



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**PATRÓN DE EXPRESIÓN DE CARBOHIDRATOS
SIALILADOS EN AMELOBLASTOMAS**

T E S I S A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A:

ELIZABETH SÁNCHEZ GUTIÉRREZ

DIRECTOR:

DR. JUAN CARLOS CUAUHTÉMOC HERNÁNDEZ GUERRERO

ASESORES:

**DR. CONSTANTINO LEDESMA MONTES
C.D. LUIS FERNANDO JACINTO ALEMÀN**

Este estudio fue financiado por el proyecto PAPIIT No. IN 228407-2



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente a Dios por permitirme llegar a este momento y por que nunca me abandonó en los momentos que más lo necesité. A mis padres y a mi hermano por su apoyo, consejos, cariño y por todo el amor que siempre me lo han expresado con hechos y por ser mi fuente de inspiración. Agradezco a todos mis familiares que me ofrecieron siempre su mano para seguir adelante en mi carrera profesional y en mi vida personal. Agradezco a mi amor César por ser parte esencial de mi vida y por su apoyo sin límite en mi profesión; al igual agradezco a sus padres que han estado en todo momento apoyándome incondicionalmente. Gracias a mis amigas de la Facultad de Odontología por su amistad y por estar conmigo en los buenos y malos momentos.

Gracias al Dr, Juan Carlos Hernández Guerrero por su asesoría y apoyo que siempre tuvo conmigo desde que fue mi profesor de licenciatura.

Gracias al Dr, Constantino Ledesma Montes por el gran interés que siempre mostró y por haber creído en mí trabajo.

Gracias a la Dra. María Dolores Jiménez Farfán por dedicarme parte de su valioso tiempo para salir adelante en mi estudio.

Gracias al C.D. Luis Fernando Jacinto Alemán por hacer lo todo posible para que funcionara el proyecto y por tenerme paciencia.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	4
ANTECEDENTES.....	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	21
JUSTIFICACIÓN.....	21
HIPÓTESIS.....	22
OBJETIVOS.....	22
METODOLOGÍA.....	23
RESULTADOS.....	25
DISCUSIÓN.....	29
CONCLUSIONES.....	32
REFERENCIAS.....	33

INTRODUCCIÓN

Según la OMS¹ Los tumores odontogénicos son lesiones derivadas de los elementos epiteliales ectomesenquimatosos y/o mesenquimatosos que son o fueron parte del aparato formador del diente. Por lo tanto, estos tumores se les encuentran exclusivamente en el esqueleto maxilofacial (intraóseos o centrales) o en el tejido blando que cubre las áreas que dan origen a los dientes (encía) o la mucosa alveolar en las áreas edéntulas.

Dentro de la clasificación de los TO editada por la OMS¹; se encuentra el ameloblastoma, el que deriva de los componentes epiteliales residuales del desarrollo dental. La OMS¹ define a los ameloblastomas como una neoplasia benigna, localmente agresiva, de lento crecimiento y capaz de causar gran deformidad facial. Estas neoplasias presentan variaciones morfológicas y microscópicas que se relacionan con su comportamiento biológico, clasificándolos de la siguiente manera: ameloblastoma sólido/tipo multiquístico (A-S/M), ameloblastoma extraóseo/tipo periférico (A-E/P), ameloblastoma tipo desmoplásico (A-D) y ameloblastoma tipo uniquístico (A-U).

En estudios previos se han observado expresión de carbohidratos sialilados en ameloblastomas^{2,3,4,5,6,7,8,9,10}. Los carbohidratos se unen a proteínas o a lípidos (glicoconjugados) durante la glicosilación, por medio de glicosiltransferasas presentes en el retículo endoplásmico y aparato de Golgi¹¹. La glicosilación alterada de glicoconjugados está entre los cambios moleculares importantes que acompañan la transformación maligna¹². Las lectinas se han utilizado para identificar modificaciones en la glicosilación, por su especificidad al reconocer carbohidratos (Nilsson, 2003)¹³. La sialilación es un proceso complejo elaborado por los glicosiltransferasas

transmembranales Golgi tipo II, los ácidos siálicos influyen las funciones enzimáticas y funcionan como receptores celulares durante la proliferación y la diferenciación celular (Harduin-Lepers, 2005)¹⁴. Uno de los cambios más comunes de los glicoconjugados durante la transformación maligna de los tumores es el aumento de tamaño de oligosacáridos dando como sitios de ramificación para la incorporación del ácido siálico¹². Es posible que la presencia de carbohidratos sialilados en ameloblastomas pueda estar relacionado con en la proliferación celular y la invasividad de estas neoplasias.

ANTECEDENTES

En América Latina, los ameloblastomas comprenden el 22.7% de los TO¹⁵. El promedio de edad del ameloblastoma sólido (SA) es de 41.4 años y de 26.3 años para el ameloblastoma unicuístico (UA) y la proporción en ambos sexos fue casi igual¹⁵. El 50.6% se encontraron en hombres, la edad promedio fue de 31.7 años de edad, con preferencia por la mandíbula (86.4%), la zona más afectada fue el área molares-rama mandibular (77.6%), el tamaño promedio fue de 6.3 cm, con un tiempo promedio de evolución de 4 años, del total, recidivaron el 15.8%¹⁶. El porcentaje de recurrencia fue de 21.7% para SA y 12.6% para UA¹⁵. El UA fue más frecuente, se presentó en personas más jóvenes, su tiempo de evolución fue más corto y la tasa de recurrencia fue menor¹⁶.

A continuación se explicarán las características más relevantes de cada uno de los patrones de ameloblastomas según la OMS:

Ameloblastoma sólido/tipo multicuístico (A-S/M)¹. Es de crecimiento lento, localmente invasivo; de los tumores odontogénicos epiteliales es el que tiene el más alto índice de recurrencia si no es retirado adecuadamente, pero generalmente no tiene tendencia a la metástasis. Convencionalmente es intraóseo y es el segundo más común de los tumores odontogénicos. Se diagnostica con mayor frecuencia en pacientes entre los 30 y 60 años de edad¹.

Este tumor aparece exclusivamente en los maxilares y rara vez en las cavidades sinusales; el 80% de los casos aparece en la mandíbula, en la zona posterior. Excepto en los negros de África donde el tumor puede localizarse en cualquier región de la mandíbula, principalmente la sínfisis¹.

Características clínicas e imagenológicas; generalmente, el A-S/M suele ser pequeño y asintomático. Raramente presenta dolor o parestesia. Imagenológicamente se observa como una lesión radiolúcida, uni o

multilocular, con bordes irregulares, asemejándose a los quistes. Un diente no erupcionado puede estar asociado con la aparición de un A-S/M. La resorción de las raíces de dientes adyacentes es común; un diagnóstico definitivo no se puede realizar sólo con un estudio imagenológico, puesto que sus características radiográficas son similares a los del tumor odontogénico queratoquístico o al mixoma. Microscópicamente presenta dos patrones básicos, folicular y plexiforme. El folicular consiste de islotes de epitelio odontogénico dentro de un estroma fibroso maduro, las células basales de estos islotes generalmente son columnares, de núcleos hipercromáticos y alineadas en empalizada¹. Sus núcleos se desplazan lejos de la membrana basal (polarización inversa)¹⁷, el resto está formado por células de forma triangular, ordenadas de manera laxa y muy separadas, parecidas a las del retículo estrellado del órgano del esmalte durante el periodo de campana de la odontogénesis. En algunos islotes, las células de forma estrellada localizadas en las áreas centrales, degeneran formando microquistes. En algunos casos, las células centrales se transforman en células planas que producen queratina en forma individual o en forma de perlas de queratina y a esta variante histológica se le denomina acantomatosa. Con menor frecuencia, las células centrales aparecen hinchadas y densamente cargadas con gránulos eosinófilos, que ultraestructuralmente se consideran elementos lisosómicos denominándose a este patrón variante de células granulares¹⁷.

El tipo plexiforme no representa una etapa reconocible de la odontogénesis. Está formado por epitelio que prolifera formando una red o malla y muchas veces las células basales carecen de polarización inversa. El patrón está formado por filamentos delgados de epitelio que están en continuidad, existen áreas grandes y pequeñas con aspecto micro-quístico, debido a la estrangulación y degeneración del estroma de tejido conjuntivo. Su tratamiento consiste en la eliminación total de la lesión por medio de resección marginal (en bloque); si el borde inferior de la mandíbula está

afectado es imprescindible una resección segmentaria, en lesiones muy grandes casi siempre se realiza hemimandibulectomía o hemimaxilectomía¹⁷.

Ameloblastoma extraóseo/tipo periférico (A-E/P)¹. Es la contraparte extraósea del A-S/M, abarca del 1.3%-10% de todos los ameloblastomas. Su diagnóstico diferencial incluye el hamartoma odontogénico y el fibroma odontogénico periférico. El 64% de los casos aparece entre la 5ta y 7a décadas de vida. Se localiza alrededor del diente en la zona gingival o sobre la mucosa alveolar en zonas edéntulas. La relación mandíbula y maxilares es de 2.4:1¹. Clínicamente suelen tener aspecto de nódulos sésiles en la encía, firmes, cuyo tamaño oscila entre 0.5 y 2 cm, tienen una superficie lisa y coloración normal. Las lesiones pueden ser eritematosas o estar ulceradas¹⁷. Radiográficamente, son raros los cambios óseos, algunas veces se observa aplanamiento superficial de la tabla cortical con aspecto de una imagen radiolúcida en forma de copa por debajo del nódulo, debido a la presión que la lesión ejerce sobre el hueso. Si la lesión está localizada en el área de la papila interdental, puede producirse separación de los dientes¹⁷. Microscópicamente, el tejido está formado por islotes y filamentos de epitelio odontogénico, por lo general parecido al patrón folicular del A-S/M. Los islotes epiteliales presentan la variante acantomatosa de este patrón, con áreas centrales de formación de queratina o el patrón micro-quístico. Los islotes y los filamentos epiteliales suelen estar rodeados de tejido conjuntivo fibroso. Su tratamiento es la excisión local con un pequeño borde de tejido normal¹⁷.

Ameloblastoma tipo desmoplásico (A-D)¹. Es una variante de ameloblastoma con características clínicas, imagenológicas y microscópicas específicas. La relación entre maxilares y mandíbula es 1:1. La relación con A-S/M es 1:5.4. Predominan en la región anterior mandibular. Clínicamente

suele manifestarse con hinchazón indolora en los maxilares. El tamaño de la lesión oscila entre 1.0 y 8.5 cm de diámetro¹. Su aspecto radiográfico es mixto (radiolúcido/radiopaco) que se parece a una lesión fibro-ósea¹⁷, pueden asociarse resorción de las raíces del diente adyacente y formación de hueso¹.

Microscópicamente, sus islotes epiteliales son muy irregulares, las células epiteliales tienen forma cuboidal ocasionalmente con núcleos hipercromáticos y los islotes tienen un centro arremolinado¹. El componente epitelial está ampliamente separado por tejido fibroso que es denso y de tipo cicatrizal¹⁷. Puede presentarse la formación de trabéculas metaplásicas de osteoide (osteoplasia). Se sabe la existencia de una combinación del A-D con A-S/M llamada "lesión híbrida"¹. Suele ser difícil de tratar, por que parece tener preferencia por penetrar en el hueso trabecular circundante y no se detecta en forma temprana, dificultando así el tratamiento quirúrgico¹⁷.

Ameloblastoma tipo uniuquístico (A-U)¹. Es una variedad del ameloblastoma que se presenta como un quiste¹. Se presentan con mayor frecuencia en pacientes entre los 16 y 20 años de edad asociado con dientes retenidos, rara vez se encuentra la lesión en pacientes de hasta 40 años¹⁷. De todos los ameloblastomas; del 5 al 15%, es un A-U. Su localización es la región posterior de la mandíbula en un 90% de los casos. Generalmente es asintomático. El 80% de los casos está asociado con un tercer molar retenido¹. Radiográficamente, las lesiones suelen estar bien delimitadas y pueden presentar cortical. En la imagen radiolúcida suele estar incluido un diente. La reabsorción y desplazamiento de dientes adyacentes suele suceder¹⁷. Es una lesión expansiva que puede destruir significativamente gran porción de hueso¹.

Microscópicamente, está formado por una cápsula de tejido conjuntivo fibroso denso, uniformemente engrosado, que rodea una sola luz grande llena de líquido. El revestimiento epitelial de la luz es de espesor uniforme y

tiene una capa de células basales en empalizada, ligeramente hipercromática, habitualmente se presenta polarización inversa del núcleo. El resto de las capas se parecen al retículo estrellado del órgano del esmalte. Algunas lesiones contienen áreas donde el epitelio está engrosado, con proyecciones papilares que se extienden hacia la luz (ameloblastoma unicístico intraluminal). El ameloblastoma unicístico mural se diagnostica cuando se observa epitelio ameloblastomatoso dentro de la cápsula con aspecto folicular ó plexiforme¹. El tratamiento de los AU suele ser la enucleación, en caso del patrón mural, el tratamiento sería imprescindible la resección de los bordes para asegurar una extirpación suficiente¹⁷.

En estudios anteriores, los ameloblastomas han mostrado expresión de glicoconjugados. Los glicoconjugados (glicoproteínas y glicolípidos) se encuentran en todos los organismos realizando actividades biológicas esenciales para el desarrollo, crecimiento, función y supervivencia¹⁸ estudios anteriores han localizado expresión de estos glicoconjugados en TO 2,3,4,5,6,7,8,9,10

Las glicoproteínas son conjugados de proteína y glúcidos¹⁹, son productos de la glicosilación, durante la cual se realiza la adición de polisacáridos a las proteínas²⁰. Alrededor de 1960 se creía que los carbohidratos eran compuestos poco activos o insensibles. Pero la investigación de los pasados 20 a 30 años, demostró que la mayor parte de las proteínas, son glicoproteínas. Las glicoproteínas varían en el contenido de carbohidratos desde <1% a >90% en peso. Las cadenas polipeptídicas de las glicoproteínas, como las de todas las proteínas, se sintetizan bajo control genético. Por el contrario, sus cadenas de carbohidratos se generan enzimáticamente y se unen por covalencia al polipéptido, sin la rígida guía de los patrones de ácido nucleico. Los oligosacáridos establecen dos tipos de uniones con las proteínas: uniones a través de N y de O. Los análisis de

secuencia de las glicoproteínas han conducido a las siguientes generalizaciones acerca de estas uniones²¹.

1. En las uniones N-glicosídicas (unión N-) una N-acetilgalactosamina se halla unida con enlace β al nitrógeno amida de un resto de asparagina (Asn), en la secuencia Asn-X-Ser o Asn-X-Thr (treonina), en las que X puede ser cualquier resto aminoácido excepto prolina (Pro) o ácido Aspártico (Asp)²¹.
2. La unión O-glicosídica más común (unión O-) incluye al núcleo disacárido β -galactosil-(1 \rightarrow 3)- α -N-acetilgalactosamina, unido por enlace α al grupo OH, ya sea de Ser o Thr. Es menos común que la galactosa, manosa o xilosa formen α -O-glucósidos con Ser o Thr²¹.

El proceso de formación de las glicoproteínas primarias comienza en el retículo endoplásmico por recorte enzimático de sus tres restos de glucosa y uno de sus restos de manosa. Las glicoproteínas se transportan después al aparato de Golgi en vesículas membranosas para su transformación posterior²¹.

El aparato de Golgi contiene por lo menos tres tipos de sacos diferentes, las cisternas cis, media y trans, cada una de las cuales contiene conjuntos diferentes de enzimas que transforman glicoproteínas. Para completar el proceso de formación y a medida que una glicoproteína atraviesa el apilamiento de Golgi, desde la cisterna cis a la media y a la trans, se recortan los restos de manosa y se añaden restos de N-acetilglucosamina, galactosa, manosa y de ácido siálico. Las glicoproteínas se clasifican en la cisterna trans a fin de ser transferidas a sus destinos celulares respectivos. Las glicoproteínas se transportan en vesículas membranosas entre las diversas localizaciones²¹.

Las glicoproteínas con una cadena polipeptídica determinada exhiben una heterogeneidad considerable; es presumible que sea la consecuencia de una glicosilación incompleta y de la falta de especificidad absoluta de las glicosil transferasas y las glicosialilasas²¹.

Con lo mencionado anteriormente, para completar la formación de glicoproteínas en el aparato de Golgi; a los oligosacáridos se les agrega ácido siálico (N-acetilneuramínico) y cumplen funciones importantes como: participación en el reconocimiento celular, formar parte de receptores para virus o anticuerpos y confieren carga negativa a la superficie celular²². El ácido siálico es un monosacárido complejo, de nueve átomos de carbono; se trata de una nonulosa, ésto es, una cetosa de nueve átomos de carbono; y al mismo tiempo, un ácido aldónico (un derivado de monosacárido en el cual el carbono 1 aparece oxidado como grupo carboxilo)²³

Las células cancerosas que producen metástasis, tienen a menudo muchas glicoproteínas ricas en ácido siálico, lo que las ayuda a entrar al torrente sanguíneo²⁴.

Por otra parte, la localización de sus porciones de carbohidrato puede determinarse por microscopía electrónica. Las glicoproteínas se etiquetan con lectinas que se han conjugado mediante enlaces covalentes con ferritina, una proteína transportadora de hierro que es visible con facilidad en el microscopio electrónico, debido a su núcleo de hidróxido de hierro de densidad electrónica elevada. Los experimentos con diferentes tipos de células y lectinas de especificidades diferentes, han demostrado que los grupos de carbohidratos de las glicoproteínas unidas a la membrana se localizan sobre la superficie externa de la misma²¹.

Las lectinas constituyen un grupo de proteínas de origen no inmune que comparten en común la propiedad de enlazarse de forma específica y reversible a carbohidratos, ya sean libres o que formen parte de estructuras más complejas. Contienen al menos 2 sitios de unión, de ahí que primer lugar puedan enlazarse en a un azúcar específico y en forma secundaria a una molécula glicosilada. Muchos azúcares tienen un lado más polar y otro menos polar; el lado más polar forma puentes de hidrógeno con la lectina y el menos polar forma interacciones hidrofóbicas con residuos de aminoácidos apolares. La suma de todas estas interacciones hace que la

unión entre las lectinas y los carbohidratos sea de gran afinidad y especificidad¹⁹. Las lectinas poseen interesantes propiedades que convierten a esta clase de proteínas en herramientas para numerosas investigaciones que incluyen: estudio de la estructura de las membranas, detección de transformaciones malignas, purificación de glicoconjugados, estudios citogenéticos, así como también en ensayos histoquímicos, enzimáticos y en la tipificación de grupos sanguíneos²⁵.

La observación de que las células cancerosas son más susceptibles a la aglutinación por lectinas, de lo son las células normales, condujo al descubrimiento de que existen diferencias significativas en la distribución de los carbohidratos en la superficie celular de las células cancerosas y no cancerosas. Las células normales interrumpen su crecimiento cuando entran en contacto, fenómeno que se conoce como inhibición por contacto. Sin embargo, las células cancerosas no se hallan bajo este control y por ello, forman tumores malignos²¹.

El estudio de las lectinas lo inició Stillmark en 1888 al describir el fenómeno de hemoaglutinación con extractos de semillas de castor (*Ricinus communis*). A la proteína responsable de la aglutinación de los eritrocitos la denominó Ricina²⁵. Más tarde, Hellin descubrió que el extracto tóxico de semillas de *Abrus precatorius* también producía aglutinación de las células rojas y la denominó Abrina. A fines de los años 40s, Boyd y Reguera reportaron que ciertas semillas contenían aglutininas específicas para antígenos de los grupos sanguíneos humanos²⁵.

La primera lectina que se obtuvo en forma cristalina fue la concanavalina A del frijol *Canavalia ensiformis* en 1919. El término lectinas lo introdujo Boyd y col en 1954. Su interpretación no ha sido uniforme debido al desconocimiento acerca de las funciones fisiológicas de éstas²⁵.

Diversas investigaciones incluyen lectinas para la localización de glicoconjugados en tumores odontogénicos; especialmente en ameloblastomas, donde Vedtofte y Dabelsteen², utilizaron las lectinas WGA, RCA-I y SBA dando los siguientes resultados, con WGA, se hallaron receptores en la membrana celular de las células epiteliales de los ameloblastomas y la distribución de los receptores de WGA en los ameloblastomas no fue relacionada con los tipos histológicos de los tumores. Con la lectina RCA-I se hallaron receptores en la membrana celular de las células epiteliales periféricas de tipo cuboidal, mientras que las células epiteliales periféricas de tipo polarizado no columnar no reaccionaron con RCA-I. Con SBA tuvieron los mismos resultados que con la lectina RCA-I. Masahiko y col³ realizaron histoquímica a ameloblastomas de células granulares donde las lectinas Con A, RCA-I y WGA tiñeron intensamente el citoplasma de las células granulares, al igual se tiñeron intensamente con las lectinas Con A y PA/Con A. Las lectinas PNA y SBA sólo dejaron leve rastro de positividad en las células granulares y en las demás células del ameloblastoma fueron negativos. Ante las lectinas DBA, UEA-I/UEA-II y PEA/LA la respuesta fue negativa en todas las células del ameloblastoma. Nadimi y Toto⁴ examinaron ameloblastomas con las lectinas Con A y WGA, localizándolas en el citoplasma de los filamentos del epitelio en los ameloblastomas plexiformes y con una intensidad más alta en el epitelio escamoso de ameloblastomas acantomatosos. Los ameloblastomas foliculares fueron levemente positivos ante Con A y WGA. El ameloblastoma plexiforme fue negativo ante RCA-I, en cambio del tipo folicular fue positivo observado la positividad como una coloración lineal rojiza intracelular entre las células acantomatosas y dentro de los folículos. Aguirre y col⁵ en su estudio histoquímico con lectinas, encontraron la presencia de glucosa y manosa con inmunotinción intensa en el 73% de los casos de ameloblastomas examinados por medio de Con A. Mientras que los ameloblastomas no expresaron receptores para WGA, ECA, PNA y UEA-I.

Los ameloblastomas uniuíquístico y plexiforme demostraron las mismas glicoproteínas en la membrana celular que los ameloblastomas simples y acantomatosos. Saku y col⁶ utilizaron las lectinas UEA-1, BSA-1 y PNA para el diagnóstico diferencial entre el ameloblastoma quístico y quistes odontogénicos, donde los ameloblastomas fueron positivos a UEA-1 y BSA-1. Los resultados con PNA fueron irregulares. Sólo el 10% de los casos de ameloblastoma folicular y acantomatoso dieron reacción positiva con UEA-1. Estos resultados estaban confinados al área central de los nidos celulares del tumor y se asociaron con queratinización pronunciada. Ichikawa y Yamamoto⁷ realizó un estudio histoquímico de lectinas en ameloblastomas, donde obtuvo que la manosa y las glucosa eran generalmente comunes en casi todas las células en los tipos foliculares y plexiformes, especialmente las células estrelladas y las lesiones quísticas de tipo folicular. La acetilglucosamina, el ácido N-acetilneuramínico y la galactosa eran mucho más abundantes en las células estrelladas del tipo plexiforme que en los de tipo folicular. Yasuda y col⁸, en su estudio histoquímico con diferentes lectinas, encontró que con Con A, WGA y RCA-I, la tinción en los ameloblastomas foliculares fue localizado en la membrana plasmática de las células basales periféricas y en las áreas centrales de los nidos celulares de los tumores, mientras que en los ameloblastomas plexiformes fue localizado en las áreas basales y centrales; por otro lado, Con A y WGA se observó en los cultivos de mucosa oral. Vigneswaran y col⁹ estudió los patrones de expresión de la diferenciación epitelial en ameloblastomas por medio de lectinas, donde al utilizar las lectinas UEA-1 y HPA, los ameloblastomas foliculares y acantomatosos mostraron positividad en células escamosas metaplásicas. Mientras que los demás ameloblastomas eran negativos para ambas lectinas. Utilizó también la lectina PNA que tiñó alrededor de los islotes de los ameloblastomas periféricos, el PNA tiñó con intensidad en la membrana citoplasmática y las células periféricas en empalizadas en la variante acantomatosa de los ameloblastomas periféricos y en los

ameloblastomas intraóseos. El PNA también tiñó sólo en zonas focales en los filamentos intraluminales de las células neoplásicas de la variante plexiforme del ameloblastoma unicístico. Pero las variantes, folicular y desmoplásica de los ameloblastomas intraóseos fueron negativas ante el PNA. Wang y col¹⁰ también investigaron las características clínicopatológicas del AU y los marcadores histológicos para el diagnóstico diferencial con quistes odontogénicos; donde los resultados fueron negativos ante las lectinas UEA-1 y BSA-1 en los componentes epiteliales del AU y del AS/M, excepto que los resultados fueron positivos en las células queratinizadas en varios casos.

Por otro lado, no se ha dado a conocer estudios histoquímicos sobre ameloblastomas utilizando las lectinas Maackia amurensis (MA) y Sambucus nigra (SNA), sólo encontramos su aplicación en tejidos sanos y en el tumor de ascitis de Ehrlich, (adenocarcinoma de pulmón). Naoto y col²⁶ estudió la lectina SNA, y reportó que el SNA tiene una preferencia para los terminales Neu5Ac(α 2-6) Gal que la secuencia Neu5Ac(α 2-3) Gal y que obviamente es una herramienta útil para la separación y análisis de varios glicoconjugados que tienen la secuencia de sialil-Gal/GalNAc. Roth y col²⁷ estudió la SNA y detectó residuos α 2-6 Gal en la superficie Neu5Ac de la célula del tumor de Ehrlich, y la lectina MAA reconoció intensamente la secuencia β 1-4GlcNAc de la α 2-3 Gal de Neu5Ac en las tres variantes de la célula de Ehrlich. Van Damme y col²⁸ también demuestra la especificidad del SNA en residuos (α 2-6) Gal. Sata y col³⁰ realizó un estudio histoquímico con las lectinas MAA y SNA en neoplasias y mucosa normal humana donde obtuvo que MAA actuó recíprocamente con α 2-3 con ácido siálico y SNA con α 2-6 con ácido siálico y SNA se encontró solamente en displasias y carcinomas severos. Imberty y col³⁰ estudió las dos actividades de MAA: hemaglutina y leucoaglutinina y observó que MAL reconoce el ácido siálico y al α 2-6 NeuAc al igual que el MAA. Els³¹ demostró que el SNA y MAH pueden unir a Neu5Ac y Neu5Gc y

que pueden unir a ácidos siálicos con o sin los grupos 9-O-acetil, algo que sorprende por que no muchas lectinas tienen esta característica. También demostró que el MAH y MAL son idénticos en sus características y funciones. Laack y col³² experimentó con varias lectinas para pronóstico en adenocarcinomas, pero MAA y SNA no tuvieron ningún valor.

Sata y col³³ aplicó las lectinas MAA y SNA en adenomas, carcinomas y mucosa normal. Ellos encontraron positividad con MAA en adenomas, carcinomas y mucosa normal. Sin embargo con SNA se mostró negativo en mucosa normal. Esta expresión de los sitios de unión con SNA estaba asociada con la existencia de características histológicas malignas. Holiková y col³⁴, estudió la expresión de alfa 2,6 y alfa 2,3 NAc en epitelio escamoso en carcinomas por medio de lectinas Gal-1, Gal-3, SNL y MAL donde la mucosa orofaríngea dio positivo ante SNL en células basales y negativo en células suprabasales, mientras que con MAL fue negativo en células basales y positivo en células suprabasales. Yasuda y col⁸, realizó inmunohistoquímica en ameloblastomas con lectinas Con A, RCA-I, WGA, DBA, UEA-I, SBA y PNA, donde en el grupo control se utilizó mucosa oral y se observó reacción ante PNA y DBA en el epitelio. Con A y WGA se observaron en toda la estructura de la mucosa oral. Schaumburg-Lever y col³⁵, realizó histoquímica con lectinas UEA-I, BS-I, DBA, SBA, WGA, PNA, NA-PNA, RCA y Con A en biopsias de piel normal. Ellos encontraron positividad en el estrato basal, y los carbohidratos se encontraron en pequeñas cantidades, observando que la incorporación de carbohidratos era mayor conforme las células maduraban y se movían hacia arriba; en el estrato granuloso fue negativa la reacción, las células endoteliales fueron positivas excepto ante Con A y en glándulas sebáceas fueron positivas. Vedtofte y Dabelsteen², estudió con lectinas los receptores presentes en ameloblastomas y mucosa bucal normal usando WGA, RCA Y SBA con

fluorescencia, las tres lectinas se observaron en la capa espinosa de las células de la mucosa o bucal normal.

Jiménez-Farfán y col¹¹ estudió gérmenes dentarios de ratas. Se utilizaron las lectinas SNA, MAA, MRL y ALL. Se observó tinción intranuclear con SNA en el grupo control, pero ésta estaba reducida en los demás grupos. El núcleo de las células de la papila dental tiñó con MAA. Jowett y col³⁶ utilizó anticuerpos y las lectinas PNA, y BSL-I con inmunofluorescencia para estudiar los patrones de expresión de glicoproteínas durante el desarrollo del órgano dental. Encontró que durante la etapa de brote se observó tinción de PNA. Con BSL-I, no existió reacción ameloblastos post-mitóticos, sugiriendo que una especie glicosilada se elimina inicialmente. Estos resultados indican que los patrones de glicosilación de los componentes de la matriz durante la odontogénesis pueden ser importantes ya que varían de forma similar a la de otras glicoproteínas bien conocidas. Zhang y col³⁷ analizaron el papel de la hormona de crecimiento durante la odontogénesis de ratas con las lectinas Con A, WGA, HPA, UEA y LPA. Ellos encontraron que dicha hormona regula un componente N-acetilgalactosamina durante la odontogénesis de ratas. Asimismo, demostraron que el aumento de reacción en los órganos dentales se daba al administrar la hormona de crecimiento en las ratas. Sugiriendo que la hormona de crecimiento puede regular este componente en las matrices y para el crecimiento normal en los dientes. Lemus y col³⁸ realizaron un estudio con lectinas en órganos dentales de embriones de conejo. Ellos obtuvieron que las lectinas SBA, ELA y LTA fueran negativas en las etapas dentales de casquete y campana. Mientras que BSA-I y UEA-I fueron positivos en estas etapas. Ellos asumieron que los cambios en los patrones de glicosilación de estos glicoconjugados pueden indicar su papel durante la interacción célula-célula y pudieran asociarse con la actividad funcional odontoblástica y ameloblástica. Blottner y Linder³⁹ realizaron un estudio con las lectinas Con A, PNA y WGA durante la odontogénesis en ratas. Durante los días fetales 13.5 y 14, los gérmenes dentales se tiñeron

fuertemente con Con A. Entre los días 17 y 19.5 el retículo estrellado dio positivo con PNA. Entre los días 13.5 y 14 la membrana basal fue positiva ante WGA. Sugiriendo que los carbohidratos presentes en la membrana dental interna en los días 17 y 19.5 pueden estar asociados a las interacciones célula-matriz durante la citodiferenciación. Saku y col⁶, al realizar un estudio histoquímico con lectinas en ameloblastomas quísticos y quistes odontogénicos, encontraron resultados negativos con UEA-I y BSA-I. Con PNA, encontraron marcaje irregular. Ellos concluyeron que el marcaje con UEA-1 y BSA-1 es útil para diferenciar los quistes no-neoplásicos de los ameloblastomas quísticos. Jowetty col⁴⁰ realizaron estudios sobre la sialilación de sacáridos en las terminales de glicoconjugados en gérmenes dentales con las lectinas PNA, WGA y BSL-I. Ellos encontraron que las terminales sialiladas están enmascaradas o perdidas en diferentes etapas de diferenciación del germen dental, concluyendo que la pérdida de terminales de galactosa y galactosamina está relacionada con la diferenciación celular. Nadimi y Toto⁴, también realizó inmunohistoquímica en ameloblastomas donde el control (gérmenes dentarios) se mostró positivo ante las lectinas Con A y WGA. También fue positivo en ameloblastos y odontoblastos, pero fueron negativos con RCA-I, mientras que los pre-ameloblastos y las células del epitelio externo del órgano esmalte fueron positivos. Dan⁴¹, examinó gérmenes dentales por medio de lectinas UEA-I, PNA, SBA y WGA. UEA-I se mostró positiva en estrato intermedio y retículo estrellado pero negativa en ameloblastos y en células del epitelio externo del órgano esmalte. Los patrones de la reacción de PNA en estas células fueron diferentes a los de UEA-I. Nakamura y Ozawa⁴², utilizaron Con A, UEA-I, PNA, MPA y WGA en gérmenes dentarios. Estas lectinas estaban en el estrato intermedio en la última etapa de diferenciación durante el estadio de secreción temprana de los ameloblastos. Ellos concluyeron que las células del estrato intermedio y las del estrato papilar actúan durante la mineralización de la matriz de esmalte. Kobayashi y col⁴³, sugieren que las lectinas F-MPA y F- Con A son

útiles como indicadores del momento cuándo el esmalte la dentina comienzan a formarse.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La expresión de carbohidratos sialilados en los TO, por medio de lectinas; nos refiere a la presencia de macromoléculas específicas (por ejemplo: glicoconjugados) que estando alterados, pueden estar asociados con el crecimiento y proliferación de tumores, al igual que su metástasis. Los carbohidratos sialilados asociados a malignidad en neoplasias, son productos de glicosilación alterada debido a varios factores que deben ser estudiados. En estudios realizados con anterioridad sobre los ameloblastomas, se ha encontrado expresión de carbohidratos sialilados, pero estos estudios son pocos y aislados.

Dicho lo anterior, nos causa una gran inquietud la presencia de carbohidratos sialilados en ameloblastomas, ya que se conoce bien que éstos son neoplasias benignas.

JUSTIFICACIÓN

En virtud que hay escasez de información a cerca de los patrones de expresión de carbohidratos sialilados en ameloblastomas, se hace indispensable realizar nuevos estudios para profundizar dichos conocimientos, así como también abrir opciones en el uso de diferentes lectinas, y por eso la necesidad de utilizar las lectinas *Sambucus nigra* (SNA) y *Maackia amurensis* (MA) para conocer la presencia y funciones de los carbohidratos sialilados en células sanas y de ameloblastoma y además saber si la utilización de estas lectinas pueden usarse como prueba para el diagnóstico y pronóstico de ameloblastomas.

HIPÓTESIS

La expresión de lectinas es diferente entre las células que forman a los AU comparado con las células de los ameloblastomas sólidos y células normales.

OBJETIVOS.

Objetivo General

Identificar y analizar el patrón de expresión de carbohidratos sialilados en ameloblastomas y células normales por medio de las lectinas SNA y MAA.

Objetivos Específicos

- Conocer la utilidad de las lectinas SNA y MAA como método de estudio histoquímico de los ameloblastomas.
- Saber el comportamiento y función que tienen los carbohidratos sialilados encontrados en tejido sano y los ameloblastomas.
- Conocer el grado de diferenciación que tienen las células que forman los ameloblastomas.
- Dependiendo de la expresión de los carbohidratos sialilados, conocer el pronóstico de los ameloblastomas estudiados.

METODOLOGÍA

Se seleccionaron cuatro casos diagnosticados como ameloblastoma y un caso diagnosticado como epitelio normal obtenidos en el Departamento de Patología Bucal de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM, y se separaron los bloques de parafina. Se realizaron tres cortes a 5 μ por cada bloque, los que se adhirieron al portaobjetos con silano y uno de ellos se tiñó con H y E para confirmar el diagnóstico.

En la siguiente tabla se muestra datos clínicos de dichos casos de ameloblastomas.

TABLA 1. DATOS CLINICOS								
CASO	BIOPSIA	EDAD	SEXO	LOCALIZ	LOC. OD.	EVOLU (años)	TAM (cm.)	DX FINAL
1	IO33Q06	19	F	Zona de 3er molar inf. der.	38			ASF
2	FO62403	37	M				0.5	ASMF
3	FO77803	10	F	Zona premolar maxilar izq.	25-25	0.5	2.1	AUP
4	FO47306	40	M	Zona del cuerpo y rama mandibular izq.	37	3		AQM

Dos cortes se desparafinizaron, deshidrataron y se lavaron con PBS 0.1M, se realizó bloqueo de peroxidasa endógena con H₂O₂ al 3%, se incubaron en PBS-Albúmina al 0.2%, se lavaron en PBS-Tritón al 0.2% y se incubaron con

las lectinas MAA y SNA (Tabla 2) en incubadora a 37° C durante 2 horas. Después se incubaron con la técnica de estreptavidina-peroxidasa durante 1 hora y se revelaron con diaminobenzidina (DAB). Finalmente se deshidrataron y se les colocó el cubreobjetos.

TABLA 2.

LECTINA*	CARBOHIDRATO QUE RECONOCE
MAA (<i>Maackia amurensis</i>)	Ácido siálico α (2,3) galactosa β (1,4)galactosa
SNA (<i>Sambucus nigra</i>)	Ácido siálico α (2,6)

*Vectorlabs ^{11,12}

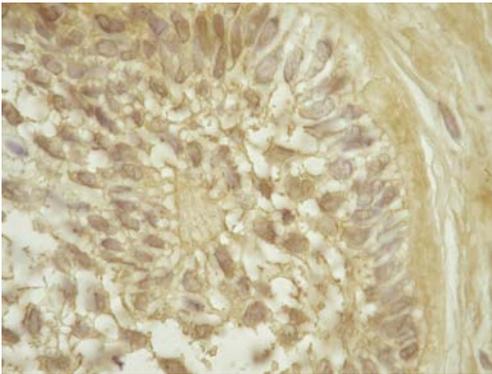
Se registró la presencia de carbohidratos sialilados en los cortes, según su ubicación celular:

- A. Núcleo
- B. Membrana nuclear
- C. Membrana citoplasmática

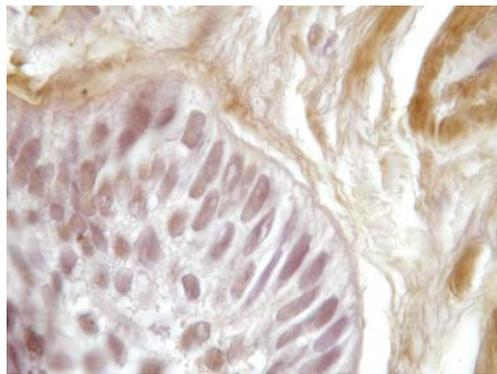
RESULTADOS

Las características clínicas de los casos estudiados se resumen en la tabla 3.

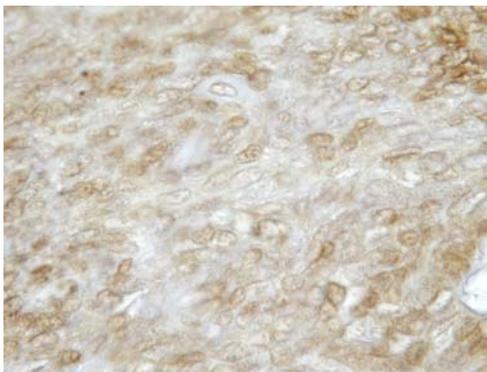
En el presente estudio, los ameloblastomas sólidos foliculares, la expresión de carbohidratos sialilados por medio de ambas lectinas (MAA y SNA) fue idéntica.



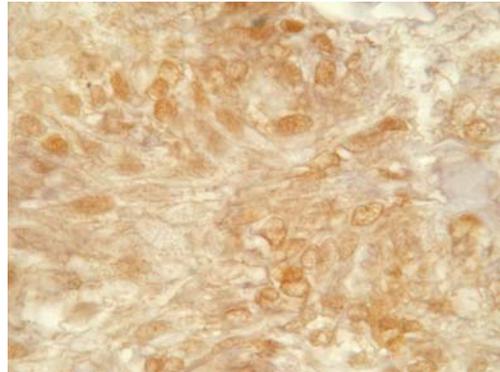
Ameloblastoma Sólido Folicular (MAA)



Ameloblastoma Sólido Folicular (SNA)

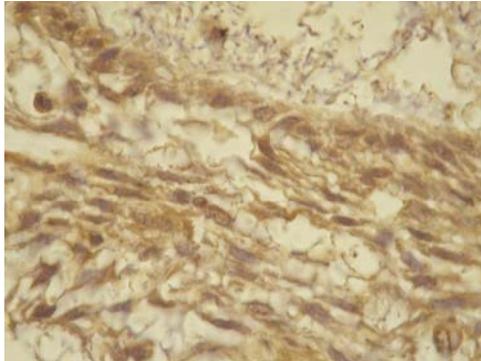


Ameloblastoma Sólido Multiquístico Folicular (MAA)

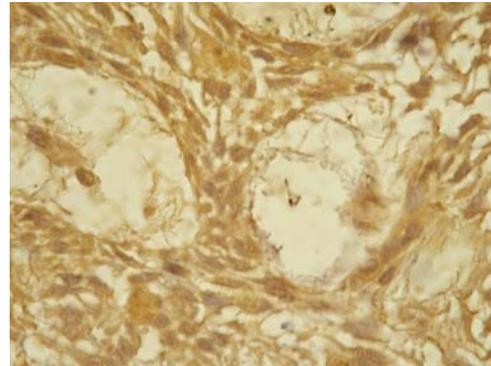


Ameloblastoma Sólido Multiquístico Folicular (SNA)

En el caso de ameloblastoma quístico plexiforme, existió positividad leve a MAA y moderado a SNA en los estratos analizados.

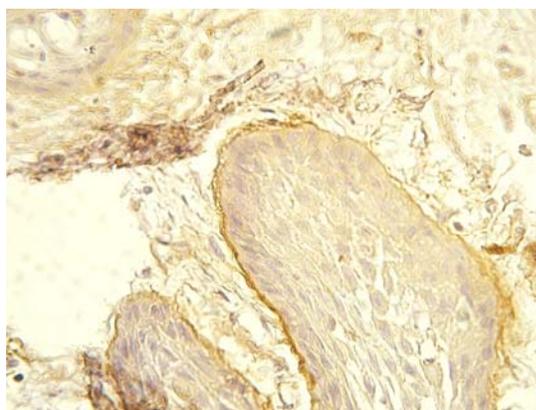


Ameloblastoma Quístico Plexiforme (MAA)

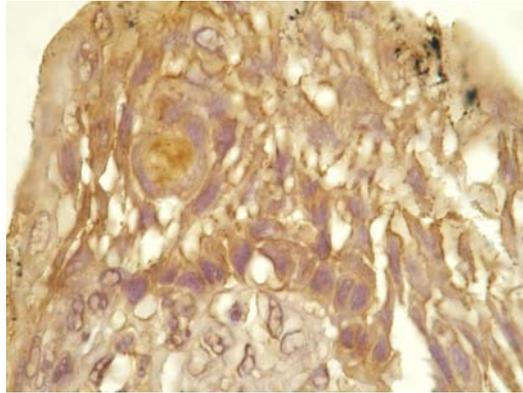


Ameloblastoma Quístico Plexiforme (SNA)

Decidimos analizar por separado al componente luminal del ameloblastoma quístico con componente mural. El crecimiento plexiforme de este caso fue parecido al del componente luminal del ameloblastoma quístico de crecimiento luminal, excepto en que la capa basal del primero fue negativa a MAA. El componente mural del ameloblastoma quístico presentó positividad leve a MAA y moderada a SNA. En el componente de revestimiento quístico se observó que solo algunas células basales de revestimiento fueron levemente positivas a MAA y que todo el epitelio de revestimiento fue moderadamente positivo a SNA.

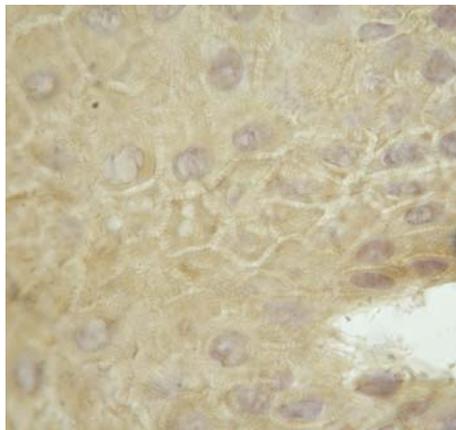


Ameloblastoma Quístico Plexiforme con componente mural, epitelio quístico (MAA)

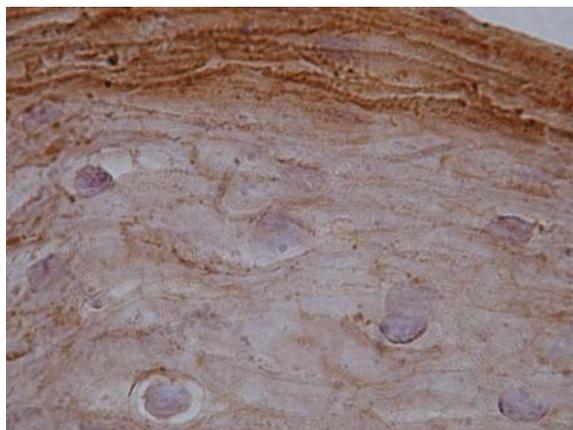


Ameloblastoma Quístico Plexiforme con componente mural, crecimiento intraluminal (SNA)

En el caso del grupo control. El epitelio normal que su capa basal responde negativamente ante MAA y SNA, mientras que su estrato espinoso presentó reacción de leve a moderada con ambas y las células del estrato paraqueratinizado fueron moderadamente positivas a MAA y a SNA. Las glándulas sebáceas fueron positivas a MAA observándose que la positividad aumentaba conforme al grado de diferenciación celular. Con SNA todas las células mostraron positividad intensa. Se observaron algunos restos de Serres. En estas estructuras, solamente algunas células presentaron positividad leve a MAA. Con SNA todas las células presentaron positividad moderada. El músculo estriado siempre presentó negatividad con MAA y con SNA la positividad fue moderada.



Epitelio normal (MAA)



Epitelio normal (SNA)

A continuación los resultados se presentan en la tabla 3.

TABLA 3. RESULTADOS			
+ (leve) ++ (moderado) +++(intenso)			
No.		MAA	SNA
<i>IO33Q06</i> <i>Ameloblastoma</i> <i>Sólido Multiquístico</i> <i>Folicular</i>	Capa Basal	(+) ++ Focal	(+) ++ Focal
	Retículo Estrellado	+	+
<i>FO62403</i> <i>Ameloblastoma</i> <i>Sólido</i> <i>Multiquístico</i> <i>Folicular</i>	Capa Basal	++	+
	Retículo estrellado	+	+
<i>FO77803</i> <i>Ameloblastoma</i> <i>Uniquístico</i> <i>Plexiforme</i>	Capa Basal	+	++
	Retículo estrellado	+	++
<i>FO47306</i> <i>Ameloblastoma</i> <i>Quístico</i> <i>Plexiforme con</i> <i>componente</i> <i>Mural.</i>	Epitelio Quístico	(-) Escasas. células basales +	++
	Crecimiento luminal		
	Capa Basal	-	+
	Retículo estrellado	+	+
	Ameloblastoma en T. C.		
	Capa basal	+	+
	Retículo estrellado	+	+
CONTROLES			
<i>Epitelio normal</i>	Capa Basal	-	-
			Memb. Citopl.
	Espinoso	+ a ++	++
	Paraqueratinizado	++	++
<i>Epitelio asociado</i> <i>a ameloblastoma</i>	Capa Basal	-	+
	Espinoso	+ a ++	+ a ++
	Paraqueratinizado	+	++
<i>Glándulas</i> <i>sebáceas</i>	Capa Basal	+	+++
	Células Intermedias	++	+++
	Células Secretorias maduras	+++	+++
<i>Restos de Serres</i>		(-) + Focal	++
<i>Músculo</i>		-	++

DISCUSIÓN

Los tumores odontogénicos son lesiones raras que aparecen en los huesos maxilares, la mandíbula y en tejido blando de la cavidad bucal, su formación es exclusiva en zonas donde existe se desarrollan órganos dentarios¹. De ellos, el ameloblastoma es la neoplasia con mayor frecuencia dentro de la amplia gama de neoplasias que representas estos tumores odontogenicos¹⁵. Existen numerosos estudios acerca de la expresión de carbohidratos en tumores odontogénicos detectados por medio de lectinas^{2,3,4,5,6,7,8,9,10}. Los carbohidratos juegan un papel importante en la proliferación, diferenciación y muerte celular. Los ácidos siálicos son los carbohidratos terminales durante el proceso de glicosilación, han sido considerados como marcadores de diferenciación celular. Hasta el momento no se han realizado estudios para determinar la expresión de estos carbohidratos sialilados en ameloblastomas. La expresión de ácidos sálicos a través del uso de lectinas MAA ($\alpha 2$, 3 Neu5Ac, $\beta 1$, 4 Gal) y SNA ($\alpha 2$, 6 Neu5Ac), está relacionada con la diferenciación celular y el comportamiento biológico de neoplasias tales como los carcinomas escamosos³⁴.

En este estudio se observó que en los dos casos de ameloblastoma sólido folicular, la expresión de carbohidratos sialilados por medio de ambas lectinas fue idéntica en los componentes basales (de leve a moderado) y retículo estrellado (leve). En vista de que las lectinas usadas en este estudio están relacionadas con la diferenciación, éste resultado sugiere que la diferenciación celular en ambos casos fue la misma.

Jiménez-Farfán y col¹¹ encontraron que el órgano del esmalte fue moderadamente positivo a MAA y el retículo estrellado tuvo expresividad leve a SNA comparando nuestros resultados con dicho estudio¹¹ y en vista que las células basales del ASM folicular presentaron la misma expresividad a MAA que las células del epitelio interno, es posible suponer que pertenecen a la misma estirpe. Siguiendo con el mismo tenor, las células del

ameloblastoma parecidas al retículo estrellado, presentaron la misma expresividad a esta lectina que las células del retículo estrellado de los órganos dentarios normales estudiados por Jiménez-Farfán col¹¹. Por ello también es posible sugerir que estos dos grupos celulares son de la misma estirpe.

Jiménez-Farfán y col¹¹ encontraron que el epitelio interno del órgano del esmalte fue moderadamente positivo con MAA, no así para el retículo estrellado que tuvo expresividad leve a SNA. Comparando nuestros resultados con dicho estudio, y en vista de que las células basales del AS/M folicular y las células del epitelio interno órgano del esmalte reportadas presentaron la misma expresividad para el carbohidrato α 2, 3 Neu5Ac por medio de la lectina MAA, podemos sugerir la relación entre ambas estructuras. El análisis de las células del ameloblastoma parecidas al retículo estrellado presentaron la misma expresividad del carbohidrato α 2, 3 Neu5Ac que las células del retículo estrellado de los órganos dentarios normales según lo reportado, esto refuerza la idea de que estos carbohidratos se encuentran relacionados con la diferenciación celular¹¹.

El A-U plexiforme demostró una expresión leve con la lectina MAA, no así para el carbohidrato α 2, 6 NeuAc con la lectina SNA que fue moderada. Estos datos son contrarios a lo demostrado en los dos AS/M, pues la expresión de SNA en estos fue leve. El componente plexiforme fue el de mayor positividad. Los nichos epiteliales, no muestran las características histológicas típicas de un ameloblastoma: la empalizada celular y la polarización nuclear¹. La expresión de estos ácidos siálicos va relacionada con el grado de diferenciación, es decir, la expresión leve de SNA en la capa basal del AM/S folicular, nos sugiere que estas células se encuentran menos diferenciadas respecto a las localizadas en los componentes plexiforme de los AQP. Holiková³⁴ mostró un patrón semejante en mucosa, pues al presentar un mayor grado de displasia estas incrementaban su expresión para SNA.

En nuestros casos de AQP, encontramos que la expresividad a MAA solamente varió en que la capa basal del componente mural fue negativa. Es posible que esta variación se debiera a la influencia de las células ameloblastomatosas del componente mural sobre las células basales del crecimiento luminal. En el revestimiento quístico de este caso pudimos observar que algunas de las células fueron levemente positivas a MAA. El estudio de Jiménez-Farfán col¹¹ demostró que las células del retículo estrellado presentaron la misma expresividad a esta lectina. Ello permite sugerir que aunque se considera que los revestimientos de los quistes odontogénicos derivan del epitelio interno del órgano del esmalte, algunas células de dichos revestimientos pudieran derivar del retículo estrellado.

Asimismo, comparando la expresividad de ambas lectinas en las islas ameloblastomatosas del componente mural con las células del AS/M encontramos que la expresividad fue idéntica con ambas lectinas, solamente en las islas de la neoplasia se observaron algunas células moderadamente positivas. Ello sugiere que el componente mural realmente representa el crecimiento de un ameloblastoma sólido asociado a la capsula del AQP

De acuerdo a nuestros resultados, podemos deducir que el grado de diferenciación de las células de los AS/Ms analizados en este estudio tienen un grado de diferenciación comparable a las células de los estratos espinoso y paraqueratinizado del epitelio de la mucosa de la cavidad bucal. Asimismo, pudimos observar que la expresividad a MAA en los epitelios normales y asociado a ameloblastoma que son virtualmente idénticos, solamente la expresividad en el estrato paraqueratinizado fue menor en el epitelio asociado al ameloblastoma. Ésto demuestra que existe una relación entre el epitelio con la neoplasia, es decir, expresión de ácidos siálicos en la mucosa de la cavidad bucal se modifica por la presencia de una neoplasia.

CONCLUSIONES

1.- Los resultados de este estudio sugieren que existe parecido entre las células de los ameloblastomas estudiados con las células del órgano del esmalte normal.

2.- El componente mural del AQP realmente representa el crecimiento de un ameloblastoma sólido asociado a la cápsula del AQP.

3.- Existe influencia de las células ameloblastomatosas del componente mural sobre las células basales del crecimiento luminal.

4.- La expresión de ácidos siálicos en la mucosa de la cavidad bucal se modifica por la presencia de un ameloblastoma.

REFERENCIAS.

1. Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sindransky D. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology & Genetics of Head and Neck Tumours. Lyon: IARC Press, 2005:283-4,294-300.
2. Vedtofte P, Dabelsteen E. Receptors for the lectins wheat germ: Ricinus communis I and soybean in ameloblastomas and normal oral mucosa. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1981;89:439-49.
3. Masahiko M, Michiaki N, Kouji T, Kazumitsu K. Biological significances in granular cells of ameloblastoma-histochemical identification of sugar residues and filamentous proteins, morphometry and DNA cytometry of granular cells. *Cell Mol Biol* 1985;31:265-79.
4. Nadimi H, Toto PD. Product identification of ameloblastomas; an immunohistochemical study. *J Oral Pathol* 1986;15:439-44.
5. Aguirre A, Takai Y, Meenaghan M, Neiders M, Natiella JR. Lectin histochemistry of ameloblastomas and odontogenic keratocysts. *J Oral Pathol Med* 1989;18:68-73.
6. Saku T, Shibata Y, Koyama Z, Cheng J, Okabe H, Yeh Y. Lectin histochemistry of cystic jaw lesions: an aid for differential diagnosis between cystic ameloblastoma and odontogenic cysts. *J Oral Pathol Med* 1991;20:108-13.
7. Ichikawa N, Yamamoto H. A study of lectin histochemistry in ameloblastoma. *Indian J Dent Res.* 1991;2(3-4):40-4.
8. Yasuda K, Nakanishi A, Satomura K, Nagayama M, Hayashi Y. The behaviour of human ameloblastoma tissue in collagen matrix in vitro: an immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med* 1991;20:187-90.
9. Vigneswaran N, Whitaker SB, Budnick SD, Waldron CA. Expression patterns of epithelial differentiation antigens and lectin-binding sites in

- ameloblastomas: a comparison with basal cell carcinomas. *Hum Pathol* 1993;24:49-57.
10. Wang Y, Wang S, Chen X. A study of clinicopathology and lectin immunohistochemistry in unicystic ameloblastoma. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 1999;34:226-8.
 11. Jimenez-Farfán D, Guevara J, Zenteno E, Hernandez-Guerrero JC. Alteration of the sialylation pattern of the murine tooth germ after ethanol exposure. *Birth Defects Research. (Part A)* 2005;73:980-8.
 12. Rajpura KB, Patel PS, Chawda JG, Shah RM. Clinical significance of total and lipid bound sialic acid levels in oral pre-cancerous conditions and oral cancer. *J Oral Pathol Med* 2005;34:263-7.
 13. Nilsson C. Lectins. Proteins that interpret the sugar code. *Anal Chem* 2003; 8:349-353.
 14. Harduin-Lepers A, Mollicone R, Delannoy P. The animal sialyltransferases and sialyltransferase-related genes: a phylogenetic approach. *Glycobiology* 2005; 15(8):805-817.
 15. Ledesma-Montes C, Mosqueda-Taylor A, Carlos-Bregni R, de León ER, Palma-Guzmán M, Páez-Valencia C, Meneses-García A. Ameloblastomas: a regional Latin-American multicentric study. *Oral Diseases* 2007. In press. Doi:10.1111/j.1601-0825.2006.01284.x.
 16. Ledesma-Montes C. Frecuencia de Ameloblastoma en América Latina. Estudio Clínico-Patológico. Tesis Doctoral. UNAM. 2001.
 17. Sapp PJ, Eversole RL, Wyscki PG. *Patología Oral y Maxilofacial Contemporánea*. 2ª. Ed. Madrid: Elsevier, 2005:136-43
 18. Jiménez M, Márquez H, Sánchez A, Romero J. Alteraciones de la glicosilación en enfermedades humanas. *Rev Inst Nac Enf Resp Méx.* 2002;15(1):39-47.
 19. Lehninger N, Cox M. *Principios de Bioquímica*. Barcelona, España. Ediciones Omega. 2006:265

20. Glicosilación. Disponible en:
<http://es.wikipedia.org/wiki/Glicosilaci%C3%B3n>
21. Voet D, Voet Y. Bioquímica. Barcelona: Ediciones Omega. 1992:280-1; 286-7; 289-90.
22. Aminodervados. Disponible en:
<http://www.ehu.es/biomoleculas/HC/SUGAR32.htm>
23. Ácido siálico. Disponible en:
<http://www.usal.es/dbbm//modmol/modmol02/mm02t02.htm>
24. Ácido siálico. Disponible en: http://en.wikipedia.org/wiki/Sialic_acid
25. Hernández P, Martín O, Rodríguez Y, Ganem F. Aplicaciones de Lectinas. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter 1999;15:91-5.
26. Naoto S, Irwin J, Goldstein WG, Broekaert MN. The elderberry (*Sambucus nigra* L) bark lectin recognizes the Neu5Ac(α 2-6)Gal/GalNAc sequence. J Biol Chem 1987;262:1596-1601.
27. Roth J, Li WP, Knibbs RN, MacCallum DK, Song Z, Goldstein IJ. Differential expression of cell surface sialoglycoconjugates on wild-type and cultured Ehrlich tumor cells as revealed by quantitative lectin-gold ultrastructural cytochemistry. Am J Pathol 1991;139:1435-48.
28. Roth J, Li WP, Knibbs RN, MacCallum DK, Song Z, Goldstein IJ. Differential expression of cell surface sialoglycoconjugates on wild-type and cultured Ehrlich tumor cells as revealed by quantitative lectin-gold ultrastructural cytochemistry. Am J Pathol 1991;139:1435-48.
29. Sata T, Lackie PM, Taatjes DJ, Peumans W, Roth J. Detection of the Neu5 Ac (α 2,3) Gal (β 1,4) Glc Nac sequence with the leukoagglutinin from *Maackia amurensis*: light and electron microscopic demonstration of differential tissue expression of terminal sialic acid in α 2,3- and α 2,6-linkage. J Histochem Cytochem. 1989;37:1577-88.
30. Imberty A, Gautier C, Lescar J, Pérez S, Wyns L, Loris R. An unusual carbohydrate binding site revealed by the structures of two *Maackia*

amurensis lectins complexed with sialic acid-containing oligosaccharides. J Biol Chem 2000 Jun 9;275(23):17571-8.

31. Els C, Brinkman-Van der Linden M, Sonnenburg JL, Varki A. Effects of sialic acid substitutions on recognition by *Sambucus nigra* agglutinin and *Maackia amurensis* hemagglutinin. Anal Biochem 2002; 303:98-104.
32. Laack E, Nikbakht H, Peters A, Kugler C, Jasiewicz Y, Edler L. Lectin histochemistry of resected adenocarcinoma of the lung. Am J Pathol 2002;160:1001-8.
33. Sata T, Roth J, Zuber C, Stamm B, Heitz PU. Expression of alpha 2,6-linked sialic acid residues in neoplastic but not in normal human colonic mucosa. A lectin-gold cytochemical study with *Sambucus nigra* and *Maackia amurensis* lectins. Am J Pathol 1991;139:1435-48.
34. Holíková Z, Hrdlicková-Cela E, Plzák J, Smetana JR, Betka J, Dvoránková B. Defining the glycophenotype of squamous epithelia using plant and mammalian lectins. Differentiation-dependent expression of α 2,6- and α 2,3-linked N-acetylneuraminic acid in squamous epithelia and carcinomas, and its differential effect on binding of the endogenous lectins galectins-1 and -3. AMPIS 2002;110:845-56.
35. Schaumburg-Lever G, Alroy J, Ucci A, Lever WF. Distribution of carbohydrate residues in normal skin. Arch Dermatol Res 1984;276:216-23.
36. Jowett AK, Kimber SJ, Ferguson WJ. Immunofluorescent lectin binding patterns and glycoprotein co-localization in the developing murine molar tooth. Archs Oral Biol 1992; 37(4):303-314.
37. Zhang CZ, Young WG, Breiphof W, Doehrn S, Li H, Waters MJ. Growth hormone regulates and N-acetylgalactosamine component in odontogenesis: a specific lectin-binding study in the Lewis dwarf rat. J Oral Pathol Med 1994;23:193-9.

38. Lemus D, Lemus R, Romero S, Arancibia N. Detection of sugar residues in rabbit embryo teeth with lectin-horseradish peroxidase conjugate: II. A light microscopical study. *J Morphol* 1997; 231:175-84.
39. Blottner D, Lindner E. Light-microscopic studies on spatial and temporal binding of the lectins Concanavalin A, Wheat-Germ Agglutinin and Peanut Agglutinin in early rat odontogénesis. *Archs Oral Biol* 1987;32(1):35-42.
40. Jowett AK, Kimber SJ, Ferguson MW. Sialylation of terminal saccharides of glycoconjugates expressed by murine molar tooth germs developing in vitro and in vivo. *J Anat* 1994;185:85-94.
41. Dan M. Lectin binding patterns of odontogenic epithelium in the rat during various phases of molar tooth development. *J Osaka Dent Univ* 1997; 31(1-2):39-46.
42. Nakamura H, Ozawa H. Lectin cytochemistry on the stratum intermedium and the papillary layer in the rat incisor enamel organ. *Arch Histol Cytol* 1990;53(4):351-69.
43. Kobayashi Y, Akita H, Kagayama M, Kindaichi K. Lectin-binding sites in the growing end of rat incisors. *Shika Kiso Igakkai Zasshi* 1989; 31(1):1-12.
44. *Maackia amurensis*. Disponible en:
<http://www.vectorlabs.com/products.asp?catID=246&locID=168>
45. *Sambucus nigra*. Disponible en:
<http://www.vectorlabs.com/products.asp?catID=246&locID=168>
46. Ito Y, Abiko Y, Tanaka Y, Rahemtulla F, Kaku T. Immunohistochemical localization of large chondroitin sulfate proteoglycan in odontogenic tumor. *Med Electron Microsc* 2002;35:173-7.
47. Pripatnanont P, Song Y, Harris M, Meghji S. In situ hybridisation and immunocytochemical localisation of osteolytic cytokines and adhesion molecules in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 1998;27:496-500.

48. Slootweg P, de Wilde P, Vooijs P, Ramaekers F. Oral granular cell lesions. An immunohistochemical study with emphasis on intermediate-sized filaments proteins. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1983;402:35-45.
49. Mandel U, Hamilton Therkildsen M, Reibel J, Sweeney B, Matsuura H, Hakomori S. Cancer-associated changes in glycosylation of fibronectin. Immunohistological localization of oncofetal fibronectin defined by monoclonal antibodies. *APMIS* 1992;100:817-26.
50. Dabelsteen E, Clausen H, Mandel U. Carbohydrate changes in squamous cell carcinomas. *AMPIS Suppl.* 1992;27:130-8.
51. Dabelsteen E, Clausen H, Mandel U. Aberrant glycosylation in oral malignant and premalignant lesions. *J Oral Pathol Med* 1991;20:361-8.
52. Sandra F, Hendarmin L, Nakao Y, Nakamura N, Nakamura S. TRAIL cleaves caspase-8, -9 and -3 of AM-1 cells: a possible pathway for TRAIL to induce apoptosis in ameloblastoma. *Tumour Biol* 2005;26:258-64.
53. Yagishita H, Taya Y, Kanri Y, Matsuo A, Nonaka H, Fujita H. The secretion of amelogenins is associated with the induction of enamel and dentinoid in an ameloblastic fibro-odontoma. *J Oral Pathol Med* 2001;30:499-503.
54. Kariniemi AL, Holthofer H, Vartio T, Virtanen I. Cellular differentiation of basal cell carcinoma studied with fluorescent lectins and cytokeratin antibodies. *J Cutan Pathol* 1984;11:541-8.
55. Matsuo A, Ueno S. Immunohistochemical demonstration of keratin in ameloblastoma as an indication of tumor differentiation. *J Oral Maxillofac Surg* 1991;49:282-8.
56. Kumamoto H, Ooya K. Immunohistochemical and ultrastructural investigation of apoptotic cell death in granular cell ameloblastoma. *J Oral Pathol Med* 2001;30:245-50.

57. Kumamoto H, Ohki K; Ooya K. Expression of p63 and p73 in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2005;34:220-6.
58. Chen J, Aufdemorte TB, Jiang H, Liu AR, Zhang W, Thomas HF. Neoplastic odontogenic epithelial cells express bone sialoprotein. *Histochem J* 1998;30:1-6.
59. Wang J, Zhong M, Zhang LZ, Wang Y, Wang ZY. Expression of ICAM-1 and VCAM-1 in human ameloblastoma and odontogenic keratocyst. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2003;12:273-6.
60. El-Sissy NA. Immunohistochemical detection of p53 protein in ameloblastoma types. *East Mediterr Health J* 1999;5:478-89.
61. Badger KV, Gardner DG. The relationship of adamantinomatous craniopharyngioma to ghost cell ameloblastoma of the jaws: a histopathologic and immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med* 1997;26:349-55.
62. Mitsuyasu T, Harada H, Higuchi Y, Kimura K, Nakamura N, Natsuki T. Immunohistochemical demonstration of bcl-2 protein in ameloblastoma. *J Oral Pathol Med* 1997;26:345-8.
63. Sandra F, Mitsuyasu T, Nakamura N, Shiratsuchi Y, Ohishi M. Immunohistochemical evaluation of PCNA and Ki-67 in ameloblastoma. *Oral Oncol* 2001;37:193-8.
64. Kumamoto H, Izutsu T, Ohki K, Takahashi N, Ooya K. p53 gene status and expression of p53, MDM2, and p14 proteins in ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 2004; 33:292-9.
65. Kumamoto H, Ooya K. Immunohistochemical detection of MT1-MMP, RECK and EMMPRIN in ameloblastic tumors. *J Oral Pathol Med* 2006;35:345-51.
66. Kumamoto H, Ooya K. Immunohistochemical analysis of bcl-2 family proteins in benign and malignant ameloblastomas. *J Oral Pathol Med* 1999;28:343-9.

67. Tang W, Mafune K, Nakata M, Konishi T, Kojima N, Mizuochi T. Association of histochemical expression of Maackia amurensis leucoagglutinin-positive glycoconjugates with behaviour of human gastric cancer. *Histopathology* 2003; 42:239-45.
68. Sekine S, Sato S, Takata T, Fujuda Y, Ishida T, Kishino M. Beta-catenin mutations are frequent in calcifying odontogenic cysts, but rare in ameloblastomas. *Am J Pathol* 2003;163:1707-12.
69. Jiménez M, Trejo M, Lascurain R, Zenteno E. Alteraciones de la glicosilación en enfermedades humanas. *Rev Inst Nal Enf Resp Méx* 2002;15(1):39-47.
70. Yumi I, Yoshihiro A, Yoichi T, Firoz R, Tohru K. Immunohistochemical localization of large chondroitin sulfate proteoglycan in odontogenic tumor. *Med Electron Microsc* 2002;35:173-7.
71. Gardiner T. Actividades biológicas de los ocho monosacáridos alimenticios conocidos que se requieren para la síntesis de los glicoproteínas y los procesos de reconocimiento celular. *GlycoScience* 2000;1(13):1-7.
72. Kim B, Behbahani I, Meyerhoff M. Lectin based homogeneous enzyme linked binding assay for estimating the type and relative amount of carbohydrate within intact glycoproteins. *Anal Biochem* 1992;202:166-71.
73. Dabelsteen E, Clausen H, Holmstrup P, Reibei J. Premalignant and malignant oral lesions are associated with changes in the glycosylation pattern of carbohydrates related to ABH blood group antigens. *APMIS* 1988;96:813-9.
74. Nakai M, Tatemoto Y, Mori H, Mori M. Lectin-binding patterns in the developing tooth. *Histochemistry* 1985;83(5):455-63.

75. Akita H, Fukae M, Shimoda S, Aoba T. Localization of glycosylated matrix proteins in secretory porcine enamel and their possible functional roles in enamel mineralization. *Arch Oral Biol* 1992; 37(11):953-62.
76. Nanci A, Hashimoto J, Zalzal S, Smith CE. Transient accumulation of proteins at interrod and rod enamel growth sites. *Adv Dent Res* 1996; 10(2):135-49.
77. Fuenzalida M, Lemus S, Illanes J, Montiel E, Acuna O, Lemus D. Histochemical detection of sugar residues in lizard teeth (*Liolaemus gravenhorsti*): a lectin-binding study. *Biol Res* 2000;33(3-4):215-26.
78. Ono M, Hakomori S. Glycosylation defining cancer cell motility and invasiveness. *Glycoconjugate J* 2004;20:71-78.