



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ÍNDICE DE PROLIFERACIÓN E INMUNOPERFIL DE
CITOQUERATINAS CK5, CK7, CK14 Y CK19 EN UNA
VARIANTE RARA DE AMELOBLASTOMA ADENOIDEO
CON DENTINOIDE

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N O D E N T I S T A

P R E S E N T A:

RODRIGO ARTURO CAMPOS ARENAS

TUTOR: Dr. CONSTANTINO LEDESMA MONTES

ASESORES: Dr. JUAN CARLOS CUAUHTÉMOC HERNÁNDEZ
GUERRERO

Dra. MARÍA DOLORES JIMÉNEZ FARFÁN

Esp. GABRIEL FERNANDO PAREDES FARRERA

Hospital General de México "Eduardo Liceaga"
Departamento de Estomatología



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.



A mi madre:

Dibian, no existen palabras para escribirte todo lo que siento, aun yendo al fin del mundo y trayéndote el regalo más caro, sé que no podría pagar todo lo que has hecho por mí, todo lo que has sufrido y las privaciones por las que has pasado para hacerme todo un hombre.

Gracias...por haberme dado la dicha y suerte de poderte llamar “mamá”, por esos 9 meses de más que compartimos, como algo íntimo, nuestro, y por todos los años que han seguido y que nos quedan...

Por ser mi maestra...y es que las cosas que parecían tan complicadas se hicieron simples gracias a ti...

Por ayudarme a alcanzar todos mis sueños, olvidando por completo los tuyos.

Porque cuando ya no podía más y estaba a punto de abandonarlo todo, tenías las palabras correctas que me daban fuerza para seguir adelante, confiando en mí cuando nadie más lo hacía, y por entregarme tu amor incondicional...

Gracias, por todo lo que hiciste y serias capaz de hacer si te lo hubiera pedido...

Al final, estas palabras son solo eso, palabras...

Cada día intento demostrarte con actos lo agradecido que estoy por todos estos años de incansable esmero para convertirme en un hombre fuerte y seguro, capaz de enfrentarse al mundo...

Lo logramos...

Te amo.



A mi abuela:

Dios me mando a la persona más sabia del mundo, cuando te miro a los ojos, veo el hermoso reflejo de toda una vida y me acuerdo de tus innumerables actos de bondad, es agradable pensar que cuando me agarras de la mano, estas mismas fueron las que cuidaban de mamá.

Eres una maravillosa madre, con muchos años de experiencia...eres una mezcla de risas, historias maravillosas y amor, Cuando termines de leer estas líneas, piensa que te mantienes siempre cerca de mi corazón, Te amo.

A mis tíos:

He tenido la fortuna de tener a los tíos más espectaculares del mundo... Gabriela, Verónica, Angélica, Irma, Alfonso, Paul, Ricardo, Abel, Jordan y Jorge.

A lo largo de mi vida, y con el paso de los años, se han convertido en padres para mí, gracias por sus enseñanzas, consejos y amor, que han hecho de mí una mejor persona. Aunque algunas veces estemos separados por la distancia, siempre tendrán un lugar en mi corazón, los amo

“Existen muchos tipos de amor, pero el cariño de un tío por su sobrino, va más allá de los genes o de un apellido: Abrazan como padres, comparten como amigos, juegan como niños”.

A mis primos:

Ricardo, Fernanda, Erick, Andrea, Mauricio, Paul y Joshua. Nunca tuve la oportunidad de tener un hermano, pero los tengo a ustedes, riendo, llorando, haciendo tonterías, pero siempre juntos.

Tenerlos en mi vida es lo mejor de dos mundos, es una bendición porque siempre han sido mis mejores amigos, pero también son parte de la familia, lo que hace que sea más divertido reunirse y pasar el tiempo juntos. A diferencia de los amigos, ustedes siempre estarán ahí, así como yo siempre estaré para ustedes, espero que este, el primer logro de los 7, sea solo el principio de toda una cadena de sueños y metas, que vamos a cumplir, los amo.

Támara:

Te conocí hace casi 3 años y aun no comprendo cómo haces para encontrar una solución a cada uno de mis problemas, porque cuando tú me acompañas, cualquier situación negativa deja de tener importancia, tienes la capacidad de hacer que todo a mi alrededor se vea más claro y provocar que encuentre alegría hasta en los momentos más oscuros, quiero agradecerte todos los momentos que hemos pasado: las aventuras, los viajes, las tardes viendo películas con todo el clan de perros alrededor y un vaso de helado, y así todas las lecciones que juntos hemos aprendido.



Que difícil era el mundo sin tener un amor, hasta que por suerte llegaste tú y todo cambio, le doy gracias al destino por haberte puesto en mi camino, espero compartir contigo muchos más logros, Te amo.

A mis amigos:

Paola, Dulce, Mimi, Ana, Daniel, Bernardo, David, Francisco, Kenji, Christian, Gabriel y Stiven. Los momentos que hemos compartido son los más valiosos que tengo, son como hermanos para mí, aunque a veces podamos discutir o tener nuestras diferencias, los vínculos que nos unen son más poderosos, y desde ahora pueden estar seguros que hare todo cuanto sea posible para ayudarlos a encontrar la felicidad. Gracias a cada uno por aquellos momentos que me brindaron cuando lo necesite, sin importar la hora o el día, por demostrarme que el amor existe, y que la amistad no conoce fronteras, los amo.

A las familias:

Hurtado-Pacheco, Pacheco-Zavala, Molina-Arroyo y García-Rubio, por abrirme las puertas de su hogar, y hacerme sentir parte de su familia, porque durante la carrera, me desvele haciendo trabajos y siempre me sentí como en casa, por hacer que la experiencia durante mis estudios fuera divertida, con sus consejos tanto profesionales como personales, son una parte importante en este logro.

A mi padre:

Gracias por ser el mejor papá que pude haber pedido, por tu fuerza y valentía siempre serás mi héroe, es inevitable no recordar los momentos más fantásticos que viví junto a ti, sé que sigues y guías mis pasos desde allá arriba...Papá la huella que has dejado en mí y de la que tan orgulloso me siento, hace que siempre te note muy de cerca, como una parte más de mi ser...

Será mi dicha volverte a ver algún día... mi ángel guardián.



A la Universidad Nacional Autónoma de México:

Por permitirme realizar el sueño de ser Cirujano Dentista, por ser mi segunda casa durante estos 6 años, por hacerme comprender que antes de ser profesional, hay que ser humano, saber que sin importar como te veas, te vistas o hables, todo somos iguales, gracias a ti mi vida ha tomado el rumbo que tiene hoy, por enseñarme lo que es realmente la vida, y por dejarme a mis más grandes amigos, siempre le estaré agradecido.

A los Doctores:

Constantino Ledesma Montes, Juan Carlos Hernández Guerrero, Dolores Jiménez Farfán, Gabriel Paredes Farrera, Adalberto Mosqueda Taylor y Claudio Viveros Amador...

Gracias por el tiempo que dedican a esta hermosa profesión, ya que es la base fundamental de mi desarrollo como persona, por sus consejos, enseñanzas y sabiduría, porque así se cómo afrontar de la mejor manera los problemas y obstáculos a los que a diario me voy a enfrentar.

“Estoy en deuda con mi padre por vivir, pero con mi maestro por vivir bien”

Alejandro Magno

“Por mi raza hablara el espíritu”.



Índice.

Resumen.....	7
1. Introducción.....	8
2. Antecedentes	9
2.1. Clasificación de ameloblastomas	9
2.2. Frecuencia de ameloblastomas.....	11
2.3. Ameloblastoma Adenoideo con Dentinoide.....	11
2.4. Citoqueratinas y PCNA en Tumores Odontogénicos.....	15
3. Planteamiento del problema.....	16
4. Justificación.....	17
5. Objetivo general	17
5.1. Objetivos específicos.....	17
5.2. Hipótesis.....	18
6. Material y métodos	18
6.1. Procedencia del espécimen	18
6.2. Procesamiento inmunohistoquímico.....	19
6.3. Determinación del índice de proliferación.....	20
6.4. Análisis estadístico.....	20
6.5. Consideraciones éticas	20
6.6. Equipo, material y reactivos	21
7. Descripción microscópica de las laminillas.....	22
8. Índice de proliferación	25
9. Descripción y análisis de inmunoperfil de citoqueratinas	27
10. Discusión.....	32
11. Conclusiones.....	36
12. Referencias	37



Resumen.

Se describe un tumor odontogénico con características que coinciden con el AAD. Debido al potencial altamente agresivo de estas neoplasias se consideró determinar y analizar el inmunoperfil de citoqueratinas CK5, CK7, CK14 y CK19, conocidas por su participación en la invasividad de las neoplasias de origen ectodérmico.

Objetivo: Describir detalladamente las características microscópicas, el inmunoperfil de CK5, CK7, CK14 Y CK19 y el índice de proliferación mediante PCNA del AAD.

Descripción de laminillas: Se observó una zona multiquística revestida por epitelio plano queratinizado; zonas parecidas al TOA y QOC. En la porción sólida se observaron zonas parecidas al ameloblastoma plexiforme; pseudoductos, perlas de queratina e islas con células de citoplasma claro; gemaciones hipercromáticas parecidas al fibroma ameloblástico. Áreas atípicas, mitosis, zonas necróticas y células gigantes multinucleadas. El material eosinófilo-hialino, se encontró acelular, con células odontogénicas inmersas, o rodeando dicho material.

Análisis inmunológico e índice de Proliferación: Ck7 y Ck5 fueron negativas. Ck14 fue levemente positiva, Ck19 tuvo positividad intensa, las células que rodean los pseudoductos fueron negativos en ambos casos. PCNA fue levemente positivo en la mayoría de las zonas estudiadas; el índice de proliferación, mostro un marcaje positivo en el AAD de 86%.

Conclusión: Los resultados nos hacen pensar que el AAD podría tener origen de los restos epiteliales de la lámina dental y el epitelio interno del esmalte, lamentablemente no existen suficientes casos reportados para poder determinar sus características, y así poder definir si esta neoplasia debe de ser considerada una entidad por separado en las próximas clasificaciones de neoplasias odontogénicas.



1. Introducción.

El ameloblastoma ocupa el segundo lugar como el tumor odontogénico más común, es una neoplasia de comportamiento clínico benigno pero agresivo. La reciente clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) coloca a los ameloblastomas en la categoría de “tumores odontogénicos sin potencial inductor”, sin embargo, la literatura reporta algunos casos de ameloblastomas con formación de tejido duro, como es el caso del odontoameloblastoma. Asimismo, la aparición de dentinoide sin formación de esmalte se reporta muy pocas veces.

El Ameloblastoma Adenoideo con Dentinoide (AAD) es una variante rara que suele confundirse frecuentemente con el Tumor Odontogénico Adenomatoso (TOA), dado que este último presenta pequeñas calcificaciones que corresponden a esmalte mal formado, dentinoide o cemento.

El presente trabajo describe un tumor odontogénico con características que coinciden a la descripción de la entidad descrita como AAD. Este tipo de tumores es muy raro, por lo que se presenta este caso completo con la descripción clínica, imagenológica e histopatológica, así como el manejo quirúrgico del mismo. Debido al potencial altamente agresivo de estas neoplasias se consideró determinar y analizar el inmunoperfil de citoqueratinas CK5, CK7, CK14 y CK19, que son moléculas conocidas por su participación en la invasividad de las neoplasias de origen ectodérmico.



2. Antecedentes.

El ameloblastoma es el segundo más frecuente de los tumores odontogénicos. La OMS lo define como: “*Es una neoplasia epitelial benigna, intraósea de crecimiento progresivo, que se caracteriza por expansión y tendencia a la recurrencia local si no se remueve en forma adecuada*”. (1). Salehinejad *et al.*, lo definen como “*un tumor odontogénico benigno, de origen epitelial. localmente invasivo y sin inducción de tejido conjuntivo*”. Este tumor puede originarse a partir del órgano del esmalte, de la lámina dental. del epitelio de quistes dentígeros o de las células basales del epitelio de la mucosa oral. (2).

2.1. Clasificación de ameloblastomas.

La OMS reconoce dos tipos básicos ameloblastomas: benignos y malignos. Dentro de los ameloblastomas benignos se encuentra los tipos sólido, periférico, uniuquístico Por otra parte, los ameloblastomas malignos son el carcinoma ameloblástico y el ameloblastoma metastásico (1).

De acuerdo con su aspecto microscópico se reconocen los siguientes arreglos microscópicos de ameloblastoma (1,3):

- a. Ameloblastoma de patrón folicular: Es el más común y se parece al componente epitelial del órgano del esmalte dentro de un estroma fibroso. Las células periféricas son de columnares a cúbicas, parecidas a ameloblastos, con núcleo hiper cromático, arregladas en un patrón en empalizada y polarización nuclear



invertida. La parte central contiene células anguladas arregladas en forma laxa, recuerda al retículo estrellado y puede mostrar cambio quístico.

- b. Ameloblastoma plexiforme: Es el segundo patrón microscópico más frecuente está formado por capas celulares anastomosantes de epitelio ameloblastomatoso con retículo estrellado poco aparente y escasa degeneración estromal quística.
- c. Ameloblastoma acantomatoso: Parecido al patrón folicular, solo que en los islotes las células centrales se transforman en células planas que producen queratina dentro de las células individuales (perlas de queratina).
- d. Ameloblastoma de células granulares: en este caso las células aparecen hinchadas y densamente cargadas con gránulos eosinófilos, que ultraestructuralmente se consideran elementos lisosómicos.
- e. Ameloblastoma de células basales: Se encuentran grandes células basaloides de forma cuboidal en proliferación que están densamente agrupadas en hebras finas sin retículo estrellado ni otras formas de células epiteliales de localización central.
- f. El ameloblastoma desmoplásico consiste en una capa periférica de células planas a cuboidales con células centrales fusiformes y estroma densamente colagenizado con hueso posiblemente metaplásico.



2.2. Frecuencia de los ameloblastomas.

En un estudio realizado en México, Ledesma-Montes y cols. encontraron que el más frecuente de los ameloblastomas es el subtipo uniuquístico (63.2%), seguido del ameloblastoma sólido (33.7%), el ameloblastoma periférico (1.8%) y el ameloblastoma desmoplásico (1.2%) (4). Por otra parte, Mosqueda-Taylor y cols. encontraron una incidencia de ameloblastomas del 23.7% (5). El rango de edad estaba entre los 11 y 70 años de vida, con una relación mandíbula: maxilar de 6:1 (4).

No hay predilección de género y más del 90% de los casos presentan lesiones en la mandíbula, usualmente en la región posterior de la misma. Algunos casos no presentan sintomatología, otros presentan aumento de volumen en la región posterior de la mandíbula. El 80% de los ameloblastomas se asocian con la falta de erupción del tercer molar. Radiográficamente se observa una cortical bien definida, como una radiolucidez pericoronar y se puede observar resorción radicular (5).

2.3. Ameloblastoma Adenoideo con Dentinoide.

El AAD es una variante rara del ameloblastoma, que se puede confundir con un TOA. Los primeros en demostrar la inducción de la dentina en un ameloblastoma fueron Slabbert *et al.* quienes describieron un tejido conjuntivo cubierto por “*epitelio odontogénico espongiósico*” (*sic*) formado por 4 a 6 capas delgadas, en donde la capa basal está formada por células columnares con núcleo en empalizada, los cuales estaban desplazados al otro lado de la membrana basal y presentaban vacuolación sub-nuclear.



Se observó una banda subepitelial hialina, con infiltración de folículos epiteliales característicos del ameloblastoma en la pared de tejido conjuntivo. En las zonas sólidas se encontraron grupos de filamentos entrelazados, mezclados con láminas de células ovoideas a fusiformes estrechamente relacionadas, intercaladas con fragmentos de material eosinófilo extracelular interpretado como dentinoide. Este material fue positivo para colágena, pero negativo a amiloide y queratina. El examen minucioso de la lesión demostró que el material dentinoide era un producto del tejido conjuntivo rodeado estrechamente por células epiteliales. En este estudio no se pudo definir la procedencia del tejido dentinoide (6).

En 1994, Brannon describió una lesión interesante con parénquima parecido al del TOA, y una proliferación celular con clara diferenciación ameloblástica y depósitos de dentina (7). En el 2004, Evans (8) introdujo el término “*ameloblastoma adenoideo con dentinoide*”, quien al igual que Brannon (7) observó su parecido con el TOA.

El AAD es una neoplasia benigna rara con 17 casos publicados (2,6,8-20). El 61% de los pacientes fueron hombres y el 39% mujeres; las edades variaron entre 18 y 51 años, con un promedio de 35 años, siendo más frecuente entre la 3ª y 4ª décadas de la vida; el tamaño de los tumores varió entre 2 y 5 cm. La zona posterior de la mandíbula (44%) fue la zona más común seguida de la zona posterior de los maxilares (28%), la zona anterior maxilar (17%) y la zona anterior de la mandíbula (11%).

Clínicamente, el signo principal fue el aumento de volumen asintomático (72%), seguido por el aumento de volumen y dolor (17%) y el aumento de volumen con



adormecimiento (11%). El seguimiento varió entre 1 a 24 meses, y el 47% de los casos tuvieron entre 1 y 9 recurrencias (2,6,8-20).

Radiográficamente, la mayoría de las lesiones mostraron imágenes radiolúcidas homogéneas (59%), aunque en dos casos se observaron focos o pequeñas masas radiopacas dentro de la lesión (12%). En los casos restantes no se comentaron estas características (2,6-13,18-22). Solo el 12% de los casos reportados muestran lesiones con límites bien definidos y el 6% límites difusos; (2,6-13,18-22). De los casos reportados, el 41% fueron lesiones uniloculares y el 17% multiloculares; en los demás casos no se comentaron estas características (2,6,8-20).

El 50% de los casos presentaron resorción radicular y de ellos, el 21% presentaron resorción en incisivos, 21% en zona premolar-molar, y 8% en la zona comprendida de canino a tercer molar. 14% refirieron presentar divergencia radicular, en el 8% había desplazamiento de los órganos dentales y en el 29% restante no se describió involucración alguna de los órganos dentarios (2,6,8-20).

Microscópicamente, la mayoría los AAD presentan características de ameloblastoma plexiforme. Se describen como lesiones formadas por células epiteliales odontogénicas columnares y cúbicas, con núcleo hipercromático, polarización invertida en las células columnares periféricas y retículo estrellado en el centro. Las células tumorales se extendieron en el estroma de tejido conjuntivo formando delgados filamentos entrelazados formando estructuras plexiformes. El epitelio odontogénico estaba rodeado por tejido conjuntivo con grandes zonas de colágena y fibroblastos fusiformes, con acúmulos de matriz eosinofílica, la cual definieron como material dentinoide (11). Mota Loyola *et al.* describieron espacios o pseudoductos, así como elementos



mesenquimatosos en su luz, con secreción mucoide basófila, sin evidencia de un componente celular secretor. También encontraron un “racimo” de células fantasma y nódulos de láminas concéntricas basofílicas calcificadas (9). Sivapathasundharam *et al.* reportaron proliferación intramural de células epiteliales odontogénicas formadas por tejido ameloblástico de tipo plexiforme, así como algunas zonas con estructuras parecidas a túbulos dentinarios (12).

El tratamiento del AAD es la resección quirúrgica con márgenes de seguridad. Después de realizar la resección mandibular y tras la recurrencia, Takata *et al.* aplicaron radioterapia en la zona, con disección ganglionar en cuello. A pesar de que el paciente presentaba linfadenopatía, no se demostraron metástasis. Concluyeron que la radioterapia no es necesaria, ya que este tumor no genera recurrencia si la resección mandibular está bien hecha (13). En la mayoría de los casos analizados por Mota-Loyola *et al.* no hubo recurrencia después del tratamiento, con una tasa de éxito del 92% (9). No obstante, un diagnóstico inadecuado o tratamiento demasiado conservador puede llevar a la recidiva en más del 70% de los casos (9). Evans *et al.* describieron que, tras realizar curetaje mecánico, el paciente presentó tres recidivas. Sin embargo, después de realizar la enucleación y posterior resección quirúrgica, no se observó recurrencia después de 18 meses (8). Matsumoto *et al.* reportaron que dos años después de la resección quirúrgica, se presentó recurrencia en el seno etmoidal (10).



2.4. Citoqueratinas y PCNA en Tumores Odontogénicos.

Las citoqueratinas, forman parte del citoesqueleto, son filamentos intermedios específicos de las células epiteliales, forman una red compleja de fibras fuertes y flexibles que se extiende desde la superficie del núcleo a la porción periférica de la célula, proporcionan fuerza mecánica a la célula cuando es sometida a tensión física, brindan soporte estructural, al conectar la superficie nuclear con la membrana plasmática, proporcionan un vínculo que puede tener implicaciones en la organización del citoplasma y la comunicación celular, y al insertarse en los desmosomas y hemidesmosomas contribuyen a la estabilidad de las células epiteliales, y a la unión de éstas con la membrana basal (21).

Existen diferentes subconjuntos de citoqueratinas se expresan durante el curso de la diferenciación terminal en diferentes etapas de desarrollo dental. así como en diferentes tipos de epitelios. Cuando los epitelios sufren transformación maligna, la expresión de citoqueratinas es más o menos constante, por lo que los patrones de expresión no sólo permiten identificar el origen epitelial. sino que permite determinar las etapas de diferenciación del epitelio y tipificar el tumor (21).

En la región bucal. especialmente por la presencia de tejido odontogénico, diversas citoqueratinas se observan en la lámina dental. epitelios interno y externo del esmalte, así como células del retículo estrellado (22).

Mota Loyola et al son los únicos que reportaron la presencia de citoqueratinas CK7, CK14, CK19, CK8 Y CK18 en el AAD (9).



El antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) es una proteína nuclear de 36kd, en forma de anillo, proviene de la familia de “abrazaderas” del DNA y participa en la replicación del DNA, está asociado con la DNA-polimerasa, permitiendo el deslizamiento del DNA, se sintetiza durante la fase final del G1 y S del ciclo celular. El anti-PCNA reconoce las células que están en las diferentes fases del ciclo de división celular y el aumento en su expresión indica tumorigénesis (23,24).

3. Planteamiento del problema.

El ameloblastoma es uno de los tumores odontogénicos más frecuentes a nivel mundial. El AAD es una entidad poco reportada, por lo que las características clínicas, imagenológicas e histopatológicas de esta lesión no están claramente identificadas por los especialistas. Bajo estas circunstancias, su diagnóstico se ve comprometido, toda vez que puede confundirse principalmente con un TOA. A diferencia de otros ameloblastomas y del TOA, el AAD tiene un alto potencial de crecimiento y agresividad local. Estos potenciales dependen de la coparticipación de diversas señales moleculares que permiten a las células neoplásicas, proliferar y modificar el estado de unión con sus homólogas o a su matriz extracelular. Las citoqueratinas como proteínas que tienen entre otras funciones, mantener la estructura de la célula y permitir la unión célula-célula y célula-matriz extracelular, representan actividades clave en la comprensión del comportamiento biológico de las neoplasias caracterizadas por su capacidad elevada de agresividad.



4. Justificación.

Al ser el AAD una entidad neoplásica poco reportada, aún se desconocen sus detalles celulares y moleculares, por lo que el presente trabajo además de dar una descripción clínica, microscópica e imagenológica detalladas de un caso nuevo se plantea determinar el inmunoperfil de citoqueratinas, así como su índice de proliferación. Lo anterior con el fin de discutir la participación de estas moléculas en el comportamiento de la lesión, que se caracteriza por ser localmente agresiva y recidivante. Con este trabajo aumentará el número de casos de AAD reportados en la literatura de esta entidad que, por ser pocas veces reconocida, aún no está considerada como un subtipo de ameloblastoma por la Organización Mundial de la Salud.

5. Objetivo general.

Describir las características clínicas y microscópicas del AAD, así como el inmunoperfil de las citoqueratinas CK5, CK7, CK14 y CK19 e índice de proliferación mediante el marcador PCNA.

5.1. Objetivos específicos.

Mediante la evaluación del índice de proliferación, así como el patrón de inmunoexpresión de las citoqueratinas CK5, CK7, CK14 y CK19 en el AAD, discutir su participación en el comportamiento biológico de esta lesión.



5.2. Hipótesis.

La inmunoexpresión diferencial de las citoqueratinas CK5, CK7, CK14 y CK19 e índice de proliferación celular están relacionados con el origen odontogénico y elevado potencial de crecimiento de la lesión.

6. Material y métodos.

6.1. Procedencia del espécimen.

El espécimen analizado fue el producto de la intervención quirúrgica llevada a cabo en un paciente de 53 años de edad, sexo masculino, de origen mexicano (Puebla, México). En enero del 2016 el paciente se presentó al Servicio de Estomatología del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, con un historial de recidivas por dos diagnósticos previos de ameloblastoma sin establecer el subtipo microscópico.

Al momento de la consulta, la principal molestia del paciente fue un aumento de volumen, asintomático, de crecimiento lento, en la región posterior del cuerpo mandibular. La revisión intrabucal reveló la presencia de una masa tumoral desde la zona del canino hasta el segundo molar inferior derecho. En la radiografía panorámica se observó una lesión radiolúcida, multilocular, bien definida, con algunas zonas mal definidas desde el canino inferior derecho hasta el segundo molar inferior derecho, respetando el borde basal mandibular con resorción radicular del primer premolar y el canino inferior derecho



El paciente no padecía ninguna enfermedad sistémica y los estudios de laboratorio no revelaron anormalidades. Bajo anestesia general, se realizó una amplia resección desde el canino hasta el segundo molar inferiores derechos y el espécimen obtenido se fijó en solución amortiguada de formalina. Se realizó la descripción macroscópica del espécimen y se tomó una tomografía cone-beam de la pieza quirúrgica. El tejido se procesó en forma rutinaria para obtener cortes a 4 μ , teñidos con H y E. El diagnóstico histopatológico final de Ameloblastoma Adenoideo con Dentinoide lo realizaron tres Patólogos Bucales (CLM y JCHG del Departamento de Inmunología de la UNAM y AMT de la UAM Xochimilco).

6.2. Procesamiento inmunohistoquímico.

Se realizaron cortes a 2 μ , montados en portaobjetos precargados con silano (Kling-On HIER Slides). Se realizó recuperación antigénica con buffer de citratos, se bloqueó la actividad de peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno al 3% e incubación con albúmina al 0.2%. Posteriormente, los cortes se incubaron con anticuerpos anti-PCNA (de ratón, anti-humano, IgG_{2a}, Santa Cruz Biotechnology, USA); anti-CK5 (de ratón, anti-humano, IgG1) anti-CK7 (de ratón, anti-humano, IgG₁) anti-CK14 (de ratón, anti-humano, IgG₃) y anti-CK19 (de ratón, anti-humano, IgG_{2a/k}) durante 2 horas a temperatura ambiente. Posteriormente se incubaron con anticuerpo secundario anti-ratón (Santa Cruz Biotechnology, USA), de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Se realizó contratinción con hematoxilina de Gill (Sigma- Aldrich). Se deshidrataron con alcoholes descendentes y se aclararon con xilol. El montaje se realizó con resina Entellan.



Con todos los anticuerpos se usaron cortes de encía como control. La observación de las laminillas se realizó en un microscopio de luz (Olimpus) y se tomaron fotomicrografías a 20X, 40X y 100X.

6.3. Determinación del índice de proliferación (IP).

El IP se determinó mediante el análisis de 20 campos de 40X elegidos aleatoriamente y se realizó conteo de células positivas obteniendo un valor expresado en porcentaje.

6.4. Análisis estadístico.

Aunque es un estudio semicuantitativo, los datos se analizaron con la Prueba T Student y $p < 0.05$ se consideró significativa. La intensidad del marcaje se evaluó considerando la siguiente escala: 0= negativo, 1= leve, 2= moderado y, 3= intenso, y la localización celular del marcaje fue membranal, citoplásmica o nuclear.

6.5. Consideraciones éticas.

Como parte de los criterios éticos establecidos por el Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, se informó y se obtuvo permiso del paciente para la toma de fotos extra e intrabucales, el procedimiento quirúrgico y espécimen obtenido, estudios radiográficos con fines de publicación en forma de tesis, artículo y exposición científica.

Esta autorización fue aceptada en términos de estado consciente y voluntario por parte del paciente. El documento fue corroborado con las firmas correspondientes y

documentos de identificación, ya sea por la misma paciente o por las personas responsables.

6.6. Equipo, reactivos y material.

Equipo	Reactivos	Material
<ul style="list-style-type: none"> • Estufa. (Lab-Line) • Microscopio de luz (OlimpusBX-40) • Microtomo (American-Optical) • Tina de flotación. (Lab-Line) 	<ul style="list-style-type: none"> • Ácido nítrico al 5%. • Agua bidestilada. (Hycel) • Albúmina bovina. (Sygma) • Alcohol 100% (Reasol) • Anticuerpos primarios. (Santa Cruz Biotechnology) • Anticuerpos secundarios. (Santa Cruz Biotechnology) • Buffer de citratos. • Peróxido de hidrógeno. (Sigma-Aldrich) • Resina Entellan® • Tinción de Hematoxilina de Gill. (Sigma- Aldrich) • Xilol. (Reasol) 	<ul style="list-style-type: none"> • Cubreobjetos. (Biocare) • Portaobjetos precargados. (Biocare) • Vasos de Koplín. • Pinzas de curación. • Cámara de incubación.

7. Descripción de las laminillas.

En las laminillas teñidas con H y E, se observaron dos arreglos diferentes, el primero fue una amplia zona multiquística y el segundo fue una estructura neoplásica sólida.

La zona quística estaba revestida por epitelio plano, estratificado, no queratinizado, células cubicas o

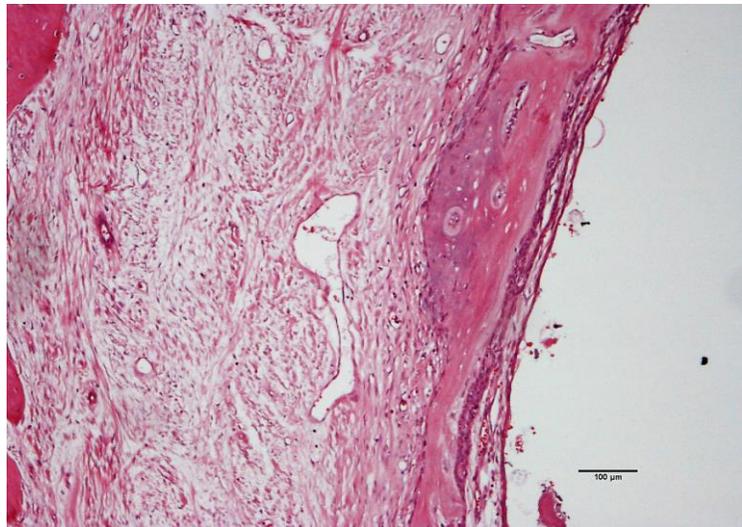


Imagen 1: Zona quística rodeada por material de aspecto dentinoide y capsula de tejido conjuntivo fibroso laxo. H y E. 10x

alargadas, de 2 a 5 capas de grosor acompañada en muchas ocasiones por material hialino, eosinófilo, de aspecto dentinoide, rodeada por tejido conjuntivo fibroso laxo (imagen 1).

En diferentes zonas se observaron islas de epitelio odontogénico de aspecto

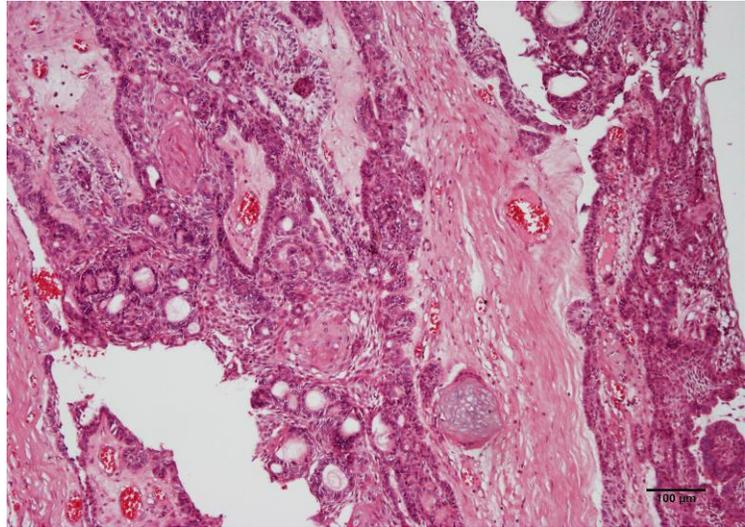


Imagen 2: presencia de pseudoductos y células fantasma. H y E. 10x

ameloblastomatoso, y en otras áreas, tejido con aspecto parecido al TOA, grupos de células fantasmas dispersos entre el tejido conjuntivo y material eosinófilo, hialino, de aspecto dentinoide, lo cual dio un aspecto parecido al Quiste Odontogénico Calcificante (QOC) (Imagen 2).

En la porción sólida se observaron redes e islas de epitelio odontogénico, de diferentes

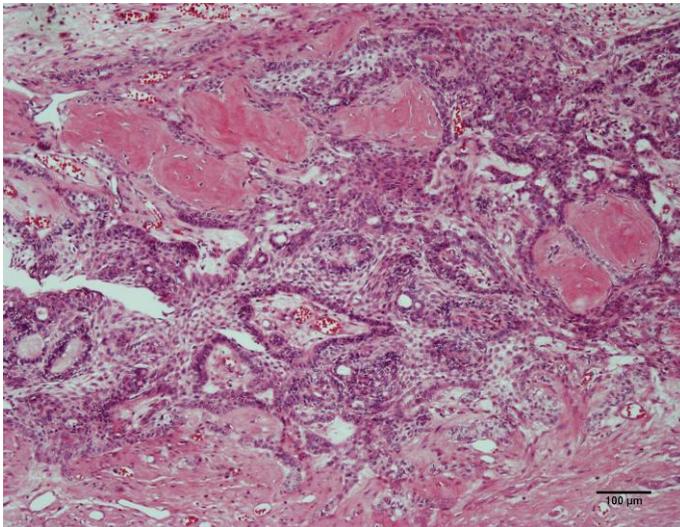


Imagen 3: Zona sólida, aspecto ameloblastomatoso de tipo plexiforme. H y E. 10x

tamaños y formas con células periféricas cúbicas ó columnares. Algunas presentaron polarización invertida, vacuolización citoplásmica y núcleo hiper cromático, con apariencia de un ameloblastoma de tipo plexiforme (Imagen 3).

En otras áreas, se observaron pseudoconductos rodeados por epitelio cúbico, así como zonas parecidas a retículo estrellado, en algunas zonas se pueden apreciar células alargadas de tipo fusiforme que forman remolinos, todo ello con características parecidas al TOA, el estroma alrededor de estas islas es tejido conjuntivo laxo. Así como

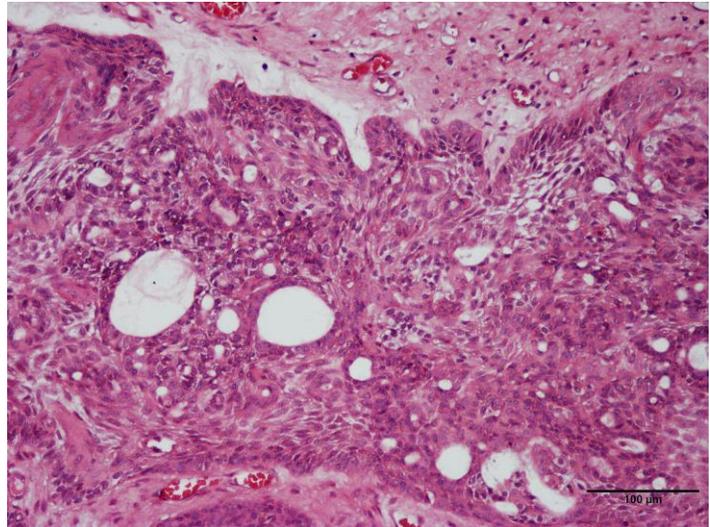


Imagen 4: Presencia de remolinos y pseudoductos, se observan células con citoplasma claro. 10x

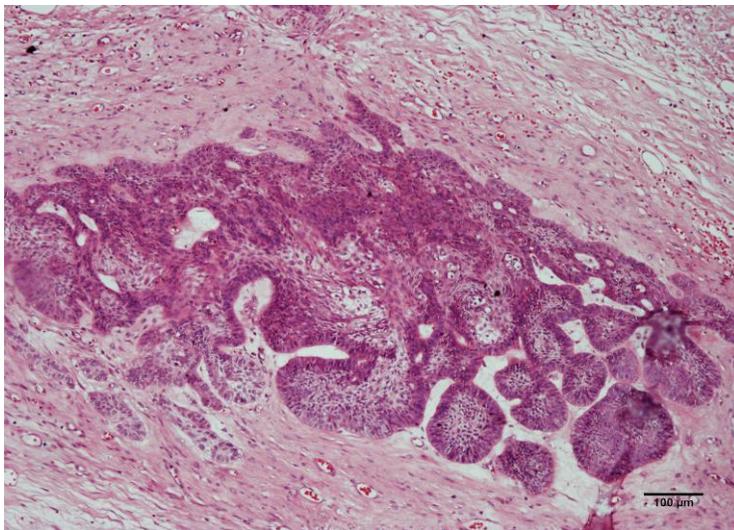


Imagen 5: Gemaciones o yemas hiper cromáticas encontradas en la periferia de la neoplasia. H y E. 10x

perlas de queratina e islas con células de citoplasma claro. (Imagen 4). En la periferia de estas estructuras solidas se observaron brotes o yemas de células periféricas cúbicas o columnares, hiper cromáticas y algunas presentan polarización invertida.

Estas características son

parecidas al componente epitelial del fibroma ameloblástico (Imagen 5).

Existieron numerosas áreas atípicas, formadas por células poligonales, de citoplasma eosinófilo, límites celulares imprecisos, hiper cromatismo nuclear, pérdida de la relación núcleo-citoplasma, algunos nucléolos prominentes, vacuolización citoplásmica, escasas mitosis atípicas, zonas de necrosis y células gigantes multinucleadas (Imagen 6).

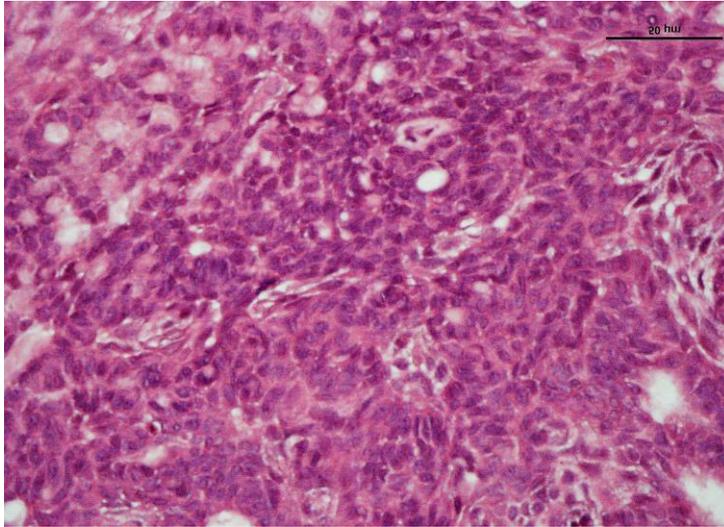


Imagen 6: Zona atípica con pérdida de relación núcleo-citoplasma. H y E. 40x

El material de aspecto dentinoide se observó en íntima relación con el epitelio odontogénico neoplásico de aspecto sólido y asociado con el epitelio quístico. Este material fue de aspecto homogéneo, eosinófilo, algunas veces con lagunas ocupadas por células que parecieran ser

osteocitos, en otras con células tipo odontogénico de citoplasma claro, inmersas en este material; En otras áreas, este material se observó acelular (Imágenes 7,8 y 9). Las islas de este material fueron de diferente forma y tamaño, pero siempre asociadas con tejido odontogénico.

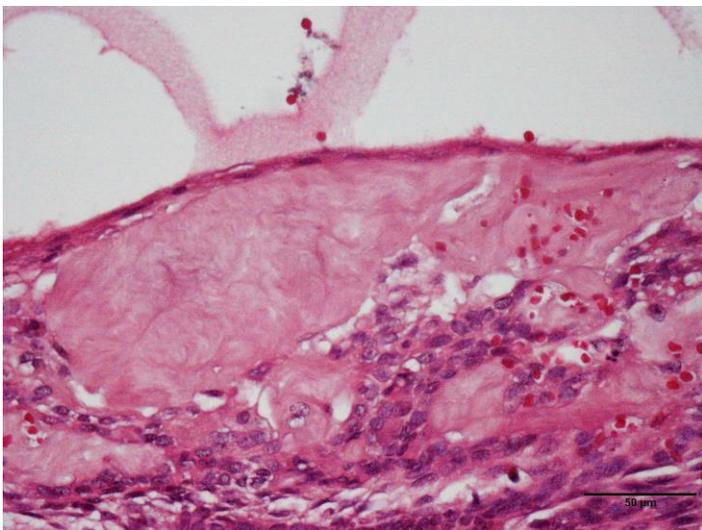


Imagen 7: Material eosinófilo acelular, con presencia de algunas células odontogénicas inmersas. H y E. 40x.

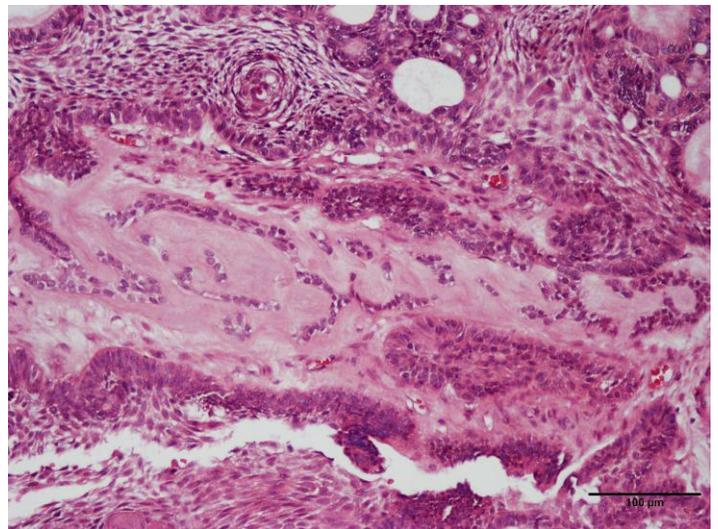


Imagen 8: Células de origen odontogénico inmersas dentro del material hialino, y remolinos de células escamosas. H y E. 10x.

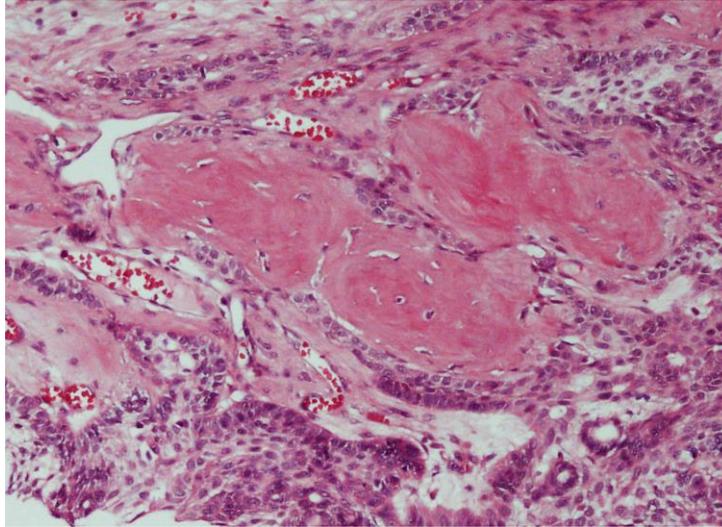


Imagen 9: Lagunas ocupadas por células parecidas al osteocito inmersas en el material hialino. H y E. 10x.

8. Índice de proliferación.

Los resultados arrojados por el conteo celular muestran que el AAD tuvo un 86% de células positivas a PCNA, a comparación del tejido control (encía) que tuvo un 78% de células positivas, las células con mayor expresión fueron cúbicas, fusiformes y periféricas, así como las células que rodean a la entidad quística y las gemaciones encontradas en diferentes zonas.

Como se observa en la tabla 1, la citoqueratina 19 tuvo la expresión más fuerte, en todas las zonas estudiadas, al contrario de la citoqueratina 14 la cual tuvo una mayor expresión en las porciones sólidas (dentinocitos, células atípicas), y en las células que rodean la entidad quística.



Tabla 1. Inmunoexpresión de Citoqueratinas y PCNA en AAD.

Área	Tipo de células	Citoqueratina 14	Citoqueratina 19	PCNA
Plexiforme	Periféricas	2	3	3
	Centrales	1-2	3	2
Islas sólidas	Centrales	2-3	3	0
	Periféricas	1	3	0
	Atípicas	-----	-----	-----
	Dentinoblastos	2-3	3	2-3
	Dentinocitos	3	3	2-3
	Fantasma	-----	-----	0
	Perlas de queratina	-----	-----	0
	Cubicas	1	3	3
	Fusiformes	2	3	3
	Remolinos	2	3	3
	Claras	-----	-----	-----
	Quísticas	2-3	3	3
	Gemaciones	2	3	3
	Células atípicas	3	3	-----

0 = negativo 1 = leve 2 = moderado 3 = intenso

9. Descripción y análisis del inmunoperfil de citoqueratinas.

Ck14:

En este tumor, las zonas con atipia, dentinoide y pseudoconductos no tuvieron positividad.

Se encontró tejido tumoral intracapsular levemente positivo, con el citoplasma bien definido, de igual manera en nódulos subepiteliales.

El epitelio íntimamente relacionado con la cavidad quística mostró positividad uniforme en la mayoría de las zonas estudiadas, algunas células de la capa basal se encontraron con positividad intensa (imagen 10). Las zonas solidas tumorales fueron positivas bien definidas, en las gemaciones solo algunas células se observaron positivas, aunque en otras zonas se encontraron fuertemente positivas de manera uniforme (imagen 11), se encontraron células de tipo ameloblastomatoso con polarización invertida con positividad una leve y difusa.

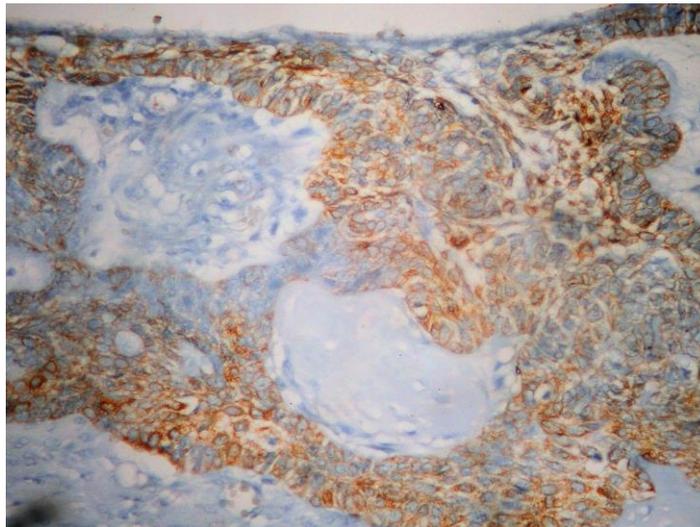


Imagen 10: positividad a Ck14 de células íntimamente relacionadas al área quística y porciones sólidas, se alcanza a apreciar el material hialino negativo vista 40x.

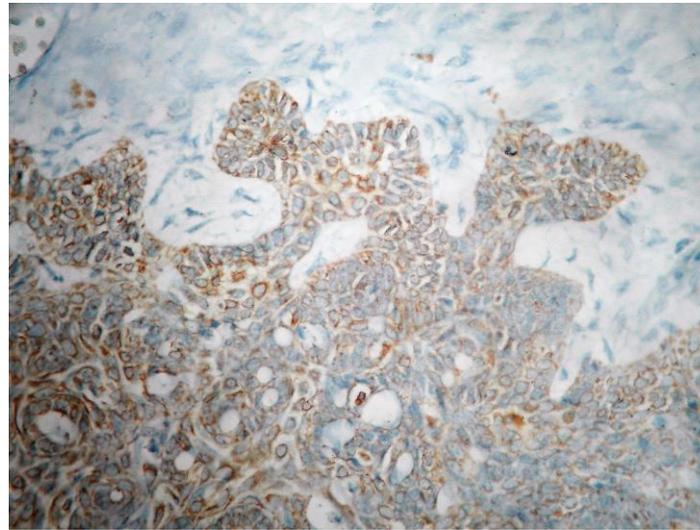


Imagen 11: gemaciones levemente positivas y algunos pseudoductos Ck14 vista 40x.

Las zonas hialinas fueron negativas, las células periféricas al material dentinoide fueron positivas, así como las células dentro del dentinoide.

Por último, el epitelio que forma los pseudoductos fue negativo, algunas células alrededor presentaron positividad leve y difusa (imagen 12).

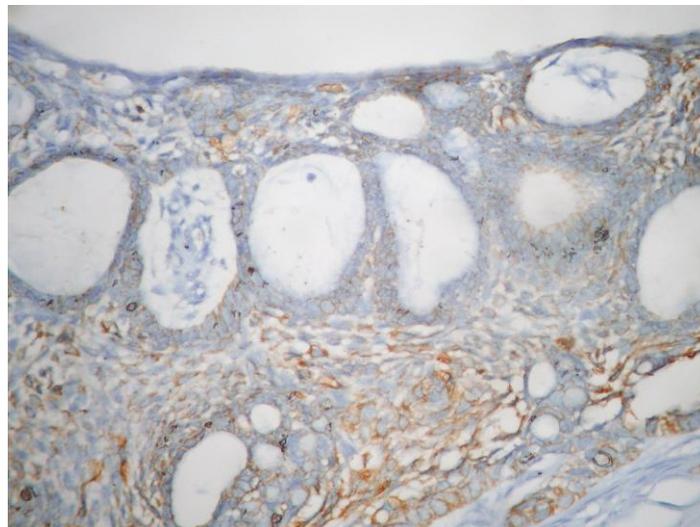


Imagen 12: pseudoductos de negativos a levemente positivos a Ck14 vista 40x.

Ck19:

En el AAD se presentaron zonas con positividad intensa en las 4 o 5 capas de epitelio que rodea la zona quística y en la porción basal. en las células centrales la positividad fue leve y difusa, las proliferaciones murales se encontraron intensamente positivas (imagen 13).

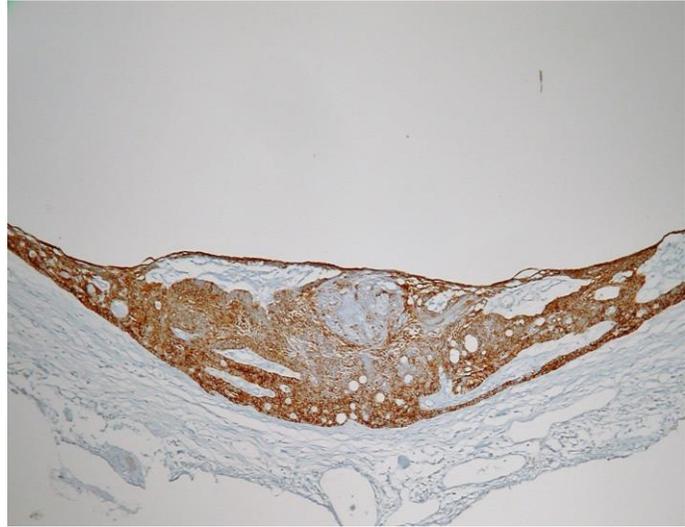


Imagen 13: zona capsular, con células fuertemente positivas a Ck19. 10x

La zona tumoral se encontró uniformemente positiva de leve a intensa, la zona con mayor intensidad se vio generalmente en las gemaciones y en las zonas centrales de dichas islas (imagen 14), el epitelio ameloblastomatoso se encontró positivo, difuso, con variabilidad en su intensidad.

Los dentinocitos se encontraron intensamente positivos de manera uniforme, el epitelio que rodea esta zona hialina (dentinoide) y la zona periférica fueron intensamente positivas (imagen 15).

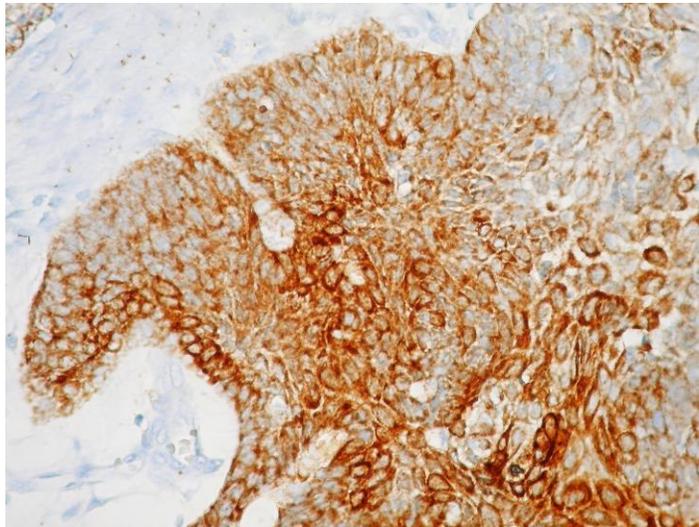


Imagen 14: Gemaciones y atipia en la zona central de la isla tumoral intensamente positivas a Ck19. 40x

El epitelio que rodea a los pseudoductos se encontró en su mayoría negativo con algunas

porciones celulares positivas de leves a intensas. Los remolinos formados por células fusiformes fueron intensamente positivos, cabe destacar que las porciones periféricas donde se encuentran los pseudoductos fueron intensamente positivas (imagen 16). Las citoqueratinas 5 y 7 fueron negativas en todas las laminillas analizadas.

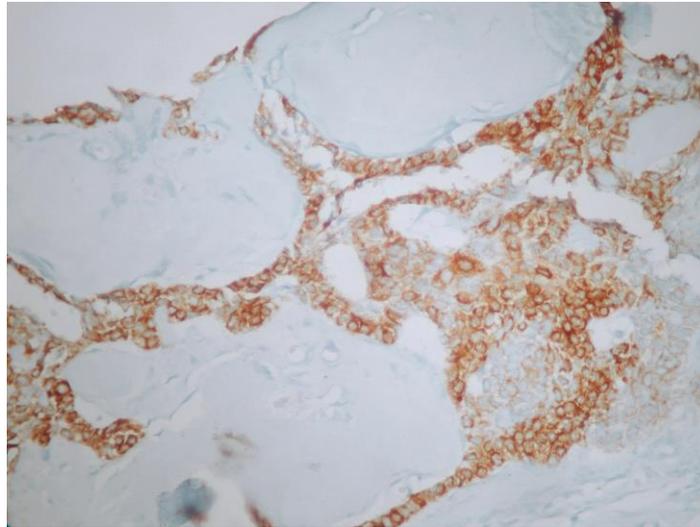


Imagen 15: dentinocitos positivos a Ck19. 10x

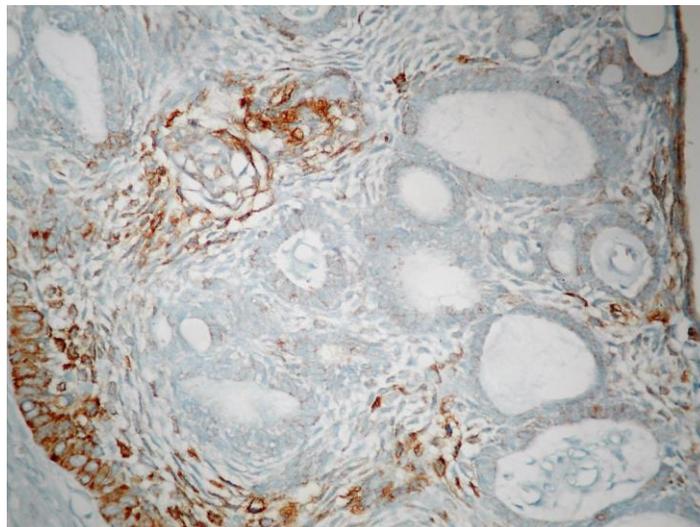


Imagen 16: Pseudoductos negativos a Ck19, mientras que las células periféricas son intensamente positivas. 40x

PCNA fue intensamente positivo en la zona quística, aunque en algunas células de manera difusa (imagen 17), en la zona sólida fue levemente positivo pero uniforme, el marcaje más intenso se mostró en la zona de atipia celular, las células que estaban en relación con el material dentinoide también tuvieron positivismo leve, así como las células inmersas en este material (imagen 18). Las células epiteliales que rodean a los pseudoconductos de igual manera mostraron positividad leve.

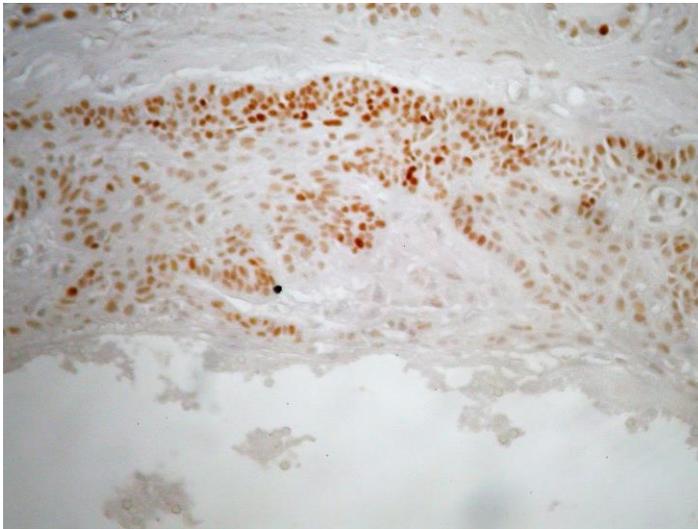


Imagen 17: Inmunoeexpresión de células intensamente positivas en la zona quística. 40x.

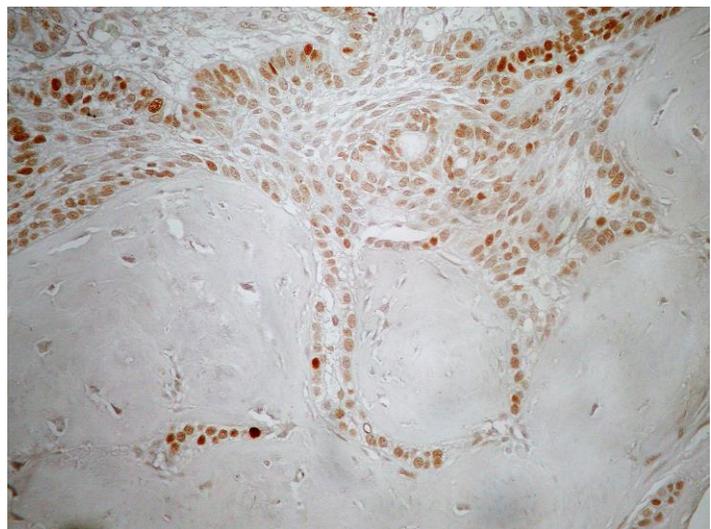


Imagen 18: Inmunoeexpresión de PCNA en células odontogénicas, pseudoductos y en células positivas inmersas en material hialino. 10x.



10. Discusión.

El Ameloblastoma Adenoideo con Dentinoide es una neoplasia que se caracteriza por presentar estructuras similares a diferentes neoplasias de origen odontogénico, como Ameloblastoma, Tumor Odontogénico Adenomatoides (TOA) Quiste Odontogénico Calcificante (QOC) y Tumor Dentinogénico de Células Fantasma (TDCF). En el presente estudio, se muestra un caso de AAD que fue diagnosticado previamente como ameloblastoma sin tipificar, con tres procedimientos quirúrgicos previos e historial de recidivas.

Microscópicamente se encontraron áreas con apariencia de ameloblastoma tipo plexiforme, pseudoductos, células fantasmas, células claras, gemaciones, zonas atípicas y material hialino concordando con las descripciones hechas por otros autores (2,6-20). La presencia de remolinos, células ameloblastomatosas, fusiformes, pseudoductos y material hialino podrían sugerir un diagnóstico diferencial de TOA, pero el hallazgo de células fantasmas, claras, y atipia celular son factores que distinguen al AAD del TOA; de igual manera las zonas quísticas rodeadas por epitelio cúbico a columnar, la presencia de células fantasma y el material hialino podrían suponer el diagnóstico de QOC o TDCF, pero estas neoplasias no presentan áreas ductiformes. Adicionalmente, el AAD presenta pocas células fantasma en comparación con el QOC y TDCF. De la misma manera, la presencia de zonas atípicas y mitosis podría indicar la posibilidad de estar ante algún tipo de ameloblastoma maligno o carcinoma ameloblástico; sin embargo, a diferencia del Carcinoma Ameloblástico, el AAD no muestra zonas atípicas extensas o esparcidas en varias zonas, tal y como se observó en la neoplasia aquí reportada.



Las citoqueratinas son un tipo de filamentos intermedios que se encuentran en los epitelios. Estas moléculas se expresan en diferentes etapas del desarrollo epitelial, así como en etapas maduras y durante procesos de transformación neoplásica. Las citoqueratinas forman una red compleja que va desde el núcleo hasta la periferia de la célula, conectándose con los desmosomas y hemidesmosomas. Al insertarse, contribuyen a la estabilidad de las células, participan en la unión célula-membrana basal y, regulan procesos metabólicos, crecimiento, proliferación, migración y apoptosis (21,25).

Ck5 se presenta en el epitelio escamoso estratificado y, durante la odontogénesis se expresa en el órgano del esmalte. Asimismo, se ha reportado su expresión en adenocarcinomas, algunos ameloblastomas y en el TOA, particularmente por su relación con tejido de origen glandular (25-27).

Ck7 se expresa en los epitelios simple y de origen glandular, germen dentario, restos de la lámina dental y vaina de Hertwig. En tumores de origen odontogénico es positivo en Fibroma Ameloblástico, Tumor Odontogénico Epitelial Calcificante y Odontoma (22,26,28,29).

Mota Loyola *et al.* reportaron pobre positividad de Ck7 en el AAD, por lo que descartaron su utilidad en el diagnóstico. No obstante, aunque en nuestro estudio, Ck5 y Ck7 fueron negativas en todas las zonas estudiadas, estos resultados apoyan la idea de que el AAD no tenga epitelio de origen ductal. Lo anterior es relevante debido a la confusión en el diagnóstico con el TOA que suele ocurrir con frecuencia entre patólogos poco experimentados.



Durante el desarrollo dental, CK14 está presente en la lámina dental y el epitelio interno del esmalte en el estadio temprano de campana, mientras que CK19 es positiva en células epiteliales del órgano del esmalte, lámina dental y epitelio interno del esmalte en estadio de campana tardío (21,26,30). En el estudio de Mota Loyola *et al.*, Ck14 tuvo una expresión débil y focal, mientras que Ck19 se expresó difusamente, lo que lleva a suponer el origen epitelial de la neoplasia. La positividad de CK14 y CK19 en la mayoría de las zonas analizadas en nuestro estudio, indica que el AAD puede tener origen de los restos epiteliales de la lámina dental y/o el epitelio interno del órgano del esmalte. No obstante, es más probable que su origen sea el epitelio interno del órgano del esmalte, ya que, si fuesen los restos de la lámina dental, Ck5 y Ck7 serían expresadas en alguna zona de la neoplasia. Ongúti *et al.* realizaron un estudio de expresión de citoqueratinas en ameloblastomas y sugirieron que la positividad a Ck19 podría indicar premalignidad. En nuestro estudio se encontraron además zonas con atipia celular que aunadas a la expresión positiva de Ck19 podrían indicar la posibilidad de transformación maligna del AAD (31).

El antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) es una proteína nuclear que participa en la replicación del ADN y aparece en la fase final del G1 y S. El marcador anti-PCNA reconoce a las células que están en las diferentes fases del ciclo celular. El Índice de Proliferación (IP) nos ayuda a determinar la expresión de dicha positividad en forma numérica (porcentaje) (23,24). En el AAD analizado en el presente estudio, el IP fue de 86%. Asimismo, el marcaje fue mayor en el epitelio asociada a la cavidad quística, gemaciones y células fusiformes. El IP varía entre los distintos tipos de neoplasias de origen odontogénico, como es el caso del estudio realizado por Sandra *et al.*, en donde



el IP más alto fue encontrado en el Ameloblastoma Folicular con un rango de 6.8% a 23.78% (32). Mientras que Meer *et al.* encontraron un IP de 79.5% en el epitelio de revestimiento del ameloblastoma uniuístico (33), y Salehinejad *et al.* encontraron un IP de 64% en el TOA (34). De acuerdo a nuestros resultados, el elevado IP demuestra la capacidad del AAD para crecer y comportarse agresivamente, desde el punto de vista de la propensión a la expansión. Justo por lo anterior, los procedimientos realizados para su tratamiento debieran ser lo suficientemente extensos, para garantizar la eliminación completa del tumor, sin dejar células con un potencial elevado de crecimiento, eliminando así la posibilidad de recidiva.



11. Conclusiones.

- La expresión negativa de Ck5 y Ck7 descarta la idea de que los “ductos” observados en la lesión tengan un origen glandular, por lo que el término “adenoideo” se refiere únicamente a su apariencia histológica.
- La expresión de la Ck14 es indicativa del origen odontogénico de la neoplasia, que aunado a la expresión altamente positiva de Ck19, nos sugiere como origen al epitelio interno del esmalte.
- La inmunoexpresión positiva de Ck19 y elevado índice de proliferación sugieren la posibilidad de transformación maligna de la lesión.



12. Referencias.

1. Verd M, Muller S, Heikinheimo K. Ameloblastoma. En: El-Nagar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ. WHO Clasification of Head and Neck Tumors. 4th ed. Lyon, France: IARC Press; 2015.
2. Salehinejad J, Gholami M, Esghpour M, Mehri T. An infrequent histopathological subtype of ameloblastoma: Adenoid granular cell ameloblastoma with dentinoid. Dent Res J. 2016; 13: 276-378.
3. Sapp JP, Lewis R, Wysocki GP. Patología Oral y Maxilofacial Contemporánea. 2^a ed. Madrid: Harcourt; 2001.
4. Ledesma-Montes C, Mosqueda-Taylor A, Carlos-Bregni R, Romero de Leon E, *et al.* Ameloblastomas: a regional Latin-American multicentric study. Oral Dis. 2007; 13: 303-307.
5. Mosqueda-Taylor A, Ledesma-Montes C, Caballero-Sandoval S, Portilla-Robertson J, Ruiz-Godoy LM, Meneses García A. Odontogenic tumours in México. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1997; 84: 672-675.
6. Slabbert H, Altini M, Crooks J, Uys P. Ameloblastoma with dentinoid induction: dentinoameloblastoma. J Oral Pathol Med. 1992; 21: 46-48.
7. Brannon RB. Adenoid Ameloblastoma with Dentinoid. Armed Forces Institute of Pathology. ROP-COM. Washington. 1994:1-94.
8. Evans BL, Carr RF, Phillipe LJ. Adenoid ameloblastoma with dentinoid: a rare case report. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004; 98: 583-588.
9. Mota Loyola A, Vitorino Cardoso S, Rogério de Faria, *et al.* Adenoid ameloblastoma: clinicopathologic description of five cases and systematic review of the



- current knowledge. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2015; 120: 368-377.
10. Matsumoto Y, Mizoue K, Seto K. Atypical plexiform ameloblastoma with dentinoid: adenoid ameloblastoma with dentinoid. J Oral Pathol Med. 2001; 30: 251-254.
11. Mishra G, Ramesh G, Seth R, Chaubey S. Plexiform ameloblastoma with dentinoid induction: A rare case report. J Dent Res Updates. 2014; 1: 61-64.
12. Sivapathadundharam B, Einstein A. Unicystic ameloblastoma with the presence of dentin. Indian J Dent Res. 2007; 18: 128-130.
13. Takata K, Adachi F, Nemoto ER, *et al.* Combined epithelial odontogenic tumor: a case of combined epithelial odontogenic tumor. Nippon Koku Geka Gakkai Zasshi. 1981; 31:155-161.
14. Tajima Y, Yokose S, Sakamoto E, Yamamoto Y, Utsumi N. Ameloblastoma arising in calcifying odontogenic cyst. Report of a case. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1992; 74: 776-779.
15. Saxena K, Jose M, Chatra LK, Sequiera J. Adenoid ameloblastoma with dentinoid. J Oral Maxillofac Pathol. 2012; 16: 272-276.
16. Kumar K. Shetty DC, Wadhwan V. Dhanapal R. Singh HP. Dentinoameloblastoma with ghost cells: a rare case report with emphasis on its biological behavior. Dent Res J (Isfaham). 2013; 10: 103-107.
17. Sonone A, Handle A, Chaudhary M, Bonde R, Sheorain A. Agni N. Adenoid ameloblastoma with dentinoid and ghost cells. A composite odontogenic tumour: a rare case report and review of the literature. Oral Surg. 2011; 4: 77-81.



18. Ghasemi-Moridani S, Yazdi I. Adenoid ameloblastoma with dentinoid: a case report. Arch Iran Med. 2008; 11: 110-112.
19. Ide F, Mishima K, Satio I, Kusuma. Diagnostically challenging epithelial odontogenic tumors: a selective review of 7 jawbone lesions. Head Neck Pathol. 2009; 3: 18-26.
20. Khalele BAEO, Al-Shiaty RA. Adenoid ameloblastoma with dentinoid and cellular atypia: a rare case report. Ital J Med. 2016; 10(3): 1-4.
21. Nieves S, Apellaniz D, Tapia G, *et al.* Citoqueratinas 14 y 19 en quistes y tumores de origen odontogénico. Una revisión. Odontoestomatología. 2014; 17: 45-55.
22. Wato M, Chen Y, Fanf YE, *et al.* Immunohistochemical expression of various cytokeratins in ameloblastomas. Oral Med Pathol. 2006; 11: 67-74.
23. Chimenos-Kustner E, Font- Costa I, López-López J. Riesgo de Cáncer oral y marcadores tumorales. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2004; 9: 377-384.
24. Salehinejad J, Zare-Mahmoodabadi R, Saghafi S, Jafarian AH, Ghazi N, Rajaei, AR, Marouzi P. Immunohistochemical detection of p53 and PCNA in ameloblastoma and adenomatoid odontogenic tumor. J Oral Sci. 2011; 2: 213-217.
25. Premalatha Br, Patil S, Rao RS, Reddy NP, Indu M. Odontogenic tumor markers- An overview. J Int Oral Health. 2013; 5(2): 59-69.
26. Crivelini MM, de Araujo VC, de Sousa SOM, de Araujo NS. Cytokeratins in epithelia of odontogenic neoplasms. Oral Dis. 2003; 9: 1-6.
27. Esquiche-Leon J, Martinez-Mata G, Rodrigues-Fregnani E, Carlos-Bregni R, Paes de Almeida O, Mosqueda-Taylor A, Agustin-Vargas P. Clinicopathological and immunohistochemical study of 39 cases of Adenomatoid Odontogenic Tumour: A multicentric study. Oral Oncol. 2005; 41: 835-842.



-
28. Rolland M, Werner W, Schiller L. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell*.1982; 31: 11-24.
29. Domingues MG, Jaeger MMM, Araújo VC, Araújo NS. Expression of cytokeratins in human enamel organ. *Eur J Oral Sci*. 2000; 108: 43-47.
30. Apellaniz D, Nieves S, Tapia G, Maglia A, Mosqueda-Taylor A, Bologna Molina R. Análisis inmunohistoquímico de CK14 y CK19 en germen dentario y ameloblastoma. *Odontoestomatología*. 2015; 17(25): 4-10.
31. Ongúti MN, Howells GL, Williams DM. An immunohistochemical study of keratin expression in ameloblastoma from Kenyan population. *Oral Dis*.1999; 5: 111-116.
32. Sandra F, Mitsuyasu T, Nakamura N, Shiratsuchi Y, Oishi M. Immunohistochemical evaluation of PCNA and Ki-67 in ameloblastoma. *Oral Oncol*. 2001; 37; 193-198.
33. Meer Shabnum, Galpin J, Altini M, Coleman H, Ali H. Proliferating cell nuclear antigen and ki-67 immunoreactivity in ameloblastomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2003; 95: 213-221.
34. Salehinejad J, Zare-Mahmoodabadi R, Saghafi S, Jafarian AH, Ghazi N, Rajaei AZ, Marouzi P. Immunohistochemical detection of p53 and PCNA in ameloblastoma and adenomatoid odontogenic tumor. *J Oral Sci*. 2011; 2: 213-217.