



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**INMUNOEXPRESIÓN DE SOX-2, BCL-2, P53 Y CICLINA D1
EN ODONTOMAS MADUROS Y EN DESARROLLO.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A:

ISAÍ DANIEL GARCÍA MONTES

TUTOR: MTRO. ROBERTO ONNER CRUZ TAPIA

ASESOR: DR. JAVIER PORTILLA ROBERTSON

ASESORA: DRA. LEONORA CHÁVEZ MERCADO



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ÍNDICE

1.	RESUMEN	8
2.	ABSTRACT	9
3.	ANTECEDENTES	10
4.	INTRODUCCIÓN.....	13
5.	MARCO TEÓRICO	14
5.1	ODONTOGÉNESIS	14
5.2	NEOPLASIAS ODONTOGÉNICAS.....	16
5.3	HISTOGÉNESIS	16
5.3.1	<i>Clasificación de la OMS.....</i>	17
5.3.2	<i>Evolución de la clasificación.....</i>	17
5.4	NEOPLASIAS ODONTOGÉNICAS MIXTAS.....	19
5.4.1	<i>Fibroma ameloblástico</i>	19
5.4.2	<i>Tumor odontogénico primordial.....</i>	21
5.4.3	<i>Tumor dentinogénico de células fantasma</i>	23
5.5	ODONTOMAS MADUROS	25
5.5.1	<i>Odontoma compuesto</i>	25
5.5.2	<i>Características clínicas.....</i>	25
5.5.3	<i>Características radiográficas</i>	25
5.5.4	<i>Características histológicas</i>	26
5.5.5	<i>Hallazgos genéticos y moleculares</i>	27
5.5.6	<i>Odontoma complejo</i>	27
5.5.7	<i>Características clínicas.....</i>	27
5.5.8	<i>Características radiográficas</i>	27
5.5.9	<i>Características histológicas</i>	28
5.5.10	<i>Hallazgos genéticos y moleculares</i>	29
5.6	ODONTOMAS EN DESARROLLO.....	29
5.6.1	<i>Fibrodentinoma ameloblástico/Fibro-odontoma ameloblástico</i>	29
5.6.2	<i>Características clínicas.....</i>	29
5.6.3	<i>Características radiográficas</i>	30
5.6.4	<i>Características histológicas</i>	31
5.6.5	<i>Hallazgos genéticos y moleculares</i>	32
5.7	PROGRESIÓN TUMORAL.....	32
5.8	CICLO CELULAR	33
5.8.1	<i>SOX-2.....</i>	36
5.8.2	<i>BCL-2.....</i>	37
5.8.3	<i>P53</i>	38
5.8.4	<i>Ciclina D1.....</i>	39
6.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	41
7.	JUSTIFICACIÓN	41
8.	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	41
9.	HIPÓTESIS	41
10.	OBJETIVOS	42

10.1	GENERAL	42
10.2	ESPECÍFICOS	42
11.	DISEÑO DEL ESTUDIO	42
11.1	TIPO DE ESTUDIO.....	42
11.2	UNIVERSO DEL ESTUDIO.....	43
11.3	TAMAÑO DE LA MUESTRA	43
11.4	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	43
11.5	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	44
11.6	CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	44
12.	VARIABLES DEL ESTUDIO.....	44
12.1	VARIABLES DEPENDIENTES	44
12.2	VARIABLES INDEPENDIENTES.....	44
13.	MATERIALES Y MÉTODOS	46
13.1	ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.....	46
13.2	TÉCNICA DE INMUNOHISTOQUÍMICA	50
13.3	ANÁLISIS DE INMUNOEXPRESIÓN	52
13.4	PLAN DE ANÁLISIS.....	52
13.5	ASPECTOS ÉTICOS.....	52
13.6	RECURSOS	53
14.	RESULTADOS.....	53
14.1	ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS	53
14.2	HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS DE LA MUESTRA	55
14.3	HALLAZGOS DE LA REACCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA.....	56
14.4	LOCALIZACIÓN DE LA EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA EN LOS ODONTOMAS	57
14.5	INTENSIDAD DE LA EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA EN LOS ODONTOMAS	59
15.	DISCUSIÓN	60
16.	CONCLUSIONES	64
17.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65
18.	ANEXOS.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Fotomicrografía de folículo dental
- Figura 2.** Esquema de la odontogénesis
- Figura 3.** Esquema de la evolución de la clasificación de la OMS de 1971 a 2017
- Figura 4.** Ortopantomografía de un fibroma ameloblástico
- Figura 5.** Fotomicrografía de fibroma ameloblástico
- Figura 6.** Ortopantomografía del tumor odontogénico primordial
- Figura 7.** Fotomicrografía del tumor odontogénico primordial
- Figura 8.** Ortopantomografía de tumor dentinogénico de células fantasma
- Figura 9.** Fotomicrografía de tumor dentinogénico de células fantasma
- Figura 10.** Ortopantomografía de odontoma maduro (OdtmCto)
- Figura 11.** Fotomicrografía de odontoma maduro (OdtmCto)
- Figura 12.** Ortopantomografía de odontoma maduro (OdtmCjo)
- Figura 13.** Fotomicrografía de odontoma maduro (OdtmCjo)
- Figura 14.** Ortopantomografía de odontoma en desarrollo (FOA)
- Figura 15.** Fotomicrografía de odontoma en desarrollo (FDA)
- Figura 16.** Esquema del ciclo celular
- Figura 17.** Esquema de los factores reguladores del ciclo celular
- Figura 18.** Fotomicrografía del caso 1 a 200x teñida con HyE
- Figura 19.** Fotomicrografía del caso 2 a 200x teñida con HyE
- Figura 20.** Fotomicrografía del caso 3 a 200x teñida con HyE
- Figura 21.** Fotomicrografía del caso 4 a 200x teñida con HyE
- Figura 22.** Fotomicrografía del caso 5 a 200x teñida con HyE
- Figura 23.** Fotomicrografía del caso 6 a 200x teñida con HyE
- Figura 24.** Fotomicrografía del caso 7 a 200x teñida con HyE
- Figura 25.** Fotomicrografía del caso 8 a 200x teñida con HyE
- Figura 26.** Inmunorreacción del anticuerpo BCL-2
- Figura 27.** Inmunorreacción del anticuerpo Ciclina D1

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fragmento de la clasificación de los tumores odontogénicos de la OMS del 2017

Tabla 2. Variables del estudio

Tabla 3. Características comerciales de los anticuerpos

Tabla 4. Inmunorreacción en el ectomesénquima

Tabla 5. Inmunorreacción en el epitelio odontogénico

Tabla 6. Inmunorreacción en la matriz de esmalte

Tabla 7. Inmunorreacción en los agregados adamantinomatosos

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Distribución total de biopsias diagnosticadas

Gráfica 2. Distribución por género

Gráfica 3. Distribución por localización

Gráfica 4. Hallazgos histopatológicos

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

FA.	Fibroma ameloblástico
FSA	Fibrosarcoma ameloblástico
FDA.	Fibrodentinoma ameloblástico
FOA.	Fibro-odontoma ameloblástico
Odtm.	Odontoma
OdtmCjo.	Odontoma complejo
OdtmCto.	Odontoma compuesto
OMS.	Organización Mundial de la Salud
TDCF.	Tumor dentinogénico de células fantasma
TOP.	Tumor odontogénico primordial
BMPs.	Bone Morphogenetic Proteins
FGFs.	Fibroblast Growth Factor
Shh.	Sonic Hedgehog
CDK.	Cyclin Dependent Kinase

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Daniel y Lucía a quienes siempre dedicare todos mis triunfos, por darme su amor y cariño en todo momento y enseñarme a ser la persona que hoy en día soy, por ser el pilar de mi vida, siempre estaré orgulloso de ustedes. Sin duda alguna son mi razón de seguir adelante.

A mi hermana, Lucy quien siempre estará a mi lado enseñándome a vivir la vida y disfrutar cada instante, a llevarme a vivir momentos increíbles. Por ayudarme a superar mis miedos y darme la fortaleza para seguir adelante, por ser una inspiración para siempre querer ser el mejor, por estar ahí para levantarme en cada caída y no dejarme retroceder.

A Katherine F. por compartir los momentos buenos y malos, por jamás dejarme solo, juntos vivimos toda esta etapa donde aprendimos uno del otro y nos unimos cada vez más. Por el apoyo que siempre nos brindamos y por complementarme como jamás podre estar.

A mis amigos, especialmente a Paul B., Carlos I., Leo V., Alejandro V. y Daniel M. que siempre estuvieron dándome su apoyo y consejos, por estar en todo momento y ayudarme a ser mejor persona.

A mi tutor y amigo Roberto Onner Cruz Tapia, el maestro que me enseñó que no existen limites en el conocimiento, que siempre debemos buscar aprender cada día más y por inspirar a tantos alumnos. Sigue enseñando que siempre habrá alguien que seguirá aprendiendo.

Al Dr. Javier Portilla Robertson por creer en este proyecto y brindarme todas las facilidades para llevarlo a cabo. Siendo el pilar del laboratorio de patología el cual sin su ayuda no se llevarían a cabo todas estas actividades que involucran a tantos alumnos con ganas de aprender y ser mejores personas.

A la Dra. Leonora Chávez Mercado por el apoyo brindado en la realización de mi tesis con su sabiduría y conocimiento de lo cual estoy muy agradecido.

A los miembros del Laboratorio de Patología del Departamento de Estudios de Posgrado e Investigación por permitirme realizar mi proyecto de investigación y al financiamiento de la norma ISO-9001-2015.

A la Mtra. Adriana Molotla, Esp. Lila Domínguez, Dra. Kathia Rodríguez y Dr. Luis Jacinto por su asesoría y apoyo en esta investigación.

Al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”, en especial a los integrantes de CAIPaDi por permitirme realizar mi servicio social.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme la educación intelectual y cultural desde la ENP 6 hasta la Facultad de Odontología, esperando que algún día pueda regresar todo lo que me fue otorgado e inspirar a otras personas.

“Investigar es ver lo que todo el mundo ha visto, y pensar lo que nadie más ha pensado”.

Albert Szent-Györgyi

1. RESUMEN

Los odontomas (Odtm) son neoplasias odontogénicas benignas mixtas que recuerda algunos estadios de la odontogénesis, aunque de crecimiento lento, en algunos casos afecta gravemente estructuras óseas. En los últimos años se ha generado controversia en el tema de los Odtm, debido a que en la clasificación actual de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se incluyen a los fibroodontomas ameloblásticos (FOA) y fibrodentinomas ameloblásticos (FDA) al grupo de los Odtm en desarrollo. Desde hace varios años se ha tratado de explicar la patogénesis y el curso de estas neoplasias proponiendo distintas teorías, algunas de ellas clasifican a los odontomas en desarrollo como una entidad que comprende la proliferación del tejido mesénquimal y el depósito de dentina y esmalte. En la actualidad con diversas técnicas que se han empleado, tratando de comprobar estas propuestas.

Materiales y Métodos: Se analizaron todas las muestras de odontomas del Departamento de Patología y Medicina Bucal de la UNAM bajo criterios morfológicos, se realizó inmunohistoquímica con la técnica de peroxidasa para los anticuerpos de SOX-2, BCL-2, P53 y Ciclina D1 en 6 casos de Odontomas maduros y en 2 casos de odontomas en desarrollo donde se analizó la localización e intensidad de la reacción.

Resultados: Se observó inmunoexpresión en el epitelio odontogénico, ectomesénquima, matriz de esmalte y agregados adamantinomatosos. En ambos grupos de estudio, obtuvimos mayor reacción en matriz de esmalte y agregados adamantinomatosos, epitelio odontogénico y ectomesénquima para BCL-2 y Ciclina D1, siendo negativa la expresión para Sox2 y p53 en la muestra.

Conclusiones: Con base en los hallazgos en la expresión inmunohistoquímica de los marcadores Bcl-2 y Ciclina D1 en los Odtm maduros y los Odtm en desarrollo podrían ser interpretados como un apoyo en la teoría de su histogénesis en formar parte del espectro de una misma lesión.

2. ABSTRACT

Odontomas (Odtm) are benign mixed odontogenic neoplasms that resemble some stages of odontogenesis with a slow and progressive growing, in some cases, the local destruction of the bone structures is very characteristic. Recently there has been controversy about the current classification of the World Health Organization (WHO) including ameloblastic fibrodentinomas (FDA) and ameloblastic fibro-odontomas (FOA) into the group of odontomas as “developing odontomas”. For several years, it has been tried to explain the pathogenesis and the biological behavior of these neoplasms proposing theories, some of them, trying to classify the odontomas in a development stage as an entity which the mesenchymal tissue and the deposit of dentin and enamel can be the proliferating element. Currently with various techniques, these relationships have been discussed.

Materials and Methods: All specimen of odontomas of the Department of Pathology and Oral Medicine of the UNAM will be analyzed under morphological criteria, immunohistochemistry will be performed with the peroxidase technique for the antibodies of SOX-2, BCL-2, P53 and Cyclin D1 in 6 cases of mature odontomas and in 2 cases of odontomas in development where the location and the intensity of the reaction are analyzed.

Results: Immunoexpression has been observed in the odontogenic epithelium, ectomesenchyme, enamel matrix and adamantinomatous aggregates. In both study groups, we obtained strong stain in enamel matrix and adamantinomatous aggregates, odontogenic epithelium and ectomesenchyme for BCL-2 and Cyclin D1, being negative expression for Sox2 and p53 in the sample.

Conclusions: Based on the findings in the immunohistochemical expression of Bcl-2 and Cyclin D1 markers in mature Odtm as developing Odtm could be interpreted as a support in the theory of histogenesis to be part of the spectrum of the same lesion.

3. ANTECEDENTES

En 1868 Broca, describió por primera vez las neoplasias odontogénicas,¹ desde entonces se ha tratado de clasificarlas con base en diferentes criterios, tanto estructurales como moleculares. Thoma y Goldman en 1946, introdujeron una clasificación con base en el origen de la capa germinal, en tumores de acuerdo a su origen en epitelial, mesénquimal o mixto.²

Hace cincuenta años, Sponge presentó un concepto unitario de la histopatogénesis de los tumores odontogénicos de origen epitelial, ayudándose de la evidencia morfológica e inmunohistoquímica; sugirió que los tumores odontogénicos se desarrollan a partir de las etapas o estadios de la odontogénesis.³

Hoy en día, la Organización Mundial de la Salud (OMS) es el organismo encargado de realizar una clasificación de los tumores incluyendo a los odontogénicos. La actual clasificación divide a los tumores odontogénicos en benignos, inespecíficos y malignos; además de, tomar en cuenta el tipo de tejido con el que interactúan, ya sea epitelial, mesénquimal o mixto.

Paul Pierre Broca acuñó el término “*odontoma*” definido como un tumor completo de tejido dental.¹ Otra clasificación de los tumores odontogénicos apareció en un informe sobre los odontomas elaborado en 1914 por el Comité de la Asociación Dental Británica; donde, el término “*odontoma*” se aplicaba a todos los tumores odontogénicos, incluidos los quistes de cualquier tipo y se establecía un grupo de tumores denominados “*odontomas compuestos*”.

A lo largo del tiempo, varios autores han postulado que los tumores odontogénicos mixtos pueden encontrarse en varios estadios secuenciales de maduración; por ejemplo, Cahn y Blum fueron los primeros en realizar una teoría del origen de los odontomas compuestos (OdtmCto), la cual postula que son el

resultado final de un fibroma ameloblástico (FA).⁴ Eversole y cols. después de algunos estudios clínicos de los tumores odontogénicos mixtos, postularon que las lesiones son incapaces de seguir diferenciándose.⁵ Sloodweg en 1981, analizó casos de FA, fibro-odontoma ameloblástico (FOA) y odontomas (Odtm); donde propuso interrelación entre el FOA y los Odtm debido a sus características más que histológicas, a la edad de presentación y localización eran consistentes con el concepto de que era una etapa inmadura de un odontoma complejo (OdtmCjo).⁶

En las últimas décadas se han reportado marcadores en Odtm maduros y en desarrollo, la creación de ratones transgénicos y la generación de varias líneas celulares han permitido a los investigadores conocer mejor el proceso de diferenciación celular. Actualmente, se conoce que el desarrollo dental depende de una serie de interacciones de señalización molecular entre el epitelio oral y el mesénquima derivado de la cresta neural. Una de las vías de señalización más estudiadas es la de WNT/ β -catenina la cual se encuentra activa en múltiples estadios de la odontogénesis; así mismo, la inhibición de esta vía en el epitelio o mesénquima odontogénico puede detener el desarrollo dental, mientras que la alteración conduce a la generación de dientes ectópicos.^{7, 8}

Recientes estudios en cepas murinas han demostrado que la expresión dirigida de la mutación β -catenina en un subconjunto de células pluripotenciales del epitelio dental positivas a SOX-2 conducen a la inducción de múltiples dientes supernumerarios; específicamente, estructuras que asemejan a los Odtm en humanos.^{7, 9} No obstante, en el 2015 Guilherme y cols. evidenciaron que la sobreexpresión de SOX-2 en células pluripotenciales del epitelio oral es suficiente para generar estructuras dentales, mostrando un potencial mecanismo para la formación de Odtm en poblaciones humanas.¹⁰ Stevanovic y cols. en 1994 identificaron el gen SOX-2 en el cromosoma 3q26.3-q27 y encontraron que codifica una proteína de 317 aminoácidos.¹¹ Wernig y cols. en 2007 demostraron de forma independiente que los factores de transcripción Oct4, SOX-2, c-Myc y Klf4 pueden inducir la reprogramación epigenética del genoma a un estado

pluripotente embrionario.¹² Masui y cols. determinaron que SOX-2 era indispensable para mantener la pluripotencia de células madre embrionarias.¹³

En 1991, Levine y cols. revisaron la función de p53 y como la alteración o inactivación de p53 por mutación o por interacción con productos de oncogenes de virus tumorales de ADN puede conducir al cáncer. En 1992, Lane refirió a p53 como el gen guardián del genoma el cual tiene implicación en el crecimiento y la división celular.¹⁵ Bourdon en 2007 revisó las isoformas de p53 y sus papeles en la regulación de p53 y el cáncer.¹⁶ Galvão y cols. en 2012 analizaron genes supresores tumorales en neoplasias odontogénicas mixtas, entre ellos, el gen p53 por medio de reacción de cadena de polimerasa (PCR), donde encontraron una mayor pérdida de la heterocigosidad de p53 en FOA, en comparación con FA y Fibrosarcoma ameloblástico (FSA).¹⁷ En 2017, Bologna-Molina y cols. realizaron un estudio a un tumor odontogénico primordial (TOP), en el cual describen una inmunoreacción de ligera a moderada para p53 en las células epiteliales y mesenquimales.¹⁸

Muller y cols. en 1994 demostraron que la expresión de Ciclina D1 en el ciclo celular dependía de la presencia de la proteína funcional RB (supresor tumoral); por tal motivo, las líneas de células tumorales deficientes de RB tenían niveles bajos de Ciclina D1.¹⁹ Bologna-Molina y cols. en 2017, observaron inmunoreacción de <5% de Ciclina D1 en las células epiteliales y mesenquimales del TOP.¹⁸

4. INTRODUCCIÓN

Hablar de los tumores odontogénicos nos obliga a mencionar todas aquellas entidades neoplásicas que se desarrollan a partir de estructuras que involucran el desarrollo dental, sin embargo, como mayor representante de estas entidades son los Odtm; desde hace 150 años estos tumores han sido estudiados evolucionando sus definiciones, clasificaciones, teorías en su histogénesis y tratamiento, desde entonces, se acuñó el término de “*odontoma*” aplicado para un tumor completo de tejido dental, propuesto por primer vez por el francés Paul Pierre Broca.¹

Múltiples estudios intentan establecer su etiología y desarrollo, aunque varios autores relacionan al fibrodentinoma ameloblástico (FDA) y FOA como entidades diferentes a un Odtm. La clasificación de la OMS del 2017 menciona al FDA y FOA como Odtm en desarrollo, esto debido a teorías que apoyan su origen en un espectro en la evolución de los Odtm maduros, por lo que se requiere de más estudios y evidencia científica.²⁸

Un tema de los Odtm que ha generado controversia a lo largo del tiempo es su terminología debido a su conducta biológica y complejidad tisular. Antiguamente se consideraban como un hamartoma, hoy en día, es más apropiado considerarlos como una neoplasia; aunque, existen autores que todavía los consideran como un hamartoma. Nuestra información sobre la expresión de biomarcadores asociados progresión tumoral sigue en continua mejora, con la ayuda de investigaciones que actualmente se realizan mediante biomarcadores se ha logrado esclarecer la relación entre los FDA y FOA, se ha sugerido como la forma en desarrollo de un Odtm.

El estudio de marcadores de progresión tumoral está enfocado para esclarecer la capacidad de infiltrar y destruir los huesos gnáticos que tienen los ahora Odtm en desarrollo (FDA y FOA) en comparación a los Odtm maduros (OdtmCjo y OdtmCto).

5. MARCO TEÓRICO

5.1 Odontogénesis

La odontogénesis, es un proceso interactivo en el cual participan genes y células de manera coordinada para dar origen a los órganos dentarios, este proceso comienza en la sexta o séptima semana de vida intrauterina, en el cual, el epitelio que recubre los procesos maxilares primitivos inicia una migración coordinada dentro del ectomesénquima de dichos procesos que darán origen al proceso alveolar. La odontogénesis sigue un proceso dinámico y consta de una serie de etapas que, de acuerdo a su morfología, se denominan: estadio de brote o yema, estadio de casquete, estadio de campana y estadio de folículo dentario, terminal o maduro (**Fig. 2**).²⁰ En los primeros estadios de la odontogénesis, la lámina dentaria prolifera formando el brote del diente permanente, mientras que la conexión con el epitelio bucal se desintegra y únicamente quedan restos de la lámina dental, conocidos como restos epiteliales de Serres.²⁰ El último estadio se caracteriza por comenzar con el depósito de matriz de esmalte sobre la dentina en desarrollo, que se ha ido secretando en forma de capas en lo que será las futuras coronas de los dientes (**Fig. 1**).

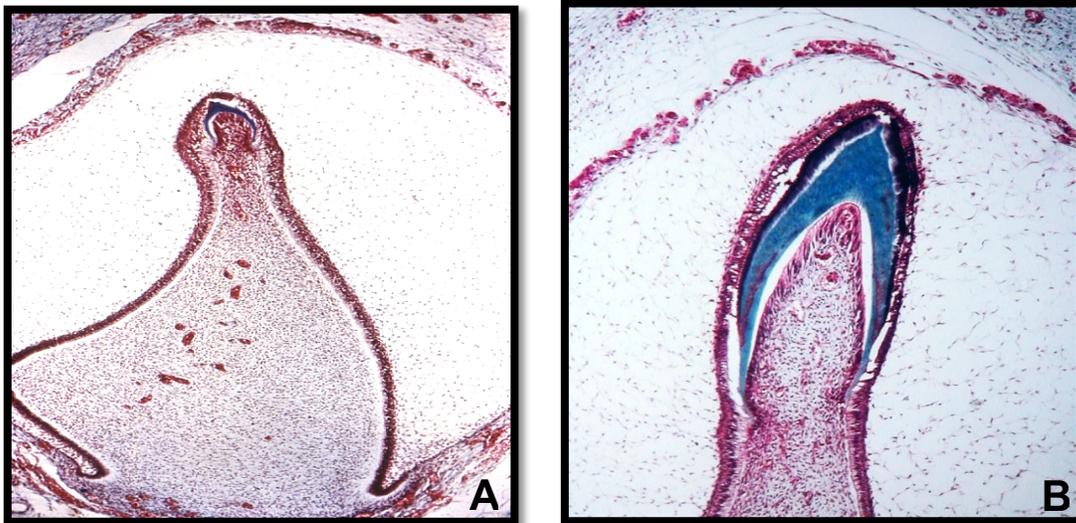


Figura 1. A y B Fotomicrografía de un folículo dental donde se observa el depósito de la matriz inmadura de dentina y esmalte. Fuente: Atlas digital de histología, Facultad de Medicina, UNAM.

Después de haberse formado el patrón coronario, comienza el desarrollo y formación radicular, poco después, el órgano del esmalte sufre una atrofia, convirtiéndose así, en el epitelio reducido del esmalte. La vaina epitelial de Hertwig es esencial para inducir y modelar la raíz dental, esta estructura resulta de la unión del epitelio interno con el epitelio externo del órgano del esmalte a nivel del asa cervical. Este lugar, es una zona de transición del epitelio interno con el epitelio externo, donde las células conservan un aspecto cuboide.²⁰ Después de secretar la primera capa de dentina radicular, la vaina epitelial se fragmenta formando los restos epiteliales de Malassez.

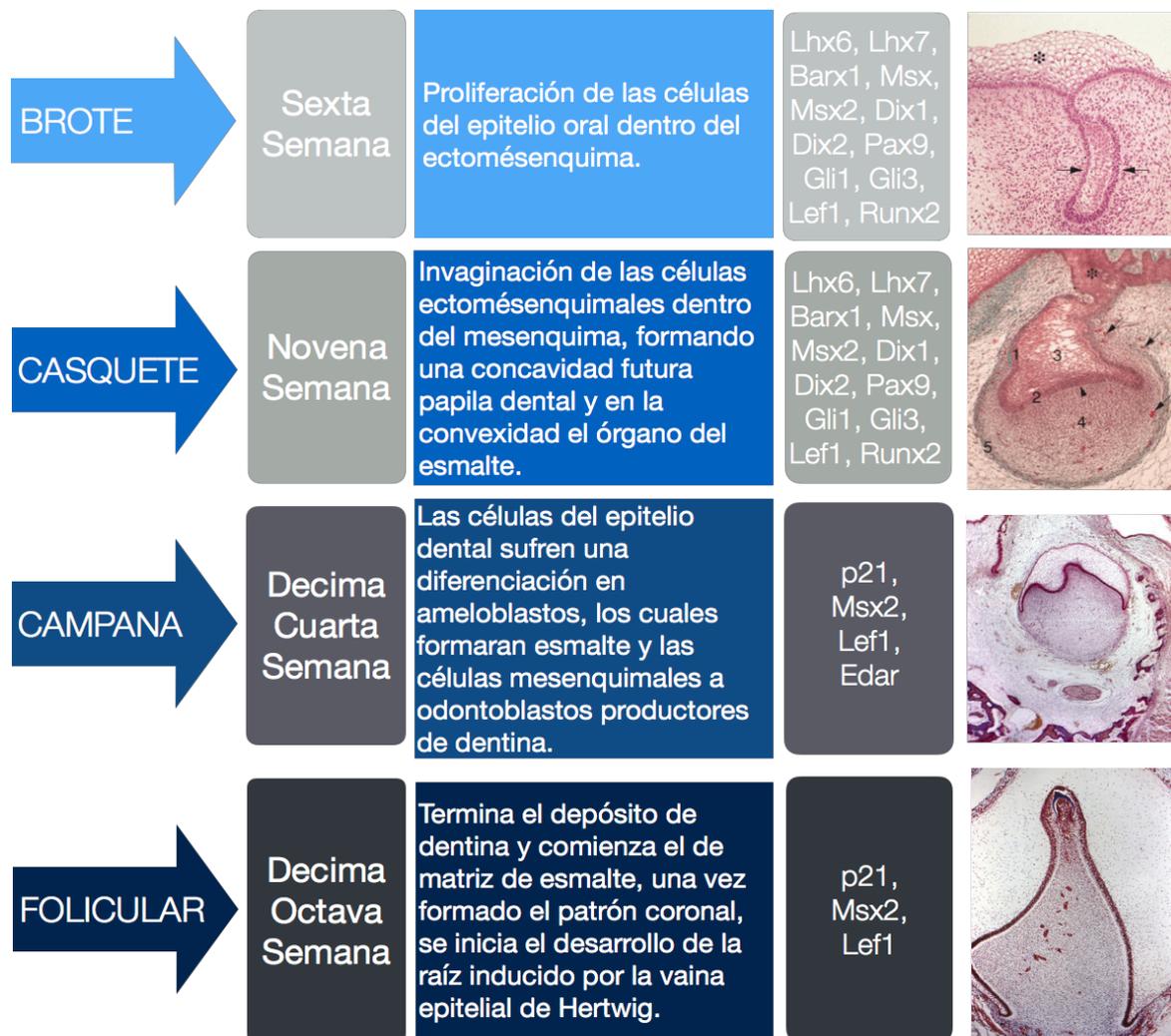


Figura 2. Esquema de la odontogénesis. Fuente: Gómez de Ferraris, M. Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental.²⁰

5.2 Neoplasias odontogénicas

Los tumores odontogénicos son un grupo de neoplasias de diverso comportamiento clínico y complejo aspecto histopatológico que comprenden hamartomas, neoplásicas sólidas y quísticas que inclusive pueden llegar a sufrir transformación maligna.

Se derivan del ectomesénquima y/o tejido epitelial que constituye el órgano dental, al igual que en la odontogénesis, los tumores odontogénicos presentan interacciones de inducción entre el ectomesénquima odontogénico y el epitelio odontogénico. Por lo general, tienen dos tipos de localización, una intraósea o central y, otra extraósea o periférica. Así mismo, se dividen en malignos o benignos, la mayoría de los tumores odontogénicos benignos surgen de novo, mientras que la mayoría de los tumores malignos provienen de persistencia o recidiva de quistes o tumores anteriormente tratados o por su larga evolución. La clasificación de los tumores odontogénicos está basada en las interacciones entre el ectomesénquima odontogénico y el epitelio odontogénico.^{21, 22, 23}

5.3 Histogénesis

A lo largo del tiempo, se han descrito varias teorías para explicar el origen de los tumores odontogénicos, una de las más aceptadas describe la participación de los restos invaginados en el periodonto o lámina propia gingival de la vaina epitelial del órgano del esmalte, llamados restos de Malassez que aunque no poseen ninguna función en la odontogénesis, son la fuente del origen del revestimiento epitelial de los quistes, por otra parte, los restos que deja la lámina dental, denominados restos de Serres, son también los que están relacionados con el desarrollo de algunos tumores odontogénicos en su presentación periférica.²⁰

5.3.1 Clasificación de la OMS

La OMS es el organismo encargado de realizar una clasificación de tumores incluyendo los odontogénicos. La actual clasificación divide a los tumores odontogénicos en benignos, inespecíficos y malignos, además de tomar en cuenta el tipo de tejido con el que interactúan, ya sea, epitelial, mesénquimal o mixto (**Tabla 1**).

Tumor odontogénico	ICD-O code
Fibroma ameloblástico	9330/0
Tumor odontogénico primordial	
Odontoma	9280/0
Odontoma, tipo compuesto	9281/0
Odontoma, tipo complejo	9282/0
Tumor dentinogénico de células fantasma	9302/0

Tabla 1. Fragmento de la clasificación de los tumores odontogénicos de la OMS del 2017.

5.3.2 Evolución de la clasificación

Durante el estudio de las neoplasias, múltiples investigaciones enfocadas en proponer y establecer un estándar internacional para la clasificación de tumores, han estado bajo la jurisdicción de la OMS desde 1952, pero la primera edición no fue publicada hasta después de 1967. El número cinco en la serie publicada en 1971, fue el primer intento de agregar un estándar internacional de la clasificación de tumores odontogénicos. La primera edición fue llamada *“tipo histológico de tumores odontogénicos, quistes mandibulares y lesiones halladas”* fue deliberadamente incluyente, con el fin de asegurar que todas las neoplasias y quistes odontogénicos estuvieran clasificados.²⁴ La segunda edición fue publicada en 1992 y mantenía este amplio alcance.²⁵ La tercera edición sería publicada en el 2005, la cual excluyó los quistes odontogénicos, pero incluyó los relacionados con tejido óseo o lesiones que asemejan un tumor (**Fig. 3**).²³

Existen marcadas diferencias entre la clasificación del año 2005 con la actual clasificación publicada en el año 2017. En el caso de los tumores odontogénicos mixtos se agrega una nueva entidad llamada “*tumor odontogénico primordial*” descrita en el 2014,²⁶ además, se eliminan cuatro lesiones las cuales estaban categorizadas como tumores odontogénicos mixtos en la edición anterior.²⁷ Entre ellas está el tumor odontogénico quístico calcificante, que ahora se designó como QOC y el odontoameloblastoma.²⁸ Mientras que el Odtm, TDCF y el FA no sufren grandes cambios (**Tabla 1**). Anteriormente al FA que presentaba dentina era designado como FDA y al que además de presentar dentina se observaba esmalte se le denominaba FOA; sin embargo, estas características eran del desarrollo de un Odtm y se eliminaron de la actual clasificación como entidades separadas, ahora los menciona como Odtm en desarrollo.^{28, 29} Aunque, existe una gran controversia entre si realmente son una fase inmadura de un Odtm o si son neoplasias verdaderas.

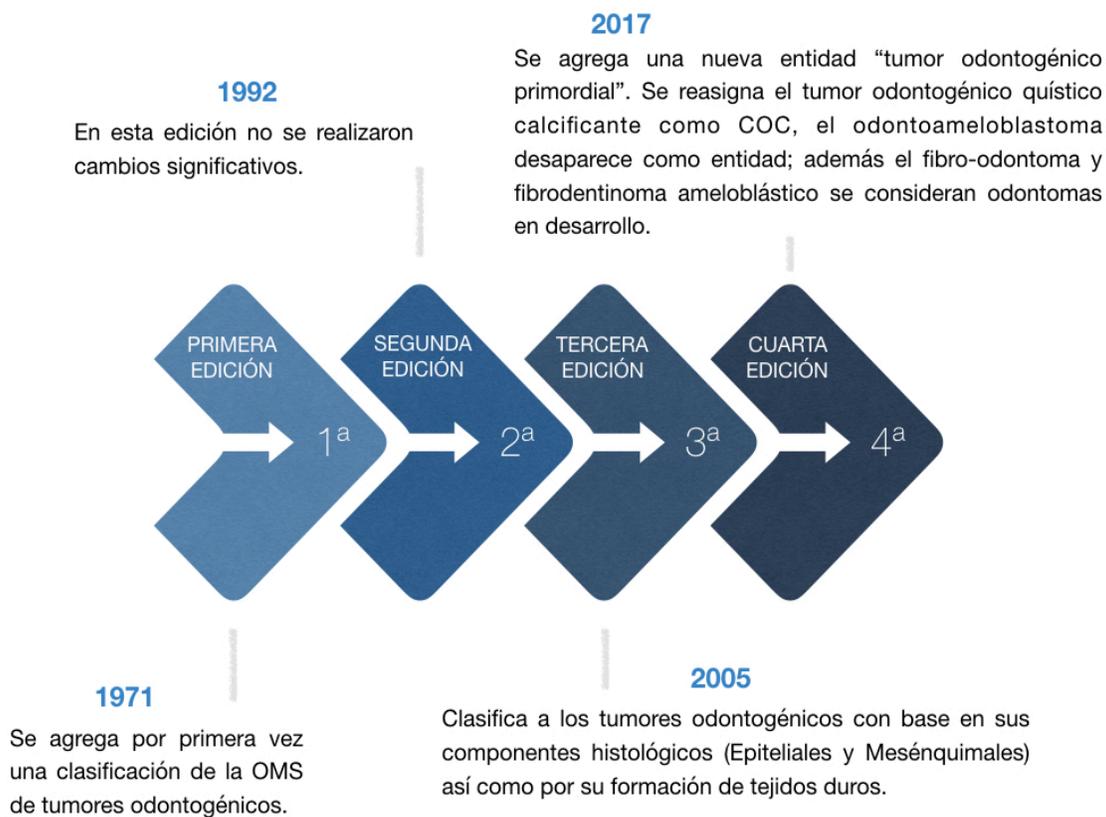


Figura 3. Esquema de la evolución de la clasificación de la OMS de 1971 a 2017.^{23, 24, 25, 28.}

5.4 Neoplasias odontogénicas mixtas

Los tumores odontogénicos mixtos representan un grupo de lesiones de los cuales, algunos son neoplasias y otros hamartomas.²⁹ Están compuestos de proliferación de epitelio odontogénico en un ectomesénquima celular que asemeja a la papila dental. Algunas de estas lesiones muestran varios grados de inducción por parte del epitelio sobre el mesénquima, llevando a la formación de varias cantidades de esmalte y dentina.³⁰

5.4.1 Fibroma ameloblástico

El FA es una neoplasia benigna poco frecuente considerada como un verdadero tumor mixto, compuesto de mesénquima odontogénico, que asemeja a la papila dental y tejido epitelial recordando al epitelio odontogénico, el cual no presenta tejidos dentales duros.²⁸ Por lo general, el FA se presenta clínicamente con un crecimiento lento y sin dolor. Con frecuencia se encuentra en las dos primeras décadas de la vida, con una ligera predilección masculina, en una proporción de 1.4:1.²⁸ El hallazgo de esta lesión, al igual que algunos tumores odontogénicos es por un examen radiográfico de rutina. Más del 80% de los casos se han presentado en zona posterior de la mandíbula.^{31, 32, 28} Radiográficamente, muestra una lesión radiolúcida multilocular o unilocular bien definida asociada a un diente impactado. **(Fig. 4)**



Figura 4. Ortopantomografía. Lesión multilocular radiolúcida asociada a un segundo molar de la primera dentición. Fuente: Buchner A. Ameloblastic fibroma: A stage in the development of a hamartomatous odontoma or a true neoplasm?.³¹

Histológicamente, el componente mesénquimal es mixoide y rico en células, que asemejan a la papila dental de un brote dental. El componente epitelial puede mostrar un patrón de hebras estrechas y elongadas de dos capas estrechas y paralelas de células cuboidales o columnares. Hacia los bordes, hay engrosamientos ocasionales con zonas que asemejan al retículo estrellado, notables entre las células cuboidales periféricas (**Fig. 5**). El componente epitelial también puede mostrar un patrón, que se asemeja a la etapa folicular del órgano del esmalte.^{28, 33}

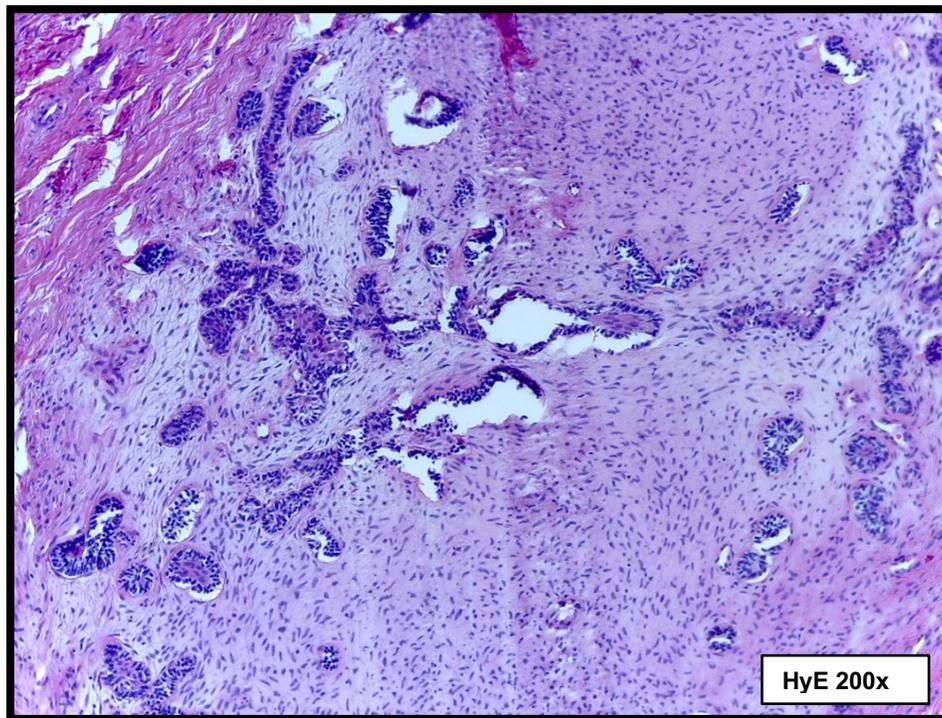


Figura 5. Fotomicrografía con HyE de FA donde se observa proliferación de tejido conjuntivo embrionario, así como nidos y cordones de epitelio ameloblástico. Fuente directa.

Genéticamente se ha reportado mutaciones BRAFV600E y baja frecuencia de pérdida alélica fraccional de locus del gen supresor tumoral en el fibroma ameloblastico.²⁸

5.4.2 Tumor odontogénico primordial

El TOP es una neoplasia compuesta por tejido conjuntivo mixoide, rodeado por un epitelio odontogénico cúbico-columnar que recuerda al epitelio interno del órgano del esmalte, el tumor se encuentra delimitado por una delgada cápsula fibrosa.²⁶

La mayoría de los casos son asintomáticos, pero en algunos puede causar expansión cortical con desplazamiento y resorción radicular o del diente adyacente. Actualmente, en la literatura se cuenta con un registro de poco menos de 18 casos, en los cuales se reporta una media de edad de 13 años (rango de 3-19 años) sin predilección de género. El TOP se manifiesta como una lesión intraósea y se localiza con mayor frecuencia en la mandíbula que en la maxila con una proporción de 6:1.^{28, 33}

Radiográficamente se encuentra como una lesión radiolúcida bien delimitada rodeando la corona de un diente no erupcionado, por lo general a un tercer molar impactado, o asociado a un quiste dentigero (**Fig. 6**).^{33, 34}

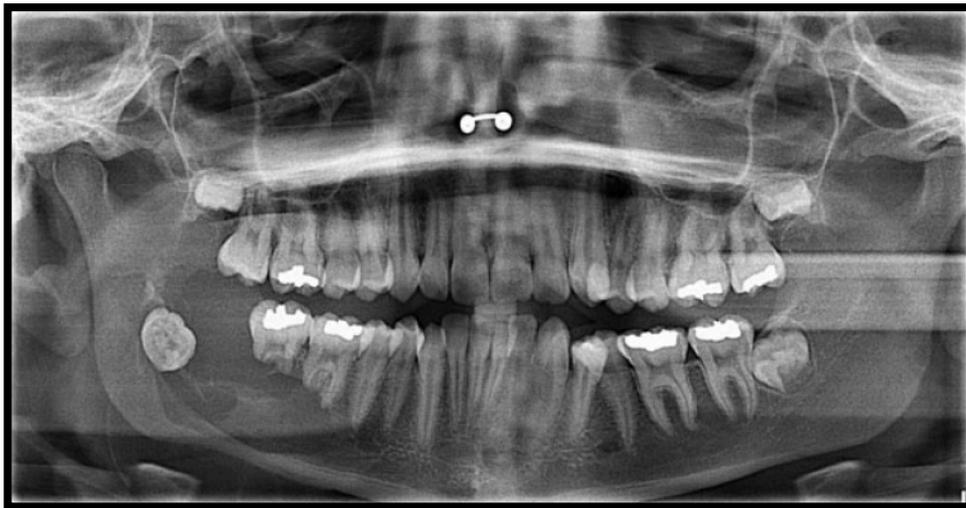


Figura 6. Ortopantomografía. Lesión bien delimitada, multilocular, radiolúcida en zona mandibular posterior derecha asociada al tercer molar con resorción ósea adyacente al primer y segundo molar. Fuente: Almazayad A. Primordial odontogenic tumour: report of two cases.³⁴

Histológicamente se observa proliferación de células ahusadas y con aspecto estrellado en un estroma mixoide recordando a la papila dental y similar al componente ectomesénquimal de un FA. Está rodeado por epitelio cuboidal o columnar, con polarización nuclear invertida similar al epitelio interno del esmalte.³⁴ Aunque, no existe evidencia de diferenciación odontoblástica o formación de dentina, Mikami y cols. observaron la presencia de material calcificado³⁵, Almazyad y cols. reportan dos casos que exhibe estructuras parecidas a un germen dental con áreas que semejan un tumor odontogénico adenomatoide; es decir, células claras formando estructuras tipo roseta y depósito focal de la proteína amiloide.³⁴

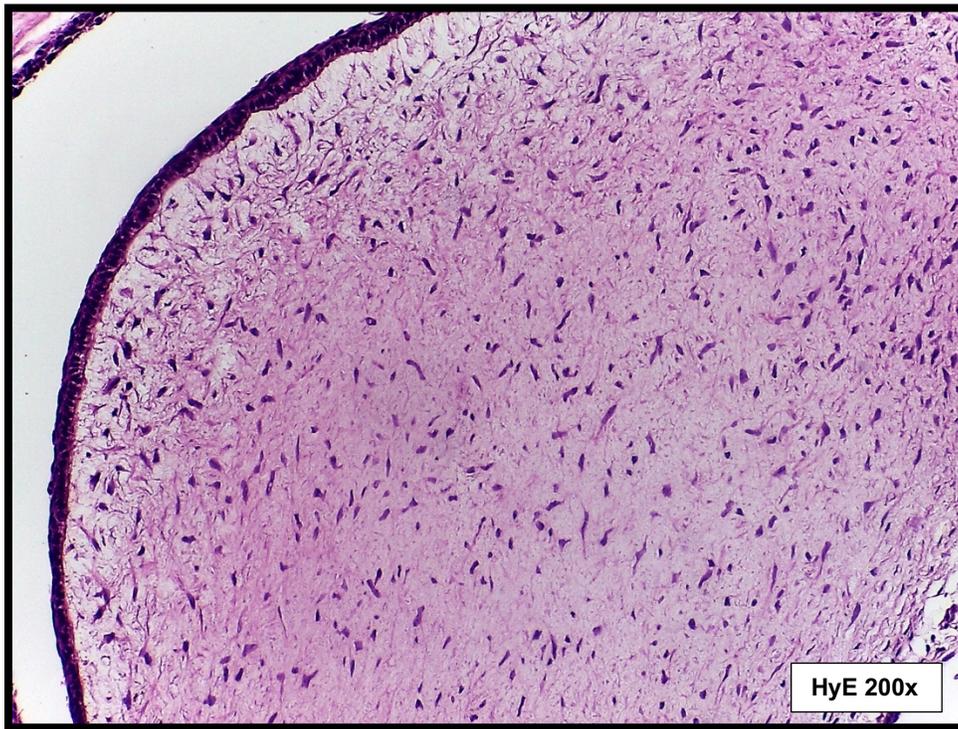


Figura 7. Fotomicrografía teñida con HyE de TOP donde se observa epitelio cilíndrico recubriendo a una proliferación sólida de tejido ectomesenquimal. Fuente directa.

Inmunohistoquímicamente, se reporta positivo en el epitelio para CK14, CK19 y amelogenina.^{18, 36} En los tejidos epitelial y mesénquimal fue positivo para MOC-31, vimentina, syndecan-1, CD138 y PITX2.^{37,38} Así como, para CD34 dentro de las células de la capa transicional.^{35, 18}

5.4.3 Tumor dentinogénico de células fantasma

El tumor dentinogénico de células fantasma (TDCF) es una neoplasia benigna, pero localmente infiltrante neoplasia de epitelio odontogénico. Esta caracterizado por epitelio odontogénico ameloblástico en un estroma de tejido conjuntivo maduro con queratinización aberrante en forma de células fantasmas entremezcladas con áreas de matriz dentinoide y/o dentina displásica.³⁹ Su localización habitual es intraósea, en la parte posterior de la maxila y mandíbula, con una ligera predilección por la mandíbula. Algunos casos reportan una localización periférica en la mucosa alveolar y encía. El TDCF es dos veces más común en hombres que en mujeres con un pico de incidencia en pacientes de 40 a 60 años, teniendo un rango de 11-79 años.²⁸

Radiográficamente muestra una lesión unilocular o en pocas ocasiones multilocular radiolúcida a mixta dependiendo de los cúmulos calcificados con bordes bien definidos en la mayoría de los casos; además, se ha reportado asociado a un Odtm (**Fig. 8**).^{28, 33, 40}



Figura 8. Ortopantomografía. Lesión mixta (radiopaca/radiolúcida) circunscrita de bordes bien definidos en zona mandibular posterior izquierda asociada al tercer molar. Fuente: Wright, J. ODONTOGENIC TUMORS. WHERE ARE WE IN 2017?.³³

En los hallazgos microscópicos, esta neoplasia presenta epitelio odontogénico con áreas que asemejan al ameloblastoma. Ambas lesiones, la intraósea y periférica, muestran características similares. La principal característica es la presencia de islas y cordones con proyecciones en forma de yemas y, la transformación de células epiteliales a células fantasma debido a una queratinización aberrante. Algunas células fantasmas en el camino de calcificación están asociadas a dentina displásica o material osteodentinoide, con diferentes grados de mineralización.^{28, 33}

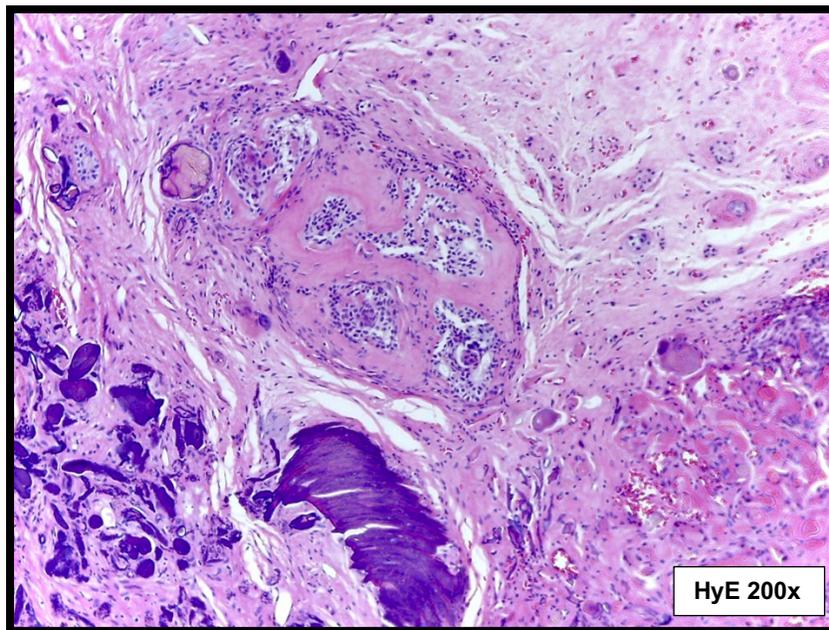


Figura 9. Fotomicrografía teñida con HyE de TDCF donde se observa epitelio odontogénico con presencia de tejido dentinoide y células fantasma. Fuente directa.

Las células epiteliales del TDCF son difusamente positivas a AE1/AE3, CK5, CK14.^{28, 41} El CK19 se expresa focalmente en las áreas tipo retículo estrellado y, en las áreas adyacentes a las células fantasma.⁴¹ Las áreas de las estructuras con formaciones ductales fueron focalmente positivas para CK7.⁴² El índice de proliferación para Ki67 es < 5%.²⁸ Rumayor y cols.⁴¹ y, Gomes da Silva y cols.⁴³ han descrito que la expresión de CK's y CD138 es negativo en las células fantasma; sin embargo, se ha encontrado expresión de β -catenina en la membrana de las células epiteliales de las proliferaciones pseudoglandulares y ameloblastosas.⁴⁴

5.5 Odontomas maduros

Los Odtm son los tumores odontogénicos más comunes, excediendo la frecuencia de todos los tumores odontogénicos combinados. Los Odtm son considerados anomalías del desarrollo (hamartomas), más que neoplasias verdaderas.^{28, 30} Los Odtm maduros consisten principalmente de esmalte y dentina, con cúmulos de pulpa y cemento radicular. Se subdividen en OdtmCto y OdtmCjo. Los Odtm se presentan en la primer y segunda década de la vida sin preferencia de género, siendo hallazgos radiográficos en estudios de rutina tomados por retardo en la erupción dental o en aumentos de volumen.^{28, 30}

5.5.1 Odontoma compuesto

El OdtmCto es una entidad que presenta los tejidos duros y blandos dentales maduros distribuidos en una relación anatómica, formando pequeñas estructuras con aspecto a un diente llamados “*dentículos*”.⁴⁵

5.5.2 Características clínicas

Generalmente el OdtmCto es asintomático, aunque puede llegar a convertirse en una inflamación secundaria debido a un trauma o erupción, además puede causar impactación dental, malposición, diastema, malformación y desvitalización a los dientes adyacentes. Se localiza principalmente en el sector anterior de la maxila.¹⁵

5.5.3 Características radiográficas

Por lo general, se encuentran con mayor frecuencia en el sector anterior de la maxila típicamente entre las raíces o sobre la corona de un diente impactado, presentándose como una radiopacidad debido a un acumulo de estructuras llamadas dentículos por el parecido a dientes rodeadas por una zona radiolúcida (**Fig. 10**).^{45, 46}



Figura 10. Ortopantomografía. Lesión radiopaca con apariencia de denticulos en zona maxilar anterior izquierda desplazando el canino hacia el piso de las fosas nasales. Fuente: Hwang, L. Autotransplantation of Odontoma-Associated Impacted Teeth—A Treatment Strategy for Satisfying Immediate Esthetic Demands: A Case Report.⁴⁶

5.5.4 Características histológicas

En el OdtmCto se observa dentina, cemento, matriz de esmalte y pulpa, altamente organizado formando denticulos. Además, casi siempre está presente una capa de tejido conectivo fibroso (**Fig. 11**).²⁸

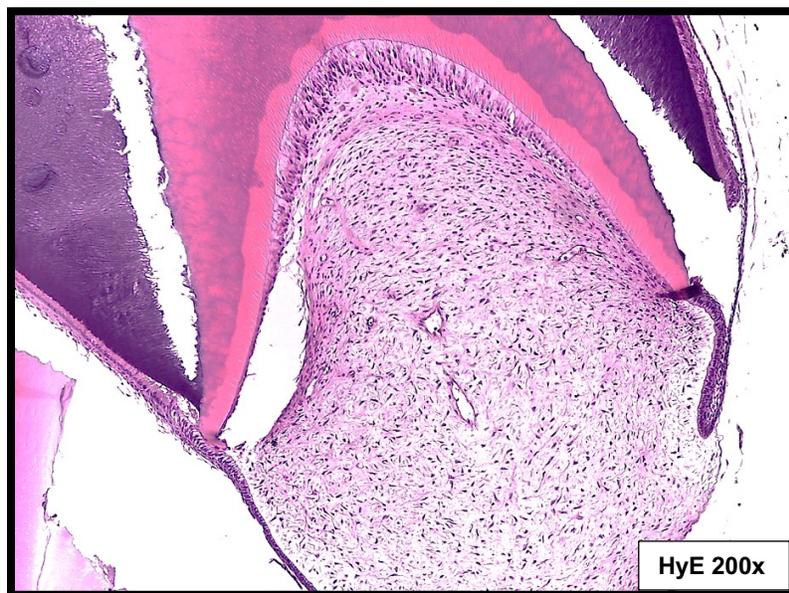


Figura 11. Fotomicrografía teñida con HyE de un odontoma maduro (OdtmCto) donde se observa matriz de esmalte, dentina, epitelio odontogénico y ectomesénquima altamente organizado recordando la formación de un diente. Fuente directa.

5.5.5 Hallazgos genéticos y moleculares

Se han realizado pocos estudios moleculares en el OdtmCto como es el estudio de las proteínas morfogenéticas óseas, con positividad en los gérmenes dentales con reacción intensa en el epitelio odontogénico, mientras que en la predentina y los odontoblastos mostraron una reacción moderada, así como, la matriz de tejido fibroso alrededor de los dentículos mostró una reacción positiva.⁴⁷

5.5.6 Odontoma complejo

El OdtmCjo a diferencia del OdtmCto es una lesión desorganizada sin anatomía dental de estructuras duras y blandas de los tejidos del diente, formando calcificaciones amórficas, con dentina displásica cubierta por esmalte.^{23, 28}

5.5.7 Características clínicas

Al igual que el OdtmCto se presenta como una lesión asintomática, a menos que se llegue a complicar. Con frecuencia se observa en la parte posterior de la mandíbula, aunque se ha llegado a reportar localizado en múltiples sitios. Puede alcanzar un diámetro menor a 1cm hasta 6 cm, llegando a producir expansión de las corticales.²⁸

5.5.8 Características radiográficas

Se presenta como un área homogénea radiopaca que corresponde tejido calcificado, en algunos casos rodeada por una capa delgada de tejido capsular. Con frecuencia este asociado a un diente impactado o sin erupcionar (**Fig.12**).^{28,}

45, 33



Figura 12. Radiografía panorámica. Lesión bien delimitada, radiopaca en zona mandibular posterior derecha asociada a la corona del segundo molar. Fuente: Wright, J. ODONTOGENIC TUMORS. WHERE ARE WE IN 2017?.³³

5.5.9 Características histológicas

Los hallazgos microscópicos comprenden dentina tubular que encierra zonas de matriz de esmalte; epitelio reducido del esmalte, ocasionalmente se observan células fantasma dispersas que pueden rodear hendiduras o estructuras circulares huecas que representan el esmalte maduro que fue eliminado durante el proceso de desmineralización. En la periferia se puede llegar a observar una fina capa de cemento (**Fig.13**).²⁸

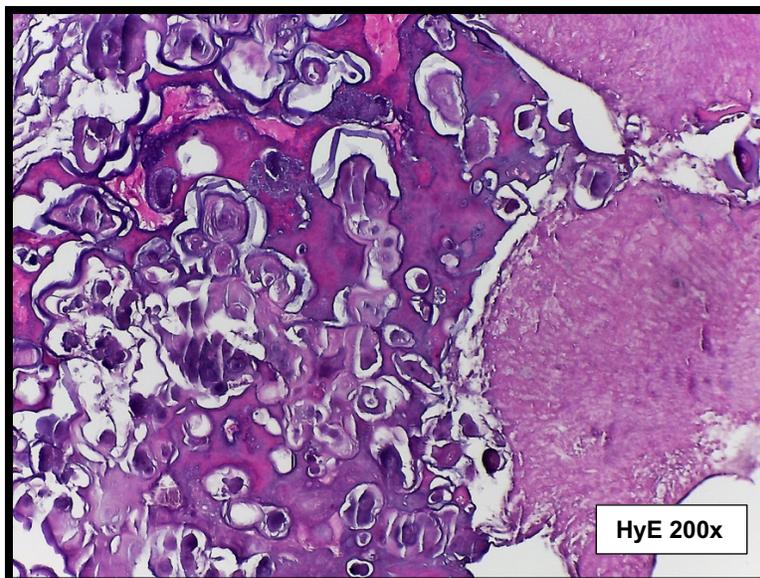


Figura 13. Fotomicrografía teñida con HyE de odontoma maduro (OdtmCjo) donde se observan agregados adamantinomatosos. Fuente directa.

5.5.10 Hallazgos genéticos y moleculares

Encontramos hallazgos similares al OdtmCto, debido a que algunos de estos estudios no separan a esta entidad en subtipos. Se ha reportado positividad para varias proteínas que son expresadas durante la formación de esmalte, como la ameloblastina, la cual es positiva en la interface entre la superficie de los ameloblastos secretores y la matriz de esmalte. También se encontró positividad para amelotenia en el límite de la matriz de esmalte y otras estructuras calcificadas, así como, en ameloblastos secretores. Además, de una fuerte reacción para amelogenina dentro de la matriz de esmalte en la formación de la superficie del esmalte y calcificaciones relacionadas al Odtm.⁴⁸

5.6 Odontomas en desarrollo

El FA y el FOA se consideraban entidades separadas en la 3ª clasificación de la OMS para tumores odontogénicos del 2005. Actualmente, en la 4ª clasificación de la OMS para tumores odontogénicos del 2017 se reconocen como Odtm en desarrollo.^{28, 49}

5.6.1 Fibroentinoma ameloblástico/Fibro-odontoma ameloblástico

El FDA es una neoplasia de ectomesénquima odontogénico que asemeja a la papila dental con hebras y nidos recordando la lámina dental del órgano del esmalte con presencia de formación de dentina. El FOA es una neoplasia con características histológicas similares al FDA con la única diferencia que presenta matriz de esmalte.²³

5.6.2 Características clínicas

El FDA y FOA son neoplasias muy poco comunes, compone alrededor del 1% al 3% de todos los tumores odontogénicos. El FDA tiene una frecuencia mayor en

hombres que en mujeres en una proporción cercana al 2:1 a diferencia del FOA que presenta una ligera predilección masculina que femenina en una proporción de 1.3:1. El FDA se presenta en las dos primeras décadas de la vida, mientras que el FOA oscila entre los 8-12 años de edad, ambos se localizan con mayor frecuencia en la parte posterior de la mandíbula. En el FDA aproximadamente el 30% de las lesiones muestran signos de perforación cortical. Las recurrencias son raras, pero cuando existen se transforma en un fibrosarcoma ameboblástico. Por lo general es asintomático detectándose como hallazgo en un diente retenido.^{23, 32}

5.6.3 Características radiográficas

Radiográficamente el FDA muestra áreas con radiopacidades de apariencia unilocular asociada a un diente, cerca del 20% causan resorción radicular al diente adyacente, que en la mayoría de los casos es un diente deciduo. A diferencia del FDA; el FOA exhibe una lesión radiolúcida bien circunscrita unilocular o multilocular con varios niveles de radiopacidad dependiendo de lo extenso de la mineralización (**Fig.14**).^{23, 30, 32}



Figura 14. Ortopantomografía. Lesión unilocular radiolúcida en zona mandibular posterior izquierda que desplaza al germen del tercer molar con presencia de radiopacidades debido al material mineralizado. Fuente: Neville, B. Oral and maxillofacial pathology.³⁰

5.6.4 Características histológicas

El componente epitelial consiste en ramificaciones que se anastomosan formando una serie de nudos de distinto tamaño, a la periferia se encuentran células columnares similares al epitelio interno del esmalte que recubre a un epitelio idéntico al retículo estrellado. Las bandas epiteliales descansan sobre un estroma mixoide rico en células con fibroblastos en forma estelar con prolongaciones citoplasmáticas largas y delgadas recordando la papila dental.

Su histomorfología es similar a la del FA con la notable diferencia de la formación de dentina displásica. El FOA es similar en composición al FDA con la única diferencia que además de presentar material dentinoide, también presenta matriz de esmalte, estos componentes varían en proporción (**Fig. 15**).²³

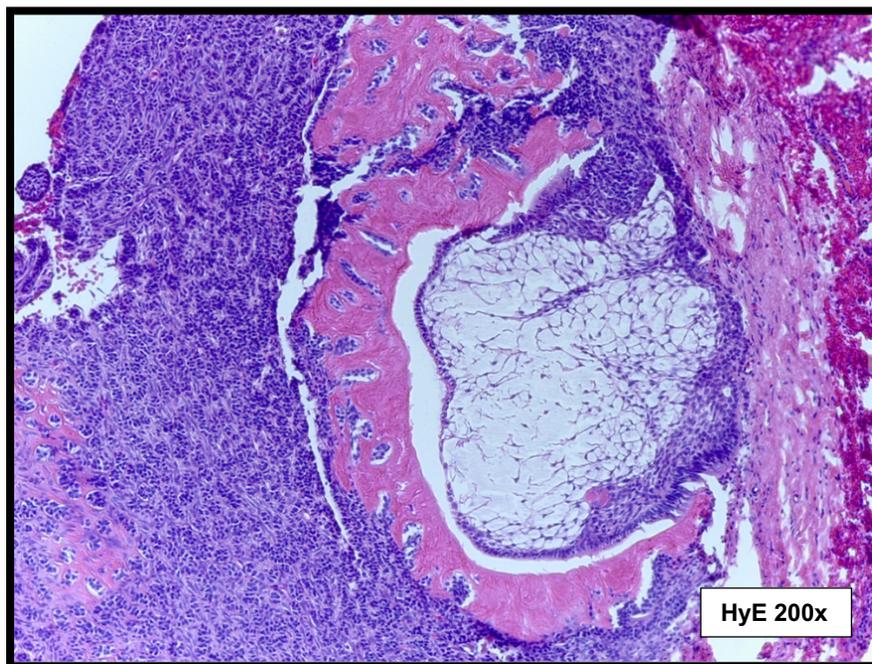


Figura 15. Fotomicrografía de odontoma en desarrollo (FDA) donde se observa epitelio ameloblástico que recuerda al órgano del esmalte, entremezclado con tejido conjuntivo que recuerda a la papila dental, así mismo la presencia de matriz eosinófila (dentinoide). Fuente directa.

5.6.5 Hallazgos genéticos y moleculares

Presenta positividad para amelogenina, β -catenina y CD44 en la superficie celular y nuclear del epitelio del esmalte y en la matriz calcificada.⁵⁰ En otros estudios se reporta positivo para AE1/AE3, CK5, CK14 y CK19 en los cordones y nidos de epitelio odontogénico. También presenta positividad para E-cadherina en la membrana de la capa basal ameloblástica.⁵¹ El epitelio del retículo estrellado muestra fuerte positividad para CD138. La actina de músculo liso se expresa focalmente en el citoplasma de algunas células epiteliales de la capa basal. El marcador P63 presenta positividad en el núcleo de la mayoría de células epiteliales, Ki67 es positivo en un 1% en las células estromales y epiteliales, además de una intensa positividad para S-100 en algunas de las células con morfología dendrítica localizadas en los cordones e islas de epitelio odontogénico.⁵¹

5.7 Progresión tumoral

La progresión tumoral se considera un proceso dinámico en el cual las células presentan una serie de alteraciones genéticas y fenotípicas que implica su replicación rápida para la conservación o promoción del tumor, algunos autores han descrito moléculas que interactúan en este proceso intentando explicar la función de células neoplásicas troncales o llamadas también células madre cancerígenas, sin embargo, no solo las neoplasias malignas experimentan este proceso, la progresión del tumor esta dictada por un la regulación de genes, la evasión de los puntos de restricción del ciclo celular y otros factores promotores dentro del microambiente tumoral.⁵²

Estudios recientes han demostrado que la sobreexpresión del gen SOX-2 juega un rol importante en la formación y progresión tumoral, así mismo, el papel que toma en progresión tumoral ha dado avance a desarrollar herramientas novedosas dirigidas a una terapia efectiva contra el cáncer.⁵³

Desde el punto de vista genético, la progresión tumoral es el resultado de la acumulación de sucesivas mutaciones. Los tumores “*evolucionan*” además genéticamente hacia una supervivencia darwiniana de los más aptos, porque las células neoplásicas compiten ante lo limitado de los recursos metabólicos, y las células defectuosas mueren por apoptosis. Así, los tumores se tornan progresivamente más agresivos.⁵²

En la odontogénesis existen diversos señalizadores que interactúan en la citodiferenciación, algunos de esos señalizadores son las proteínas morfogénicas óseas (BMPs *del inglés Bone Morphogenetic Proteins*) como la BMP-4 que interviene en la expresión de los genes Msx-1 y Msx-2, estos determinan el patrón microscópico del órgano dental por medio de la regulación de diversas moléculas de la superficie celular y matriz extracelular; los factores de crecimiento fibroblásticos (FGFs *del inglés Fibroblast Growth Factor*) que se encarga de regular la morfogénesis epitelial y el desarrollo del mesénquima estimulando la proliferación celular; las proteínas Hedgehog (Shh *del inglés Sonic Hedgehog*) las cuales determinan la forma del diente y regulan su crecimiento; por ultimo las proteínas Wnt regulan la proliferación, migración y citodiferenciación.²⁰

5.8 Ciclo celular

La proliferación celular es un proceso fundamental para el desarrollo y mantenimiento de tejidos, así como para la reposición de células muertas o dañadas. Los elementos principales de la proliferación del ciclo celular son los siguientes:

- I. Replicación precisa del ADN
- II. Síntesis coordinada de los demás constituyentes celulares
- III. Distribución equitativa del ADN y otros elementos celulares a las células hijas.⁵²

El ciclo celular pasa por las siguientes fases:

- G1 (crecimiento presintético).
- S (síntesis de ADN).
- G2 (crecimiento premitosis).
- M (mitosis).

Cada fase requiere la terminación de la anterior, así como la activación de los factores necesarios. La falta de fidelidad en la replicación del ADN o la carencia de cofactores inducen la inactivación del ciclo en uno de los puntos de transición.

El ciclo celular es regulado por activadores e inhibidores y su progresión es dirigida por los siguientes elementos:

- Proteínas llamadas ciclinas, por la naturaleza cíclica de su producción y su degradación.
- Enzimas asociadas a ciclinas, denominadas cinasas dependientes de ciclinas (CDK *del inglés Cyclin Dependent Kinase*). Las CDK adquieren actividad de cinasa, formando complejos con las correspondientes ciclinas. Cuando la CDK completa su ronda de fosforilación, la ciclina asociada se degrada y la actividad de la CDK remite. Así, según las concentraciones de ciclinas aumentan o disminuyen, lo propio sucede con las CDK.⁵²

Durante el ciclo celular, los mecanismos de vigilancia valoran el daño del ADN. Estos controles de calidad actúan en unos puntos de control que aseguran que las células con defectos genéticos no completen su replicación (**Fig. 16**).

- El punto de control G1/S evalúa la integridad del ADN antes de asignar de manera irreversible recursos celulares a la replicación del ADN.

- El punto de restricción G2/M garantiza que se ha producido una replicación genética adecuada antes de que la célula se divida realmente.

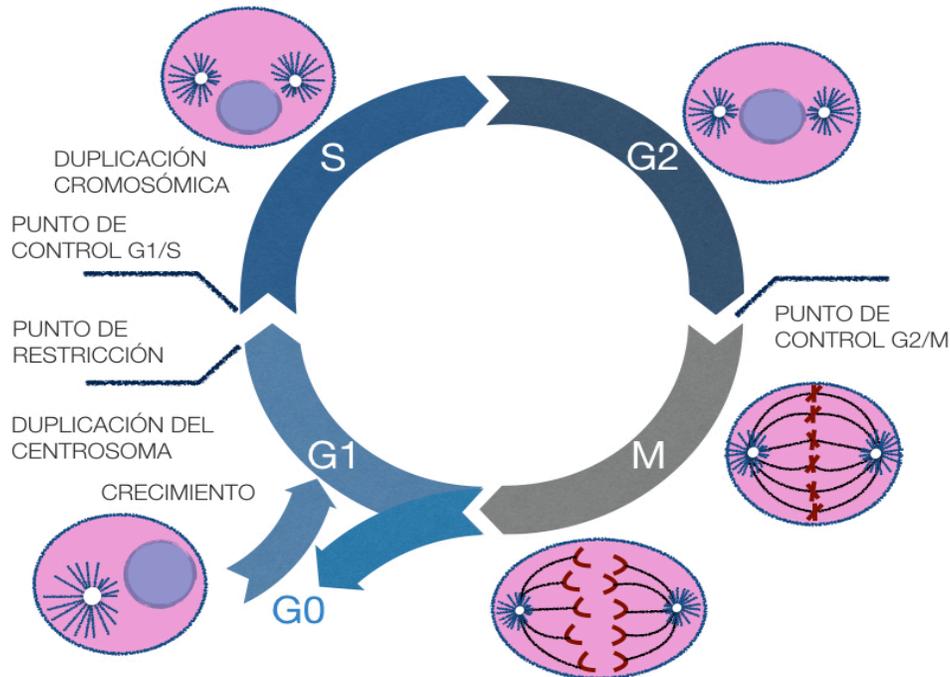


Figura 16. Esquema del ciclo celular, Modificado de Kumar, V. Robbins basic pathology.⁵²

Cuando las células detectan imperfecciones del ADN, la activación de los puntos de control retrasa la progresión del ciclo y activa los mecanismos de reparación del ADN. Si la alteración genética es demasiado grave para ser reparada, las células son inducidas a la apoptosis. Alternativamente, las células entran en un estado no replicativo llamado senescencia, sobre todo a través de mecanismos dependientes de p53.⁵²

El refuerzo de los puntos de control del ciclo celular es misión de los inhibidores de CDK (CDK1), mediante modulación de la actividad del complejo CDK-ciclina. Las proteínas de control de CDK1 defectuosas permiten que las células con ADN dañado se dividan generándose células hijas mutadas que pueden dar origen a tumores malignos (**Fig. 17**).⁵²

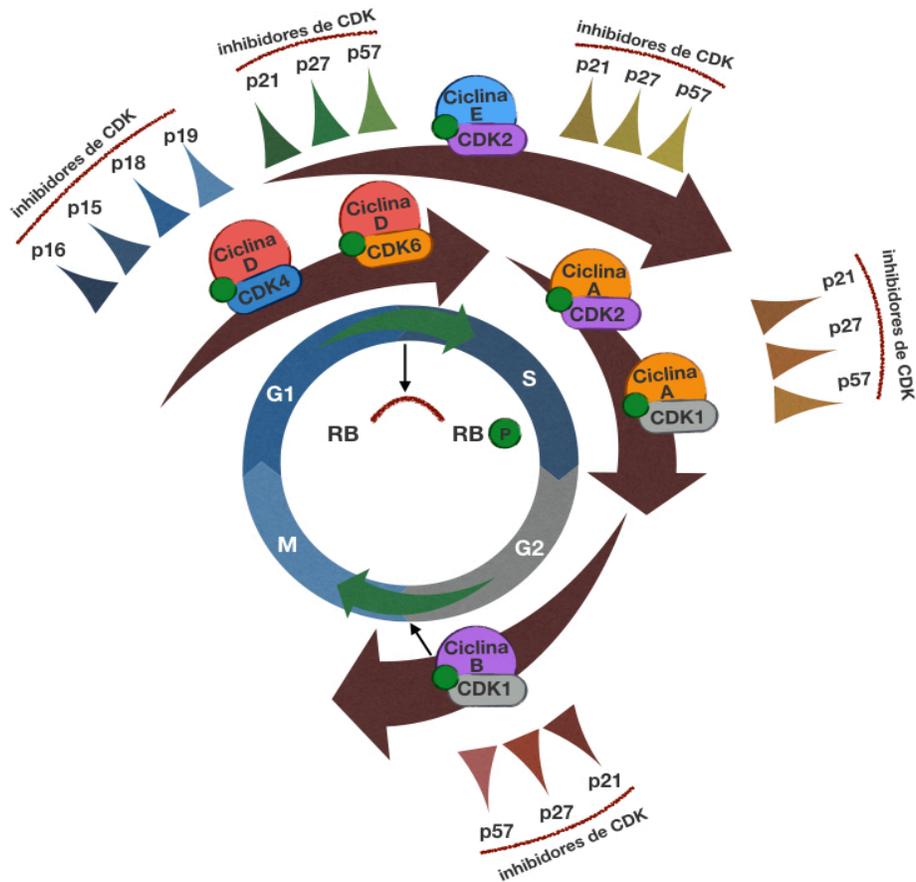


Figura 17. Esquema de los factores reguladores del ciclo celular, Modificado de Kumar, V. Robbins basic pathology.⁵²

5.8.1 SOX-2

SOX-2 es un determinante de la región sexual Y miembro de la familia SRY derivado del HMG box 2, el cual es un factor de transcripción expresado en células pluripotenciales embrionarias y en adultos. Ejerce funciones clave en el mantenimiento de células pluripotentes y es uno de los factores usado en reprogramación inducida de células pluripotentes.⁵⁴

En las últimas dos décadas, 20 genes de la familia SOX han sido definidos y clasificados dentro de grupos, dependiendo de su proteína específica. Esta la familia SOX-B1 (SOX-1, SOX-2 y SOX-3), SOX-B2 (SOX-14 y SOX-21) y SOX-C (SOX-4, SOX-11 y SOX-12).

La familia de SOX-B1 se localiza en el cromosoma 3q26.3-q27 y codifica una proteína compuesta por 317 aminoácidos. SOX-2 está conformado por tres dominios principales: N-terminal, HMG y dominio transactivación.⁵⁵

Diversos estudios han probado la amplificación y sobreexpresión de SOX-2 en varios tumores malignos, esto incluye pulmones, mama, células esofágicas, células escamosas, colon, ovario, glioblastoma, próstata, cáncer pancreático, cáncer gástrico, carcinoma ameloblástico, tumor testicular de células germinales.⁵⁶

Una serie de estudios muestran que la sobreexpresión de SOX-2 en células cancerosas mostraron un mayor resultado perjudicial, dando lugar a una baja tasa de supervivencia.⁵³ En un estudio realizado para determinar si el gen SOX-2 está expresado en el desarrollo de los dientes humanos, se encontró expresado en el cordón de la lámina dental, en la lámina dental y en la lámina vestibular, la cual dará origen al diente permanente.⁵⁶

El gen SOX-2 es la llave en el mantenimiento de las células troncales cancerígenas, presentes en tumores como el glioblastoma en adultos, donde se bloqueó el gen SOX-2 y de ese modo se inhibió la proliferación, indicando el papel fundamental del gen en el mantenimiento de la capacidad de auto renovación de células troncales cancerígenas, así mismo, puede contribuir como una terapia ideal contra el glioblastoma. Además de todo lo descrito, SOX-2 está asociado a la proliferación y crecimiento; invasión y migración celular; mantenimiento de progresión tumoral; apoptosis y quimioresistencia; metástasis y carcinogénesis.⁵³

5.8.2 BCL-2

Bcl-2 es miembro de la familia de proteínas Bcl, el cual fue ubicado en el cromosoma 18q21.33 como parte de la translocación cromosomal t (14;18) en pacientes con linfoma folicular y linfoma difuso de células B. Actualmente, más de 20 miembros de la familia de la proteína Bcl-2 han sido identificados basados en

las regiones homólogas de Bcl-2.^{57, 58} La estructura terciaria de la proteína anti-apoptósica Bcl-2 contiene dos alfa-hélices hidrofóbicas y seis o siete alfa-hélices anfipáticas.⁵⁹ El gen de la familia Bcl-2 codifica más de 20 proteínas que regulan la vía intrínseca de la apoptosis, siendo fundamental en el balance entre la supervivencia celular o su muerte.

La desregulación de Bcl-2 trae como resultado su sobreexpresión, lo cual altera el balance entre los miembros pro-apoptosicos y anti-apoptosicos de la familia Bcl-2. El resultado en la inhibición de la apoptosis lleva consigo a la quimioresistencia y se identifica en varios procesos neoplásicos en su mayoría malignos, como en la leucemia linfocítica, leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloide aguda, síndrome mielodisplásico, neoplasias mieloproliferativas, cáncer de mama, cáncer de pulmón, melanoma y mesotelioma.⁵⁹

5.8.3 P53

La proteína p53 está compuesta de 393 aminoácidos, con cuatro dominios funcionales: i) transcripcional, ii) unión al DNA, iii) tetramerización y iv) dominio regulador. La proteína consiste de cinco regiones conservadas (I, II, III, IV y V) y una estructura de lazo helicoidal (L, S, H) formando regiones.⁶⁰

La proteína p53 evita la división de células con alteraciones genéticas, en más de 50% de los cánceres existen mutaciones con pérdida de función en p53; los pacientes con solo una copia funcional de p53 presentan el síndrome de Li-Fraumeni, el cual se caracteriza por estar expuestos a un riesgo 25 veces mayor de neoplasias malignas (leucemias, sarcomas, cáncer de mama y tumores cerebrales), por la inactivación del alelo normal en las células somáticas. Igual que la proteína Rb, p53 también puede ser funcionalmente desactivado por productos de virus ADN oncógenos.⁶¹

El mal funcionamiento de la vía de p53 es distintivo de tumores humanos: 50% de tumores albergan mutaciones en el gen p53 y 80% tiene disfunción en señalizaciones de p53. En humanos se ha localizado a p53 en el cromosoma 17, el cual se ha conservado a través de los periodos evolutivos.⁶²

Cuando las células están sometidas a estrés por daño de ADN, p53 sufre fosforilación postraducciona, liberándose de una proteína MDM2, que normalmente la dirige para su degradación; p53 actúa entonces como un factor de transcripción para genes adicionales (microARN) que detienen el ciclo celular y promueven la reparación del ADN; por ejemplo, en la fase G1 está mediado en gran medida por la transcripción, dependiente de p53, del inhibidor p21 de CDK.

Si el ADN puede ser reparado durante la restricción del ciclo celular, la transcripción de MDM2 aumenta y p53 es posteriormente degradada, lo cual permite que la célula avance hacia la fase S, pero si el daño del ADN no puede ser reparado, p53 induce senescencia celular mediante alteración de las vías de señalización de E2F o genera apoptosis aumentando de la transcripción de genes proapoptóticos.⁵²

El estado de p53 en un tumor tiene importantes implicaciones terapéuticas debido a que la quimioterapia y la radioterapia ejercen sus efectos induciendo daño al ADN y provoca apoptosis impulsada por p53. Al perder su capacidad para dirigir la reparación del ADN o la muerte celular, la proteína p53 defectuosa hace que las células se hagan relativamente resistentes a los tratamientos y favorece un fenotipo mutado promoviendo la acumulación rápida de mutaciones adicionales.⁵²

5.8.4 Ciclina D1

La transición a través del ciclo celular es manejada por las ciclinas y cinasas dependientes de ciclinas (CDKs).⁶³ La familia de ciclinas comparten una N-terminal

homóloga de 100 aminoácidos motivo por el cual se refiere que las ciclinas tienen una alta conservación de estructura tridimensional y proporciona la unión de interface para la apropiada CDK.⁶⁴ Las CDKs define la pareja de cinasas que solo puede activarse cuando se une a su conjugada ciclina. Debido a su importancia biológica, la actividad CDK es rigurosamente regulada por los siguientes mecanismos: Los niveles de las parejas ciclina, estado de fosforilación y abundancia de proteínas inhibidoras de CDK.⁶⁵

La ciclina D, incluye las ciclinas D1, D2 y D3, la forma activa compleja con cualquiera de CDK4 o CDK6, los cuales, a su vez, fosforilan la proteína de retinoblastoma y conducen de la fase G1 a S. La ciclina D1 coordina la progresión del ciclo celular con la estimulación extracelular. Dado al papel que juega en la mediación extracelular y proliferación celular.⁶⁶ El gen de ciclina D1 se localiza en el cromosoma 11q13, siendo un regulador positivo del ciclo celular; la sobreexpresión de la ciclina D1 esta reportado neoplasias malignas asociado a su mal pronóstico en el esófago, ovario, mama, útero, colon, pulmón, próstata, tejido linfoide, así como en cabeza y cuello.^{67,68}

6. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las técnicas de biología molecular nos han permitido estudiar factores involucrados en la progresión tumoral, sin embargo, aún siguen siendo poco claros los procesos en el desarrollo de las neoplasias odontogénicas.

Los Odtm maduros se consideran neoplasias autolimitantes con bajo potencial de progresión y nula capacidad de infiltración, no obstante, este no es el caso de los ahora Odtm en desarrollo. Existen reportes de su agresividad, recurrencia e inclusive transformación maligna, por lo que es necesario determinar con precisión cual es el factor que condiciona su comportamiento biológico.

7. JUSTIFICACIÓN

Los tumores odontogénicos mixtos benignos son un grupo complejo de neoplasias donde a pesar de la similitud morfológica, presentan diferencia en su conducta biológica. Debido a esto es necesario determinar su potencial de proliferación en ambas entidades para así esclarecer si son hamartomas o verdaderas neoplasias, especialmente en el caso de los Odtm en desarrollo, ya que existe actualmente corrientes que establecen a estas neoplasias como parte del espectro de Odtm.

8. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la expresión inmunohistoquímica de los biomarcadores SOX-2, BCL-2, P53 y Ciclina D1 en Odtm maduros y en desarrollo?

9. HIPÓTESIS

Hº La expresión inmunohistoquímica de SOX-2, BCL-2, P53 y Ciclina D1 será mayor en odontomas en desarrollo en comparación a los odontomas maduros (compuesto y complejo).

H Nula La expresión inmunohistoquímica de SOX-2, BCL-2, P53 y Ciclina D1 será igual en odontomas en desarrollo en comparación a los odontomas maduros (compuesto y complejo).

10.OBJETIVOS

10.1 General

Determinar la inmunoexpresión de los biomarcadores de progresión tumoral en Odtm maduros y en desarrollo.

10.2 Específicos

- Describir la distribución de los Odtm en la población de estudio por género, edad y localización anatómica.
- Cuantificar los elementos tisulares desorganizados: dentina tubular, osteodentina, matiz de esmalte, y ectomesénquima en la muestra de Odtm maduros y en desarrollo.
- Determinar la localización la inmunorreacción de los biomarcadores SOX-2, BCL-2, P53 y Ciclina D1 en muestras de Odtm maduros.
- Determinar la localización la inmunorreacción de los biomarcadores SOX-2, BCL-2, P53 y Ciclina D1 en muestras de Odtm en desarrollo.

11. DISEÑO DEL ESTUDIO

11.1 Tipo de estudio

Por su intervención; observacional, por su finalidad; descriptivo, por temporalidad; transversal y, por el inicio del estudio en relación a la cronología de los hechos; retrospectivo.

11.2 Universo del estudio

Todas las muestras de Odtm maduros y en desarrollo en el servicio de diagnóstico histopatológico del Departamento de Patología, Medicina Bucal y Maxilofacial de la División de Estudios de Posgrado e Investigación e Investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

11.3 Tamaño de la muestra

Se utilizó el total disponible de las muestras diagnosticadas en el periodo comprendido de enero de 2005 hasta mayo de 2018 en el archivo del Departamento de Patología, Medicina Bucal y Maxilofacial de la División de Estudios de Posgrado e Investigación e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM. Se solicitaron los casos que contaran con el bloque de parafina y laminilla por medio de una base de datos obtenida mediante un *“Instrumento de recolección de datos”*. **(ANEXO 1)**

11.4 Criterios de inclusión

- Dos patólogos expertos revisaran todos los casos con diagnóstico histopatológico de Odtm maduros y en desarrollo que cuenten con datos clínicos del paciente (edad, género y localización del tumor).
- Los casos de Odtm maduros y en desarrollo que cuenten con suficiente tejido en el bloque de parafina para los niveles solicitados.
- Casos de Odtm que presenten en el análisis histológico tejidos blandos (ectomesénquima, tejido conjuntivo y epitelio) asociado a las estructuras mineralizadas.

11.5 Criterios de exclusión

- Los casos con diagnóstico histopatológico de Odtm maduros y en desarrollo que no cuenten con datos clínicos del paciente (edad, sexo y localización del tumor).
- Los casos que no cuenten con bloque de parafina para realizar los niveles solicitados.
- Los casos que durante el procesado histológico se dañe o pierda tejido.
- Los casos que presenten artificio por fijación, quemadura, escaso tejido blando.

11.6 Criterios de eliminación

- Bloques que durante los niveles de corte se pierda el área representativa del tumor a estudiar.
- Bloques que tengan que ser solicitados para la realización de otro proyecto de investigación.

12. VARIABLES DEL ESTUDIO

12.1 Variables dependientes

Anticuerpos: BCL-2, SOX-2, P53 y Ciclina D1.

Localización de la expresión: Nuclear (Epitelio odontogénico, Ectomesénquima, Matriz de esmalte, Matriz de dentina, Dentina y Agregados adamantinomatosos)

12.2 Variables independientes

Odtm maduro y Odtm en desarrollo.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	FUENTES DE INFORMACIÓN	CATEGORIA
<i>Odontoma maduro INDEPENDIENTE</i>	Tumor odontogénico mixto compuesto de ectomesénquima odontogénico y epitelio.	Neoplasia Bifásica con formación de matriz de dentina y esmalte organizada.	Clasificación OMS 2017	Cualitativa Nominal
Odontoma en desarrollo INDEPENDIENTE	Tumor odontogénico mixto que se caracteriza por epitelio conservado y componentes neoplásicos ectomesénquimales.	Proliferación de tejido epitelial y ectomesénquimal con producción de matriz mineralizada.	Clasificación OMS 2017	Cualitativa Nominal
SOX-2 DEPENDIENTE	Proteína asociada a la familia de factores de transcripción del desarrollo celular.	1. Ectomesénquima 2. Epitelio odontogénico 3. Matriz de esmalte 4. Matriz de dentina 5. Dentina 6. Agregados adamantinomatosos	Microscopio óptico	Nominal (Localización de la expresión)
Bcl-2 DEPENDIENTE	Proteína de la familia que inhibe la apoptosis y promueve la supervivencia celular.	1. Ectomesénquima 2. Epitelio odontogénico 3. Matriz de esmalte 4. Matriz de dentina 5. Dentina 6. Agregados adamantinomatosos	Microscopio óptico	Nominal (Localización de la expresión)
p53 DEPENDIENTE	Proteína del gen supresor tumoral que influye en la regulación del ciclo celular.	1. Ectomesénquima 2. Epitelio odontogénico 3. Matriz de esmalte 4. Matriz de dentina 5. Dentina 6. Agregados adamantinomatosos	Microscopio óptico	Nominal (Localización de la expresión)
Ciclina D1 DEPENDIENTE	Gen que codifica una proteína nuclear la cual forma complejos con las cinasas dependientes de ciclina 4 y 6, que fosforilan e inactivan la proteína retinoblastoma.	1. Ectomesénquima 2. Epitelio odontogénico 3. Matriz de esmalte 4. Matriz de dentina 5. Dentina 6. Agregados adamantinomatosos	Microscopio óptico	Nominal (Localización de la expresión)

Tabla 2. Variables del estudio.

13. MATERIALES Y MÉTODOS

13.1 Análisis de las muestras

Se realizaron cinco cortes del bloque de parafina con un grosor de 4 μm ; de las cuales cuatro fueron sobre laminillas silanizadas y una sobre laminilla convencional, con el fin de realizar técnica de inmunohistoquímica y tinción con HyE respectivamente.

El diagnóstico se emitió con base en los hallazgos microscópicos obtenidos mediante un “*Instrumento de hallazgos microscópicos*” (**ANEXO 2**), para el Odtm maduro y en desarrollo se basó en la presencia de alguno de los siguientes elementos tisulares: ectomesénquima, epitelio ameloblástico, dentina, matriz de esmalte y cemento. Cabe mencionar que en algunas muestras se observaron cuerpos TOP, células fantasmas y agregados adamantinomatosos.

En los OdtmCjo se basó en la presencia de algunos de los siguientes elementos tisulares: ectomesénquima, epitelio ameloblástico, dentina, matriz de esmalte y cemento sin organización aparente. En los OdtmCto se basó en la presencia de alguno de los siguientes elementos tisulares: ectomesénquima, epitelio ameloblástico, dentina, matriz de esmalte y cemento formando estructuras similares a dientes, según la definición de la OMS.

En el FDA se basó en la presencia de alguno de los siguientes elementos tisulares: ectomesénquima, epitelio ameloblástico y dentina. En el FOA se basó en la presencia de algunos de los siguientes elementos tisulares: ectomesénquima, epitelio ameloblástico, dentina y matriz de esmalte, según la definición de la OMS.

Caso 1

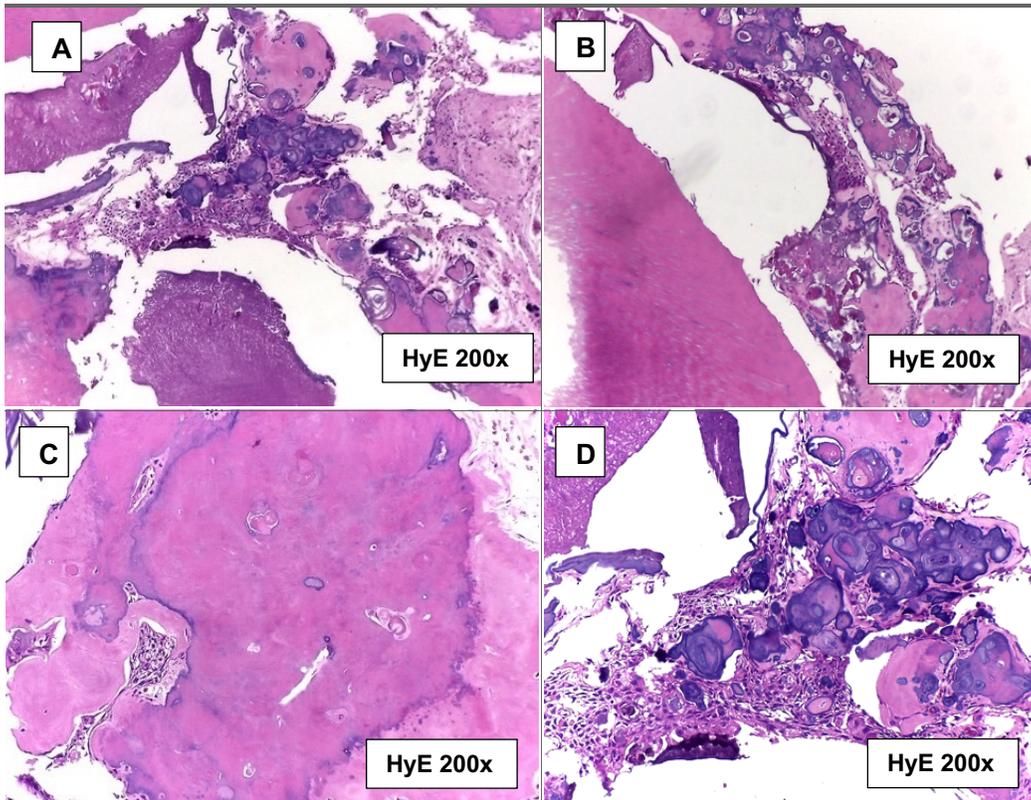


Figura 18. A y B. Fotomicrografía que presenta agregados adamantinomatosos, y osteodentina irregular entremezclada con matriz de esmalte, C. Osteodentina con diferentes grados de mineralización, D. Epitelio odontogénico entremezclado con agregados adamantinomatosos.

Caso 2

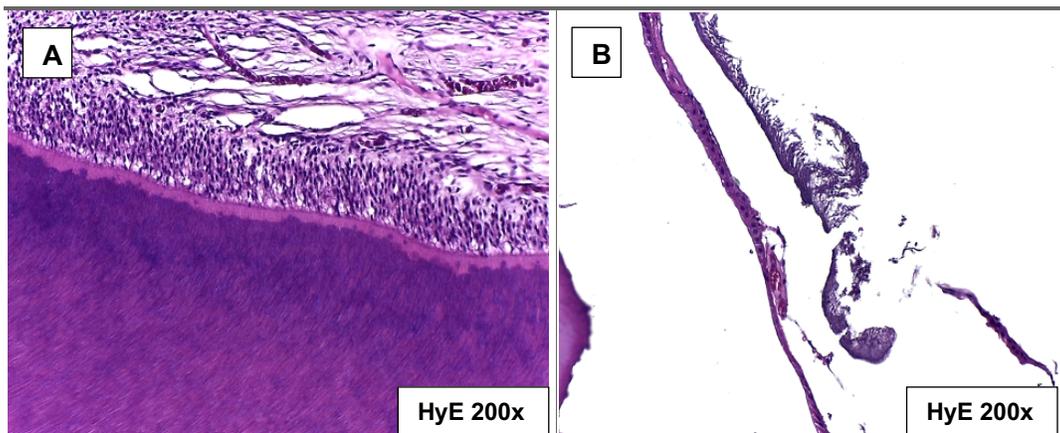


Figura 19. A. Tejido dentinario tubular con presencia de odontoblastos y tejido conjuntivo, B. Epitelio reducido del esmalte y matriz de esmalte.

Caso 3

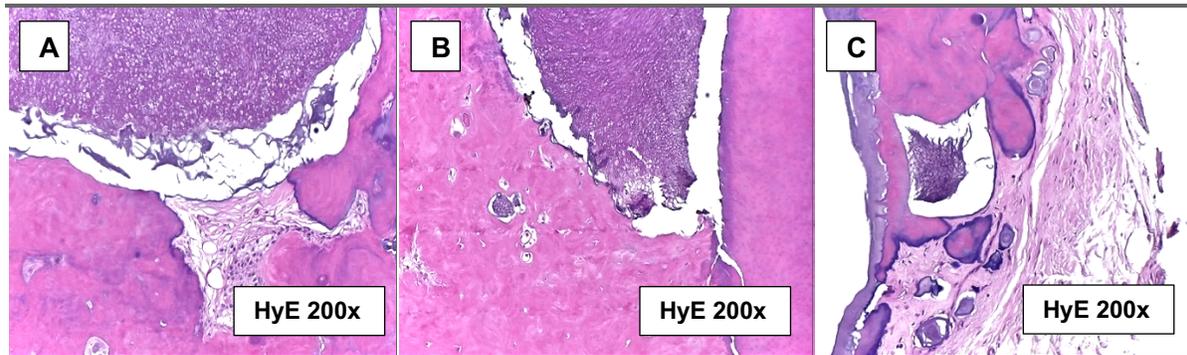


Figura 20. A y B Matriz de esmalte entremezclada con osteodentina y dentina tubular, C. Tejido conjuntivo entremezclado con osteodentina.

Caso 4

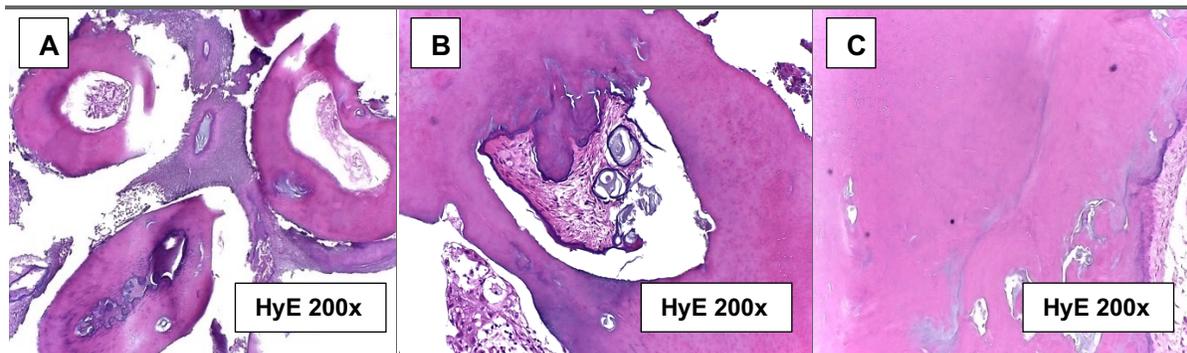


Figura 21. A. Estructuras dentinoides entremezcladas con matriz de esmalte, B matriz de dentina, C. Osteodentina

Caso 5

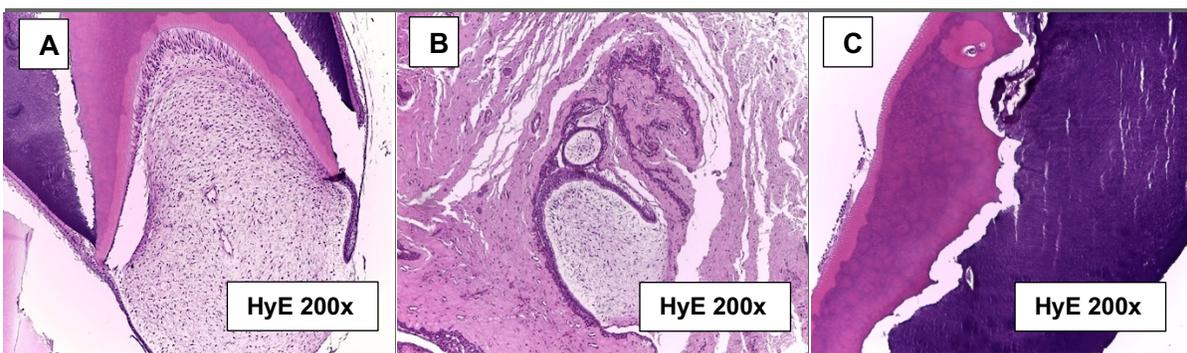


Figura 22. A. Diente en desarrollo, B. Ectomesénquima y epitelio odontogénico entremezclado con tejido fibroso, C. Dentina tubular y matriz de esmalte.

Caso 6

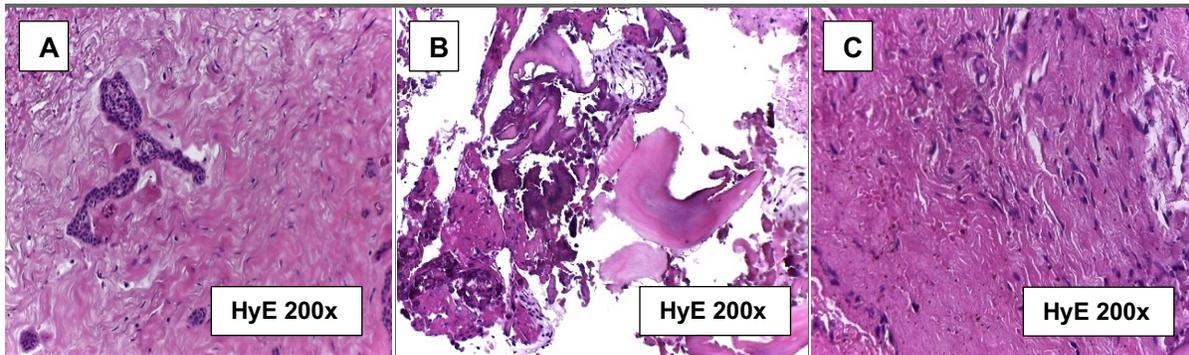


Figura 23. A. Tejido conjuntivo laxo hipocelular con presencia de epitelio ameloblástico B. Matriz de esmalte, dentina y epitelio ameloblástico, C. Tejido conjuntivo laxo.

Caso 7

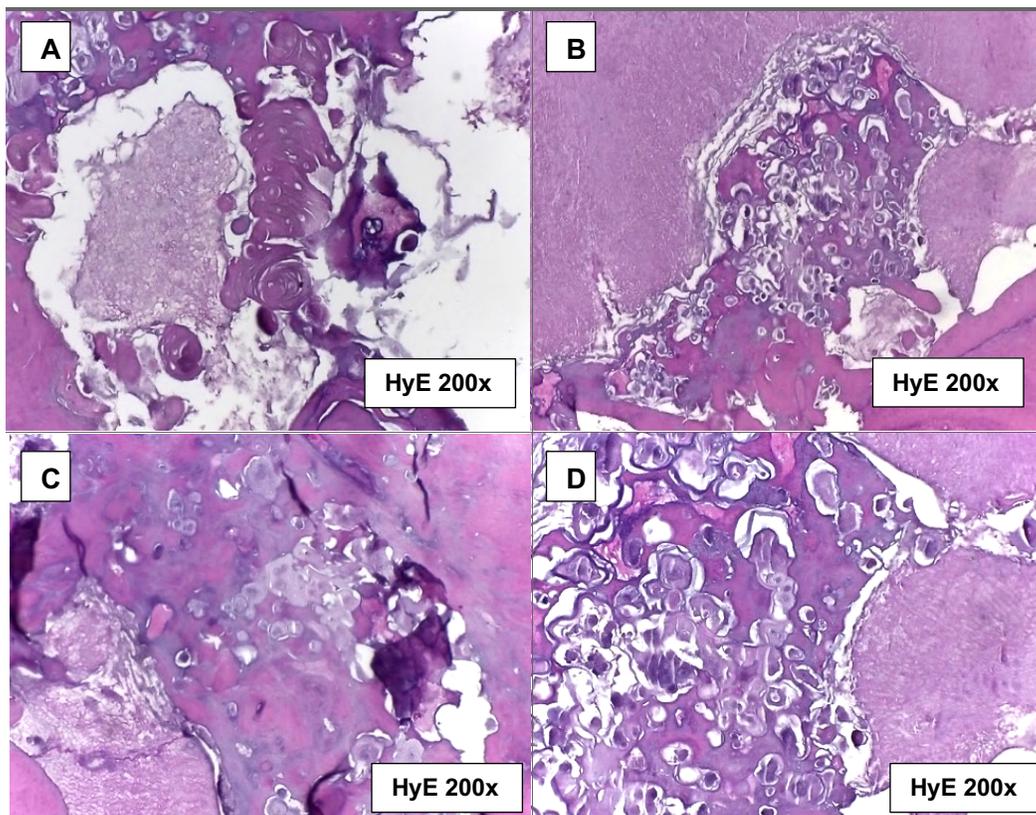


Figura 24. A. Células fantasma entremezcladas con osteodentina y matriz de esmalte, B, C y D se observa osteodentina, matriz de esmalte y áreas focales de dentina tubular.

Caso 8

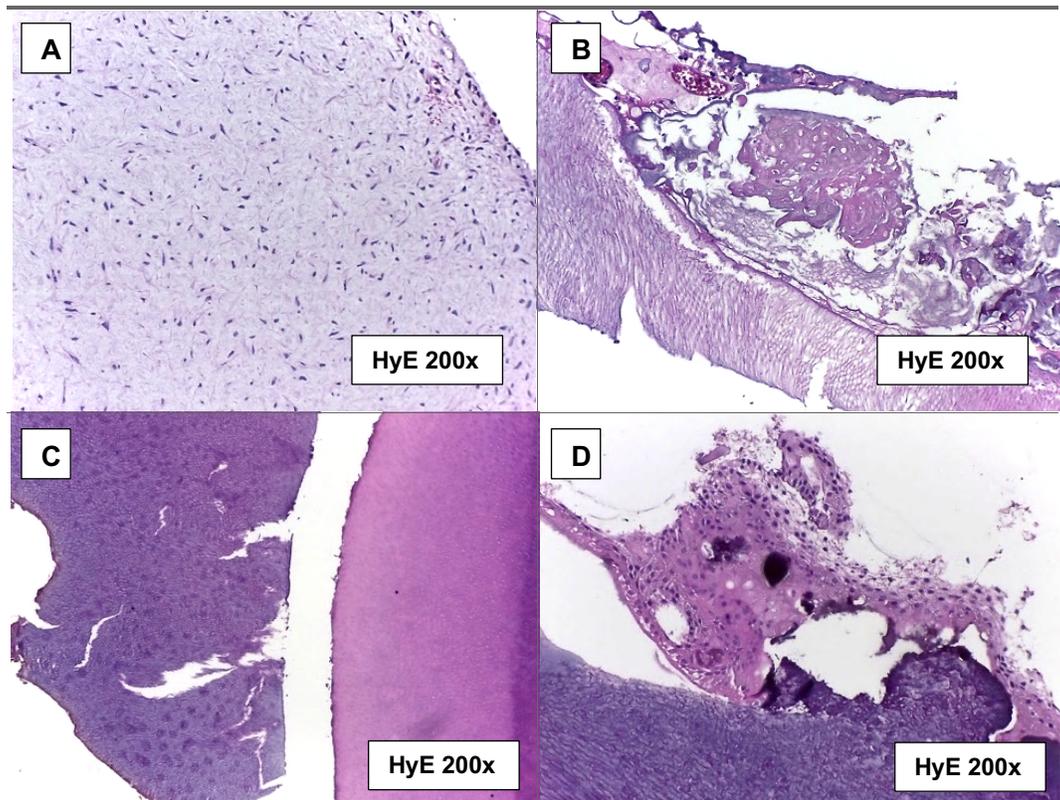


Figura 25. **A.** Ectomesénquima, **B** matriz de esmalte con osteodentina y células fantasma, **C** Matriz de esmalte, dentina tubular, **D** matriz de esmalte y epitelio ameloblástico.

13.2 Técnica de inmunohistoquímica

El procedimiento de inmunohistoquímica se realizó mediante el sistema de detección Super Sensitive™ Polymer-HRP libre de biotina de la marca BioGenex® y consistió en desparafinar en xilol las laminillas y rehidratar en baños secuenciales de alcohol a diferentes concentraciones durante 4 minutos en cada concentración, posteriormente se lavó en agua destilada desionizada. Para la recuperación antigénica se utilizó buffer de citratos con pH 6 al 0.1M colocándolo en un vaso de Coplin cubriendo perfectamente las laminillas, después se llevó al horno de microondas por 5 minutos a potencia 100 W y 15 minutos a potencia 50 W en baño maría, cuidando que las laminillas se mantengan con suficiente líquido.

Posteriormente, se realizaron 3 lavados con PBS cada uno por 4 minutos, seguido de esto se inhibió la actividad de la peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno al 3% incubándolos por 20 minutos en cámara húmeda; se hicieron 3 lavados de PBS por 4 minutos. Se colocaron los anticuerpos primarios: SOX-2, Bcl-2, p53 y Ciclina D1 con las disoluciones a 1:200. Después de colocar los anticuerpos primarios se incubaron en la cámara húmeda durante toda la noche a 4°C. Después de la incubación con el anticuerpo primario se realizaron 3 lavados de 4 minutos para incubar el anticuerpo secundario.

Al término de las 24 horas, se aplicó el agente Super Enhancer™, se incubó por 20 minutos a temperatura ambiente y se lavó con TBS durante 4 minutos por 3 veces, se prosiguió a la colocación del polímero HRP incubándolo en una cámara húmeda por 30 minutos seguido de 3 lavados con TBS de 4 minutos. Se empleó diaminobencidina (DAB) en una dilución de 900ml de buffer y 100ml de DAB como revelador de cromógeno y se colocó a cada tejido durante 5 minutos; Después de aplicar el DAB, se lavaron las laminillas con agua corriente durante 5 minutos, posteriormente se realizó contratinción con hematoxilina durante 5 minutos más. Después de ser retiradas las preparaciones de la contratinción se enjuagaron con agua corriente para iniciar el montaje, el cual consistió en deshidratar las preparaciones con alcohol y xilol a diferentes concentraciones para finalizar la colocación del cubreobjetos con resina hidrofóbica.

Anticuerpo	Clona/Catálogo	Tipo	Dilución
SOX-2	SC365823/ Santa Cruz®	Mouse/Monoclonal	1:200
BCL-2	SC-492/Santa Cruz®	Rabbit/Polyclonal	1:200
P53	SC-126/ Santa Cruz®	Mouse/Monoclonal	1:200
Ciclina D1	SC-753/Santa Cruz®	Rabbit/Polyclonal	1:200

Tabla 3. Características comerciales de los anticuerpos.

13.3 Análisis de inmunoexpresión

Posterior a la prueba de inmunohistoquímica se procedió a observar las laminillas en un microscopio óptico comenzando con aumento de 40x, pasando a un aumento de 200x hasta llegar al 400x. Tomamos como prueba positiva a la muestra que tuviera una reacción nuclear homogénea en las diferentes localizaciones evaluadas (ectomesénquima, epitelio odontogénico) mientras que para los elementos tisulares como matriz de esmalte y agregados adamantinomatosos la tinción fuera color café homogénea y nítida, se descartó un patrón de tinción granular o difuso. Además, se les dio un grado de intensidad en una escala de leve, moderado e intenso, de manera subjetiva interobservador donde leve es una prueba poco teñida e intenso es una prueba con una tinción fuerte.

13.4 Plan de análisis

Se realizó el análisis estadístico descriptivo mediante las medidas de tendencia central y dispersión para describir a la población, para el análisis estadístico se utilizó el programa IBM SPSS® para Windows, Versión 25.0. Armonk, NY: IBM Corp., con el cual se aplicó una muestra no paramétrica con la prueba exacta de Fisher con el fin de observar la asociación. Se calculó el riesgo relativo para los resultados binomiales con un IC de 95%. El error alfa fue ajustado menor del 5% tomando como significativo ($p < 0.05$).

13.5 Aspectos éticos

De acuerdo en la declaración de Helsinki adoptada en 1964 en Finlandia y enmendada en 2013 en Brasil el presente proyecto no requiere consentimiento informado ni aprobación por el comité de ética debido a que no se llevará a cabo en seres vivos.

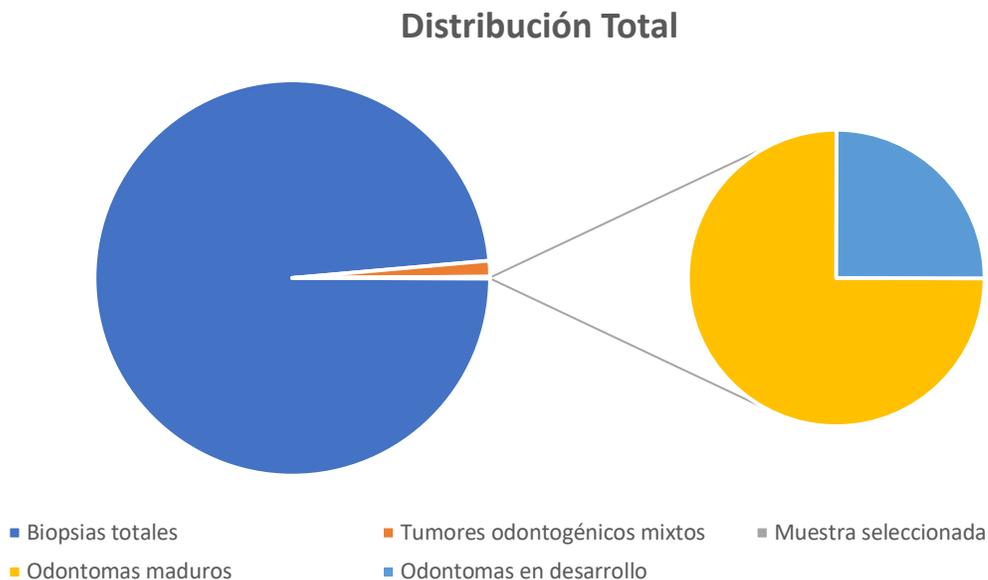
13.6 Recursos

Se realizó el protocolo por financiamiento de la norma ISO-9001-2015 en el Laboratorio de Patología Bucal DEPEI FO UNAM.

14. RESULTADOS

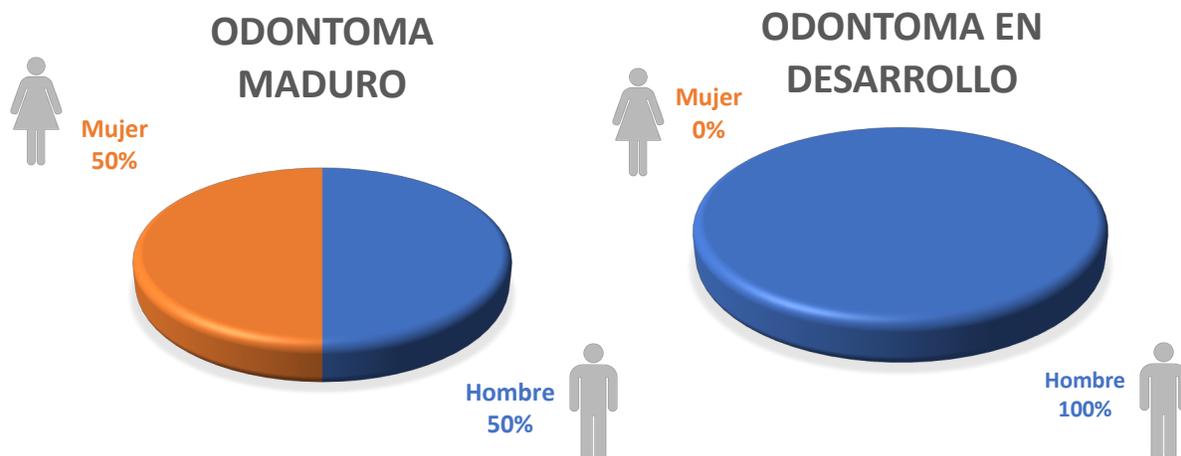
14.1 Estadísticos descriptivos

Durante el periodo comprendido entre enero 2005 a mayo 2018 un total de 10985 muestras fueron analizadas; solamente 144 muestras fueron diagnosticadas como Odtm que corresponde al 1.3%, posteriormente se seleccionaron 8 muestras. Las cuales se clasificaron como Odtm maduros a los diagnosticados como OdtmCto, OdtmCjo, OdtmCjo-Cto, OdtmCto-Cjo y Odtm asociados a otras neoplasias; para los Odtm en desarrollo se tomaron en cuenta a los diagnosticados como FOA y FDA, todos los diagnósticos histopatológicos fueron emitidos por el Departamento de Patología, Medicina Bucal y Maxilofacial del DEPEI de la UNAM (**Gráfica 1**).



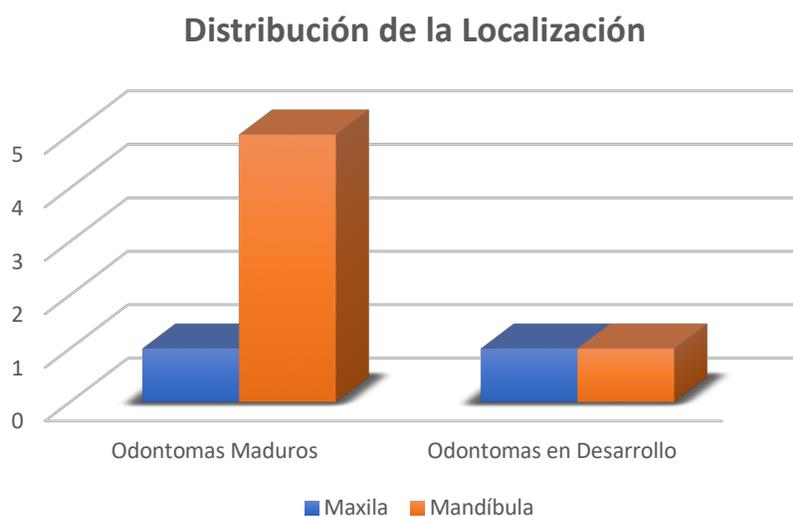
Gráfica 1. Distribución total de biopsias diagnosticadas en el periodo enero 2005 a mayo 2018 en el Departamento de Patología, Medicina Bucal y Maxilofacial del DEPEI de la UNAM.

De acuerdo a la distribución de las muestras los Odtm maduros no mostraron una predilección de género teniendo una proporción 1:1; en los Odtm en desarrollo únicamente se obtuvieron muestras del género masculino (**Gráfica 2**).



Gráfica 2. Distribución por género de los grupos analizados en el estudio.

La edad promedio de los pacientes en quienes se obtuvo la muestra fue de 18.33 con una DE \pm 10.72 años para Odtm maduros y 12 años para los Odtm en desarrollo con una DE \pm 1.41. De las muestras analizadas en los Odtm maduros la localización con mayor predilección fue la mandíbula en una proporción de 5:1; en los Odtm en desarrollo fue de igual predilección en la maxila y mandíbula con una proporción de 1:1 (**Gráfica 3**).



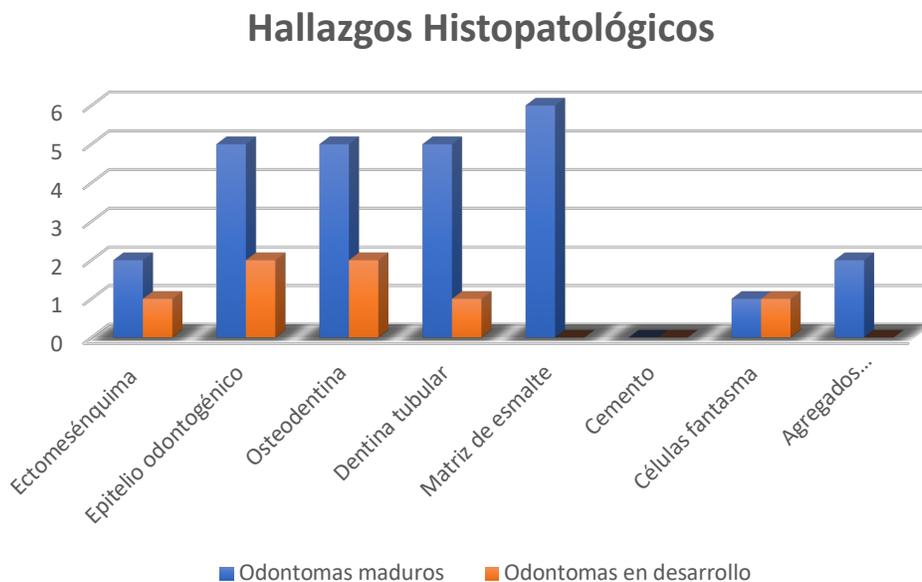
Gráfica 3. Distribución por localización de los grupos analizados en el estudio.

14.2 Hallazgos histopatológicos de la muestra

Las 8 muestras se analizaron la tinción de rutina hematoxilina y eosina bajo microscopía óptica, las cuales fueron categorizadas bajo los criterios histológicos de la OMS del 2017.²⁸ la organización de los datos se realizó en un instrumento de recolección **(ANEXO 3)** con los siguientes elementos: i) ectomesénquima, ii) epitelio, iii) osteodentina, iv) dentina tubular, v) esmalte, vi) matriz de esmalte, vii) cemento, viii) células fantasma y ix) agregados adamantinomatosos.

El total de la muestra fue de 8 Odtm de los cuales 6 fueron Odtm maduros representando el 75% y 2 Odtm en desarrollo siendo el 25%. En los Odtm maduros se encontró la presencia de ectomesénquima en 2 muestras, epitelio en 5, osteodentina en 5, dentina tubular en 5, matriz de esmalte en 6, cemento en ninguno, células fantasmas en 1 y agregados adamantinomatosos en 2. **(Gráfica 4)**

En el caso de los Odtm en desarrollo se observó la presencia de ectomesénquima en 1 muestra, epitelio en 2, osteodentina en 2, dentina tubular en 1, matriz de esmalte y cemento en ninguno, células fantasmas en 1. **(Gráfica 4)**



Gráfica 4. Hallazgos histopatológicos de los grupos analizados en el estudio.

14.3 Hallazgos de la reacción inmunohistoquímica

En este estudio se analizó la expresión de marcadores Bcl-2, Ciclina D1, Sox-2 y p53 en un grupo de 8 Odtm conformado por 6 Odtm maduros (75%) de los cuales la mitad son OdtmCto y la otra mitad OdtmCjo y 2 Odtm en desarrollo (25%). Se valoró la expresión en el epitelio odontogénico, ectomesénquima, matriz de esmalte y agregados adamantinomatosos. Se tomó como reacción positiva a la muestra que tuviera una reacción nuclear homogénea en las células; mientras que, para la matriz de esmalte y agregados adamantinomatosos, se consideraron positivos los casos cuya tinción fuera fuerte y homogénea. La positividad a BCL-2 y Ciclina D1 fue similar entre las muestras analizadas (**Figura 26 y 27**), mientras que todos los casos fueron negativos a P53 y SOX-2.

BCL-2

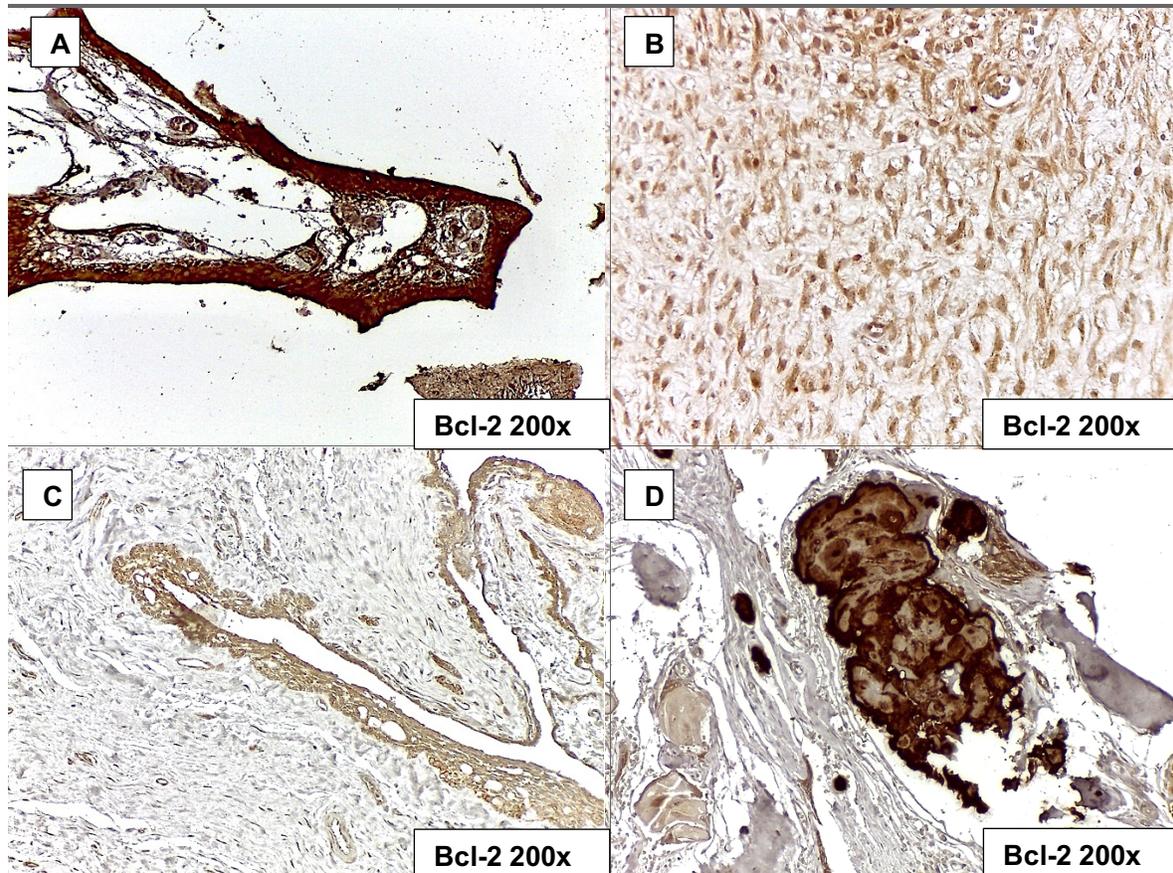


Figura 26. Inmunorreacción del anticuerpo BCL-2 en **A** y **C** epitelio odontogénico, **B** ectomesénquima, **C** Agregados adamantinomatosos **D**.

CICLINA D1

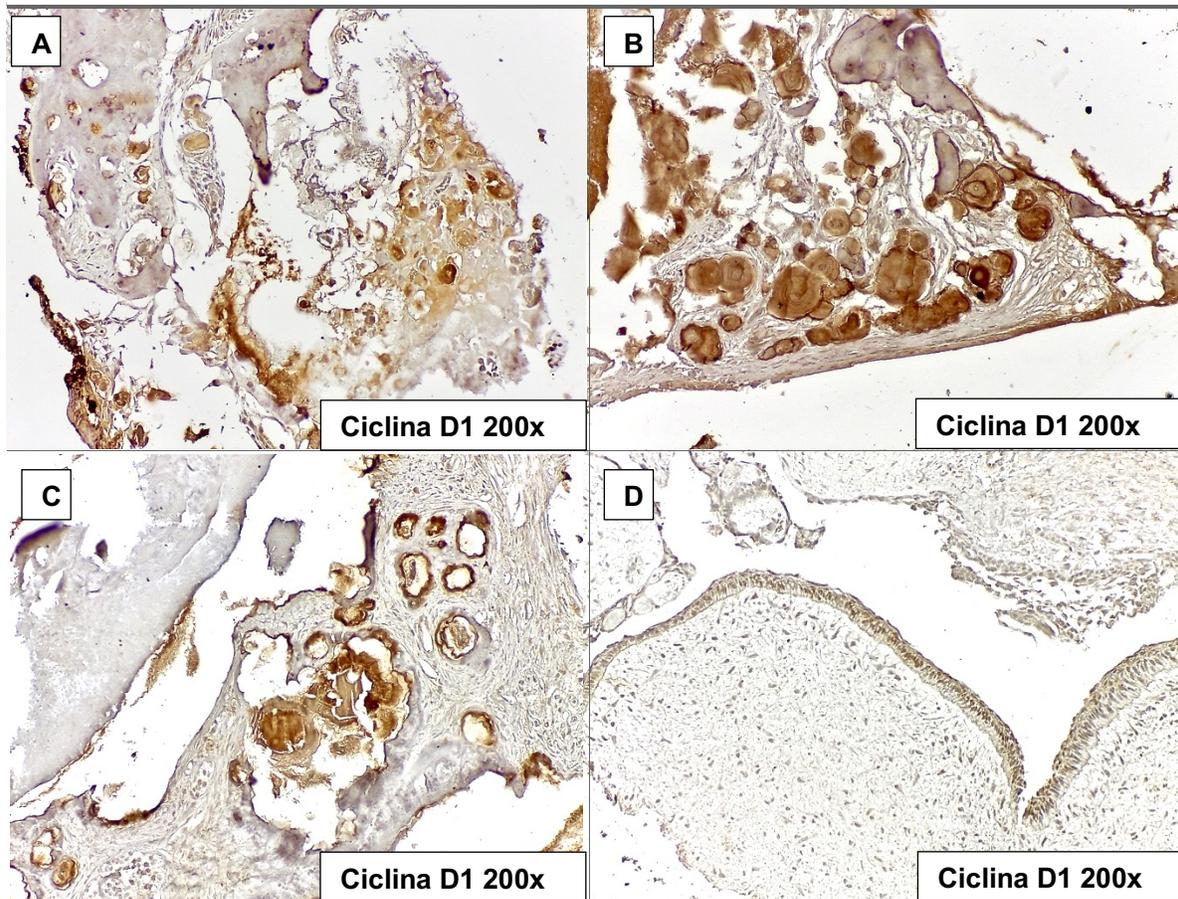


Figura 27. A, B y C, agregados adamantinomatosos, D epitelio odontogénico.

14.4 Localización de la expresión inmunohistoquímica en los odontomas

La expresión de la reacción para el anticuerpo BCL-2 en los Odtm maduros se presentó en 6 casos correspondiendo al 100% del total de los casos y en los Odtm en desarrollo se presentó en 1 caso correspondiendo al 50% del total de los casos.

En el caso de la expresión para el anticuerpo Ciclina D1 en los Odtm maduros se presentó en 4 casos que corresponden al 66.66% del total de los casos y en los Odtm en desarrollo se presentó en 1 caso correspondiendo al 50% de los casos totales.

Encontramos positividad en 1 caso (16.7%) para BCL-2 en el ectomesénquima en los Odtm maduros, mientras que en los Odtm en desarrollo no hubo positividad, en cambio para el anticuerpo Ciclina D1 tuvo positividad en 1 caso (50%), mientras que para los Odtm maduros no presentaron positividad en el ectomesénquima (**Tabla 4**). En el epitelio odontogénico encontramos positividad para BCL-2 en 3 casos (50%) de los Odtm maduros y en ninguno de los Odtm en desarrollo. En el caso de Ciclina D1 sólo mostro positividad en 1 caso (16.7%) y de igual manera fue negativo para los Odtm en desarrollo (**Tabla 5**). También encontramos positividad en la matriz de esmalte para BCL-2 en 1 caso (16.7%) de Odtm maduros y negativo para los Odtm en desarrollo, por otra parte, para el anticuerpo Ciclina D1 se observo positividad 3 casos (50%) de Odtm maduros y en 1 caso (50%) en los Odtm en desarrollo (**Tabla 6**). Por último, hubo positividad en los agregados adamantinomatosos, en el caso de BCL-2 fue positivo en 2 caso (33.3%) de los Odtm maduros y en 1 caso (50%) para los Odtm en desarrollo. De igual manera para Ciclina D1 presentó positividad en 2 casos (33.3%) de los Odtm maduros y fue negativo en los Odtm en desarrollo (**Tabla 7**). Por otra parte, todas las muestras fueron negativas a los anticuerpos P53 y SOX-2.

	BCL-2 en Ectomesénquima				Ciclina D1 en Ectomesénquima			
	Casos negativos	Casos positivos	Total	p=<0.05	Casos negativos	Casos positivos	Total	p=<0.05
Odontoma maduro	5 (83.3%)	1 (16.7%)	6 (100%)	NS	6 (100%)	0 (0%)	6 (100%)	NS
Odontoma en desarrollo	2 (100%)	0 (0%)	2 (100%)	NS	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	NS

Tabla 4. Inmunorreacción en el ectomesénquima.

	BCL-2 en Epitelio odontogénico				Ciclina D1 en Epitelio odontogénico			
	Casos negativos	Casos positivos	Total	p=<0.05	Casos negativos	Casos positivos	Total	p=<0.05
Odontoma maduro	3 (50%)	3 (50%)	6 (100%)	NS	5 (83.3%)	1 (16.7%)	6 (100%)	NS
Odontoma en desarrollo	2 (100%)	0 (0%)	2 (100%)	NS	2 (100%)	0 (0%)	2 (100%)	NS

Tabla 5. Inmunorreacción en el epitelio odontogénico.

	BCL-2 en Matriz de esmalte				Ciclina D1 en Matriz de esmalte			
	Casos negativos	Casos positivos	Total	p=<0.05	Casos negativos	Casos positivos	Total	p=<0.05
Odontoma maduro	5 (83.3%)	1 (16.7%)	6 (100%)	NS	3 (50%)	3 (50%)	6 (100%)	NS
Odontoma en desarrollo	2 (100%)	0 (0%)	2 (100%)	NS	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	NS

Tabla 6. Inmunorreacción en la matriz de esmalte.

	BCL-2 en Agregados Adamantinomatosos				Ciclina D1 en Agregados Adamantinomatosos			
	Casos negativos	Casos positivos	Total	p=<0.05	Casos negativos	Casos positivos	Total	p=<0.05
Odontoma maduro	4 (66.7%)	2 (33.3%)	6 (100%)	NS	4 (66.7%)	2 (33.3%)	6 (100%)	NS
Odontoma en desarrollo	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	NS	2 (100%)	0 (0%)	2 (100%)	NS

Tabla 7. Inmunorreacción en los agregados adamantinomatosos.

14.5 Intensidad de la expresión inmunohistoquímica en los odontomas

En la reacción de BCL-2 en los Odtm maduros observamos que en el ectomesénquima hubo una intensidad moderada, mientras que en el epitelio odontogénico predominó una intensidad leve con 2 casos y 1 caso con positividad intensa, en la matriz de esmalte presentó una intensidad moderada y en los agregados adamantinomatosos se observó una moderada e intensa positividad en las mismas proporciones. En los Odtm en desarrollo se observó intensa positividad en los agregados adamantinomatosos.

En el caso del anticuerpo Ciclina D1 en los Odtm maduros se observó una intensidad leve en el epitelio odontogénico y en la matriz de esmalte, mientras que en los agregados adamantinomatosos se observaron con una intensidad de leve a moderado. Por otra parte, en los Odtm en desarrollo se observó una intensidad leve en el ectomesénquima e intensidad moderada en la matriz de esmalte.

15. DISCUSIÓN

Un desafío importante es ofrecer una clasificación, estadificación, tratamiento oportuno y pronóstico adecuado de algunas neoplasias. En el caso de los Odtm, lo que sabemos es que existen diversas teorías, la primera en 1952 por Cahn y Blum⁴, basándose en su grado de maduración, designado al FA como un tumor de menor “diferenciación” que procede al FOA dejando al odontoma como una neoplasia “bien diferenciada”, otra teoría propuesta por Eversole y Slootweg en 1971^{5, 6} argumenta que de acuerdo a la presentación de edad menor de los FOA en comparación con los FA evitaría pensar en la idea que sea una progresión de un FA. Sin embargo, Slootweg⁶ noto una correlación entre los FOA y los Odtm en edad, localización y genero concluyendo que el FOA es un odontoma complejo inmaduro. Philipsen y colaboradores²⁹, pensaron en que el FA precedía al FOA y en esta transición se encontraba el FDA. Por otra parte, Eversole⁵ propone que según las características de estas neoplasias cuando se correlacionan con la odontogénesis normal sugiere que quizás estas neoplasias provienen de una mutación de novo en un estadio particular de la odontogénesis y no de la progresión o diferenciación futura. Chrcanovic y colaboradores,³² realizaron un meta-análisis para FOA y FDA donde observaron que el 40% de los casos de recurrencia de FOA fueron odontomas complejos.

Nuestro estudio se dirigió a determinar la inmunoexpresión de los marcadores de progresión tumoral en Odtm maduros y en desarrollo y, su relación con el proceso de la odontogénesis. En nuestro estudio, evaluamos la expresión de Odtm maduros y los Odtm en desarrollo para los anticuerpos Bcl-2, Ciclina D1, p53 y SOX-2; sin mostrar diferencias significativas entre los grupos.

Un total de 8 muestras fueron analizadas, de las cuales 6 fueron Odtm maduros (3 OdtmCto y 3 OdtmCjo) y, las restantes fueron Odtm en desarrollo, el análisis de resultados mostró una tendencia importante hacia la expresión de BCL-2 y Ciclina D1 en el epitelio odontogénico, ectomesénquima, matriz de esmalte y,

agregados adamantinomatosos, con predominio en matriz de esmalte y agregados adamantinomatosos, así mismo, la intensidad observada fue levemente.

De acuerdo a la nueva clasificación de la OMS y los datos publicados anteriormente sobre las recurrencias de FOA como OdtmCjo,³² existe evidencia que tanto los Odtm en desarrollo con los Odtm maduros son un espectro de la misma lesión. A pesar que, nuestro número de casos fue reducido en el grupo de Odtm en desarrollo, se pudo apreciar que ambas muestras presentaron similitud en el patrón de expresión, en comparación con los Odtm maduros para los marcadores BCL-2 y Ciclina D1; este hecho permite retomar el concepto sobre que estas entidades pueden pertenecer a la misma lesión solo que se presentan en diferentes estadios de diferenciación, si bien, la expresión de los marcadores utilizados no nos ha ofrecido mayor información sobre el origen y conducta biológica, puede ser un parámetro para precisar esta nueva clasificación. Si bien, este es un primer hallazgo sobre la expresión de estos marcadores en Odtm maduros y en desarrollo.

Nuestros resultados sugieren que si puede considerarse la misma neoplasia como los dos expresaron para los mismos marcadores y mostraron similitud en expresión de marcadores puede ser la misma entidad, pero en diferentes estadios.

Galvão F. Y colaboradores,¹⁷ en el 2012 en un estudio realizado a FA, FOA y FSA con base en la pérdida de heterocigosidad en genes supresores tumorales entre ellos, el gen p53 por medio de reacción de cadena de polimerasa (PCR), donde encontraron una mayor pérdida de la heterocigosidad de p53 en FOA, en comparación con FA y FSA, los autores sugieren que el FOA y el FA tienen diferencias en su tumorigénesis y pueden presentar un perfil genético distinto, lo cual concuerda con nuestro estudio, donde sugerimos que el FOA es una entidad que se integra a los Odtms en una etapa de desarrollo. Además, en nuestro estudio presento positividad a los anticuerpos Bcl-2 y Ciclina D1, los cuales en condiciones normales Bcl-2 regula la vía intrínseca de la apoptosis y Ciclina D1

regula la progresión del ciclo celular desde la fase G1 a fase S lo cual nos hace pensar en que estos marcadores están implicados más hacia la proliferación celular que la transformación a una neoplasia maligna como FSA. Por otra parte, Gioacchini M. Y colaboradores,⁶⁸ reportan en un meta-análisis la importancia de Ciclina D1 como factor pronóstico en carcinomas de células escamosas recalcando la asociación de su sobreexpresión con la linfoangiogénesis y metástasis en diversos carcinomas, lo cual en neoplasias benignas sugerimos que les da un potencial de agresividad y proliferación celular.

Otros estudios inmunohistoquímicos como los realizados con un FOA Martinez M. y colaboradores, reportan positividad para AE1/AE3, CK5, CK14, CK19, E-Cadherina, β -catenina, CD138, α -SMA, p63, Melan-A y S-100 y negatividad para CD1a, además de un <1% para Ki67. En ese estudio se realizó un panel enfocado a conocer la transformación maligna del FOA, que comparando con nuestros resultados nos damos cuenta que aunque su naturaleza de los Odtm en desarrollo son biológicamente agresivos es por su alto potencial de proliferación y progresión tumoral que según nuestros resultados fueron los únicos con expresión de ciclina D1 en el ectomesénquima a diferencia de los Odtm maduros que ninguno de los casos expreso en el ectomesénquima para Ciclina D1, lo cual fue contrario en el caso de Bcl-2, en los que hubo mayor expresión en los Odtm maduros, lo cual nos hace pensar que su agresividad está relacionada con la proliferación celular obtenida por una desregulación en el ciclo celular y la expresión de Bcl-2 está enfocada a la conservación de los elementos como en el Odtm maduro.

Lin Y. y colaboradores, realizaron un estudio en un FOA de tipo periférico, en el cual reportan positividad para β -catenina, CD44, amelogenina y CD31; concluyendo que la vía β -catenina se encuentra en varios tumores como en el ameloblastoma y en los odontomas, esto nos hace pensar en la similitud que guarda con los Odtm que en nuestro estudio se hicieron presentes.

Chau E. y colaboradores,⁶⁹ en el 2013, realizó un estudio para determinar la expresión y localización de periostina en los Odtm en desarrollo, Odtm Maduros y FA para correlacionar alguna diferencia en la tinción de los componentes mesenquimales para conocer si existe o no una interrelación. En sus resultados reporto la expresión de periostina en el citoplasma de los ameloblastos y preameloblastos de los Odtm maduros y Odtm en desarrollo (FOA), mientras que fue negativo en los cordones de epitelio odontogénico de los FA y Odtm en desarrollo (FOA). La matriz de esmalte tuvo reacción uniforme y una característica importante fue la intensa reactividad de múltiples áreas de dentina distrófica. Concluyeron que de acuerdo al análisis estadístico de la tinción en el estroma avala el concepto de que el FA es una neoplasia separada más que la etapa inicial de un Odtm en desarrollo. Sin embargo, concuerda que el FOA es un Odtm en desarrollo.

Tenório J. y colaboradores,⁷⁰ estudio un total de 60 neoplasias de las cuales 20 fueron ameloblastomas, 20 queratoquistes odontogénicos y 20 tumores odontogénicos adenomatoides, a los que observo la expresión para p53, Bcl-2 y Bax. En sus resultados reportaron positividad para los tres marcadores en los tres grupos de lesiones, concluyendo que la expresión de las proteínas reguladoras de la apoptosis, así como las proteínas involucradas en la regulación del ciclo celular están relacionadas con el comportamiento biológico, lo cual en nuestros resultados encontramos interesante la expresión de Bcl-2 en el ectomesénquima de los Odtm maduros a diferencia de los Odtm en desarrollo que fueron negativos a Bcl-2 y positivos a Ciclina D1 en el ectomesénquima, por tal motivo nos hace pensar que su agresividad está relacionada con la proliferación celular obtenida por una desregulación en el ciclo celular y la expresión de Bcl-2 está enfocada a la conservación de los elementos como en el Odtm maduro.

16. CONCLUSIONES

- Con base en los hallazgos en la expresión inmunohistoquímica de los marcadores Bcl-2 y Ciclina D1 en los Odtm maduros como los Odtm en desarrollo podrían ser interpretados como un apoyo en la teoría de su histogénesis en formar parte del espectro de una misma lesión.
- Es necesario realizar futuras investigaciones para identificar la capacidad de proliferación del epitelio y mesénquima. Con base en nuestros hallazgos nosotros sugerimos darle un enfoque genético y epigenético.
- La formación y madurez de las matrices mineralizantes en estas neoplasias, son un factor importante que determina el grado de diferenciación que tiene la neoplasia, independientemente si existe capacidad proliferativa del epitelio o ectomesénquima.
- Una de las limitantes de este estudio es el numero de casos, por lo cual se necesitan realizar mas estudios similares con una mayor población para obtener resultados contundentes, debemos tomar en cuenta que no se encuentran estudios similares.

17. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Broca, P.: *Traité des Tumeurs*, Paris, 1868, P. Asselin, vol. 1, p. 350.
2. Thoma, K. H., and Goldman, H.: Odontogenic tumors: Classification Based on Observations of Epithelial, Mesenchymal, and Mixed Varieties, *Am. J. Pathol* 1946;22: 433-471.
3. Spouge, J. D.: Odontogenic Tumors. Part I. A Unitarian Concept, *Oral Surg.* 24: 392, 1967.
4. Cahn, L. R., and Blum, T.: Ameloblastic Odontoma, Case Report Critically Analyzed, *J. Oral Surg.* 10: 169-170, 1952.
5. Eversole, L. R., Tomich, C. F., and Cherrick, H. M.: Histogenesis of odontogenic tumors, *Oral Surg.* 1971;32: 569-581.
6. Sloomweg P. An analysis of the interrelationship of the mixed odontogenic tumors—ameloblastic fibroma, ameloblastic fibro-odontoma, and the odontomas. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology.* 1981;51(3):266-276.
7. Liu, F. *et al.* Wnt/beta-catenin signaling directs multiple stages of tooth morphogenesis. 2008; *Dev Biol.* 313, 210-224.
8. Jarvinen, E. *et al.* Continuous tooth generation in mouse is induced by activated epithelial Wnt/beta-catenin signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103, 18627-18632.
9. Wang, X. P. *et al.* Apc inhibition of Wnt signaling regulates supernumerary tooth formation during embryogenesis and throughout adulthood. *Development* 2009; 136, 1939-1949.
10. Xavier, G., Patist, A., Healy, C., Pagrut, A., Carreno, G., Sharpe, P., Pedro Martinez-Barbera, J., Thavaraj, S., Cobourne, M. and Andoniadou, Activated WNT signaling in postnatal SOX2-positive dental stem cells can drive odontoma formation. C. (2015). *Scientific Reports*, 5(1), 1-7.
11. Stevanovic, M., Zuffardi, O., Collignon, J., Lovell-Badge, R., Goodfellow, P. The cDNA sequence and chromosomal location of the human SOX2 gene. *Mammalian Genome* 5: 640-642, 1994.

12. Wernig, M., Meissner, A., Foreman, R., Brambrink, T., Ku, M., Hochedlinger, K., Bernstein, B. E., Jaenisch, R. In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature* 448: 318-324, 2007.
13. Masui, S., Nakatake, Y., Toyooka, Y., Shimosato, D., Yagi, R., Takahashi, K., Okochi, H., Okuda, A., Matoba, R., Sharov, A. A., Ko, M. S. H., Niwa, H. Pluripotency governed by Sox2 via regulation of Oct3/4 expression in mouse embryonic stem cells. *Nature Cell Biol.* 9: 625-635, 2007.
14. Levine, A. J., Momand, J., Finlay, C. A. The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 351: 453-456, 1991.
15. Lane D. p53, guardian of the genome. *Nature.* 1992;358(6381):15-16.
16. Bourdon, J.-C. p53 and its isoforms in cancer. *Brit. J. Cancer* 97: 277-282, 2007.
17. Galvão C, Gomes C, Diniz M, Vargas P, de Paula A, Mosqueda-Taylor A et al. Loss of heterozygosity (LOH) in tumour suppressor genes in benign and malignant mixed odontogenic tumours. *Journal of Oral Pathology & Medicine.* 2011;41(5):389-393.
18. Bologna-Molina R, Mikami T, Pereira-Prado V, Pires FR, Carlos-Bregni R, Mosqueda-Taylor A. Primordial odontogenic tumor: an immunohistochemical profil. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* 2017; 22, e314-e323.
19. Muller, H., Lukas, J., Schneider, A., Warthoe, P., Bartek, J., Eilers, M., Strauss, M. Cyclin D1 expression is regulated by the retinoblastoma protein. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 91: 2945-2949, 1994.
20. Gómez de Ferraris, M., Campos Muñoz, A., Carda Batalla, M., Carranza, M. and Sánchez Quevedo, M. *Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental.* 3rd ed. Buenos Aires ; Madrid : Editorial Médica Panamericana, 2009;113-136.
21. Nanci A. Ten cate's oral histology: Development, structure, and function. 7th ed. Mosby Elsevier 2008; 79-107.
22. Bilodeau EA, Collins BM. Odontogenic cyst and neoplasm. *Surg Pathol Clin* 2017; 10: 177-222.
23. L. Barnes J. W. Everson, P. Reichart, and D. Sidransky, Eds. *World Health Organization Classification of tumours. Pathology and Genetics. Head and Neck Tumours,* IARC Press, Lyon, France, 2005.

24. Pindborg JJ, Kramer IR, Torloni H. Histological Typing of Odontogenic Tumors, *Jaw Cysts and Allied Lesions*. Geneva: World Health Organization; 1971.
25. Kramer IR, Pindborg JJ, Shear M. WHO International Histological Classification of tumours. Histological typing of odontogenic tumours, 2nd ed. Springer-Verlag, Berlin 1992.
26. Mosqueda-Taylor A, Pires FR, Aguirre-Urizar JM, Carlos-Bregni R, de la Piedra- Garza JM, Martínez-Conde R, et al. Primordial odontogenic tumour: clinicopathological analysis of six cases of a previously undescribed entity. *Histopathology* 2014; 65: 606-612.
27. Speight, P. and Takata, T. New tumour entities in the 4th edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck tumours: odontogenic and maxillofacial bone tumours. *Virchows Archiv*, 20017; 472(3): 331-339.
28. El-Naggar A.K., Chan J.K.C., Grandis J.R., Takata T., Slootweg P.J., WHO Classifications of Head and Neck Tumours. 4th ed. IARC Press, Lyon, France, 2017.
29. Philipsen, H. Reichart, P. Prtorius, F. Mixed odontogenic tumours and odontomas. Considerations on interrelationship. Review of the literature and presentation of 134 new cases of odontomas. *Oral oncology*. 1997; 33(2): 86-99.
30. Neville, B. *Oral and maxillofacial pathology*. 4th ed. USA, Elsevier Saunders, 2016; 669-674.
31. Buchner A, Vered M. Ameloblastic fibroma: A stage in the development of a hamartomatous odontoma or a true neoplasm? Critical analysis of 162 previously reported cases plus 10 new cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2013; 116(5): 598-606.
32. Chrcanovic BR, Gomez RS. Ameloblastic fibrodentinoma and ameloblastic fibro-odontoma: An update systematic review of cases reported in the literature *J Oral Maxillofac Surg* 2017; 75(7): 1425-1437.
33. Wright, J. and Soluk Tekkeşin, M. ODONTOGENIC TUMORS. WHERE ARE WE IN 2017?. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*, 2017; 51(0), 510-530.

34. Almazayad A, Li C, Tapia R, Robertson J, Collette D, Woo S. Primordial odontogenic tumour: report of two cases. *Histopathology*. 2018;72(7):1221-1227.
35. Mikaki T, Ohashi Y, Bologna-Molina R et al. Primordial odontogenic tumor: a case report with histopathological analyses. *Pathol. Int.* 2017; 67; 638-643.
36. Angiol P, Kamath VV, Satelur K, Anand N, Yerlagudda K. Amelogenin in odontogenic cyst and tumors: an immunohistochemical study. *Natl J. Maxillofac. Surg.* 2014; 5: 172-179.
37. Sharp T, Wang J, Li X et al. A pituitary homeobox 2 (PITX2): microRNA-200a-3p: beta-catenin pathway converts mesenchymal cells to amelogenin-expressing dental epithelial cells. *J. Biol. Chem.* 2014; 289; 27327-27341.
38. Bologna-Molina R, Mikami T, Pereira-Prado V, Tapia-Repetto G, Pires F, Carlos R et al. Primordial odontogenic tumor: Subepithelial expression of Syndecan-1 and Ki-67 suggests origin during early odontogenesis. *Oral Diseases*. 2018;24(1-2):72-77.
39. Ledesma-Montes C, Gorlin RJ, Shear M, Praeliouris F, Mosqueda-Taylor A, Altini M, et al. International collaborative study on ghost cell odontogenic tumours: Calcifying cystic odontogenic tumour, dentinogenic ghost cell tumour and ghost cell odontogenic carcinoma. *J Oral Pathol Med*. 2008; 37: 302-8.
40. Buchner A, Akrish SJ, Vered M. Central dentinogenic ghost cell tumor: An update on a rare aggressive odontogenic tumor. *J Oral Maxillofac Surg* 2016; 74(2): 307-314.
41. Rumayor A, Carlos R, Kirsch HM, De Andrade BA, Romañach MJ, de Almeida OP. Ghost cells in pilomatrixoma, craniopharyngioma, and calcifying cystic odontogenic tumor: histological, immunohistochemical and ultrastructural study. *J Oral Pathol Med*. 2015; 44:284-290.
42. Fregnani ER, Pires FR, Quezada RD, Shih I, Vargas PA, de Almeida OP. Calcifying odontogenic cyst: clinicopathological features and immunohistochemical profile of 10 cases. *J Oral Pathol Med*. 2003; 32:163-170.
43. Gomes da Silva W, Santos TCRB, Cabral MG, Azevedo RS, Pires FR. Clinicopathologic analysis and syndecan-1 and Ki67 expression in calcifying cystic odontogenic tumor, dentinogenic ghost cell tumor, and ghost cell

- odontogenic carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2014;117:626-633.
44. Soares, C., Carlos, R., de Lima Morais, T. and de Almeida, O. Giant dentinogenic ghost cell tumor: A case report. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 2018;1-5.
 45. Soluk LJ, TekKensin M, Pehlivan S, Olgac V, Aksakalli N, Alatli C. Clinical and histopathological investigation of odontomas: Review of the literature and presentation of 160 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 2012;70(6):1358-1361.
 46. Hwang L, Kuo C, Yang J, Chiang W. Autotransplantation of Odontoma-Associated Impacted Teeth—A Treatment Strategy for Satisfying Immediate Esthetic Demands: A Case Report. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2017;75(9):1827-1832.
 47. Gao Y, Yang L, Yamaguchi A. Immunohistochemical demonstration of bone morphogenetic protein in odontogenic tumors. *Journal of Oral Pathology and Medicine*. 1997;26(6):273-277.
 48. Crivelini M, Felipini R, Miyahara G, de Sousa S. Expression of odontogenic ameloblast-associated protein, amelotin, ameloblastin, and amelogenin in odontogenic tumors: immunohistochemical analysis and pathogenetic considerations. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 2011;41(3):272-280.
 49. Wright J. M. Vered M. Update from the 4th edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: odontogenic and maxillofacial bone tumours. 2017; 11: 68-77.
 50. Lin Y, Hsu H, Liu C, Yuan K. A Peripheral Ameloblastic Fibro-Odontoma in a 3-Year-Old Girl: Case Report, Immunohistochemical Analysis, and Literature Review. *Case Reports in Dentistry*. 2014;2014:1-6.
 51. Martínez Martínez M, Romero C, Piña A, Palma Guzmán J, de Almeida O. Pigmented Ameloblastic Fibro-odontoma: Clinical, Histological, and Immunohistochemical Profile. *International Journal of Surgical Pathology*. 2014;23(1):52-60.
 52. Kumar V, Abbas A, Aster J. Robbins basic pathology. 10th ed. Philadelphia: Elsevier; 2018.

53. Liu K, Lin B, Zhao M, Yang X, Chen M, Gao A et al. The multiple roles for Sox2 in stem cell maintenance and tumorigenesis. *Cellular Signalling*. 2013;25(5):1264-1271.
54. Juuri E, Isaksson S, Jussila M, Heikinheimo K, Thesleff I. Expression of the stem cell marker, SOX2, in ameloblastoma and dental epithelium. *European Journal of Oral Sciences*. 2013;121(6):509-516.
55. Weina K, Utikal J. SOX2 and cancer: current research and its implications in the clinic. *Clinical and Translational Medicine*. 2014;3(1):19.
56. Aydın E, Sezgintürk M. A sensitive and disposable electrochemical immunosensor for detection of SOX2, a biomarker of cancer. *Talanta*. 2017;172:162-170.
57. Tsujimoto Y, Yunis J, Onorato-Showe L, Erikson J, Nowell PC, Croce CM. Molecular cloning of the chromosomal breakpoint of B-cell lymphomas and leukemias with the t (11;14) chromosome translocation. *Science*. 1984; 224:1403–1406.
58. Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, Croce CM. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science*. 1985;228:1440–1443.
59. Ashkenazi A, Fairbrother WJ, Levenson JD, Souers AJ. From basic apoptosis discoveries to advanced selective BCL-2 family inhibitors. *Nat Rev Drug Discov*. 2017;16:273–284.
60. May, P., May, E. Twenty years of p53 research: Structural and functional aspects of the p53 protein. *Oncogene* 1999, 18, 7621-7636.
61. Dameron KM, Volpert OV, Tainsky MA, Bouck N. The p53 tumor suppressor gene inhibits angiogenesis by stimulating the production of thrombospondin. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1994;59:483–9.
62. Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, McArthur MJ, Montgomery CA Jr, Butel JS, et al. Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours. *Nature* 1992; 356:215–21.
63. Sherr CJ, Beach D, Shapiro GI. Targeting CDK4 and CDK6: from discovery to therapy. *Cancer Discov*, 2016;6:353–367.
64. Brown NR, Noble ME, Endicott JA, Garman EF, Wakatsuki S, Mitchell E, Rasmussen B, Hunt T, Johnson LN. The crystal structure of cyclin A. *Structure*, 1995;3:1235–1247.

65. Besson A, Dowdy SF, Roberts JM. CDK inhibitors: cell cycle regulators and beyond. *Dev Cell*, 2008;14:159–169.
66. Huang SF, Cheng SD, Chuang WY et al. Cyclin D1 overexpression and poor clinical outcomes in Taiwanese oral cavity squamous cell carcinoma. *World J Surg Oncol*, 2012;10:40.
67. Bartkova J, Lukas J, Strauss M, Bartek J. Cyclin D1 oncoprotein aberrantly accumulates in malignancies of diverse histogenesis. *Oncogene*, 1995;10(4):775–778.
68. Gioacchini M, Alicandri-ciuffelli M, Kaleci S, Magliulo G, Presutti L. The prognostic value of cyclin D1 expression in head and neck squamous cell carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2016;273:801-809.
69. Chau E, Daley T, Darling M, Hamilton D. The expression and immunohistochemical localization of periostin in odontogenic tumors of mixed epithelial/mesenchymal origin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*. 2013;116(2):214-220.
70. Tenorio J, Santana T, Queiroz S, de Oliveira D, Queiroz L. Apoptosis and cell cycle aberrations in epithelial odontogenic lesions: An evidence by the expression of p53, Bcl-2 and Bax. *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal*. 2018;1;23(2):120-125.

ANEXO 3. INSTRUMENTO DE MEDICIÓN DE ELEMENTOS TISULARES

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA, MEDICINA BUCAL Y MAXILOFACIAL



Proyecto: Inmunoexpresión de SOX-2, BCL-2, P53 y Ciclina D1 en odontomas maduros y en desarrollo. Alumno: Isáí Daniel García Montes												
FO (Número)	GÉNERO (Masculino/Femenino)	EDAD (años)	LOCALIZACIÓN (Md/Mx)	ECTO-MESENQUIMA (Presente/Ausente)	EPITELIO (Presente/Ausente)	OSTEODENTINA (Presente/Ausente)	DENTINA TUBULAR (Presente/Ausente)	MATRIZ DE ESMALTE (Presente/Ausente)	CEMENTO (Presente/Ausente)	CELULAS FANTASMA (Presente/Ausente)	AGREGADOS ADAMANTINOMATOSOS (Presente/Ausente)	DXHX
452-08 "B"	Masculino	11	Maxila	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Odontoma en Desarrollo (FOA)
001-14 "A"	Femenino	15	Mandíbula	Ausente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Odontoma Maduro (OdtmCto)
354-14	Masculino	9	Mandíbula	Ausente	Ausente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Odontoma Maduro (OdtmCjo)
379-14 "B"	Femenino	20	Mandíbula	Presente	Presente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Odontoma Maduro (OdtmCjo)
976-15	Masculino	13	Mandíbula	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Odontoma Maduro (OdtmCto)
203-16	Masculino	13	Mandíbula	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Odontoma en Desarrollo (FDA)
793-17	Femenino	39	Maxila	Ausente	Ausente	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente	Odontoma Maduro (OdtmCjo)
004-18 "A y B"	Masculino	14	Mandíbula	Presente	Presente	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Presente	Ausente	Odontoma Maduro (OdtmCto)

Md: mandíbula, Mx: maxila, FDA: Fibrodentinoma ameloblástico, FOA: Fibroodontoma ameloblástico, Odtm: Odontoma, OdtmCto: Odontoma Compuesto y OdtmCjo: Odontoma Complejo.

ANEXO 4. INSTRUMENTO DE VALORACIÓN DE INMUNOHISTOQUÍMICA

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA, MEDICINA BUCAL Y MAXILOFACIAL



Proyecto: Inmunoexpresión de SOX-2, BCL-2, P53 y Ciclina D1 en odontomas maduros y en desarrollo. Alumno: Isáí Daniel García Montes								
FO (Número)	EM		EO		ME		AA	
452-08 "B"	Ciclina D1 (+)	Neg	Neg	Neg	Ciclina D1 (++)	Neg	Neg	BCL-2 (+++)
001-14 "A"	Neg	Neg	Neg	BCL-2 (+++)	Ciclina D1 (+)	BCL-2 (++)	Neg	Neg
354-14	Neg	BCL-2 (++)	Neg	Neg	Ciclina D1 (+)	Neg	Ciclina D1 (+)	BCL-2 (+++)
379-14 "B"	Neg	Neg	Neg	Neg	Ciclina D1 (+)	Neg	Ciclina D1 (++)	Neg
976-15	Neg	Neg	Ciclina D1 (+)	BCL-2 (+)	Neg	Neg	Neg	Neg
203-16	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
793-17	Neg	Neg	Neg	BCL-2 (+)	Neg	Neg	Neg	BCL-2 (++)
004-18 "A y B"	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg

Ectomesénquima (EM), Epitelio odontogénico (EO), Matriz de esmalte (ME), Agregados adamantinomatosos (AA), Leve (+), Moderado (++) e Intenso (+++).

Caso	Folio	Diagnóstico
1	FO-452-08 (B)	Odontoma en desarrollo
2	FO-001-14 (A)	Odontoma maduro
3	FO-354-14	Odontoma maduro
4	FO-379-14 (B)	Odontoma maduro
5	FO-976-15	Odontoma maduro
6	FO-203-16	Odontoma en desarrollo
7	FO-793-17	Odontoma maduro
8	FO-004-18 (A y B)	Odontoma maduro