



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Iztacala

"Análisis del perfil de expresión proteico del tumor odontogénico queratoquístico".

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A (N)

Lozano Landa Jonathan Antonio

Director Dr. Alejandro García Muñoz

Dictaminadores Dra. Cynthia Georgina Trejo Iriarte

Dr. José Francisco Gómez Clavel

Los Reyes Iztacala, Edo. de México 1/05/2018



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.

1. ABREVIATURAS.

***OD**: órgano(s) dentario(s).

***TOQ**: Tumor odontogénico queratoquístico.

***QO**: Queratoquiste odontogénico.

***SNCB**: Síndrome del nevo de células basales.

***CPICE**: Carcinoma primario intraóseo de células escamosas.

***CE**: Carcinoma escamocelular.

2. INTRODUCCIÓN.

Dentro de las patologías orales, existe una gran variedad de anormalidades derivadas del desarrollo de los dientes, así como cambios en los tejidos ocasionados por factores extrínsecos durante la vida del individuo.

Dentro de las patologías orales podemos encontrar una gran diversidad de alteraciones, ya sean benignas o malignas. En las lesiones benignas se encuentran aquellas que pueden estar localizadas tanto en el tejido epitelial o conectivo, que clínicamente se caracterizan por permanecer en su sitio de origen, se encuentran bien definidas y delimitadas; histológicamente poseen parénquima y estroma, y tienen la incapacidad de metastatizar, a diferencia de las lesiones malignas. Otro tipo de lesiones maxilares comunes son los quistes, los cuales representan un porcentaje importante de incidencia de alteraciones patológicas independientemente de su origen (odontogénico, inflamatorio o de desarrollo), tienen la capacidad de infiltrarse en espacios medulares y expandirse a través de diferentes mecanismos, ocasionando severas afecciones al sistema estomatognático del paciente involucrado.

Durante este proyecto, se estudió particularmente al “Tumor odontogénico queratoquístico” (TOQ) (Barnes, 2005), recientemente definido con el término de “Queratoquiste odontogénico” (QO) debido a la actualización de la nueva clasificación de tumores de cabeza y cuello (Adel K. El Naggar, 2017), por lo que cuya patología se considera de origen especulativo a la etapa del desarrollo dental. Se caracteriza por tener una fisiología innata de “quiste”. Sin embargo también tiene un comportamiento histológico, clínico y molecular que corresponde a un tumor benigno; por lo que es sujeto a controversia a su definición precisa de diversos autores en cuanto a su clasificación. En el presente trabajo fueron analizadas muestras y

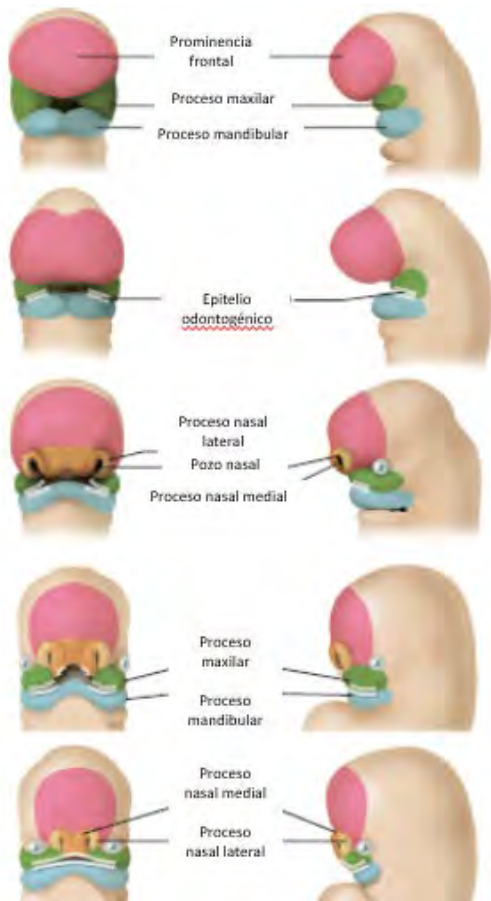
variantes experimentales de éste espécimen con el propósito de relacionarlas con su comportamiento biológico, por lo tanto es de suma importancia comprender los fundamentos relacionados con esta patología, los cuales cada uno de estos puntos se describirán a continuación.

3. ANTECEDENTES.

3.1 Odontogénesis.

Con el fin de comprender y apreciar el origen y el desarrollo de los tumores odontogénicos, quistes y lesiones hamartomatosas, el conocimiento de ciertas etapas normales de la odontogénesis es esencial. En este apartado se presentará el proceso involucrado en el desarrollo del complejo de la lámina dental y la desintegración final de esta estructura epitelial, puesto que existe una creciente evidencia de que los residuos de este epitelio odontogénico desempeñan un papel importante en la histogénesis de estas lesiones.

Los dientes se desarrollan a partir de brotes epiteliales que comienzan a formarse en la porción anterior de los maxilares y luego avanzan en dirección posterior. Las dos capas germinativas que participan en la formación de los dientes son: El epitelio ectodérmico, que origina el esmalte y el ectomesénquima, que forma los tejidos restantes (complejo dentinopulpar, cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar). Son numerosos los mecanismos que guían y controlan el desarrollo dental, pero es el fenómeno inductor el esencial para el comienzo de la organogénesis dentaria. El papel inductor es ejercido por el ectomesénquima o mesénquima cefálico, denominado así porque son células derivadas de la cresta neural que han migrado hacia la región cefálica. Este ectomesénquima ejerce su acción inductora sobre el epitelio bucal (De origen ectodérmico) que reviste al estomodeo o cavidad bucal primitiva [Figura 1] (de Ferraris, 2009).



***Figura 1:** Resumen del desarrollo facial humano de alrededor de las semanas 4 a 6 de desarrollo. La columna izquierda y derecha son diagramas de vistas frontal y lateral de embriones. **A**, Límites del estomatodeo en un embrión de 26 días de edad. **B**, un embrión de 27 días de edad. La placa nasal está a punto de desarrollarse, y el epitelio odontogénico puede ser identificado en las regiones delimitadas por las barras blancas. **C**, un embrión de 34 días de edad. El hoyo nasal, rodeado por procesos nasales lateral y medial, es fácilmente reconocible. **D**, A 36 días de edad. Embrión muestra la fusión de varios procesos faciales que se completan con 38 días de gestación (**E**). (Modificado de (Nanci, 2007).

Los primeros signos del desarrollo dental aparecen a la sexta semana de gestación (45 días aproximadamente). En este punto, la cavidad oral primitiva o estomodeo, está revestida por ectodermo, que consiste en una capa basal de células cuboidales o bajas columnares. El rico contenido de glucógeno en su citoplasma les da una apariencia vacía por lo que se les conoce como “Células claras” (Reichart,

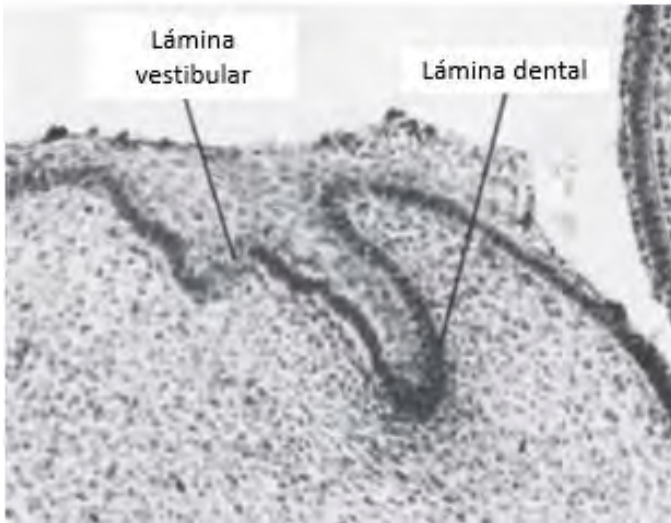
2004). La primera manifestación consiste en la diferenciación de la lámina dental o listón dentario, a partir del ectodermo que tapiza el estomodeo (de Ferraris, 2009).

La lámina dental surge de ciertas células en la capa de células basales del epitelio oral, las cuales proliferan a un ritmo más rápido de lo que lo hacen las células adyacentes [Figura 2]. Como resultado un esparcimiento epitelial surge de los procesos mandibulares, maxilares y nasales mediales, y es interrumpido por la cavidad nasal del maxilar. Como resultado el esparcimiento epitelial a menudo ha sido llamado “lámina dental”, pero debería ser llamado correctamente con el término de “Placa dental”, análogo a la placa neural y la placa nasal (Reichart, 2004).



***Figura 2:** Formación de la lámina dental inicial. Proliferación epitelial (Modificado de (Nanci, 2007).

El epitelio ectodérmico bucal en este momento está construido por dos capas: una superficial de células aplanadas y otra basal de células altas, conectadas al tejido conectivo embrionario o mesénquima por medio de la membrana basal (MB). Inducidas por el ectomesénquima subyacente, las células basales de este epitelio bucal proliferan a todo lo largo del borde libre de los futuros maxilares, dando lugar a dos nuevas estructuras: La lámina vestibular y la lámina dentaria [Figura 3].



***Figura 3:** Las dos láminas con mayor aumento (Modificado de (Nanci, 2007)).

El epitelio esparcido comienza a proliferar en la ectomesénquima, eso muestra una condensación de células inmediatamente vecinas a la placa dental. Esto lleva a la formación de una hoja epitelial que forma una estructura de forma herradura de caballo en ambos lados del desarrollo de la mandíbula. Esta hoja se divide en dos procesos en la banda interior (Lingual o palatino) se desarrolla dentro del primordio de la porción ectodérmica al diente o de la lámina dental (Reichart, 2004).

La lámina dental crece lentamente dentro del mesénquima, en una cierta etapa las células centrales se desintegran para producir cavitación. La cavidad con forma de hendidura, así formando el vestíbulo de la boca. El epitelio que se retiene contribuye al revestimiento mucosal del vestíbulo. Posteriormente, el crecimiento epitelial adicional en el tejido conectivo desde el fondo del vestíbulo da lugar a la liberación de las glándulas salivales accesorias menores. El ectodermo que recubre la pared vestibular labial del vestíbulo demarca las mejillas y los labios en las regiones dentales. De este modo, la lámina vestibular no sólo forma el vestíbulo oral, sino que, en su trayectoria de desarrollo, participa con la lámina dental en la definición de los arcos maxilares y mandibulares, en los cuales las láminas dentales procederán en odontogénesis (Reichart, 2004).

Durante la 6ta a la 8va semana de vida intrauterina existe una gran actividad proliferativa intensa y localizada en la lámina dentaria, los cuales se forman en lugares específicos 10 crecimientos epiteliales dentro del ectomesénquima de cada maxilar, en los sitios correspondientes a los 20 dientes deciduos. De esta lámina, también se originan los 32 gérmenes de la dentición permanente alrededor del 5to mes de gestación (de Ferraris, 2009).

Los gérmenes dentarios siguen en su evolución una serie de etapas, que de acuerdo a su morfología se denominan: Estadio de brote macizo (o yema), estadio de casquete, estadio de campana, y estadio de folículo dentario, terminal o maduro (de Ferraris, 2009).

3.1.1. Estadio de brote o yema dentaria.

El periodo de iniciación y proliferación es breve y casi a la vez aparecen 10 yemas o brotes en cada maxilar. Son engrosamientos de aspecto redondeado que surgen como resultado de la división mitótica de algunas células de la capa basal del epitelio. Éstos serán los futuros órganos del esmalte, que darán origen al esmalte (de Ferraris, 2009).

Las células del ectomesénquima subyacente se encuentran condensadas por debajo del epitelio de revestimiento y alrededor del brote epitelial (futura papila dentaria) (de Ferraris, 2009).

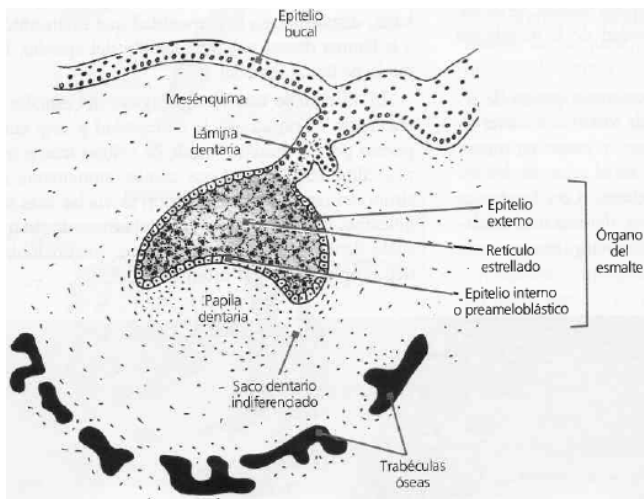
3.1.2 Estadio de Casquete inicial

La proliferación desigual del brote (alrededor de la 9na semana), determina una concavidad en su porción profunda, por lo que adquiere el aspecto de un verdadero casquete. Su concavidad central encierra una pequeña porción del ectomesénquima que lo rodea; es la futura papila dentaria, que dará origen al complejo dentinopulpar.

Histológicamente se distinguirán las siguientes estructuras en el órgano del esmalte u órgano dental; Epitelio externo, epitelio interno y retículo estrellado.

El retículo estrellado es la tercera capa ubicada entre ambos epitelios, por el aumento de líquido intercelular. Constituido por células de aspecto estrellado, cuyas prolongaciones se anastomosan, formando un retículo. A esta capa se le asigna función metabólica y morfogenética.

El tejido mesenquimático que se encuentra inmediatamente por fuera del casquete, rodeándolo casi en su totalidad, salvo en el pedículo (que une el órgano del esmalte con el epitelio originario o lámina dental), también se condensa volviéndose fibrilar y forma el saco dentario primitivo o folículo dental (de Ferraris, 2009).

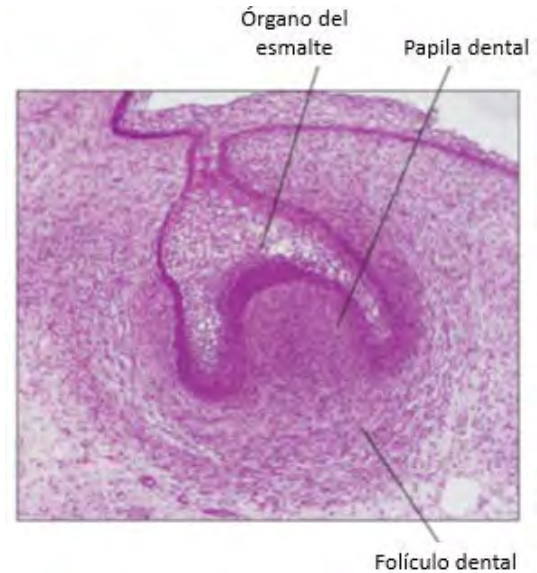


***Figura 4:** Estadio de casquete inicial (Modificado de (de Ferraris, 2009).

El órgano del esmalte, la papila y el saco constituyen en conjunto el germen dentario. Estas estructuras son temporales, pues más tarde sufren una regresión o involución (de Ferraris, 2009).

3.1.3. Estadio de campana.

La etapa temprana de campana ocurre sobre las 14-18 semanas de vida intrauterina. En el cual se acentúa la invaginación de epitelio interno, adquiriendo el aspecto del esmalte, típico de una campana [Figura 5].



***Figura 5:** Estadio de campana: Etapa de desarrollo del diente. El epitelio del órgano del esmalte se asienta sobre una masa de células ectomesenquimales:

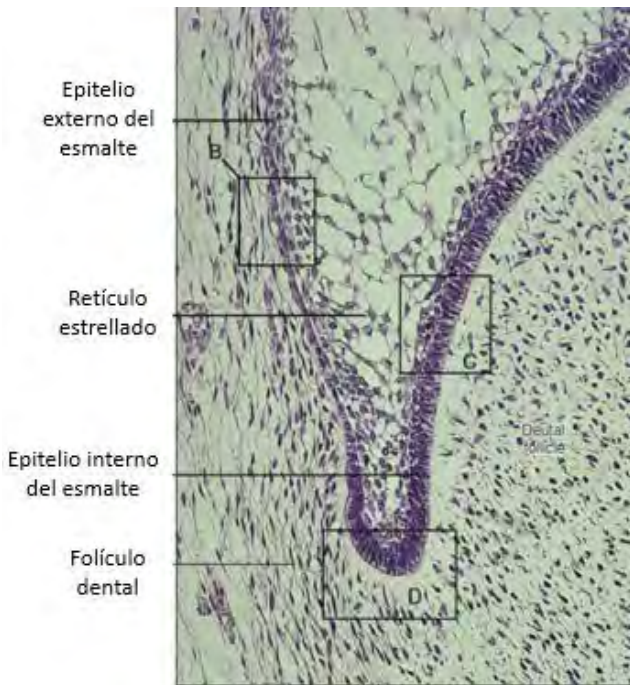
La papila dental, que se extiende alrededor del borde del órgano del esmalte para formar el folículo dental. (Modificado de (Nanci, 2007).

En este estadio es posible observar modificaciones estructurales e histoquímicas en el órgano del esmalte, papila y saco dentario respectivamente.

En la etapa inicial el órgano del esmalte presenta una nueva capa: El estrato intermedio, situada entre el retículo estrellado y el epitelio interno. De manera que en este periodo embrionario el órgano del esmalte está constituido por: Epitelio externo, retículo estrellado, estrato intermedio y epitelio interno [Figura 6]. (de Ferraris, 2009).

3.1.4. Etapa de campana avanzada.

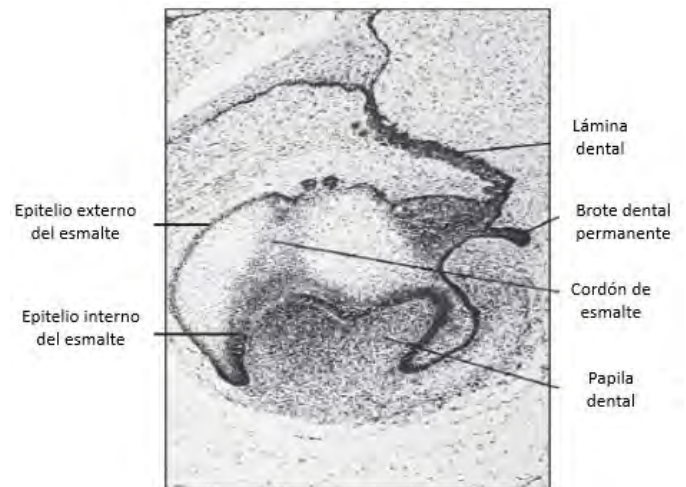
En la etapa de campana avanzada y antes de que los odontoblastos empiecen a sintetizar y secretar la matriz dentinaria, los ameloblastos jóvenes, que por citodiferenciación han adquirido el aspecto de células cilíndricas, experimentan un cambio de polaridad de sus organoides. Microscópicamente lo más evidente es la migración del núcleo de su localización central a la región distal de la célula próxima al estrato intermedio. Los ameloblastos adquieren todas las características de una célula secretora de proteínas, pero no llevan aún a cabo ninguna función. Permanecen inactivos hasta que los odontoblastos hayan secretado la primera capa de dentina (primer tejido dentario depositado). De manera que al final del estadio de campana, los ameloblastos jóvenes se han transformado por citodiferenciación en ameloblastos secretores o maduros [Figura 7] (de Ferraris, 2009).



***Figura 6:** Estructura fina de un germen dental en la etapa temprana de campana (Modificado de (Nanci, 2007)).

En el estrato intermedio al final de esta etapa de campana cuando comienza la histogénesis o aposición de los tejidos duros dentarios, el estrato se vincula estrechamente con los vasos sanguíneos provenientes del saco dentario, asegurando no solo la vitabilidad de los ameloblastos, sino también el paso del aporte de calcio del medio extracelular.

En este periodo se determina la morfología de la corona por acción o señales específicas del ectomesénquima adyacente o papila dental sobre el epitelio interno del órgano dental. Ello conduce a que esta capa celular se pliegue, dando lugar a la forma, número y distribución de las cúspides, según el tipo de elemento dentario al que dará origen. Es decir, que el modelo o patrón coronario se establece antes de comenzar la aposición y mineralización de los tejidos dentales (de Ferraris, 2009).



***Figura 7:** Etapa de campana avanzada (modificado de (Nanci, 2007)).

Papila dentaria: La diferenciación de los odontoblastos se realiza a partir de las células ectomesenquimáticas de la papila que evolucionan transformándose primero en preodontoblastos, luego en odontoblastos jóvenes y por último, en odontoblastos maduros o secretores.

Cuando se forma dentina, la porción central de la papila se transforma en pulpa dentaria. La zona central de la papila se caracteriza ahora por presentar fibroblastos jóvenes con abundante sustancia fundamental, principalmente ácido hialurónico y condroitín sulfato.

La inervación se establece en forma precoz, por delgadas prolongaciones nerviosas dependientes del trigémino, se aproximan en los primeros estadios del desarrollo dentario, pero no penetran en la papila hasta que comienza la dentinogénesis. Existen factores tróficos como el factor de crecimiento nervioso (NGF), el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) que se relacionan con el comienzo y el desarrollo de la inervación sensorial en la papila dental y con el crecimiento de los axones pulpaes.

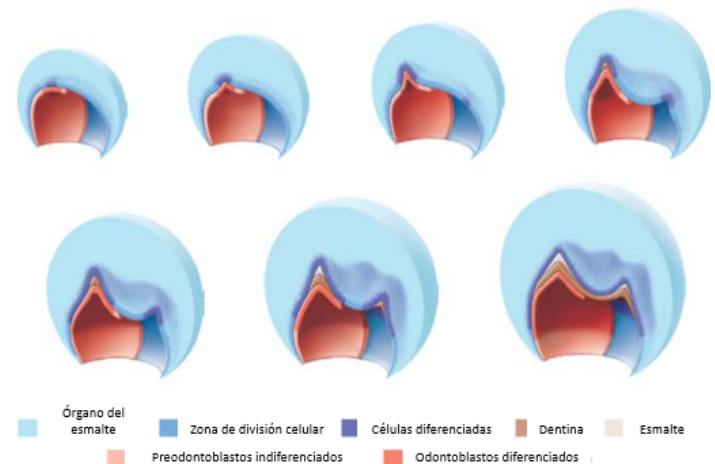
Con respecto a la irrigación, se ha visto que agrupaciones de vasos sanguíneos penetran en la papila en la etapa de casquete. A medida que avanza el desarrollo, los vasos se ubican preferentemente en el lugar donde se formará la raíz o raíces. Tanto la inervación y la irrigación, presentan dos variedades, una destinada al saco y otra a la papila, donde los vasos y nervios atraviesan el saco para distribuirse por la misma (de Ferraris, 2009).

3.1.5. Estadio terminal o de folículo dentario (apositional).

Esta etapa comienza cuando se identifica, en las zonas de las futuras cúspides o borde incisal, la presencia del depósito de la matriz del esmalte sobre las capas de la dentina en desarrollo. El crecimiento oposicional del esmalte y dentina se realiza por el depósito de capas sucesivas de una matriz extracelular en forma regular y rítmica. Se alternan periodos de actividad y reposo a intervalos definidos. La elaboración de la matriz orgánica, a cargo de los odontoblastos para la dentina y de los ameloblastos

para el esmalte, es inmediatamente seguida por las fases iniciales de su mineralización [Figura 8].

El mecanismo de formación de la corona se realiza de la siguiente manera: Primero se depositan unas laminillas de dentina y luego se forma una de esmalte. El proceso se inicia en las cúspides o borde incisal y paulatinamente se extiende hacia cervical. Una vez formado el patrón coronario y comenzado el proceso de histogénesis dental mediante los mecanismos de dentinogénesis y amelogénesis, comienza el desarrollo y la formación del patrón radicular [Figura 8] (de Ferraris, 2009).



*Figura 8: Resumen de la formación del patrón coronario en el epitelio interno del esmalte (Nanci, 2007).

La mineralización de dientes primarios se inicia en el 5to y 6to mes de vida intrauterina; por eso, al nacer existen tejidos dentarios calcificados en todos los dientes primarios y en los primeros molares permanentes (de Ferraris, 2009).

Desintegración del complejo de la lámina dental

El patrón complejo de las láminas dentales comienza para fragmentar o desintegrarse debido a la invasión ectomensénquimal poco después del establecimiento de los gérmenes del diente. Estos procesos se producen inicialmente en la lámina que conecta la yema del diente con el epitelio oral superpuesto. Desde la zona conocida como la “unión epitelial

orodental" (la zona donde la lámina dental se une con el epitelio oral), la desorganización o fragmentación de la lámina dental progresa hacia el órgano en desarrollo del esmalte.

Algunas células de la lámina que persisten y tienden a agregarse a través de la proliferación en el nido, se conocen tradicionalmente como perlas epiteliales (Perlas de Serres).

De los 3 1/2 a los 4 meses fetales, los molares permanentes que no tienen predecesores deciduos, surgen directamente de una extensión distal de la lámina dental "original" que crece hacia atrás en el epitelio oral. Esta parte del complejo de la lámina dental se llama la lámina accesoria (la lámina dental del padre o lámina para los molares permanentes). Estos segmentos de la lámina dental se alargan progresivamente, siguiendo el ritmo del alargamiento de los arcos y la maduración del maxilar y la mandíbula. Sin embargo, la actividad proliferativa puede terminar prematuramente, de modo que no se producen las láminas y los gérmenes asociados del diente para los terceros molares. Esto explica la posible ausencia del tercer molar permanente de algunos individuos. Meyer, Ooé y cols, han demostrado que el primer, el segundo y el tercer molar permanentes presentan una lámina sucesional de la misma manera que los primordios del diente primario. Sin embargo, esta lámina no se convierte en un sucesor (Ooé llamó a esta lámina "un sucesor abortivo"), sino más bien muestra la fragmentación en remanentes epiteliales o desintegración (Reichart, 2004).

Las láminas sucesionales y accesionales también se desintegran y dan lugar a remanentes epiteliales odontogénicos. Se sostiene que la gran mayoría de estos residuos epiteliales persisten a lo largo de la vida como cúmulos de células vitales, pero que deben ser inactivos (Fase G0 del ciclo celular). Sin embargo, algunas de estas células reposan o "productos de desecho" de la odontogénesis humana normal se desencadenan por mecanismos desconocidos hasta la proliferación y la producción resultante más tarde en

la vida, da entidades patológicas bien conocidas, como quistes recubiertos de epitelio (quistes dentígeros, queratocistes odontogénicos, Quistes gingivales de la infancia y quistes periodontales laterales) y tumores odontogénicos epiteliales como ameloblastomas, tumores odontogénicos adenomatosos y tumores odontogénicos epiteliales calcificantes (Reichart, 2004).

Residuos adicionales de las células epiteliales odontogénicas

Los remanentes del complejo de lámina dental no son los únicos residuos epiteliales que persisten después de la terminación de la odontogénesis normal. Cuando la formación de la dentina ha comenzado los cambios ocurren en la envoltura de la raíz epitelial de la vaina de la raíz de Hertwig, que consiste principalmente del epitelio dental interno y externo. Pierde su continuidad a medida que las células ectomesenquimales del folículo dentario circundante crecen entre las células epiteliales y el cementoblasto empieza a producir matriz de cemento en la superficie de la dentina. La fragmentación de la vaina de la raíz da lugar a la creación de la red de células epiteliales alrededor de la raíz. Posteriormente, se vio que la red se rompía y se observaron muchas hebras aisladas e islas. Finalmente, sólo se encontraron restos dispersos de epitelio (Resto de Malassez). El autor concluyó que es improbable que muchas membranas periodontales adultas estén completamente libres de residuos epiteliales. Mientras que una reacción inflamatoria no parece desempeñar un papel en el desencadenamiento de los residuos de las láminas dentarias a la proliferación que resulta en quiste odontogénico y desarrollo de tumores, la inflamación es probable que sea un factor principal en la actividad proliferativa del resto epitelial de Malassez que produce lesiones patológicas. Algunas de las lesiones creyeron originarse del resto (quiste dental o radicular) y quiste paradental (Reichart, 2004).

3.2. Clasificación del TOQ – Queratoquiste odontogénico.

A partir de 2004 el panel de expertos en tumores odontogénicos, quistes de los maxilares y lesiones afines de la OMS, analizando las múltiples opiniones acerca de su potencial comportamiento neoplásico vertidas durante más de 10 años en diferentes revistas especializadas en patología bucal, dejó de considerar al queratoquiste odontogénico como una entidad quística; y a partir de la publicación de Reichart y Phillipsen. En 2004 y con la publicación de la clasificación de la OMS, se catalogó al queratoquiste como una entidad neoplásica, y se le dio el nombre de “tumor odontogénico queratoquístico” (TOQ) por lo que se clasificó dentro de la categoría de **tumores benignos, formados por epitelio odontogénico con estroma fibroso maduro sin ectomesénquima odontogénico** [Cuadro 1] (García, 2006).

La confusión fue introducida por la reclasificación del queratoquiste odontogénico como una neoplasia, cuando otros quistes parecieron igualmente merecedores de su inclusión en esta categoría (Barnes, 2005), aunque no son neoplasias. Algunos autores recomendaron que se incluyeran a los quistes odontogénicos tradicionales, porque varias entidades que actualmente están excluidas debían ser consideradas en el diagnóstico diferencial histológico de “tumores odontogénicos”, como el quiste odontogénico glandular y variantes de tumores odontogénicos calcificantes. Debido a la superposición conceptual de quistes y tumores quísticos, ambos se deben discutir, aclarar y clasificarlos en la misma obra (Wright, 2014).

En la justificación de la reclasificación (Adel K. El Naggari, 2017) [Cuadro 2], los autores destacaron el comportamiento “agresivo”, la recurrencia, así como una gran cantidad proliferativa del revestimiento epitelial. Las mutaciones o deleciones en los genes PTCH, p53, FHIT y el aumento en la expresión de la proteína Ki67, tienen alta positividad que habían sido reportadas en el TOQ. También son comunes los antecedentes de que esta patología se asocia al **síndrome del nevo células basales (SNCB)** y en raras ocasiones puede desarrollarse un **carcinoma epidermoide (CE)** de un queratoquiste odontogénico (Wright, 2014).

TUMORES BENIGNOS

Epitelio odontogénico con estroma fibroso maduro sin ectomesénquima odontogénico

Ameloblastoma sólido / tipo multiquístico.
Ameloblastoma extraóseo / tipo periférico.
Ameloblastoma de tipo desmoplásico.
Ameloblastoma de tipo unikuístico.
Tumor odontogénico escamoso.
Tumor odontogénico epitelial calcificante.
Tumor odontogénico adenomatoide.
Tumor odontogénico queratoquístico.

***Cuadro 1:** Clasificación histológica de tumores odontogénicos. OMS 2005 (traducido de (Barnes, 2005).

Sin embargo, a medida que nuestro conocimiento de la enfermedad avanza, su clasificación evoluciona continuamente. Como es sabido, la penúltima clasificación de la OMS de los tumores odontogénicos fue hace 12 años, por lo que nuevamente fue modificada, debido a que diversos autores sugirieron someter esta patología a revisión, entre algunas otras.

Quistes del desarrollo odontogénico y no odontogénicos.

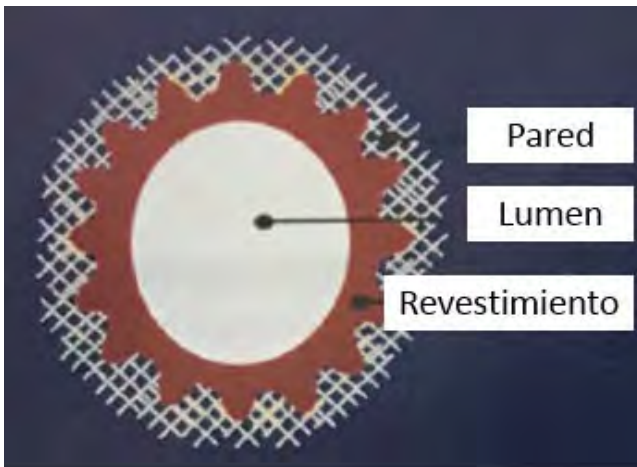
Quiste dentígero.
Queratoquiste odontogénico
Quiste odontogénico botrioides y quiste periodontal lateral.
Quiste gingival.
Quiste odontogénico glandular.
Quiste odontogénico calcificante.
Quiste odontogénico ortoqueratinizado.
Quiste del ducto nasopalatino.

***Cuadro 2:** Quistes del desarrollo odontogénicos y no odontogénicos. Tomado de OMS 2017 (Adel K. El Naggari, 2017).

Su alto índice mitótico y el aumento en la proliferación celular de antígeno nuclear, sugiere el mayor potencial proliferativo del revestimiento epitelial conduce a la expansión del quiste. Por otro lado, Katase *et al* sugiere que la expresión de heparanasa puede correlacionarse con las propiedades neoplásicas del TOQ. La heparanasa es una enzima endo-d-glucuronidasa, que escinde específicamente sulfato de heparán, y el aumento de su nivel en tumores promueve la invasión, la angiogénesis y la metástasis (Ramesh, 2015). Por tal motivo, debido a la controversia de las características de esta patología, recientemente se reclasificó al TOQ como una entidad quística del desarrollo odontogénico [Cuadro 2] (Adel K. El Naggar, 2017), devolviendo a su antiguo nombre una vez más como “Queratoquiste odontogénico” y excluyéndolo de la categoría de los tumores benignos de origen odontogénico (Adel K. El Naggar, 2017).

3.3. Quistes.

Los quistes se definen como “Un saco o bolsa patológica revestida de epitelio, cápsula externa de tejido conectivo, con contenido líquido o semilíquido” (Phillip Sapp, (2005).



*Figura 9: Pared o cápsula, epitelio de revestimiento y lumen (modificado de (Phillip Sapp, (2005).

Los quistes son más comunes en el maxilar y la mandíbula que en cualquier otro hueso debido a los múltiples remanentes de epitelio que quedan en los tejidos después del desarrollo dental (Phillip Sapp, (2005). Por lo tanto, existen antecedentes de clasificación en cuanto a su origen y localización [Cuadro 3].

<p>QUITES EPITELIALES.</p> <p><u>1:</u> <u>ODONTOGÉNICOS</u></p> <p>A: Del desarrollo</p>	<p>-Gingival del recién nacido. -Queratoquiste odontogénico (Quiste primordal) -Dentígero (Folicular) -De erupción. -Lateral periodontal. -Botrioide odontogénico. -Quiste odontogénico glandular. -Gingival del adulto.</p>
<p>B: Inflamatorios</p>	<p>-Radicular. -Residual. -Paradental. -Mandibular bucal infectado.</p>
<p><u>2:</u> <u>NO ODONTOGÉNICOS</u></p>	<p>-Medianos palatino y alveolar. -Mediano mandibular. -Globulomaxilar. -Del conducto nasopalatino. -Nasolabial.</p>
<p>QUITES NO EPITELIALES</p>	<p>-Óseo solitario (Traumático, simple, hemorrágico) -Óseo aneurismático.</p>
<p>QUITES ASOCIADOS AL SENO MAXILAR</p>	<p>-Mucoso benigno (Seudoquiste antral) -Ciliado quirúrgico (Maxilar posoperatorio)</p>

*Cuadro 3: Clasificación de quistes en los maxilares. Entidades sin sustento embrionario confirmado. (Tomado de (García, 2006).

Dentro de esta clasificación [Cuadro 3], encontramos que el “Queratoquiste” o TOQ se encuentra incluido en la sección de “Quistes epiteliales”. Se definen así, a los quistes originados del epitelio que da origen a

los órganos dentarios (lámina dental) o sus remanentes (Restos de la lámina dental, epitelio reducido del esmalte y restos epiteliales de Malassez).

La mayoría se desarrollan dentro del hueso, y solo algunas variedades se desarrollan en los tejidos gingivales (Reichart, 2004). Por lo tanto, podemos describir que los quistes en el cual, el revestimiento de la luz del quiste deriva del epitelio producido durante el desarrollo del diente, reciben el nombre de “Quistes odontógenos / odontogénicos” (Phillip Sapp, (2005).

Según el tipo de tejido embrionario, se distingue el origen epitelial de los diferentes quistes odontogénicos.

1) Quistes derivados de los restos de Malassez	Restos de la vaina epitelial de Hertwig que persisten en el ligamento periodontal después de completarse la formación de la raíz	-Quiste periapical. -Quiste residual.
2) Quistes derivados del epitelio reducido del esmalte	Epitelio residual que rodea la corona del diente después de completarse la formación del esmalte	-Quiste dentígero -Quiste de erupción (Hematoma del brote)
3) Quistes derivados de la lámina dental	Islotes y tiras de epitelio que se originan en el epitelio oral y permanecen en los tejidos después de inducir el desarrollo del diente	- <u>Queratoquiste</u> -Quiste periodontal lateral. -Quiste gingival del adulto. -Quiste de la lámina dental del recién nacido (2).

***Cuadro 4:** Clasificación histogénica de los quistes odontogénicos (Tomado de (Phillip Sapp, (2005).

En esta clasificación [Cuadro 4], el queratoquiste odontogénico se ubica dentro de una gama de quistes, los cuales son originarios de la lámina dental o sus restos, quienes comprenden la etapa de este epitelio en su periodo postfuncional.

3.4. El tumor odontogénico queratoquístico / Queratoquiste odontogénico.

El tumor odontogénico queratoquístico o queratoquiste odontogénico, se define como un **quiste odontogénico caracterizado por un delgado, regular revestimiento de epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado con empaliamiento hipercromático de las células basales** (Adel K. El Naggar, 2017). Puede ser solitario o múltiple. El último, es por lo general uno de los estigmas del síndrome del nevo de células basales. (Barnes, 2005).

3.4.1. Sinónimos.

Originalmente se le denominó a esta patología como “quiste primordial”, debido a que algunos casos se le localizan en el sitio donde no se formó ningún diente, por lo que se sugirió que el quiste derivaba de la degeneración del retículo estrellado del órgano del esmalte antes del inicio de la formación de tejido mineralizado. Sin embargo, en la actualidad se considera que el queratoquiste puede originarse a partir de la lámina dental o sus remanentes (García, 2006). Otros sinónimos incluyen “Queratoma odontogénico” (Phillip Sapp, (2005).

En 2005, el grupo de trabajo de la OMS recomendó el término de “Tumor odontogénico queratoquístico” (Barnes, 2005), reflejando así su perfil y comportamiento neoplásico, por lo que en la literatura actual puede ser descrito en su mayoría por este nombre.

Recientemente se consideró que el término tradicional “queratoquiste odontogénico” es el

nombre más adecuado para esta lesión (Adel K. El Naggar, 2017).

3.4.2. Histogénesis.

En general, se acepta que el QO surge del epitelio odontogénico. La evidencia disponible apunta a dos principales fuentes de epitelio: La lámina dental o sus restos y extensiones de las células basales de epitelio oral suprayacente (Barnes, 2005), los cuales ya han sido explicados anteriormente.

3.4.3. Epidemiología.

El QO presenta una frecuencia de aproximadamente del 10 al 20% de los quistes odontogénicos, y son el tercero más común en la mandíbula. Ocurren en un amplio rango de edad, con un pico de incidencia en la segunda a la tercera década de vida, y el pico más pequeño se encuentra entre pacientes de 50-70 años. Más estudios encontraron una leve predilección por el género masculino (Adel K. El Naggar, 2017).

La edad media de pacientes con múltiples QO con o sin el síndrome del nevo de células basales, es inferior a los con QO individuales no periódicos (Barnes, 2005). Es Decir, entre la primera y la segunda década de vida.

Dentro de la categoría de quistes queratinizantes, se dividen a su vez en dos tipos según las características del revestimiento epitelial; ya sea ortoqueratósico o paraqueratósico [cuadro 5]. Los quistes con paraqueratosis se denominan “queratoquistes odontógenos” (Tumor odontogénico queratoquístico), tienden a recidivar y pueden ser esporádicos o pueden asociarse a múltiples anomalías en el síndrome de Gorlin, Los ortoqueratósicos se consideraban en una variedad de queratoquiste odontógeno pero su riesgo de recidiva es escaso y ahora se clasifican en un grupo separado (Cawson, 2009).

Características	QO	Quiste odontogénico ortoqueratinizado
Tipo de queratinización	Parqueratina	Ortoqueratina
Frecuencia de recidiva (%)	88	12
Sexo (%)		
Varones: 61,5% global	62	57
Mujeres: 38,5% global	38	43
Edad de presentación (años)	34	40
Asociación con un diente impactado (%)	48	76
Localización en la línea media (%)	6	16
Dolor (%)	15	9
Aspecto radiográfico	Generalmente multilocular	Con frecuencia unilocular
Porcentaje de recidivas	43	4

*Cuadro 5: Clasificación de los quistes odontogénicos queratinizantes (Tomado de (Cawson, 2009).

3.4.4. Prevalencia.

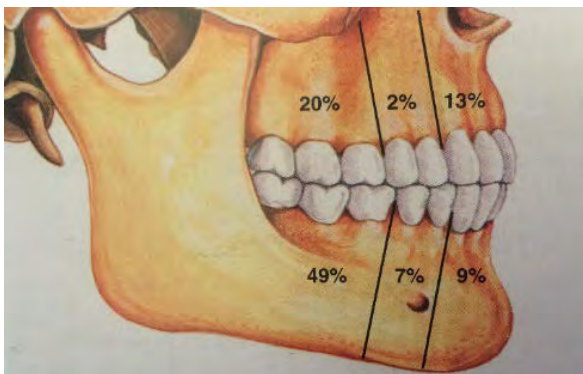
La frecuencia de aparición de quistes odontogénicos en población mexicana, ha sido descrita principalmente en dos estudios estadísticos [Cuadro 6], en los cuales, el más extenso fue realizado por Mosqueda-Taylor y cols en el año 2002, en el que comprende la serie más extensa de QO presentada hasta la fecha en México. Su estudio comprende una serie de 856 casos obtenidos de los archivos del Laboratorio de Histopatología Bucal de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) – Xochimilco (1979-2000) y de un servicio privado de diagnóstico en patología bucal (1989-2000). El segundo reporte estadístico de prevalencia de quistes odontogénicos en México, fue llevado a cabo por Ledesma y cols en el año 2000. Publicaron una serie de 304 casos de esta especie derivados de una revisión de 10 años de los archivos del Servicio de Diagnóstico de Patología bucal de la Facultad de Odontología de una Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) (García, 2006).

TIPO DE QUISTE	LEDESMA-MONTES Y COLS	MOSQUEDA TAYLOR Y COLS	DALEY Y COLS	BATAINEH COLS
	N(%)	N(%)	N(%)	N(%)
Radicular (apical)	118 (38.8)	342 (39.9)	4468 (61.15)	273 (41.7)
Dentígero (Folicular)	108 (35.5)	283 (33.0)	1662 (24.08)	162 (24.8)
Queratoquiste	57 (18.7)	184 (21.5)	335 (4.88)	39 (6.0)
Residual	15 (49)	19 (2.2)	-	129 (19.7)
Paradental	-	12 (1.4)	33 (0.48)	-
De erupción	3(1)	7 (0.8)	40 (0.58)	-
Lateral periodontal	1(1)	7 (0.8)	106 (1.48)	51 (7.8)
Odontógeno glandular	-	2 (0.2)	6 (0.04)	-
TOTAL	304	856	6879	654

*Cuadro 6: Frecuencia de quistes odontogénicos en cuatro estudios (Tomado de (García, 2006).

3.4.5. Localización.

La mandíbula está implicada con más frecuencia que el maxilar superior, con cifras que van 65-83% de los casos. Cerca de la mitad originados en el ángulo de la mandíbula, extendiéndose anterosuperiormente [Figura 10] (Barnes, 2005). Los quistes encontrados en la maxila son asociados más a menudo con el síndrome del nevo de células basales (Adel K. El Naggar, 2017).



*Figura 10: Incidencia de localización (Modificado de (Neville, 2015).

3.4.6. Crecimiento.

Los principales factores que intervienen en el desarrollo de un quiste, en grado visible parecen ser:

- 1) Proliferación del revestimiento epitelial de la cápsula del tejido conjuntivo.
- 2) Acumulación de líquido dentro del quiste.
- 3) Resorción del hueso circundante y formación de hueso nuevo.

Los factores que producen el principio del crecimiento del queratoquiste se desconocen por completo. También no se han esclarecido las razones de su modo de crecimiento singular, que es rápido e invasivo pero benigno. Ciertamente es evidente que difieren de otros quistes del maxilar y la mandíbula por el hecho de que el crecimiento de la pared del quiste es más notorio que la expansión de la cavidad del quiste. El crecimiento de los QO parece depender de diferentes mecanismos. En algunos, la formación de queratina es tan activa que este material llena la cavidad del quiste y por lo tanto, la tensión osmótica supuestamente contribuye a la expansión del quiste. Otros quistes primordiales producen poca queratina o pueden estar completamente llenos de líquido. No

importa cuál sea su contenido, los QO por lo general, no muestran el crecimiento expansivo típico de otros quistes (CAWSON, 1983).

Actualmente, se conoce que el crecimiento de los queratoquistes se hace mediante prolongaciones digitiformes hacia los espacios medulares más que por expansión. El crecimiento de la pared es mayor que la expansión de la cavidad del quiste, por lo que el revestimiento se pliega mucho. El aumento del tamaño es lento pero incesante a lo largo de las vías de menor resistencia, por lo que ocupan una cavidad medular sin desplazar los dientes ni expandir las cortezas hasta una fase tardía. Este patrón de crecimiento es característico y muy distinto de la expansión por empuje de los quistes radiculares y dentígeros (Cawson, 2009).

3.4.7. Características clínicas.

El signo clínico y la causa por la que con mayor frecuencia el paciente se presenta a la consulta, es el aumento de volumen de la zona afectada. Por lo general las lesiones son asintomáticas, aunque en algunas ocasiones puede haber infección sobreagregada, lo que ocasiona dolor, supuración o parestesia (García, 2006). Lesiones maxilares podrían desplazar la órbita y ser más a menudo infectadas (Adel K. El Naggar, 2017).

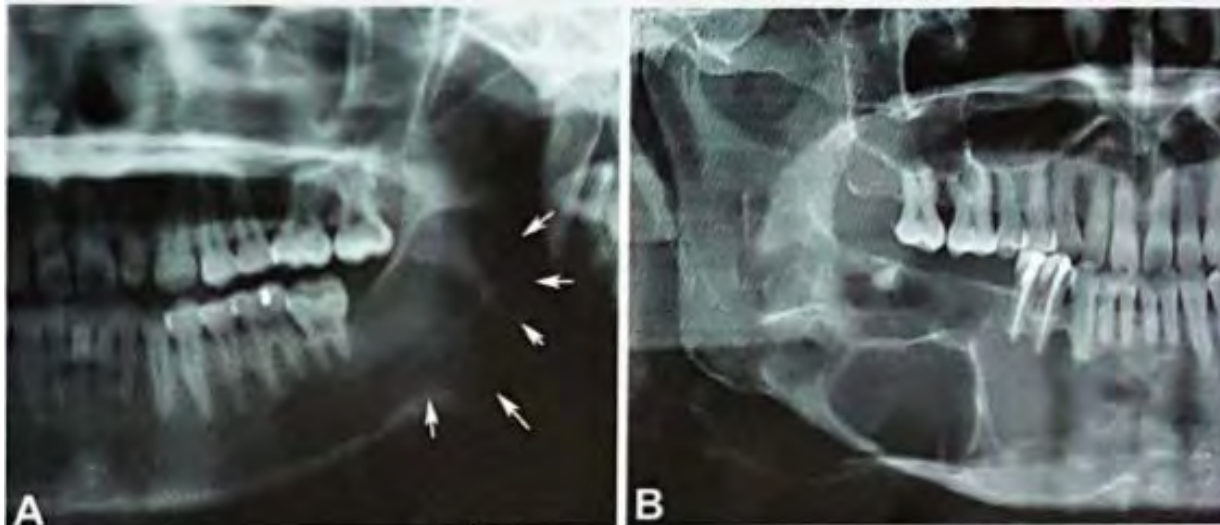
Cerca del 10% de pacientes tienen múltiples QO y la mitad de esos pacientes tienen SNCB. Además de múltiples QO, los pacientes con SNCB tienen múltiples carcinomas basocelulares y otras anomalías del desarrollo (Adel K. El Naggar, 2017).

3.4.8. Imagenología.

Los QO son frecuentemente grandes en la primera presentación. Las lesiones se presentan como radiolucencias indoloras y son encontradas durante el examen radiológico por otras razones (Adel K. El Naggar, 2017). Los QO pueden aparecer como pequeños, redondos u ovoides radiolúcidos uniloculares o puede ser más grandes con márgenes festoneados. Sin embargo existen consideraciones radiológicas a valorar [Cuadro 7] (Barnes, 2005).

Generales	Maxilares	Mandibulares
-Las radiotransparencias tienden a ser bien delimitadas con márgenes escleróticos distintos, pero pueden difundirse en partes.	-Las lesiones maxilares tienden a ser más pequeñas, pero más extensas, puesto que puede producirse la implicación de estructuras.	-Las lesiones mandibulares son las más frecuentes.
-Los dientes adyacentes pueden ser desplazados, pero la reabsorción radicular ocurre raramente.	-En lesiones de maxilar pierden su definición radiográfica y suele observarse opacificación del seno maxilar.	-El cuerpo posterior e inferior de la rama mandibular es el sitio más común, y las lesiones a menudo rodean la corona del tercer molar, resultando en una apariencia similar al quiste dentígero .
-Las tomografías computarizadas pueden ser útiles en la detección de perforación cortical y la evaluación de afectación de tejidos blandos; pueden ser de valor particular en la evaluación de pacientes con QO múltiples relacionados con SNCB. La RM con contraste puede proporcionar información más detallada.	-Las lesiones maxilares podrían desplazar la órbita y ser más a menudo infectadas.	Las lesiones tienden a crecer en dirección posteroanterior, resultando en lesiones grandes con una relativa pequeña expansión de corticales.

*Cuadro 7: Características radiológicas frecuentes (Tomado de (Nanci, 2007) (Reichart, 2004) (Adel K. El Naggar, 2017)).



***Figura 11:** Queratoquiste odontogénico. **A:** Radiolucidez unilocular en el ángulo de la mandíbula, extendiéndose posterior de la rama. **B:** Una extensa lesión multilocular desde la línea media, llenando el cuerpo de la mandíbula y extendiéndose en la rama; las lesiones están bien delimitadas y en su mayoría en la cortical (Modificado de (Adel K. El Naggari, 2017)).

3.4.9. Diagnóstico.

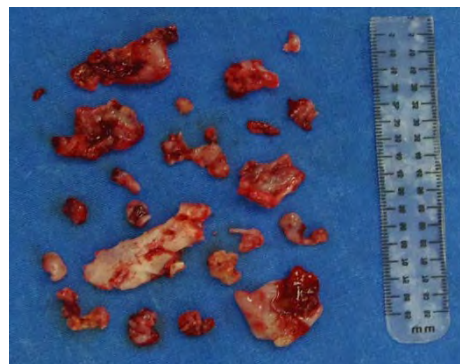
Ya que esta lesión no tiene una imagen clínica y radiográfica característica, es importante realizar el diagnóstico preoperatorio en todos los casos sospechosos, lo cual se realiza en forma sencilla por medio de una punción aspiradora. Con este método se obtiene un material pastoso, de color blanco-amarillento de olor característico, que confirma ser queratina mediante el examen citológico teñido con H y E [Figura 12] (García, 2006).



***Figura 12:** Quiste odontogénico queratinizante: La perforación y la presión sobre el techo del quiste ha provocado la salida de la queratina que llena la luz del quiste, ayudando a confirmar el diagnóstico (Tomado de (Cawson, 2009)).

3.4.10. Macroscopía.

Los revestimientos son delgados y frágiles, y por lo general, están colapsados y plegados [Figura 13] (Barnes, 2005).



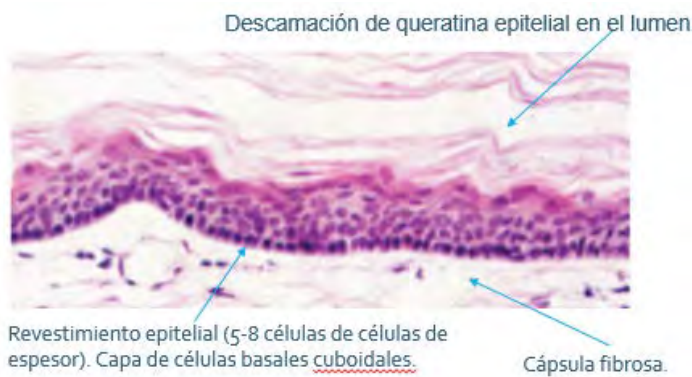
***Figura 13:** Revestimiento epitelial de QO, tras legrado quirúrgico. Paciente masculino de 32 años del Hospital Juárez de México (Fotografía por el autor).

3.4.11. Histología.

Típicamente la histología muestra una **pared fibrosa forrada por un pliegue, delgado, de epitelio paraqueratinizado regular de capas gruesas de 5-8 células, sin rebordes. La paraqueratina en la**

superficie está típicamente corrugada y la capa basal está bien definida y a menudo empalizada con hiper cromatismo nuclear y áreas focales muestran inversión en la polaridad nuclear [Figura 14]. Estas características son diagnóstico y distinguen al QO de otros quistes mandibulares que pueden queratinizarse. Figuras mitóticas son a menudo vistas, pero estas son normales. Las lesiones inflamadas pierden estas características típicas y son nombrados como epitelio escamoso estratificado inespecífico con algún grado de displasia (Adel K. El Naggar, 2017).

Los QO pueden mostrar pequeños quistes satélites o islotes sólidos en la pared, o pueden tener brotamientos en la capa basal. Estas características son más comúnmente vistas en quistes asociados al SNCB (Adel K. El Naggar, 2017).



*Figura 14: Imagen Histológica de QO (Modificado de (Barnes, 2005).

3.4.12. Tratamiento.

El tratamiento consiste en la eliminación quirúrgica de la lesión, y la técnica dependerá entre los factores del tamaño, la localización, forma, evidencia de perforación de corticales, extensión a tejidos blandos, edad del paciente y de si el quiste es primario o recurrente. Los tratamientos involucran desde enucleación, curetaje y osteotomía periférica, así como métodos coadyuvantes como solución de carnoy, nitrógeno líquido y 5-fluorouracilo tópico. Sin embargo cabe destacar que la única técnica que

garantiza la eliminación completa de la lesión es la resección en bloque.

Los quistes uniloculares o multiloculares pequeños pueden tratarse de forma conservadora con enucleación y legrado de la cavidad ósea. El legrado debe ser vigoroso, tratando de garantizar que se extraen todos los restos del revestimiento del quiste, cosa difícil, ya que es muy friable (sobre todo si está inflamado) y su contorno es complejo (García, 2006).

Históricamente enucleación por si sola dio como resultado tasas de recurrencia de hasta 56% (Ledderhof, 2017), por lo tanto la precaución adicional es el tratamiento de la cavidad con un fijador (Solución de Carnoy) que puede aplicarse después de la enucleación para destruir las células epiteliales residuales (Cawson, 2009). Esto disminuyó ya la tasa de recurrencia después de la enucleación, sin embargo el cloroformo se eliminó de su fórmula debido a su carcinogenicidad, dando lugar a la solución de Carnoy modificada. El nitrógeno líquido después de la enucleación de la lesión dio como resultado tasas de recurrencia del 11,5% que es similar a las tasas de recurrencia con solución de Carnoy (Ledderhof, 2017).

Actualmente se ha demostrado que el fármaco antimetabolito 5-fluorouracilo, induce apoptosis al inhibir SHH. Este fármaco tiene diferentes aplicaciones en el tratamiento de enfermedades malignas, incluida la aplicación tópica para tratar los carcinomas de células basales superficiales. La aplicación tópica de 5-fluorouracilo para el tratamiento de QO se realiza después de la enucleación y la osteotomía periférica de la lesión, se reviste una gasa de cinta estéril de ¼ de pulgada con el fármaco al 5% y se empaqueta en la herida quirúrgica. La herida se cierra habitualmente dejando un pequeño extremo distal de gasa expuesto para permitir la extracción de gasa a las 24 horas del postoperatorio. No se realiza ningún otro lavado o enjuague del sitio durante esta fase. Durante estudios clínicos previos no hubo eventos locales o sistémicos adversos en respuesta a la aplicación de 5-

fluorouracilo ni recurrencia de las lesiones tratadas, en contraste con QO tratados con solución de Carnoy modificada (Ledderhof, 2017).

Algunos autores recomiendan que después de la enucleación se realice osteotomía marginal, mientras que otros autores proponen que es mejor eliminar la lesión con osteotomía marginal con márgenes no menores a 5mm, dejando la resección segmentaria limitada a aquellos casos recurrentes de gran tamaño, los que afectan el cóndilo, en casos con fractura patológica, y aquellos con signos de malignización (García, 2006).

Recientemente se han optado por métodos de tratamiento más conservadores para lesiones de gran tamaño. Se ha defendido la descompresión o marsupialización seguida de la enucleación del quiste, haciendo que el revestimiento sea menos friable y menos adherente. Incluso QO de gran tamaño tratados con descompresión y colocación de drenajes pueden experimentar contracciones espectaculares con remodelación del hueso adyacente. En muchos de estos casos, el quiste desaparece tanto desde el punto de vista radiográfico, como macroscópico. La reducción suele asociarse a un crecimiento del epitelio oral en el interior de la cavidad con sustitución del epitelio queratinizado. Los dientes desplazados por el quiste suelen volver a su posición original. La resolución completa tras la marsupialización es un proceso largo que puede durar hasta 20 meses y requiere la cooperación del paciente, que tiene que irrigar la cavidad y mantenerla abierta y limpia hasta que cure (Cawson, 2009).

Se toma en consideración la **resección en bloque** de un queratoquiste en las siguientes situaciones:

- 1) Cuando el quiste vuelve a pesar la enucleación anterior con un procedimiento adyuvante.
- 2) Cuando los quistes se repiten a pesar de marsupialización y de enucleación anterior con un procedimiento adyuvante.

3) En los casos de multiloculares (multinodular) quistes intraóseos agresivos.

4) En los casos de quistes múltiples no sindrómicos y sindrómicos.

5) Los quistes que presenten un comportamiento clínico agresivo que debe requerir la resección quirúrgica como tratamiento inicial.

*En los niños se considera un tratamiento conservador, porque una operación agresiva puede afectar a la erupción de los dientes involucrados y el desarrollo de la mandíbula (Ramesh, 2015).

3.4.13. Perfil genético.

Una nueva clasificación da una terminología ampliada y un marco diagnóstico, pero todavía hay muchas incertidumbres sobre los mecanismos moleculares y celulares subyacentes al desarrollo y comportamiento de los quistes, tumores y patologías que surgen del epitelio odontogénico y lesiones asociadas, lo que inspira la investigación de estas lesiones. Se han reportado alteraciones en la expresión de oncoproteínas y proteínas supresoras de tumores en quistes odontogénicos y en mutaciones de genes que regulan el ciclo celular para diferentes quistes odontogénicos, especialmente en el queratoquiste odontogénico, por lo que se realizó una revisión sistemática de 31 genes expresados anormalmente. Estos fueron clasificados en base a su localización histológica (revestimiento epitelial y cápsula fibrosa), además del linaje de expresión de 3 vías de señalización que están involucradas en esta patología [Cuadros 8, 9, 10, 11 y 12].

Las moléculas diferencialmente expresadas entre esta y otras patologías en estudios previos, nos brinda una mayor perspectiva del perfil genético y una asociación con mayor entendimiento del comportamiento clínico y biológico de esta lesión.

3.4.13.1. Genes expresados en el revestimiento epitelial del QO.

Nombre, símbolo y PM teórico.	Sinónimo	Localización	Resumen	Función
<u>Metadherina</u> MTDH 49.21972	3D3; AEG1; AEG-1; LYRIC; LYRIC/3D3	Citoplasma	La alta expresión de la proteína AEG-1 se asocia con la progresión tumoral, la invasión y la metástasis. Es el regulador de aguas arriba de la MMP-2 y MMP-9 (Wu, 2017).	Invasión
<u>Matriz metalopeptidasa 2</u> MMP2 73.88230	CLG4; MONA; CLG4A; MMP - 2; TBE - 1; MMP-II	Membrana	Este gen es un miembro de la familia de genes de metaloproteinasas de matriz (MMP). Se piensa que esta proteína está implicada en múltiples vías que incluyen funciones en el sistema nervioso, regulación de la vascularización y metástasis (NCBI, Gene ID: 4313, 2017).	Invasión
<u>Matriz metalopeptidasa 9</u> MMP9 78.45823	GELB; CLG4B; MMP-9; MANDP2	Membrana	La enzima codificada por este gen degrada los colágenos tipo IV y V (NCBI, Gene ID: 4318, 2017).	Invasión Migración
<u>Prostaglandina-endoperóxido sintasa 2</u> PTGS2 68.99612	COX2; COX-2; PHS-2; PGG/HS; PGHS-2; hCox-2; GRIPGH S	Membrana y citoplasma	La PTGS2, también conocida como ciclooxigenasa, es la enzima clave en la biosíntesis de prostaglandinas. Está regulada por eventos estimulantes específicos, lo que sugiere que es responsable de la biosíntesis prostanoide involucrada en la inflamación y la mitogénesis (NCBI, Gene ID: 5743, 2017).	Regulador transcripcional Inflamación
<u>Molécula de adhesión celular neural 1</u> NCAM1 40.75989	CD56; NCAM; MSK39	Membrana	Este gen codifica una proteína de adhesión celular que es un miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas (NCBI, Gene ID: 4684, 2017). Originalmente, NCAM se caracterizó exclusivamente como un mediador de la adhesión célula-célula, pero ahora también se considera para ser un receptor de señalización que afecta a la adhesión celular, la migración, la proliferación, la apoptosis, la diferenciación y la supervivencia. NCAM está implicado en diversos modelos de tumor (Vera-Sirera, 2015).	Regulador transcripcional Receptor
<u>Proteína de tumor p53</u> TP53 38.53260	P53; BCC7; LFS1; TRP53	Núcleo	Este gen codifica una proteína supresora de tumores que contiene dominios de activación transcripcional y unión al ADN. La proteína codificada responde a diversas tensiones celulares para regular la expresión de los genes diana, induciendo así la detención del ciclo celular, la apoptosis, la senescencia, la reparación del ADN o los cambios en el metabolismo. Las mutaciones en este gen están asociadas con una variedad de cánceres humanos (NCBI, Gene ID: 7157, 2017).	Ciclo celular

<p><u>Proteína de tumor p63</u></p> <p>TP63</p> <p>76.56329</p>	<p>AIS; KET; LMS; NBP; RHS; p40; p51; p63; CEE3; OFC8; p73H; p73L; SHFM4; TP53L; TP73L; p53CP; TP53CP; B (p51A); B (p51B)</p>	<p>Núcleo</p>	<p>Este gen codifica un miembro de la familia p53 de factores de transcripción. Las mutaciones en este gen están asociadas con displasia ectodérmica y síndrome de labio leporino / paladar hendido; malformación de manos separadas (NCBI, Gene ID: 8626, 2017).</p> <p>La expresión de P63 tiene un papel en el desarrollo epitelial, biología de células madre y carcinogénesis. Se sugiere que esta proteína es importante en la diferenciación y proliferación de células epiteliales (Atarbash Moghadam, 2013).</p>	<p>Regulador trans-cripcional</p>
<p><u>Marcador de proliferación Ki-67</u></p> <p>MKI67</p> <p>358.69367</p>	<p>KIA; MIB-; MIB-1; PPP1R10 5</p>	<p>Núcleo</p>	<p>Este gen codifica una proteína nuclear que está asociada y puede ser necesaria para la proliferación celular (NCBI, Gene ID: 4288, 2017)</p> <p>El antígeno Ki-67 es una proteína expresada en todas las fases del ciclo celular, excepto en G0. Por lo tanto, la expresión de Ki-67 informa sobre el número de células en proliferación en un tejido (Alsaegh, 2015).</p>	<p>Ciclo celular</p>
<p><u>Antígeno nuclear de proliferación celular</u></p> <p>PCNA</p> <p>36</p>	<p>ATLD2</p>	<p>Núcleo</p>	<p>La proteína codificada por este gen es un cofactor de DNA polimerasa delta. La proteína codificada ayuda a aumentar la procesividad de la síntesis de la cadena líder durante la replicación del ADN. En respuesta al daño del ADN, esta proteína es está implicada en vía RAD6 que repara el ADN (NBCI, Gene ID: 5111, 2017).</p> <p>La expresión se correlaciona con la fase S del ciclo celular, por lo que tiene un papel crítico en la iniciación de la proliferación celular (Sajeevan, 2014).</p>	<p>Ciclo celular</p>
<p><u>Catenina beta 1 / B-catenina</u></p> <p>CTNNB1</p> <p>85.49659</p>	<p>CTNNB; MRD19; EVR7</p>	<p>Membrana</p>	<p>La proteína codificada por este gen es parte de un complejo de proteínas que constituyen uniones adherentes (AJs). Los AJ son necesarios para la creación y mantenimiento de capas de células epiteliales mediante la regulación del crecimiento celular y la adhesión entre células. La proteína codificada también ancla el citoesqueleto de actina y puede ser responsable de transmitir la señal de inhibición de contacto que hace que las células dejen de dividirse una vez que la hoja epitelial está completa.</p> <p>Las mutaciones en este gen son una causa de cáncer colorrectal (CRC), pilomatrixoma (PTR), meduloblastoma (MDB) y cáncer de ovario. (NCBI, Gene ID: 1499, 2017).</p>	<p>Regulador trans-cripcional</p> <p>Invasión</p>

<u>Regulador de apoptosis, BCL2</u> BCL2 26.26589	Bcl-2; PPP1R50	Membrana	Este gen codifica una proteína de la membrana mitocondrial externa integral que bloquea la muerte apoptótica de algunas células (NCBI, Gene ID: 596, 2017). Se cree que la proteína Bcl-2 está implicada en la resistencia a los tratamientos convencionales contra los fármacos contra el cáncer (Diniz, 2012).	Regulador trans-cripcional
<u>MicroARN 15a</u> MIR15A -----	MIRN15A ; mir-15a; miARNA15A; hsa-mir-15a	Citoplasma	Funciona como regulador negativo del gen anti-apoptótico BCL2 en el nivel posttranscripcional; al ser naturalmente antisentido de <i>BCL2</i> , actúa como supresor de tumor (Diniz, 2012).	Regulador trans-cripcional
<u>MicroRNA 16-1</u> MIR161 -----	MIRN16 - 1; mir-16-1; miRNA16 -1	Citoplasma	Funciona como regulador negativo del gen anti-apoptótico BCL2 en el nivel posttranscripcional; al ser naturalmente antisentido de <i>BCL2</i> , actúa como supresor de tumor. (Diniz, 2012).	Regulador trans-cripcional
<u>Interleucina 1 alfa</u> <u>Hematopoyetina</u> <u>Catabolina</u> IL1A 30.79967	IL1; IL-1A; IL1F1; IL1-ALPHA	Membrana	La proteína codificada por este gen es un miembro de la interleucina 1 familia de citoquinas. Esta citoquina es una citoquina pleiotrópica implicada en diversas respuestas inmunes, procesos inflamatorios y hematopoyesis. Esta citoquina es producida por monocitos y macrófagos como una proproteína, que se procesa se libera en respuesta a la lesión celular, y por lo tanto, induce la apoptosis (NCBI, Gene ID: 3552, 2017).	Inflamación
<u>Interleucina 1 beta</u> IL1B 30.74791	IL-1; IL1F2; IL1-BETA	Membrana	La proteína codificada por este gen es un miembro de la interleucina 1 familia de citoquinas. Esta citoquina es producida por macrófagos activados como una proproteína, que se procesa proteolíticamente a su forma activa por la caspasa 1 (CASP1 / ICE). Esta citoquina es un mediador importante de la respuesta inflamatoria, y está implicada en una variedad de actividades celulares, incluyendo proliferación celular, diferenciación y apoptosis (NCBI, Gene ID: 3553, 2017).	Inflamación Ciclo celular
<u>Proto-oncogén MDM2</u> MDM2 52.46958	HDMX; hdm2; ACTFS	Núcleo	Este gen codifica una ubiquitina ligasa localizada en el núcleo. La proteína codificada puede promover la formación de tumores dirigiéndose a proteínas supresoras de tumores, tales como p53, para la degradación proteosomal. Este gen está regulado transcripcionalmente por p53. El empalme alternativo da como resultado una multitud de variantes de transcripción, muchas de las cuales pueden expresarse solamente en células tumorales (NCBI, Gene ID: 4193, 2017).	Regulador trans-cripcional

<p><u>Cadherina 1</u></p> <p>CDH1</p> <p>71.33923</p>	<p>UVO; CDHE; ECAD; LCAM; Arc-1; CD324</p>	<p>Citoplasma</p>	<p>Este gen codifica una cadherina clásica de la superfamilia cadherina. Esta es una proteína de adhesión de célula-célula dependiente de calcio.</p> <p>Se piensa que la pérdida de función de este gen contribuye a la progresión del cáncer aumentando la proliferación, invasión y / o metástasis (NCBI, Gene ID: 999, 2017).</p>	<p>Regulador trans-cripcional</p> <p>Invasión</p>
<p><u>Tríada frágil de histidina</u></p> <p>FHIT</p> <p>5.53834</p>	<p>FRA3B; AP3Aase</p>	<p>Citoplasma</p>	<p>La proteína codificada por este gen es una P1-P3-bis (5'-adenosil) trifosfato hidrolasa implicada en el metabolismo de las purinas. La proteína codificada es también un supresor de tumores, ya que la pérdida de su actividad produce un estrés de replicación y daño al ADN (NCBI, Gene ID: 2272, 2017).</p> <p>La sobreexpresión de FHIT induce a la apoptosis (Malčić, 2008).</p>	<p>Regulador trans-cripcional</p>
<p><u>Queratina 18</u></p> <p>KRT18</p> <p>48.05781</p>	<p>K18; CK-18; CYK18</p>	<p>Citoplasma</p>	<p>KRT18 codifica la queratina de cadena de filamento intermedia de tipo I 18. Se expresan en tejidos epiteliales de una sola capa del cuerpo.</p> <p>Las mutaciones en este gen se han relacionado con la cirrosis criptogénica (NCBI, Gene ID: 3875, 2017).</p>	<p>Regulador trans-cripcional</p>
<p>CD82</p> <p>29.61149</p>	<p>R2; 4F9; C33; IA4; ST6; GR15; KAI1; SAR2; TSPAN27</p>	<p>Membrana</p>	<p>Este producto genético supresor de metástasis es una glicoproteína de membrana que es un miembro de la superfamilia transmembrana 4. Se ha demostrado que la expresión de este gen está regulada negativamente en la progresión tumoral de cánceres humanos y puede ser activada por p53 a través de una secuencia de unión consenso en el promotor (NCBI, Gene ID: 3732, 2017).</p> <p>El gen supresor de tumores KAI-1 está ampliamente distribuido en tejidos normales y su regulación negativa puede estar correlacionada con el fenotipo invasivo y metástasis en varios tumores epiteliales diferentes. Es un importante regulador del comportamiento celular. Esta proteína puede estar involucradas en la transducción de señal transmembrana regulación de la proliferación celular, la diferenciación y la motilidad (Iezzi, 2007).</p> <p>La proteína KAI-1 también parece influir en la adhesión de célula a célula y puede estar relacionada con la actividad inhibidora de metástasis. La baja regulación de este gen, demostró estar asociada con el desarrollo de metástasis (Iezzi, 2007).</p>	<p>Regulador trans-cripcional</p>

*Cuadro 8: Revisión de genes expresados en el revestimiento epitelial del QO.

3.4.13.2. Genes expresados en la cápsula fibrosa del QO.

Nombre, símbolo y PM teórico	Sinónimo	Localización	Resumen	Función
<p><u>Lisil oxidasa 4</u></p> <p>LOXL4</p> <p>30.35189</p>	LOXC	Citoplasma	<p>Este gen codifica un miembro de la familia del gen de la lisil oxidasa. El miembro prototípico de la familia es esencial para la biogénesis del tejido conectivo, que codifica una amina oxidasa extracelular dependiente del cobre que cataliza el primer paso en la formación de reticulaciones en colágenos y elastina (NCBI, Gene ID: 84171, 2017).</p> <p>La alta expresión de LOXL4 podría aumentar la proliferación y migración de las células endoteliales, por lo tanto sugiere el aumento de la angiogénesis en tumores (Jiang, 2014).</p>	Invasión
<p><u>Heparán sulfato proteoglicano 2</u></p> <p>HSPG2</p> <p>468.82299</p>	PLC; SJA; SJS; HSPG; SJS1; PRCAN	Núcleo: citoplasma; membrana y espacio extracelular.	<p>Este gen codifica la proteína perlecan. La proteína perlecan es un gran proteoglicano multidominio que se une y reticula muchos componentes de la matriz extracelular y moléculas de la superficie celular.</p> <p>Perlecan es un componente clave de la matriz extracelular vascular, donde ayuda a mantener la función de la barrera endotelial. Es un potente inhibidor de la proliferación de las células del músculo liso y, por lo tanto, se piensa que ayuda a mantener la homeostasis vascular. También puede promover el factor de crecimiento (por ejemplo, FGF2) y estimular así el crecimiento endotelial y la re-generación. Es un componente principal de las membranas basales, donde está implicado en la estabilización de otras moléculas así como está implicado con la permeabilidad glomerular a las macromoléculas ya la adherencia celular (NCBI, Gene ID: 3339, 2017).</p>	Regulador trans-cripcional

*Cuadro 9: Revisión de Genes expresados en la cápsula fibrosa del QO.

3.4.13.3. Genes expresados en la vía Hedgehog en el QO y SNCB.

Nombre, símbolo y PM teórico	Sinónimo	Localización	Resumen	Función
<u>Sonic Hedgehog</u> SHH 49.60722	TPT; HHG1; HLP3; HPE3; SMMCI; TTPS; MCOPCB 5	Citoplasma	Este gen codifica una proteína que es instrumental en el patrón del embrión temprano. Se ha implicado como la señal inductiva clave en el modelado del tubo neural ventral, el eje de la extremidad anterior-posterior y los somitos ventrales. Los defectos en esta proteína o en su vía de señalización son una causa de holoprosencefalia (HPE), un trastorno en el que el cerebro anterior en desarrollo no se separa correctamente en los hemisferios derecho e izquierdo. HPE se manifiesta por deformidades faciales. (NCBI, Gene ID: 6469, 2017).	Vía de señalización Ligando
<u>Patched 1</u> PTCH1 20.84236	PTC; BCNS; HPE7; PTC1; PTCH;	Membrana	La proteína codificada es el receptor del ligando Sonic Hedgehog. Después la unión por el ligando, la proteína codificada es tratada lejos del cilio primario, aliviando la inhibición del receptor acoplado a la proteína G suavizado, lo que da lugar a la activación de la señalización aguas abajo. Las mutaciones de este gen se han asociado con el síndrome del nevo basocelular y holoprosencefalia (NCBI, Gene ID: 5727, 2017).	Vía de señalización Regulador transcripcional Receptor
<u>GLI</u> GLI1 117.96152	GLI	Núcleo	Este gen codifica un miembro de la familia Kruppel de proteínas de dedo de zinc. El factor de transcripción codificado es activado por la cascada de transducción de señales SHH y regula la proliferación de células madre. La actividad y la localización nuclear de esta proteína está regulada negativamente por p53 en un bucle inhibitorio (NCBI, Gene ID: 2735, 2017).	Vía de señalización Regulador transcripcional Ciclo celular
<u>Smoothened</u> SMO 86.39682	Gx; CRJS; SMOH; FZD11	Membrana	La proteína codificada por este gen es un receptor acoplado a proteína G que interactúa con la proteína PTCH, un receptor para las proteínas SHH. La proteína codificada transmite señales a otras proteínas después de la activación por un complejo proteína SHH / PTCH (NCBI, Gene ID: 6608, 2017).	Vía de señalización Regulador transcripcional Receptor

*Cuadro 10: Genes expresados en la vía SHH en QO y SNCB.

Entre las investigaciones más recientes se ha relacionado la activación aberrante de la vía Sonic Hedgehog (SHS) en múltiples casos de QO esporádicos, QO múltiples asociados al SNCB y a carcinomas de células basales (Freier K1, 2009). Uno de los genes principales de esta vía SHS es PTCH. Que en estudios anteriores han demostrado que PTCH1 tiene el papel esencial en la aparición de Carcinomas de células basales (CCB) y QO, sin embargo, hay casos en los que no se ha detectado alteración de PTCH1. De 10-20% de los pacientes con SNCB no tienen mutaciones PTCH1; y PTCH1 no siempre se detecta en QO. Esto sugiere que otros genes en la ruta de señalización SHS pueden verse afectados en estas enfermedades (Shimada, 2013).

Aproximadamente el 40% de los casos de SNCB tienen mutaciones en la línea germinal del gen PTCH. El producto PTCH sirve como un receptor para la proteína Sonic hedgehog (SHH) secretada, e inhibe la vía de señalización al reprimir la actividad de Smoothed (SMO), que es una proteína de membrana transmembranal. SMO también tiene un papel en la recepción y transducción de la señal SHH. SMO es responsable de desencadenar la señalización intercelular y la posterior activación de los genes diana como GLI-1. En ausencia de SHH, PTCH interactúa en la membrana con smoothed, haciéndolo inactivo. Sin embargo, cuando SHH se

une a PTCH, la inhibición de la señalización SMO se libera y los genes vía abajo son sobre regulados durante la transcripción. GLI-1 es un factor de transcripción que se cree que forma un complejo citoplasmático y media la señalización SHH del citoplasma al núcleo (Ohki, 2004).

La vía de señalización SHH juega un papel importante en el desarrollo embrionario de los mamíferos en estructuras tales como el tubo neural, el esqueleto axial, los miembros, los pulmones, la piel y los folículos pilosos. La expresión de genes implicados en la vía de señalización SHH se ha confirmado temporalmente y espacialmente durante el desarrollo temprano de los dientes, lo que sugiere un papel en la iniciación temprana del germen dental y posteriores interacciones epiteliales-mesenquimales (Ohki, 2004).

SHH está considerado como uno de los genes reguladores más importantes de la transformación oncogénica. El gen PTCH funciona como un supresor de tumor en su expresión normal, sin embargo se ha demostrado que los genes SHH, SMO y GLI-1 funcionan como oncogenes cuando se encuentran mutados. La inactivación mutacional de PTCH conduce a la sobreexpresión de la transcripción mutante debido al fallo de un mecanismo de retroalimentación negativa (Ohki, 2004).

3.4.13.4. Genes expresados en la vía WNT en el QO.

Nombre, símbolo y PM teórico	Sinónimo	Localización	Resumen	Función
<p><u>Miembro 1 de la familia Wnt</u></p> <p>WNT1</p> <p>40.98171</p>	NT1; OI15; BMND16	Núcleo	Este gen es un miembro de la familia de genes WNT. La familia de genes WNT consiste en genes estructuralmente relacionados que codifican proteínas secretadoras. Estas proteínas han sido implicadas en la oncogénesis y en varios procesos de desarrollo, incluyendo la regulación del destino celular y el patrón durante la embriogénesis (NCBI, Gene ID: 7471, 2017). Modula la adhesión célula-célula mediante la estabilización de la β -catenina (Hakim, 2011).	<p>Vía de señalización</p> <p>Regulador transcripcional</p>
<p><u>Miembro 10-A de la familia Wnt</u></p> <p>WNT10A</p> <p>46.44427</p>	OODD; SSPS; STHAG4	Citoplasma	Este gen es un miembro de la familia de genes WNT. Se expresa fuertemente en las líneas celulares de la leucemia promielocítica y el linfoma de Burkitt. La sobreexpresión genética puede desempeñar un papel clave en la carcinogénesis mediante la activación de la vía de señalización WNT-beta-catenina-TC (NCBI, Gene ID: 80326, 2017).	<p>Vía de señalización</p> <p>Regulador transcripcional</p>

*Cuadro 11: Genes expresados en la vía WNT en QO.

Otra vía que está asociada al desarrollo y crecimiento de QO es la vía de Wnt. La activación potencial de la vía Wnt también se asocia con la regulación de los genes de la corriente descendente en la vía SHH / PTCH, y la vinculación entre las vías SHH y Wnt también se ha evaluado durante el desarrollo craneofacial. En los mamíferos, Wnt-1 actúa como un factor de crecimiento que se secreta y se asocia con la superficie celular. Modula la adhesión célula-célula mediante la estabilización de la β -catenina vinculante a la adhesión celular proteína cadherina. Dado que la β -catenina regula junto con α -catenina la función cadherina, la expresión

aberrante de β -catenina y cadherina conduce a su vez a la disminución de la adhesión celular y la interrupción de la morfogénesis del tejido, que se correlaciona con la invasión de células neoplásicas.

La adhesión celular mediada por cadherina actúa como un sistema supresor de invasión en las células cancerosas, ya que las células no invasivas pueden transformarse en invasoras cuando la función cadherina está bloqueada por anticuerpos relacionados. Se mostró una significativa baja regulación de E-cadherina en QO, lo que explica el crecimiento invasivo del queratoquiste odontogénico (Hakim, 2011).

3.4.13.5. Genes expresados en la vía RANKL en el QO.

Nombre, símbolo y PM teórico	Símbolo	Localización	Resumen	Función
Miembro 11a de superfamilia del receptor de TNF TNFRSF11A 66.61269	FEO; OFE; ODFR; OSTS; PDB2; RANK ; CD265; OPTB7; TRANC ER; LOH18 CR1	Membrana y citoplasma	La proteína codificada por este gen es un miembro de la superfamilia del receptor TNF. Estos receptores pueden interactuar con diversas proteínas de la familia TRAF, a través de las cuales este receptor induce la activación de NF-kappa B y MAPK8 / JNK. Este receptor y su ligando son importantes reguladores de la interacción entre células T y células dendríticas. Este receptor es también un mediador esencial para el desarrollo de osteoclastos y ganglios linfáticos (NCBI, Gene ID: 8792, 2017).	Receptor Regulador trans-cripcional
Miembro de superfamilia TNF 11 TNFSF11 35.47811	ODF; OPGL; sOdf; CD254; OPTB2; RANKL ; TNLG6 B; TRANC E; hRANK L2	Membrana y citoplasma	Este gen codifica un miembro de la familia de citoquinas del factor de necrosis tumoral (TNF) que funciona como un factor clave para la diferenciación y activación de osteoclastos. Se demostró que esta proteína es un factor de supervivencia de células dendríticas y está implicada en la regulación de la respuesta inmune dependiente de células T. Se informó que la activación de las células T indujo la expresión de este gen y condujo a un aumento de la osteoclastogénesis y la pérdida ósea. Esta proteína podría tener un papel en la regulación de la apoptosis celular (NCBI, Gene ID: 8600, 2017).	Ligando Regulador trans-cripcional Ciclo celular
Miembro de superfamilia de receptor de TNF 11b TNFRSF11B 40.02602	OPG ; TR1; OCIF; PDB5	Membrana y citoplasma	La proteína codificada por este gen es un miembro de la superfamilia del receptor TNF. Esta proteína es un receptor señuelo osteoblástico secretado que funciona como un regulador negativo de la resorción ósea. Esta proteína se une específicamente a su ligando, ligando de osteoprotegerina, los cuales son reguladores extracelulares clave del desarrollo de osteoclastos (NCBI, Gene ID: 4982, 2017).	Receptor Regulador trans-cripcional

*Cuadro 12: Genes expresados en la Vía RANKL en QO.

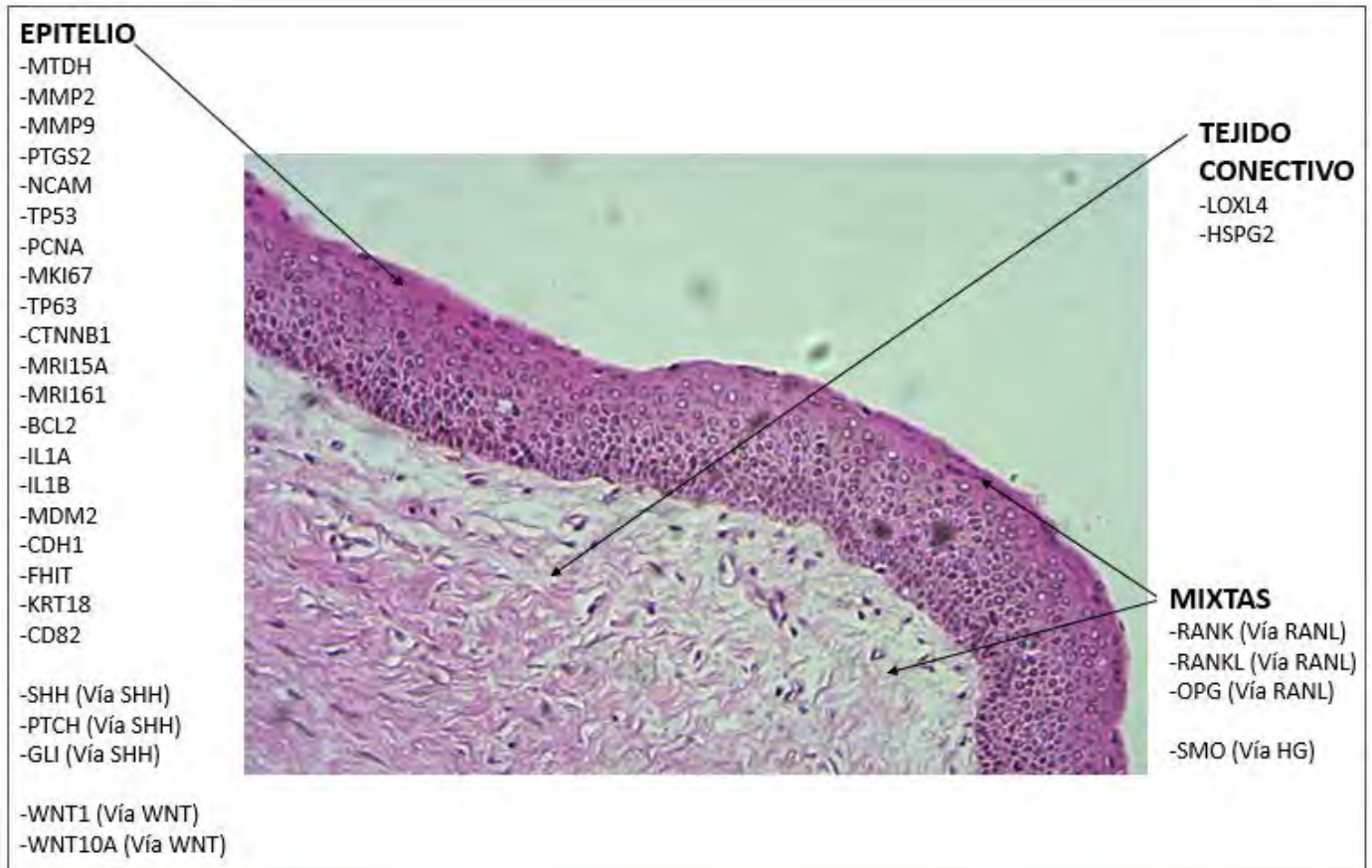
Al igual que las vías mencionadas anteriormente, la expresión de la vía RANKL se ha identificado en queratoquistes odontogénicos. Varios mediadores también implicados en la osteoclastogénesis e identificados en QO, tales como TNF- α , interleucina (IL) -1 α y IL-1 β , IL-6, y prostaglandinas, pueden ejercer sus efectos mediante la regulación de los niveles RANK, RANKL y OPG. De hecho, la secreción de RANKL, pero no OPG, por fibroblastos del QO depende de la inducción de IL- 1 α y prostaglandina E2.

Se ha demostrado que el sistema OPG, RANK, RANKL está anormalmente regulado en varias patologías osteolíticas malignas, incluyendo lesiones odontogénicas neoplásicas y no odontogénicas. Además, las células epiteliales odontogénicas neoplásicas y no neoplásicas parecen ser una fuente importante de RANKL y OPG. Sorprendentemente, las interacciones entre el parénquima y el estroma son importantes para el equilibrio entre los niveles de RANKL y OPG en el QO. Es importante tener en cuenta que varios mediadores inflamatorios previamente identificados en QO también pueden

desempeñar un papel en la regulación de la distinción de los niveles de RANL y OPG.

El descubrimiento y caracterización de la vía de señalización RANKL, RANK, OPG y la

identificación de su papel en la patogénesis de la pérdida ósea ha proporcionado la justificación para el desarrollo de fármacos con la capacidad de modular RANK inducida a Osteoclastogénesis (da Silva, 2008).



***Figura 15:** Fotografía histológica de queratoquiste odontogénico enucleado (H-E a 10X) Expresión molecular del QO según su localización histológica; Tejido epitelial y tejido conectivo. Esquema basado mediante reportes previos de ensayos inmunohistoquímico

3.4.14. Recidivas.

La frecuencia de la recidiva tras la enucleación depende de varios factores, incluidos los referidos en la sección precedente. Incluso con un tratamiento enérgico, no existe una certeza absoluta de que la curación se completa. En algunos casos los queratoquistes han recidivado en los injertos colocados tras la extirpación. A continuación se describen las posibles causas por las cuales se atribuye la alta reincidencia de esta patología [Cuadro 13].

RAZONES POSIBLES DE RECIDIVAS DE QUERATOQUISTES ODONTOGÉNICOS.

- Revestimientos delgados y frágiles, difíciles de enuclear intactos.
- Extensiones digitiformes del quiste al hueso trabecular.
- A veces quistes satélites (hijos) en la pared.
- Proliferación más rápida del epitelio del queratoquiste.
- Formación de quistes adicionales desde otros restos de lámina dental (pseudorecidivas).
- Estándar inferior de tratamiento quirúrgico.
- Posiblemente es una neoplasia.

*Cuadro 13. (Tomado de (Cawson, 2009)

Es imperativo mantener al paciente en seguimiento cercano durante por lo menos 5 años o más, si es posible, pues la probabilidad de recidiva a largo plazo está documentada (García, 2006).

Dentro de estas lesiones queratoquísticas, existen variantes de las cuales hay diversas afecciones asociadas, como lo son el **síndrome del nevo de células basales**; caracterizado por la aparición de múltiples QO y múltiples carcinomas basocelulares, entre otras anomalías esqueléticas y sistémicas. Otra patología a la que se relaciona, es la malignización del QO a **carcinoma intraóseo de células escamosas**; los cuales serán descritos más adelante.

3.4.15. Pronóstico y factores predictivos.

El QO es una patología potencialmente agresiva. Los pacientes deben ser cuidadosos después del tratamiento debido a la presencia común de quistes hijos y una tendencia a la multiplicidad (Barnes, 2005). Es importante distinguir a los queratoquistes de otros quistes odontogénicos y no odontogénicos que presentan queratinización, pues su pronóstico es diferente.

Las recurrencias fueron más frecuentes en el pasado, pero se han reducido dramáticamente con tratamientos meticulosos. Una revisión sistemática, encontró en general una recurrencia alrededor del 25%, pero la recurrencia alrededor después de la enucleación con solución de Carnoy fue del 8%. La recurrencia después de la resección fue rara (ocurriendo en menos del 2% de los casos) (Adel K. El Naggar, 2017).

3.5. Síndrome del nevo de células basales.

Este síndrome, a menudo denominado “**Síndrome de Gorlin Goltz**”, se hereda de forma autosómica dominante y consiste esencialmente en una **triada de múltiples nevos de células basales, queratoquistes odontógenos y anomalías esqueléticas**. No obstante se han descrito otros muchos defectos asociados (Cawson, 2009). Se denomina con varios nombres, tales como el síndrome del nevo de células basales, Síndrome de Gorlin, carcinoma de células basales múltiple (CCBM) y síndrome de Basolioma múltiple (Ramesh, 2015).

3.5.1. Etiología.

Se debe a cualquiera de las múltiples mutaciones del **gen PTCH del cromosoma 9q**. Este gen es importante para el patrón de desarrollo, las anomalías esqueléticas se deben a la inactivación de uno de los alelos. El gen además de ser supresor de tumor, controla el ciclo celular a través de la **vía de señalización Hedgehog**. La inactivación o la mutación de la segunda copia del gen, se asocia al desarrollo de múltiples epitelomas basocelulares y queratoquistes odontogénicos. Mutaciones del mismo gen pueden encontrarse en otros tipos de neoplasias como el tricoepitelioma y el meduloblastoma, que a veces se asocian al síndrome. Los queratoquistes odontogénicos esporádicos, también pueden mostrar en ocasiones mutaciones del gen PTCH (Cawson, 2009).

3.5.2. Incidencia.

El síndrome se presenta con igual frecuencia en ambos sexos, pero la mayoría de los informes han

sido en blancos. Tiene tanto una variante esporádica y una incidencia familiar, a pesar de que se detecta en niños muy pequeños, que se expresan continuamente entre las edades de 17 años y 35 años (Ramesh, 2015).

3.5.3. Características clínicas.

Las manifestaciones clínicas del síndrome se agrupan en un conjunto de defectos esqueléticos y sistémicos, los cuales se describen en el cuadro 14 los de mayor porcentaje de incidencia en aparición.



***Figura 16:** Ortomantografía revelando dientes ectópicos presentes en ambos lados del maxilar superior y en el lado derecho de la mandíbula, desplazados por quistes (Ramesh, 2015).

CATEGORÍA	CARACTERÍSTICA CLÍNICAS	INDICIDENCIA %
1: Anomalías cutáneas	Nevo de células / carcinoma basocelular	50 -97
	Otros quistes y tumores cutáneos benignos	21
	Picaduras palmar /plantar	90
	Queratosis y calcinosis palmar y plantar cutánea	-
2: Anomalías dentales	Queratoquistes odontogénicos múltiples	75-10
	-Hipoplasia maxilar / Prognatismo mandibular paladar ojival, o cordilleras palatinas prominentes	40
	Labio/paladar hendido	4
	Dientes y/o agenesia impactadas	3
	Dientes ectópicos y maloclusión	-
3: Anomalías craneofaciales	Calcificación de la hoz	37-79
	Calcificación del cerebelo	3
	Un puente silla turca	21
	Macrocefalia	40
	Braquicefalia, Prominencia facial	25
	Prominencia gruesa parietal y temporal y cara	50
4: Anomalías esqueléticas	Polidactilia	3
	Sindactilia, escoliosis	15
	-Hemivértebras u otros defectos vertebrales	3
	-Radiolucencias en forma de llama de la mano / pies, espina bífida	
	Osteoporosis	3
	Cuello uterino / bifurcados / fusionados /// costillas ausentes, extendidas o rudimentarias	26
	Cuarto metacarpiano acortado	12

*Cuadro 14: Incidencia de características clínicas en el SNCB (Tomado de (Ramesh, 2015)).

3.5.4. El queratoquiste odontogénico asociado al SNCB.

Histológicamente en comparación con un queratoquiste convencional, el QO sindrómico muestra un mayor número de quistes satélites,

restos epiteliales intramurales, restos odontogénicos dentro de la cápsula, aumento de paraqueratinación y figuras de mitosis en el epitelio. Por otra parte, los QO sindrómicos tienen menor altura epitelial y núcleos más pequeños en comparación con queratoquistes solitarios (Ramesh, 2015).

3.6. Carcinoma primario intraóseo de células escamosas, derivado de queratoquiste odontogénico.

Los carcinomas primarios intraóseos de células escamosas (CPICE) derivados de un QO son muy raros cuando se comparan con los CPICE que se derivan de otro quiste odontogénico (no queratinizante). Para calificar como CPICE no debe haber una conexión inicial con la mucosa oral que cubre la piel, o la mucosa antral o nasal. La posibilidad que el CPICE represente metástasis a distancia del tumor primario debe ser descartada por examinación física y radiográfica (Tomografía computarizada y resonancia magnética), y el subsecuente curso clínico. El único criterio que demuestra que un carcinoma de células escamosas ha surgido de un QO, es la demostración de la transición directa desde el recubrimiento epitelial normal al carcinoma invasivo (Reichart, 2004).

3.6.1. Antecedentes.

Antes de 1922, solo 6 casos de CPICE derivados de QO fueron descritos. Casos adicionales fueron publicados por Yoshida et. Al., Dabbs et al, Hennis et al, y Foley et al.

Otros casos de carcinomas de células escamosas (SCCs) derivados de pacientes con síndrome de Gorlin Goltz fueron descritos por Ramsden y Barret tanto como por Moos y Rennie.

Herber et al, reportó un caso yuxtapuesto de QO y carcinoma de células escamosas. Aunque algunos son morfológicamente similares entre los QO y los tumores que fueron observados, es prueba definitiva de un origen común no era demostrable (Reichart, 2004).

3.6.2. Prevalencia.

El número de casos bien documentados de CPICE, ex QO son extremadamente pequeños, No se dispone de cifras sobre prevalencia, incidencia y frecuencia relativa (Reichart, 2004).

La muestra de la distribución de CPICE ex QO, es de 14 casos. Aunque la muestra es pequeña, los casos tienden a involucrar principalmente a ancianos (Reichart, 2004).

La proporción de género hombres : mujeres con tumores en 14 pacientes fue de 1.3 : 1 (Reichart, 2004).

La localización y distribución topográfica de 14 casos, 2 casos involucran toda la mandíbula (Reichart, 2004).

3.6.3. Macroscopía.

No hay descripciones detalladas de los aspectos macroscópicos del CPICE ex QO que hayan sido publicados (Reichart, 2004).

3.6.4. Patogénesis.

Aunque el epitelio del QO parece tener una actividad mitótica más acelerada que otros quistes odontogénicos, esto es una pequeña evidencia que los QO son asociados con un cambio maligno con más frecuencia que cualquier otro tipo de quiste odontogénico, de hecho, el potencial de transformación maligna del QO parece ser bastante bajo.

Brownw y Gouch sugirieron que la metaplasia de la queratina, seguida por la hiperplasia epitelial y el desarrollo de displasia epitelial del epitelio del quiste, fueron los eventos significativos en el desarrollo del CE en quistes odontogénicos. También se sugirió que los revestimientos de quistes que revelan queratinización tenían un mayor riesgo de desarrollar

CE. Además, mientras hay varios casos bien documentados en el QO y el CE, yuxtapuestos, no fue posible determinar si representan una transformación maligna dentro del quiste o colisión de dos entidades patogénicas distintas. Al igual que con el CPICE en quistes odontogénicos, hay una escasez relativa de información patógena de CPICE ex QO. Los mismos factores (desconocidos) que conducen a la transformación del epitelio quístico en corteza no queratinizante también pueden ser relevantes para QO (Reichart, 2004).

3.6.5. Metástasis.

Es de interés adicional que la metástasis A los ganglios linfáticos cervicales y submandibulares ocurre en hasta el 50% de los casos notificados de quiste odontogénico CPICE; De hecho, el nodo linfático agrandado puede ser la presentación inicial de un CE quistogénico (Reichart, 2004).

3.6.6. Hallazgos ultraestructurales.

Herbener et al' estudiaron la ultraestructura de un QO y un CE yuxtapuestos. A nivel de ultraestructura, algunas de las células observadas tanto en el QO como en el CE tenían una notable semejanza con el ameloblasto de los dientes en desarrollo y con las células del ameloblastoma similares al ameloblastoma. Los autores vieron algunos indicios de una posible relación entre el QO y el CE, pero sus observaciones no fueron suficientes para apoyar una conclusión de un origen compartido (Reichart, 2004).

3.6.7. Notas sobre el tratamiento y la tasa de recurrencia.

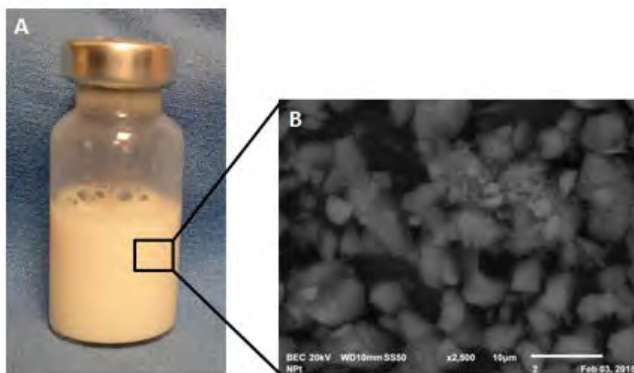
El tratamiento de elección para el CPICE ex QO es la cirugía radical con disección del cuello de los ganglios linfáticos. Debido al pequeño número de casos de CPICE ex QO, no se dispone de información

reveladora sobre la tasa de recurrencia, frecuencia de metástasis o pronóstico. El seguimiento a largo plazo, al igual que con los pacientes con cáncer oral, es obligatorio (Reichart, 2004).

3.7. Nanopartículas.

Durante el desarrollo de este proyecto de investigación, se realizó un experimento a manera de prueba en el que involucró el uso de compuestos nanoparticulados, que fueron introducidos como una posible variable en el protocolo.

La nanotecnología es una rama de la tecnología, cuyo objetivo de estudio son los materiales nanoestructurados. La mayoría de estos materiales están basados en la composición de cerámicas, metales, polímeros, biomateriales, óxidos metálicos, puros, óxidos mixtos, etc. Todos ellos son nanoestructurados, inteligentes y biomiméticos (buscan replicar o “mimetizar” los procesos biológicos, tanto orgánicos, como inorgánicos). La escala por la cual se miden los nanomateriales son los nanómetros, cuya medida corresponde a la millonésima parte de un milímetro / la milmillonésima parte de un metro (1 nanómetro: 0.000000001 metros. / 1 milímetro: 1, 000,000 nanómetros) [Figura 17] (Goerne, 2011).



***Figura 17:** Vista macro y microscópica de nanopartículas de platino Pt/TiO². (Imagen del autor. Fotografía de microscopio de barrido).

Aplicación de la nanotecnología a la Medicina, es empleada para mejorar la calidad de vida de los seres humanos, combatiendo las enfermedades de una forma innovadora. La Nanomedicina es una fuente

de distintas aplicaciones, como la construcción de sistemas que puedan llevar el compuesto activo de un fármaco específicamente a la zona dañada del cuerpo. El uso de nanopartículas permite atravesar las membranas citoplasmicas y nucleares para ingresar material químico, biológico o genético en células determinadas. Esta auténtica “nanoentrega” promete tratamientos revolucionarios para enfermedades hoy incurables. Por otra parte la nanotecnología ofrece una forma para manipular sistemas biológicos complejos con mayor selectividad y tiempo de lo que podrían hacerlo las aproximaciones farmacológicas convencionales (Goerne, 2011)

En este caso, empleamos la nanomedicina catalítica, que consiste en la obtención de biocatalizadores inorgánicos nanoestructurados, selectivos, funcionalizados, no tóxicos y biocompatibles. La “Catálisis” es un fenómeno mediante el cual una pequeña cantidad de materiales externos acelera la reacción, sin que éstos sean consumidos. Los procesos catalíticos tienen un papel central en todas las transformaciones químicas y bioquímicas, así como en los procesos enzimáticos. Un catalizador únicamente modifica la cinética de reacciones termodinámicamente posibles. El catalizador puede tener un efecto acelerador o un efecto orientador, o ambos sobre un sistema. En el segundo caso, la función catalítica se observa en la variación de los valores de selectividad de un proceso, cuando varias direcciones son termodinámicamente posibles (Goerne, 2011).

El objetivo de la nanomedicina catalítica consiste en romper enlaces carbono-carbono y carbono-nitrógeno de ADN de células cancerígenas. En este caso en particular se estudian los materiales nanoparticulados de platino (Pt/TiO²) en el modelo de explante primario de Queratoquiste odontogénico.

El puente de hidrógeno es un pseudo-enlace que se forma por la atracción de las densidades de carga mencionadas entre un hidrógeno y un oxígeno. Estos pseudo-enlaces son más débiles que un enlace iónico

o covalente, pero lo suficientemente fuertes como para mantener a las moléculas juntas. Los puentes de hidrógeno A-T (Adenina-Tiamina) y C-T (Citosina-Guanina), entre las bases púricas y pirimídicas, son el eje de la doble hélice del modelo de ADN que propusieron en 1953 Rosalind Franklin, James Watson y Francis Cric. El ADN es un largo polímero formado por unidades repetitivas de nucleótidos unidos en una doble cadena por puentes de hidrógeno. Mide entre 2.2 y 2.6 nm de ancho, y una unidad de la doble hebra (nucleótido) mide 0.33 nm de largo. Aunque cada unidad individual que se repite es muy pequeña, los polímeros de ADN son moléculas enormes que contienen millones de nucleótidos (Goerne, 2011).

El European Journal of medicinal chemistry, 45 (2010) 1982-1990; Publicaron la interacción del nanocatalizador Pt/TiO² con ADN, para la reducción de tumores cancerígenos (Goerne, 2011). Actualmente la nanomedicina es utilizada ampliamente en la aplicación de vacunas, fármacos, nanobiosensores y el estudio mediante ensayos clínicos en tumores.

4. JUSTIFICACIÓN.

En la actualidad el “Queratoquiste odontogénico” tiene relevancia a nivel de salud estomatológica y salud pública, debido a su alta preponderancia en frecuencia de aparición en México y en el mundo. Siendo una patología en el que el tratamiento al que son sometidos estos pacientes para su rehabilitación son invasivos y exhaustivos debido a su comportamiento de infiltración, gran potencial de crecimiento, invasión de estructuras, y por lo tanto difícil enucleación y alta tasa de recidiva posterior al tratamiento quirúrgico, siendo difícil su erradicación definitiva por métodos convencionales a comparación de otros quistes de origen odontogénico. Por lo anterior, consideramos que el conocer los perfiles de proteínas, así como la futura identificación de estas mismas contribuirá a comprender su comportamiento biológico y permitirá dilucidar una estrategia alternativa de tratamiento.

5. OBJETIVOS.

5.1. Objetivo general.

Conocer los perfiles de proteínas del tejido queratoquístico y variantes experimentales de cultivos celulares tratados con nanopartículas de platino Pt/TiO².

5.2. Objetivos específicos.

-Confirmar el diagnóstico histológico de queratoquiste odontogénico.

-Obtener cultivos celulares de explantes primarios.

-Tratar con nanopartículas de platino (Pt/TiO²) a diferentes concentraciones (100 y 200µg/ml) las células obtenidas mediante explantes de queratoquiste odontogénico.

-Extraer, purificar y obtener el perfil de proteínas del tejido de los diferentes grupos.

-Identificar las proteínas diferencialmente expresadas entre los grupos controles y experimentales.

6. MATERIALES Y MÉTODOS.

6.1. Tipo de estudio realizado.

Estudio experimental descriptivo.

***CRITERIOS DE INCLUSIÓN.**

- Muestras patológicas que correspondan al diagnóstico de queratoquiste odontogénico.
- Pacientes que no hayan sido tratados con anterioridad.
- Muestras que hayan sido atendidas en el servicio de Cirugía Maxilofacial del Hospital Juárez de México.

***CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.**

- Pacientes que no den su consentimiento.
- Pacientes con lesiones asociadas al síndrome del nevo de células basales.
- Pacientes con lesiones con signos de transformación maligna.
- Pacientes previamente tratados.
- Muestras que dispongan de información clínica incompleta.
- Para la aplicación de cultivos celulares, las muestras que sean erróneamente manipuladas, contaminadas o tejido no idóneo para la investigación.
- Para las muestras de electroforesis, las muestras que dispongan de escaso tejido o no apto para su procesamiento.

***VARIABLES DE ESTUDIO.**

- Sexo. El sexo del paciente será determinado por el registro de la ficha de la 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 queratoquiste odontogénico, según la clasificación de la OMS 2017.

6.2. Grupos de estudio.

Grupo 1.	Grupo 2.	Grupo 3.	Grupo 4.	Grupo 5.	Grupo 6.
Muestra 1, Tejido fresco de Queratoquiste odontogénico.	Muestra 2, Tejido fresco de Queratoquiste odontogénico.	Muestra 3, Explante primario de Queratoquiste odontogénico (Control 1).	Muestra 3, Explante primario de queratoquiste odontogénico (Control 2).	Muestra 3, Explante primario de queratoquiste odontogénico tratado con nanopartículas de platino (Pt/TiO ²) a una concentración de 100 µg/ml.	Muestra 3, Explante primario de queratoquiste odontogénico tratado con nanopartículas de platino (Pt/TiO ²) a una concentración de 200 µg/ml.

*Cuadro 15: Grupos de estudio.

6.3. Cultivos celulares de explantes primarios de Queratoquiste Odontogénico.

GRUPO	Aplicación de nanopartículas de platino (Pt/TiO ²).	Tiempo de exposición a nanopartículas de platino (Pt/TiO ²).	Duración total del experimento.
Grupo 3.	No se aplicaron (Control).	No se aplicaron (Control).	31 días.
Grupo 4.	No se aplicaron (Control).	No se aplicaron (Control).	31 días.
Grupo 5.	100 µg/ml Día 13.	100 µg/ml 17 días.	31 días.
Grupo 6.	200 µg/ml Día 13.	200 µg/ml 14 días.	27 días.

*Cuadro 16: Línea de tiempo. Grupos de cultivos celulares de explantes primarios de QO.

7. PROCEDIMIENTO.

Las muestras de QO se obtuvieron de pacientes que acudieron al departamento de Cirugía Maxilofacial del Hospital Juárez de México.

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.

7.1. Obtención de muestras.

Las muestras patológicas fueron tomadas inmediatamente después de que el tumor fuera extirpado, posteriormente estas fueron lavadas con solución fisiológica de cloruro de sodio al 0.9 (p/v), con el fin de eliminar sangre y residuos contaminantes. Las muestras fueron seccionadas y seleccionadas para su posterior análisis. Una parte de la muestra se tomó para el análisis histológico, las muestras se fijaron con formol al 10% y se procesaron con la técnica convencional para inclusión en parafina. La otra parte de la muestra fresca se conservó en suero fisiológico estéril y se transportó para su posterior procesamiento y cultivo. Cabe mencionar que las muestras fueron previamente diagnosticadas mediante biopsia por un especialista en diagnóstico histológico del Hospital Juárez de México.

7.2. Cultivos celulares.

Una vez obtenidas las muestras de lesiones odontogénicas, mediante la previa asepsia y antisepsia del instrumental quirúrgico y equipo, se llevó a cabo nuevamente el lavado de la muestra a través solución de cloruro de sodio estéril con la finalidad de aislar y acondicionar el tejido y mantenerlo a una temperatura de 35°-36°C, con el propósito de conservar el fragmento patológico para su transporte desde la sala de operaciones a las instalaciones del laboratorio.

En la campana de trabajo se procedió a lavar nuevamente el tejido para eliminar cualquier contaminante en la muestra, con medio de cultivo previamente preparado. Se seleccionó como Medio de cultivo completo DMEM High Glucose w/ stable Glutamine w/ Sodium Pyruvate (Biowest) adicionado con Suero fetal bovino 5% (Biowest) y penicilina-estreptomicina 1%. Concluido este procedimiento, se seleccionaron y cortaron los fragmentos de explantes en portaobjetos, los cuales fueron depositados individualmente en las placas de cultivo para su adherencia. Los explantes primarios fueron colocados en cajas de cultivo de 25 cm², con 5 ml de medio de cultivo en la superficie de la placa de cada una. Para garantizar su supervivencia y mantenimiento celular, los explantes fueron incubados a una temperatura constante de 37°C y una atmósfera de CO₂ al 5%.

Los explantes y células fueron monitoreadas macroscópica y microscópicamente; posteriormente fueron seleccionadas para ser controles o experimentales a su procesamiento en la etapa semi-confluyente, alrededor de los 13 días de haber realizado el cultivo primario. Los explantes experimentales fueron adicionados con nanopartículas de platino Pt/TiO₂ a diferentes concentraciones (100 y 200µg/ml). Estos mismos fueron observados bajo microscopio invertido hasta la confluencia con la finalidad de destacar evidencia de diferencias visibles entre los explantes controles y los explantes experimentales hasta llegar a la confluencia total, alrededor de los 31 días.

La colección o cosecha celular de las placas de cultivo se llevó a cabo mediante el aspiramiento del medio de cultivo residuo y el lavado con solución de PBS (1x) estéril. Una vez concluido el lavado de la placa y las células, estas mismas se desprendieron con la adición de solución de PBS+EDTA (.1 molar). Una vez desprendidas las células y los explantes, se colocaron en tubos individuales y se agregó medio de cultivo completo en la misma proporción de PBS y EDTA. Los tubos individuales fueron centrifugados

a 600g durante 5 minutos a 10° C. Se decantó el sobrenadante y se resuspendió el botón celular en medio de criopreservación. Finalmente, las muestras fueron conservadas a -70°C hasta su procesamiento.

7.3. Tinción con hematoxilina-eosina.

Para el análisis histológico, las muestras de tejido se fijaron en formol al 10%, se procesaron por la técnica convencional de la parafina. Se realizaron cortes de aproximadamente 3µm de grosor con un microtomo RM2145 (Leica Microsystems AG). Posteriormente se realizó el desparafinado de las muestras mediante su incubación durante 20 min a 60 °C. Las muestras se sumergieron en xilol durante 10 o 15 min. Posteriormente, se hidrataron incubando 5 min. Consecutivamente con alcohol absoluto, alcohol al 96% y alcohol al 70%. Seguido de ello, las muestras se lavaron con agua destilada y se introdujeron en hematoxilina (Vector Laboratories) durante 5 min, enseguida se lavaron con agua destilada durante 2 min y finalmente se tiñeron con eosina alcohólica (Vector Laboratories) durante 1 min. Posteriormente se continuó con un proceso de deshidratación utilizando secuencialmente alcohol al 70%, alcohol al 96% y alcohol absoluto. Por último, las muestras se montaron con resina sintética (Medio rápido de montaje, Vector Laboratories) y los cortes se analizaron mediante un microscopio óptico (Olympus).

7.4. Procesamiento de las muestras para realizar mapa proteómico.

Para realizar la electroforesis de las células provenientes de los cultivos celulares y los explantes, estas muestras fueron lavadas posterior a su descongelamiento, realizándolo paulatinamente para evitar el deterioro o lisis de estas mismas antes de ser purificadas. Para realizar este proceso, se centrifugaron los tubos a 1500 RPM por 5 minutos cada uno, se decantó el sobrenadante y se re-

suspendieron los botones celulares en 600 ml. de acetona fría. Este proceso se repitió 3 veces con el propósito de eliminar residuos de aditivos de DMEM o suero fetal bovino que pudieran interferir con el resultado final al realizar la lisis concreta de las células para su extracción y procesamiento. Una vez concluido este procedimiento, todas las muestras fueron lisadas y purificadas de la misma manera.

Una vez obtenidas las muestras y haber confirmado su diagnóstico histológico, se realizó el procesamiento de las muestras, las cuales fueron lavadas con solución de PBS y posteriormente homogenizadas en amortiguador de muestra para isoelectroenfoco (urea 7 M, tio/urea 2 M, CHAPS 4%, amortiguador IPG 2%, DTT 40 mM y agua MQ), en presencia de inhibidores de proteasas (Complete “cocktail”, GE Healthcare). Se realizó la extracción de proteínas homogenizando los tejidos por medio de tres técnicas: La primera con el uso de un mortero estéril, la segunda por medio de trituramiento a través de micromotor en alta velocidad, y por último con sonicador de alta frecuencia. Entonces mediante centrifugación (12000 rpm durante 5 minutos a 4° C) se obtuvo el sobrenadante, al que se le realizaron tres lavados con acetona fría en proporción 1:8. Posteriormente se decantó el sobrenadante y se aplicó nuevamente 150µl de amortiguador de muestra.

La purificación de proteínas o eliminación de lípidos y sales se llevó a cabo por medio de la técnica metanol y cloroformo. A 150µl de muestra se añadieron 600µl de metanol, 150 µl de cloroformo y 450µl de H²O MQ; se mezcló en vórtex y centrifugó a 12000 rpm durante 5 minutos a 4°C. Se descartó la fase superior con micropipeta, conservándose el disco blanco formado entre ambas fases. Se añadieron 450µl de metanol y nuevamente se centrifugó a 12000 rpm durante 5 minutos a 4°C. Se descartó el sobrenadante y secó la pastilla a medio ambiente durante 2 minutos. Finalmente se disolvieron 400 µg de muestra en solución de hidratación para isoelectroenfoco (urea 7 M, tiourea

2 M, CHAPS 4%, amortiguador IPG 0.5% ó 2%, DTT 40 mM, azul de bromofenol 0.002% y agua MQ), con inhibidores de proteasas (GE Healthcare).

Pt/TiO² a diferentes concentraciones (100 y 200 µg/ml).

7.5. Electroforesis de las muestras.

Para analizar el perfil proteico de las diferentes muestras, en primer lugar se llevó a cabo la separación de las proteínas con base en su punto isoeléctrico.

La elaboración del gel de poliacrilamida se realizó en dos fases. El gel separador se realizó a una concentración de 10%. El estándar utilizado para la elaboración de este gel fue 1.9ml de H₂O; 1.7ml de acrilamida; 1.3ml de TRIS ph 8.8; 50µl de SDS; 20µl de PSA y 10µl de TEMED. El estándar utilizado para la elaboración del gel concentrador fue 680µ de H₂O, 170µl de acrilamida; 130µl de TRIS ph 6.8; 10µl de SDS; 10µl de PSA y 5µl de TEMED. Los geles fueron cargados con las diferentes muestras, las cuales fueron:

- 1- Marcador de peso molecular.
- 2- Extractos proteicos del queratoquiste odontogénico fresco por duplicado (Grupos 1 y 2).
- 3- Extractos proteicos de cultivos celulares sin y con exposición a nanopartículas (Grupos 3, 4, 5 y 6).

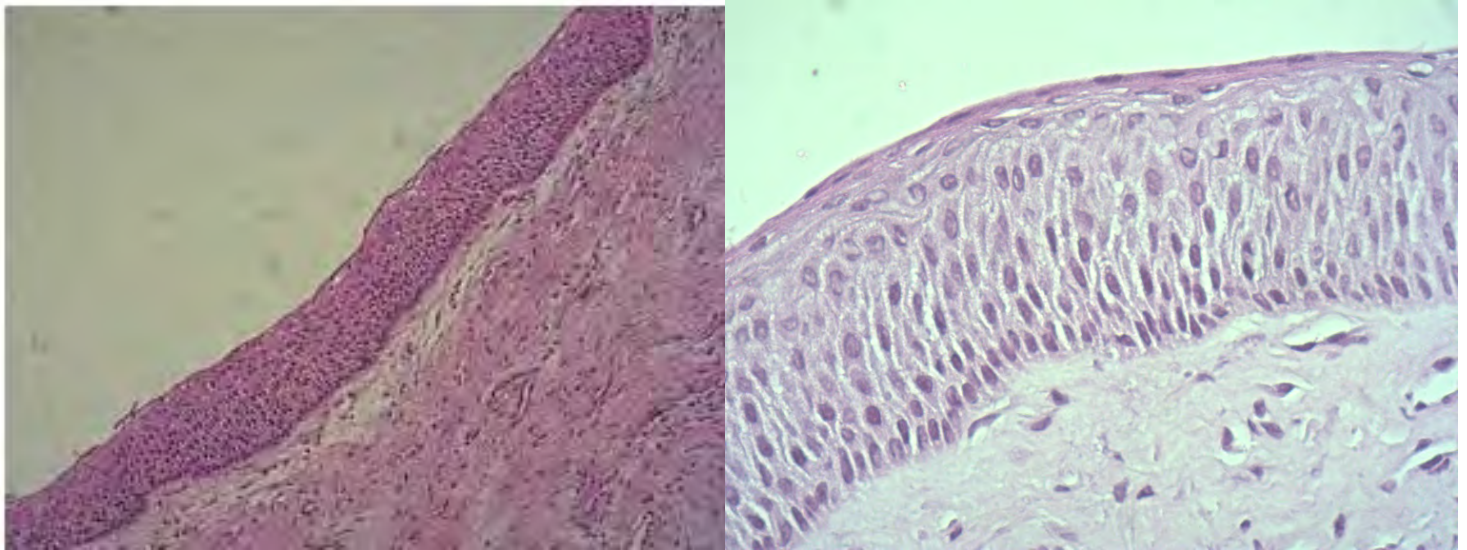
Las proteínas se separaron por su peso molecular en geles de poliacrilamida-SDS al 10% utilizando un sistema estándar de electroforesis vertical (15 cm × 13 cm) (Gibco BRL V16). La electroforesis se llevó a cabo manteniendo constante el voltaje a 100 voltios hasta que el frente de corrida alcanzó el borde inferior del gel. Finalmente, los geles se tiñeron con azul de Coomassie coloidal G250 (BIO-RAD).

La comparación de los perfiles proteicos que se realizaron fueron: 1) Queratoquiste Odontogénico ; y 2) entre la variante de explantes experimentales de QO, adicionados con nanopartículas de platino

8. RESULTADOS.

8.1. Tinción con hematoxilina-eosina.

Se realizó la tinción de las muestras de las lesiones patológicas a procesar y a analizar, con la finalidad de confirmar el diagnóstico histológico una vez hecha la extirpación quirúrgica. Todos los resultados fueron positivos a queratoquistes odontogénicos.

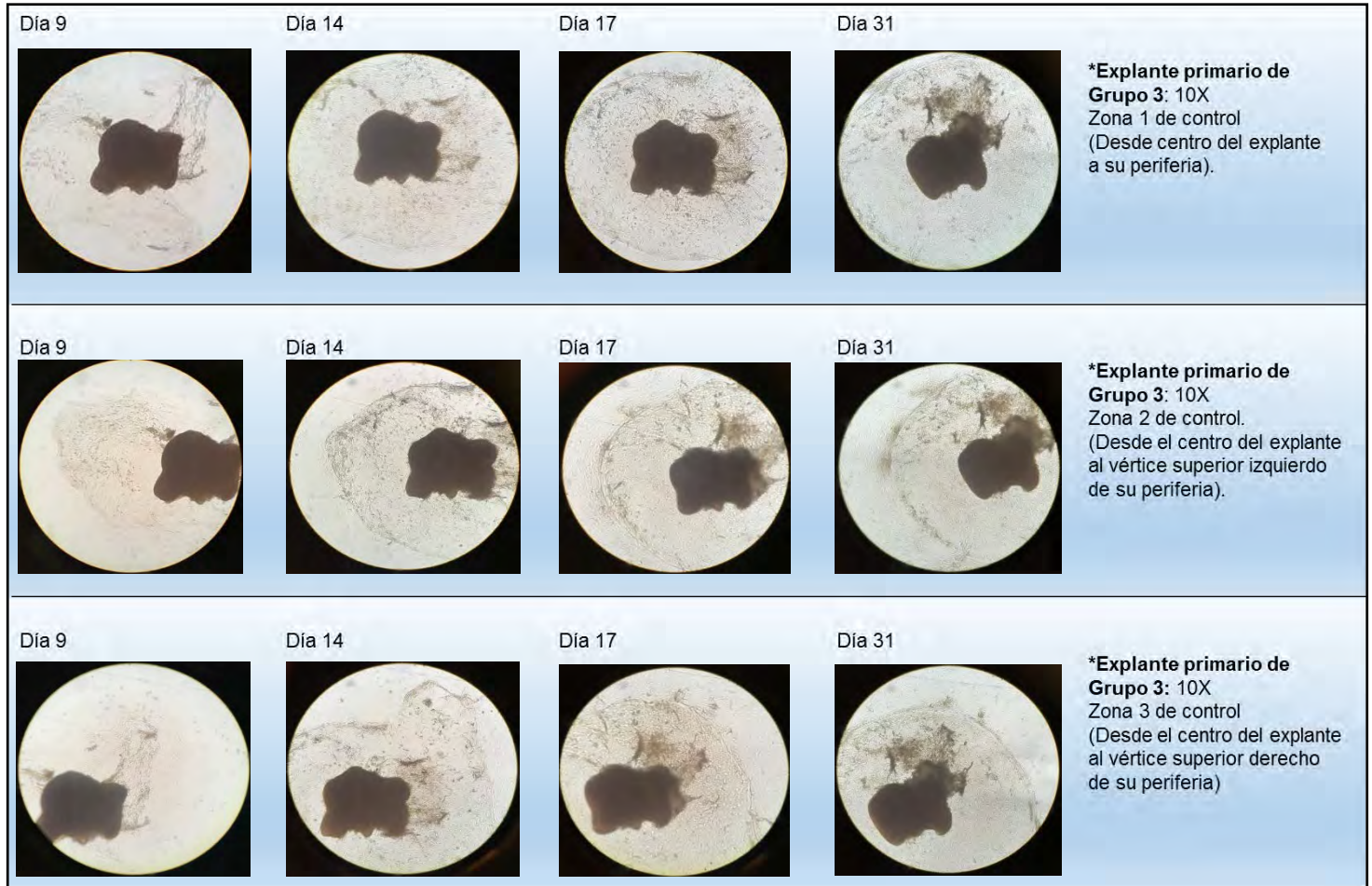


***Figura 18:** Diagnóstico histológico de queratoquiste odontogénico. Fotografías a resolución 10X y 40X por microscopio óptico HE. (Imágenes representativas).

8.2. Cultivos celulares.

Se cultivaron 4 explantes primarios derivados de la misma muestra (Grupos 3, 4, 5 y 6), de los cuales; de cada uno fueron seleccionadas zonas selectivas a observación y monitoreo. Los Grupos 3 y 4 fueron seleccionados para ser controles, mientras que los Grupos 5 y 6 fueron seleccionados para ser

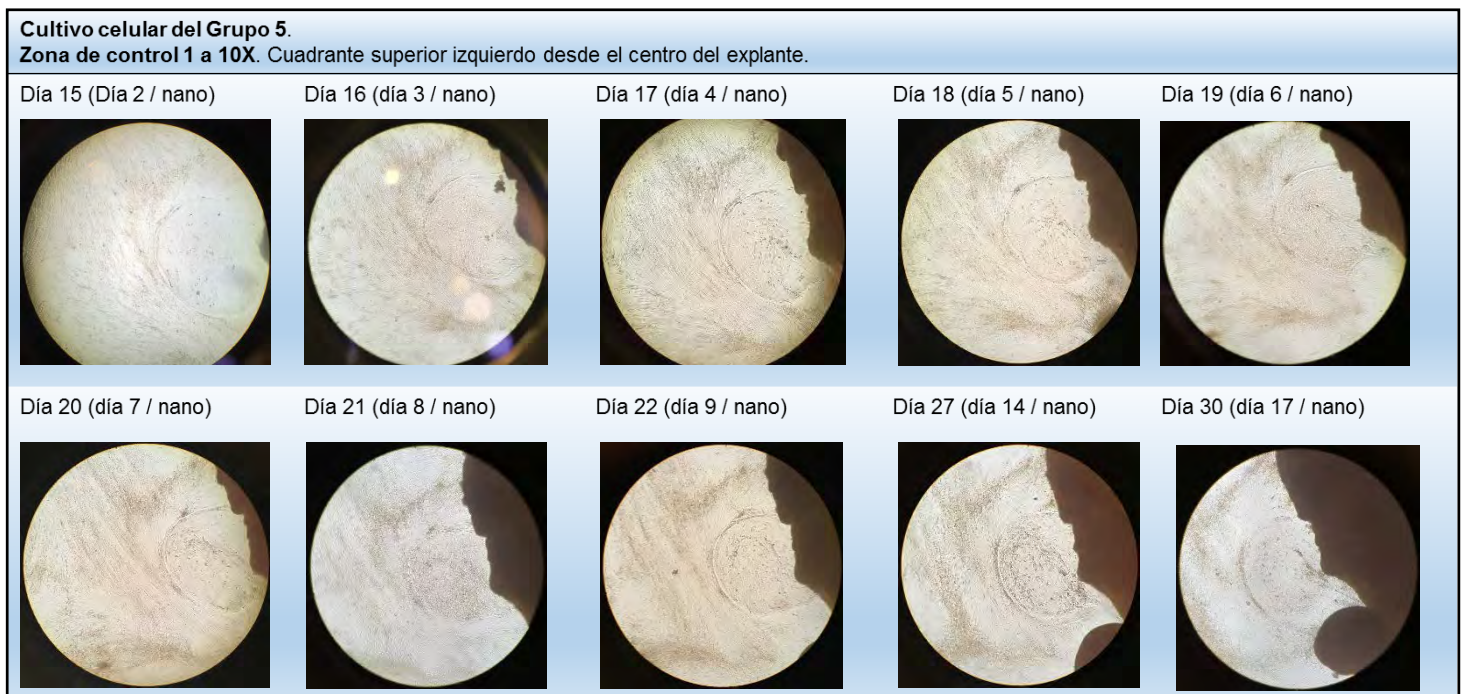
experimentales, aplicando tratamiento de nanopartículas de platino en dos diferentes concentraciones. Al Grupo 5 se agregaron nanopartículas de platino a una concentración de 100µg/ml; y al Grupo 6 fueron aplicadas nanopartículas a una concentración de 200µg/ml.



***Figura 19:** Cultivo de explante primario de Grupo 3. Reporte de zonas de control 1, 2 y 3 del día 9 al día 31, del cultivo del explante a 10X (Imágenes representativas).

La duración del experimento tuvo un lapso de 31 días. Al 9no día de haber realizado el cultivo primario, se observó un crecimiento significativo de aparentes células epiteliales en el halo adjunto del explante. Estas mismas tuvieron un aumento en la población relativamente aceptable a las cuales se dieron seguimiento fotográfico. Gradualmente hacia el término del experimento, las células migraron hacia el centro, en donde la imagen se puede apreciar como una mayor condensación o contraste en las zonas de inspección, así mismo manteniendo su

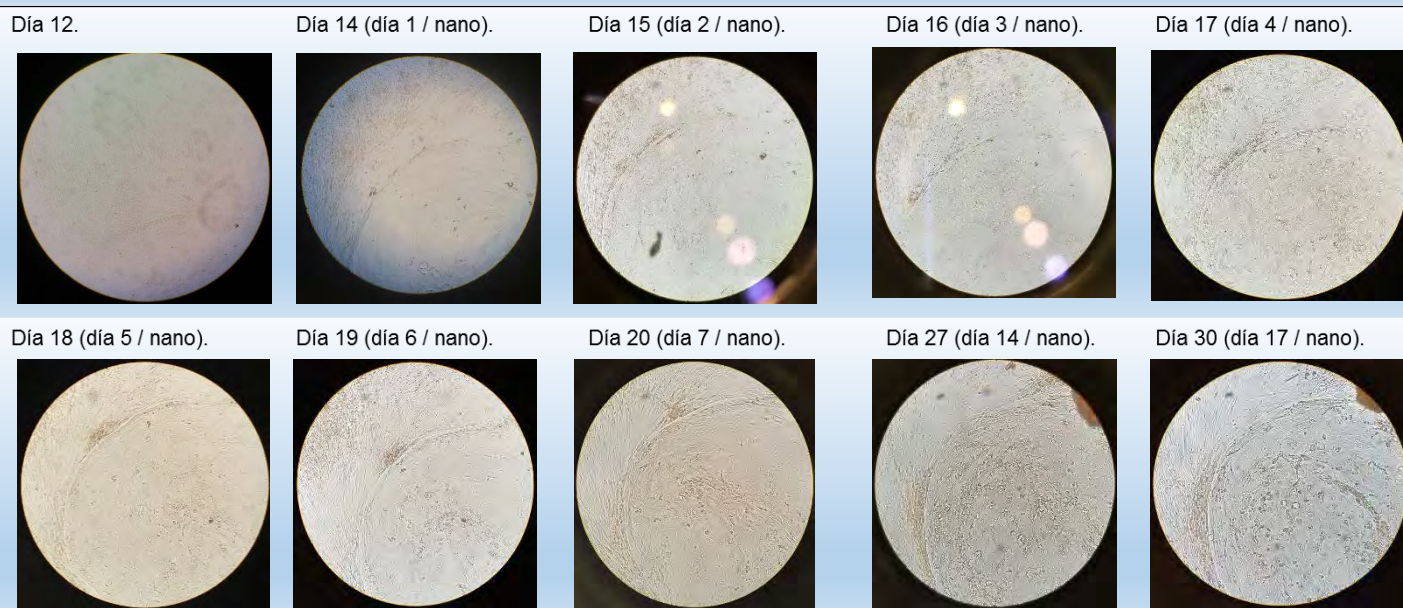
población estable. Sin embargo, las células aparentemente mesenquimales o estromales se localizaron en la periferia del explante y confluyeron en la base de la placa durante este lapso de tiempo. Se observó que en los grupos 3 y 4 (controles), las células llegaron a la confluencia en el sustrato adecuadamente sin anomalías. Durante el experimento no fueron observados indicios de contaminación, detritos o desechos particulares que pudiesen interferir con el resultado.



***Figura 20:** Cultivo de explante de Grupo 5, observado del día 15 al día 30 a 10X, en zona 1 de control. Concentración de nanopartículas de platino: 100µg/ml (Imágenes representativas).

Cultivo celular del Grupo 5.

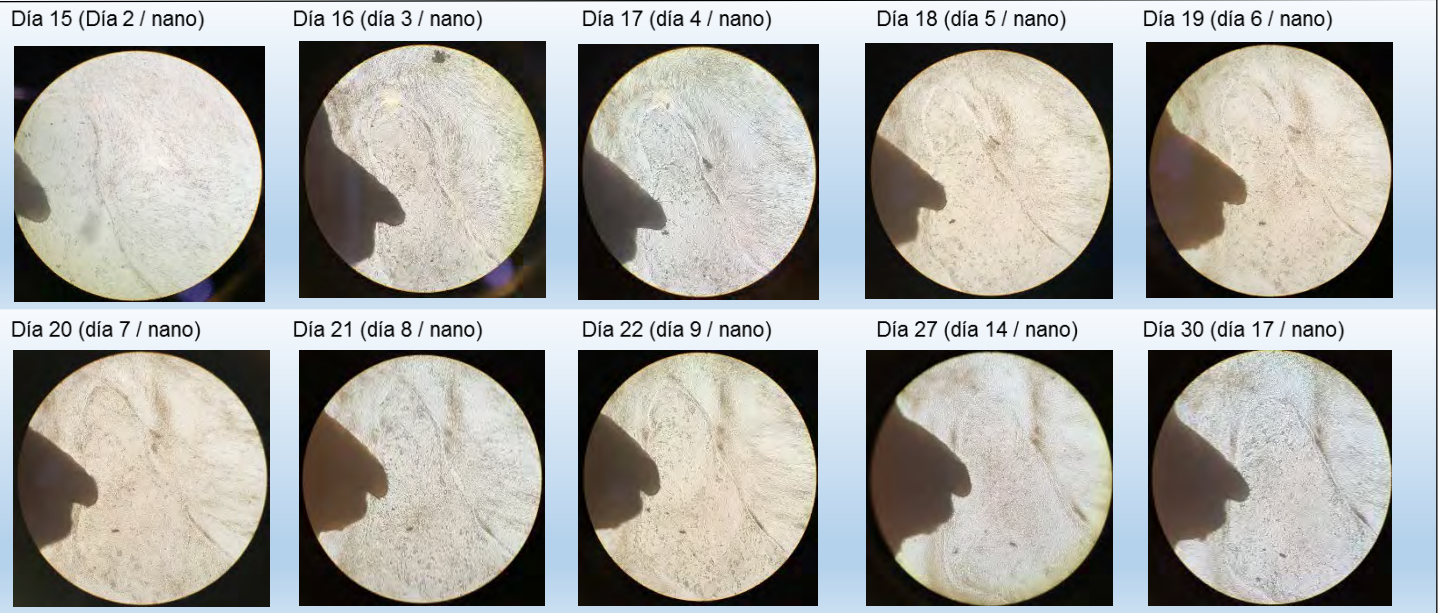
Zona de control 1 a 40X. Cuadrante superior izquierdo desde el centro del explante.



***Figura 21:** Cultivo de explante de Grupo 5, observado del día 12 al día 30 a 40X, en zona 1 de control. Concentración de nanopartículas de platino: 100µg/ml (Imágenes representativas).

Cultivo celular del Grupo 5.

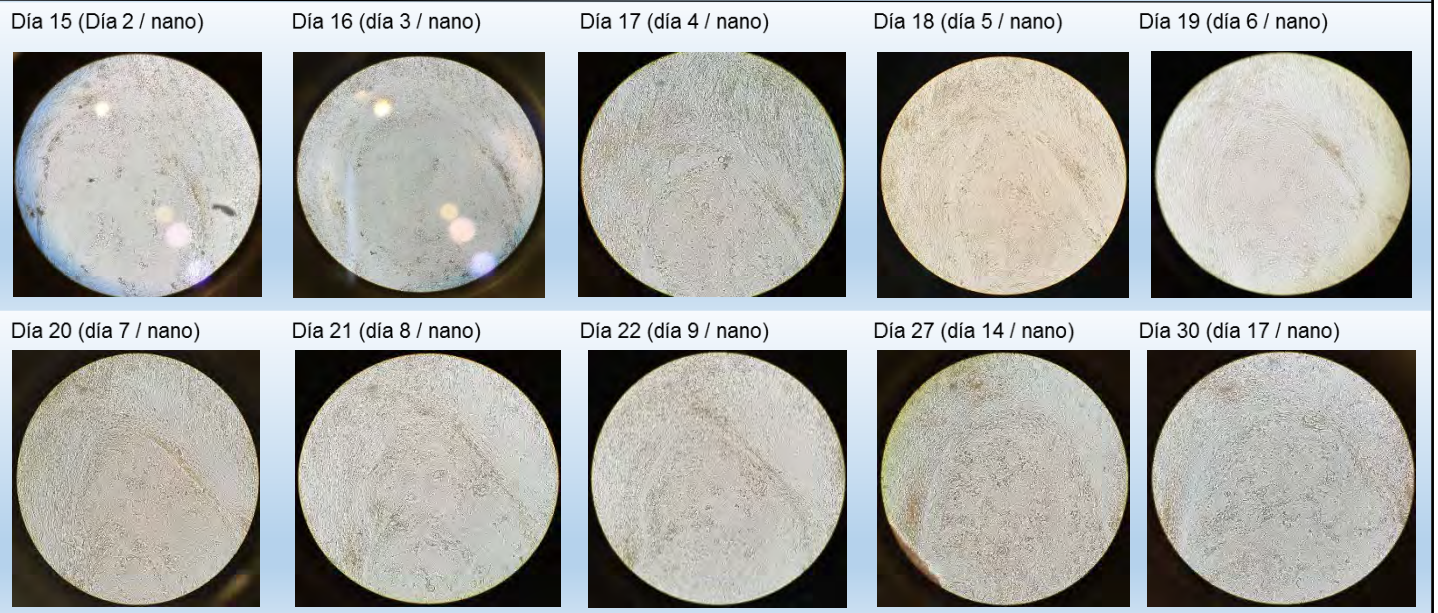
Zona de control 2 a 10X. Cuadrante superior derecho desde el centro del explante.



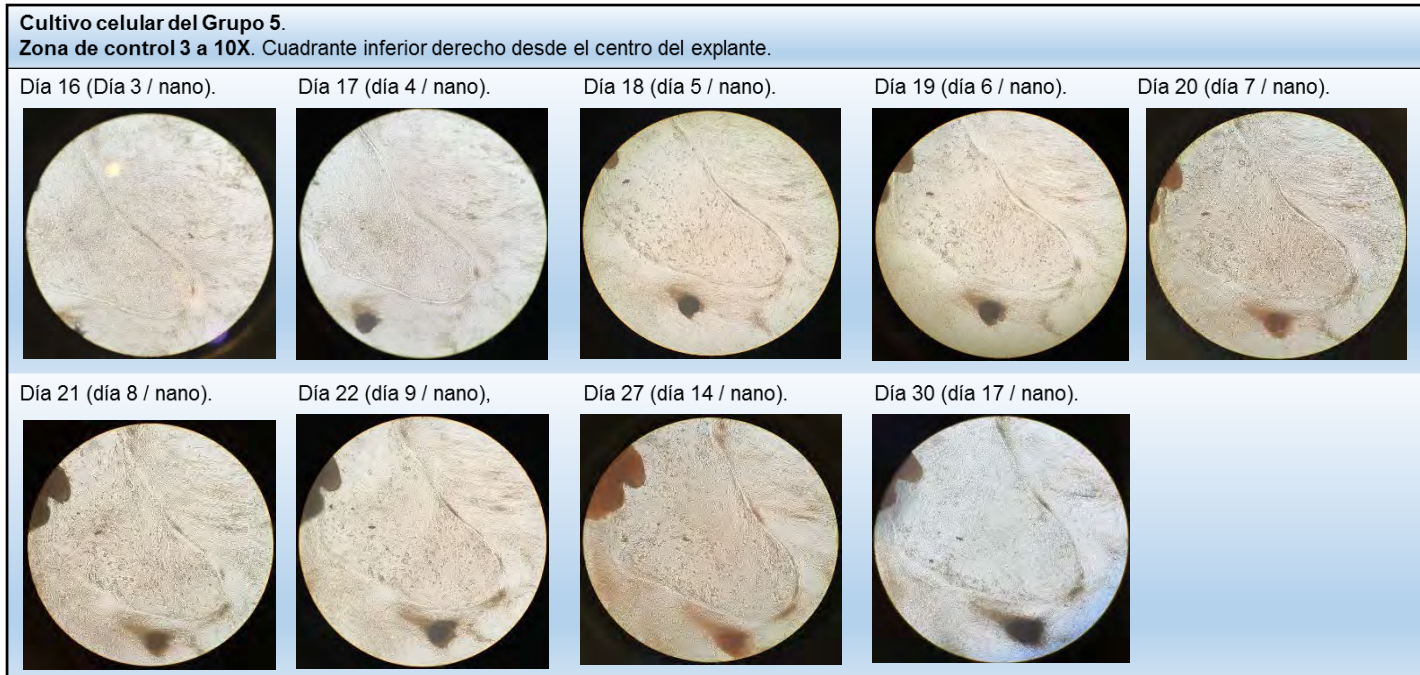
***Figura 22:** Cultivo de explante de Grupo 5, observado del día 15 al día 30 a 10X, en zona 2 de control. Concentración de nanopartículas de platino: 100µg/ml (Imágenes representativas).

Cultivo celular del Grupo 5.

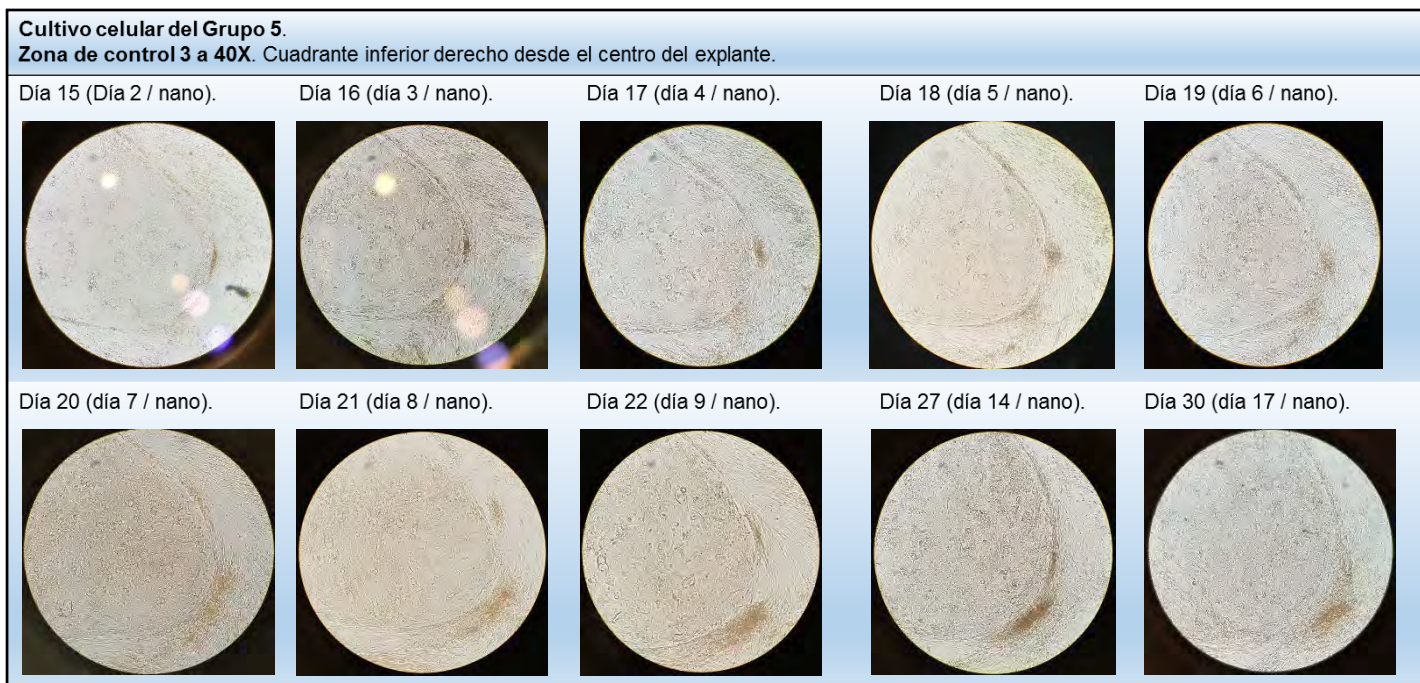
Zona de control 2 a 40X. Cuadrante superior derecho desde el centro del explante.



***Figura 23:** Cultivo de explante de Grupo 5, observado del día 15 al día 30 a 40X, en zona 2 de control. Concentración de nanopartículas de platino: 100µg/ml (Imágenes representativas).



***Figura 24:** Cultivo de explante de Grupo 5, observado del día 16 al día 30 a 10X, en zona 3 de control. Concentración de nanopartículas de platino: 100µg/ml (Imágenes representativas).



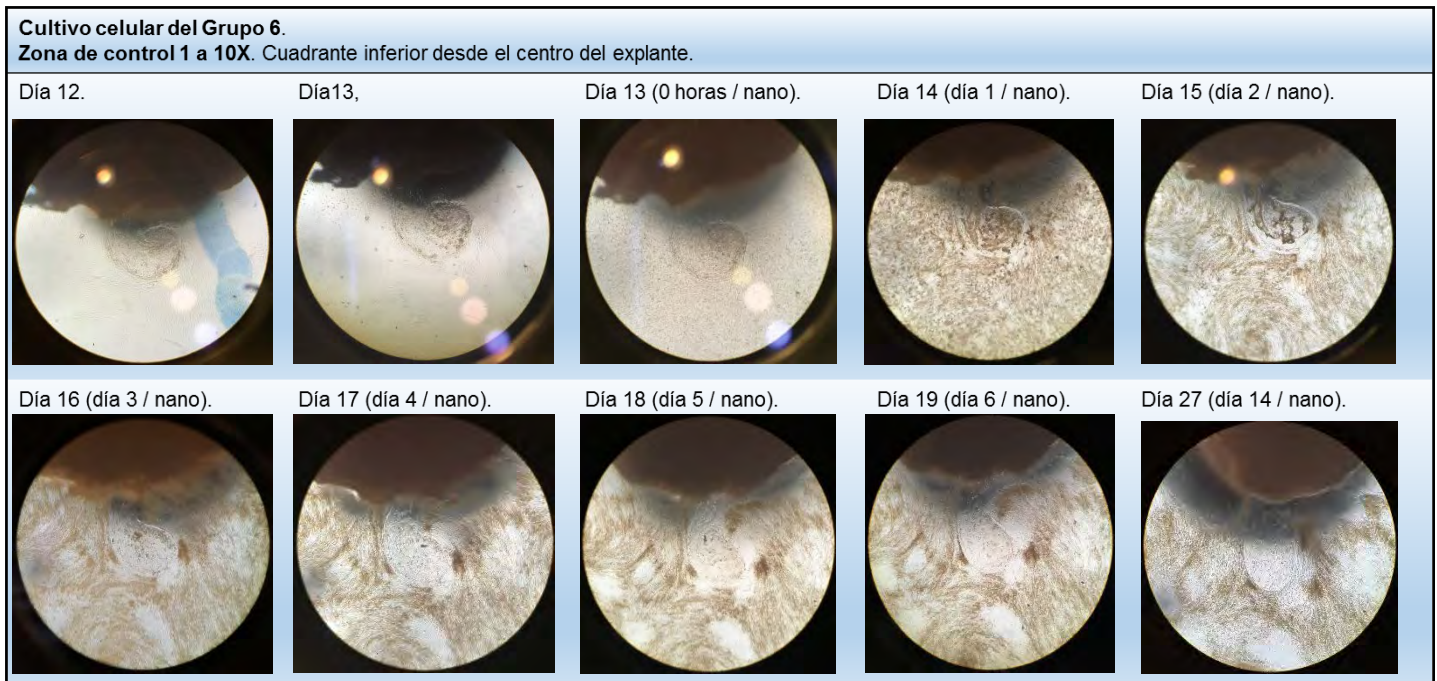
***Figura 25:** Cultivo de explante de Grupo 5, observado del día 15 al día 30 a 10X, en zona 3 de control. Concentración de nanopartículas de platino: 100µg/ml (Imágenes representativas).

El experimento del Grupo 5 tuvo un tiempo de duración total de 31 días, al cual le fue aplicada una concentración de nanopartículas de platino de

100µg/ml en el día 13. Se seleccionaron y observaron 3 zonas de control a 10X y 40X, antes y durante la exposición de nanopartículas. Durante este periodo

(del día 0 al día 31) fueron apreciados cambios en comparación de los grupos control, puesto que una vez aplicadas las nanopartículas se sedimentaron y anclaron a las células adheridas de la placa. Cabe destacar que se observó que las nanopartículas de platino tuvieron mayor disposición de adhesión a las células mesenquimales, que a las células adyacentes al explante (epiteliales), por lo que se mostraba mayor concentración en estas mismas. Sin embargo, durante el transcurso de este lapso de tiempo la

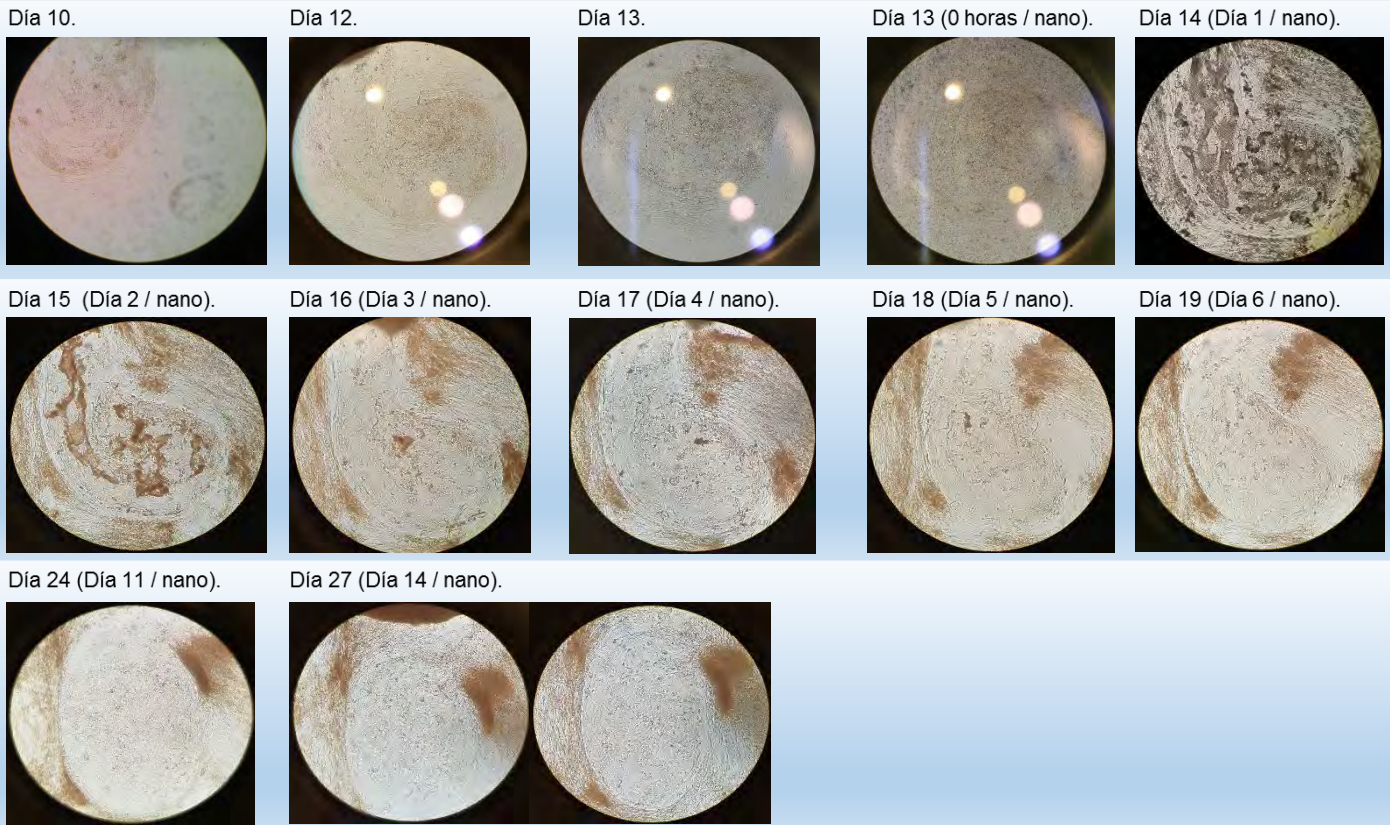
densidad de la población celular epitelial disminuyó relativamente mientras que las células mesenquimales o estromales alcanzaron la confluencia total de la placa de cultivo. Estas últimas células no sufrieron cambio alguno en su morfología o patrón, sin embargo aumentaron en densidad y se aceleró su mitosis. Durante el experimento no se apreciaron detritos o restos contaminantes que pudiesen interferir con el resultado.



***Figura 26:** Cultivo de explante de Grupo 6, observado del día 12 al día 27 a 10X, en zona 1 de control. Concentración de nanopartículas de platino: 200µg/ml (Imágenes representativas).

Cultivo celular del Grupo 6.

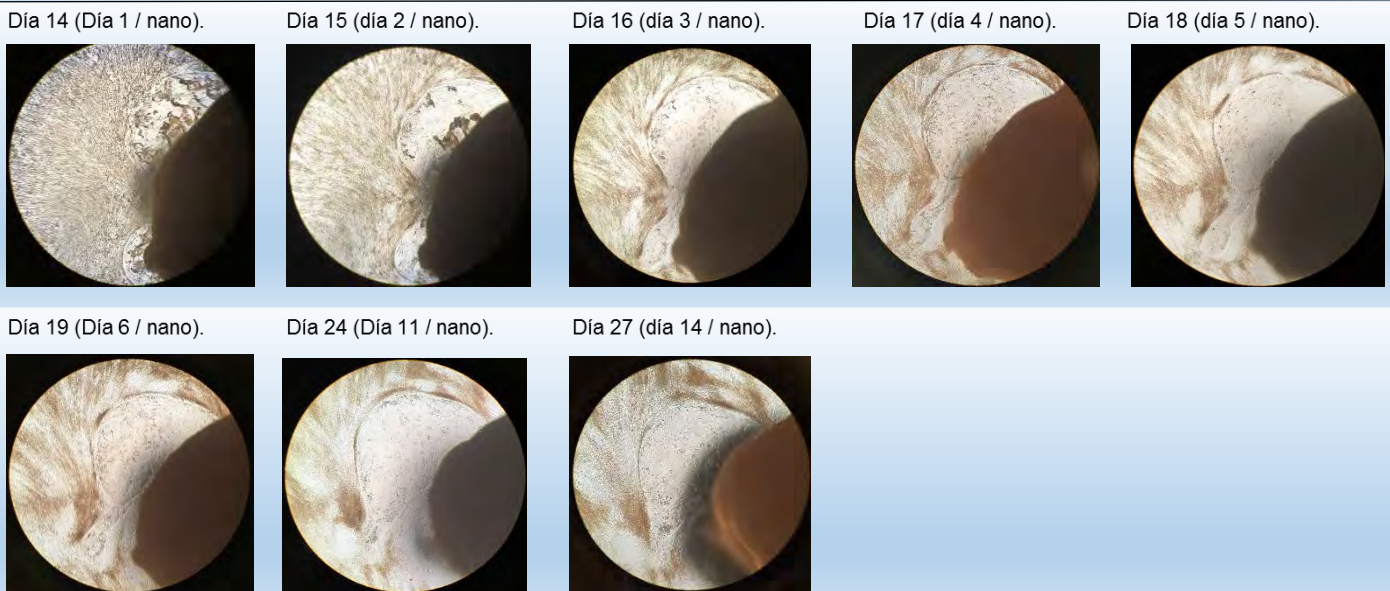
Zona de control 3 a 40X. Cuadrante inferior derecho desde el centro del explante.



***Figura 27:** Cultivo de explante de Grupo 6, zona 1 de control a 40X, observado del día 10 al día 27. Concentración de nanopartículas de platino: 200µg/ml (Imágenes representativas).

Cultivo celular del Grupo 6.

Zona de control 2 a 10X. Cuadrante superior izquierdo desde el centro del explante.



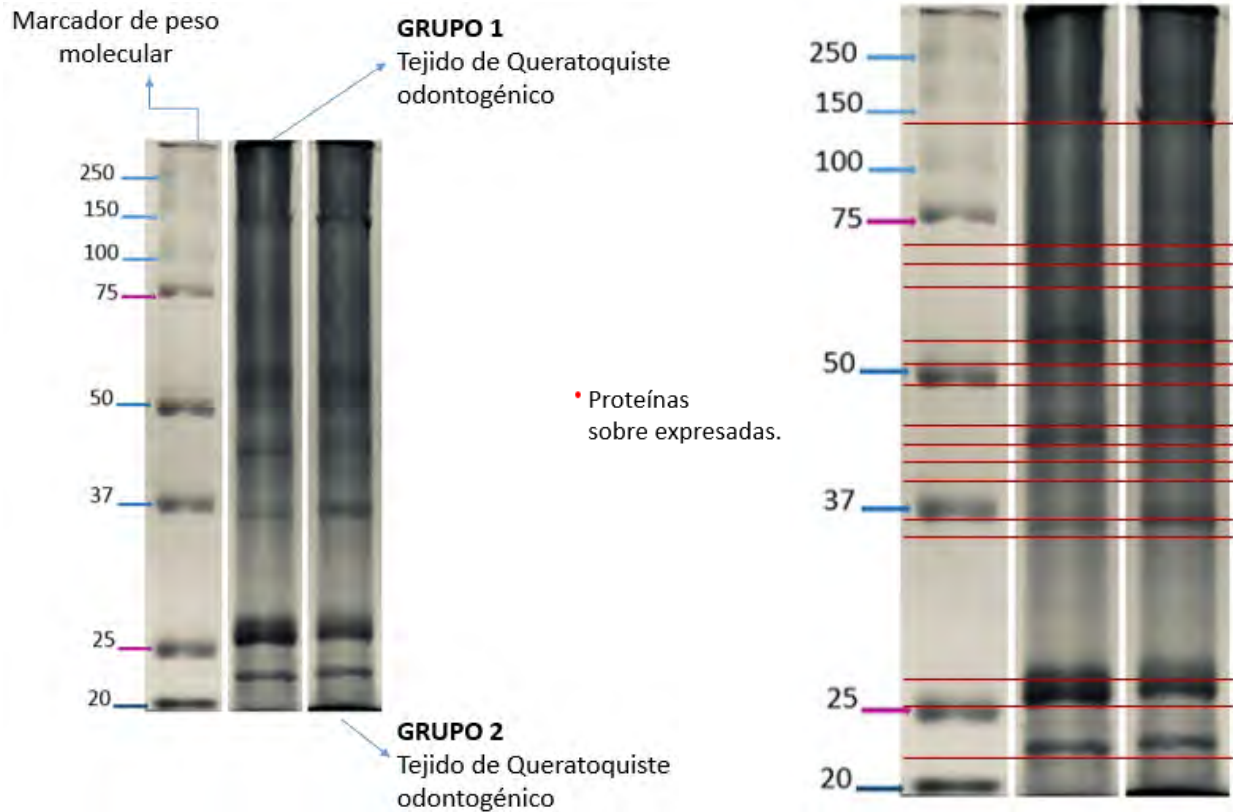
***Figura 28:** Cultivo de explante de Grupo 6, zona 2 de control a 10X, observado del día 14 al día 27. Concentración de nanopartículas de platino: 200µg/ml (Imágenes representativas).

El tiempo de duración del experimento del Grupo 6 tuvo de una duración total de 27 días. Se aplicaron nanopartículas de platino a una concentración de 200µg/ml en el día 13 del experimento. En contraste con el Grupo 5, se añadió la doble cantidad de nanopartículas. Microscópicamente se observaron detalles similares de adhesión celular y sedimentación, sin embargo la presencia de nanopartículas en poblaciones celulares adyacentes al explante, de las cuales se sugiere de identidad epitelial, se apreciaron difusas y paulatiamente degradadas. Se observaron mayores cambios significativos a comparación del Grupo 5, además de un patrón de comportamiento celular similar pero a su vez exacerbado. Esto es debido a que durante el transcurso del experimento las regiones de crecimiento celular epitelial se vieron disminuidas a comparación de las células provenientes del estroma capsular o mesénquima, las cuales estas últimas alcanzaron la confluencia de la placa de sustrato en menor periodo. Macroscópicamente se observó reducción del tamaño del explante. Durante y al término del experimento no se observaron restos celulares, detritos o contaminantes que pudiesen interferir con los resultados obtenidos.

8.3. Electroforesis.

Inicialmente se realizó la electroforesis en una dimensión de los **Grupos 1 y 2**, provenientes de

tejido queratoquístico odontogénico sin variabilidad, en un gel de poliacrilamida al 10%, posterior a la extracción y purificación de proteínas de estas mismas.



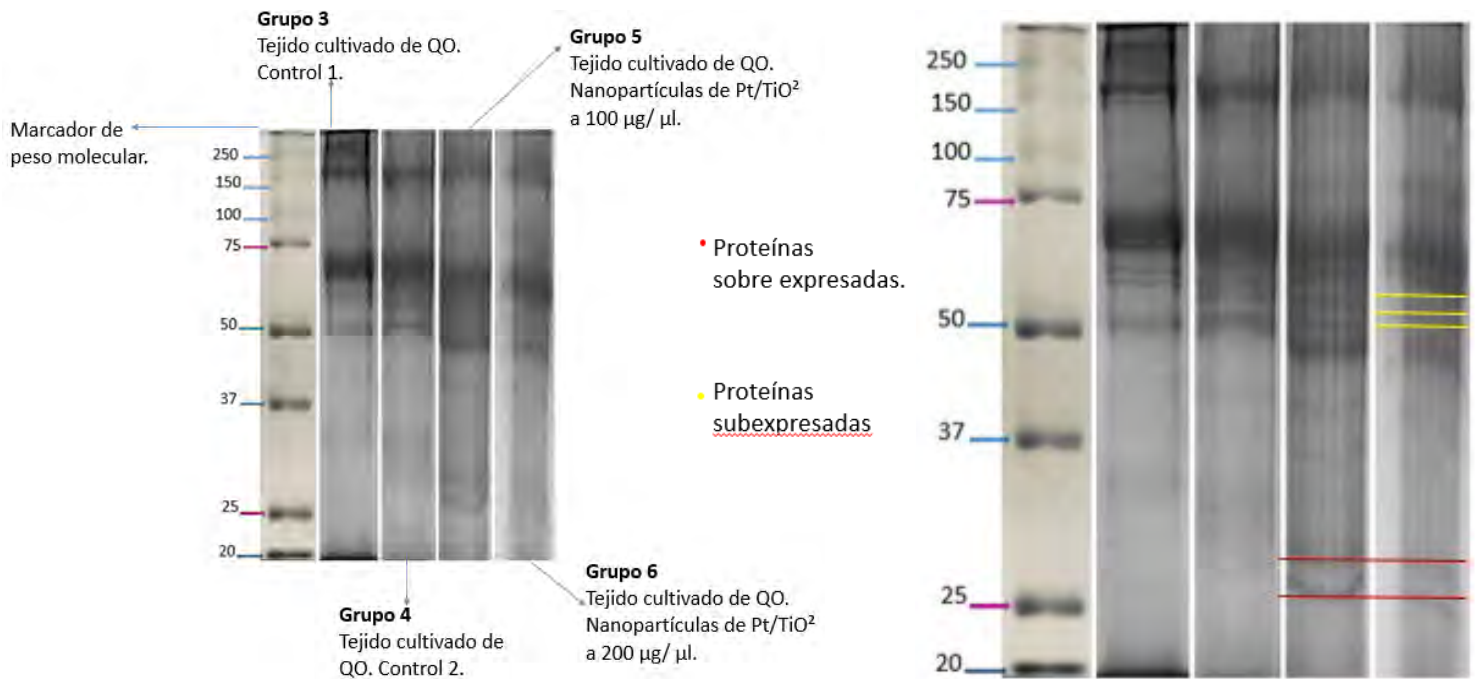
*Figura 29: Electroforesis en una dimensión de Grupos 1 y 2, de tejido de queratoquiste odontogénico (Imágenes representativas).

Durante el análisis de las bandas de las proteínas en el gel, se identificaron alrededor de 16 bandas sobre expresadas. Estas moléculas se encuentran entre los rangos de 20 – 150 kilodaltones (kDa). El perfil general de expresión proteica de los Grupos 1 y 2, coinciden entre sí.

Una vez obtenido el perfil normal de proteínas del tejido del queratoquiste odontogénico sin algún tipo de variante, se realizó la extracción y purificación de proteínas de tejido queratoquístico cultivado, para los cuales fueron seleccionados los Grupos 3, 4, 5 y 6.

El **Grupo 3 y 4** fueron considerados como “control”, ya que no les fue aplicada ninguna variable en el transcurso del experimento. Sin embargo, los **Grupos 5 y 6** fueron los tejidos experimentales, ya que al **Grupo 5** le fue aplicada una concentración de nanopartículas de platino (Pt/TiO₂) a 100 µg/ml y al **Grupo 6**, una concentración de este mismo compuesto nanoparticulado a 200 µg/ml.

Para el análisis molecular de estas variantes experimentales, se obtuvieron dos carriles de los grupos controles, un carril del Grupo 5 y una columna del Grupo 6 en el gel de poliacrilamida.

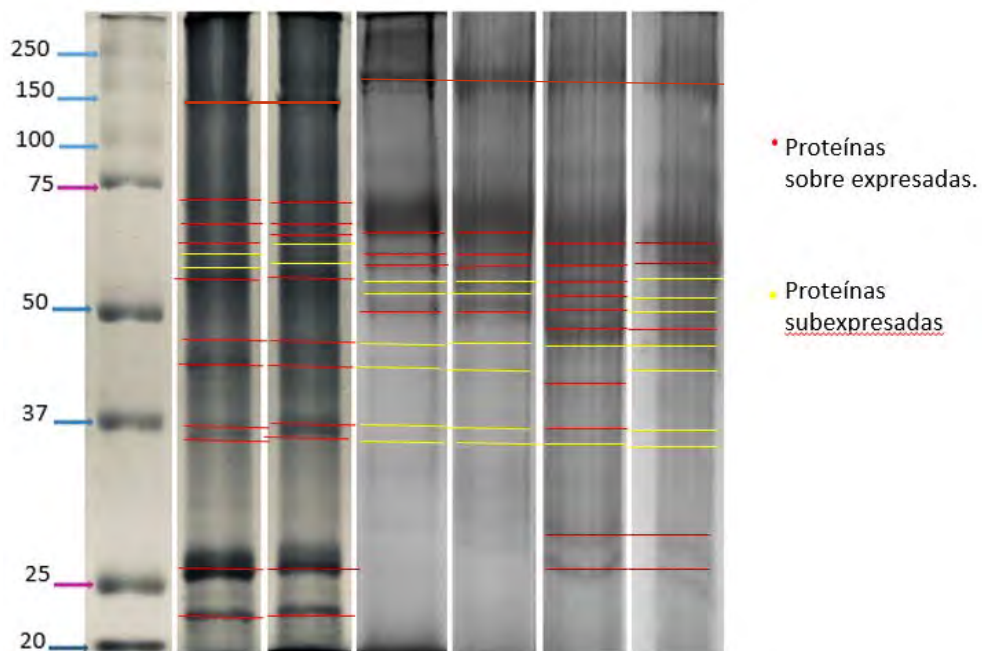
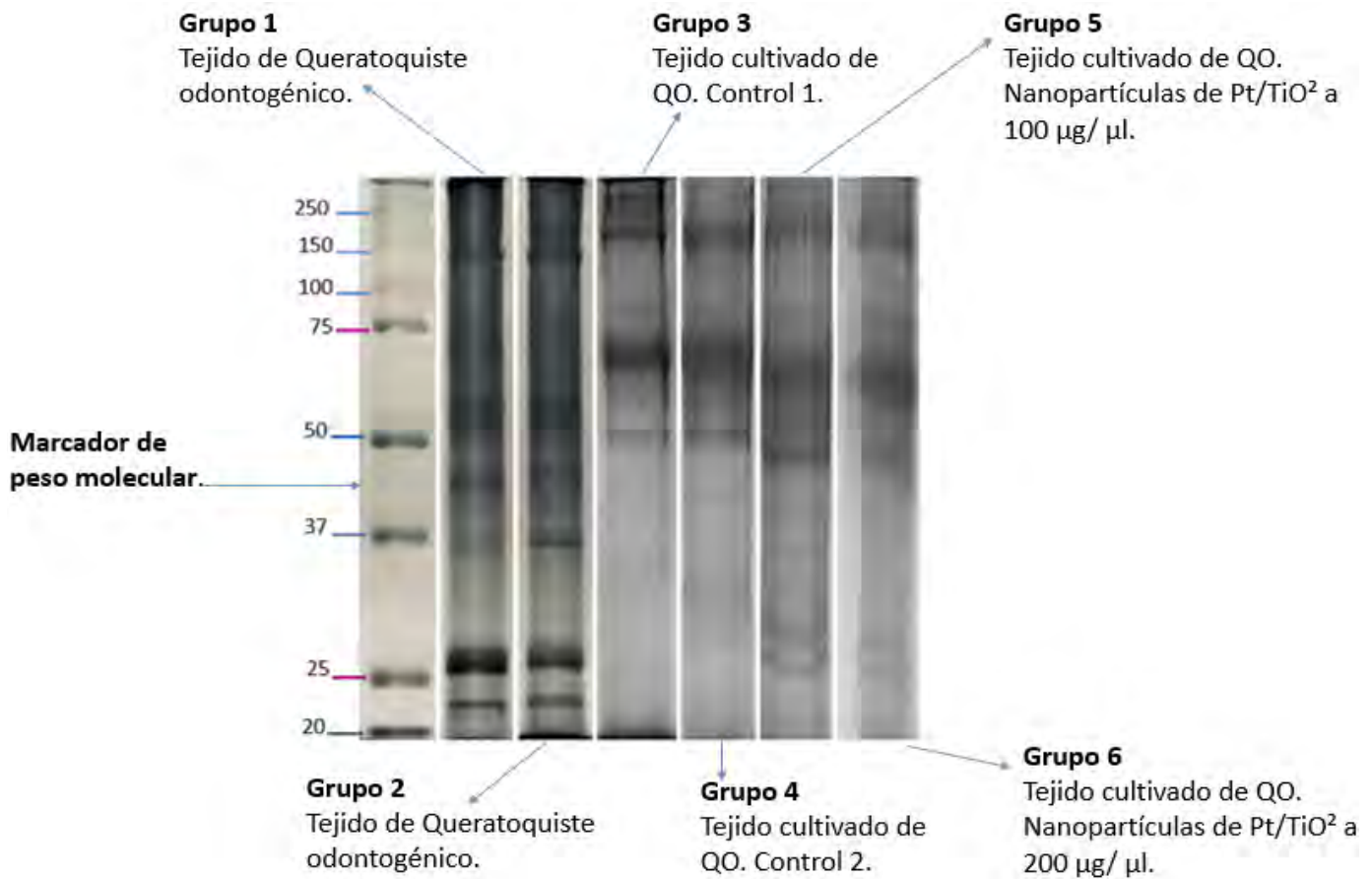


***Figura 30:** Electroforesis en una dimensión de los Grupos 3, 4, 5 y 6 (Imágenes representativas).

La electroforesis mostró cambios en la sobre expresión de las proteínas de bajo peso molecular en comparación de cada Grupo. Los Grupos controles mostraron un patrón de perfil protéico similar en ambas columnas, sin embargo se apreciaron cambios en los Grupos experimentales 5 y 6.

Se localizaron bandas de proteínas de bajo peso molecular (25 - 37 kDa) diferencialmente expresadas entre los Grupos controles y experimentales. Estas moléculas se encuentran sobre expresadas en los Grupos experimentales 5 y 6. Así mismo, también se ubicaron diferencias en la expresión de proteínas

entre los Grupos experimentales 5 y 6, los cuales se distinguen entre las moléculas de mayor peso molecular (50-75 kDa), observamos que tres bandas del Grupo 6 [Figura 30] se encuentran subexpresadas a diferencia de los Grupos anteriores. El contraste analizado en cada una de las bandas mediante el programa Melanie difiere, puesto que este dato sugiere el grado de expresión por medio digital. Por último, analizamos en perspectiva el perfil general de las muestras del Queratoquiste odontogénico, en contraste con los Grupos controles y los Grupos expuestos a nanopartículas mediante los resultados obtenidos.



***Figura 31:** Eletroforesis de muestras de tejido de queratoquiste odontogénico en contraste con explantes controles y experimentales de cultivos celulares (Imágenes representativas).

Los datos de la comparativa de geles, señalan que existen variaciones de expresión molecular entre cada variante del protocolo experimental, puesto que entre cada Grupo control no existieron cambios metodológicos. Por ejemplo, como se puede observar los resultados fueron similares en Grupo 1 contra el Grupo 2, así como en los Grupos 3 y 4, en donde no se aprecian cambios ni variación de expresión. Sin embargo, los Grupos de cultivo experimentales no tuvieron concordancia de expresión entre ninguna de las otras electroforesis. Cabe mencionar que todos los Grupos tuvieron similitud de expresión de algunas proteínas pero todos fueron distintos entre sí. Los datos de los resultados arrojan que la expresión de proteínas de los Grupos controles se ven sub expresadas en contraste de la expresión proteica de los Grupos experimentales a los cuales fueron aplicados nanopartículas de platino en diferentes concentraciones; estos explantes retoman un patrón de sobre expresión en comparación de los anteriores.

Con el propósito de valorar teóricamente las moléculas que pudiesen estar expresadas, con ayuda de la herramienta Expasy (Expasy, s.f.), se catalogaron las proteínas que fueron reportadas con anterioridad en estudios previos de inmunohistoquímica y así mismo valorar cada una con su peso molecular con la finalidad de relacionar su presencia con el comportamiento biológico del queratoquiste odontogénico y los resultados obtenidos con los explantes cultivados [Cuadro 17]. En los geles de poliacrilamida obtenidos se concentraron proteínas de entre 20 y 250 kd, por lo que moléculas fuera de este rango se descartaron en la relación.

Proteína	Peso molecular teórico (kd)
FHIT	5.53
PTCH 1	20.84
BCL 2	26.26
CD 82	29.61
LOXL 4	30.35
1 L1B	30.74
1 L1A	30.79
RANKL	35.47
PCNCA	36
TP 53	38.53
OPG	40.026
NCAM 1	40.75
WNT 1	40.98
WNT 10A	46.44
KRT 18	48.05
MTDH	49.21
SHH	49.60
MDM 2	52.46
RANK	66.61
PTGS2	68.99
CDH1	71.33
MMP2	73.88
TP 63	76.56
MMP 9	78.45
CTNNB 1	85.49
SMO	86.39
GLI 1	117.96
MKI 67	358.69
HSPG2	468.82

*Cuadro 17: Moléculas expresadas en el Queratoquiste odontogénico en estudios previos de inmunoexpresión.

9. DISCUSIÓN.

En el presente trabajo se realizó un análisis de las proteínas expresadas en el epitelio y en el mesénquima de las muestras obtenidas del queratoquiste odontogénico. El estudio se realizó a través de tejido fresco y cultivos celulares por medio de explantes primarios de esta patología (tanto controles como variantes), haciendo el análisis molecular tanto de las muestras controles, como de los especímenes experimentales. Esto fue con el propósito de hacer un análisis comparativo en la expresión de proteínas en un experimento de electroforesis de una dimensión para contrastar las variantes entre cada uno de los grupos.

Quistes y tumores odontogénicos se desarrollan debido a las anomalías que se producen durante la odontogenesis, por lo tanto, actualmente son considerados como trastornos del desarrollo de los tejidos odontogénicos (Adel K. El Naggar, 2017).

Los quistes odontogénicos se subclasifican en quistes evolutivos e inflamatorios, que difieren en su comportamiento biológico y clínico. Estos quistes surgen a partir del ectodermo oral que da lugar a la formación del diente, por lo que se les da este nombre. El queratoquiste odontogénico y quiste periapical, son los más frecuentes de su tipo (Sajeevan, 2014).

Se presume que los queratoquistes son provenientes de los “residuos de lámina dental”. La lámina dental es un filamento de epitelio embrionario que transporta el órgano dental a su destino en el interior de los maxilares fetales en el desarrollo. Durante su periodo funcional, la lámina dental conecta el órgano del esmalte de desarrollo con la mucosa alveolar. En su periodo postfuncional, la lámina dental se desintegra formando una serie de pequeños islotes y filamentos de epitelio (Phillip Sapp, (2005), los cuales dan origen a diversas patologías y quistes.

Actualmente el tumor TOQ o QO se define como un quiste odontogénico caracterizado por un delgado y

regular revestimiento de epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado con empaliamiento hipercromático de las células basales (Adel K. El Naggar, 2017). Se ha postulado que existe un equilibrio regulado entre la proliferación celular, la diferenciación y la muerte en el desarrollo de los quistes de mandíbula, resultando en la histopatología específica en el epitelio del revestimiento (Malčić, 2008). El revestimiento epitelial del QO parece expresar un potencial de crecimiento intrínseco que no está presente en otros tipos de quistes odontogénicos. Su alta tasa de recurrencia, estrecha relación con el síndrome de carcinoma de células basales nevoide y un mayor riesgo putativo de cambio neoplásico en comparación con otros quistes odontogénicos, lo coloca en una posición única dentro del espectro de las lesiones odontogénicas, en este sentido, existen moléculas previamente analizadas que podrían estar jugando papeles relevantes para su origen.

La alta tasa de recurrencia del QO se informó en la literatura que va una velocidad de 30-60% (Freier K1, 2009). La tasa de incidencia esporádica del QO se estimó en 0,61 a 3,50 por millón por año dependiendo del sexo y la raza (Brasil) (Diniz, 2012). La agresividad inherente del queratoquiste se ha atribuido a alta actividad mitótica, presencia de prostraglandinas, colagenasa, leucina aminopeptidasa y de fosfatasa ácida (Iezzi, 2007).

Hasta donde es conocido, solo un estudio ha sido llevado a cabo hasta ahora en un nivel de proteoma (Ivanišević Malčić, 2015), contrastando la proteómica de perfiles de lesiones odontogénicas queratoquísticas con mucosa oral normal y quistes radiculares. Realizaron estudios por medio de electroforesis en una dimensión, espectrometría de masas y adicionado con análisis inmunohistoquímicos., ellos reportaron que encontraron más de 43 proteínas (10-250 kDa) que se expresaron diferencialmente en las lesiones de queratoquiste odontogénico en comparación con la mucosa oral del paciente afectado de concordancia.

Estas proteínas tienen funciones biológicas importantes y están involucradas en la proliferación celular, transcripción, motilidad celular, la adhesión intercelular, la transformación oncogénica y apoptosis. Además, su estudio reveló 155 proteínas expresadas diferencialmente entre lesiones queratoquísticas y quistes radiculares, que regulan una amplia gama de procesos diferentes. En comparación con nuestros resultados, obtuvimos 14 bandas sobre expresadas (entre 20-250 kDa) significativas del proteoma de tejido fresco del quetoquiste odontogénico en experimentos de electroforesis en una dimensión, sin embargo, se desconoce la identidad de cada proteína expresada.

Se puede destacar que existe concordancia entre ambos estudios, puesto que el patrón de expresión de proteínas en los geles de poliacrilamida es similar. Durante la revisión sistemática de estudios previos, fueron encontradas 31 moléculas destacadas relacionadas con el quetoquiste odontogénico, las cuales están vinculadas por su inmunoespresión anormal. Estas fueron categorizadas en tres campos según su localización y relación: 1) Vías de señalización, 2) Expresión específica en epitelio de revestimiento y 3) Estroma capsular.

1) Las vías identificadas por su desregulación molecular fueron la vía SHH, la vía WNT y la vía RANK/RANKL/OPG. Las proteínas que se encuentran principalmente expresadas en el epitelio de revestimiento son 22 moléculas, entre las que destacan sus funciones de regulación transcripcional, receptor, migración celular, invasión, mediadores del ciclo celular y de la inflamación. Sin embargo, las proteínas: LOXL4 y DSPG2, que están expresadas en la cápsula fibrosa poseen una actividad específica de regulación transcripcional e invasión local. El análisis de la perspectiva de estas moléculas nos permite asociarlas a los resultados obtenidos y diferir un mayor entendimiento del comportamiento clínico y biológico de esta lesión. En el presente estudio se obtuvieron proteínas variantes entre el rango de peso

molecular de 20 a 250 kDa, por lo biomoléculas como: FHIT (5.53 kDa), MKI67 (358.69) y HSPG2 (468.82 kDa) con pesos moleculares teóricos fuera del estándar de este estudio, se descartaron del análisis en este proyecto.

2) Sobre la expresión específica en epitelio de revestimiento, en estudios anteriores demostraron que el revestimiento epitelial de los QO tiene un patrón distinto de proliferación celular y apoptosis. Una molécula vinculada a este fenómeno es BCL2 (26.26 kDa), que inhibe la apoptosis para facilitar la proliferación celular en la capa basal, mientras que la apoptosis se produce en la capa epitelial superficial de los QO, manteniendo la homeostasis del espesor del revestimiento y permitiendo la síntesis de grandes cantidades de queratina en esta capa de las lesiones queratoquísticas. Estos estudios fueron contrastados con quistes radiculares y quistes dentígeros, los cuales demostraron ausencia de inmunoespresión de BCL2 (Ivanišević Malčić, 2015). BCL2 es el gen anti-apoptótico que se encuentra regulado negativamente por los microRNAs (miRNAs) miR-15a y miR-16-1 en el nivel postranscripcional. En particular, la inmunoespresión de BCL2 se encuentra en el revestimiento epitelial del QO en las células de la capa basal. Este gen situado en el cromosoma 18q21.3 codifica una proteína capaz de detener la apoptosis, facilitando así la supervivencia celular independientemente de la división celular. La inhibición de la apoptosis se considera como uno de los pasos más importantes en la tumorigénesis porque permite que las células genéticamente inestables sobrevivan y acumulen más mutaciones que eventualmente conducen a neoplasias. Se cree que la sobreexpresión de la proteína BCL2 está implicada en una serie de neoplasias malignas y a su vez su presencia está vinculada a la resistencia de los tratamientos convencionales de los fármacos contra el cáncer (Diniz, 2012).

Se ha reportado en estudios previos a cerca de la expresión inmunohistoquímica de la molécula de

adhesión neural celular (NCAM1) y ha sido identificada como un receptor de señalización con reactividad frecuente en quistes odontogénicos con queratina. La expresión aberrante de NCAM1 (40.75 kDa) sugiere que esta molécula de adhesión y receptor, juega un papel importante en la patogénesis de los QO con un impacto probable en la recurrencia lesional, puesto que se observó en el 50% de QO, lo cual representa una posible influencia sobre la expresión de NCAM1 en casos de recidiva de la lesión. La inmunoreactividad en los casos positivos de QO era siempre epitelial, frecuentemente en la capa basal del epitelio quístico, seguido por áreas de gemación basal o nidos epiteliales satélite. Originalmente NCAM1 se expresa por una amplia variedad de células neuroectodérmicas y mesenquimales, esta expresión podría ser indicativo de la diferenciación neuroectodérmica, especialmente teniendo en cuenta el hecho de que las células de la cresta neural están asociadas con el desarrollo del diente y la diferenciación particularmente ectomesenquimatosas en gérmenes dentales (Vera-Sirera, 2015).

En el QO se expresa intensamente la molécula MTDH / AEG1 (49.21 kDa), la cual exhibe fuertes tinciones en todas las células escamosas estratificadas del revestimiento epitelial, excepto en las células paraqueratinizadas superficiales. MTDH es el regulador vía arriba de la MMP2 y MMP9 (Wu, 2017). Su estrecha relación con estas metalopeptidasas sugiere que puede desempeñar un papel importante en la proliferación y la antiapoptosis de las células patológicas, que su vez refuerzan el comportamiento localmente agresivo de esta lesión odontogénica y finalmente conducen a una considerable destrucción ósea del sitio afectado, puesto que la alta expresión de MTDH se asocia con la progresión tumoral, la invasión y la metástasis de tumores.

En una revisión sobre la expresión de ciclooxygenasa-2 / PTGS2 (68.99 kDa) en los tumores de cabeza y cuello, se ha encontrado que los

altos niveles de expresión de PTGS2 aumentan en diversas patologías benignas, pero su mecanismo de acción aún es desconocido. La PTGS2 cataliza la síntesis de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico, es un gen de respuesta temprana que es inducido por factores de crecimiento, oncogenes y carcinógenos y su expresión se ve incrementada en tumores. El aumento de expresión de la PTGS2 juega un papel importante en el desarrollo y crecimiento tumoral al interferir en los procesos biológicos, tales como la división celular, la inmunidad celular, la adhesión celular, la apoptosis y la angiogénesis. Estudios recientes han demostrado la sobreexpresión de la PTGS2 en las lesiones malignas y premalignas, además de confirmar un alto nivel de expresión en lesiones localmente invasivas como ameloblastomas y queratoquistes odontogénicos en comparación con las lesiones de comportamiento clínico menos agresivo como el quiste dentígero, sin embargo la tasa de recurrencia es mucho más alta del queratoquiste que el ameloblastoma. Los efectos quimiopreventivos de inhibidores selectivos de la PTGS2 y su efecto inhibitorio sobre el crecimiento tumoral, la metástasis y la mejora de los efectos anticancerígenos de la radioterapia y la quimioterapia en animales en experimentación y modelos humanos indican el papel de esta proteína en la tumorigénesis. Por lo tanto, de acuerdo con los resultados obtenidos, tal vez PTGS2 se puede utilizar en la terapia molecular dirigida al queratoquiste odontogénico, siendo que PTGS2 es un marcador de acción importante en el comportamiento agresivo de esta lesión (Seyedmajidi, 2015).

3) Respecto a las proteínas del estroma capsular, anteriormente se ha demostrado que no solo las moléculas expresadas en el epitelio de revestimiento del queratoquiste juegan un papel en su evolución, sino que también las moléculas de la cápsula fibrosa pueden contribuir a su desarrollo. Un ejemplo de ello es el gen LOXL4 (30.35 kDa), cuya expresión ha sido confirmada en esta patología mediante PCR cuantitativa, inmunohistoquímica y ensayo inmunoenzimático; afirmando su presencia en el

citoplasma de los fibroblastos del estroma / cápsula del QO. Se presume que la expresión anormal de este gen en las células del tejido conectivo del QO puede afectar el microambiente de la patología mediante la angiogénesis, el remodelado del colágeno y la osteoclastogénesis, lo que puede ayudar a promover el comportamiento biológico localmente agresivo. Los estudios fueron contrastados con quistes dentígeros y mucosa oral normal, comparados con queratocistomas odontogénicos, los cuales poseen una mayor cantidad de microvasos de la cápsula fibrosa, por lo que investigaciones anteriores utilizaron marcador de angiogénesis CD105, dando como resultado la expresión en el 100% de las células endoteliales de la cápsula del queratocistoma. Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que el estroma del QO desempeña un papel importante en el comportamiento neoplásico de esta patología, así como proporcionar apoyo estructural para la pared del quiste (Jiang, 2014).

Como hemos visto, las proteínas identificadas participan en diferentes eventos moleculares y celulares. En el diagnóstico del queratocistoma, los pacientes afectados pueden estar libres de síntomas y descubrir la lesión solo después de radiografías dentales de rutina. Establecer el diagnóstico correcto en el momento oportuno en estos pacientes es importante para elegir la opción de tratamiento más eficaz y para la prevención de la recaída de la enfermedad. Nuevas herramientas y biomarcadores clínicos para el diagnóstico diferencial del queratocistoma se deben desarrollar para el manejo de estos pacientes, puesto que estos enfoques basados en proteómica para el descubrimiento de biomoléculas se pueden usar en diferentes aspectos biomédicos, incluyendo la identificación de vías implicadas en un estado patológico, la identificación de individuos que están en riesgo de padecimiento y la predicción de la respuesta terapéutica.

Los resultados obtenidos pueden considerarse un precedente para futuros estudios en cuanto al implemento de modelos experimentales para el

análisis del proteoma del queratocistoma odontogénico y su interacción biológica-molecular con las nanopartículas de platino u otros compuestos biomédicos probables para su tratamiento.

El uso de explantes primarios y cultivos celulares en comparación con los perfiles de tejido fresco discrepa en los resultados del análisis proteómico, puesto que hay diferencia significativa entre las muestras controles del mismo espécimen y las muestras experimentales. Sin embargo cabe mencionar que este suceso podría ser debido a variables como el microambiente, el tiempo y tipo de conservación de la muestra, el procesamiento, el medio de cultivo o inclusive la naturaleza de heterogeneidad del tejido presente en las patologías de carácter “tumoral”, que sea alguno de los factores que altere los resultados.

Una nueva clasificación da una terminología ampliada y un marco diagnóstico, pero todavía hay muchas incertidumbres sobre los mecanismos moleculares y celulares subyacentes al desarrollo y el comportamiento de los tumores y quistes que surgen del epitelio del aparato odontogénico y lesiones asociadas, lo que inspira a la investigación de esta entidad, pero más aún al abordaje del implemento de nuevas técnicas y ciencia biomédica al tratamiento conservador y efectivo de esta patología.

10. PERSPECTIVAS.

Para tener un mejor entendimiento de esta patología y como aplicar una terapéutica molecular efectiva, es viable realizar experimentos complementarios. Se propone evaluar con la técnica de electroforesis en dos dimensiones y posteriormente espectometría de masas para conocer y confirmar la identidad de las proteínas encontradas en cada una de las variantes.

Las nanopartículas de platino alteran el comportamiento celular y por lo tanto molecular del queratoquiste odontogénico, Se propone efectuar más ensayos experimentales tanto en esta patología como en otras lesiones odontogénicas, puesto que su interacción específica y mecanismo de acción aún no son claros.

11. CONCLUSIONES.

Se confirmó el diagnóstico histológico de Queratoquiste Odontogénico de las muestras obtenidas.

Se obtuvieron cultivos celulares viables a través de explantes primarios de las lesiones patológicas.

Hubo cambios significativos dosis dependiente del tratamiento con nanopartículas de platino (Pt/TiO₂) en concentraciones entre 100 y 200 µg/ml, a las células obtenidas por explantes primarios.

Hubo diferencias en el perfil de expresión de proteínas entre cada grupo.

12. REFERENCIAS.

Bibliografía

- Adel K. El Naggar, J. K. (2017). *WHO Classification of head and neck tumors*. Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- Ali, M. A. (2008). *Expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer in odontogenic cysts*. . Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology, 106(2), 258-263.
- Alsaegh, M. A. (2015). *Expression of human papillomavirus is correlated with Ki-67 and COX-2 expressions in keratocystic odontogenic tumor*. . Pathology & Oncology Research, 21(1), 65-71.
- Arellano Flores, A. M. (2008). *Tumor odontogénico queratoquístico y sus tratamientos. Reporte de un caso. Revisión de la bibliografía*. México: Revista ADM, 65(1).
- Atarbashi Moghadam, S. A. (2013). *Immunohistochemical analysis of P63 expression in odontogenic lesions*. BioMed research international, 2013.
- Barnes, L. E. (2005). *World Health Organization classification of tumours: pathology and genetics of head and neck tumours*. World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and genetics of head and neck tumours.
- Bibichenko, I. I. (2013). *Ki-67 and matrix metalloproteinase-9 expression in the follicular cyst, keratocystic odontogenic tumor, and ameloblastoma*. Arkhiv patologii, 75(1), 10-14.
- Bibichenko, I. I. (2013). *Ki-67 and matrix metalloproteinase-9 expression in the follicular cyst, keratocystic odontogenic tumor, and ameloblastoma*. . Arkhiv patologii, 75(1), 10-14.
- Cawson, R. A. (2009). *Cawson fundamentos de medicina y patología oral*. Elsevier,.
- CAWSON, R. G. (1983). *CIRUGIA Y PATOLOGIA ODONTOLOGICAS-RA CAWSON; TR. JOSE LUIS GONZALEZ HERNANDEZ*. Manual moderno.
- da Silva, T. A. (2008). *Comparative expression of RANK, RANKL, and OPG in keratocystic odontogenic tumors, ameloblastomas, and dentigerous cysts*. . Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology, 105(3), 333-341.
- de Ferraris, M. E. (2009). *Histologa, embriologa e ingeniera tisular bucodental/Histology, embryology and oral tissue engineering*. México: Médica Panamericana.
- Diniz, M. G. (2012). *miR-15a/16-1 influences BCL2 expression in keratocystic odontogenic tumors*. . Cellular Oncology, 35(4), 285-291.
- Eshghyar, N. N. (2012). *Gene polymorphism of interleukin-1 alpha and beta in keratocystic odontogenic tumors*. . Journal of Oral Pathology & Medicine, 41(9), 697-701.
- Expasy. (s.f.). Obtenido de <https://www.expasy.org/>
- Freier K1, P. S. (2009). *Activation of sonic hedgehog signaling in keratocystic odontogenic tumors*. . HNO. Apr;57(4):345-50. doi: 10.1007/s00106-008-1842-7.
- García, A. M. (2006). *Patología quirúrgica de cabeza y cuello: lesiones tumorales y pseudotumorales*. Trillas.
- Goerne, T. M. (2011). *Nanotecnología y nanomedicina: La ciencia del futuro... hoy*. . México: Arkhé Ediciones.
- Hakim, S. G. (2011). *Altered expression of cell-cell adhesion molecules β -catenin/E-cadherin and related Wnt-signaling pathway in sporadic and syndromal keratocystic odontogenic tumors*. . Clinical oral investigations, 15(3), 321-328.
- Iezzi, G. P. (2007). *KAI-1 protein expression in odontogenic cysts*. . Journal of endodontics, 33(3), 235-238.
- Ivanišević Malčić, A. B. (2015). *Proteomics profiling of keratocystic odontogenic tumours reveals AIDA*

- as novel biomarker candidate*. . Journal of Oral Pathology & Medicine, 44(5), 367-377.
- Jiang, W. P. (2014). *Identification of the involvement of LOXL4 in generation of keratocystic odontogenic tumors by RNA-Seq analysis*. . International journal of oral science, 6(1), 31.
- Kumar, V. A. (2017). *Robbins Basic Pathology E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Ledderhof, N. J. (2017). Topical 5-fluorouracil is a novel targeted therapy for the keratocystic odontogenic tumor. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 75(3), 514-524.
- Lu, D. P. (2007). *Cytokeratin 18 and their gene expression in jaw odontogenic keratocyst epithelial lining*. . Hua xi kou qiang yi xue za zhi= Huaxi kouqiang yixue zazhi= West China journal of stomatology, 25(2), 106-110.
- Malčić, A. J. (2008). *Alterations of FHIT and P53 genes in keratocystic odontogenic tumor, dentigerous and radicular cyst*. . Journal of oral pathology & medicine, 37(5), 294-301.
- Mishra, M. N. (2011). *Perlecan (basement membrane heparan sulfate proteoglycan) and its role in oral malignancies: an overview*. . Indian Journal of Dental Research, 22(6), 823.
- Nanci, A. (2007). *Ten cate's oral histology-pageburst on vitalsource: development, structure, and function*. Elsevier Health Sciences.
- NCBI, Gene ID: 5111. (6 de 9 de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5111>
- NCBI. (3 de 9 de 2017). Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/92140#bibliography>
- NCBI, Gene ID: 1499. (10 de Septiembre de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1499>
- NCBI, Gene ID: 2272. (06 de Septiembre de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2272>
- NCBI, Gene ID: 2735. (03 de Septiembre de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2735>
- NCBI, Gene ID: 3339. (03 de Septiembre de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3339>
- NCBI, Gene ID: 3552. (06 de Septiembre de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3552>
- NCBI, Gene ID: 3553. (10 de Septiembre de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3553>
- NCBI, Gene ID: 3732. (03 de Septiembre de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3732>
- NCBI, Gene ID: 3875. (10 de Septiembre de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3875>
- NCBI, Gene ID: 406948. (10 de Septiembre de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/406948>
- NCBI, Gene ID: 406950. (10 de Septiembre de 2017). Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/406950>
- NCBI, Gene ID: 4193. (10 de Septiembre de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4193>
- NCBI, Gene ID: 4288. (3 de Septiembre de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4288>
- NCBI, Gene ID: 4313. (6 de 9 de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4313>
- NCBI, Gene ID: 4318. (3 de 9 de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4318>
- NCBI, Gene ID: 4684. (3 de 9 de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4684>
- NCBI, Gene ID: 4982. (06 de Septiembre de 2017). Obtenido de NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4982>

- NCBI, Gene ID: 5727. (03 de Septiembre de 2017).
Obtenido de NCBI:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5727>
- NCBI, Gene ID: 5743. (3 de 9 de 2017). Obtenido de
NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5743>
- NCBI, Gene ID: 596. (10 de Septiembre de 2017).
Obtenido de NCBI:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/596>
- NCBI, Gene ID: 6469. (10 de Septiembre de 2017).
Obtenido de NCBI:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6469>
- NCBI, Gene ID: 6608. (10 de Septiembre de 2017).
Obtenido de NCBI:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6608>
- NCBI, Gene ID: 7157. (4 de 9 de 2017). Obtenido de
NCBI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7157>
- NCBI, Gene ID: 7471. (3 de Septiembre de 2017).
Obtenido de NCBI:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7471>
- NCBI, Gene ID: 80326. (3 de Septiembre de 2017).
Obtenido de NCBI:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/80326>
- NCBI, Gene ID: 84171. (3 de Septiembre de 2017).
Obtenido de NCBI:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/84171>
- NCBI, Gene ID: 8600. (06 de Septiembre de 2017).
Obtenido de NCBI:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/8600>
- NCBI, Gene ID: 8626. (10 de Septiembre de 2017).
Obtenido de NCBI:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/8626>
- NCBI, Gene ID: 8792. (03 de Septiembre de 2017).
Obtenido de NCBI:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/8792>
- NCBI, Gene ID: 999. (10 de Septiembre de 2017).
Obtenido de NCBI:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/999>
- Neville, B. W. (2015). *Oral and maxillofacial pathology*.
Elsevier Health Sciences.
- Ohki, K. K. (2004). *PTC gene mutations and expression of SHH, PTC, SMO, and GLI-1 in odontogenic keratocysts*. . International journal of oral and maxillofacial surgery, 33(6), 584-592.
- Phillip Sapp, J. ((2005). *Patología oral y maxilofacial contemporánea*. Elsevier.
- Ramesh, M. K. (2015). Gorlin-Goltz Syndrome: case report and literature review. *Journal of oral and maxillofacial pathology: JOMFP*, 19(2), 267.
- Reichart, P. A. (2004). *Odontogenic tumors and allied lesions (pp. 189-197)*. Quintessence Pub.
- Sajeevan, T. P. (2014). *Immunohistochemical study of p53 and proliferating cell nuclear antigen expression in odontogenic keratocyst and periapical cyst*. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 6(Suppl 1), S52. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 6(Suppl 1), S52.
- Syedmajidi, M. S. (2015). *Immunohistochemical analysis of COX-2 expression in dentigerous cyst, keratocystic odontogenic tumor and ameloblastoma: A comparative study*. *Dental research journal*, 12(3), 278.
- Sharifi-Sistani, N. Z.-B. (2011). *Immunohistochemical comparison of the expression of p53 and MDM2 proteins in ameloblastomas and keratocystic odontogenic tumors*. . *Journal of Craniofacial Surgery*, 22(5), 1652-1656.
- Shimada, Y. K. (2013). *Integrated genotypic analysis of hedgehog-related genes identifies subgroups of keratocystic odontogenic tumor with distinct clinicopathological features*. . *PloS one*, 8(8), e70995.
- Vera-Sirera, B. F.-N.-S. (2015). *NCAM (CD56) Expression in keratin-producing odontogenic cysts: aberrant expression in KCOT*. . *Head & face medicine*, 11(1), 3.
- Vered, M. P. (2009). *The immunoprofile of odontogenic keratocyst (keratocystic odontogenic tumor) that includes expression of PTCH, SMO, GLI-1 and bcl-2 is similar to ameloblastoma but different from odontogenic cysts*. *Journal of oral pathology & medicine*, 38(7), 597-604.

- Wright, J. M. (2014). Odontogenic tumors, WHO 2005: where do we go from here?. *Head and neck pathology, 8*(4), 373.
- Wu, Y. H. (2017). *Expression of astrocyte elevated gene-1 protein in ameloblastomas, keratocystic odontogenic tumors, and dentigerous cysts.* *Journal of Oral Pathology & Medicine, 46*(2), 121-126.

13. GLOSARIO.

Hamartoma: El hamartoma es una masa de tejido desorganizado originado en ese lugar en particular. El estudio histopatológico puede mostrar una masa de células maduras pero desorganizadas, como hepatocitos, vasos sanguíneos y, posiblemente, vías biliares dentro del hígado o un nódulo en el pulmón que contiene islotes de cartílago, bronquios y vasos sanguíneos.

En el pasado, los hamartomas eran considerados malformaciones del desarrollo, pero algunos estudios genéticos han demostrado la presencia de translocaciones adquiridas, lo que indica un origen neoplásico (Kumar, 2017).

Solución de Carnoy: Tiene como principal objetivo evitar la recidiva de la lesión mediante su penetración a través del margen óseo, ha sido demostrado que la penetración en los tejidos es de 1.54 mm y el tiempo de exposición ideal no deberá exceder los cinco minutos para evitar su función como inductor de neurotoxicidad local, lo cual depende de la penetración de la solución en el tejido y del tiempo de exposición en el mismo. La solución deberá prepararse con:

-Alcohol 6 mL

-Cloroformo 3 mL,

-Ac. Acético 1 mL

-Clorhídrico férrico 0.1 mg

La colocación de la solución de Carnoy se realiza posterior a la enucleación del queratoquiste, curetaje y limpieza del nicho quirúrgico, directamente sobre el nicho quirúrgico en hueso y sin tocar los tejidos circundantes durante 3 minutos. Posterior a la colocación de la solución de Carnoy se retira la gasa impregnada de la solución y sin lavar nuevamente el nicho quirúrgico, se procede a la sutura de tejidos y

se da por terminado el acto quirúrgico (Arellano Flores, 2008).

MMP: Las metaloproteinasas de matriz (MMPs) son una familia de enzimas que tienen la capacidad de degradar diferentes componentes de la matriz extracelular. Las MMP desempeñan un papel importante en varios procesos fisiológicos y patológicos, incluyendo la remodelación de tejidos y la invasión de tumores (Ali, 2008).

Las proteínas de la familia de las metaloproteinasas de matriz (MMP) están implicadas en la descomposición de la matriz extracelular en procesos fisiológicos normales, tales como el desarrollo embrionario, la reproducción y la remodelación de tejidos, así como en procesos de enfermedad, como artritis y metástasis. La mayoría de las MMP se secretan como proproteínas inactivas que se activan cuando se escinden por proteinasas extracelulares (NCBI, Gene ID: 4318, 2017).

MiRNAs: Los microARNs (miRNAs) son ARNs cortos (20-24 nt) no codificantes que están implicados en la regulación post-transcripcional de la expresión de genes en organismos multicelulares afectando tanto la estabilidad como la traducción de los ARNm. El miARN maduro se incorpora en un complejo de silenciamiento inducido por RNA (RISC) que reconoce mRNAs objetivo a través de emparejamiento de bases imperfectas con el miARN y más comúnmente los resultados en la inhibición de la traducción o desestabilización de la mRNA objetivo (NCBI, Gene ID: 406948, 2017)

MiRNAs regulan la expresión de ARN mensajero complementario (mRNAs) y se han vinculado a la tumorigénesis humana (Diniz, 2012).

Perlecan: El neologismo perlecan, un mnemónico de "perl" (gema o gema como) y "can" (glicosaminoglicano), fue acuñado por Hassell y sus colaboradores para simbolizar la apariencia de "perlas en una cuerda" de una molécula perlecan aislada. Perlecan significa estructuras parecidas a perlas. Perlecan es un proteoglicano grande (400-500 kDa) presente en prácticamente todos los tejidos vascularizados con una distribución que se limita principalmente a las membranas basales incluyendo las de la mucosa oral.

Se ha demostrado que Perlecan se distribuye en el espacio estromal de diversas condiciones fisiopatológicas. En la cavidad oral, la expresión de perlecan se informa a las células basales en la mucosa normal y su expresión aumenta en precancer y condiciones cancerosas (Mishra, 2011).

14. ANEXOS.

14.1 Constancia de aprobación de protocolo aprobado por el comité de ética y bioseguridad de la institución.

Número de registro: HJM1996/11.0308.

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Hospital Juárez de México
Dirección de Investigación

"2016, Año del Nuevo Sistema de Justicia Penal"

México, Ciudad de México a 26 de Octubre 2016

Dr. Carlos Liceaga Escalera
Jefe del Servicio de Cirugía Maxilofacial
Presente

Con relación a los protocolos registrados a su cargo en este hospital se extiende la siguiente constancia.

Título:

"Análisis de la expresión diferencial de proteínas en tumores odontogénicos "

No. de registro: HJM 1996/11.03.08

Del cual el **Dr. Alejandro García Muñoz** es el investigador y colaborador responsable del protocolo arriba referido.

Se le recuerda su obligación de reportar sus resultados de avance de forma trimestral así como todos los productos académicos de este protocolo.

Atentamente


Dr. José Moreno Rodríguez
Director de Investigación

c.c.p. Dr. Alejandro García Muñoz

Avenida Instituto Politécnico Nacional No. 5160, Col. Magdalena de las Salinas, Delegación Gustavo A. Madero, C.P. 07760, Teléfono Directo: 5747 7632, Conmutador 5747 7560 al 80, ext. 7632

***Figura 32:** Constancia de aprobación de protocolo de investigación por Hospital Juárez de México.

14.2 Gel de Poliacrilamida

Gel separador al 10%

REACTIVO	CANTIDAD
H2O	1.9 ml
Acrilamida	1.7 ml
Tris ph 8.8	1.3ml
SDS	50 µl
PSA	20 µl
TEMED	10 µl

*Cuadro 18

Gel concentrador

REACTIVO	CANTIDAD
H2O	680 µl
Acrilamida	170 µl
Tris ph 8.8	130 µl
SDS	10 µl
PSA	10 µl
TEMED	5 µl

*Cuadro 19

14.3 Suero Fetal Bovino

Nombre del producto: Fetal Bovine Serum (FBS)
Mexico, USDA approved.

Marca comercial: Biowest. The serum specialist.

Número de producto: S1650

14.4 DMEM

Nombre del producto: DMEM High Glucose w/
stable Glutamine w/ Sodium Pyruvate.

Marca comercial: Biowest. The serum specialist.

Número de producto: L0103

Formulación: [Cuadro 21].

14.5 Medio de cultivo completo

Formulación:

REACTIVO	CANTIDAD ml. (%)
DMEM	47 ml (94%).
SFB	2.5 ml (5%).
Penicilina	.5 ml (1%).

*Cuadro 20

CAS Number	Components	Quantity in g/l
10035-04-8	Calcium Chloride Dihydrate	0.26500000
7487-88-9	Magnesium Sulfate Anhydrous	0.09767000
7782-61-8	Ferric Nitrate Nonahydrate	0.00010000
7447-40-7	Potassium Chloride	0.40000000
7647-14-5	Sodium Chloride	6.40000000
7558-80-7	Sodium Phosphate Monobasic Anhydrous	0.10900000
50-99-7	D-Glucose Anhydrous	4.50000000
56-40-6	Glycine	0.03000000
39537-23-0	L-Alanyl-L-Glutamine	0.86200000
1119-34-2	L-Arginine Monohydrochloride	0.08400000
30925-07-6	L-Cystine Dihydrochloride	0.06260000
5934-29-2	L-Histidine Monohydrochloride Monohydrate	0.04200000
73-32-5	L-Isoleucine	0.10500000
61-90-5	L-Leucine	0.10500000
657-27-2	L-Lysine Monohydrochloride	0.14600000
63-68-3	L-Methionine	0.03000000
63-91-2	L-Phenylalanine	0.06600000
56-45-1	L-Serine	0.04200000
72-19-5	L-Threonine	0.09500000
73-22-3	L-Tryptophan	0.01600000
69847-45-6	L-Tyrosine Disodium Salt Dihydrate	0.10379000
72-18-4	L-Valine	0.09400000
67-48-1	Choline Chloride	0.00400000
137-08-6	D-Ca Pantothenate	0.00400000
59-30-3	Folic Acid	0.00400000
87-89-8	Myo-Inositol	0.00720000
98-92-0	Nicotinamide (Nicotinic acid amide)	0.00400000
58-56-0	Pyridoxine Hydrochloride	0.00400000
83-88-5	Riboflavin	0.00040000
67-03-8	Thiamine Hydrochloride	0.00400000
34487-61-1	Phenol Red Sodium Salt	0.01590000
113-24-6	Sodium Pyruvate	0.11000000
144-55-8	Sodium Bicarbonate	3.70000000
WATER		982.48734000

*Cuadro 21: Formulación de Medio de cultivo.

ÍNDICE.

1. ABREVIATURAS. P.1

2. INTRODUCCIÓN. P.2

3. ANTECEDENTES. P.2

3.1 Odontogénesis. P.2

- 3.1.1. Estadio de brote o yema dentaria. P. 4
- 3.1.2. Estadio de Casquete inicial. P.4
- 3.1.3. Estadio de campana. P.5
- 3.1.4. Etapa de campana avanzada. P.6
- 3.1.5. Estadio terminal o de folículo dentario (apositional). P.7

3.2. Clasificación del TOQ – Queratoquiste odontogénico. P.9

3.3. Quistes. P.10

3.4. El tumor odontogénico queratoquístico / Queratoquiste odontogénico. P.11

- 3.4.1. Sinónimos. P.11
- 3.4.2. Histogénesis. P.12
- 3.4.3. Epidemiología. P.12
- 3.4.4. Prevalencia. P.12
- 3.4.5. Localización. P.13
- 3.4.6. Crecimiento. P.13
- 3.4.7. Características clínicas. P.14
- 3.4.8. Imagenología. P.14
- 3.4.9. Diagnóstico. P.15
- 3.4.10. Macroscopía. P.15
- 3.4.11. Histología. P.15
- 3.4.12. Tratamiento. P.16
- 3.4.13. Perfil genético. P.17
- 3.4.13.1. Genes expresados en el revestimiento epitelial del QO. P.18
- 3.4.13.2. Genes expresados en la cápsula fibrosa del QO. P.22
- 3.4.13.3. Genes expresados en la vía Hedgehog en el QO y SNCB. P.23
- 3.4.13.4. Genes expresados en la vía WNT en el QO. P.25
- 3.4.13.5. Genes expresados en la vía RANKL en el QO. P.26
- 3.4.14. Recidivas. P.28
- 3.4.15. Pronóstico y factores predictivos. P.28

3.5. Síndrome del nevo de células basales. P.29

- 3.5.1. Etiología. P.29
- 3.5.2. Incidencia. P.29
- 3.5.3. Características clínicas. P.29
- 3.5.4. El queratoquiste odontogénico asociado al SNCB. P.30

3.6. Carcinoma primario intraóseo de células escamosas, derivado de queratoquiste odontogénico. P. 31

- 3.6.1. Antecedentes. P.31
- 3.6.2. Prevalencia. P.31
- 3.6.3. Macroscopía. P.31
- 3.6.4. Patogénesis. P.31
- 3.6.5. Metástasis. P.32
- 3.6.6. Hallazgos ultraestructurales. P.32
- 3.6.7. Notas sobre el tratamiento y la tasa de recurrencia. P.32

3.7. Nanopartículas. P.33

4. JUSTIFICACIÓN. P.35

5. OBJETIVOS. P.36

5.1. Objetivo general. P.36

5.2. Objetivos específicos. P.36

6. MATERIALES Y MÉTODOS. P.37

6.1. Tipo de estudio realizado. P.37

6.2. Grupos de estudio. P.38

6.3. Cultivos celulares de explantes primarios de Queratoquiste Odontogénico. P.38

7. PROCEDIMIENTO. P.39

7.1. Obtención de muestras. P.39

7.2. Cultivos celulares. P.39

7.3. Tinción con hematoxilina-eosina. P.40

7.4. Procesamiento de las muestras para realizar mapa proteómico. P.40

7.5. Electroforesis de las muestras. P.41

8. RESULTADOS. P. 42

8.1. Tinción con hematoxilina-eosina. P.42

8.2. Cultivos celulares. P.43

8.3. Electroforesis. P.51

9. DISCUSIÓN. P.55

10. PERSPECTIVAS. P.59

11. CONCLUSIONES. P.59

12. REFERENCIAS. P.60

13. GLOSARIO. P.64

14. ANEXOS. P.66

