitelio ameloblástico. El revestimiento muestra una capa basal de células columnares o cuboidales con núcleos hiper cromáticos que muestran polaridad inversa y vacuolización citoplasmática. Y las células epiteliales superiores son ligeramente cohesivas y se asemejan al retículo estrellado.



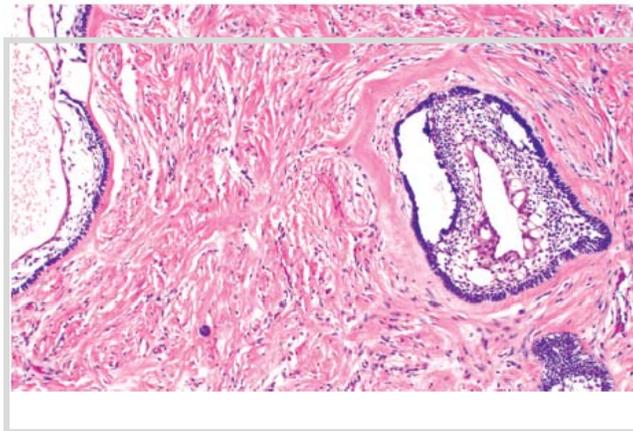
**Figura 12. Ameloblastoma uniuíquístico de tipo luminal**, microfotografía a 40X que presenta tejido epitelial ameloblástico semejante al retículo estrellado de la odontogénesis y tejido conectivo (Neville, 2015).

***Intraluminal:*** Se da cuando uno o más nódulos se proyectan desde el revestimiento epitelial hasta el lumen del quiste. Estos nódulos pueden ser relativamente pequeños o llenar en gran parte la luz del quiste.



**Figura 13. Ameloblastoma unicístico de tipo Intraluminal**, microfotografía a 10X que presenta nódulos que se proyectan al lumen de la lesión (Neville, 2015).

Mural o Intramural: En este caso, las islas de tejido ameloblástico están presentes en el interior del tejido conectivo (Neville Brad W, 2016).



**Figura 14. Ameloblastoma unicístico de tipo mural intramural**, muestra una fotografía a 10X donde se muestra una isla de tejido ameloblástico dentro del tejido conectivo de la lesión (Neville, 2015).

En general, los tratamientos que se aplicarán en cada uno de estos casos dependerán del comportamiento clínico y de su variante histológica. Y podrán ser los siguientes (Masthan, 2015).

- Curetaje

- Enucleación
- Resección en Bloque
- Resección segmental
- Hemimandibulectomía /hemimaxilectomía
- Aplicación de Nitrógeno líquido
- Seguimiento a largo plazo

Paralelo al proceso de formación y diferenciación, los ameloblastomas pueden generarse por la activación de células troncales. A continuación se explica la formación de tumores de células troncales donde posiblemente pudiese insertarse esta investigación.

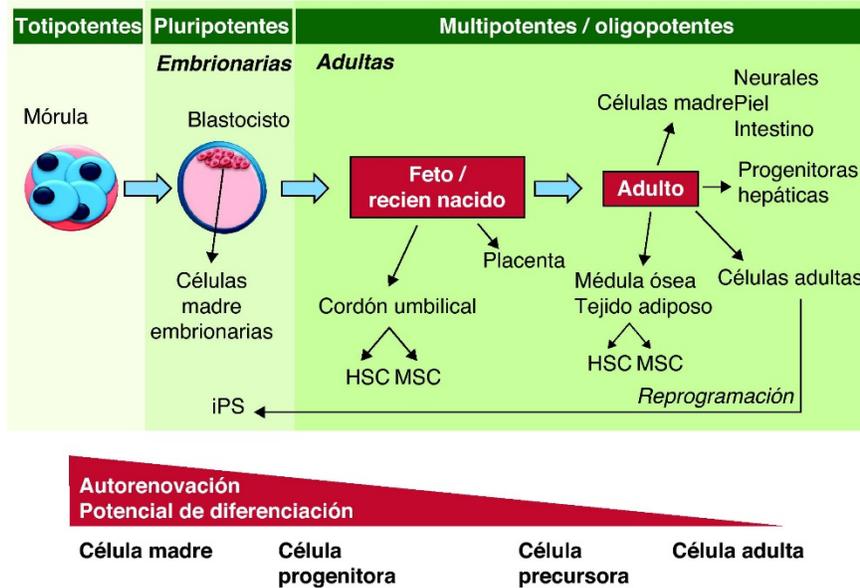
### 1.7. Células troncales o *Stem Cells*.

Las células troncales son células que se encuentran en todos los organismos pluricelulares y tienen la capacidad dividirse por mitosis durante largos períodos de tiempo o por tiempo indefinido y diferenciarse en diversos tipos de células especializadas; además de autorrenovarse para producir más células troncales (García-Gómez, 2010)

La diferenciación es el proceso por el cual estas células se transforman en tipos celulares concretos. Este proceso es el resultado de señales que aparecen tanto en el interior de la célula como en el medio que la rodea. Las señales internas son controladas por genes de la propia célula. Las señales externas incluyen sustancias secretadas por otras células.

Las células troncales pueden clasificarse según su potencial de diferenciación en:

- Totipotenciales: Provenientes del embrión hasta el estadio de mórula, capaces de dar lugar a tipos celulares derivados de las tres capas germinales embrionarias y formar membranas extraembrionarias.
- Pluripotenciales: Derivan de la masa celular interna del blastocisto, tienen la habilidad de diferenciarse a tejidos procedentes de las tres capas embrionarias ectodermo, mesodermo y endodermo.
- Multipotenciales: Capaces de diferenciarse a distintos tipos celulares de una manera mucho más limitada que las embrionarias. Entre ellas se encuentran las células madre adultas y un ejemplo de estas son las células mesénquimales.
- Unipotenciales: Células ya comprometidas con un linaje celular que poseen una limitada o nula capacidad de autorrenovación y sólo se diferencian a un tipo celular determinado (Mata-Miranda, 2013) (Farfán L. F., 2013)



**Figura 15. Clasificación de las células troncales,** se clasifican por su origen en embrionario o adultas.

Las células troncales pluripotenciales comparten diversas propiedades en común con las células cancerosas como son: la autorrenovación, proliferación y actividad en la telomerasa. A continuación se detallan las características de las células troncales:

División celular asimétrica y simétrica: Las células troncales son definidas por su capacidad de producir una célula troncal y a una célula diferenciada mediante el proceso llamado la división asimétrica. La división simétrica se presenta cuando el número de células troncales se mantiene constante y en cada ciclo una célula troncal pueda dar lugar a dos células troncales hijas.

Autorenovación: La longitud de los telómeros es un requisito básico para el mantenimiento del potencial de replicación de las células somáticas y su mantenimiento permite una limitada autorrenovación de las células troncales (Teichroeb, 2016)

Pluripotencialidad: Es la capacidad que tiene una célula troncal de diferenciarse en otro tipo de célula. Se han identificado tres factores de transcripción como factores reguladores de la pluripotencialidad: 1) proteína de unión octamérica-4 (Oct4), 2) SRY-box que contiene el gen 2 (sox-2) y 3) homeobox Nanog (Nanog) (Mata-Miranda, 2013).

## Factores de transcripción que mantienen la pluripotencialidad

Los factores de transcripción Oct4, Sox2 y Nanog han sido identificados como factores de transcripción celulares que mantienen la autorenovación de células troncales pluripotentes.

El factor Oct4 (*Octamer 4* también llamado Oct3/4 y Pou5f1) es un factor de transcripción con homeodominio que pertenece a la familia de proteínas POU. Oct4, junto con Sox2, son los únicos factores necesarios para la reprogramación de células adultas en células pluripotentes, y también se ha demostrado su importancia para mantener la capacidad de pluripotencia y autorrenovación de las células (Guo, 2011).

Oct4 se encuentra unido a un gran número de genes diana implicados en el mantenimiento de la pluripotencialidad. La actividad biológica de Oct4 depende en gran medida de sus niveles de expresión. Así, una reducción de Oct4 en células humanas conduce a la inducción de marcadores de mesodermo y endodermo, mientras que niveles altos de Oct4 inducen marcadores de endodermo (Nichols, 1998) (Ashok, 2009)

En el caso de Nanog, es un factor de transcripción cuyo dominio de unión a DNA es un homeodominio, al igual que Oct4. Nanog fue identificado por su capacidad de mantener células creciendo. La sobreexpresión de Nanog aumenta la capacidad de autorrenovación y del mantenimiento de un estado indiferenciado de la célula. Consistentemente células deficientes en Nanog se diferencian hacia endodermo (Booth, 2004) (Mitsui, 2003) (Hart, 2004)

El factor Sox2 es un miembro de la familia de factores de transcripción Sox (SRY-related HMG box), caracterizados por tener un dominio de unión a DNA del tipo HMG (High Mobility Group). Experimentos de inactivación génica en ratones demuestran que Sox2 es necesario para el desarrollo embrionario y para prevenir la diferenciación de algunas células. La reducción de la expresión de Sox2 en células humanas puede conducir a la pérdida del estado pluripotente (Lei, 2014) (Pan, 2016)

### 1.8. Células troncales mesénquimales

Las células troncales mesénquimales fueron caracterizadas por primera vez por Alexander Friedenstein y colaboradores en 1974. Aunado a este descubrimiento en los años 60 y 70 se deja al descubierto la potencialidad de las células mesénquimales descritas como células fibroblastoides. Estas observaciones

muestran que se pueden diferenciar a distintos tipos celulares como: osteoblastos, fibroblastos, mioblastos, condrocitos y adipocitos. No obstante, numerosos estudios han sugerido que algunas poblaciones de células adultas o de tejidos post-natales pueden poseer un potencial de diferenciación que va más allá de los tipos celulares de su tejido de origen o residencia, fenómeno que se ha denominado plasticidad

Las primeras células troncales mesénquimales (MSC: Mesenquimal stem cells) se extrajeron de la médula ósea, siendo la fuente más común de obtención de estas células en la actualidad. Los recientes estudios sobre células troncales mesénquimales muestran que también se pueden aislar a partir de varios tejidos adultos, como sangre periférica, cordón umbilical, tejido neural y adiposo, músculo, piel, páncreas, hígado, retina y folículos pilosos. Asimismo existen estudios donde las células troncales mesénquimales se aíslan a partir de distintas partes del órgano dental como extractos de ligamento periodontal, de los ápices y de pulpas de órganos dentarios exfoliados

Debido a la falta de marcadores específicos para las células mesénquimales y la heterogeneidad de sus poblaciones, la Sociedad Internacional de Terapia Celular (International Society for Cellular Therapy) ISCT estableció en 2006 tres criterios mínimos que deben cumplir in vitro las células aisladas de tejidos mesénquimales para ser consideradas como células troncales mesénquimales:

1. En condiciones de cultivo estándar, estas células se adhieren a las paredes de la caja de cultivo.
2. Patrones de expresión de antígenos de superficie específicos: positivos para los antígenos CD105, CD90 y CD73 y negativos a CD34 y CD45.
3. Multipotencialidad demostrable, esta característica se refiere a la capacidad de diferenciación hacia los linajes osteogénico, condrogénico y adipogénico

Además de lo propuesto por ISCT, también se debe tener en cuenta dos aspectos adicionales para clasificarlas como células troncales mesénquimales: que las CMM realicen procesos de autorrenovación, es decir, durante la división celular solo una de las células hijas debe iniciar programas de diferenciación celular y que sean capaces de desarrollar «plasticidad clonogénica» o diferenciación hacia tejidos de diferentes capas embrionarias como ectodermo y endodermo

#### 1.9. Células troncales del cáncer

Hace aproximadamente 150 años, Rudolph Virchow propuso una teoría; que toda célula proviene de otra célula y sugirió que las células cancerosas debían derivar de otras células. Su discípulo Julius Cohnheim desarrollaría posteriormente la idea y hoy es reconocido como el autor de la teoría de la células embrionarias durmientes o residuales, basándose en la gran similitud en la forma de proliferación de ambos tipos de tejido, aunque naturalmente en el cáncer la diferenciación se alteraba (Huntly, 2005)

La teoría de células troncales de cáncer propone dos conceptos principales: 1) los cánceres que surgen a partir de células troncales que están presentes en los tejidos de los niños y las personas adultas maduras; 2) que los cánceres se componen de los mismos tipos de células como son los tejidos normales

En esta teoría se ha propuesto que las células troncales del cáncer poseen características de células troncales normales. Los tumores también muestran una organización jerárquica de células que se asemejan a la jerarquía celular en la homeostasis de los tejidos normales, con la excepción de que las células que amplifican el tránsito en el tumor no experimentan diferenciación celular normal pero continúan proliferando

Las células troncales cancerígenas (CMC), también llamadas «células iniciadoras de cáncer», son células con capacidad de autorrenovación y diferenciación de forma indefinida, siendo esto último lo que les confiere la capacidad de causar crecimiento tumoral. Las CMC pueden originarse tanto de células troncales normales como de células diferenciadas que han adquirido características de células troncales normales.

Las CMC tienen varias características que les confieren capacidad oncogénica; entre ellas están la acumulación de mutaciones a lo largo de su vida, proliferación indefinida, resistencia a apoptosis, evasión de señalización anticrecimiento, expresión activa de telómerasa, destrucción inmune e incremento de motilidad celular, la cual le da la propiedad de metástasis. Vale la pena volver a mencionar que una de las características de la división celular que les da la capacidad de autorrenovación indefinida es la división simétrica; es decir, el origen de dos células madre a partir de la división de una célula madre progenitora.

Además del papel crucial de las células troncales en el desarrollo embrionario y la homeostasis de los tejidos adultos, sus poderosas propiedades mitóticas pueden participar potencialmente en la formación de tumores (Huntly, 2005).

#### 1.10. Transición Eitelio-Mesénquimal o MET

El concepto inicial de Transición Eitelial-Mesénquimal (MET) lo introdujo Elizabeth Hay, en 1967 cuando se percató de que en el desarrollo embrionario, se

presentan una serie de eventos altamente coordinados y específicos, que definen la transición entre células epiteliales y mesénquimales (Benedetti, 2015).

La transición epitelial-mesénquimal es un proceso biológico en el que las células epiteliales polarizadas que normalmente interactúan con su membrana basal pierden su organización y las uniones intercelulares. En estas células se reprograma la expresión génica y se desarrollan múltiples cambios bioquímicos que las capacitan para adquirir un fenotipo mesénquimal, esto produce cambios en los programas de señalización que definen la forma y organización del citoesqueleto para tener la capacidad migratoria aumentada, invasividad, resistencia a la apoptosis y producción elevada de componentes de la matriz extracelular.

Primero se da la degradación de la membrana basal, seguida de la formación de células mesénquimales que pueden migrar en forma individual para invadir el tejido circundante y finalmente desplazarse hasta sitios distantes.

En el caso de las uniones intercelulares adherentes, la proteína E-cadherina se comienza a desensamblar liberándose de la membrana, ya que es degradada. Posteriormente se separan los desmosomas induciendo la fragilidad de las uniones adherentes y por último se degrada la membrana basal. En el caso de las proteínas de la superficie celular como la E-cadherina y las integrinas, que median la conexión entre células vecinas y con la membrana basal, respectivamente, son reemplazadas por N-cadherina e integrinas (Benedetti, 2015).

Por otro lado, la MET tiene lugar en tres contextos biológicos distintos, con diferentes consecuencias funcionales:

- MET tipo 1 : asociada con procesos de desarrollo
- MET tipo 2 : asociada con procesos de cicatrización y regeneración tisular
- MET tipo 3: asociada a progresión tumoral.

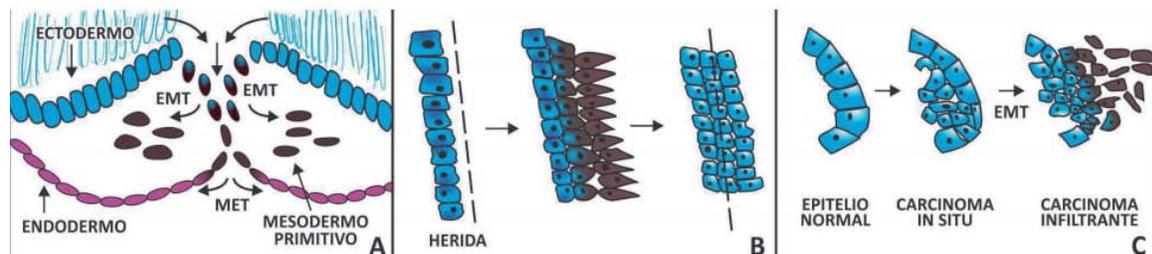
El tipo 1 ocurre durante el desarrollo embrionario, asociado con la formación del embrión y el desarrollo de órganos, generando diversos tipos celulares y células mesénquimales primitivas que también tienen el potencial para llevar a cabo el

proceso inverso, o sea, la transición mesénquimal-epitelial (MET), para generar un epitelio secundario

El tipo 2 se asocia con la cicatrización de las heridas, la regeneración tisular y la fibrosis de órganos; se inicia con la formación de fibroblastos y otras células para reconstruir el tejido dañado. Está asociado con inflamación y se detiene cuando esta desaparece, o lleva a fibrosis en caso de inflamación persistente, o a destrucción del órgano.

El tipo 3 consiste en el cambio de células cancerosas de origen epitelial en células tumorales con características mesénquimales capaces de invadir y diseminarse llevando a la formación de metastasis.

**Figura 16. Tipos de Transición Epitelio-Mesénquimal (MET).** A) Asociada al



desarrollo embrionario, B) asociada a la cicatrización y C) asociada con la progresión tumoral.

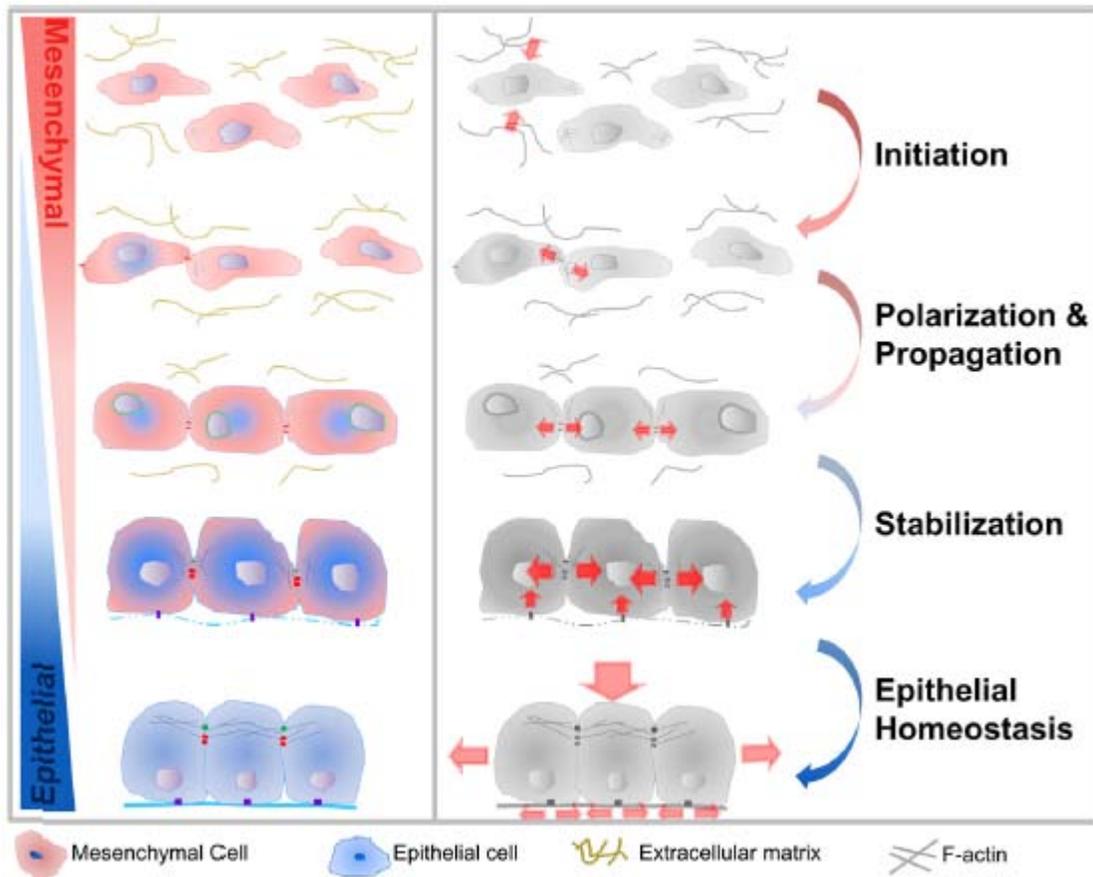
### Transición epitelial-mesénquimales asociada a progresión tumoral y metástasis

En su etapa inicial, los tumores odontogénicos se caracterizan por el aumento en la proliferación de células epiteliales. En este contexto no ocurre la inducción coordinada y ordenada de una MET, sino que, en su lugar, las señales ambientales altamente variables, junto con la heterogeneidad genética del tumor, pueden llevar a diversos grados de plasticidad epitelial y a la reactivación de programas migratorios asociados con el desarrollo lo que induce la de migración celular individual o colectiva

Esto sugiere que la MET no es simplemente un mecanismo de diseminación local de las células tumorales a partir de un sitio primario, sino que se induce un programa con las propiedades necesarias para la progresión tumoral.

Por otra parte, el hecho de que las células tumorales que migran y se establecen en un sitio distante formando un tumor secundario sean histopatológicamente similares a sus progenitoras en el tumor primario implica que, además del papel facilitador de la MET en la diseminación tumoral y posiblemente en la metástasis

La MET se inicia en un contexto en el que juegan un papel principal los factores de crecimiento y sus receptores, moléculas relacionadas con la matriz extracelular y varias vías de señalización celular. En diversos estudios llevados a cabo en líneas celulares, se han identificado numerosos factores de crecimiento como inductores de la MET incluyendo: el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), el factor de crecimiento epidérmico, Wnt, Snail/Slug, Twist y Six1



**Figura 17. Transición epitelio-mesénquima (MET).** Etapas de la TEM en células tumorales premetastásicas (Maira A Moreno Castillo, 2016)

### 1.11. Antecedentes directos

Silva F.P y colaboradores en 2016, evaluaron la expresión de CD90 y P75NTR en 10 ameloblastomas multiquísticos y 7 uniuístico, los cuales fueron sometidos a ensayos de inmunohistoquímica. Donde observaron inmunotinción de CD90 en todos los ameloblastomas multiquísticos, en el citoplasma de los fibroblastos y las células endoteliales vasculares del estroma tumoral, cerca del epitelio odontogénico neoplásico. En el ameloblastoma uniuístico observaron con inmunotinción discreta de CD90 en el citoplasma del tejido capsular conectivo tumoral sin proximidad evidente al epitelio neoplásico. La tinción de CD90 fue significativamente mayor en el ameloblastoma multiquístico que en el uniuístico (Silva, 2016).

Hande y colaboradores en 2011, realizaron un estudio por medio de inmunohistoquímica para evaluar la expresión de CD105 en el ameloblastoma sólido multiquístico (SMA) y el ameloblastoma uniuístico (UA). Evaluaron 20 SMAs, 15 UAs y 10 muestras normales de la mucosa oral. Donde CD105 se expresó de manera positiva en los vasos sanguíneos que fueron claramente identificados por su citoplasma color marrón. Esto puede reflejar el hecho de que aunque el comportamiento clínico, histopatológico y el pronóstico de SMA y UA son diferentes, el proceso de la angiogénesis no lo es. El desarrollo de tumores requiere suministro de sangre para proporcionar oxígeno, metabolitos y factores de crecimiento necesarios para la proliferación celular por lo que el desarrollo de vasos podría tener relevancia significativa en el desarrollo de estos tumores scular del mixoma odontogénico basado en la expresión de CD105 por medio de Inmunohistoquímicas (Hande, 2011)

González Galván y colaboradores en 2016, evaluaron la cuantificación de la densidad microvascular del mixoma odontogénico y folículos dentales basados en la expresión de CD105 por medio de Inmunohistoquímica. En este estudio incluyeron 18 mixomas y 18 folículos dentales como controles. Los folículos dentales presentaron significativamente una mayor densidad microvascular comparado con el mixoma odontogénico. La expresión de CD105 en mixomas odontogénicos y folículos dentales mostro la falta de expresión en los vasos sanguíneos maduros (del Carmen González-Galván, 2016).

Juuri y colaboradores en 2013, evaluaron en ameloblastomas sólidos (3 foliculares y 2 plexiforme) la expresión de Sox-2 por medio de inmunohistoquímica. Donde demostraron que Sox2 se expresa en las células epiteliales de los ameloblastomas plexiformes y foliculares, en la lámina dental de los molares

primarios en desarrollo, en la lámina dental fragmentada asociada a terceros molares y en el epitelio de crecimiento de la cara posterior de los ratones. Sin embargo, Sox2 no se observó en la vaina epitelial de Hertwing o en las células epiteliales de los restos de Malassez que cubren las raíces completadas. (Juuri, 2013).

Lei y colaboradores en 2014, realizaron un estudio en el carcinoma ameloblástico por medio de inmunodetección para observar la expresión de Sox-2 y otras proteínas, donde observaron 16 casos que detectaron que la expresión de SOX2 esta correlacionada con la agresividad de las lesiones tumorales, siendo menos expresadas y tomadas con precaución en caso de expresarse en quistes dentígeros (Lei, 2014).

Por otro lado, Guo Y et al en 2011, examinaron 42 casos de glioma humano y analizaron la expresión de Oct4, Sox2 y Nanog, mediante inmunohistoquímica, transcripción inversa acoplada a la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) y western blot. En dicho estudio encontraron una correlación positiva entre la expresión de los niveles de Oct4, Sox2 y Nanog y la malignidad del tumor. La inmunohistoquímica mostró que Oct4 y Nanog se expresaron tanto en los núcleos como en el citoplasma de las células de glioma, mientras que Sox2 se expreso sólo en los núcleos. Cuando se realizó una doble tinción de inmunofluorescencia se reveló que la mayoría de las células Oct4-positivo coexpresaron Sox2 y Nanog . Y más del 50% de las células Oct4-positivos coexpresaron marcadores putativos de CSC CD133 y Nestin. Por otra parte, algunas células exhibieron Oct4 y Nanog dentro del citoplasma, pero la frecuencia de células positivas no se correlacionaron con la malignidad del tumor

## **2. HIPÓTESIS**

Dadas las características histológicas del ameloblastoma uniuqístico donde las células epiteliales superiores son ligeramente cohesivas y se asemejan al retículo estrellado de la odontogénesis, se ha sugerido que provienen de células formadoras de los órganos dentarios, sin embargo, creemos que de ser así, estas lesiones pueden presentar proteínas de pluripotencialidad: Nanog, Sox-2 y Oct4.

## **3. OBJETIVO**

### **3.1. Objetivo general**

En los ameloblastomas uniuíquisticos evaluar la presencia/ausencia de marcadores de pluripotencialidad como son: Nanog, Sox-2 y Oct3/4.

### 3.2. Objetivos específicos

- Determinar la presencia de proteínas de genes de pluripotencialidad (Nanog, Sox-2 y Oct3/4) en los ameloblastomas uniuíquisticos analizados.
- En los ameloblastomas uniuíquisticos analizados determinar la presencia de proteínas de genes de pluripotencialidad y de células mesénquimales.
- Cuantificar la presencia de proteínas de genes de pluripotencialidad de las muestras analizadas.

## 4. MATERIAL Y MÉTODO

### 4.1. Tipo de estudio realizado

Estudio experimental descriptivo transversal.

#### a) Criterios de Inclusión

- Muestras que correspondan con el diagnóstico de ameloblastoma uniuíquístico en sus diferentes tipos histológicos según la clasificación del 2017
- Muestras que hayan sido atendidas en el servicio de Cirugía Maxilofacial del Hospital Juárez de México

#### b) Criterios de Exclusión

- Muestras que dispongan de información clínica incompleta para la investigación
- Para las pruebas de Inmunohistoquímica, las muestras dispongan de escaso tejido o no idóneo para la investigación.

### 4.2. Variables de estudio

- Sexo: El sexo del paciente será determinado por el registro de la ficha de biopsia de cada individuo: femenino o masculino.
- Edad: La edad se expresará en años y se distribuirá por décadas
- Tipo de Lesiones: Corresponderá según los criterios diagnósticos histopatológicos para ameloblastoma uniuíquístico según la clasificación del 2017.

## 5. PROCEDIMIENTO

Las muestras analizadas en este estudio, se obtuvieron del Departamento de Cirugía Maxilofacial del Hospital Juárez de México en un periodo de 2012 a 2016. El estudio se realizó de acuerdo al protocolo aprobado por el Comité de Ética y bioseguridad de la Institución bajo el número de registro HJM1996/11.0308.

### 5.1. Obtención de muestras

Las muestras se obtuvieron inmediatamente después de que el tumor fue extirpado y previamente diagnosticado mediante biopsia por un especialista en diagnóstico histopatológico del Hospital Juárez de México, para ser lavadas posteriormente con solución fisiológica de cloruro de sodio al 0,9% (p/v), con el fin de eliminar sangre y residuos contaminantes.

Para el análisis histológico, las muestras se fijaron en Formol al 10% y se procesaron con la técnica convencional para inclusión en parafina.

### 5.2. Tinción con Hematoxilina y Eosina (HyE)

Posteriormente se realizaron cortes de 3 µm de espesor con un micrótopo rotatorio; obteniendo 7 cortes de cada muestra, 6 para analizar cada anticuerpo utilizado en las inmunodetecciones (Nanog, Sox-2, Oct4, CD73, CD90 y CD105) y 1 para tinción de Hematoxilina y Eosina; estos cortes fueron montados en porta objetos previamente silanizados y codificados. Después se realizó el desparafinado de las muestras mediante incubación durante 20 minutos a 60°C en estufa.

Después de que se realizó la hidratación se colocó en la solución de Hematoxilina por 5 minutos, a continuación se lavó con agua corriente y se realizaron de 15 a 20 baños en solución Scott (3.5 g, de bicarbonato de sodio bicarbonato, 20 g de sulfato de magnesio, 1 L de agua destilada) y después se colocó en agua corriente.

A continuación se colocó en la solución de Eosina por 8 minutos y se continuó con la deshidratación (VER ANEXO 1)

Por último se montaron con Entellan (medio de montaje para preparaciones), y se dejaron secar por una noche a temperatura ambiente. Y se observaron al microscopio óptico (Zeiss Lab. A1 Axio).

### 5.3. Inmunodetección *In situ*

Con los cortes previamente realizados se prosiguió con el desparafinado e hidratación con la técnica mencionada para la tinción HyE. Después las muestras se colocaron en un vaso de coplin y se lavaron con agua destilada. A continuación se realizó la recuperación antigénica con buffer de citratos con pH 6.2; con una autoclave para microondas. Después se realizó un lavado con agua destilada y se colocó la solución de bloqueo y permeabilidad durante 5 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se realizaron 3 lavados con PBS 1X durante 5 minutos cada uno.

A continuación se colocaron las muestras en el Sistema Cover Plate y se les colocó el anticuerpo primario con las diluciones indicadas en la Tabla 3 y se dejó incubar durante 45 minutos. Después se realizó un lavado PBS 1X durante 5 minutos.

**TABLA 3** Diluciones de los anticuerpos empleados

<b>Anticuerpo</b>	CD73	CD90	CD105	Nanog	Sox-2	oct-04
<b>Dilución</b>	1:100	1:300	1:200	1:200	1:200	1:200

Posteriormente a las muestras se les añadió dos gotas de anticuerpo secundario y se dejó incubar durante 20 minutos, después se realizó un lavado con PBS 1X durante 5 minutos. En seguida se colocaron 2 gotas de solución HRP y se dejó incubar durante 20 minutos. Finalmente, se realizó un lavado PBS 1X durante 5 minutos.

Del sistema Cover Plate se retiraron las muestras y se añadió la enzima peroxidasa (tetrahidrocloruro de diaminobencidina o DAB) y se observó en el microscopio óptico. Por último se lavó con agua corriente y se realizó la

contratinción con Hematoxilina durante 5 minutos, seguido de un baño con alcohol ácido, se lavó con agua corriente hasta eliminar el color, 2 o 3 baños con carbonato de Litio y se lavó con agua corriente. Para finalizar se realizó la deshidratación como se mencionó para tinción de HyE y se montó con Entellan. Por último se observaron al microscopio óptico.

#### 5.4. Recolección de datos

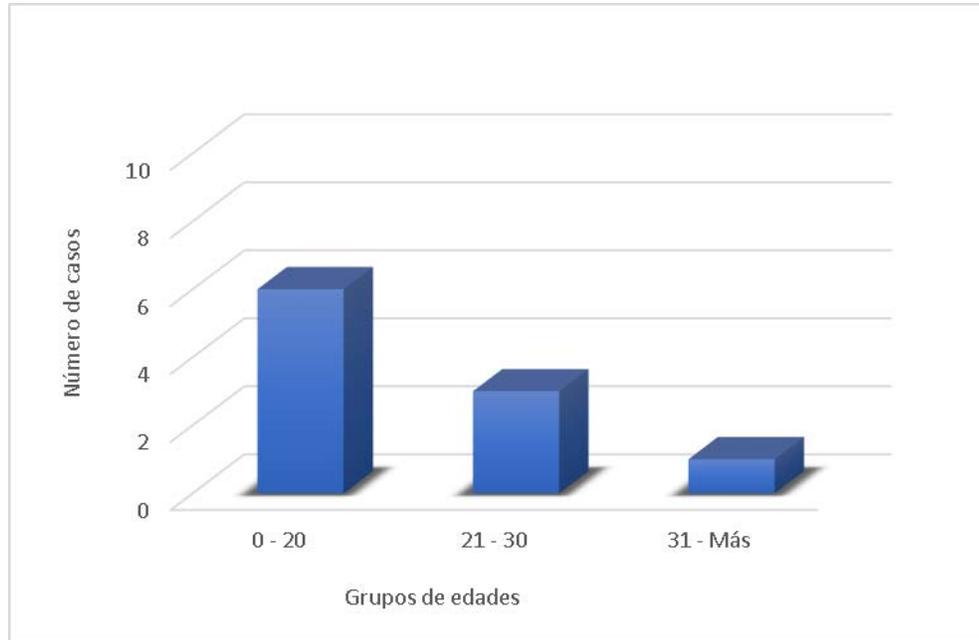
A cada muestra obtenida se le realizaron 6 ensayos inmunohistoquímicas y de cada muestra por cada anticuerpo se tomaron 20 microfotografías a 40X a través de un microscopio óptico, es decir, de un total de 1200 fotos; 20 por cada anticuerpo, a las cuales se les realizó el conteo de células de manera manual con ayuda del programa Image J. La información obtenida fue recopilada en una planilla del programa Microsoft Office: *Microsoft Excel 2007*.

La presencia y cuantificación de células marcadas positivamente a la inmunodetección se determinó contabilizando visualmente el número de células positivas (color marrón) en relación al total de células del campo.

## 6. RESULTADOS

Del Hospital Juárez de México del servicio de Cirugía Maxilofacial se obtuvieron 10 muestras de ameloblastoma unicuístico durante el período de 2009- 2016, con la historia clínica de los pacientes.

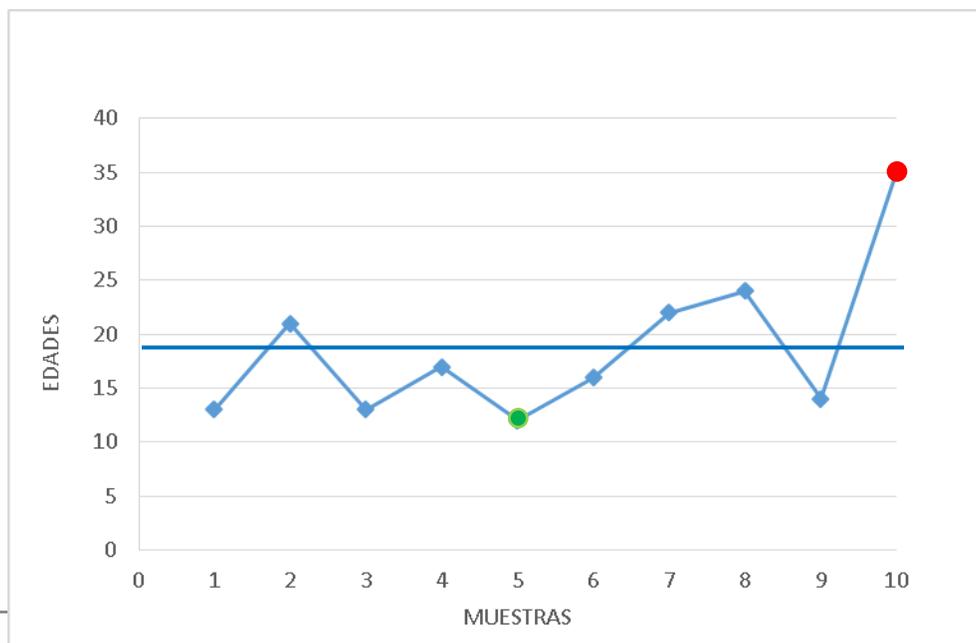
La figura 17 contiene la información sobre la prevalencia de los ameloblastoma unicuísticos analizados en este trabajo. La población total está clasificada por grupos de edades, y el mayor número de casos se presento durante la primera y segunda década de vida.



Muestra realizada a 10 pacientes durante el período del 2009 al 2016 en el Hospital Juárez de México.

**Figura 17. Prevalencia de edad del meloblastoma uiquístico, en las muestras analizadas.**

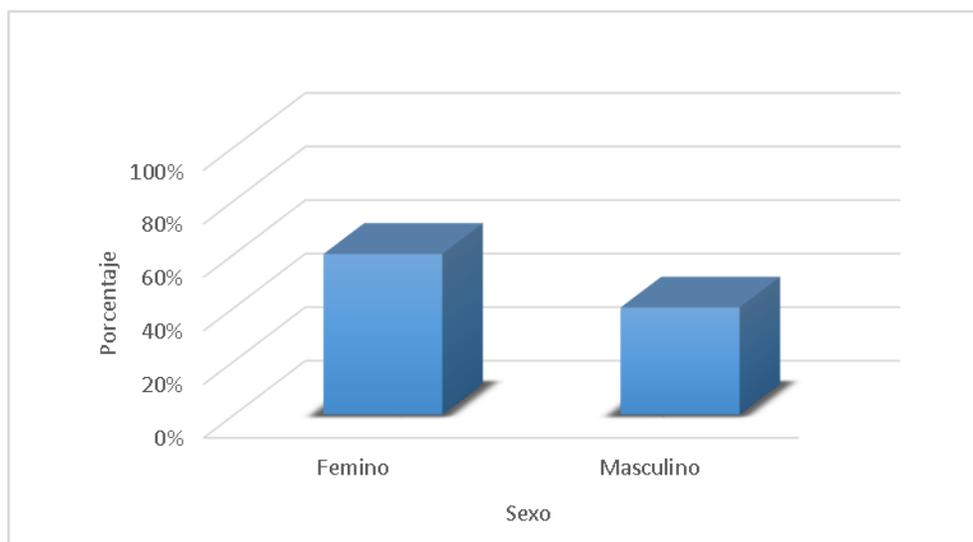
La figura 18 contiene información del rango de edad en el que se presentó el meloblastoma uiquístico, que fue de 12 años a los 35 años de edad con una media de 18.7 años de edad con base a todas las edades registradas.



Muestra realizada a 10 pacientes durante el período del 2009 al 2016 en el Hospital Juárez de México.

**Figura 18. Edad promedio del ameloblastoma uniuístico**, en que se presento en el Hospital Juárez de México durante el período de 2009- 2016. Edad mínima (●), edad máxima (●) y edad promedio (—).

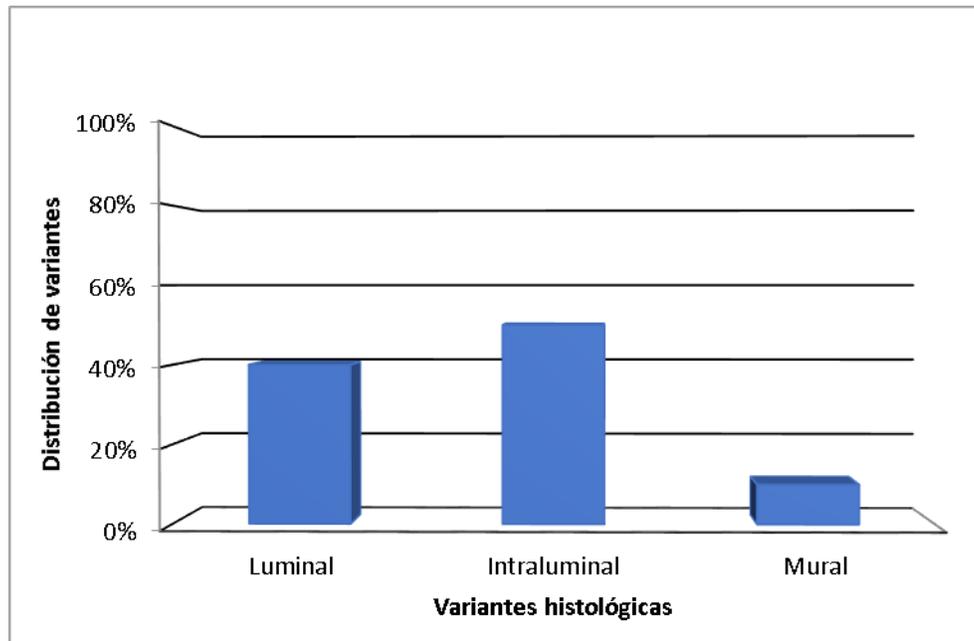
La figura 19 contiene información de la prevalencia del ameloblastoma uniuístico en cuanto al sexo, donde domino el sexo femenino con un 60% sobre el sexo masculino con un 40%.



Muestra realizada a 10 pacientes durante el período del 2009 al 2016 en el Hospital Juárez de México.

**Figura 19. Prevalencia de Ameloblastoma uniuístico según el sexo.**

La Figura 20 muestra información sobre la frecuencia de las variantes histológicas del ameloblastoma uniuquístico según la clasificación de los tumores odontogénicos de la OMS del 2005. El tipo histológico Luminal es el más frecuente y representa el 40%, el Intraluminal con 50% y el Mural con 10%; para determinar que el más frecuente en las muestras analizadas fue el tipo histológico Intraluminal.



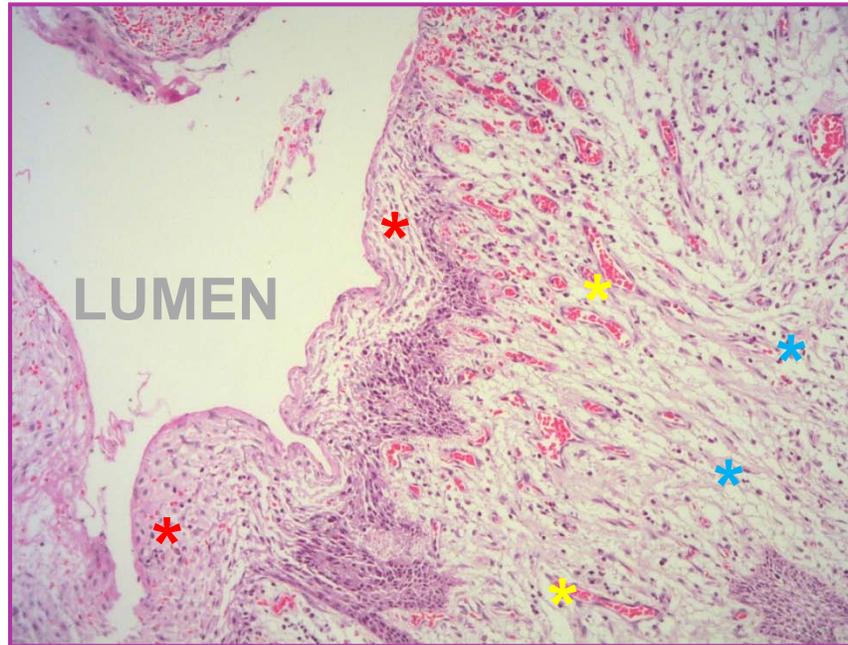
Muestra realizada a 10 pacientes durante un periodo del 2009 al 2016 en el Hospital Juárez de México.

**Figura 20. Frecuencia de las variantes histológicas del ameloblastoma uniuquístico**

#### TINCIÓN DE HEMATOXILINA Y EOSINA (HyE)

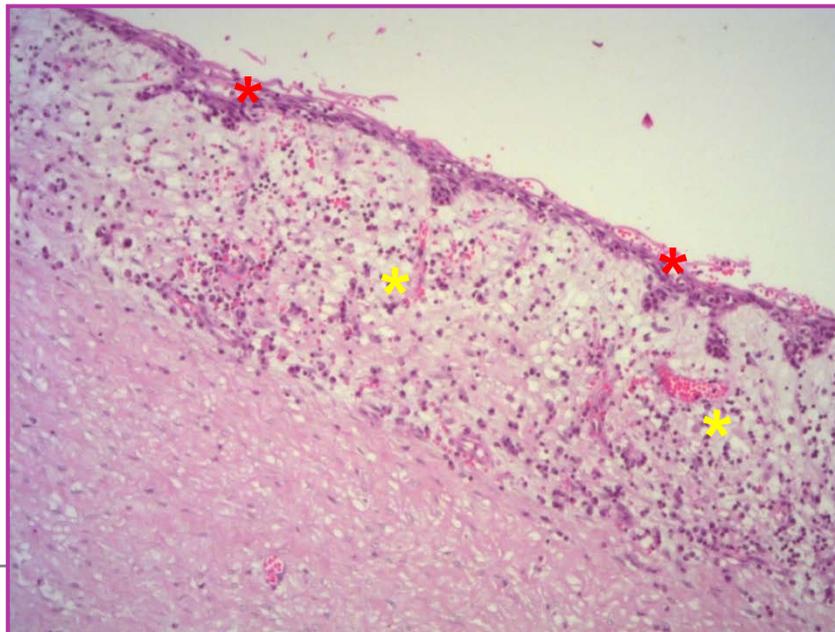
En los cortes histológicos de los ameloblastomas uniuquísticos analizados, se observó revestimiento epitelial ameloblástico que muestra una capa basal de células cuboidales con núcleos hiper cromáticos así como polaridad inversa y vacuolización citoplasmática, en el tejido se encontró que las células epiteliales superiores son ligeramente cohesivas y se asemejan al retículo estrellado de células embrionarias que participaron en la Odontogénesis.

En la figura 21 se observa un ameloblastoma uniuquístico de tipo luminal, ya que se limita a la superficie del lumen del quiste, que contiene una pared compuesta por revestimiento epitelial ameloblástico así como también muestra una capa de basal con polaridad inversa y las células superiores son ligeramente cohesivas y se asemejan al retículo estrellado de la etapa de campana de la odontogénesis. Por último en el tejido conectivo se observó la presencia de vasos sanguíneos que rodea la luz del quiste tejido epitelial ameloblástico rodeando la luz.



**Figura 21. Ameloblastoma uniuquístico de tipo Luminal** (aumento de 40x), la muestra fue teñida con hematoxilina y eosina, el tejido epitelial ameloblástico (\*), tejido conectivo (\*) con vasos sanguíneos (\*).

En la figura 22 se observa un ameloblastoma uniuquístico de tipo luminal ya que el tejido epitelial se limita a la superficie del lumen del quiste, también se observa tejido conectivo con presencia de vasos sanguíneos.

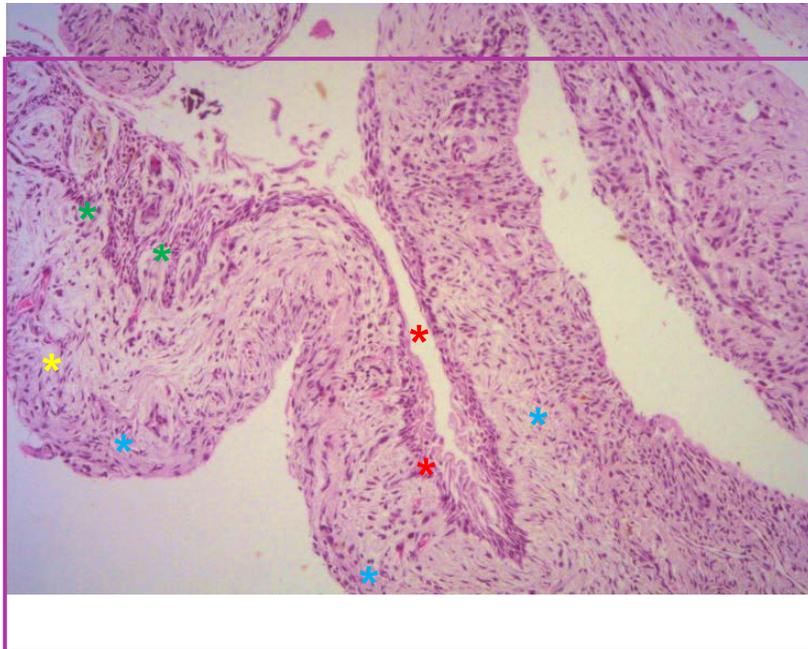


\*

\*

**Figura 22. Ameloblastoma uniuíquístico de tipo Luminal** con aumento de 40x, las muestras fueron teñidas con hematoxilina y eosina, el tejido epitelial ameloblástico (\*), tejido conectivo (\*) con vasos sanguíneos (\*).

En la figura 23 se observa un ameloblastoma uniuíquístico de tipo intraluminal, ya que contiene nódulos que se proyectan desde el revestimiento epitelial ameloblástico hasta el lumen del quiste y se encuentran en diversos tamaños que abarcan gran parte del lumen.



**Figura 23. A meloblastoma u niquístico de tipo Intraluminal** con aumento de 10x, las muestras fueron teñidas con hematoxilina y eosina, el tejido epitelial ameloblástico (\*), tejido conectivo (\*) con vasos sanguíneos (\*) y nódulos (\*).

En la figura 24 se observa un ameloblastoma uniuístico de tipo Mural, porque en este caso, las islas de tejido ameloblástico están presentes en el interior del tejido conectivo



**Figura 24. Ameloblastoma uniuístico de tipo Mural**, con aumento de 10x, las muestras fueron teñidas con hematoxilina y eosina, el tejido epitelial ameloblástico (\*), tejido conectivo (\*) con vasos sanguíneos (\*) e islas de tejido ameloblástico(\*).

Cuantificación de presencia de proteínas: Nanog, Sox2 y Oct4

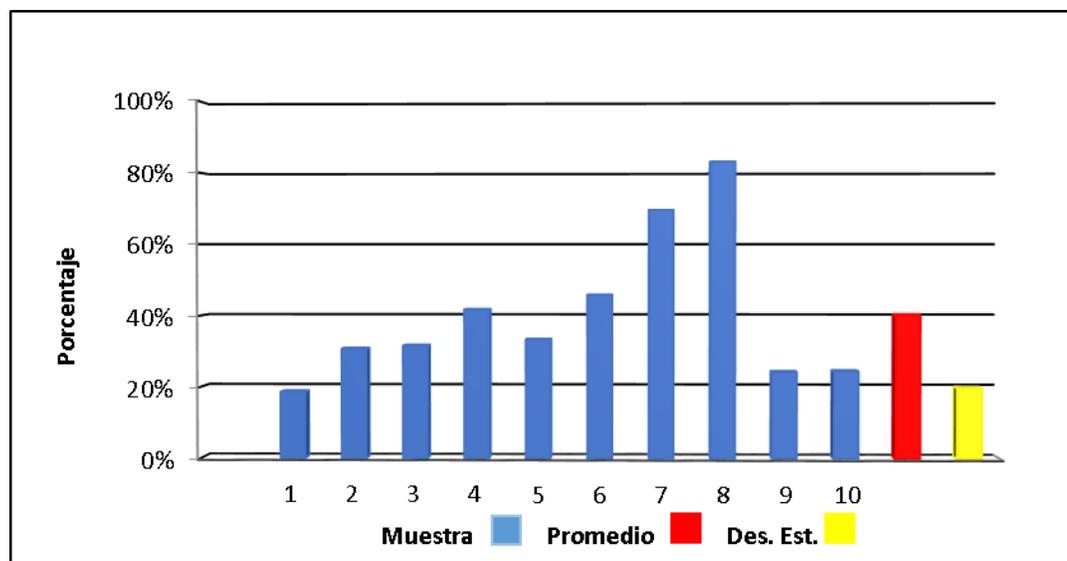
Para determinar la expresión in situ de las proteínas: Nanog, Sox-2 y Oct4, se realizaron ensayos de Inmunohistoquímica sobre las 10 muestras de obtenidas de ameloblastoma uniuístico.

De las 10 muestras obtenidas se realizaron 20 microfotografías a 40x de campos aleatorios a cada una para cada proteína y se hizo un conteo manual de células marcadas tanto positivas como negativas para obtener un promedio de

marcación del total de células evaluadas con las proteínas Nanog, Sox2, Oct4, CD73, CD90 y CD105.

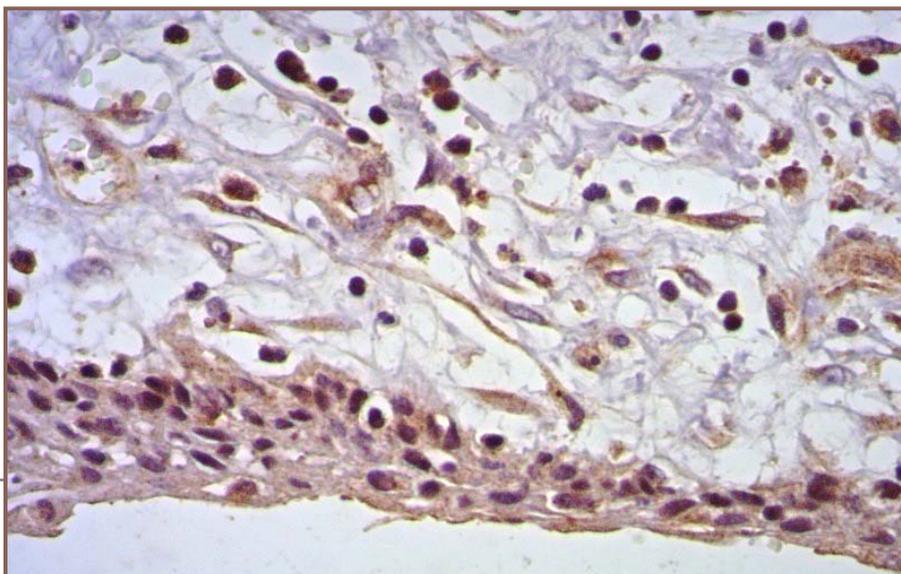
## PROTEÍNA NANOG

La figura 25 representa a las células inmunodetectadas con la proteína Nanog. La muestra 8 fue la que presentó un mayor porcentaje de presencia de esta proteína con un 83.07% y la muestra 1 presentó el menor porcentaje con un 18.57%. El promedio general es de 40.27% y una desviación estándar de 20.87%.



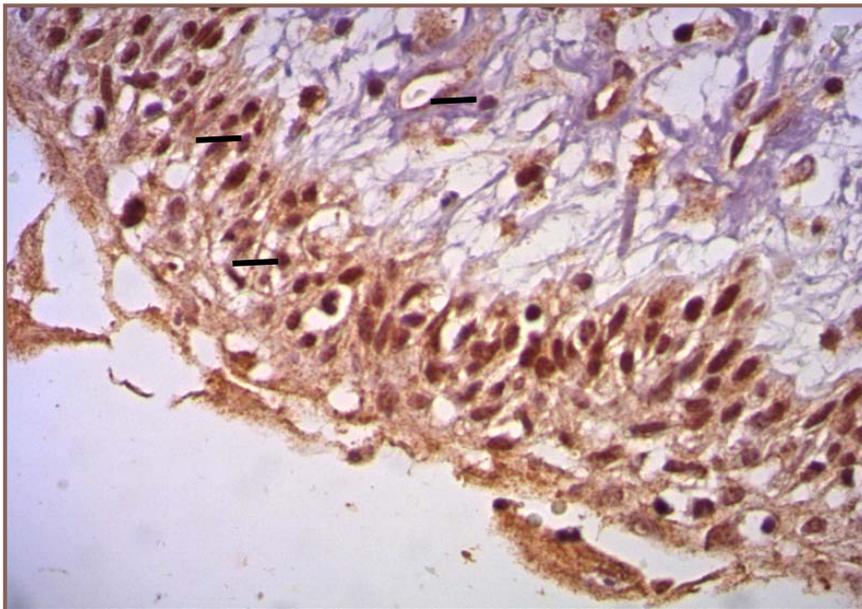
Muestra realizada a 10 pacientes durante el período del 2009 al 2016 en el Hospital Juárez de México.

**Figura 25. Promedio de la presencia de la proteína Nanog, en las células inmunodetectadas en el ameloblastoma unicuístico.**



—  
—

**Figura 26. Presencia *in situ* de la proteína Nanog** (Aumento de 40X). En esta imagen se muestra la expresión en células del tejido epitelial y en células del tejido conectivo.

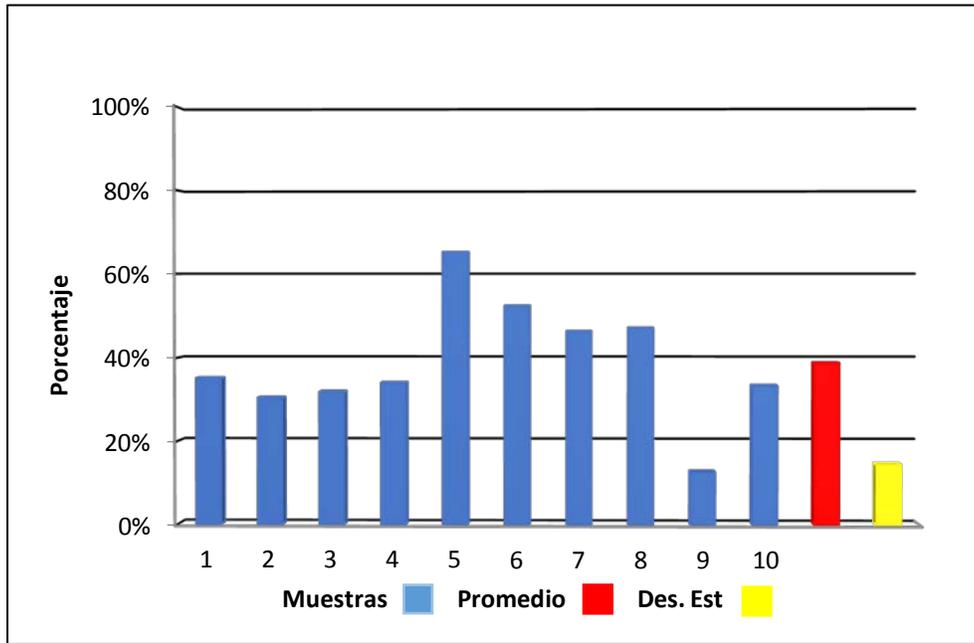


**Figura 27. Presencia *in situ* de la proteína Nanog** (Aumento de 40X). En esta imagen poder observar que Nanog se expresa, en el núcleo y citoplasma de células epiteliales y en algunas en células del tejido conectivo

## PROTEÍNA SOX-2

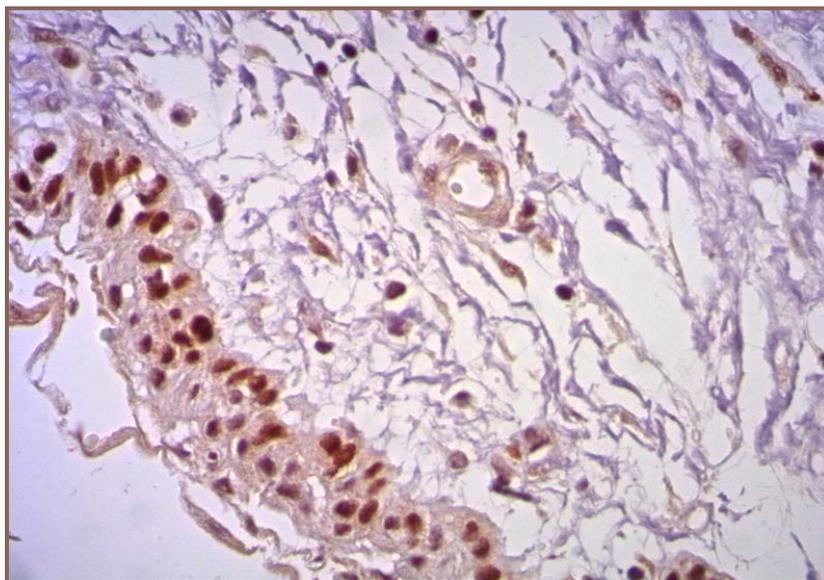
La figura 28 representa a las células inmunodetectadas con la proteína Sox-2. La muestra 5 fue la que presento un mayor porcentaje de presencia de esta proteína

con un 65.21% y la muestra 9 presento el menor porcentaje con un 12.56%. El promedio general es 38.81% y la desviación estándar de 14.46%.

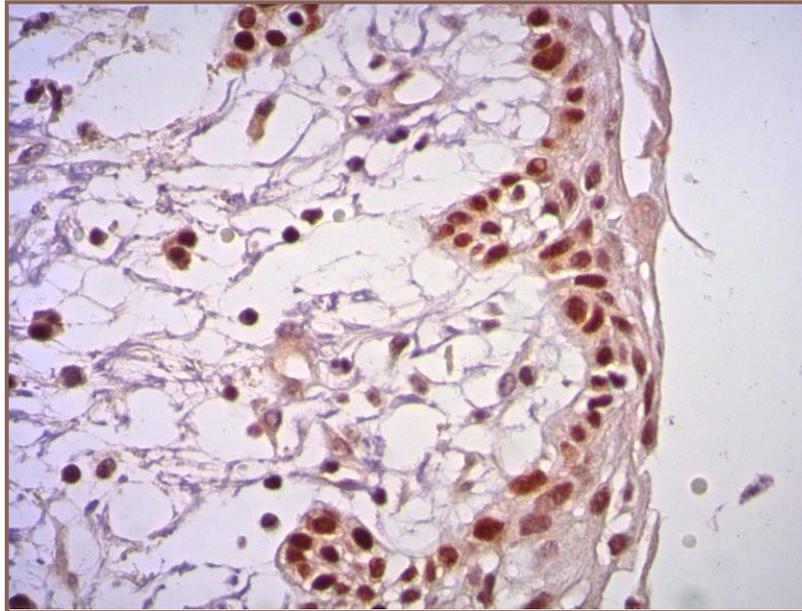


Muestra realizada a 10 pacientes durante el período del 2009 al 2016 en el Hospital Juárez de México.

**Figura 28. Promedio de la presencia de la proteína Sox-2, en las células inmunodetectadas en el ameloblastoma uniuquístico.**



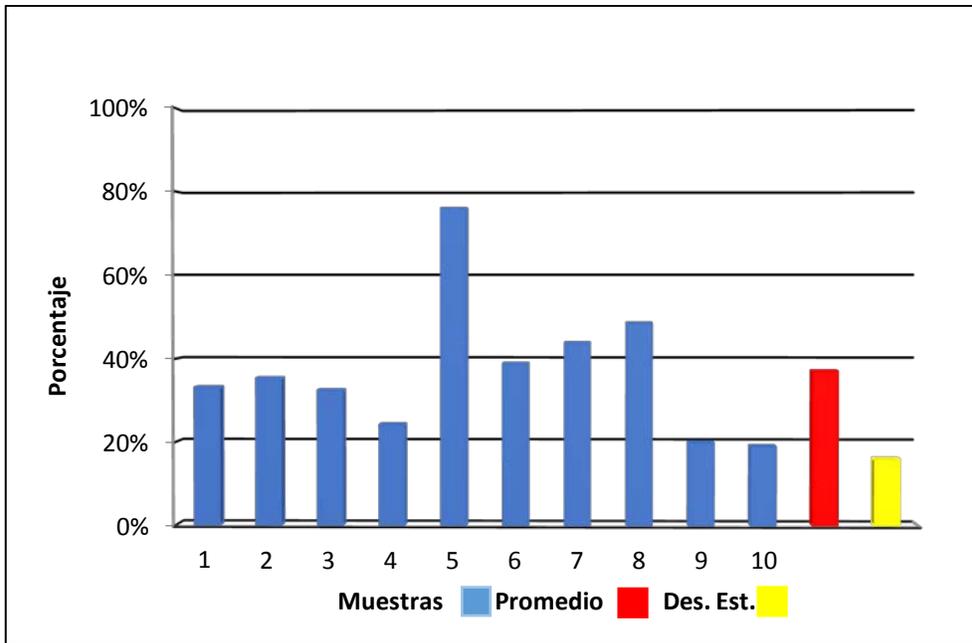
**Figura 29 Presencia *in situ* de la proteína Sox-2** (Aumento de 40X). En esta imagen se muestra la expresión de Sox-2, en células del tejido epitelial y algunas células del tejido conectivo así como en los vasos sanguíneos.



**Figura 30. Presencia *in situ* de la proteína Sox-2** (Aumento de 40X). En esta imagen podemos observar que Sox-2 se expresa, en el núcleo y citoplasma de células epiteliales y en el núcleo de algunas en células del tejido conectivo pero en menor intensidad.

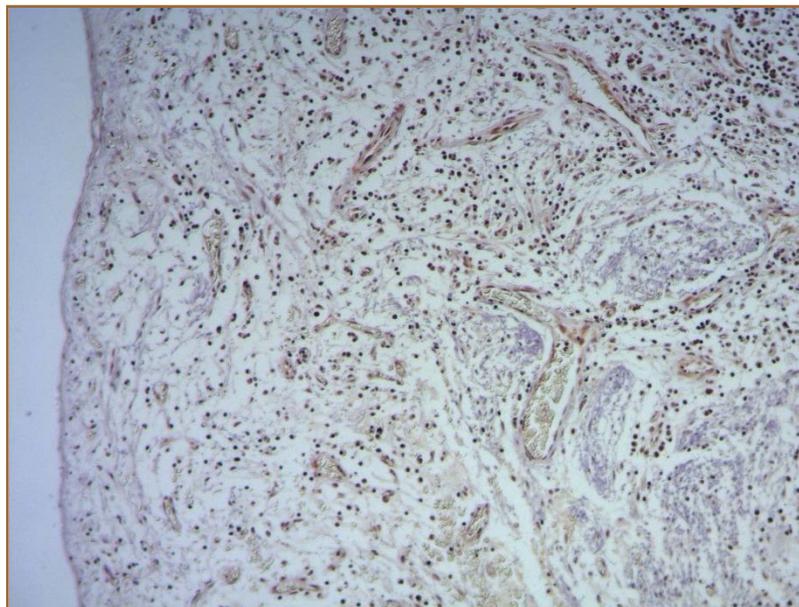
#### PROTEÍNA OCT4

La figura 31 representa a las células inmunodetectadas con la proteína Oct4. La muestra 5 fue la que presentó un mayor porcentaje de presencia de esta proteína con un 76% y la muestra 10 presentó el menor porcentaje con un 18.91%. El promedio general es 37.06% y la desviación estándar 15.90%.

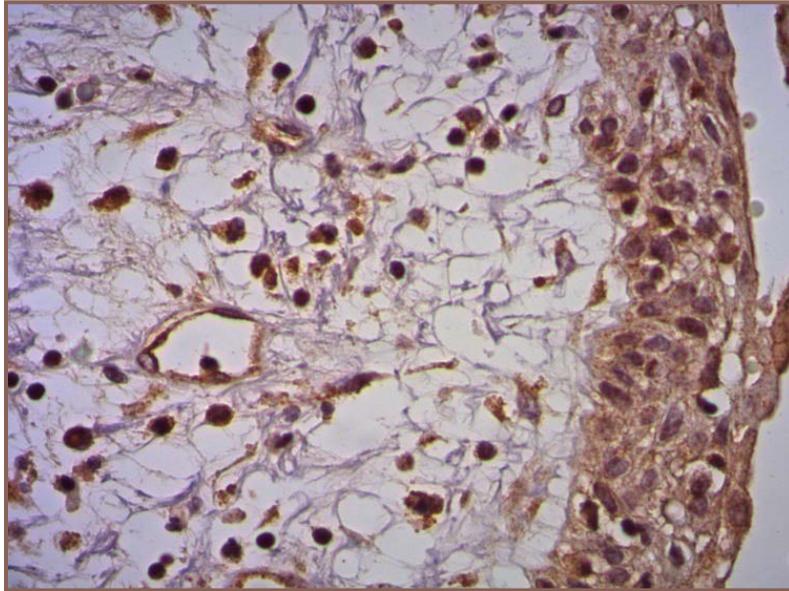


Muestra realizada a 10 pacientes durante el período del 2009 al 2016 en el Hospital Juárez de México.

**Figura 31. Promedio de la presencia de la proteína Oct4**, en las células inmunodetectadas en el ameloblastoma unicístico.



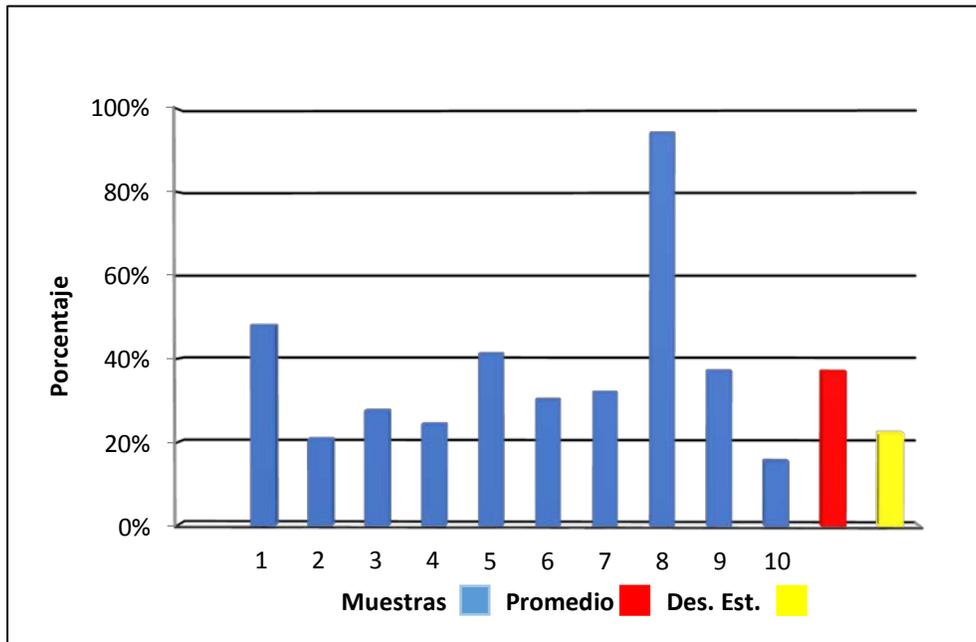
**Figura 32. Presencia *in situ* de la proteína Oct3/4** (Aumento a 10X). En esta imagen muestra la expresión *in situ* de Oct3/4, donde podemos observar que se expresa en células del tejido conectivo y vasos sanguíneos.



**Figura 33. Presencia *in situ* de la proteína Oct3/4** (Aumento de 40X). En esta imagen se puede observar que Oct3/4 se expresa, en el citoplasma de células epiteliales y en algunas en células del tejido conectivo así como en los vasos sanguíneos.

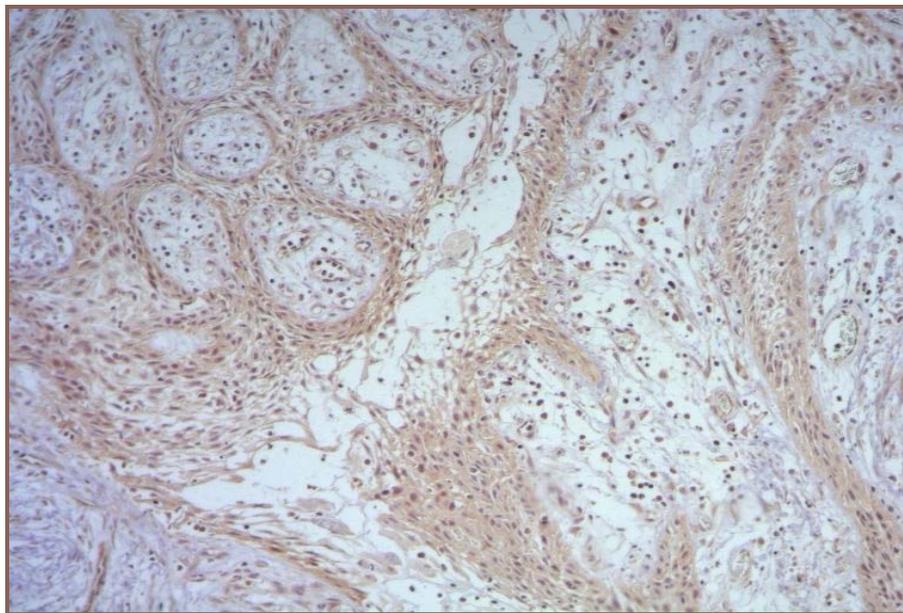
#### MOLÉCULA CD73

La figura 34 representa a las células inmunodetectadas con la proteína CD73. La muestra 8 fue la que presentó un mayor porcentaje de presencia de esta proteína con un 94.09% y la muestra 10 presentó el menor porcentaje con un 15.48%. El promedio general fue de 36.98% y la desviación estándar de 22.26%.

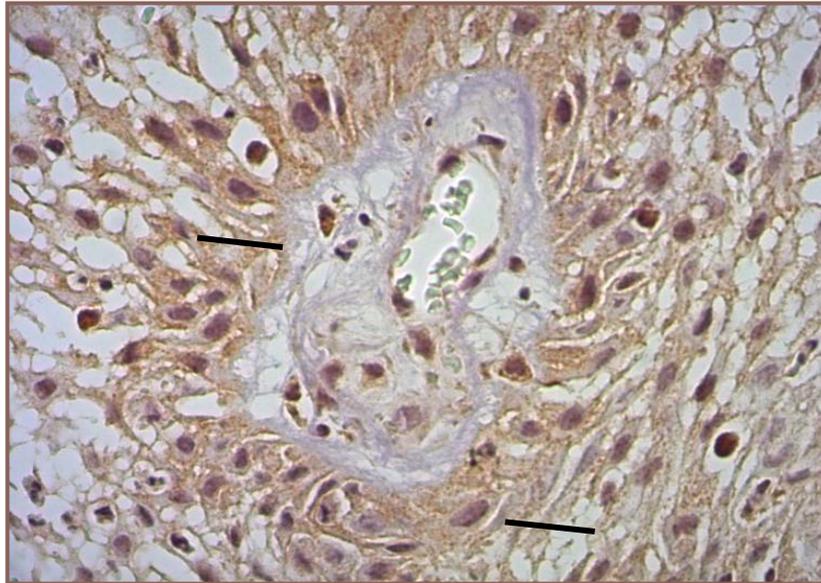


Muestra realizada a 10 pacientes durante el período del 2009 al 2016 en el Hospital Juárez de México.

**Figura 34. Promedio de la presencia de la proteína CD73, en las células inmunodetectadas en el ameloblastoma unguístico.**



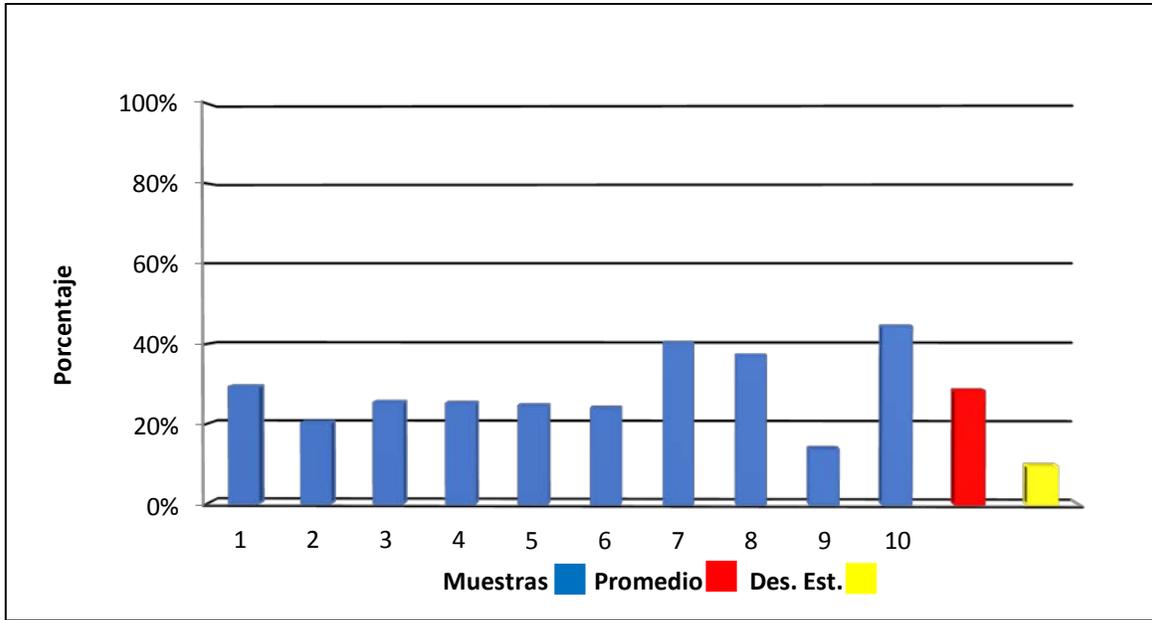
**Figura 35. Presencia *in situ* de la proteína CD73** (Aumento a 10X). En esta imagen se muestra la expresión de CD73, la cual se presenta mayoritariamente en células del tejido epitelial y algunas células del tejido conectivo



**Figura 36. Presencia *in situ* de la proteína CD73** (Aumento a 40X). En esta imagen se pudo observar que CD73 se expresó también en el núcleo y citoplasma de células epiteliales.

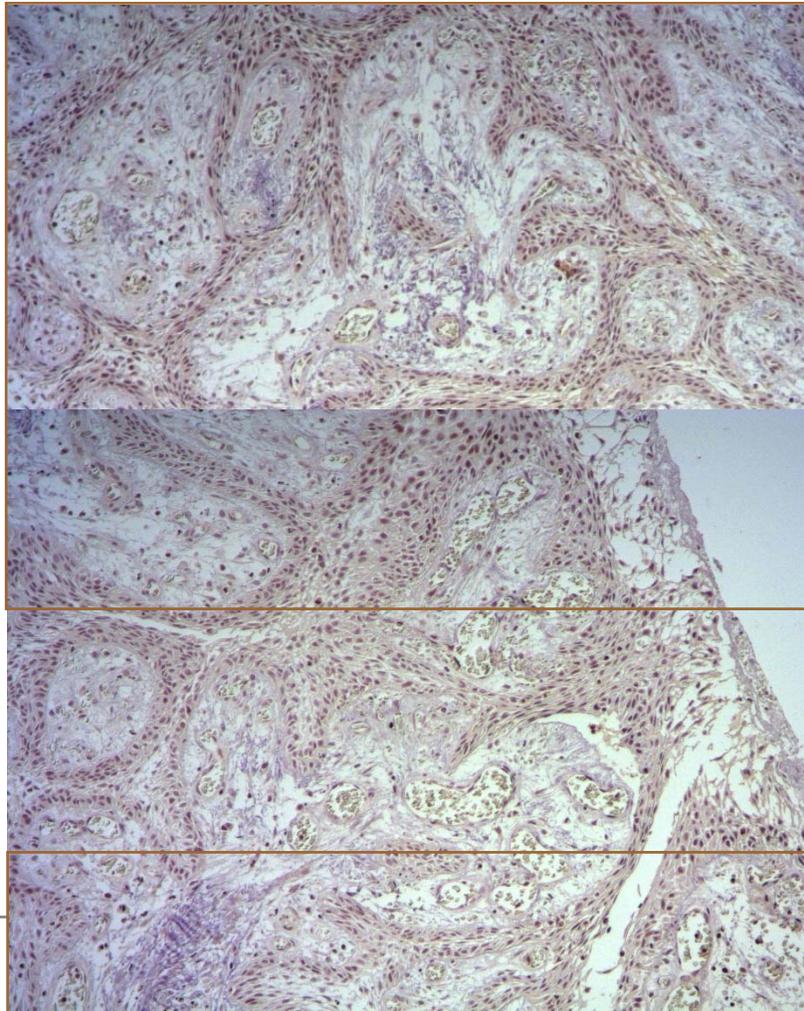
#### MOLÉCULA CD90

La figura 37 representa a las células inmunodetectadas con la proteína CD90. La muestra 10 fue la que presentó el porcentaje más alto de presencia de esta proteína con un 44.46% y la muestra 9 presentó el menor porcentaje con un 13.73%. El promedio general fue de 28.37% y una desviación estándar de 9.51%.



Muestra realizada a 10 pacientes durante el período del 2009 al 2016 en el Hospital Juárez de México.

**Figura 37. Promedio de la presencia de la proteína CD90, en las células inmunodetectadas en el ameloblastoma uniuquístico.**



**Figura 38.**  
*in situ* de  
proteína

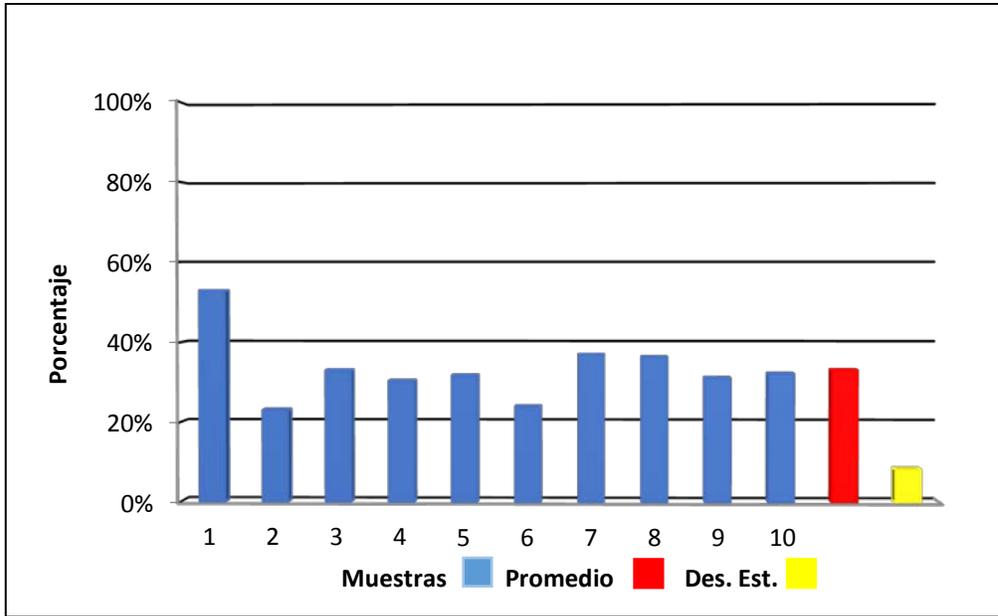
**Presencia  
la  
CD90**

(Aumento de 10X). En esta imagen se muestra la expresión *in situ* de CD90, donde podemos observar que se expresa mayoritariamente en células del tejido epitelial y algunas células del tejido conectivo.

**Figura 39. Presencia *in situ* de la proteína CD90** (Aumento de 10X). En esta imagen podemos observar que CD90 se expresa, en el citoplasma de células epiteliales y en algunas células del tejido conectivo y en menor intensidad en los vasos sanguíneos

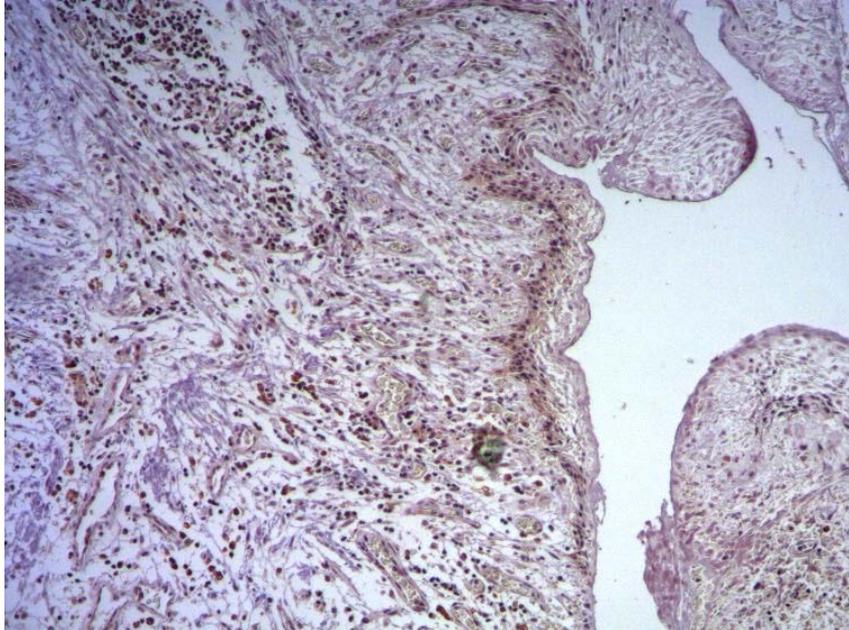
#### MOLÉCULA CD105

La figura 40 representa a las células inmunodetectadas con la proteína CD105. La muestra 1 fue la que presentó un mayor porcentaje de presencia de esta proteína con un 52.82% y la muestra 2 presentó el menor porcentaje con un 22.98%. El promedio general fue de 33.06% y la desviación estándar de 8.27%.



Muestra realizada a 10 pacientes durante el período del 2009 al 2016 en el Hospital Juárez de México.

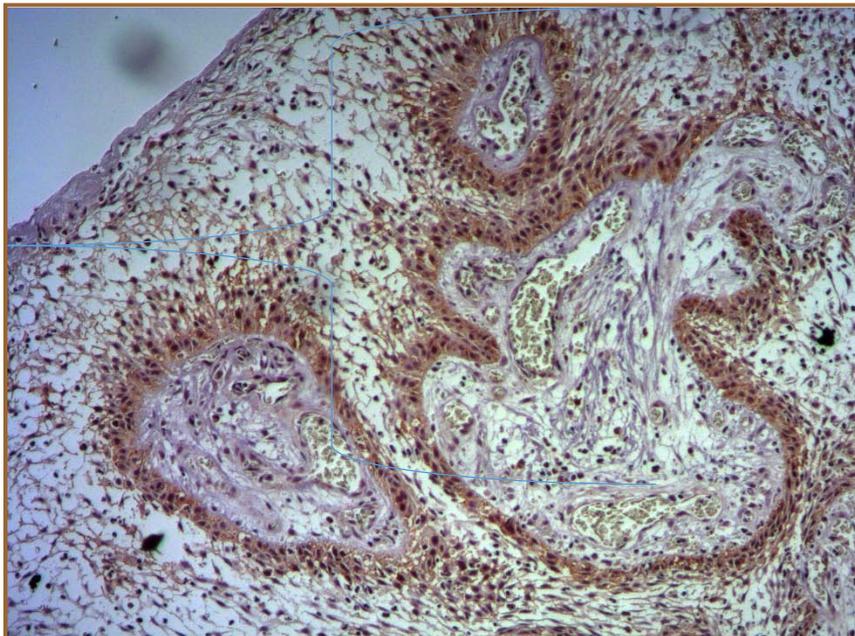
Figura 40. Promedio de la presencia de la proteína CD105, en las células



inmunodetectadas en el ameloblastoma uniuquístico.

—

**Figura 41. Presencia *in situ* de la proteína CD105 (Aumento a 10X).** En esta imagen podemos observar que CD105 se expresa en células del tejido epitelial al igual que en la membrana basal y en algunas células del tejido conectivo.



**Figura 41. Presencia *in situ* de la proteína CD105 en tejido tumoral (Aumento a 40X).** En esta imagen podemos observar que CD105 se expresa en células del tejido epitelial al y en células del tejido conectivo.

## 7. DISCUSIÓN

El presente estudio determino la presencia de proteínas de genes de pluripotencialidad (Nanog, SOX-2 y Oct4) en los ameloblastomas uniuquísticos analizados así como proteínas de células mesénquimales (CD73,CD90 y CD105).

El ameloblastoma uniuquístico ha sido una de las neoplasias mas controvertidas en el area maxilofacial desde que fue descrito por Cusack en y es el segundo tumor odontogénico mas frecuente en México (Mosqueda-Taylor, 1997) . En la actualidad aun no hay claridad sobre su etilogía, comportamiento biológico y tipos de tratamiento. Ni sobre sus mecanismos de oncogénesis, citodiferenciación, proliferación celular y apoptosis

Los ameloblastomas uniuquísticos analizados en este trabajo, se encontró una predominancia del sexo femenino, con una relación 3:2. El rango de edad en el que se presento el ameloblastoma uniuquístico fue entre los 12 y 35 años de edad, datos que refuerzan los trabajos (Díaz Díaz, 2014); registrándose la mayor parte de los pacientes entre la primera y segunda década de vida.

Teóricamente, se ha sugerido que el ameloblastoma uniuquístico proviene de los restos de lámina dental, del órgano de esmalte en desarrollo, del revestimiento epitelial de un quiste odontogénico o de las células basales de la mucosa oral (Neville, 2015).

En el aspecto molecular, se considera inicialmente que la odontogénesis es el proceso de formación de los órganos dentarios, en el cual se expresan diversas moléculas, factores de transcripción (Koussoulakou, 2009). Y una vez concluido el proceso de formación de los órganos dentarios quedan remanentes del epitelio odontogénico, el cual se ha sugerido se encuentra implicado en el desarrollo del ameloblastoma uniuquístico (Kim, 2016) . Por lo cual, en el aspecto molecular se considero realizar este trabajo con los factores de transcripción Nanog, Sox2 y Oct4.

En las muestras analizadas se observaron las moléculas antes indicadas; sin embargo, resulta de interés los sitios en los cuales se observaron pues no tuvieron los parámetros normales de localización ya que estas proteínas suelen observarse casi exclusivamente en el tejido conectivo. Otro punto importante con respecto a la agresividad del ameloblastoma uniuquístico es que este tumor es menos agresivo en comparación con otros tumores de células troncales.

En el caso de CD90, Silva y colaboradores en 2016, mencionan que su localización en el ameloblastoma uniuquístico y multiquístico se da en el citoplasma

del tejido conectivo capsular tumoral pero en este estudio pudimos observar que CD90 se expresa tanto en citoplasma como en el núcleo del tejido conectivo capsular tumoral como en el citoplasma, núcleo y espacio intercelular del tejido epitelial ameloblástico y en los vasos sanguíneos. Aunque en algunos casos la intensidad de expresión era baja o nula en el tejido conectivo capsular tumoral (Silva, 2016).

Hande y colaboradores en 2011, estudiaron a la molécula CD105 en ameloblastomas multiquísticos y unikuísticos por medio de inmunohistoquímica, los autores observaron CD105 solamente en los vasos sanguíneos que fueron identificados claramente por la coloración marrón en el citoplasma (Hande, 2011). Y al igual que ellos, Gonzalez Galván y colaboradores en 2003, realizaron ensayos de inmunohistoquímica con CD105 en mixomas y folículos dentales, encontraron CD105 en vasos sanguíneos maduros (del Carmen González-Galván, 2016), pero en nuestro estudio observamos que CD105 también se encuentra en los vasos sanguíneos no solo en el citoplasma también en el núcleo y al igual que CD73 y CD90 se localiza en ambos tejidos en todas sus estructuras pero en diferentes intensidades.

Jurri y colaboradores en 2013, sugirieron que las células epiteliales del ameloblastoma tiene algunas propiedades de célula troncal y de acuerdo con su estudio la expresión del factor de transcripción SRY-HMG-Box (Sox-2) y el ameloblastoma se relaciona con el mantenimiento de la pluripotencialidad de las células epiteliales tumorales y por tanto influye en el comportamiento biológico, en este sentido, nuestros resultados refuerzan los de Jurri y colaboradores, ya que se observo en sitios atípicos como en núcleo, citoplasma tanto de tejido conectivo como epitelial (Juuri, 2013).

Por otro lado, Lei Y y colaboradores en 2014, demostraron por medio de ensayos de inmunohistoquímica que presento una diferencia significativa en la intensidad y el porcentaje en el carcionama ameloblástico y que de acuerdo con la función biológica de este factor de transcripción, hubo presencia nuclear y ocasionalmente en citoplasma. También encontraron que Sox2 tuvo un fuerte y positivo marcaje en la capa basal del epitelio del quiste dentígero y el epitelio de la mucosa superficial. En este contexto, la tinción Sox2 no es indicativo de la transformación de alto grado a una neoplasia ameloblástica. Sin embargo, en nuestro estudio Sox-2 tuvo un mayor número de moléculas en células epiteliales que en células de tejido conectivo y su localización fue en el núcleo como en el citoplasma del tejido epitelial pero en el tejido conectivo solo fue a nivel del núcleo (Lei, 2014).

En caso de Nanog, Oct4 y CD73, hasta la fecha no hay trabajos sobre su presencia en tumores odontogénicos, sin embargo si se ha reportado en cáncer de

pulmón (Wang, 2014), mama, ovario (Xu, 2012) próstata, renal (Khan, 2016) entre otros incluyendo lesiones epiteliales malignas (carcinomas) y tumores de células troncales (Zhao, 2016).

El marcaje de CD73, CD90 y CD105 ocurre en el tejido conectivo pero en este caso lo observamos en células epiteliales y en el núcleo, probablemente el marcaje encontrado podría ser debido al origen ectomesénquimal que tiene el proceso de odontogénesis. O bien que la localización es el resultado de la alteración de las células, las cuales podrían estar cumpliendo con su papel de célula epitelial y estar cubriendo al tejido conectivo, sin embargo genéticamente podrían estar programadas para expresar moléculas de del tejido mesénquimal.

Finalmente, estos hechos nos permiten sugerir que estas células podrían estar sufriendo del proceso llamado Transición epitelio-mesénquimal o MET; aún no estudiado en tumores odontogénicos (Maira A Moreno Castillo, 2016).

Considerando que la formación de los órganos dentarios es un proceso genético continuo podemos sugerir que la desregulación de procesos genéticos a la formación de un tumor odontogénico

En este sentido puede existir una confusión entre los procesos genéticos y evolutivos, ya que como sabemos anteriormente existían terceros y cuartos molares pero con la evolución han ido desapareciendo o quedan impactados, lo que sugiere la participación o desregulación de los genes encargado del desarrollo de los dientes.

## **8. PERSPECTIVAS**

Para tener un mejor entendimiento de las funciones que tienen estas proteínas es viable realizar otros experimentos para definir su función específica en los tumores odontogénicos.

Así como evaluar si la expresión de estos genes en tejidos sanos como en los folículos dentarios que también contienen células embrionales así como de la encía.

Finalmente evaluar con la técnica de biología molecular la expresión de cada uno de los genes de este estudio durante la transición epitelio-mesénquimal que posiblemente está ocurriendo en esta lesión.

## 9. CONCLUSIÓN

Nuestros resultados apoyan la propuesta de que células iniciadoras de tumores son similares a las células troncales y la observación de una célula pluripotencialidad durante el proceso de transición epitelial a mesénquimal es importante para la supervivencia de las células iniciadoras de tumores, este es un hecho relevante dentro de la investigación en tumores odontogénicos, en especial en el ameloblastoma unicuístico ya que estos resultados permitirán enfocar futuros esfuerzos para desarrollar diagnósticos preventivos y tratamientos oportunos.

En el presente trabajo pudimos observar moléculas de pluripotencialidad y específicas de tejido conectivo, lo cual, nos permite sugerir el origen embrionario de este tipo de tumores además de una localización atípica de estas moléculas.

También se puede sugerir un proceso biológico que usualmente se da en tejidos embrionales, de reparación y tumorales, llamado Transición Epitelio-Mesenquimal (MET), sin embargo, la agresividad de este tumor no se correlaciona con la presencia de las moléculas que se observaron en este trabajo.

## 10. REFERENCIAS

- Abdallah, B. M. (2008). Human mesenchymal stem cells: from basic biology to clinical applications. *Gene therapy*, 15(2), 109-116.
- Avery, J. K. (2007). Principios de histología y embriología bucal con orientación clínica.
- Banes, L. E. (2005). En *World Health Organization classification of tumors. Pathology and genetics of head and neck tumors*. (págs. p130-131). New York: World Health Organization.
- Benedetti, I. &. (2015). Transición epitelial-mesenquimal en la progresión del adenocarcinoma prostático . *Iatreia*, 28(4), 420-433.
- Brand, R. W. (2013). Anatomy of orofacial structures: a comprehensive approach. *Elsevier Health Sciences*.
- del Carmen González-Galván, M. A.-U.-M.-M.-C.-M.-T. (2016). Assessment of CD-105 as an Angiogenic Modulator in Odontogenic Myxomas and Dental Follicles. *International journal of surgical pathology*, 24(4), 315-319.
- Díaz Díaz, D. S. (2014). Ameloblastoma. Revisión de la literatura. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 13(6), 862-872.
- Duplomb, L. e. (2007). Concise review: embryonic stem cells: a new tool to study osteoblast and osteoclast differentiation . *Stem Cells*, 544-552.
- Farfán, L. F. (2013). Aspects of stem cells that give rise to cancer as a new goal of research. *The Biologist*, 11(2), 339-351.
- Friedenstein AJ, P. K. (1968). Heterotopic transplants of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissue. *Transplantation*, 230-247.
- Gaitán-Cepeda, L. A.-R.-R.-H. (2010). Reclassification of odontogenic keratocyst as tumour. Impact on the odontogenic tumours prevalence. . *Oral diseases*, 16(2), 185-187.
- García-Gómez, I. E.-O. (2010). Mesenchymal stem cells: biological properties and clinical applications. *Expert opinion on biological therapy*, 10(10), 1453-1468.
- Gómez de Ferraris, M. E. (2009). En e. e. Histología. Mexico: Medica Panamerican.

- Hande, A. H. (2011). Comparative analysis of tumour angiogenesis in solid multicystic and unicystic ameloblastoma by using CD 105 (endoglin). *Archives of Oral Biology*, *56*(12), 1635.
- Henry Lores, D. M. (2009). Tumores odontogénicos. Reporte de 3 casos y revisión de literatura. *Revista Venezolana Oncológica*, 151-156.
- Huntly, B. J. (2005). Leukaemia stem cells and the evolution of cancer-stem-cell research. *Nature Reviews Cancer*, *5*(4), 311-321.
- Imran, A. J. (2016). Classification of odontogenic cysts and tumors—Antecedents. *Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP*, *20*(2), 269.
- Jheon, A. H. (2013). From molecules to mastication: the development and evolution of teeth. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, *2*(2), 165-182.
- Juuri, E. I. (2013). Expression of the stem cell marker, SOX2, in ameloblastoma and dental epithelium. *European journal of oral sciences*, *121*(6), 509-516.
- K. Avery, D. J. (2007). *Principios de Histología y embriología con orientación clínica*. España: Elseviere Mosby.
- Khan, M. I. (2016). Comparative Gene Expression Profiling of Primary and Metastatic Renal Cell Carcinoma Stem Cell-Like. *Cancer Cells. PloS one*, *11*(11), e0165718.
- Kim, H. Y. (2016). On the role of mechanics in driving mesenchymal-to-epithelial transitions. *In Seminars in cell & developmental biology. Academic Press*.
- Koussoulakou, D. S. (2009). A curriculum vitae of teeth: evolution, generation, regeneration. *Int J Biol Sci*, *5*(3), 226-243.
- Ledesma-Montes, C. M.-T.-B.-G.-V.-G. (2007). Ameloblastomas: a regional Latin-American multicentric study. *Oral diseases*, *13*(3), 303-307.
- Lei, Y. J. (2014). Evaluation of SOX2 as a potential marker for ameloblastic carcinoma. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*, *117*(5), 608-616.
- Maira A Moreno Castillo, J. R. (2016). Transición epitelio-mesénquima y migración celular en células de la cresta neural y células metastásicas de carcinoma. *Univ Med*.
- Masthan, K. M. (2015). Ameloblastoma. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, *7*(Suppl 1), S167.
- Mata-Miranda, M. V.-Z.-M. (2013). Generalidades y aplicaciones de las células madre. *Perinatología y reproducción humana*, *27*(3), 194-199.

- Mitchell, R. K. (2007). Neoplasias. En *Patología estructural y funcional*. España: Elsevier.
- Mosqueda-Taylor, A. L.-M.-S.-R.-G. (1997). Odontogenic tumors in Mexico: a collaborative retrospective study of 349 cases. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 84(6), 672-675.
- Nanci, A. (2007). Ten cate's oral histology-pageburst on vitalsource: development, structure, and function. *Elsevier Health Sciences*.
- Nanci, A. (2008). *Ten cat's Oral histology. Development, structure and function* . ed 8°.
- Neville Brad W, D. D. (2016). *Pathology Oral and Maxillofacial* . ed 4°: Elsevier.
- Neville, B. W. (2015). Oral and maxillofacial pathology. *Elsevier Health Sciences*.
- Philipsen, H. P. (2006). Classification of odontogenic tumours. A historical review. *Journal of oral pathology & medicine*, 35(9), 525-529.
- S, A. (2015). Unicystic ameloblastoma: A perception for the Cautious Interpretation of radiographic and histological findings. *Journal Coll Physicians Surgery Pak*, 1764-764.
- Sapp, J. P. (2004). Patología oral y maxilofacial contemporánea. *Elsevier*, España.
- Silva, F. P. (2016). Expression of CD90 and P75NTR stem cell markers in ameloblastomas: a possible role in their biological behavior. *Brazilian Oral Research*, 30(1).
- Soto, G. V. (2010). Tratamiento de los ameloblastomas. Análisis de 26 casos. *Revista Mexicana de Cirugía Bucal y Maxilofacial*, 6 (2), 66-72.
- Teichroeb, J. H. (2016). The role of telomeres and telomerase reverse transcriptase isoforms in pluripotency induction and maintenance. *RNA biology*, 13(8), 707-719.
- Thesleff, I. &. (2002). The role of growth factors in tooth development. *International review of cytology*, 93-135.
- Wang, D. L. (2014). Oct-4 and Nanog promote the epithelial-mesenchymal transition of breast cancer stem cells and are associated with poor prognosis in breast cancer patients. . *Oncotarget*, 5(21), 10803-10815.
- Wright, J. M. (2014). Odontogenic tumors, WHO 2005: where do we go from here? *Head and neck pathology*, 8(4), 373-382.

- Xu, C. X.-W. (2012). MicroRNA miR-214 regulates ovarian cancer cell stemness by targeting p53/Nanog. *Journal of Biological Chemistry*, 287(42), 34970-34978.
- Zhao, X. W. (2016). Expression of stem cell markers nanog and PSCA in gastric cancer and its significance. . *Oncology letters*, 11(1), 442-448.
- Zohrabian, V. M. (2015). Embryology and anatomy of the jaw and dentition. *In Seminars in Ultrasound, CT and MRI (Vol. 36, No. 5, pp. 397-406)*. WB Saunders.

## 11. ANEXOS

### Tinción de Hematoxilina y Eosina (HyE)

#### *Hidratación*

Xilol I	.....	5 minutos
Xilol II	.....	15-20 baños
OH/Xilol	.....	15-20 baños
OH 100%	.....	15-20 baños
OH 96%	.....	15-20 baños
OH 90%	.....	15-20 baños
OH 80%	.....	15-20 baños
OH 70%	.....	15-20 baños
Agua	.....	15-20 baños

#### *Deshidratación*

OH 70%	.....	15-20 baños
OH 80%	.....	15-20 baños
OH 90%	.....	15-20 baños
OH 96%	.....	15-20 baños
OH 100%	.....	15-20 baños
OH/ Xilol	.....	15-20 baños
Xilol I	.....	15-20 baños
Xilol II	.....	15-20 baños
	.....	15-20 baños