



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD LEÓN

Ecología

**INMUNOEXPRESIÓN DE SOX2, OCT3/4, KI67, CK 14 Y CK 19,  
MARCADORES BIOLÓGICOS DE AMELOBLASTOMAS Y CARCINOMAS  
DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE LA CAVIDAD BUCAL.**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**JESÚS MARÍA RODRÍGUEZ GONZÁLEZ**

**TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. FRANCISCO GERMÁN VILLANUEVA SÁNCHEZ.**  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD LEÓN, UNAM

**COMITÉ TUTOR: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**  
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM  
**DR. AARON IVAN VELEZ RAMIREZ**  
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES UNIDAD LEÓN, UNAM

LEÓN, ESTADO DE GUANAJUATO

SEPTIEMBRE, 2020.



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.





**COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ENTIDAD INSTITUTO DE ECOLOGÍA**  
**OFICIO CPCB/485/2020**  
**ASUNTO: Oficio de Jurado**

**M. en C. Ivonne Ramírez Wence**  
**Directora General de Administración Escolar, UNAM**  
**Presente**

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **04 de mayo de 2020**, aprobó el siguiente jurado para la presentación de examen para obtener el grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**, del estudiante **RODRÍGUEZ GONZÁLEZ JESÚS MARÍA**, con número de cuenta: **519494552**, con la tesis titulada: **"INMUNOEXPRESIÓN DE SOX2, OCT3/4, KI67, CK 14 Y CK 19, MARCADORES BIOLÓGICOS DE AMELOBLASTOMAS Y CARCINOMAS DE CÉLULAS ESCAMOSAS DE LA CAVIDAD BUCAL"**, bajo la dirección del **DR. FRANCISCO GERMAN VILLANUEVA SANCHEZ**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DR. EDELMIRO SANTIAGO OSORIO  
Vocal: DR. CARLOS MEDINA MORILLAS  
Secretario: DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA  
Suplente: DR. FRANCISCO JAVIER LÓPEZ BAENA  
Suplente: M. EN C. ILANE HERNÁNDEZ MORALES

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**  
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 31 de julio de 2020



**DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA**

**COORDINADOR DEL PROGRAMA**



## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

### **Al posgrado en Ciencias biológicas de la UNAM**

Por su enorme aportación a mi carrera profesional y personal, por abrirme sus puertas, brindarme sus conocimientos y poner a mi servicio un elenco excelente de profesionales.

### **A los apoyos económicos recibidos**

A la Universidad de Sevilla por su indispensable aportación económica mediante el convenio de Doble Titulación Internacional de México, sin la cual no hubiese sido posible la realización de la Maestría.

### **A mi Tutor, Francisco Germán Villanueva Sánchez y al Comité Tutor**

Al Doctor Francisco Germán Villanueva Sánchez, por recibirme con los brazos abiertos desde el primer momento, por todos los conocimientos transmitidos, el tiempo dedicado y por sus valiosos consejos. Al Doctor Aarón y Adolfo por sus consejos e indicaciones para mejorar en contenido y forma la tesis, así como a la Doctora Ilane, invitada al Comité tutor, por sus inestimables consejos y participación en los exámenes tutorales.

## **Agradecimiento a título personal**

Esta aventura no hubiese sido posible sin el enorme apoyo recibido por todas aquellas personas que me rodean y sin las cuales mi vida no tendría sentido.

### **A mi familia**

El privilegio de la vida es tener una familia con la que poder contar toda la vida. Por su enorme esfuerzo y sacrificio para que tuviera la mejor educación y nunca me faltara nada. Por creer en mí y estar siempre ahí.

### **A mi amigo Gabriel**

Un amigo es el que camina a tu lado en los momentos buenos y en los malos. Porque sin ti esta historia no hubiese sido igual.

### **A mi amigo Ulises**

Una amistad no crece por la presencia de las personas, si no por la magia de saber que, aunque no las ves las llevas en el corazón.

### **A las Universidades**

A la Universidad de Sevilla por brindarme esta oportunidad y en especial a Doña Montserrat, por el apoyo ofrecido en todo momento y su constancia hasta el final del proceso.

A la UNAM por permitirme el ingreso en la maestría, así como al equipo de postgrado de la UNAM, D. Adolfo, Dña. Lilia y Dña. Erica, por poner a mi disposición todos los servicios de esta y su ayuda con los trámites.

Al Doctor Aaron de la UNAM por recibirme y orientarme en el inicio de la Maestría.

**Al Banco de tejidos del laboratorio de Patología Oral y Maxilofacial de la Enes**

Al banco de tejidos del laboratorio interdisciplinario en el área de Patología Oral y Maxilofacial de la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León de la UNAM, por dejarme todo el material necesario para mi tesis.

**Al M. en C. Francisco Javier García Vázquez del Instituto Nacional de Pediatría**

Por las facilidades y apoyo ofrecido en la técnica de inmunohistoquímica.

**Al Jurado de Examen**

Edelmiro Santiago Osorio, Adolfo Gerardo Navarro Sigüenza e Ilane Hernández Morales de la UNAM, Francisco Javier López Baena y Carlos Medina Morillas de la Universidad de Sevilla, por su desinteresada colaboración y participación en el Comité Académico, así como sus consejos y enormes aportaciones a la tesis.

A todos/as los que me enseñaron que conseguir las metas en cuestión de lucha, esfuerzo, constancia y creer en ti mismo.

**A TODOS, MUCHÍSIMAS GRACIAS**



## ÍNDICE:

1. Resumen .....	1
2. Introducción .....	3
2.1. Carcinoma de células escamosas .....	3
2.1.1. Epidemiología de los Carcinomas de células escamosas .....	5
2.1.2. Fisiopatología de los Carcinomas de células escamosas .....	7
2.1.3. Diagnóstico, Tratamiento y Pronóstico .....	9
2.2. Ameloblastomas .....	12
2.2.1. Epidemiología de los Ameloblastomas .....	13
2.2.2. Fisiopatología de los Ameloblastomas .....	14
2.2.3. Diagnóstico, Tratamiento y Pronóstico .....	16
2.3. Implicación de marcadores inmunohistoquímicos en el diagnóstico del Carcinoma de células escamosas y Ameloblastomas.....	17
2.4. Introducción al análisis histopatológico e inmunohistoquímico.....	18
3. Objetivos .....	21
4. Antecedentes .....	22
5. Justificación del estudio.....	24
6. Pregunta de investigación .....	25
7. Materiales y métodos .....	25
7.1. Criterios de exclusión .....	25
7.2. Criterios de inclusión .....	26
7.3. Criterios de eliminación .....	26
7.4. Flujograma de trabajo.....	27
7.5. Variables dependientes e independientes.....	29

7.6. Consideraciones éticas .....	31
7.7. Inicio del procedimiento.....	32
7.8. Caracterización histopatológica de los Carcinomas de células escamosas .....	32
7.9. Caracterización histopatológica de los Ameloblastomas.....	35
7.10. Inmunohistoquímica .....	36
7.11. Evaluación inmunohistoquímica .....	41
7.12. Modificación de las microfotografías .....	42
7.13. Análisis estadístico .....	42
8. Resultados .....	42
8.1. Fotomicrografías de los Carcinomas de células escamosas.....	43
8.2. Fotomicrografías de los Ameloblastomas.....	46
8.3. Evaluación histopatológica de los Carcinomas de células escamosas .... .....	48
8.4. Evaluación histopatológica de los Ameloblastomas .....	50
8.5. Fotomicrografías de la inmunohistoquímica de los Carcinomas de células escamosas .....	51
8.6. Fotomicrografías de la inmunohistoquímica de los Ameloblastos .....	56
8.7. Revelado de la inmunohistoquímica de los Carcinomas de células escamosas .....	61
8.8. Revelado de la inmunohistoquímica de los Ameloblastomas.....	62
8.9. Estadística comparativa .....	62
8.10. Comparativa de los resultados histopatológicos, inmunohistoquímicos y comportamiento biológico de los Carcinomas de células escamosas y Ameloblastomas.....	63
9. Discusión.....	66

10. Conclusiones.....	67
11. Referencias bibliográficas .....	71
12. Anexos .....	84

## **1.Resumen.**

El carcinoma de células escamosas de la cavidad bucal (CCECB) es un problema de salud pública a nivel mundial, ocupa el 6% de las neoplasias malignas de la economía corporal, dentro de los factores etiológicos principales existe una correlación directa entre el hábito tabáquico y alcohólico, así como la influencia de la infección por virus del papiloma humano en cavidad oral, específicamente los tipos 16 y 18. En la actualidad existe una casuística de pacientes que no presentan exposición previa a estos factores y que de cualquier forma desarrollan la neoplasia. Por otro lado, los tumores odontogénicos se pueden definir como lesiones cuyo origen se deriva del epitelio odontogénico del desarrollo del órgano dental y que son localmente invasivos y agresivos en su comportamiento biológico, rara vez pueden generar metástasis. Es frecuente un crecimiento muy agresivo. Por todo ello, el principal objetivo del presente trabajo fue: identificar el perfil de inmunorreacción de los anticuerpos SOX2, OCT3/4, KI67, CK14 y CK19, en tejidos de carcinoma de células escamosas la cavidad bucal y en ameloblastomas, así como correlacionar sus características histopatológicas e inmunohistoquímicas con su comportamiento biológico de acuerdo con estos resultados.

## **1.Abstract.**

Squamous cell carcinoma of the oral cavity (CCECB) is a public health problem worldwide, occupies 6% of malignant neoplasms of the body economy, within the main etiological factors there is a direct correlation between smoking and alcoholic habits, as well the influence human papillomavirus infection in the oral cavity, specifically types 16 and 18. There is a casuistry of patients who did not have previous exposure to these factors and develop the neoplasie. On the other hand, odontogenic tumors can be defined as lesions whose origin derives from the odontogenic epithelium of the development of the dental organ and its have a locally invasive and aggressive biology behavior. In addition, they rarely undergo a malignant transformation, although it is frequent a very aggressive growth. Therefore, the main objective of this work was: to identify the immunoreaction profile of SOX2, OCT3 / 4, KI67, CK14 and CK19 antibodies in carcinoma tissues of squamous cells of the oral cavity and of the odontogenic tumors, as well as correlating their histopathological characteristics and their biological behavior according to these results.

## **2.Introducción.**

### **2.1. Carcinoma de Células Escamosas.**

Según la Organización Mundial de la Salud, la palabra cáncer agrupa una serie de enfermedades que pueden afectar a cualquier parte del cuerpo (1). A día de hoy, según la OMS, supone un importantísimo problema de salud y es una de las mayores causas de mortalidad a nivel mundial (1, 2). Las células que provocan cáncer se dividen y proliferan esquivando todos los mecanismos de control de la propia célula y del sistema inmunitario, de manera que se extienden más allá de los límites normales (1). Una neoplasia es cualquier crecimiento descontrolado de células o tejidos, mientras que la palabra cáncer sólo incluye las neoplasias malignas, es decir, aquellas neoplasias que crecen rápidamente, invaden los tejidos vecinos y pueden diseminarse a otras partes del organismo (13).

El Carcinoma de células escamosas se considera la neoplasia más común de las que se originan en cabeza y cuello. La zona más común en la que aparece es la lengua. El carcinoma de células escamosas se puede definir como una neoplasia maligna cuyo origen procede de las células escamosas del epitelio que recubre la mucosa (3).

Utilizando como referencia el libro publicado por la OMS en el año 2017 “Who Classification of Head and Neck Tumours, 4th edition” (4), en el que se describen los distintos tipos de neoplasias de células escamosas conocidas hasta el momento, las cuales se definen brevemente a continuación.

<b>Tipo de carcinoma</b>	<b>Definición</b>
Queratinizante de células escamosas.	Se define como una formación anormal de tejido nuevo (neoplasia), en la superficie del epitelio con diferenciación escamosa que recubre la cavidad nasal y los senos paranasales. Esta formación anormal de tejido es de carácter maligno.
No queratinizante de células escamosas.	Es un carcinoma de células escamosas con un patrón de crecimiento de tipo cinta que lo diferencia del resto.
Carcinoma de células escamosas del huso.	En este caso se trata de una variante del carcinoma de células escamosas en el que se encuentra un huso maligno y/o células pleomórficas.
Carcinoma linfoepitelial.	Es un carcinoma de células escamosas con gran parecido morfológico al carcinoma nasofaríngeo no queratinizante.
Carcinoma indiferenciado sinonasal.	Carece de las típicas características glandulares o escamosas, es un carcinoma no diferenciado del tracto sinonasal.
Carcinoma NUT.	Al igual que en el caso anterior, es un carcinoma indiferenciado del tracto sinonasal.
Carcinoma neuroendocrino.	Presenta las típicas características neuroendocrinas, tanto morfológicas como inmunohistoquímicas.
Adenocarcinoma de tipo intestinal.	Presenta características similares (morfológicas) a la de los adenocarcinomas primarios de los intestinos. Es un adenocarcinoma del tracto sinonasal.

Adenocarcinoma de tipo no intestinal.	Es un grupo de tumores con gran variabilidad morfológica. Es un adenocarcinoma cuyas características difieren de una neoplasia de glándula salival.
---------------------------------------	---

**Tabla 1.** Tipos de carcinomas de cabeza y cuello (4) según el libro publicado por la OMS en el año 2017 “Who Classification of Head and Neck Tumours, 4th edition”.

### 2.1.1. Epidemiología de los Carcinomas de células escamosas.

El 3% del total de los casos de cáncer se producen en la cavidad oral (5). Hay gran variabilidad en la prevalencia de la enfermedad, siendo más abundante en algunas zonas como en América del Sur y Sudeste Asiático (6). En la India, llega a representar casi el 40% de los cánceres malignos. En el año 2002, se detectaron un total de 270.000 casos a nivel mundial, siendo mucho más frecuente en la población masculina. Con un porcentaje de afectación de un 31,5 por cada 100.000 hombres y 22,2 por cada 100.000 mujeres, Oceanía es la zona geográfica con mayor incidencia. En Europa la tasa de afectación es mayor en la población masculina, siendo 9,2 por cada 100.000 hombres. En España afecta entre el 5,7 y 12,9 de cada 100.000 hombres.

Con los datos ofrecidos, se puede ver que la incidencia de la enfermedad varía geográficamente según los rasgos culturales de cada zona, ya que no todas las regiones presentan la misma exposición a los distintos factores de riesgo. Algunos ejemplos de los factores de riesgo que presentan mayor influencia en la aparición del carcinoma de células escamosas son el tabaquismo, el polvo del cuero y de la madera (4), así como diversos factores alimenticios (9). La herencia no tiene mucha importancia, desde el punto de vista etiológico, en el carcinoma oral (10).

En los países más desarrollados, las cifras de incidencia de la enfermedad se están igualando entre ambos sexos, debido a que la mujer ha ampliado el rango de trabajo en las últimas décadas, y también ha adquirido malos hábitos que



tradicionalmente pertenecían a la población masculina. En consecuencia, la población se ha expuesto a factores como el hábito tabáquico o alcohólico, o trabajos en contacto con el polvo de la madera o del cuero (7).

En Estados Unidos, la población afroamericana es la más perjudicada ya que su tasa de supervivencia a 5 años se ve muy reducida respecto a la media global. Esta población afroamericana presenta gran prevalencia del cáncer oral y orofaringe (8).

Respecto a la edad, casi todos los carcinomas se producen en individuos mayores de 40 años (en el 90% de los casos), mientras que en el 50% de los casos se producen en individuos mayores de 50 años y con prevalencia por el sexo masculino (11, 12, 112, 114, 116). Según algunos autores afecta por igual a ambos sexos (117, 127). La supervivencia media oscila entre el 40-56% con un seguimiento de 5 años, aunque la variación es muy grande entre los distintos tipos de carcinoma (13).

El perfil demográfico en el que se presenta la enfermedad ha cambiado mucho en las últimas décadas. Hombres fumadores, alcohólicos y con poca higiene bucodental, eran el perfil donde se producía con mayor frecuencia la enfermedad, ya que la exposición prolongada a estos factores puede provocar mutación en la ultraestructura del ADN de la célula. Si la célula consigue evitar los mecanismos de defensa de la propia célula y del sistema inmunitario, comenzará a dividirse descontroladamente originando un tumor. En la actualidad, se ha comprobado que este perfil ha cambiado totalmente, ya que aparece en pacientes cada vez más jóvenes, sin hábito tabáquico ni alcohólico (14, 113). Los datos recogidos en las últimas décadas en algunos países de Europa y de la India lo confirman (15).

El comportamiento de la neoplasia en pacientes jóvenes es totalmente diferente del comportamiento en pacientes mayores. En jóvenes, presenta alta probabilidad metastásica y puede llegar a ser muy agresivo en poco tiempo (16).

### 2.1.2. Fisiopatología de los Carcinomas de células escamosas.

El carcinoma de las células escamosas es un proceso que consta de varias fases, las cuales se producen de manera secuencial y conlleva una serie de alteraciones irreversibles, discretas y complementarias en el conjunto de genes que regulan el crecimiento, diferenciación y muerte celular (17).

Se puede originar de dos modos diferentes:

-” *De Novo*”. Se origina a través de epitelio mucoso sano tras una mutación espontánea.

-Origen tras un cúmulo de lesiones sucesivas potencialmente cancerígenas (18,19). Potencialmente cancerígenos son aquellos tejidos que por sus características fisiológicas, estructurales y morfológicas presentan mayor probabilidad de sufrir lesiones malignas que otros tejidos (20). Aproximadamente el 50% de los casos se originan de esta forma.

La información genética se encuentra en el ADN, el cual se transcribe a ARNm y este a su vez, tras el proceso de maduración, se traduce en el citoplasma de la célula dando lugar a las proteínas que realizan la acción celular. En el paso de ADN a ARN, intervienen los factores de transcripción, es decir, un grupo de proteínas que se unen a secuencias específicas del ADN y modulan la transcripción, activando o reprimiéndola (130). En eucariotas es muy común el fenómeno de splicing alternativo, mediante el cual se pueden obtener diferentes ARNm maduros a partir de un ARNm primario. Este proceso consiste en la eliminación de los intrones del ARNm primario mediante las nucleasas, pero estas enzimas no siempre se cortan en la misma posición, con lo que se originan diferentes ARNm maduros. Por otro lado, están los RNAs que pueden actuar como reguladores de la transcripción (131).

Es fundamental tener en cuenta la teoría de las células troncales (132, 133), que define las células troncales o células madre como aquellas que pueden dividirse para generar más células madre y que, además, poseen la capacidad de diferenciarse produciendo diferentes tipos celulares especializados. Se clasifican en totipotenciales (tienen la capacidad de originar

tejido embrionario y extraembrionario), pluripotenciales (poseen la capacidad de originar tres capas germinales: endodermo, mesodermo y ectodermo, pero carecen de la capacidad de generar tejido extraembrionario), multipotenciales (originan una sola capa germinal), y mono o unipotenciales (originan solo un tipo de célula específica).

El inicio del proceso de tumoración se produce cuando el ADN de la célula se somete a factores carcinogénicos que pueden ser endógenos (como errores en la reparación del ADN) o exógenos, tales como el tabaco, el alcohol, la luz ultravioleta, etc. (21). Una vez causada la mutación, la célula tiene varios mecanismos para evitar que se propague en el tiempo y espacio.

Uno de los mecanismos celulares para eliminar la mutación son los genes supresores de tumores, los cuales protegen a la célula evitando que esta adquiera características malignas. Por ejemplo, el gen *pRb* (19) codifica para la proteína pRb la cual actúa como un freno parando el ciclo celular y evitando de esta forma que la mutación se propague. En el caso de que la proteína esté mutada o desaparecida, no será capaz de frenar el ciclo celular, como ocurre en el caso del cáncer oral.

Otro inhibidor de tumores es *p53*, que codifica para una proteína que en condiciones normales consigue parar el ciclo celular. Cuando *p53* está mutado, codifica para una proteína mutada que se acumula en el núcleo y no realiza su función, ya que pierde parte de la capacidad supresora (19).

En el caso de que la célula no sea capaz de eliminar la mutación mediante los mecanismos mencionados anteriormente, la expansión del tumor se produce por la proliferación clonal de las células iniciadoras debido a la expresión de los genes alterados por los factores carcinogénicos, lo cual conlleva la hiperproliferación, remodelación tisular e inflamación de la zona donde se ha producido (21).

Los protooncogenes son genes que regulan el crecimiento y la diferenciación celular. En condiciones normales, codifican para proteínas que son imprescindibles en la regulación del ciclo celular. Cuando se producen cambios

en su estructura se transforman en oncogenes, los cuales originarán proteínas mutadas que no realizarán la función de la principal de la proteína, con lo que se verá alterada la regulación del ciclo celular (22).

Por otro lado, en las membranas celulares se encuentran los receptores para los factores de crecimiento, de manera que en condiciones normales provocan el crecimiento, proliferación y diferenciación de la célula. En condiciones oncogénicas, no es necesario que se una el factor de crecimiento para que se produzcan los procesos anteriores (22).

En el caso concreto del cáncer bucal, el receptor de factores de crecimiento es el Factor de crecimiento epidérmico que se une al receptor ErB-3. Últimamente, ha aumentado mucho el interés en el estudio de este receptor, debido a su implicación en la diferenciación y proliferación celular normal del epitelio, así como su activación aberrante y en consecuencia la formación del tumor (23).

El crecimiento, proliferación y diferenciación celular está regulado en todas las células gracias a un mecanismo llamado “reloj molecular”, el cual se basa en el uso de moléculas proteicas como ciclinas y quinasas para controlar la división celular. En la mayoría de los cánceres, este mecanismo se encuentra alterado (24).

### 2.1.3. Diagnóstico, Tratamiento y Pronóstico del Carcinoma de Células Escamosas.

En la actualidad no hay un método bien descrito con el uso de marcadores para diagnosticar cáncer. Un ejemplo de diagnóstico de cáncer mediante el uso de marcadores es utilizar citoqueratinas CK19 y CK13 en el diagnóstico de metástasis en cáncer de cuello (25).

Clínicamente, cuando la enfermedad no está muy avanzada y se encuentra en los estadios primarios, es posible que no presente síntomas (26). Sin embargo, cuando la enfermedad está más avanzada, nos podemos encontrar síntomas como sangrado bucal, pérdida de piezas dentarias, dificultad o dolor al deglutir, dificultad para portar dentaduras, bultos en el cuello, úlcera que no cura,

aparición de placas o lesiones de color blanco (leucoplasia) o rojo (eritroplasia), o una mezcla de lesión blanca y roja (eritroleucoplasia). Con el tiempo, estas lesiones se ulceran en su superficie y su crecimiento cambia evolucionando en una masa exofítica, o bien, en una lesión endofítica. A su vez, los signos que podemos observar son úlcera sin dolor, induración, parestesia de lengua o labio, crecimiento papilar y dificultad para abrir la boca debida a la disminución de la movilidad del tejido. Sospecharemos que una lesión pueda ser cáncer si persiste más de 3 semanas en boca (27, 28, 29).

El cáncer oral puede surgir en cualquier parte de la cavidad oral, siendo la zona más frecuente de aparición el borde lateral de la lengua y suelo de la boca. Puede afectar a estructuras como la orofaringe, paladar blando, mucosa yugal o labio inferior. La zona de aparición se puede ver alterada por factores como el tabaco o el alcohol, entonces las lesiones se ven sobre todo en la zona anterior de lengua, suelo de boca, mucosa oral y alvéolos (30).

En la mayoría de los casos, la historia clínica de los pacientes es insuficiente para dar un diagnóstico, con lo que los profesionales se suelen apoyar en técnicas complementarias como la biopsia para aquellas patologías que han perdurado más de tres semanas. Con la biopsia se puede hacer la descripción histopatológica (31, 125, 126, 128) y la inmunohistoquímica, es decir, el uso de anticuerpos específicos para la detección de proteínas clave en la generación, desarrollo y expansión del tumor, y de esta forma proporcionar un diagnóstico más específico y confiable.

El tratamiento de los carcinomas orales depende de distintos factores como el tamaño, localización del tumor primario, del estado de los ganglios linfáticos, presencia o ausencia de metástasis a distancia y de la capacidad que tenga para tolerar el tratamiento. Es muy importante conservar la máxima estructura sana en su tratamiento. El tratamiento de forma general es la cirugía, pero en casos más avanzados se combina con quimioterapia. En algunos casos también se emplea radioterapia (27, 31, 32).

El tipo de cirugía dependerá de si están afectados o no los nódulos cervicales (32). A mayor tamaño del tumor, la cantidad de tejido afectado será superior.

Por consiguiente, la cirugía para extirparlo será muy agresiva provocando afección en el habla (33).

Es muy probable que los pacientes con cáncer oral presenten otros tipos de cánceres en un período de 5 a 10 años. La probabilidad de supervivencia para cáncer oral, orofaringe y lengua es del 50%. El aumento de la probabilidad de supervivencia está relacionado con la detección temprana y la prevención. El factor de pronóstico más importante en cáncer bucal es la presencia de metástasis en los nódulos linfáticos (34).

Pacientes que han sufrido un cáncer oral tienen un 15% de probabilidad de sufrir otro cáncer primario (27), por ello tras superar la enfermedad es muy importante hacer revisiones periódicas.

Para hacer un mejor seguimiento de los pacientes y al mismo tiempo poder ofrecer un mejor tratamiento, se utiliza la clasificación TNM. Esta tiene en cuenta varios parámetros como el tamaño del tumor (T), la presencia de ganglios linfáticos en la zona donde se generó el tumor (N) y la metástasis a distancia (M). A cada uno de estos parámetros se les asigna una puntuación. En el caso del tamaño del tumor, esta puntuación va de 1 a 4, correspondiendo la mayor puntuación con mayor tamaño tumoral. En la presencia de ganglios linfáticos, la puntuación 0 indica la ausencia de metástasis ganglionar, mientras que 1 indica que si hay metástasis ganglionar. M0 indica que no hay metástasis a distancia y, por el contrario, M1 sí hay metástasis a distancia (111, 129).

## 2.2. Ameloblastomas.

Los ameloblastomas representan entre el 11 y el 13% de los tumores odontogénicos. Están clasificados como una formación benigna, de crecimiento lento, pero a pesar de ello llegar a formar masas tumorales muy importantes que afectan a la fisiología y físico de las personas que lo padecen (35, 36).

Se originan a partir de los restos odontogénicos y de los restos del epitelio reducido del esmalte, los cuales surgen tras la odontogénesis y el revestimiento de los quistes odontogénicos (37, 38). De forma general y siguiendo las indicaciones de la OMS, los podemos clasificar en 4 tipos; Sólido, Uniquístico, Periférico y Desmoplásico (39). La clasificación varió con la última edición publicada en el año 2017 (4), pasando a ser Sólido, Uniquístico y Periférico. Esto combinado con la gran variabilidad histopatológica que pueden presentar, hacen que proporcionar un diagnóstico no sea tarea fácil (40). La OMS resalta la capacidad de recurrencia si no es eliminado adecuadamente. Presentan una tendencia casi nula de malignidad y capacidad metastásica (41, 42, 43).

Del mismo modo que en las neoplasias de células escamosas, vamos a definir brevemente cada uno de los tipos, siguiendo las indicaciones del último libro publicado por la OMS (4).

<b>Tipo de ameloblastoma</b>	<b>Definición</b>
Carcinoma ameloblástico.	Se define como una neoplasia maligna odontogénica que ocurre en el epitelio primario.
Carcinoma intraóseo primario, NOS.	Se origina en el epitelio odontogénico. Es un carcinoma del centro de la mandíbula y no hay posibilidad de clasificarlo como otro tipo de carcinoma.
Quistes y lesiones similares a quistes.	Sus características más importantes son la citología blanda e infiltración agresiva. Es un carcinoma primario que se produce en el interior del hueso, concretamente en la mandíbula.
Carcinoma odontogénico esclerosante.	Presenta de forma evidente láminas y cúmulos de células vacuoladas.
Carcinoma odontogénico de células fantasma (GCOC).	Se caracteriza por la rara queratinización de las células fantasma además de la deposición de dentinoides.

**Tabla 2.** Tipos de ameloblastomas (4) según el libro publicado por la OMS en el año 2017 “Who Classification of Head and Neck Tumours (4th edition)”.

### 2.2.1. Epidemiología de los Ameloblastomas.

El ameloblastoma representa el 11% de todos los tumores y quistes de cavidad oral, siendo el más frecuente de todos los tumores odontogénicos en África y Asia. (44, 45, 46, 48). La incidencia estimada de afección a nivel mundial es de 0,5 casos por cada millón de habitantes (49).



Según un estudio realizado por López *et al*, el promedio de edad en el que se presenta el ameloblastoma es de 36 años. La media de edad para el uniuístico es de 42 años, mientras que para el multiuístico es de 38 años. Hay controversia en la prevalencia por el sexo, ya que algunos autores defienden prevalencia por el sexo masculino (119, 120, 121) mientras que otros la niegan (48, 51, 112). La mayoría de las enfermedades se diagnosticaron en pacientes de raza blanca (56,3%), y no se encontró antecedentes por infecciones víricas en ninguno de pacientes. La mayoría de los pacientes no presentaban síntomas. Por otro lado, existen diferentes variantes histopatológicas de ameloblastomas: desmoplastica, de células granulares, células basales, plejiforme, folicular y acantomatoso; siendo el más frecuente el plexiforme (50).

La mayoría de las patologías se producen en la mandíbula, aunque también se encuentran algunos casos en el maxilar (50), siendo la relación 23:1 (mandíbula:maxilar).

El multiuístico es el que presenta mayor incidencia en la población de la India (51) afectando al 64% de los pacientes. Al contrario que ocurre en los carcinomas, en los ameloblastomas no hay prevalencia por ninguno de los sexos, aunque en este caso concreto del estudio que realizaron Junqueras *et al* en el 2003, la población masculina es la más afectada en un porcentaje del 55%. En los Países Bajos (51), la tasa de incidencia fue de 1,5 por cada millón de habitantes. La media de edad de afección fue de 44,1 años, siendo en hombres de 46,3 y en mujeres de 41,3.

En Europa la edad promedio es de 42,3 años (52). En México llega a suponer hasta el 18% de los tumores orales (53, 54).

### 2.2.2. Fisiopatología de los Ameloblastomas.

El ameloblastoma se puede desarrollar bien por la activación o reactivación de estructuras odontogénicas como la lámina dentaria, restos epiteliales de Malassez, etc; o bien por células de órgano del esmalte en desarrollo, de las células basales del epitelio de la mucosa oral y del epitelio de los quistes odontogénicos (45, 46, 47, 55).

Hay una gran controversia en el origen del ameloblastoma unicuístico. Algunos autores argumentan que puede proceder de quistes odontológicos preexistentes como proponen Gold y Robinson y Martínez, pero, por el contrario, otros autores como Adkerman dicen que se forma “*de Novo*” sin quiste preexistente (39). Los ameloblastos neoplásicos pueden proceder de no neoplásicos ya que tienen un ancestro común (39). De los tres tipos de ameloblastomas considerados por la OMS, el más común es el unicuístico (123, 124).

Molecularmente el desarrollo del ameloblastoma se puede explicar por varias interacciones. Los huesos están formados por los osteoclastos y los osteoblastos. La función de estas células es la renovación celular ósea y se ha comprobado su implicación en ameloblastomas. Gracias a una serie de receptores de citoquinas, moléculas y ligandos, se produce el equilibrio renovatorio en el hueso. Las moléculas que se unen a estos receptores pertenecen a la familia de los TNF (Factor de Necrosis Tumoral) y se expresan por todo el tejido humano y no sólo a nivel óseo, sino también inmunológico y vascular.

En la superficie de los osteoclastos se encuentra el receptor activador del factor nuclear  $\kappa$  B (RANK) (56). Por otro lado, la osteoprotegerina (OPGG) inhibe el paso de las células proosteoclásticas a osteoclastos. Las OPGG son unas glicoproteínas que se expresan en tejido óseo, en el sistema inmune y en los vasos sanguíneos. Para inhibir, se une al receptor RANK impidiendo entonces que se una el ligando de receptor activador para el factor nuclear  $\kappa$  B (RANKL) y se produzca la diferenciación (56). El buen funcionamiento de este mecanismo es fundamental, ya que un mal funcionamiento puede estar relacionado con distintas enfermedades neoplásicas como es el caso del ameloblastoma.

Siar *et al* llevaron a cabo un estudio en el que demostraron que en ameloblastomas se encuentran bajos niveles de RANKL y altos de OPGG, con lo que se provoca un desequilibrio en el metabolismo óseo y no se produce diferenciación de osteoclastos (56).

La capacidad recurrente y la capacidad de infiltrar otros tejidos, puede estar relacionado con las proteínas de adhesión celular (CAM) ya que son proteínas que permiten la señalización, movimiento y mantenimiento de las células de los

tejidos. En los ameloblastomas, las CAM más importantes son las E-cadherinas, las cuales se han comprobado que se encuentran en altas concentraciones en los tumores bien diferenciados. (57).

También pueden intervenir algunas citoqueratinas como BRAFV600E, cuya mutación se considera el responsable del 60-80% de los ameloblastomas. Una vez mutada, su función es activar una cadena de señalización que provoca proliferación celular, supervivencia y transformación neoplásica (58). Está asociada a los comportamientos más agresivos (59).

### 2.2.3. Diagnóstico, Tratamiento y Pronóstico de los Ameloblastomas.

Debido a que de forma general es asintomático, es muy complejo ofrecer un diagnóstico certero mediante el historial clínico. Las técnicas usadas para su diagnóstico son la radiografía, histopatología e inmunohistoquímica. El estudio histopatológico es fundamental ya que radiológicamente se podrían confundir con quistes o queratoquistes. En el estudio inmunohistoquímico del ameloblastoma, al igual que en el carcinoma, se buscan proteínas relacionadas con la generación y desarrollo de la enfermedad (39, 60).

El ameloblastoma desmoplásico es el que tiene un peor pronóstico, ya que la probabilidad de que adquiera capacidades malignas es superior al resto, y además la posibilidad de resurgir tras la cirugía es muy alta (110).

El tratamiento que presenta mayor eficacia es la marsupialización y la enucleación, seguidas de un curetaje óseo adecuado, de forma que con este tratamiento se disminuye la necesidad de cirugía (61). De todas formas, el tratamiento dependerá de cada caso y tipo de ameloblastoma, siendo de gran importancia que el tumor se encuentre en fases iniciales (62).

En el caso concreto del ameloblastoma sólido, el tratamiento es mucho más agresivo, ya que se suelen hacer resecciones quirúrgicas muy amplias para evitar la recurrencia. Esto es debido a que el ameloblastoma sólido puede llegar a infiltrar en tejidos vecinos (50, 55).

Hay multitud de tratamientos que según los expertos se podrían aplicar en ameloblastomas, como la cirugía, radioterapia (muy en desuso en la actualidad), escleroterapia y electrocoagulación. En los últimos años se está probando la terapia con nitrógeno líquido, ya que se cree que es capaz de desvitalizar el hueso con una profundidad de 1 - 2cm (42, 50).

El tumor se propaga lentamente por infiltración en los espacios medulares e incluso puede llegar a erosionar el hueso cortical. En el caso del ameloblastoma maxilar, en primer lugar, anulan el seno maxilar y después se extienden por el interior del cráneo (47).

Al igual que ocurría con los carcinomas, el seguimiento a largo plazo es esencial, ya que la probabilidad de recurrencia a 10 años después del tratamiento primario es muy alta (55).

### 2.3. Implicación de marcadores inmunohistoquímicos en el diagnóstico del Carcinoma de células escamosas y Ameloblastomas.

La inmunohistoquímica es una técnica que en los últimos años ha supuesto un gran cambio en la histopatología tradicional. Consiste en el uso de anticuerpos marcados con fluoresceína y fue utilizada por primera vez por Albert *et al*, en el año 1941 (95). Se utiliza para detectar antígenos celulares o tisulares como pueden ser aminoácidos, proteínas o incluso poblaciones celulares específicas (96). En los últimos años, se ha convertido en una pieza angular en el análisis y diagnóstico histopatológico. En los laboratorios de patología, es fundamental ya que es muy eficaz para diagnosticar tumores metastásicos de origen primario desconocido, tumores de partes blandas, linfomas, leucemias etc.

En el año 1970, Sternberger aumentó la eficacia de la técnica mediante el desarrollo de complejos solubles de peroxidasa-antiperoxidasa (97). Werner (98) demostró en su estudio la importancia de la inmunohistoquímica, ya que de forma general ayudó en el diagnóstico del 83% de los pacientes, proporcionando un diagnóstico más específico de las neoplasias y pseudo-neoplasias. Concluyó en su estudio, que la inmunohistoquímica es una técnica útil en el diagnóstico

del 95% de los casos, contribuyendo a terapias de bajo costo y eficacia y proporcionando alto beneficio a los pacientes.

Por ejemplo, CK14 y CK19 son dos citoqueratinas implicadas tanto en procesos odontológicos como en carcinogénesis. Por ello es importante realizar estudios para conocer el papel específico que juegan y poderlos usar en diagnósticos (63).

En resumen, la importancia de la inmunohistoquímica viene dada por su objetivo de conseguir un diagnóstico temprano y más certero que los proporcionados por los métodos tradicionales. En consecuencia, la identificación y asociación de estos marcadores con signos patológicos nos pueden ser muy útiles para dar un tratamiento más específico y eficaz a los pacientes, mejorando significativamente la vida de estos.

#### 2.4. Introducción al análisis histopatológico e inmunohistoquímico:

Desde el punto de vista de la histopatología, los márgenes del carcinoma de células escamosas se relacionan directamente con la probabilidad de supervivencia del paciente, siendo de gran importancia en el pronóstico ya que las células neoplásicas se observan indiferenciadas al microscopio óptico. Con el objetivo de proporcionar el mejor diagnóstico y escoger la mejor terapia para el paciente, se visualizan las zonas invasivas, queratinización, aumento en el número de mitosis, mitosis aberrantes, crestas anómalas, etc, ya que estas son las principales responsables del comportamiento clínico del tumor (64). En el caso de los ameloblastomas, los parámetros que se tienen en cuenta son el hipercromatismo de los núcleos, la disposición en empalizada de los núcleos basales, la vacuolización del citoplasma, la pérdida de la cohesión y la hialinización del tejido conectivo adyacente a la membrana basal (92).

En segundo lugar y con el fin de dar un diagnóstico y tratamiento más eficaz de los pacientes con Carcinoma de células escamosas y ameloblastomas, se propone el uso de biomarcadores para el desarrollo de estrategias de tratamiento más individualizadas (74).

A continuación, se describen los marcadores propuestos en este estudio para la caracterización de los Carcinomas de células escamosas, aunque alguno de ellos podría expresarse también en ameloblastomas:

SOX2 es un marcador de pluripotencia de las células madre embrionarias. Consta (99) de un dominio de unión al ADN tipo HMG (High Mobility Group). Con diversos estudios, se ha comprobado que es fundamental en la progresión tumoral. Su positividad se relaciona con una menor probabilidad de supervivencia, ya que su actividad está ligada a la progresión del tumor. Por otro lado, ha quedado demostrada la importancia de SOX2 en el tamaño del tumor. Hay relación significativa entre la expresión de SOX2 y el tamaño del tumor, de manera que a mayor nivel de SOX2 mayor tamaño del tumor, con lo que SOX2 podría ser usado para tener en cuenta la posibilidad de recaer en la enfermedad (66). En el glioblastoma multiforme, se ha relacionado la resistencia a quimioterapia con una alta concentración de SOX2 (67).

OCT4 pertenece al grupo de los factores de transcripción con dominio POU. Su estructura (100) está formada por dos subdominios independientes entre sí. Posee un extremo POU amino-terminal formado por 75 aminoácidos y otro extremo carboxilo-terminal de 60 aminoácidos. Gracias a la estructura de hélice-giro-hélice consigue entrar en contacto con el ADN. El dominio N-terminal (dominio N) está enriquecido en prolina y residuos ácidos, mientras que el dominio C-terminal (dominio C) lo está en residuos de prolina, serina y treonina. Tradicionalmente se ha asociado el dominio C con la transaminación, pero se ha demostrado que esta actividad no pertenece a este dominio y que además es específico de cada tipo celular (101). Su papel es fundamental en la regulación de la pluripotencia (68). En estudios anteriores se ha comprobado su sobreexpresión en células tumorales, así como su asociación con comportamientos agresivos (69). Puede tener un importante papel en la invasión tumoral (70).

OCT3 pertenece al grupo de los factores de transcripción implicado en la regulación de la pluripotencia, en el desarrollo normal y se expresa en células madre y células embrionarias (71). Los dominios de la región POU y de

transactivación se ubican en exones separados. Tiene en su secuencia un elemento cis (RARE1) que actúa como un potenciador de las células madre, pero a la vez se puede reprimir por ácido retinoico (102).

KI67 es una proteína nuclear y nucleolar, cuya función se asocia a la proliferación celular. Consta de un sitio de fosforilación por quinasas esenciales, secuencias PEST y un dominio asociado a la bifurcación, aunque parte de su estructura sigue sin conocerse (103). Puede ser útil como marcador en los Carcinomas de células escamosas de la cavidad oral. Sirve para cuantificar la proporción de células en crecimiento. Demostraron que positividad está relacionada con la metástasis tumoral, los tumores más grandes y en consecuencia con un pronóstico peor (72). Se expresa en la célula durante el ciclo celular, mientras que en estado de reposo no se expresa (73).

Por último, se describen los marcadores propuestos para la caracterización inmunohistoquímica de los ameloblastomas (CK14 y CK19). Al igual que en el caso anterior, estos podrían expresarse también en Carcinomas.

CK14 y CK19 se ha comprobado la implicación que pueden tener en la diferenciación ameloblástica y en el comportamiento tumoral de los ameloblastomas. Ambas son citoqueratinas fundamentales en el desarrollo embrionario odontológico. Presentan relación con el estado de diferenciación específica del tumor (74).

En el caso concreto de CK19, es un miembro de la familia de la queratina de las proteínas de los filamentos intermedios. Su expresión se produce de manera específica en peridermo (104). El estudio que realizaron Crivelini *et al* (75) en el año 2003, ha demostrado que juega un papel fundamental en la diferenciación ameloblástica. Puede ser útil para diferenciar los ameloblastos centrales y periféricos, ya que su expresión es positiva en el ameloblastoma central y negativa en el periférico (76).

CK14 es un miembro de las queratinas de tipo I de las proteínas de filamento intermedio (105). Altos niveles de CK14 se encontraron en los ameloblastos

secretores (75). Este puede ser útil en el diagnóstico de los tumores de los apéndices de la piel (77). Los carcinomas de células escamosas lo expresan en altos niveles (78).

Yoon *et al* (79) usaron ambas citoqueratinas como marcadores con el fin de diferenciar los ameloblastos de los carcinomas, obteniendo como resultado que la expresión de CK14 y CK19 era muy elevada en ambas patologías.

Por otro lado, se muestra una breve descripción de la ficha técnica de los anticuerpos.

Anti-SOX2 es un anticuerpo monoclonal de ratón IgG1 y reconoce específicamente el epítipo que se encuentra entre los aminoácidos 170-201 de muestras humanas. Anti-OCT3/4 también son anticuerpos monoclonales de ratón IgG1, pero en este caso reconocen de manera específica el epítipo 16-45 cerca del extremo N-terminal. CK14 reconoce el epítipo que se encuentra entre los aminoácidos 459-472, mientras que CK19 reconoce el epítipo que se encuentra entre los aminoácidos 7-29 cercano al extremo N-terminal. Por último, el gen que codifica para KI67 se encuentra en la banda 26.2 del brazo largo del cromosoma 10 humano y consta de 15 exones y 14 intrones (94).

### **3. Objetivos.**

El objetivo principal de este estudio es identificar el perfil de inmunorreacción de los anticuerpos SOX2, OCT3/4, KI67, CK14 y CK19, en tejidos de carcinoma de células escamosas la cavidad bucal y en ameloblastomas, así como correlacionar sus características histopatológicas e inmunohistoquímicas con su comportamiento biológico de acuerdo con estos resultados.



Los objetivos específicos del estudio:

- Identificar las características histopatológicas de los carcinomas de células escamosas y de los ameloblastomas.
- Identificar el grado de diferenciación de los carcinomas de células escamosas.
- Identificar el inmunomarcaje y expresión de SOX2, OCT3/4, KI67, CK14 y CK19, así como su correlación con el comportamiento biológico.
- Identificar el perfil de aparición más común de carcinoma de células escamosas y ameloblastomas.

#### **4. Antecedentes.**

En el diagnóstico del carcinoma de células escamosas de la boca, recientes estudios (80, 81), proponen el uso de las técnicas de histopatología para el diagnóstico de neoplasias malignas, teniendo en cuenta los errores más comunes que se comenten durante el análisis histopatológico. En revisiones anteriores, se describen las características histopatológicas de carcinomas de células escamosas de la cavidad oral (82).

En el año 2015 se publicó un artículo (83) con el fin de actualizar todos los conocimientos hasta la fecha sobre el cáncer oral, teniendo en cuenta parámetros como el diagnóstico y aspectos generales de la enfermedad. Tras esta revisión, se puede decir que el cáncer oral es una enfermedad cuya incidencia aumenta con la edad y que además depende de múltiples factores, teniendo especial importancia el tabaco y el alcohol. También se deriva de este estudio que la incidencia del cáncer oral sigue en aumento.

Respecto a los marcadores moleculares oncogénicos, una revisión (84) agrupó los conocidos hasta la actualidad, pudiendo recalcar los marcadores de crecimiento tumoral, marcadores de supresión tumoral y de respuesta antitumoral; marcadores de angiogénesis, etc.

Algunos ejemplos del uso de inmunohistoquímica en carcinomas de células escamosas de la cavidad oral, es el estudio que hicieron Laimer *et al* en el año 2006 para medir EGFR, y de esta forma hacer el seguimiento de las células escamosas a largo plazo. Otro ejemplo es el de la medición de SOX2 para ver el efecto de su sobreexpresión (85). También se ha usado la inmunohistoquímica para diferenciar unos tipos de tumores de otros (86).

Fu *et al*, en el año 2015 (65), realizaron un estudio con el objetivo de comprobar los niveles de expresión de OCT4, SOX2 y NANOG con el desarrollo y pronóstico de los pacientes con carcinoma oral de células escamosas (OSCC). Para ello emplearon técnicas de inmunohistoquímica e hicieron una revisión del historial clínico de los pacientes. Las muestras procedían del Departamento de Patología en el Hospital General de Veteranos de Ka-ohsiung entre 1993 y 2006. Los resultados revelaron que altos niveles de expresión de SOX2 están directamente relacionados con una mejor supervivencia específica de la enfermedad, es decir, a mayor expresión de SOX2, la supervivencia de los pacientes es mayor (desde el diagnóstico hasta la muerte del paciente).

En el caso de los ameloblastomas, Torres-Lagares *et al* (107) publicaron un estudio en el año 2005 con toda la información referente a los mismos, con el objetivo de agrupar toda la información publicada hasta el momento y correlacionarla con su posible implicación clínica. Más reciente es el estudio publicado en el año 2017 por Wright & Veret, con el mismo objetivo que el estudio mencionado anteriormente (108).

En el año 2001 Ferry *et al* (106) realizaron un estudio usando PCNA y KI67 para el diagnóstico inmunohistoquímico de los ameloblastomas, concluyendo que ambos marcadores son buenos indicadores de la proliferación de los ameloblastomas.

Por último, en el año 2011 Yoon *et al* (88), realizaron un estudio comparativo con distintos marcadores inmunológicos con el objetivo de diferenciar los carcinomas de los ameloblastomas con el uso de marcadores inmunoquímicos. Obtuvieron como conclusiones que los marcadores CK19, MMP-2 Y KI67 podrían ser útiles para diferenciar los ameloblastomas de los carcinomas ameloblásticos.

## **5. Justificación del estudio.**

Son muchos los factores relacionados con el carcinoma de células escamosas que se desconocen en la actualidad. No se conoce si previo a la formación de la neoplasia, hay algún desorden potencialmente maligno, tampoco se conoce por qué hay pacientes que no están expuestos a los factores de riesgo y aun así presentan la enfermedad. La información es escasa sobre la influencia en la enfermedad de los factores virales, genéticos, epigenéticos, síndromes, células troncales cancerosas u otros, o si el carcinoma es más agresivo en la población joven.

Por otro lado, el tratamiento del carcinoma no es específico ni eficaz. La mayoría de los tratamientos son tan agresivos que las secuelas producidas alteran de forma significativa la vida de los pacientes. Presenta gran recurrencia en muchos de los casos, puede metastizar a los ganglios linfáticos, resistencia a quimio y radioterapia en algunos casos.

Prácticamente todos los principios descritos para los carcinomas se pueden aplicar a los ameloblastomas. En este caso, además, hay gran controversia sobre su origen, presenta un diagnóstico muy complicado, y a pesar de su carácter benigno, las secuelas que se producen en la mayoría de los casos son muy fuertes, ya que las resecciones quirúrgicas comprenden gran cantidad de tejido.

Para poder avanzar y ampliar el conocimiento en todos los ámbitos y parámetros mencionados anteriormente, es necesario conocer el comportamiento biológico de ambas patologías, en el cual juegan un papel importante los marcadores SOX2, KI67, OCT3/4, CK14 y CK19, dado que sus niveles de expresión determinan el comportamiento biológico de estas patologías (agresividad, malignidad, capacidad de invasión, etc).

Por todo ello, ampliar el conocimiento y la información desde el punto de vista biológico de ambas patologías, nos permitirá ofrecer un mejor diagnóstico y pronóstico.

## **6. Pregunta de investigación.**

¿Existen relación entre los parámetros y gradificación histopatológica, así como en la inmunexpresión de proteínas (SOX2, OT3/4, KI67, CK14 y CK19) con el comportamiento biológico de carcinomas de células escamosas y ameloblastomas procedentes de pacientes de la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León, México?

## **7. Materiales y métodos.**

*Tipo de estudio:* Transversal, Descriptivo, Comparativo y Ambispectivo.

*Universo muestral:* Archivos de muestras biológicas e histopatológicas, provenientes del banco de tejidos del laboratorio interdisciplinario en el área de Patología Oral y Maxilofacial de la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León de la UNAM.

*Tamaño de la muestra:* Muestra total disponible (no probabilística) por conveniencia compuesta por 3 casos de carcinoma de células escamosas de la cavidad bucal, y 3 casos de ameloblastomas, además de un caso de cada patología para los controles positivos y muestra de tejido sano para los controles negativos.

### **7.1. Criterios de inclusión:**

Muestras en las que el material biológico embebido en parafina tuviera el suficiente material para realizar cortes adicionales, y que las laminillas existentes

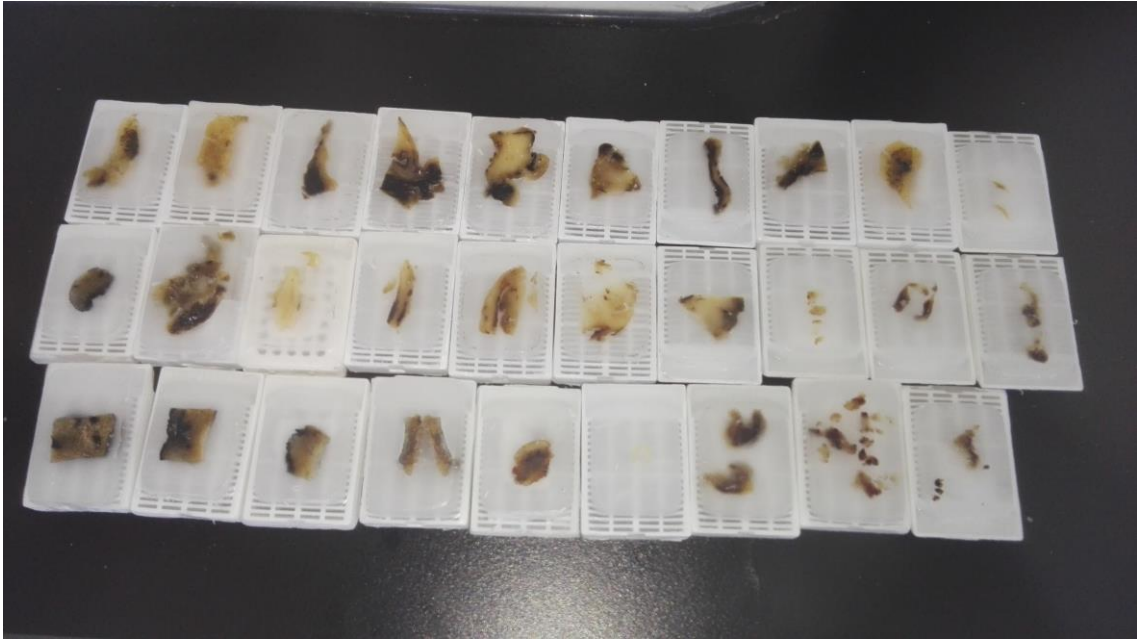
y teñidas con hematoxilina y eosina estuvieran condiciones adecuadas para su observación y análisis.

7.2. Criterios de exclusión:

Se excluyeron todas aquellas laminillas que estuvieron incompletas o en mal estado, así como los bloques de parafina en malas condiciones o con escaso material biológico.

7.3. Criterios de eliminación:

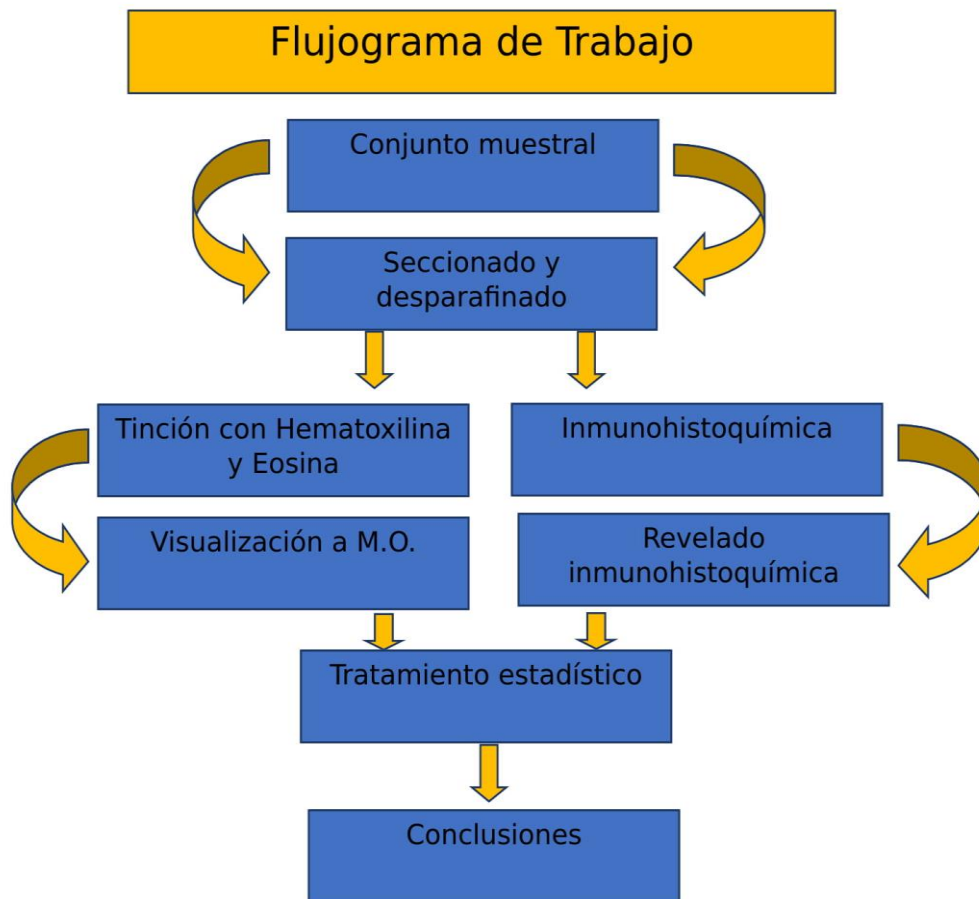
Se eliminaron todos aquellos casos donde por su indiferenciación (completamente anaplásicos) celular fuera necesario realizar estudios complementarios como inmunohistoquímica o en donde los expertos discrepan de los diagnósticos.



**Imagen 1.** Conjunto muestral total antes de aplicar los criterios de inclusión y exclusión.

#### 7.4. Flujograma de trabajo.

Para realizar el estudio histopatológico e inmunohistoquímico de los carcinomas de células escamosas y de los tumores odontogénicos, se siguieron una serie de pasos:



**Figura 1.** Flujograma de trabajo.

### 7.5. Variables dependientes e independientes.

Variables dependientes:

<b>Variable Definición Conceptual</b>	<b>Definición Conceptual</b>	<b>Definición Operacional</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Escala de medición</b>
Carcinoma de células escamosas.	Neoplasia maligna de células escamosas caracterizada por la pérdida de los mecanismos regulatorios, mutación, inmortalización y proliferación celular descontrolada potencialmente invasiva y metastásica.	Tejido confirmado mediante histopatología como carcinoma de células escamosas de la cavidad bucal.	Cualitativa.	Ordinal. 1.-CCECB bien diferenciado.  2.-CCECB moderadamente diferenciado.  3.-CCECB pobremente diferenciado

**Tabla 3.** Variables dependientes del estudio.



Variable Definición Conceptual	Definición Conceptual	Definición Operacional	Tipo de variable	Escala de medición
Ameloblastoma.	El ameloblastoma es una neoplasia benigna polimórfica localmente invasiva, constituida por una proliferación de epitelio odontogénico en un estroma fibroso, que se clasifica dentro de los tumores benignos de epitelio odontogénico con estroma fibroso maduro sin ectomesénquima odontogénico.	Tejido confirmado mediante histopatología como ameloblastoma.	Cualitativo.	1-Multiquístico.  2-Uniquístico.

**Tabla 4.** Variables dependientes del estudio (continuación).

Variables independientes:

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Tipo de Variable	Escala de medición
Inmunohisto química	Procedimiento histopatológico que se basa en la utilización de anticuerpos que mediante reacciones antígeno-anticuerpo, posteriormente reveladas mediante enzimas, permiten identificar marcadores antigénicos.	Tejido teñido de color café o marrón que indique positividad a la inmunoreacción.	Cualitativa.	Negativo (-, 0)  Positivo (+, 1)  Positivo con intensidad fuerte (++, 2)  Kokko <i>et al</i> (88)

**Tabla 5.** Variables independientes del estudio.

7.6. Consideraciones éticas.

El presente estudio se sujetó a las consideraciones bioéticas, se considera con riesgo menor al mínimo, debido a que no fue necesario someter a los sujetos de estudio a intervenciones invasivas ya que las muestras se tomaron de biopsias previas, se consideraron todos y cada uno de los postulados del tratado de Helsinki (109), así como las leyes en materia de salud e investigación en humanos de México.

### 7.7. Inicio del procedimiento.

Las muestras que se usaron, tras previa selección, se hallaban embebidas en parafina. Con el microtomo, las muestras se seccionaron con un grosor de unos 3-5 micrómetros aproximadamente. Posteriormente se tiñeron con Hematoxilina y Eosina (80, 89).

### 7.8. Caracterización histopatológica de los Carcinomas de células escamosas.

Usando un microscopio óptico Leica DM750 con cámara CMEX DC.5000, se tomaron fotografías con el ocular de 10X y los objetivos de 4X, 10X y 40X de los principales parámetros que se tuvieron en cuenta para la caracterización de las muestras. Estos parámetros se consideraron teniendo en cuenta el criterio de malignidad propuesto por la OMS en el año 2005 (90). Los parámetros a considerar fueron los siguientes:

<b>Criterios de malignidad de la OMS (99)</b>	
<b>Datos arquitecturales</b>	<b>Datos citológicos</b>
Estratificación irregular	Variación anormal en el tamaño nuclear
Pérdida de la polaridad de las células basales.	Variación anormal en la forma nuclear
Crestas epiteliales anómalas	Variación anormal en el tamaño celular
Aumento en el número de mitosis	Variación anormal en la forma celular
Mitosis superficiales	Aumento en la proporción núcleo citoplasma
Queratinización prematura de células aisladas	Aumento en el tamaño nuclear
Perlas de queratina dentro de las crestas	Mitosis atípicas

**Tabla 6.** Criterios de malignidad de la OMS 2005.

Además, en este estudio se hizo una descripción del frente tumoral, siguiendo para ello los criterios propuestos por Bryne en el año 1998 (91).

<b>Frente de invasión tumoral (FIT)</b>				
Número de mitosis	Nulo=0	Leve 0-1	Moderado 2-5	Severo más de 5
Patrón de invasión		Cercano al vaso	Rodea vasos y nervios	Infiltra vasos y nervios
Profundidad tumoral de invasión		Lámina propia	Músculo y glándula	Invade hueso
Grado de queratinización		Más del 75%	Hasta un 50%	Menos del 25%
Pleomorfismo nuclear		Menos del 25%	Del 50 al 75%	Más del 75%
Infiltrado inflamatorio		Intenso	Moderado	Leve

**Tabla 7.** Frente de invasión tumoral.

También se hizo una clasificación de malignidad siguiendo el criterio de Broders.

<b>Clasificación de Broders (96).</b>	
Grado I	25% de las células malignas están indiferenciadas
Grado II	50% de las células malignas están indiferenciadas
Grado III	75% de las células malignas están indiferenciadas

**Tabla 8.** Clasificación de Broders.

Con todos estos parámetros se elaboró una matriz de datos.

### 7.9. Caracterización histopatológica de los Ameloblastomas.

Para el análisis histológico de los ameloblastomas, se han seguido los criterios propuestos por Vickers y Gorlin (92):

<b><i>Evaluación histopatológica ameloblastomas (Vickers &amp; Gorlin).</i></b>	
	<b><i>Parámetros a considerar</i></b>
<b>1</b>	Hipercromatismo de los núcleos celulares de los estratos basales del epitelio quístico.
<b>2</b>	Disposición en empalizada de los núcleos basales.
<b>3</b>	Vacuolización del citoplasma celular basal.
<b>4</b>	Polarización invertida de los núcleos basales del epitelio quístico (núcleos ubicados en la extremidad distal de la célula, o sea alejados de la basal).
<b>5</b>	Células suprabasales con pérdida de la cohesión, similar a las células poliédricas del retículo estrellado del órgano del esmalte o gelatina del esmalte.
<b>6</b>	Hialinización del conectivo adyacente a la membrana basal.

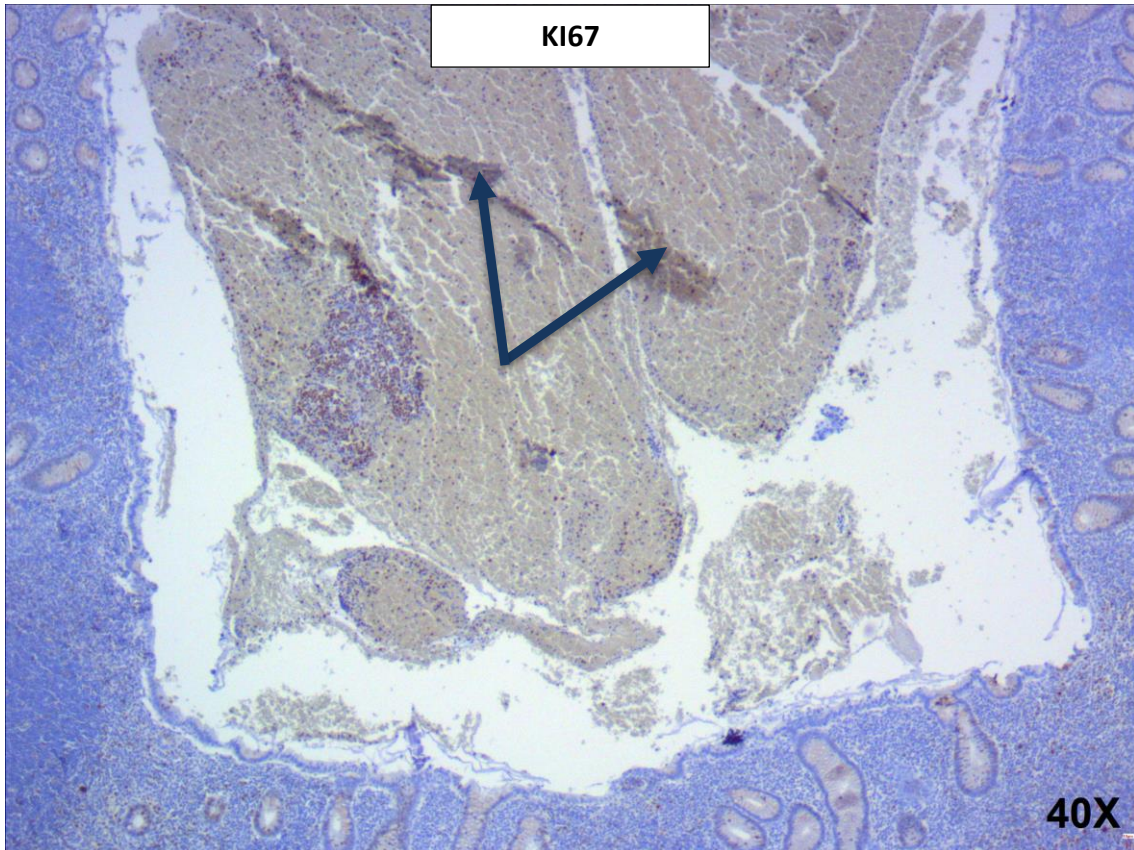
**Tabla 9.** Criterios usados para la evaluación histopatológica de los ameloblastomas (Vickers y Gorlin).

Al igual que en el caso anterior, se realizaron fotografías representativas de todos los parámetros y con los datos recogidos se elaboró una matriz.

### 7.10. Inmunohistoquímica.

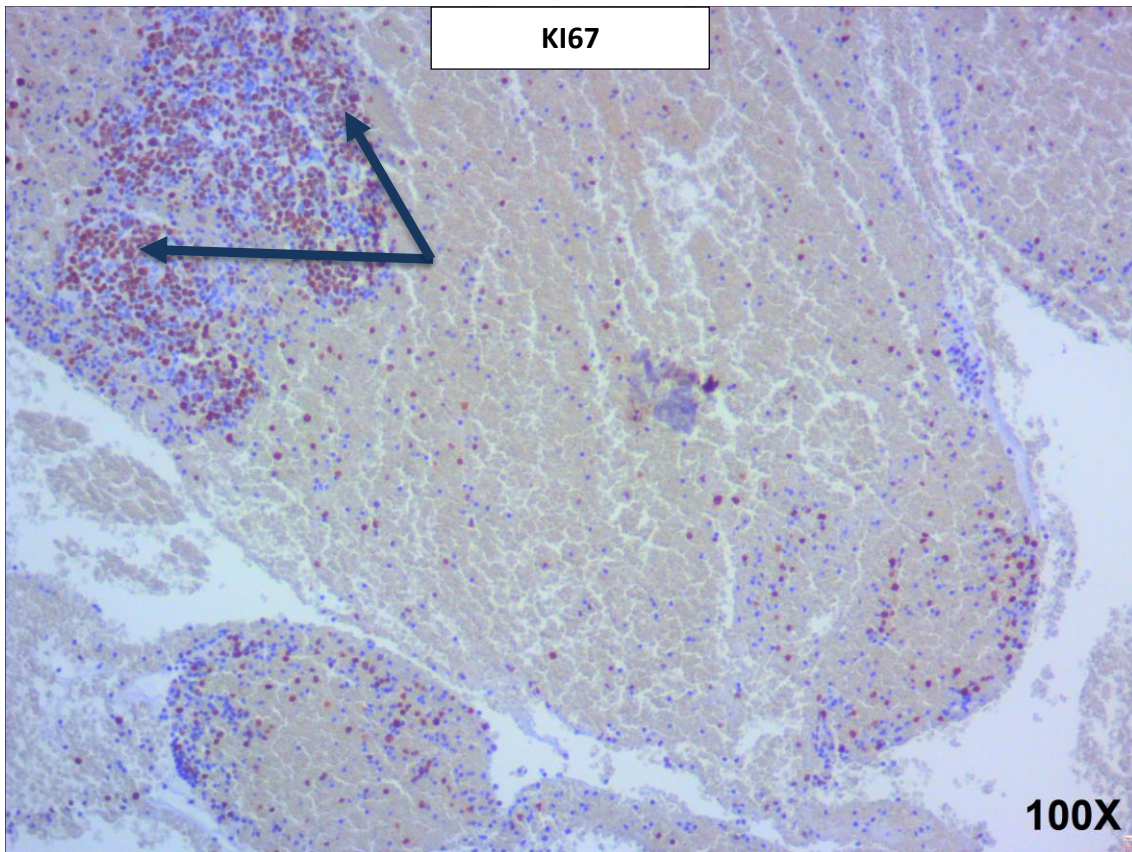
Para hacer la inmunohistoquímica (93) se usó el método de estreptavidina-peroxidasa (SP) propuesto por Shi *et al*, en el año 1988. Consta de las siguientes fases: Desparafinación y rehidratación de las muestras en alcohol graduado, sometimiento de las mismas a alta presión para la recuperación antigénica mediante la inmersión en Tris-EDTA (10mM, pH 9) durante unos 10 minutos a 125°C (desenmascarado). Para bloquear la actividad de la peroxidasa, se usó el peróxido de hidrógeno al 3% en etanol durante 5 minutos. Se incubaron los portaobjetos con SOX2, OCT3/4, KI67, CK14 y CK19 durante 45 minutos. Para ello, se probaron diferentes diluciones de los anticuerpos primarios y secundarios a 1:15, 1:25, 1:50 y 1:60 con el objetivo elegir la dilución más correcta y evitar los falsos positivos y negativos. Tras ello, la dilución utilizada en este estudio fue de 1:50. Finalmente se realizó la incubación con los anticuerpos secundarios usando la dilución 1:50 (monoclonal anti-ratón) en solución salina tamponada con Tris (TBS) con albúmina en suero bovino al 5% (BSA) durante 30 minutos. Para dar color, se utilizó una solución de diaminobencidina al 0,03% durante 5 minutos a temperatura ambiente.

Con el objetivo de evitar los falsos positivos y negativos, se hicieron controles de los distintos marcadores (tanto positivos como negativos). El control positivo se realizó a partir de tejido procedente de apéndice, y para el negativo se usaron lesiones variantes de lo normal como hiperplasias y lipomas. Todos fueron tratados con los marcadores mencionados anteriormente, tras lo cual se incluyeron, a modo de ejemplo, algunas de las microfotografías:



**Imagen 2.** Fotografía a 40X del control positivo de tejido procedente de apéndice. Se puede ver la inmunopositividad intensa a Ki67 a través de las células del epitelio escamoso estratificado, así como de aquellas células procedentes del epitelio que han invadido el tejido conjuntivo, pudiéndose observar todas ellas teñidas de color café y señaladas con las flechas azules.





**Imagen 3.** Fotografía a 100X del control positivo de tejido procedente de apéndice. Se puede ver la inmunopositividad intensa a KI67 a través de las células del epitelio escamoso estratificado, así como de aquellas células procedentes del epitelio que han invadido el tejido conjuntivo, pudiéndose observar todas ellas teñidas de color café y señaladas con las flechas azules.



**Imagen 4.** *Proceso de la inmunohistoquímica.*



**Imagen 5.** *Proceso de la inmunohistoquímica. Desenmascarado.*

### 7.11. Evaluación inmunohistoquímica.

Para la evaluación inmunohistoquímica (88), se ha seguido el criterio publicado por Kokko *et al*/ en el año 2011 (tabla 10). De manera que la clasificación se hizo correlacionando la intensidad de la tinción, con la reactividad de los anticuerpos. Para ello, se ha usado el mismo microscopio óptico que se usó para la histopatología (Leica DM750 con cámara CMEX DC.5000). Se seleccionaron al azar 10 zonas diferentes de cada una de las laminillas, y en cada zona se aplicaron los criterios que se muestran la tabla 10. De las zonas más representativas se tomaron fotografías con el ocular de 10X y combinando los objetivos de 10X y 40X. Por último, usando los datos obtenidos, se confeccionaron unas tablas de resultados.

<b>Evaluación Inmunohistoquímica</b>	
<b>Resultado</b>	<b>Tinción</b>
Negativo (-, 0)	No hay células teñidas.
Positivo (+, 1)	Células teñidas.
Positivo con intensidad fuerte (++, 2)	Células teñidas con mucha intensidad.

**Tabla 10.** *Parámetros para la evaluación inmunohistoquímica propuestos por Kokko et al.*

### 7.12. Modificación de las microfotografías.

Todas las microfotografías de este estudio fueron modificadas con el fin de mejorar la calidad visual de las mismas. Usando el programa Photoshop, se cambiaron algunos parámetros como el brillo, saturación de color y balance de blancos. Por otro, mediante Paint, se añadió el aumento al que fue realizado cada una de las microfotografías.

### 7.13. Análisis estadístico.

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente en el programa SPSS, se realizó estadística descriptiva para el análisis de medidas de tendencia central, valores máximos y mínimos, desviación estándar; para las variables cuantitativas, para variables cualitativas número y porcentaje, X<sup>2</sup> para asociación de variables.

El nivel de significancia empleado en todos los análisis fue del 95% con donde un valor de p menor a 0.05 es indicativo de una relación estadísticamente significativa, por el contrario, un valor mayor a 0.05 indica una ausencia de relación significativa.

## **8. Resultados.**

Se evaluaron un total de 6 casos, con una media de edad en pacientes diagnosticados con ameloblastomas de 50,33 años y una desviación estándar de +/- 2,62, mientras que la media de edad en los pacientes diagnosticados con carcinomas es de 51,33 años y una desviación estándar de +/- 11,78. El 50% de las patologías eran Carcinomas de las células escamosas, mientras que el otro 50% eran ameloblastomas. Respecto al sexo, en los ameloblastomas el 100%

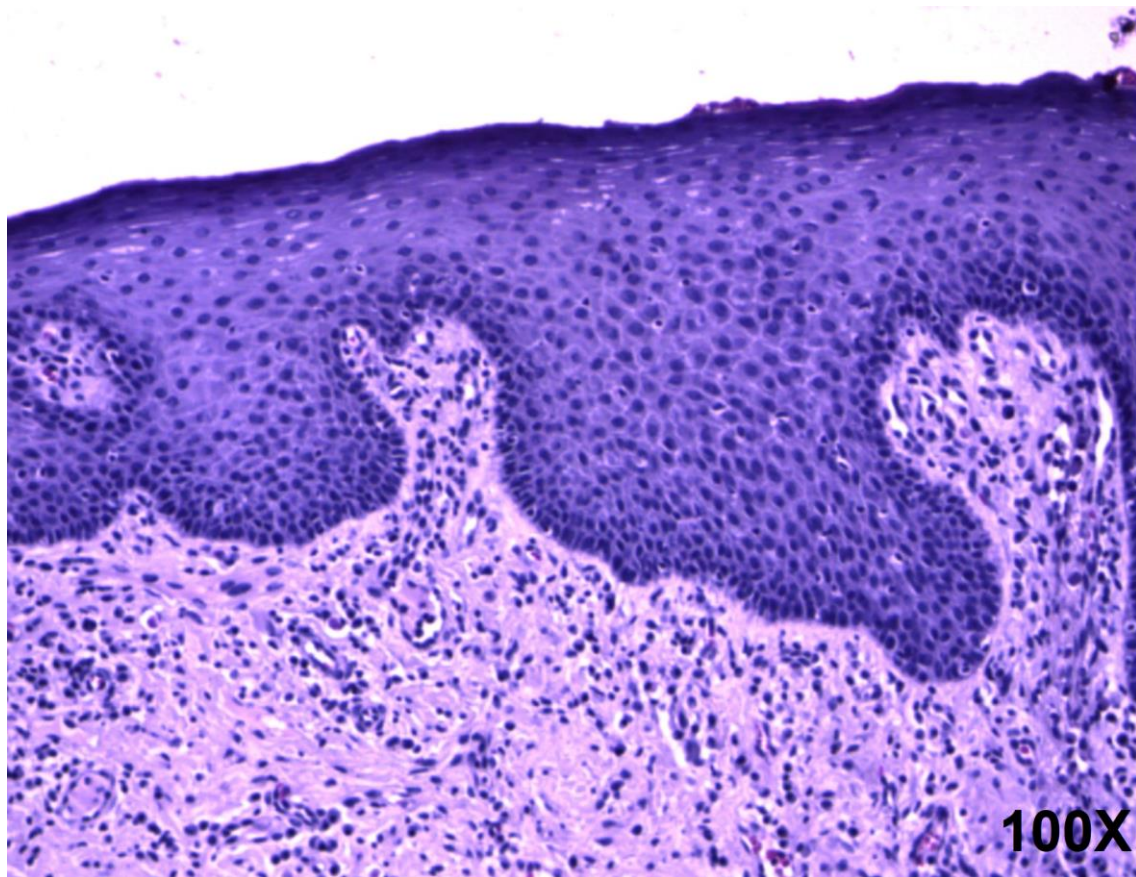
de los casos fueron masculinos, mientras que en los carcinomas el 66,66% era masculino y el 33,33% femenino.

El 66,66% de los Carcinomas de células escamosas estaban bien diferenciados y el 33,33% estaban moderadamente diferenciados. En el caso de los ameloblastomas, el 66,66% de los casos eran uniuíquisticos mientras que el 33,33% eran multiquíquisticos.

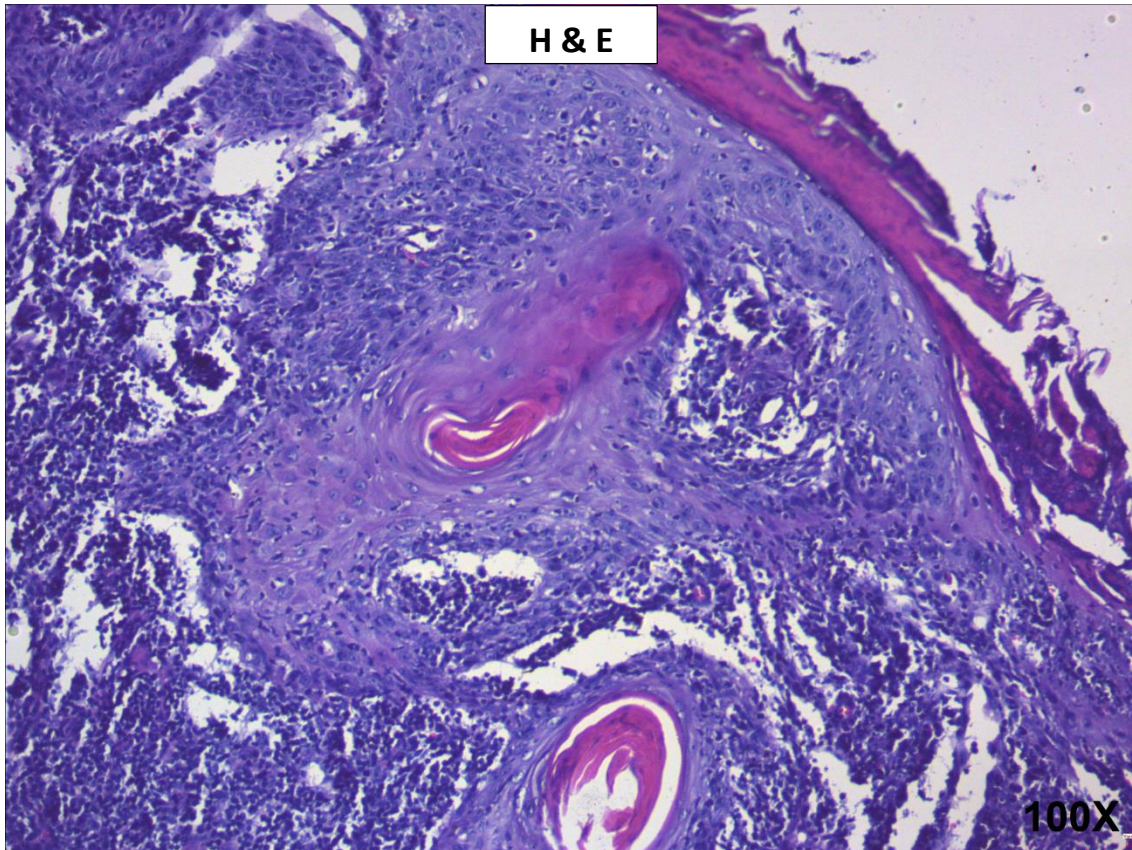
### 8.1. Fotomicrografías de los Carcinomas de células escamosas.

A continuación, se muestran unas microfotografías en las cuales se observan de manera representativa los principales parámetros que se han usado para la evaluación histopatológica de los carcinomas (Imagen 7) en comparativa con tejido estratificado escamoso normal (Imagen 6). En el anexo II, se muestran una serie de microfotografías adicionales realizadas a diferentes aumentos, mostrando de forma específica cada uno de los parámetros.





**Imagen 6.** Fotografía a 100X del epitelio escamoso estratificado normal el cual tiene los tres estratos epiteliales bien definidos (estrato superficial, medio y basal, estando este último distribuido en los clavos epiteliales). Las uniones entre célula y célula son perfectamente perceptibles al microscopio óptico (desmosoma o hemidesmosomas) y las divisiones deben darse siempre en el estrato basal. Células del epitelio basal con morfología uniforme y núcleo central basófilo.

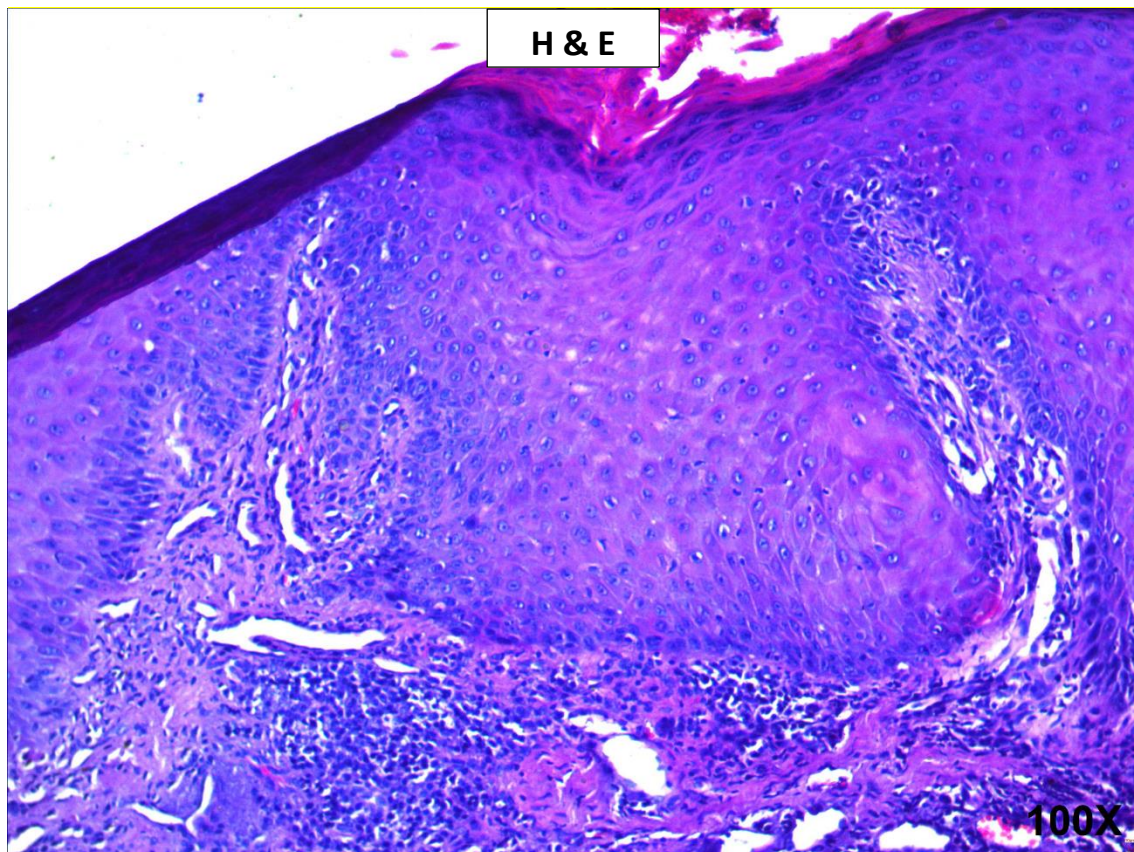


**Imagen 7.** Fotografía a 100X de la laminilla 61-18. Se observa un epitelio escamoso estratificado con pérdida de la organización de los estratos epiteliales (estratificación irregular), queratinización en el interior de las crestas, pleomorfismo celular y nuclear, pérdida de polaridad basal, así como infiltrado inflamatorio de predominio linfoplasmocitario abundante.

- Parámetros del frente de invasión tumoral:

Seguidamente, se muestra una fotografía con uno de los parámetros más representativos del frente de invasión tumoral, como es el caso de la invasión de células pleomórficas procedentes del epitelio. El resto de los parámetros se pueden observar en las microfotografías del Anexo II.

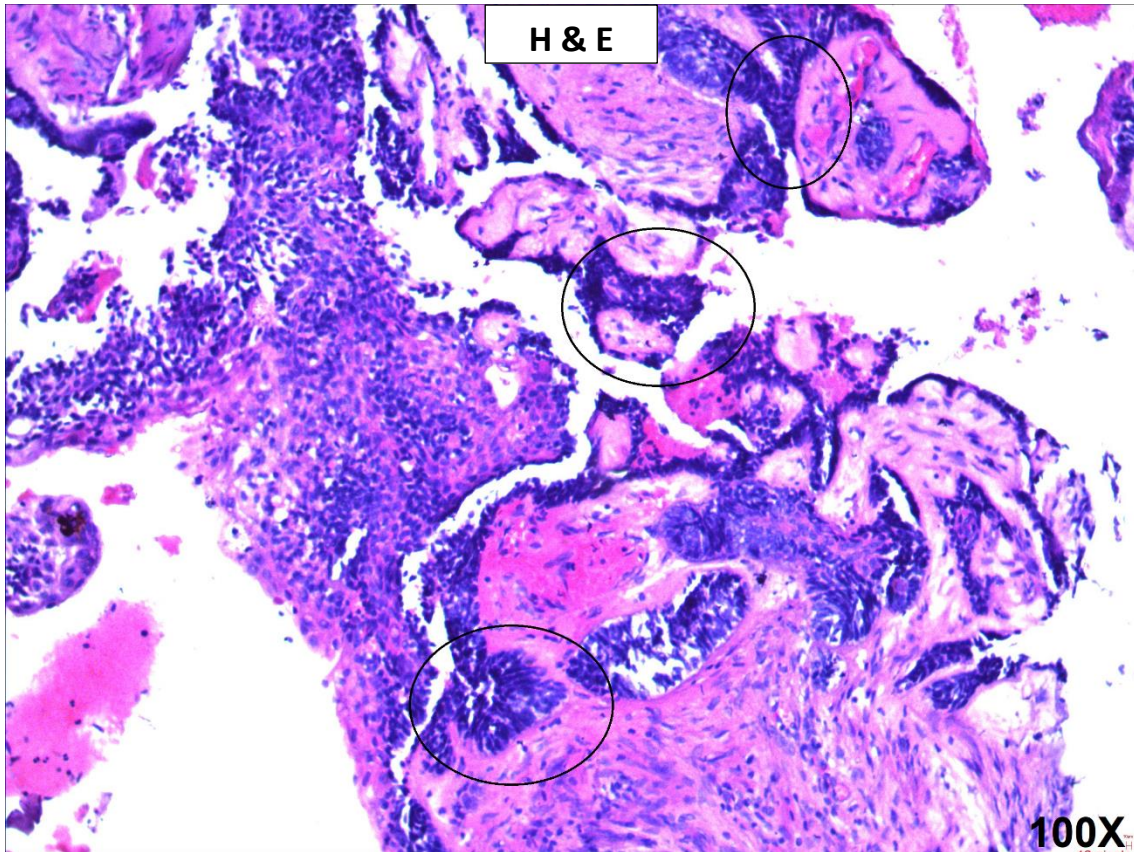




**Imagen 8.** Fotografía a 100X de la laminilla 61-18. Epitelio escamoso estratificado y tejido conjuntivo con invasión de células pleomórficas procedentes del epitelio. Se puede ver cómo las células neoplásicas han invadido el tejido conjuntivo, pero no llegan hasta el músculo (profundidad tumoral de la invasión en la lámina propia).

### 8.2. Fotomicrografías de los Ameloblastomas.

Al igual que en los carcinomas, se tomaron fotografías de los parámetros más representativos a 100X y 400X usando un microscopio óptico. La Imagen 6 se puede tomar, al igual que en el caso anterior, como referencia de epitelio estratificado escamoso normal. En el Anexo III se muestran microfotografías específicas de cada parámetro.



**Imagen 9.** Fotografía a 100X. Islas de epitelio odontogénico rodeadas de un estroma fibroso, en el que se observa el hiper cromatismo de los núcleos celulares de los estratos basales y la disposición en empalizada de las células (señalado por el círculo), la pérdida de polaridad y la hialinización en algunas zonas.

### 8.3. Evaluación histopatológica de los Carcinomas de células escamosas.

Conviene recordar que los criterios usados para la evaluación histopatológica de los carcinomas de células escamosas fueron los propuestos por la OMS (Tabla 6), el Frente de invasión tumoral (Tabla 7) y la Clasificación de Broders (Tabla 8).

Los datos recogidos para la evaluación histopatológica de los Carcinomas de células escamosas se reflejan en las siguientes tablas:

<b>Criterios de malignidad de la OMS</b>				
	<b>Caso 1</b>	<b>Caso 2</b>	<b>Caso 3</b>	<b>Total (%)</b>
<b>Estratificación irregular</b>	X	X	X	100%
<b>Pérdida de la polaridad de las células basales</b>	X	X	X	100%
<b>Crestas epiteliales anómalas</b>	X	X	X	100%
<b>Aumento en el número de mitosis</b>	X	X	X	100%
<b>Mitosis superficiales</b>	X	X	X	100%
<b>Queratinización prematura de células aisladas</b>	X	X	X	100%
<b>Perlas de queratina dentro de las crestas</b>	X		X	66,66%

**Tabla 11.** Criterios de malignidad de la OMS. Laminillas 61-18 (caso 1), 09-19 (caso 2) y 45-19 (caso 3).

<b>Frente de invasión tumoral (FIT)</b>				
	<b>Caso 1</b>	<b>Caso 2</b>	<b>Caso 3</b>	<b>Total (%)</b>
<b>Número de mitosis</b>	Severo	Moderado	Leve	Severo (33,33% de los casos), Moderado (33,33% de los casos) y Leve (33,33% de los casos)
<b>Patrón de invasión</b>	Rodea vasos y nervios	Rodea vasos y nervios	Rodea vasos y nervios	100%
<b>Profundidad tumoral de invasión</b>	Lámina propia	Lámina propia	Lámina propia	100%
<b>Grado de queratinización</b>	Más del 75%	Menos del 25%	Menos del 25%	Más del 75% (en el 33,33% de los casos) y menos del 25% (en el 66,66% de los casos)
<b>Pleomorfismo nuclear</b>	50-75%	Más del 75%	Más del 75%	Entre 50-75% (en el 33,33% de los casos) y más del 75% (en el 66.66% de los casos)
<b>Infiltrado inflamatorio</b>	Intenso	Intenso	Intenso	100%

**Tabla 12.** Frente de invasión tumoral (FIT). Laminillas 61-18 (caso 1), 09-19 (caso 2) y 45-19 (caso 3).

<b>Clasificación de Broders</b>				
	<b>Caso 1</b>	<b>Caso 2</b>	<b>Caso 3</b>	<b>Total (%)</b>
<b>Grado I</b>	X	X	X	100%
<b>Grado II</b>				0%
<b>Grado III</b>				0%

**Tabla 13.** Clasificación de Broders. Laminillas 61-18 (caso 1), 09-19 (caso 2) y 45-19 (caso 3).

#### 8.4. Evaluación histopatológica de los Ameloblastomas.

Tal y como se explica en apartados anteriores, los criterios usados para la evaluación histopatológica de los ameloblastomas fueron los propuestos por Vickers y Golin (Tabla 9).

Los datos recogidos para la evaluación histopatológica de los ameloblastomas se recogen en la siguiente tabla:



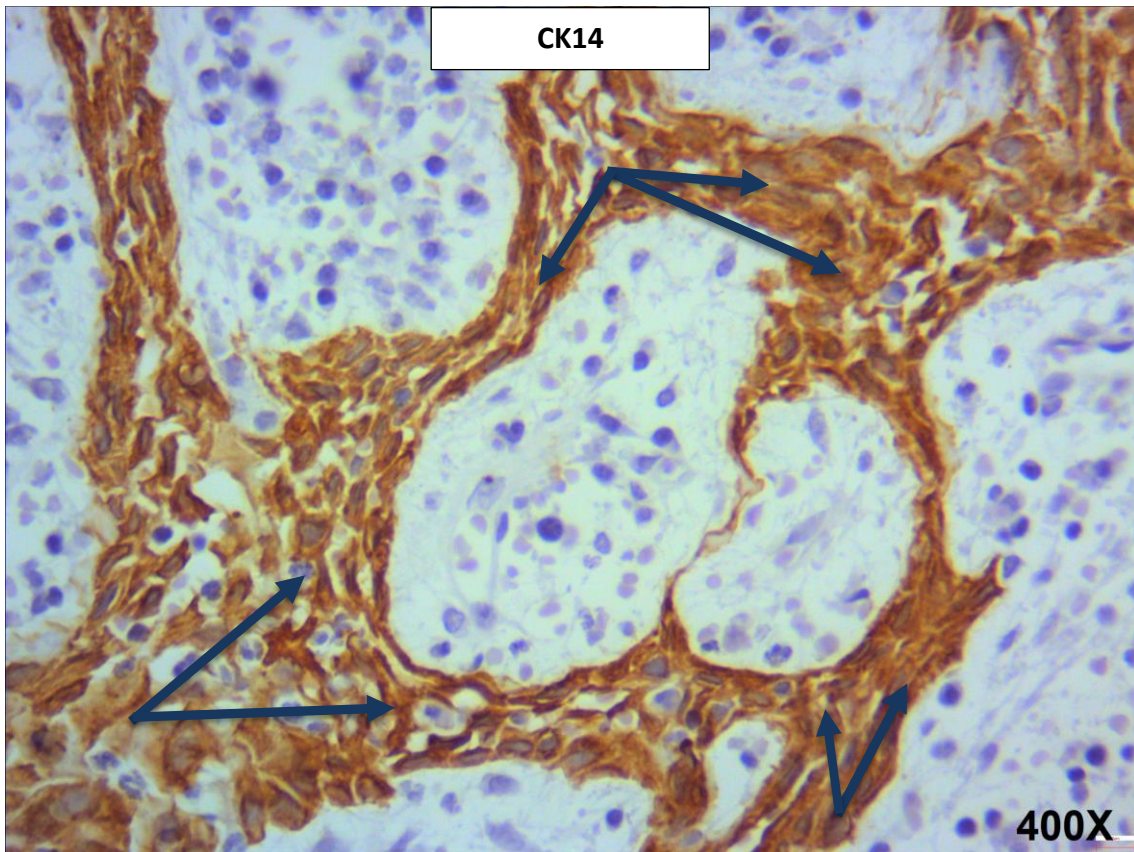
### Caracterización histopatológica ameloblastoma

	Caso 4	Caso 5	Caso 6	Total (%)
1	X	X	X	100%
2	X	X	X	100%
3	X	X	X	100%
4	X	X	X	100%
5		X	X	66,66%
6	X	X	X	100%

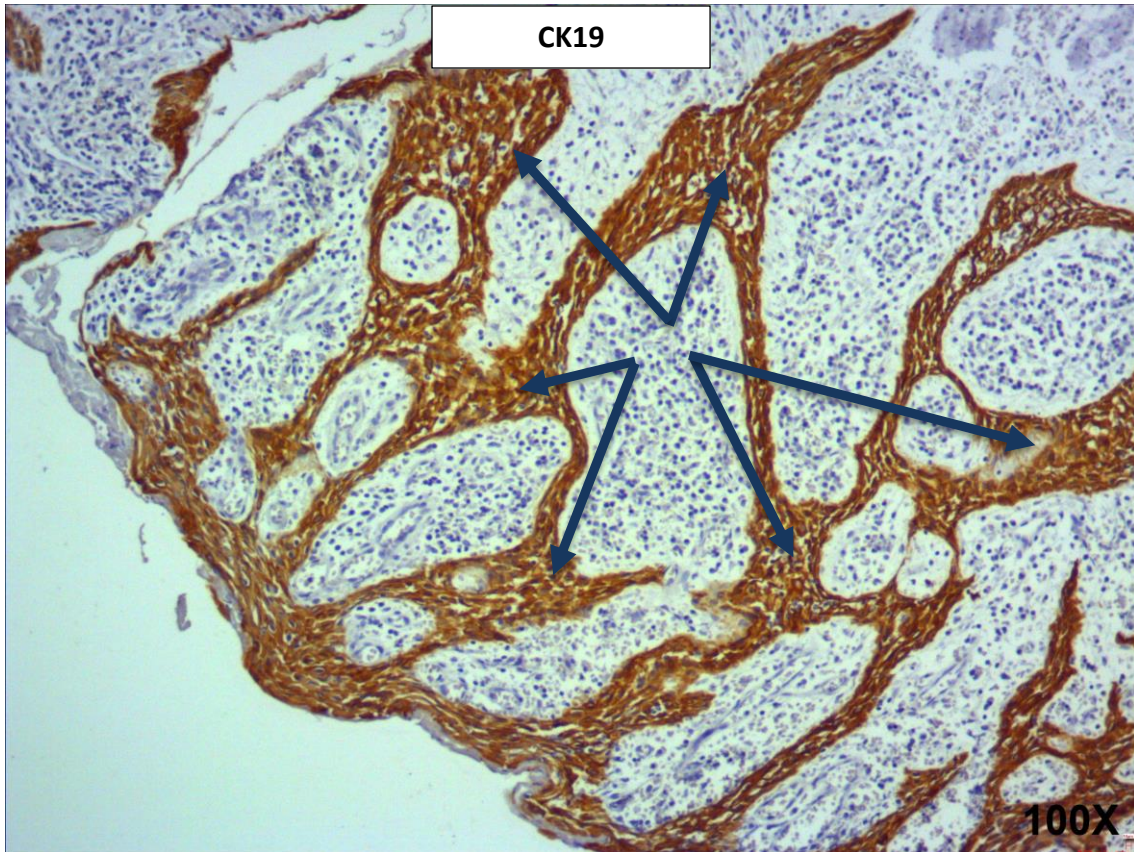
**Tabla 14.** Evaluación histopatológica de ameloblastoma (Vickers). Laminillas 40-18 (caso 4), 83-18 (caso 5) y 19-19 (caso 6).

#### 8.5. Fotomicrografías de la inmunohistoquímica de los Carcinomas de células escamosas.

En primer lugar, se muestran las microfotografías más representativas de los Carcinomas de células escamosas tras realizar la inmunohistoquímica.

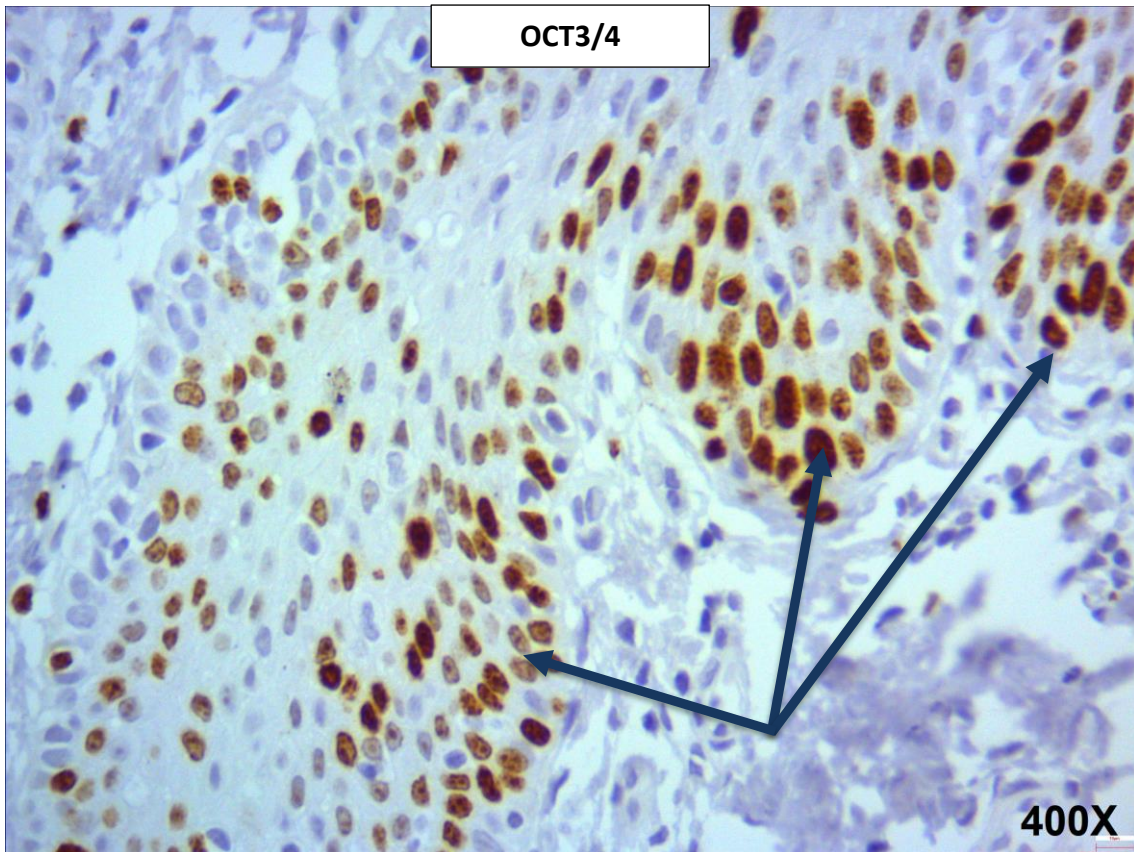


**Imagen 10.** Fotografía a 400X de la laminilla 09-19. Se puede ver la inmunoposividad intensa a CK14 en las zonas teñidas color café señaladas con las flechas azules.

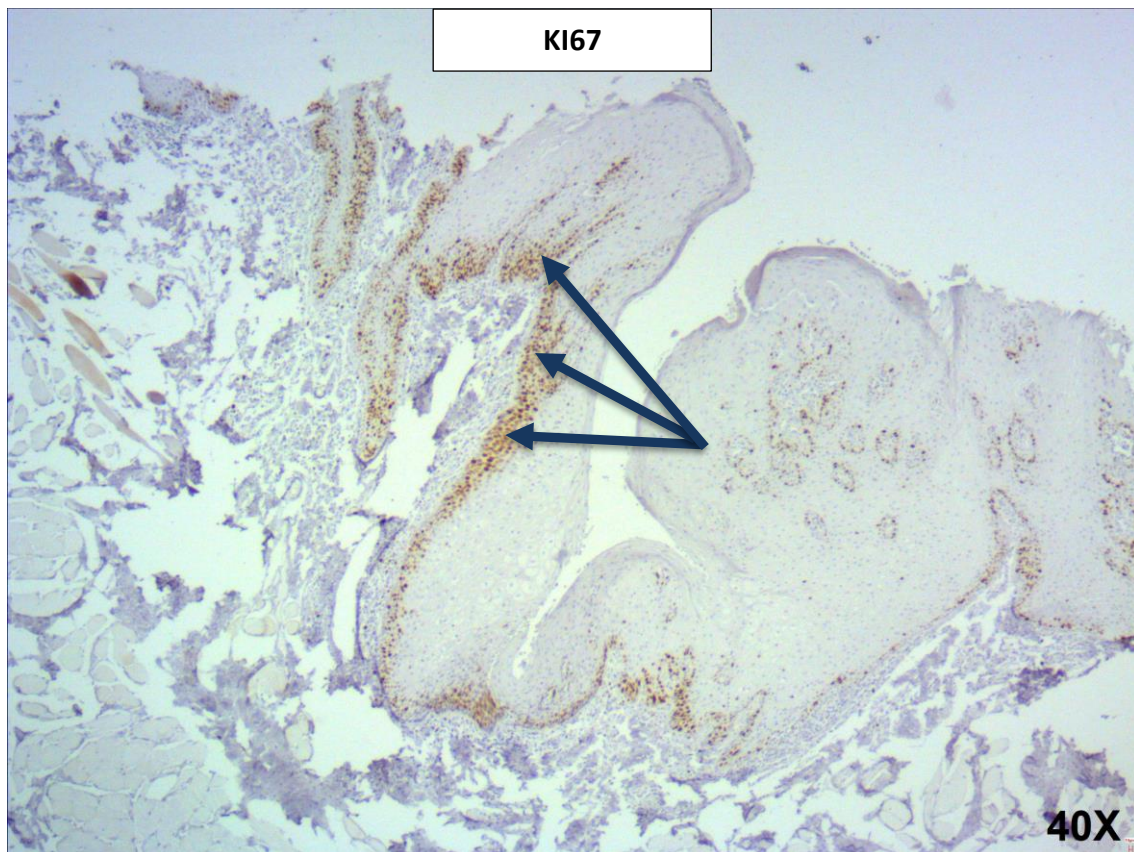


**Imagen 11.** Fotografía a 100X de la laminilla 09-19. Se puede ver la inmunoposividad intensa al marcador CK19 en las zonas teñidas color café señaladas con las flechas azules.





**Imagen 12.** Fotografía a 400X de la laminilla 09-19. Se puede ver la inmunoposividad leve a OCT3/4 en las zonas teñidas color café señaladas con las flechas azules.

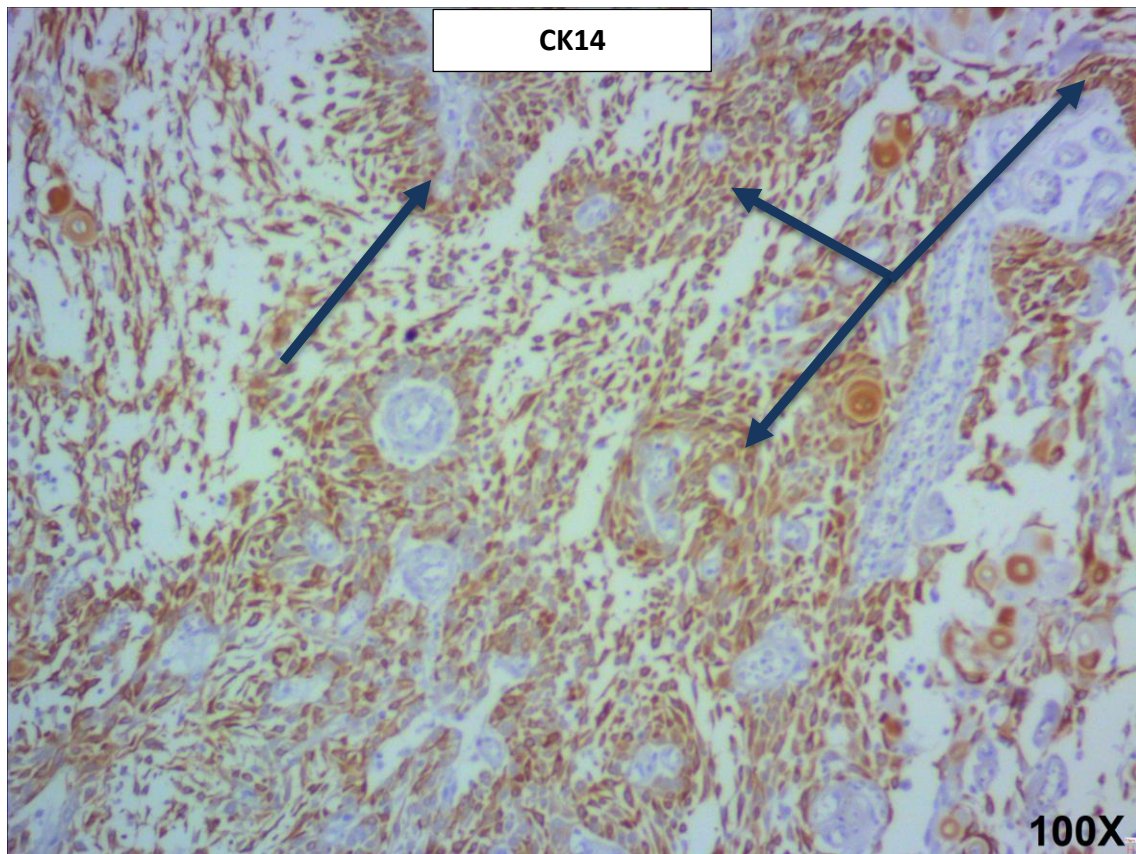


**Imagen 13.** Fotografía a 40X de la laminilla 09-19. Se puede ver la inmunopositividad intensa a KI67 en las zonas teñidas color café señaladas con las flechas azules.

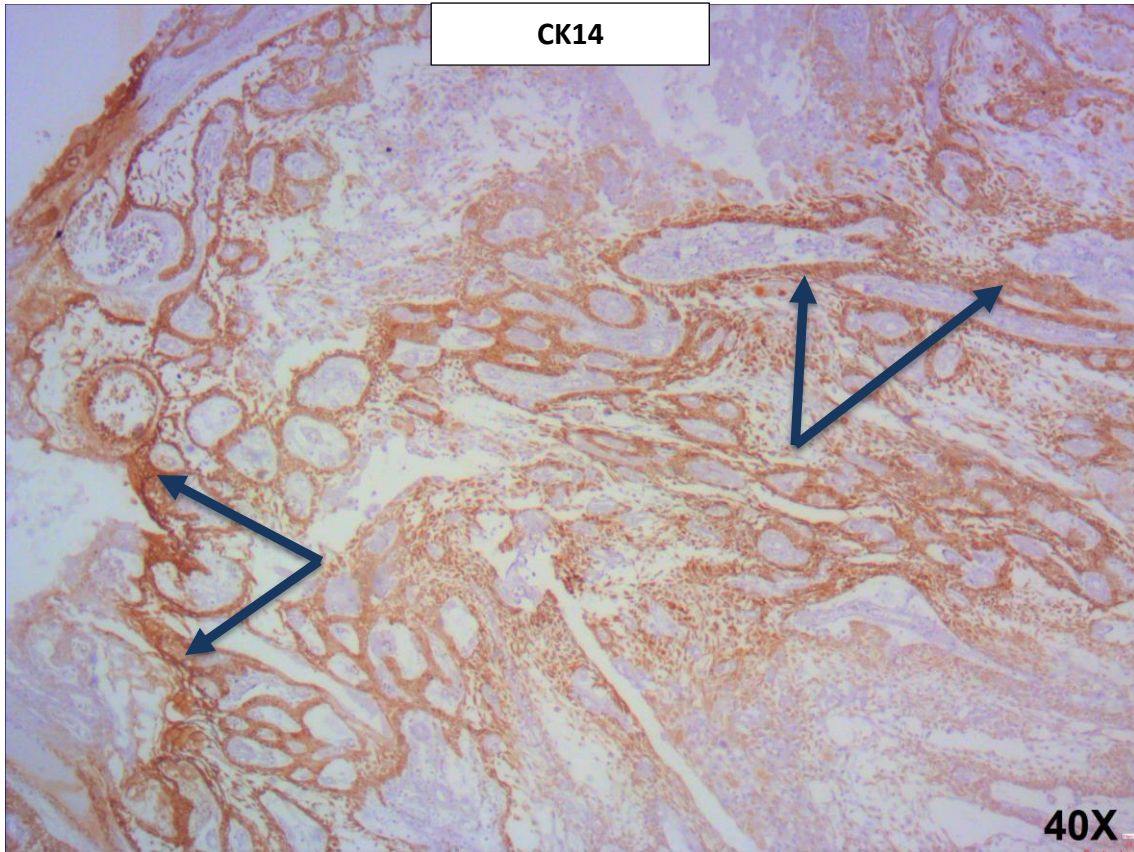


### 8.6. Fotomicrografías de la inmunohistoquímica de los Ameloblastos.

Seguidamente, se muestran las microfotografías más representativas de los ameloblastomas tras realizar la inmunohistoquímica.

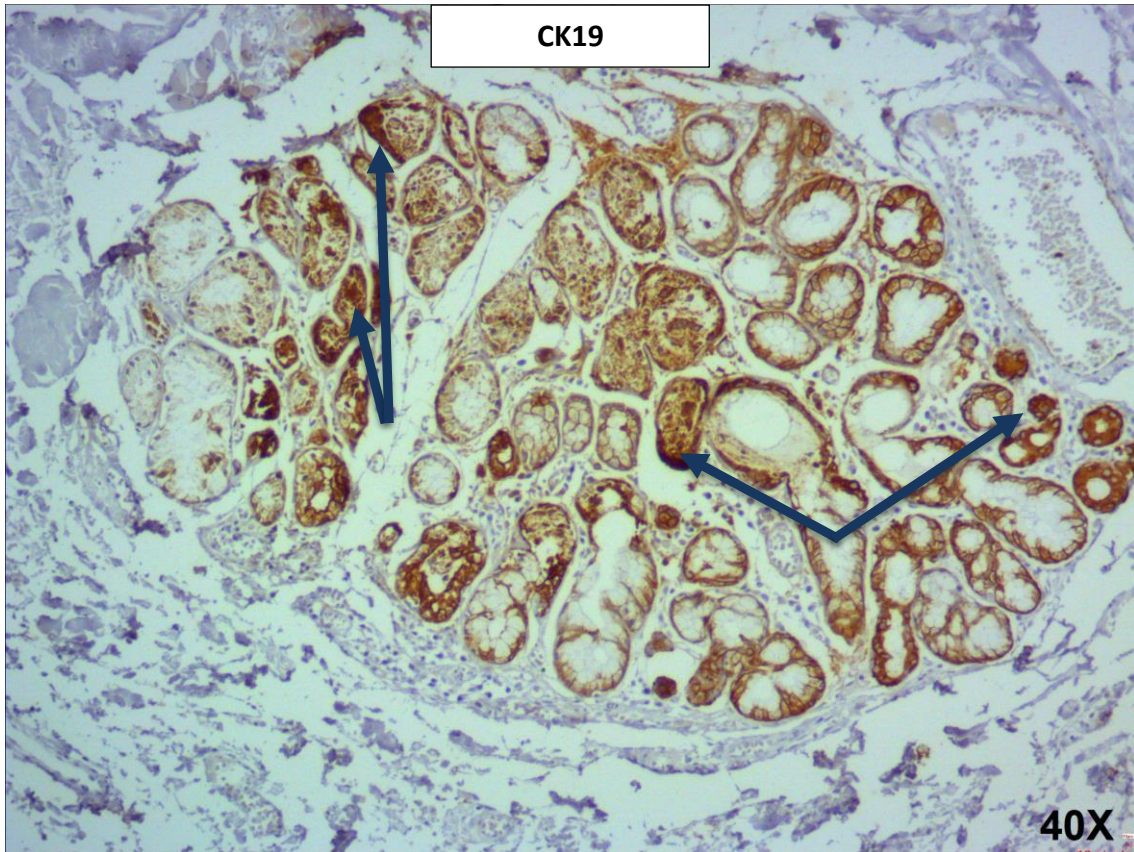


**Imagen 14.** Fotografía a 100X de la laminilla 40-18. Se puede ver la inmunopositividad intensa a CK14 en las zonas teñidas color café señaladas con las flechas azules.

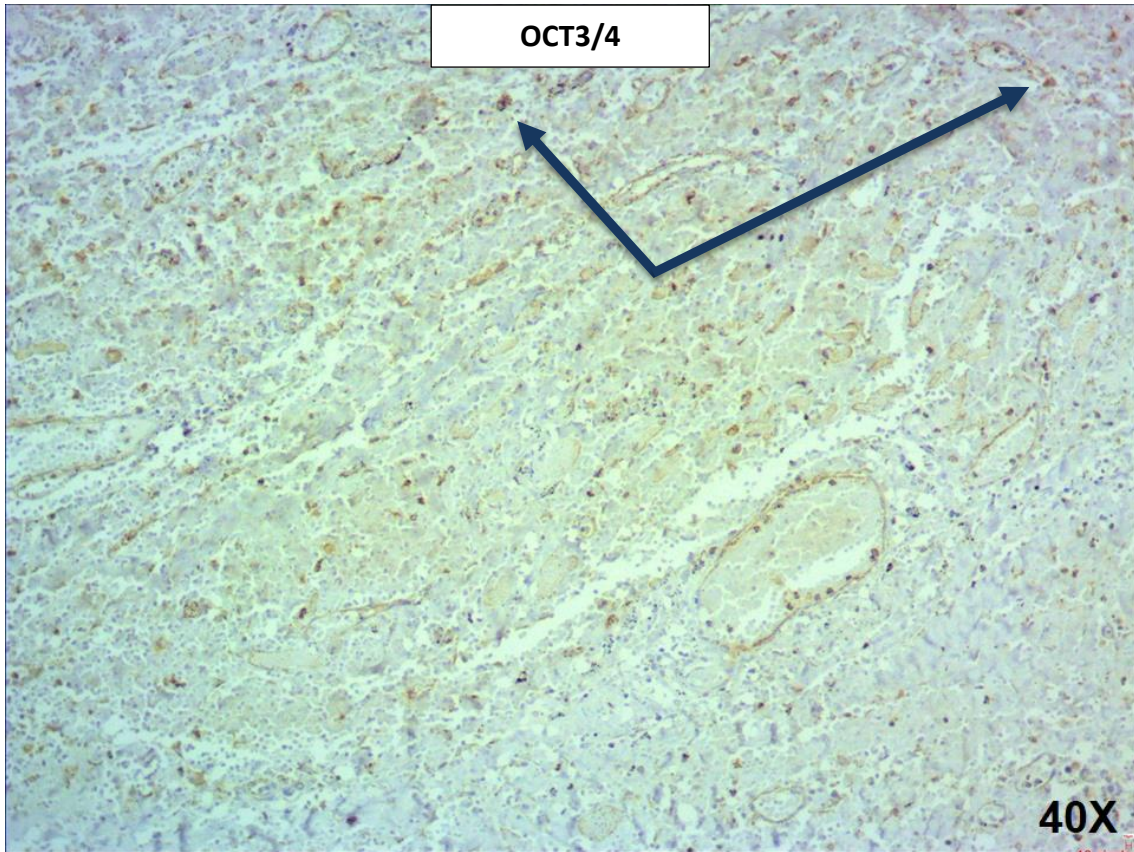


**Imagen 15.** Fotografía a 40X de la laminilla 40-18. Se puede ver la inmunoposividad intensa a CK14 en las zonas teñidas color café señaladas con las flechas azules.



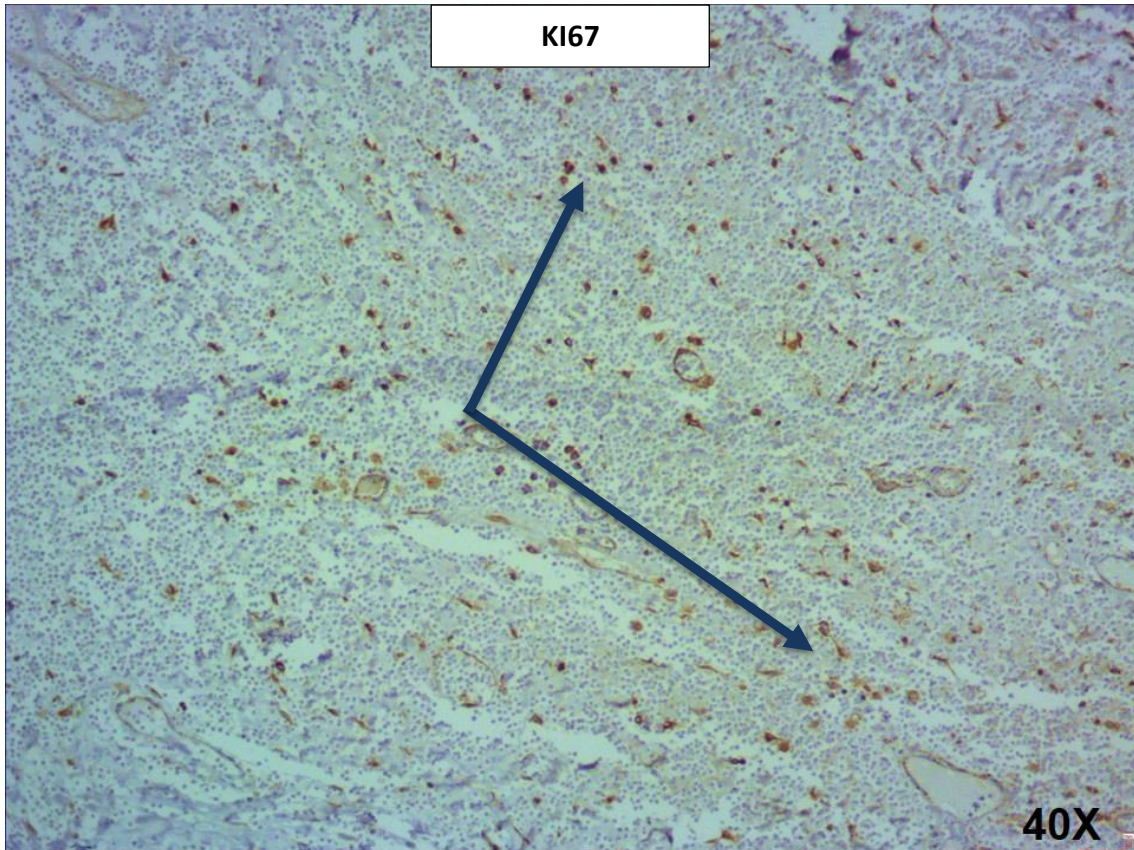


**Imagen 16.** Fotografía a 40X de la laminilla 40-18. Se puede ver la inmunopositividad intensa a CK19 en las zonas teñidas color café señaladas con las flechas azules.



**Imagen 17.** Fotografía a 40X de la laminilla 40-18. Se puede ver la inmunoposividad leve a OCT3/4 en las zonas teñidas color café señaladas con las flechas azules.





**Imagen 18.** Fotografía a 40X de la laminilla 40-18. Se puede ver la inmunoposividad leve a KI67 en las zonas teñidas color café señaladas con las flechas azules.

8.7. Revelado de la inmunohistoquímica de los Carcinomas de células escamosas.

Para la evaluación de la inmunohistoquímica se siguieron los criterios propuestos por Koko et al (Tabla 10), tal y como se explica en apartados anteriores.

A continuación, se muestra una tabla con los resultados inmunohistoquímicos de los Carcinomas de células escamosas incluidos en este estudio.

<b>Resultados inmunohistoquímicos de los Carcinomas de células escamosas</b>						
<b>Laminillas</b>	<b>SOX2</b>	<b>OCT3</b>	<b>OCT4</b>	<b>CK14</b>	<b>CK19</b>	<b>KI67</b>
<b>61-18</b>	0	0	0	++2	++2	+1
<b>09-19</b>	0	+1	+1	++2	0	++2
<b>45-19</b>	0	0	0	++2	++2	++2
<b>Total positivo (%)</b>	0%	33,33%	33,33%	100% con intensidad fuerte	66,66% con intensidad fuerte	100% (el 66,66% con intensidad fuerte)

**Tabla 15.** Evaluación inmunohistoquímica de SOX2, OCT3/4, CK14, CK19 y KI67 en Carcinomas de células escamosas según el criterio de Kokko et al. Laminillas 61-18 (caso 1), 09-19 (caso 2) y 45-19 (caso 3).



### 8.8. Revelado de la inmunohistoquímica de los Ameloblastomas.

Al igual que en los carcinomas, se muestra una tabla con los resultados inmunohistoquímicos de los Ameloblastomas incluidos en este estudio.

Resultados inmunohistoquímicos de los Ameloblastomas						
Laminillas	SOX2	OCT3	OCT4	CK14	CK19	KI67
<b>40-18</b>	0	+1	0	++2	+1	+1
<b>83-18</b>	0	0	0	++2	++2	+1
<b>19-19</b>	0	+1	+1	++2	++2	0
<b>Total positivo (%)</b>	100%	66,66%	33,33%	100% con intensidad fuerte	100% (el 66,66% con intensidad fuerte)	66,66%

**Tabla 16.** Evaluación inmunohistoquímica de SOX2, OCT3/4, CK14, CK19 y KI67 en Ameloblastomas según el criterio de Kokko et al. Laminillas 40-18 (caso 4), 83-18 (caso 5) y 19-19 (caso 6).

### 8.9. Estadística comparativa.

Teniendo en cuenta los resultados de la inmunohistoquímica, no se puede decir que la expresión de KI67 es significativamente diferente en los carcinomas de células escamosas que en los ameloblastomas (para Mantel y Haenszen a una y dos colas). Lo mismo nos ocurre con OCT3 y CK19, de forma que la expresión de ambas no es significativamente diferente en carcinomas de células escamosas y ameloblastomas (en el anexo IV, a modo de ejemplo, se pueden observar algunas tablas de la estadística comparativa).

En el resto de marcadores, los resultados tampoco fueron significativos debido a la alta homogeneidad de los mismos. De igual forma ocurre con la edad, y los parámetros histopatológicos, donde la homogeneidad de los datos hace que no sean estadísticamente significativos.

8.10. Comparativa de los resultados histopatológicos, inmunohistoquímicos y comportamiento biológico de los Carcinomas de células escamosas y Ameloblastomas.

En las siguientes tablas (Tablas 17 y 18) se muestra a modo de resumen, los resultados de la histopatología y de la inmunohistoquímica en comparativa con el comportamiento biológico de ambas patologías.

	Patología	Histopatología	Inmunohistoquímica	Comportamiento biológico
<b>Caso 1</b>	Carcinoma de células escamosas	Crestas epiteliales anómalas. Aumento en el número de mitosis. Perlas de queratina dentro de las crestas. Etc.	Positividad a CK14/19.  Positividad a KI67.	Alta expresión en carcinomas.  Alto índice de proliferación celular. Indicador de malignidad.
<b>Caso 2</b>	Carcinoma de células escamosas	Crestas epiteliales anómalas. Aumento en el número de mitosis. Etc.	Positividad OCT3/4.  Positividad a CK14/19.  Positividad intensa a KI67.	Alta capacidad invasora. Alta expresión en carcinomas.  Alto índice de proliferación celular. Indicador de malignidad.
<b>Caso 3</b>	Carcinoma de células escamosas	Crestas epiteliales anómalas. Aumento en el número de mitosis. Perlas de queratina dentro de las crestas. Etc.	Positividad a CK14/19.  Positividad intensa a KI67.	Alta expresión en carcinomas.  Alto índice de proliferación celular. Indicador de malignidad.

**Tabla 17.** Comparativa histopatología, inmunohistoquímica y comportamiento biológico de los carcinomas de células escamosas.

	Patología	Histopatología	Inmunohistoquímica	Comportamiento biológico
<b>Caso 4</b>	Ameloblastoma	Hipercromatismo de los núcleos celulares. Disposición en empalizada de los núcleos basales. Pérdida de cohesión en las células suprabasales.	Positividad a OCT3.  Positividad intensa a CK14/19.	Alta capacidad invasora.  Papel fundamental en el comportamiento biológico de los ameloblastomas.
<b>Caso 5</b>	Ameloblastoma	Hipercromatismo de los núcleos celulares. Disposición en empalizada de los núcleos basales.	Positividad intensa a CK14/19.	Papel fundamental en el comportamiento biológico de los ameloblastomas.
<b>Caso 6</b>	Ameloblastoma	Hipercromatismo de los núcleos celulares. Disposición en empalizada de los núcleos basales. Pérdida de cohesión en las células suprabasales.	Positividad OCT3/4.  Positividad intensa a CK14/19.	Alta capacidad invasora.  Papel fundamental en el comportamiento biológico de los ameloblastomas.

**Tabla 18.** Comparativa histopatología, inmunohistoquímica y comportamiento biológico de los ameloblastomas.

## **9. Discusión.**

Respecto a la inmunohistoquímica y su relación con el comportamiento biológico de ambas patologías, en todos los casos de carcinomas de células escamosas, el resultado de SOX2 fue negativo. Este marcador está relacionado con la progresión tumoral y con un mayor tamaño del tumor (99). El 33,33% dieron positivo en OCT3 y OCT4, lo cual se puede relacionar directamente con tumores altamente invasivos, puesto que el papel de OCT4 en la invasión tumoral es fundamental, como proponían Kumar *et al* en su estudio (70). OCT3, al igual que OCT4, está implicado en la renovación y pluripotencia de las células madre y embrionarias (71). El 100% de las muestras fue positivo con intensidad fuerte en CK14, marcador que se encuentra en altos niveles en los ameloblastos secretores (105), pero que como proponían Chu & Weiss en su estudio, también se encuentra en altos niveles en los carcinomas (78). El 66,66% presentaba positividad con intensidad fuerte en CK19. CK19 es una citoqueratina cuya función se ha atribuido en la diferenciación ameloblástica (75, 76), pero que también se expresa en Carcinomas de células escamosas, como corroboró el estudio realizado por Yoon *et al* en el año 2011 (79). El 100% de las muestras fue positivo a KI67 (el 66,66% lo hizo con intensidad fuerte y en mayor proporción que en los ameloblastomas), lo cual se puede relacionar directamente con un pronóstico peor y la alta capacidad metastásica de los tumores, como concluyeron Motta *et al* en su estudio (72). Esto es debido a que KI67 se asocia con un mayor índice de proliferación celular, de manera que a mayor expresión de KI67, mayor será la proliferación celular, con lo que, la agresividad, la invasión y metástasis tumoral serán los procesos dominantes durante el transcurso de la patología. En consecuencia, altos niveles de KI67 se pueden relacionar, como ya se ha mencionado anteriormente, con un pronóstico peor y tumores altamente metastásicos (72).

En el caso de los ameloblastomas, el 100% de las muestras fue negativo a SOX2, con lo que se podría relacionar con un mejor pronóstico, dado que los ameloblastomas son tumores benignos y la neoplasia presentaría un comportamiento biológico menos agresivo (35). El 66,66% fue positivo a OCT3, con lo que estos ameloblastomas tendrían una alta capacidad de invadir los tejidos vecinos (71), y lo mismo nos ocurre con OCT4 (70). El 100% de las

muestras dio positivo a CK14 y CK19, los cuales son fundamentales en el comportamiento biológico de los ameloblastomas, ya que participan en la diferenciación ameloblástica, tal y como propusieron Crivelini *et al* en su estudio (75). A diferencia de los Carcinomas, sólo el 66,66% de las muestras presentaron intensidad leve a KI67, debido a que los ameloblastomas casi no presentan capacidad metastásica ni tendencia de malignidad (41, 42, 43).

## **10. Conclusiones.**

Tras la revisión de la literatura, se puede concluir que el Carcinoma de células escamosas es una neoplasia maligna, cuyo origen procede de las células escamosas del epitelio que recubre la mucosa. Presenta una alta capacidad de recurrencia. Puede ser inducido por diversos factores como el alcohol y el tabaco, y presenta predilección por el sexo masculino.

El ameloblastoma es una formación benigna, de crecimiento lento, pero a pesar de ello puede llegar a formar masas tumorales muy importantes, que afectan a la fisiología y aspecto físico de las personas que lo padecen. Rara vez presenta malignidad. No presenta predilección por ninguno de los sexos. Hay gran controversia en su origen.

Son pocos los estudios realizados hasta la actualidad con el fin de conocer el comportamiento biológico de ambas patologías, ya que la mayoría se derivan hacia el ámbito clínico.

El conjunto muestral de este estudio no es representativo de la realidad, pero la información y los datos que se derivan del mismo pueden servir de ayuda para entender el comportamiento de ambas patologías.

Teniendo en cuenta los resultados de este estudio, y la literatura consultada, el rango de edad en el que se presentan ambas patologías es muy variable, siendo algo más jóvenes los pacientes con ameloblastomas.

Un resultado muy llamativo de este estudio es el caso del ameloblastoma unicuístico, que en este estudio es el más frecuente, a pesar de que, en la mayoría de la bibliografía consultada, el más frecuente era el de tipo sólido. El comportamiento biológico del ameloblastoma unicuístico es menos agresivo que el multicuístico, puesto que este último crece en todas las direcciones, invadiendo los tejidos vecinos y destruyendo el hueso. En los ameloblastomas incluidos en este estudio, hay gran predilección por el sexo masculino de forma contraria a lo que dice la literatura.

En los carcinomas, la mayoría de las muestras se encontraban bien diferenciadas, es decir, las células neoplásicas son similares a la célula que le dio origen. Esto presenta gran importancia biológica, dado que las células no se han diferenciado y el comportamiento de la patología es menos agresivo. Por otro lado, todos los casos se incluyeron en el Grado I en la Clasificación de Broders, lo que coincide con lo mencionado anteriormente, de forma que el comportamiento biológico será menos agresivo.

En resumen, el estudio de ambas patologías es muy relevante para aumentar la información sobre las mismas, conocer su comportamiento biológico y de esta forma poder ofrecer un diagnóstico y tratamiento más eficaz, mejorando la calidad de vida de los pacientes.

Teniendo en cuenta que los resultados del estudio no son significativos debido al pequeño tamaño muestral, para elaborar las conclusiones se ha usado la tendencia de los datos. Con los resultados de la inmunohistoquímica, podemos predecir el comportamiento biológico de los carcinomas de células escamosas y de los ameloblastomas. KI67 es una proteína nuclear y nucleolar, cuya función se asocia a la proliferación celular, está directamente relacionado con la malignidad tumoral. Se puede concluir que KI67 es un marcador de malignidad, ya que este se expresó con alta intensidad y en mayor proporción en carcinomas de células escamosas, mientras que en ameloblastomas se expresó en menor proporción, y con intensidad leve. Por todo ello, KI67 se relaciona con un alto índice de proliferación celular que correlacionado con las características histopatológicas se asocia con malignidad y el mayor tamaño tumoral. En

ameloblastomas, presenta un nivel bajo de expresión debido a que el índice de proliferación celular es menor, debido a que el carácter de este es benigno.

Biológicamente hablando, es muy importante tener en cuenta el papel de KI67, ya que sus altos niveles de expresión se pueden relacionar directamente con la mayor agresividad de ambas patologías.

CK14 y CK19 se expresan en el citoesqueleto de la célula y ambas son fundamentales en la diferenciación ameloblástica, motivo por el cual se expresan en mayor proporción en los ameloblastomas. Según los resultados de este estudio, CK19 podría ser un marcador útil para diferenciar los carcinomas de células escamosas de los ameloblastomas, debido a que ambas patologías lo expresan en proporciones diferentes. Por otro lado, el uso de estos marcadores puede ser muy útil, ya que nos ofrecen orientación en cuanto al comportamiento biológico de los ameloblastomas como han demostrado estudios anteriores.

OCT3 y OCT4 ambos se expresan a nivel nuclear y juegan un papel fundamental en la pluripotencia y en la renovación de las células madre. Al igual que nos ocurría anteriormente, teniendo en cuenta los resultados de este estudio, OCT4 sería útil para diferenciar ambas patologías debido a la expresión diferencial en carcinomas de células escamosas y en ameloblastomas.

SOX2 se expresa a nivel nuclear y su función es fundamental en la regulación de la pluripotencia de las células madre. Su positividad se relaciona con un pronóstico peor. Conforme a los resultados de este estudio, no podemos decir que SOX2 sea un indicador de peor pronóstico, a consecuencia de que el resultado fue negativo tanto en los carcinomas de células escamosas, como en los ameloblastomas. Desde el punto de vista biológico, su baja expresión se relaciona con la baja capacidad de progresión tumoral, lo cual tendría sentido en el caso de los ameloblastomas porque estos presentan un crecimiento lento y carácter benigno.

A modo de perspectiva para el futuro, algunos de los marcadores utilizados en este estudio se podrían utilizar en el diagnóstico de los pacientes, siempre y cuando se realicen los estudios e investigaciones pertinentes para caracterizar los diferentes marcadores. Por ejemplo, KI67 podría utilizarse como marcador de malignidad o incluso, OCT4 para diferenciar los carcinomas de células



escamosas de los ameloblastomas. Es de gran importancia tener en cuenta el efecto que podrían tener en la expresión de los marcadores algunos factores como la variabilidad genética de los individuos.

En consecuencia, podemos concluir que la realización de estudios para la caracterización de los distintos paneles de marcadores inmunohistoquímicos es de gran importancia, ya que estos nos dan pistas sobre el comportamiento biológico de los carcinomas de células escamosas y de los ameloblastomas. El comportamiento biológico varía en función del nivel de expresión de estos marcadores. Estudios de este tipo son muy útiles en la investigación de ambas patologías, ya que conociendo su comportamiento biológico se puede ofrecer un tratamiento y diagnóstico más preciso y eficaz.

## **11. Referencias bibliográficas.**

- 1.- Hahn WC & Weinberg RA. Rules for making human tumor cells. *N England J Med*, 2002; 347:1593-603.
- 2.- García VG, González-Moles MA, Bascones MA. Bases moleculares del cáncer oral. Revisión bibliográfica. *Av Odontoestomatol*, 2005; 21(6):287-95.
- 3.- Meza GG, Muñoz Ibarra J, Páez VC, Cruz LB, Aldape BB. Carcinoma de células escamosas de cavidad bucal en un centro de tercer nivel de atención social en la ciudad de México: Experiencia de cinco años. *Av Odontoestomatol*, 2009; 25(1):19-28.
- 4.- El-Naggar AK, Chan JK, Grandis JR, Takata T, Slotweg PJ. WHO Classification of Head and Neck Tumours (4th edition). *IACR*, 2017.
- 5.- Jemal A, Tiwari RC, Murray T, Ghafoor A, Samuels A, Ward E, *et al.* Cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 2004; 54(1):8-29.
- 6.- Johnson NW. Orofacial neoplasms: global epidemiology, risk factors and recommendations for research. *Int Dent J*, 1991;41(6): 365-75.
- 7.- García-Pola & Vallejo MJ. Cáncer oral. Magnitud del problema en España. *RCOE*, 2009; 14:167-70.
- 8.- Braakhuis BJ, Visser O, Leemans CR. Oral and oropharyngeal cancer in The Netherlands between 1989 and 2006: Increasing incidence, but not in young adults. *Oral Oncol*, 2009;45:85-9.
- 9.- Kao SY, Chu YW, Chen YW, Chang KW, Liu TY. Detection and screening of oral cancer and pre-cancerous lesions. *J Chin Med Assoc*, 2009; 72: 227-33.
- 10.- Neville BW & Day TA. Oral cancer and precancerous lesions. *CA Cancer J Clin*, 2002; 52(4):195-215.
- 11.- Edwards BK, Howe HL, Ries LA, Thun MJ, Rosenberg HM, Yancik R, *et al.* Annual report to the nation on the status of cancer, 1973-1999, featuring implications of age and aging on U.S. cancer burden. *Cancer*, 2002; 94(10): 2766-92.

- 12.- Silverman S, Jr. Demographics and occurrence of oral and pharyngeal cancers. The outcomes, the trends, the challenge. *J Am Dent Assoc*, 2001; 132 Suppl:7S-11S.
- 13.- Altman R & Sarg J. The cancer dictionary: revised edition. *Checkmark Books, New York*. 2ª edición, 2000.
- 14.- Llewellyn CD, Johnson NW, Warnakulasuriya KA. Risk factors for squamous cell carcinoma of the oral cavity in young people – a comprehensive literature review. *Oral Oncol*, 2001; 37:401-18.
- 15.- Annertz K, Anderson H, Biorklund A, Moller T, Kantola S, Mork J, *et al*. Incidence and survival of squamous cell carcinoma of the tongue in scandinavia, with special reference to young adults. *Int J Cancer*, 2002; 101:95-9.
- 16.- Toner M & O'Regan EM. Head and Neck Squamous Cell Carcinoma in the Young: A Spectrum or Distinct Group? Part2. *Head and Neck Pathol*, 2009; 3:249-251.
- 17.- Contreras V, Bagán S, Gavalda C, Torres C . Retinoides su aplicación en las lesiones precancerosas y el cáncer oral. *Medicina Oral*, 2001; 6:114-23.
- 18.- Catherine F. Poh *et al*. Biopsy and Histopathologic Diagnosis of Oral Premalignant and Malignant Lesions. *J Can Dent Assoc*, 2008; 74(3):283-8.
- 19.- Okazaki Y, Tanaka Y, Tonogi M, Yamane G. Investigation of environmental factors for diagnosing malignant potential in oral epithelial dysplasia. *Oral Oncology* 38, 2002; 562-73.
- 20.- Axéll T, Pindborg J, Smith C, van der Waal I. Oral white lesions with special referent to precancerous and tobacco-related lesions: conclusions of an international symposia held in Uppsala, Sweden, May 18-21 1994. *J. Oral Pathol Med*, 1996; 25:49-54.
- 21.- Jané Salas E. y cols. Importancia de la dieta en la prevención del cáncer oral. *Med Oral*, 2003; 8:260-8.
- 22.- Saiz Rodríguez A. Bases moleculares del cáncer oral. *Med Oral*, 2001; 6:342-9.

- 23.- De Vicente J, Esteban I, Germana P, Germana A, Vega J. Expresión de las proteínas de los proto-oncogenes ErbB-3 y ErbB-4 en el carcinoma oral de células escamosas: estudio piloto. *Med Oral*, 2003; 8:374-81.
- 24.- Bascones A. y cols. Cáncer y precáncer Oral. 1a Edición. *Ediciones Avances*, 2003.
- 25.- Beckman RA & Loeb LA. Review genetic instability in cancer: theory and experiment. *Semin Cancer Biol*, 2005; 15:423-35.
- 26.- Cooper JS, Pajak TF, Forstiere AA, Jacobs J, Campbell B. Postoperative concurrent radiotherapy and chemotherapy for high risk squamous cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med*, 2004; 350(19):1937-44.
- 27.- Neville BW & Day TA. Oral cancer and precancerous lesions. *CA Cancer J Clin*, 2002; 52:195-215.
- 28.- Osuna T & Hopkins S. Oral cancer diagnostic Technologies. *CDHA Journal*, 2012; 24(1):12-8.
- 29.- Rocha A. Oral cancer: The role of the dentist in early diagnosis and control/Cáncer oral: El papel del odontólogo en la detección temprana y control. *Rev Fac Odontol Univ Antioq*, 2009; 21:112-21.
- 30.- Lingen MW, Kalmarr JR, Karrison T, Serbit PM. Critical evaluation of diagnostic aids for the detection of oral cancer. *Oral Oncol*, 2008; 44(1):10-22.
- 31.- Cooper JS, Pajak TF, Forstiere AA, Jacobs J, Campbell B. Postoperative concurrent radiotherapy and chemotherapy for high risk squamous cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med*, 2004; 350(19):1937-44.
- 32.- Vissink A, Jansma J, Spijkernet FKL, Burlage FR, Coppes RP. Oral sequelae of head and neck radiotherapy. *Crit Rev Oral Bio Med*, 2003; 14(3): 199-212.
- 33.- Schuster M & Stelzle F. Outcome measurements after oral cancer treatment: Speech and speech related aspects- an overview. *Oral Maxillofac Surg*, 2012; 16:291-8.

- 34.- Van Den Brekel BMW, Stel HV, Van Der Valk P, Van Der Waal I, Meyer CJLM, Snow GB. Micrometastases from Squamous cell carcinoma in neck dissections specimens. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 1992; 249:349-53.
- 35.- López R, Jaeger F, Gomes J, Leal R. Ameloblastoma: un estudio retrospectivo de 48 casos. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*, 2013; 35(4):145-149.
- 36.- Morales D. Ameloblastoma: Revisión de la literatura. *Rev Cubana Estomatol*, 2009; 46(3):48-61.
- 37.- Carini F, Riazoli G, Vignoletti F, Baldoni M. Ameloblastoma plexiforme del maxilar: manejo quirúrgico y protético. A propósito de un caso. *Av Odontoestomatol*, 2007; 23(1):11-20.
- 38.- Regezi JA, Sciubba JJ, Jordan, RCK. Oral Pathology: Clinical Pathologic Correlations. Ed. *Elsevier Saunders*, 2012; 6:270-277.
- 39.- Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. (Eds): World Health Organization Classification of Tumours. *Pathology and Genetics of head and Neck Tumours*, 2005.
- 40.- Neville BW, Damm DD, Allen CM, Bouquot J. Oral and Maxillofacial Pathology. Ed. *Saunders Elsevier*, 2009; 3:701-710.
- 41.- Alfaro L & Martínez B. Atlas de patología de los maxilares. Ed. *Ripano S.A.*, 2001; 129-145.
- 42.- Valls A, Montané E, Bescós C, Saez M, Munill M, Alberola M. Manejo quirúrgico del ameloblastoma. *Rev Esp Cirug Oral y Maxilofac*, 2012; 34 (3):98-104.
- 43.- Vargas SG, Liceaga RR, Trujillo FJJ, Liceaga EC. Tratamiento de los ameloblastomas. Análisis de 26 casos. *Rev Mex Cir Bucal Max*, 2010; 6 (2):66-72.

- 44.- Lemos L, Curioni O, Lopes D, Modelli D, Aparecido R, Rapoport A. Ameloblastoma demographic, clinical and treatment study-analysis of 40 cases. *Braz J Otorhinolaringol*, 2012; 78(3):38-41.
- 45.- Siar C, Lau S, Ng K. Ameloblastoma of the jaws: A retrospective analysis of 340 cases in a Malaysian population. *J Oral Maxillofac Surg*, 2012; 70:608-615.
- 46.- Dhanuthai K, Chantarangus S, Rojanawatsirivej S, Phattarataratip E, Darling M, Jackson-Boeters L, et al. Ameloblastoma a multicentric study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2012; 113:782-788.
- 47.- Dias C, Brandao T, Soares F, Lourenco S. Ameloblastoma: clinical histopathological evaluation of 85 cases with emphasis on squamous metaplasia and keratinization aspects. *Acta Odontologica Scandinavica*, 2013; 71 (6): 1651-5.
- 48.- López R, Jaeger F, Gomes J, Leal R. Ameloblastoma: un estudio retrospectivo de 48 casos. *Rev Esp Cir Oral Maxilofac*, 2013; 35(4):145-149.
- 49.- Kim S, Jang H, Ju K. Ameloblastoma: A clinical, radiographic, and histopathologic analysis of 71 cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2001; 91:649-53.
- 50.- López R, Chrcanovic BR, Horta MCR, Souza N, Freire-Maia B. Ameloblastoma multiquístico mandibular tratado con terapia menos invasiva: Caso clínico y revisión de la literatura. *Rev Esp Cirug Oral y Maxilofacial*, 2010; 32(4):172-177.
- 51.- Junquera L, Ascani G, Vicente JC, García-Consuegra L, Roig P. Ameloblastoma revisited. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2003; 112:1034-9.
- 52.- Reichart PA, Philipsen HP, Sonner S. Ameloblastoma: perfil biológico de 3677 casos. *Oral Oncol, Eur J Cancer*, 1995; 31: 86-99.
- 53.- Ledesma C, Garcés M, Ibarra A, Portilla J, Hernández J. Ameloblastoma en América Latina. Análisis de 338 casos. *Medicina Oral*, 2000; 5(4):254-257.

- 54.- Ledesma C, Mosqueda A, Bregni R, Romero E, Palma J, Páez C, *et al.* Ameloblastoma: a regional Latin-America multicentric study. *Oral Disease*, 2007; 13:303-307.
- 55.- Morales D. Ameloblastoma. Revisión de la literatura. *Revista Cubana de Estomatología*, 2009; 46(3):48-61.
- 56.- Siar CH, Tsujigiwa H, Ishak I, Hussin NM, Nagatsuka H, Ng KH. RANK, RANKL, and OPG in recurrent solid/multicystic ameloblastoma: Their distribution patterns and biologic significance. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2015; 119(1):83-91.
- 57.- González R, Molina N, Damian P, Bologna R. Molecular markers of cell adhesion in ameloblastomas an update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2014; 19(1).
- 58.- Wright J & Vered M. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Odontogenic and Maxillofacial Bone Tumors. *Head Neck Pathol*, 2017; 11(1):68-77.
- 59.- Diniz MG, Gomes CC, de Sousa SF, Xavier GM, Gomez RS. Oncogenic signalling pathways in benign odontogenic cysts and tumours. *Oral Oncol*, 2017; 72:165-73.
- 60.- Hong J, Yung P, Chung I, Myoung H, Suh J, Seo B, *et al.* Long-term follow up of recurrence Of 305 ameloblastoma cases. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg*, 2007; 36:283-288.
- 61.- Karathanasi V, Nikitakis N, Tosios K, Sklavounou A. Clinical and histological types of ameloblastoma. *Hellenic Archives of Oral & Maxillofacial Surgery*, 2010; 11(2):91-104.
- 62.- Hertog D, Bolemena E, Aartman I, Van der Waal I. Histopathology of ameloblastoma of the jaws; some critical observations based on a 40 years single institution experience. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2012; 17(1):76-82.

- 63.- Delmira A, Sabrina N, Tapia G, Álvaro M, Mosqueda-Taylor A, Bologna-Molina R. Immunohistochemical analysis of ck14 and ck19 in tooth germs and ameloblastoma. *Odontoestomatología*, 2015; 17(25).
- 64.- Costa ALL, Araújo-Júnior RF, Ramos CCF. Correlação entre a classificação clínica TNM e as características histológicas de malignidade do carcinoma epidermóide oral. *Rev Bras Otorrinolaringol*, 2005; 71(2):181-7.
- 65.- Fu TY, Hsieh IC, Cheng JT, Tsai MH, Hou YY, Lee JH, Liou HH, Huang SF, Chen HC, Yen LM, Tseng HH, Ger LP. Association of OCT4, SOX2, and NANOG expression with oral squamous cell carcinoma progression. *J Oral Pathol Med*, 2016; 45(2):89-95.
- 66.- Du L, Yang Y, Xiao X, *et al.* Sox2 nuclear expression is closely associated with poor prognosis in patients with histologically node-negative oral tongue squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*, 2011; 47: 709-13.
- 67.- Laura BG. Modulación de SOX2 mediante la inhibición de mTOR y su implicación en quimiorresistencia y células madre del cáncer en glioblastoma multiforme. *Universidad de País Vasco*, 2016.
- 68.- Pesce M & Schöler HR. Oct-4: gatekeeper in the beginnings of mammalian development. *Stem Cells*, 2001; 19(4):271-8.
- 69.- Luo W, Li S, Peng B, de Ye Y, Deng X, Yao K. Embryonic stem cells markers SOX2, OCT4 and Nanog expression and their correlations with epithelial-mesenchymal transition in nasopharyngeal carcinoma. *PLoS One*, 2013.
- 70.- Kumar SM, Liu S, Lu H, Zhang H, Zhang PJ, Gimotty PA, Guerra M, Guo W, Xu X. Acquired cancer stem cell phenotypes through Oct4-mediated dedifferentiation. *Oncogene*, 2012; 31(47):4898-911.
- 71.- Looijenga LH, Stoop H, de Leeuw HP, de Gouveia Brazao CA, Gillis AJ, van Roozendaal KE, van Zoelen EJ, Weber RF, Wolffenbuttel KP, van Dekken H, Honecker F, Bokemeyer C, Perlman EJ, Schneider DT, Kononen J, Sauter G, Oosterhuis JW. POU5F1 (OCT3/4) identifies cells with pluripotent potential in human germ cell tumors. *Cancer Res*, 2003; 63(9):2244-50.



- 72.- Motta Rda R, Zettler CG, Cambruzzi E, Jotz GP, Berni RB. Ki-67 and p53 correlation prognostic value in squamous cell carcinomas of the oral cavity and tongue. *Braz J Otorhinolaryngol*, 2009; 75(4):544-9.
- 73.- Iamaroon A, Khemaleelakul U, Pongsiriwet S, Pintong J. Co-expression of p53 and Ki67 and lack of EBV expression in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med*, 2004; 33(1):30-6.
- 74.- Domingues MG, Jaeger MM, Araújo VC, Araújo NS. Expression of cytokeratins in human enamel organ. *Eur J Oral Sci*, 2000; 108(1):43-7.
- 75.- Crivelini MM, de Araújo VC, de Sousa SO, de Araújo NS. Cytokeratins in epithelia of odontogenic neoplasms. *Oral Dis*, 2003;9(1):1-6.
- 76.- Pal SK, Sakamoto K, Aragaki T, Akashi T, Yamaguchi A. The expression profiles of acidic epithelial keratins in ameloblastoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2013; 115(4):523-31.
- 77.- Tsubura A, Okada H, Sasaki M, Dairkee SH, Morii S. Immunohistochemical demonstration of keratins 8 and 14 in benign tumours of the skin appendage. *Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histopathol*, 1991; 418(6):503-507.
- 78.- Chu PG & Weiss LM. Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology*, 2002; 40(5):403-439.
- 79.- Yoon HJ, Jo BC, Shin WJ, Cho YA, Lee JI, Hong SP, Hong SD. Comparative immunohistochemical study of ameloblastoma and ameloblastic carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2011; 112(6):767-76.
- 80.- Marina LC, Sophia LS, Alessandro-Antonio CP, João-Adolfo CH. Características Clínicas, Epidemiológicas e Microscópicas do Câncer Bucal Diagnosticado na Universidade Federal de Alfenas. *Revista Brasileira de Cancerologia*, 2009; 55(3): 205-211.
- 81.- Woolgar JA & Triantafyllou A. Pitfalls and procedures in the histopathological diagnosis of oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma and a review of the role of pathology in prognosis. *Oral Oncol*, 2009; 45(4-5):361-85.
- 82.- Woolgar JA. Histopathological prognosticators in oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Oral Oncol*, 2006; 42(3):229-39.

- 83.- Mateo-Sidrón MC & Somacarrera ML. Cáncer oral: Genética, prevención, diagnóstico y tratamiento. Revisión de la literatura. *Av. Odontoestomatol*, 2015; 31(4): 247-259.
- 84.- Eduardo CK, Inmaculada FC, José LL. Riesgo de cáncer oral y marcadores moleculares. *Medicina oral*, 2004; 9(5):377-384.
- 85.- Itoh S, Matsui K, Furuta I, Takano Y. Immunohistochemical study on overexpression of cyclooxygenase-2 in squamous cell carcinoma of the oral cavity: its importance as a prognostic predictor. *Oral Oncol*, 2003; 39(8):829-35.
- 86.- Coletta RD, Cotrim P, Almeida OP, Alves VA, Wakamatsu A, Vargas PA. Basaloid squamous carcinoma of oral cavity: a histologic and immunohistochemical study. *Oral Oncol*, 2002; 38(7):723-9.
- 87.- Broders AC. Carcinoma: Grading and practical application. *Arch Pathol*, 1926; 2:376-81.
- 88.- Kokko LL, Hurme S, Maula SM, Alanen K, Grénman R, Kinnunen I, Ventelä S. Significance of site-specific prognosis of cancer stem cell marker CD44 in head and neck squamous-cell carcinoma. *Oral Oncol*, 2011; 47(6):510-6.
- 89.- Rodiles H, Campañón JL, Laza C. Citohistopatología. Procedimientos básicos. *La Habana: ECIMED*, 2008.
- 90.- Cosme EZ. La nueva clasificación de la O.M.S. 2005. Lesiones precursoras y los tumores de la laringe, hipofaringe y tráquea. *Revista Española de Patología*, 2005; 40(1):3-10.
- 91.- Bryne M. Is the invasive front of an oral carcinoma the most important area for prognostication? *Oral Dis*, 1998; 4(2):70-7.
- 92.- Vickers RA & Gorlin RJ. Ameloblastoma: Delineation of early histopathologic features of neoplasia. *Cancer*, 1970; 26(3):699-710.
- 93.- Shi ZR, Itzkowitz SH, Kim YS. A comparison of three immunoperoxidase techniques for antigen detection in colorectal carcinoma tissues. *J Histochem Cytochem*, 1988; 36(3):317-22.
- 94.- <https://www.scbt.com/scbt/home>.

- 95.- Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Propiedades inmunológicas de un anticuerpo que contiene un grupo de fluorescencia. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1941; 47:200-2.
- 96.- Brandtzaeg P. The increasing power of immunohistochemistry and immunocytochemistry. Brandtzaeg P. J. *Immunol Methods*, 1998; 216(1-2):49-67.
- 97.- Sternberger LA, Hardy PH Jr, Cuculis JJ, Meyer HG. The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry: preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J Histochem Cytochem*, 1970; 18(5):315-33.
- 98.- Werner B, Campos AC, Nadji M, *et al.* Uso práctico da imuno-histoquímica em patologia cirúrgica. *J Bras Patol Med Lab*, 2005; 41:353-64.
- 99.- Laudet V, Stehelin D, Clevers H. Ancestry and diversity of the HMG box super-family. *Nucleic Acids*, 1993; 21: 2493-2501.
- 100.- Klemm JD, MA Rould, R Aurora, W Herr, CO Pabo. Crystal structure of the Oct-1 POU domain bound to an octamer site: DNA recognition with tethered DNA-binding modules. *Cell*, 1994; 77:21-32.
- 101.- Brehm A, K Ohbo, H Scholer. The carboxy-terminal transactivation domain of Oct4 acquires cell specificity through the POU domain. *Mol Cell Biol*, 1997; 17:154-62.
- 102.- Okazawa H, Okamoto K, Ishino F, Ishino-Kaneko T, Takeda S, Toyoda Y, Muramatsu M, Hamada H. The oct3 gene, a gene for an embryonic transcription factor, is controlled by a retinoic acid repressible enhancer. *EMBO J*, 1991; 10(10):2997-3005.
- 103.- Endl E & Gerdes J. The Ki-67 protein: fascinating forms and an unknown function. *Exp Cell Res*, 2000; 257(2):231-7.
- 104.- Fagerberg L, Hallström BM, Oksvold P, Kampf C, Djureinovic D, Odeberg J, Habuka M, Tahmasebpour S, Danielsson A, Edlund K, Asplund A, Sjöstedt E, Lundberg E, Szigartyo CA, Skogs M, Takanen JO, Berling H, Tegel H, Mulder J,

Nilsson P, Schwenk JM, Lindskog C, Danielsson F, Mardinoglu A, Sivertsson A, von Feilitzen K, Forsberg M, Zwahlen M, Olsson I, Navani S, Huss M, Nielsen J, Ponten F, Uhlén M. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Mol Cell Proteomics*, 2014; 13(2):397-406.

105.- Hanukoglu I & Fuchs E. La secuencia de cDNA de una queratina epidérmica humana: divergencia de secuencia pero conservación de la estructura entre proteínas de filamento intermedias. *Celular*, 1982; 31(1): 243-52.

106.- Sandra F, Mitsuyasu T, Nakamura N, Shiratsuchi Y, Ohishi M. Immunohistochemical evaluation of PCNA and Ki-67 in ameloblastoma. *Oral Oncol*, 2001; 37(2):193-8.

107.- Torres-Lagares D, Infante-Cossío P, Hernández-Guisado JM, Gutiérrez-Pérez JL. Mandibular ameloblastoma. A review of the literature and presentation of six cases. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 2005; 10(3):231-8.

108.- Wright JM & Vered M. Update from the 4th Edition of the World Health Organization Classification of Head and Neck Tumours: Odontogenic and Maxillofacial Bone Tumors. *Head Neck Pathol*, 2017; 11(1):68-77.

109.- Declaración de Helsinki de la asociación médica mundial principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos (59ª asamblea general, Seúl, Corea, octubre 2008) punto 32.

110.- Hirota M, Aoki S, Kawabe R, Fujita K. Desmoplastic ameloblastoma featuring basal cell ameloblastoma: A case report. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 2005; 99(2):160-4.

111.- Sobin LH, Hermanek P, Hutter RV. TNM classification of malignant tumors. A comparison between the new (1987) and the old editions. *Cancer*, 1988; 61(11):2310-4.

112.- Valentín GF, Rodríguez GM, Conde HF, Vila MD. Caracterización del Cáncer Bucal. Estudio de 15 años. *Rev.Med.Electrón*, 2017; 39(2): 245-258.

- 113.-Shibahara T. Oral cancer-diagnosis and therapy. *Clin Calcium*, 2017; 27(10):1427-1433.
- 114.- Udeabor SE, Rana M, Wegener G, Gellrich NC, Eckardt AM. Squamous cell carcinoma of the oral cavity and the oropharynx in patients less than 40 years of age: a 20-year analysis. *Head Neck Oncol*, 2012; 4:28.
- 115.- Patel SC, Carpenter WR, Tyree S, Couch ME, Weissler M, Hackman T, Hayes DN, Shores C, Chera BS. Increasing incidence of oral tongue squamous cell carcinoma in young white women, age 18 to 44 years. *J Clin Oncol*, 2011; 29(11):1488-94.
- 116.- Warnakulasuriya S. Global epidemiology of oral and oropharyngeal cancer. *Oral Oncology*, 2009; 45:309-16.
- 117.- Braakhuis BJ, Leemans CR, Visser O. Incidence and survival trends of head and neck squamous cell carcinoma in the Netherlands between 1989 and 2011. *Oral Oncol*, 2014; 50(7):670-5.
- 118.- Gnepp, DR. Diagnostic Surgical Pathology of the Head and Neck. 2<sup>a</sup> Edición. Filadelfia, 2009; 1131-1143.
- 119.- Dhanuthai K, Chantarangsu S, Rojanawatsirivej S, Phattarataratip E, Darling M, Jackson-Boeters L, Said-Al-Naief N, Shin Hi, An CH, Hong NT, An PH, Thosaporn W, Lam-Ubol A, Subarnbhesaj A. Ameloblastoma: a multicentric study. *Bucal Surg Bucal Med Bucal Pathol Bucal Radiol*, 2012; 113(6):782-88.
- 120.- Hertog D & van-der-Waal I. Ameloblastoma of the jaws: a critical reappraisal based on a 40-years single institution experience. *Bucal Oncol*, 2010; 46(1):61-4.
- 121.- Jing W, Xuan M, Lin Y, Wu L, Liu L, Zheng X, Tang W, Qiao J, Tian W. Odontogenic tumours: a retrospective study of 1642 cases in a Chinese population. *Int. J. Bucal Maxillofac. Surg*, 2007; 36(1):20-5.
- 122.- Osterne RL, Brito RG, Alves AP, Cavalcante RB, Sousa FB. Odontogenic tumors: a 5-year retrospective study in a Brazilian population and analysis of 3406 cases reported in the literature. *Bucal Surg. Bucal Med. Bucal Pathol. Bucal Radiol. Endod*, 2011; 111(4):474-81.

- 123.-Reichart PA, Philipsen HP, Sciubba JJ. The new classification of head and neck tumours (WHO): any changes? *Oral Oncol*, 2006; 42(8):757–8.
- 124.- Estrada S, Rodríguez L, Lenes L, Toledo B. Mandibular ameloblastoma. Analysis of 8 cases. *Multimed. Revista Médica. Granma*, 2018; 22(4).
- 125.- Al-Rawi NH & Talabani NG. Squamous cell carcinoma of the oral cavity: a case series analysis of clinical presentation and histological grading of 1,425 cases from Iraq. *Clin Oral Investig*, 2008; 12(1):15-8.
- 126.- Momares D, Bárbara, Contreras C, Gabriela, Martínez R, Benjamín, Ávalos J, Nicolás, & Carmona R, Leonardo. Sobrevida en carcinoma espinocelular de mucosa oral: Análisis de 161 pacientes. *Revista chilena de cirugía*, 2014; 66(6):568-576.
- 127.- Jainkittivong A, Swasdison S, Thangpitsiyotin M, Langlais RP. Oral squamous cell carcinoma: a clinicopathological study of 342 Thai cases. *J Contemp Dent Pract*, 2009; 10:33- 40.
- 128.- Ortholan C, Lusinchi A, Italiano A, Bensadoun RJ, Auperin A, Poissonnet G, *et al.* Oral cavity squamous cell carcinoma in 260 patients aged 80 years or more. *Radiother Oncol*, 2009; 93:516-23.
- 129.- Cuevas González J, García I, Villanueva Sánchez F, Gaitán Cepeda L, Leyva Huerta E. Estandarización en la Observación y Clasificación de Lesiones Epiteliales Premalignas y Malignas. *International Journal of Morphology*, 2011; 29(3):706-710.
- 130.- Crick, F. Central Dogma of Molecular Biology. *Nature*, 1970; 227, 561-563.
- 131.- Brett D, Pospisil H, Valcárcel J, Reich J, Bork P. Alternative splicing and genome complexity. *Nat Genet*, 2002; 30(1):29-30.
- 132.- Lovell-Badge R. The future for stem cell research. *Nature*, 2001; 414: 88-91.
- 133.- Bianco P, Robey PG. Stem cell in tissue engineering. *Nature*, 2001; 414: 118- 21.

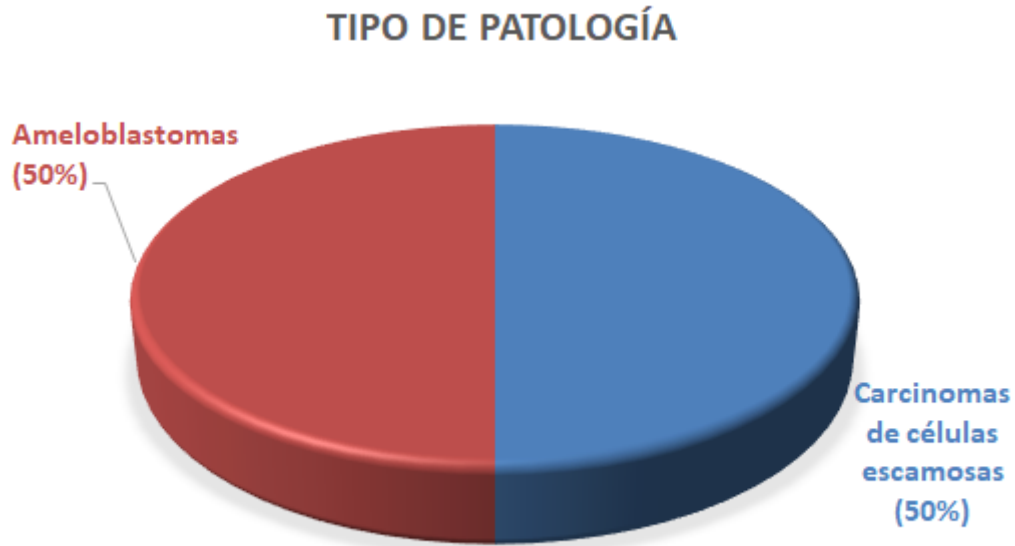
## **12. Anexos.**

### ***ÍNDICE***

Anexo I. Gráficos estadística descriptiva.....	85
Anexo II. Microfotografías tomadas para la caracterización histopatológica de los Carcinomas de células escamosas .....	87
Anexo III. Microfotografías tomadas para la caracterización histopatológica de los Ameloblastomas .....	96
Anexo IV. Tablas obtenidas tras la realización de la estadística comparativa .....	103

**Anexo I. Gráficos estadística descriptiva.**

El conjunto muestral de este estudio está formado por 6 casos, el 50% pertenecen a carcinomas y el 50% restante son ameloblastomas.



**Figura 2.** Gráfico distribución de los pacientes en función de la patología.

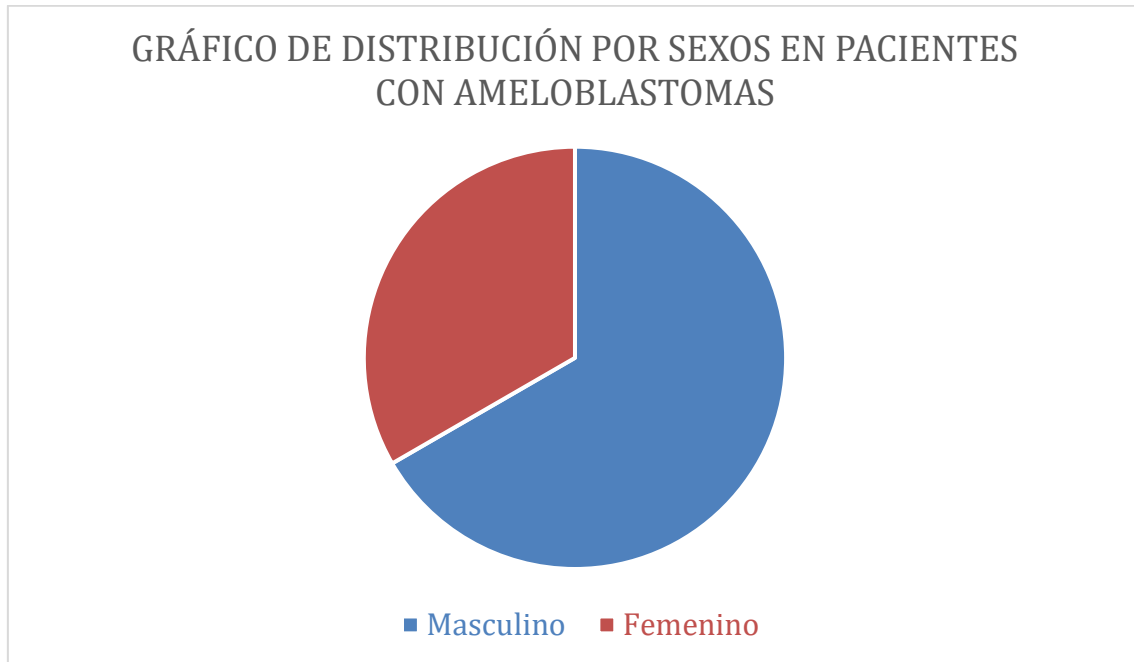


El 100% de los individuos con carcinomas de células escamosas incluidos en este estudio pertenecen al sexo masculino.



**Figura 3.** Gráfico distribución por sexos de los pacientes con carcinomas.

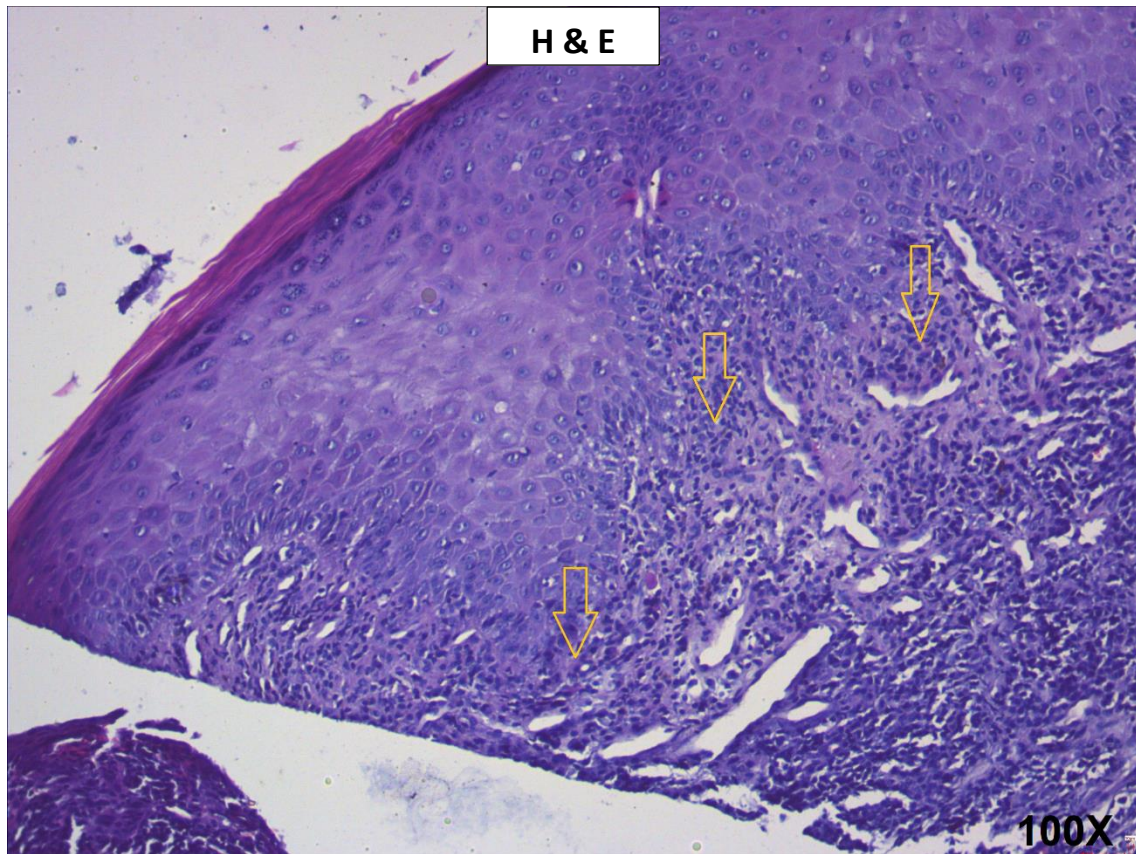
El 66,66% de los individuos con ameloblastomas incluidos en este estudio pertenecen al sexo masculino.



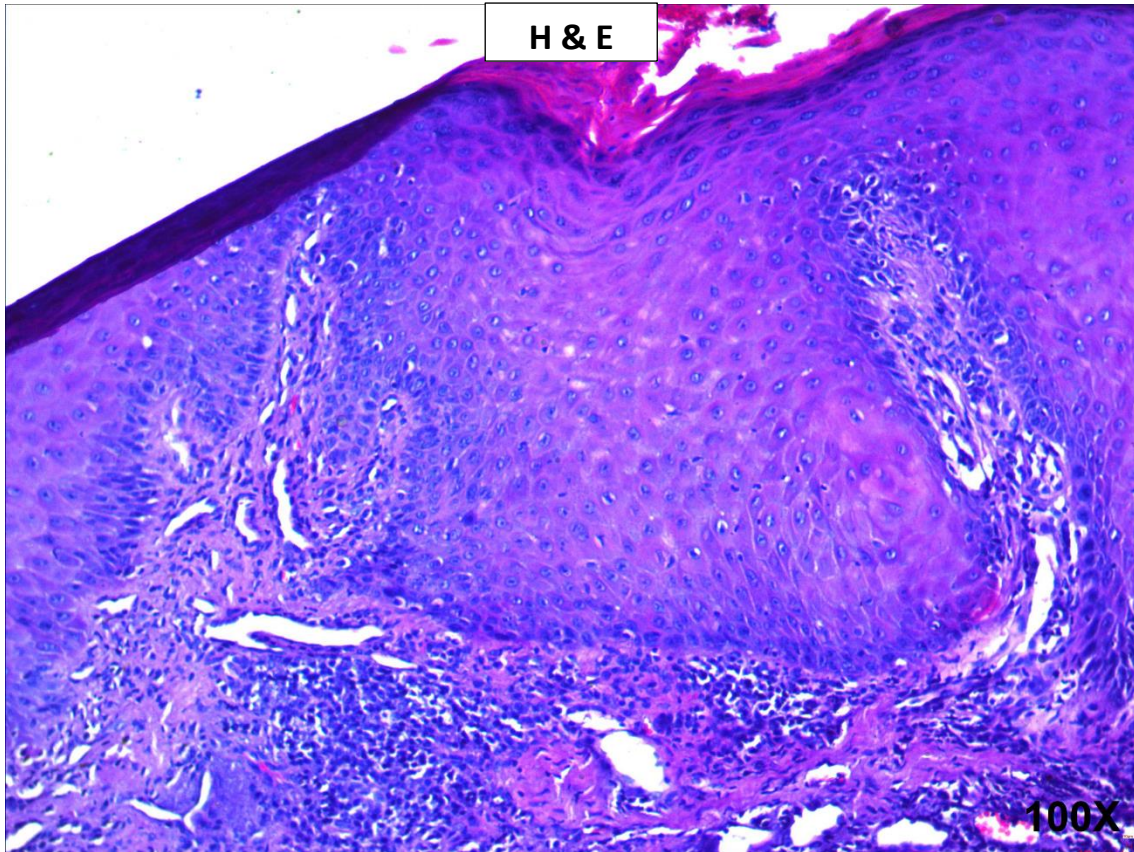
**Figura 4.** Gráfico distribución por sexos de los pacientes con ameloblastomas.

**Anexo II. Microfotografías tomadas para la caracterización histopatológica de los Carcinomas de células escamosas.**

A continuación, se muestran una serie de microfotografías con los parámetros utilizados para la caracterización histopatológica de los carcinomas.

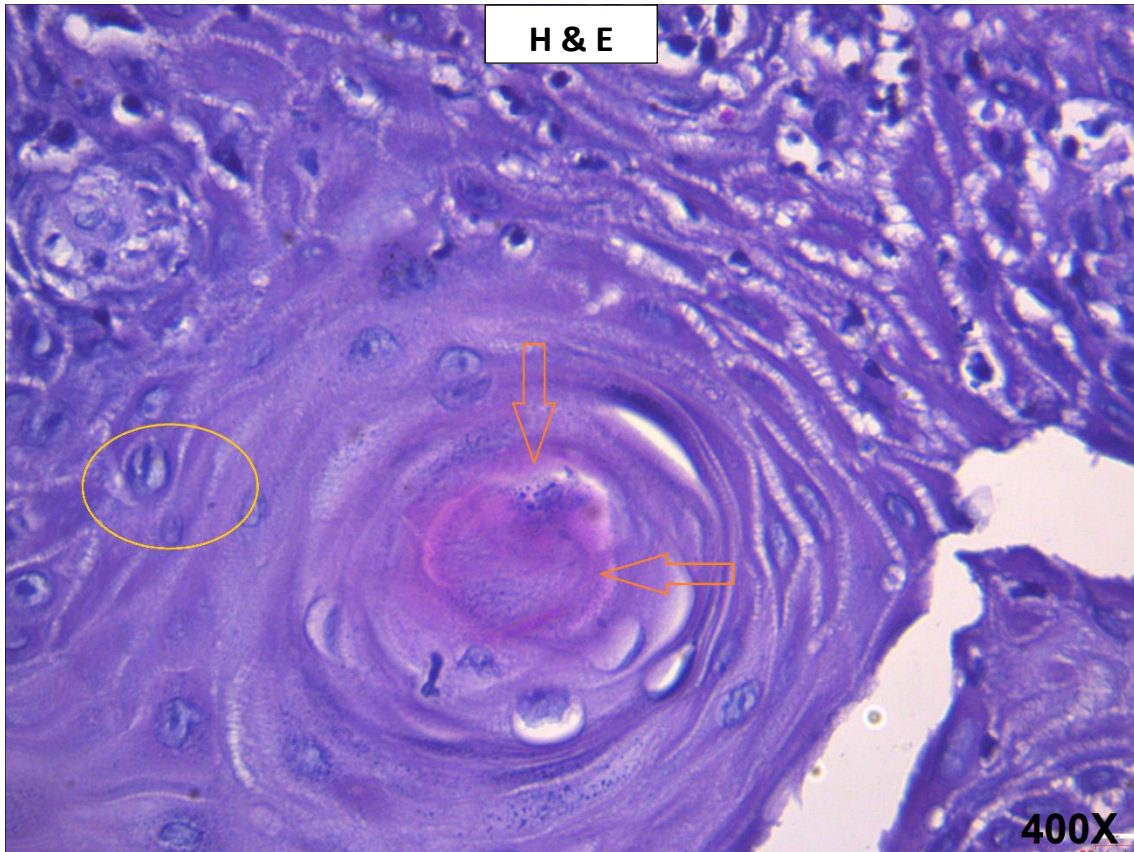


**Imagen 19.** Fotografía a 100X de la laminilla 61-18. Epitelio escamoso con pérdida de polaridad y continuidad de las células basales. Se observa claramente la pérdida de polaridad en las zonas señaladas por las flechas.



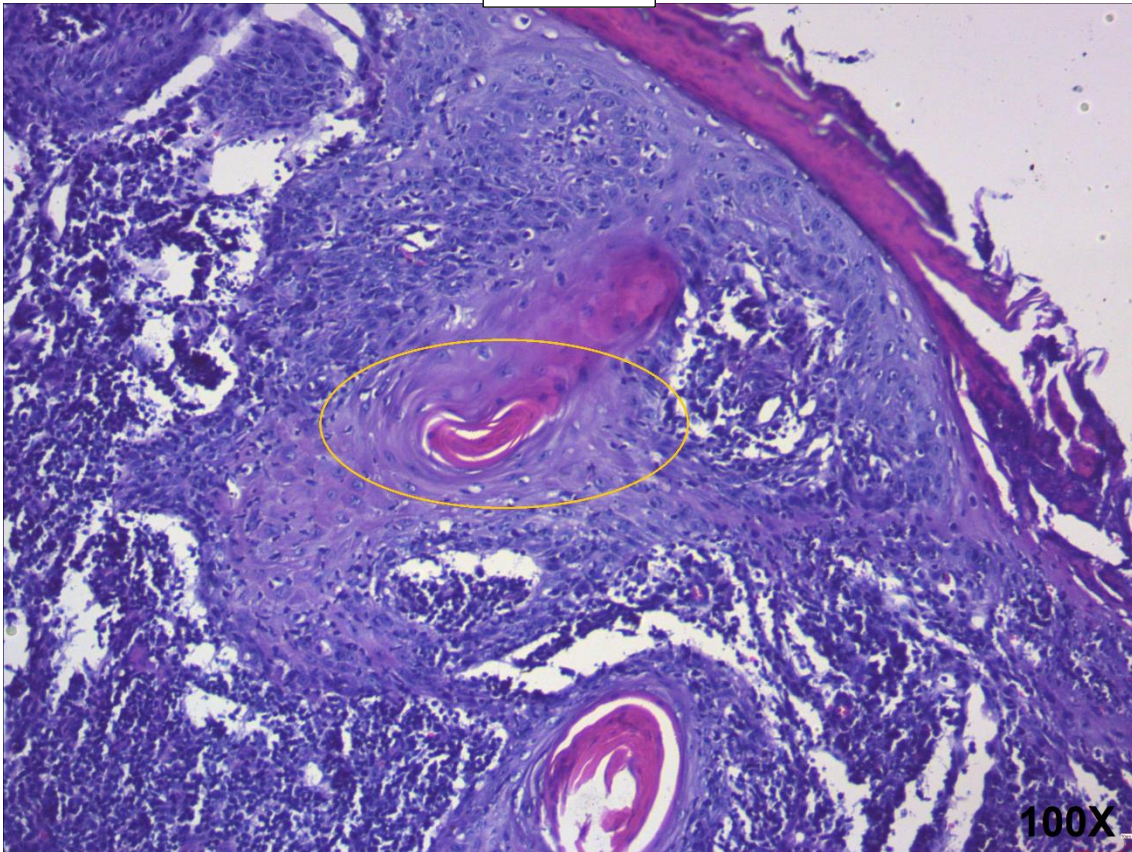
**Imagen 20.** Fotografía a 100X de la laminilla 61-18. Epitelio escamoso estratificado con crestas epiteliales anómalas. Estas presentan formas muy irregulares (pie de elefante).





**Imagen 21.** Fotografía a 400X de la laminilla 61-18. Epitelio escamoso donde se observan mitosis aberrantes (señalado con el círculo), pleomorfismo nuclear y queratinización individual (señalado por las flechas).

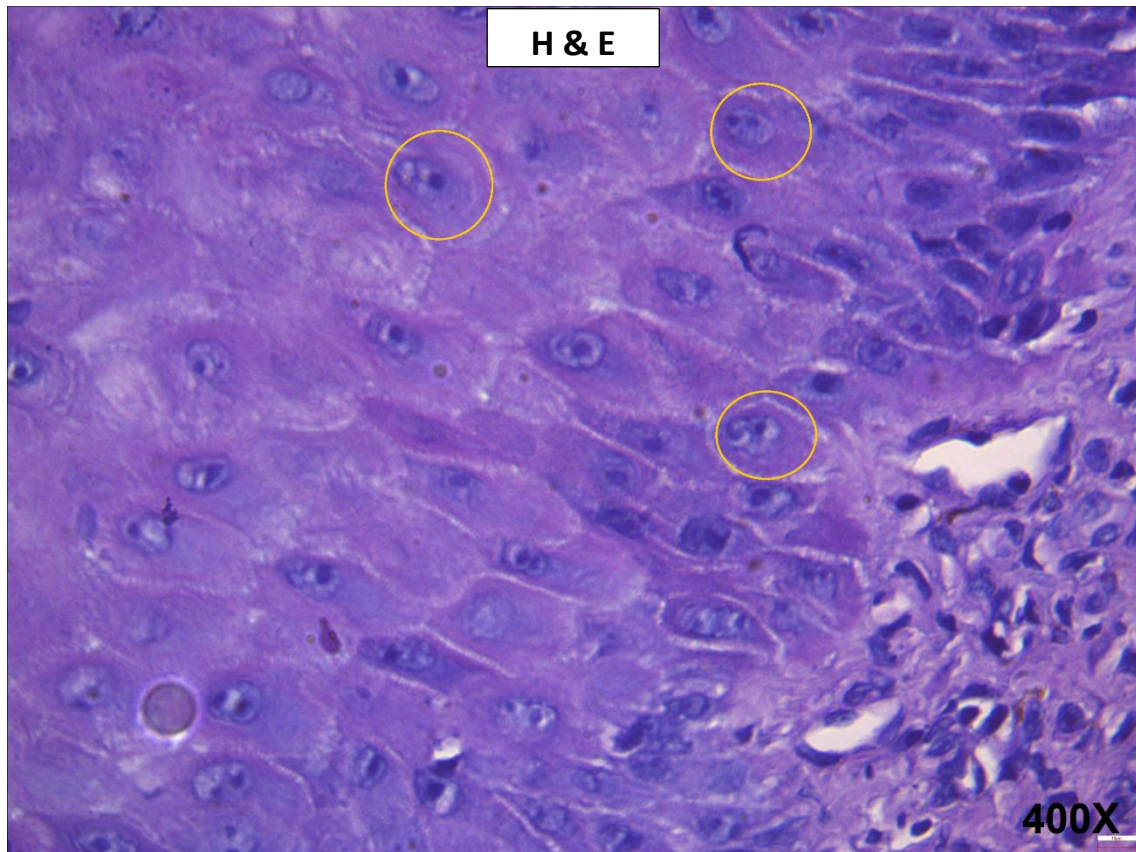
H & E



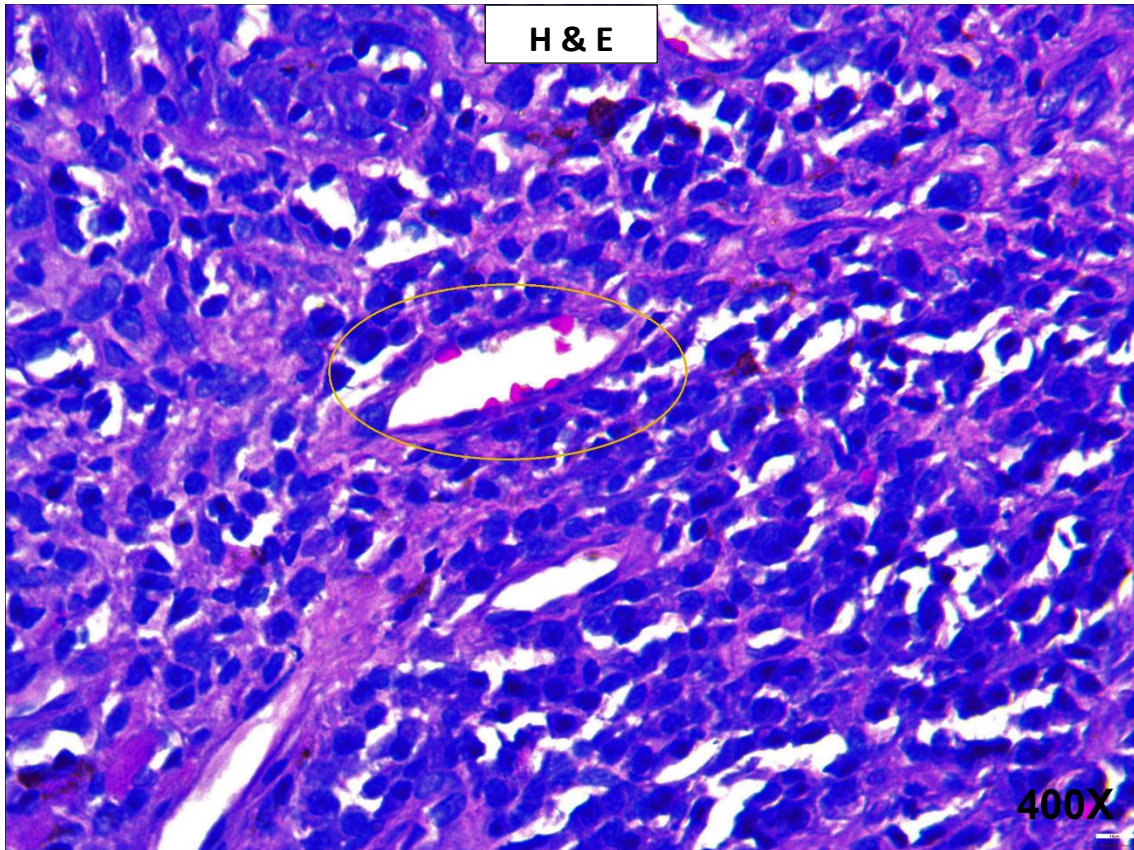
**Imagen 22.** Fotografía a 100X de la laminilla 61-18. Epitelio escamoso con queratinización en el interior de las crestas epiteliales, así como en el tejido conjuntivo. También se puede observar pleomorfismo celular, pérdida de la estratificación, crestas irregulares e hiperchromatismo nuclear.



-Parámetros del frente de invasión tumoral:

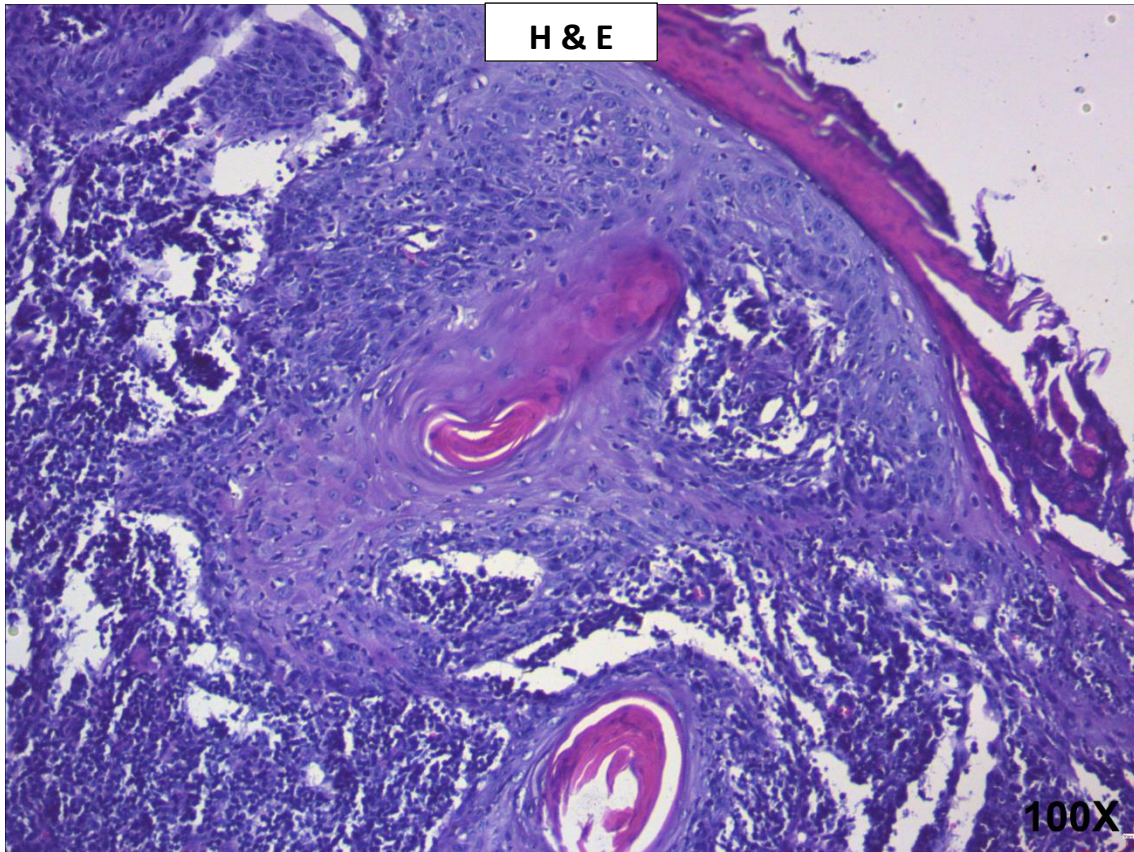


**Imagen 23.** Fotografía a 400X de la laminilla 61-18. Epitelio escamoso donde se observa que el número de mitosis en esta área no es superior al 25%.

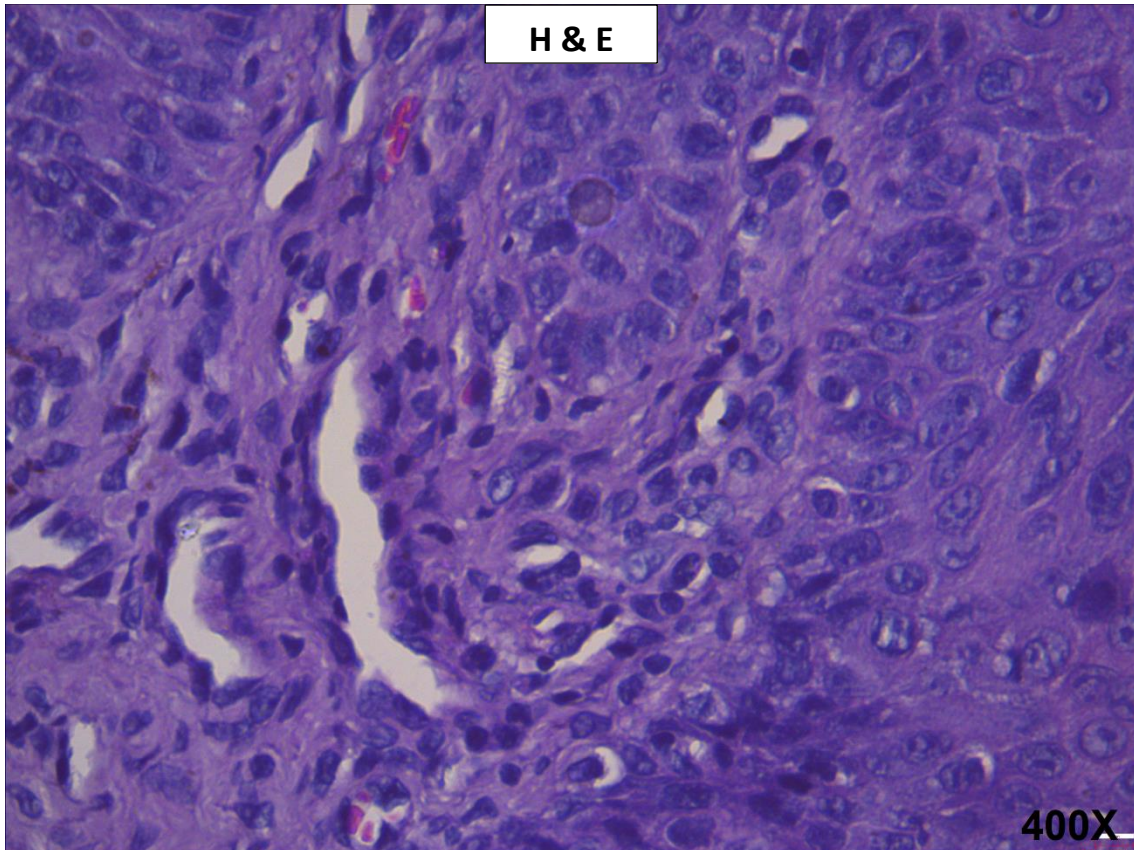


**Imagen 24.** Fotografía a 400X de la laminilla 61-18. Se observa un cúmulo de células pleomórficas procedentes del epitelio escamoso. A su vez, se observa cómo las células neoplásicas rodean los vasos y nervios sin llegar a penetrar en ellos (patrón de invasión, rodea vasos y nervios).



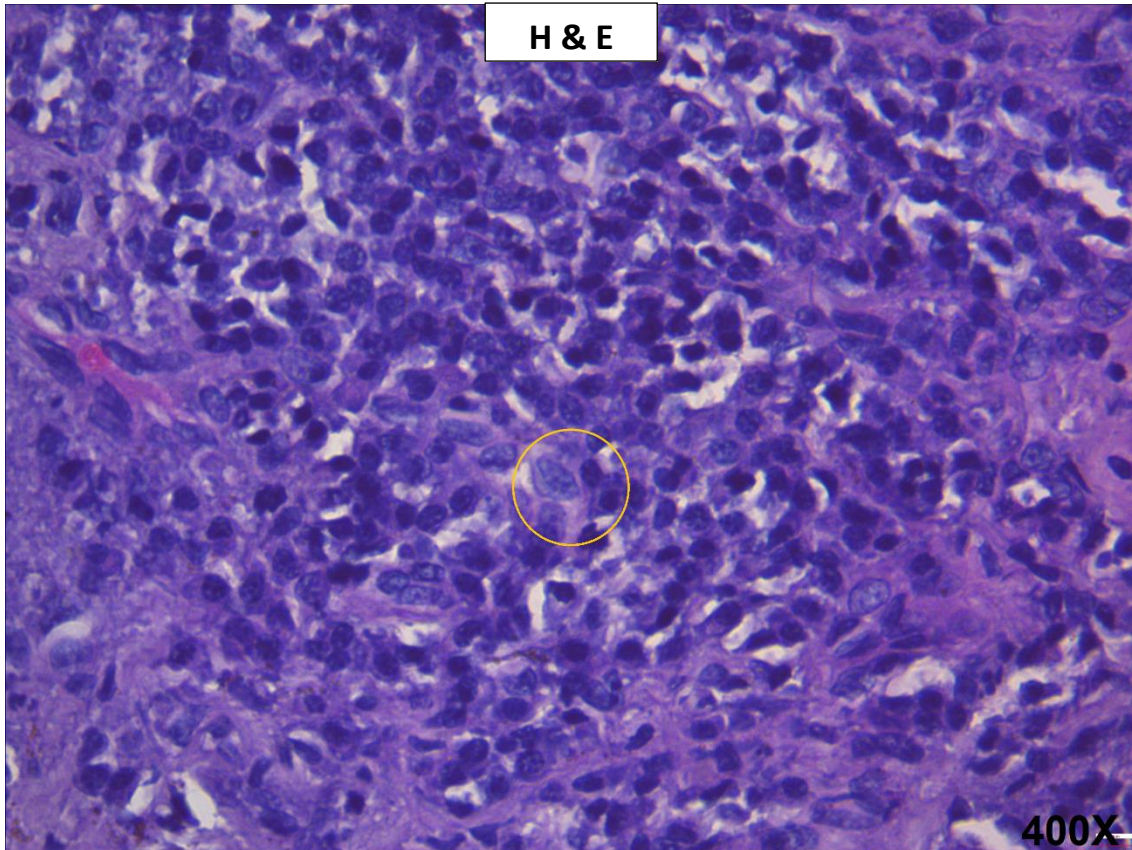


**Imagen 25.** Fotografía a 100X de la laminilla 61-18. Epitelio escamoso y tejido conjuntivo con invasión de células pleomórficas procedentes del epitelio. Se observa la queratinización en el interior del epitelio, así como en el tejido conjuntivo. El grado de queratinización del área de la fotografía es superior al 75%.



**Imagen 26.** Fotografía a 400X de la laminilla 61-18. Epitelio escamoso con pleomorfismo nuclear superior al 75%. Hay gran abundancia de núcleos pleomórficos.

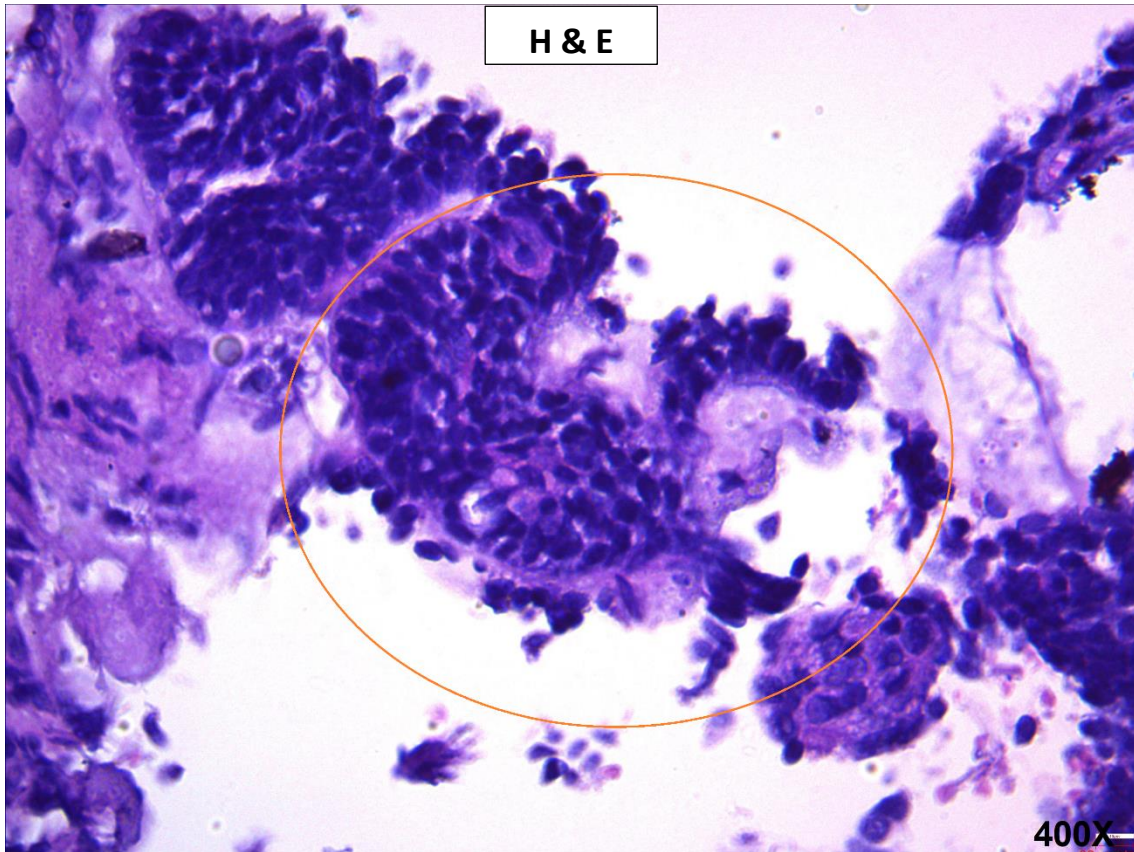




**Imagen 27.** Fotografía a 400X de la laminilla 61-18. Infiltrado inflamatorio. Tejido conjuntivo con gran invasión de células pleomórficas procedentes del epitelio. La célula rodeada se corresponde con una célula plasmática, la cual confirma el infiltrado inflamatorio hacia el tejido conjuntivo. Hay gran abundancia de estas por toda el área de la fotografía.

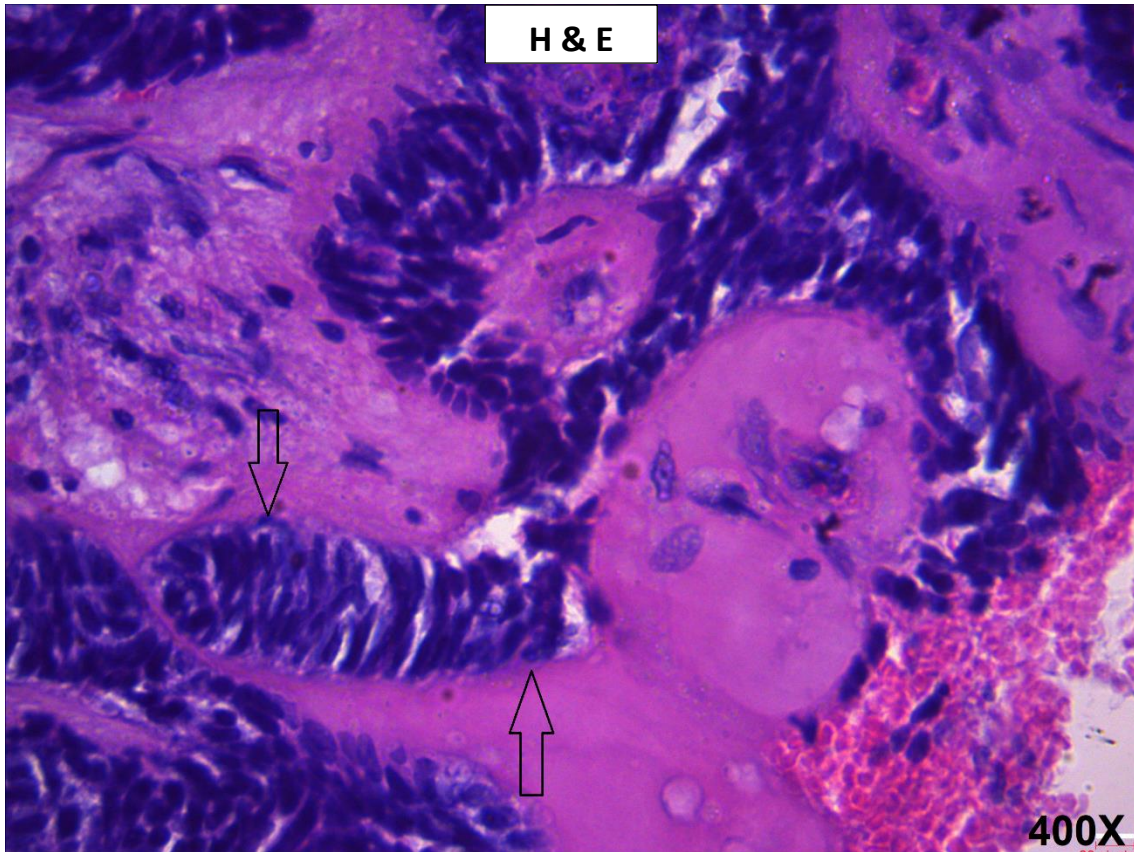
**Anexo III. Microfotografías tomadas para la caracterización histopatológica de los Ameloblastomas.**

Al igual que en los carcinomas, se muestran una serie de microfotografías con los parámetros utilizados para la caracterización histopatológica de los ameloblastomas.

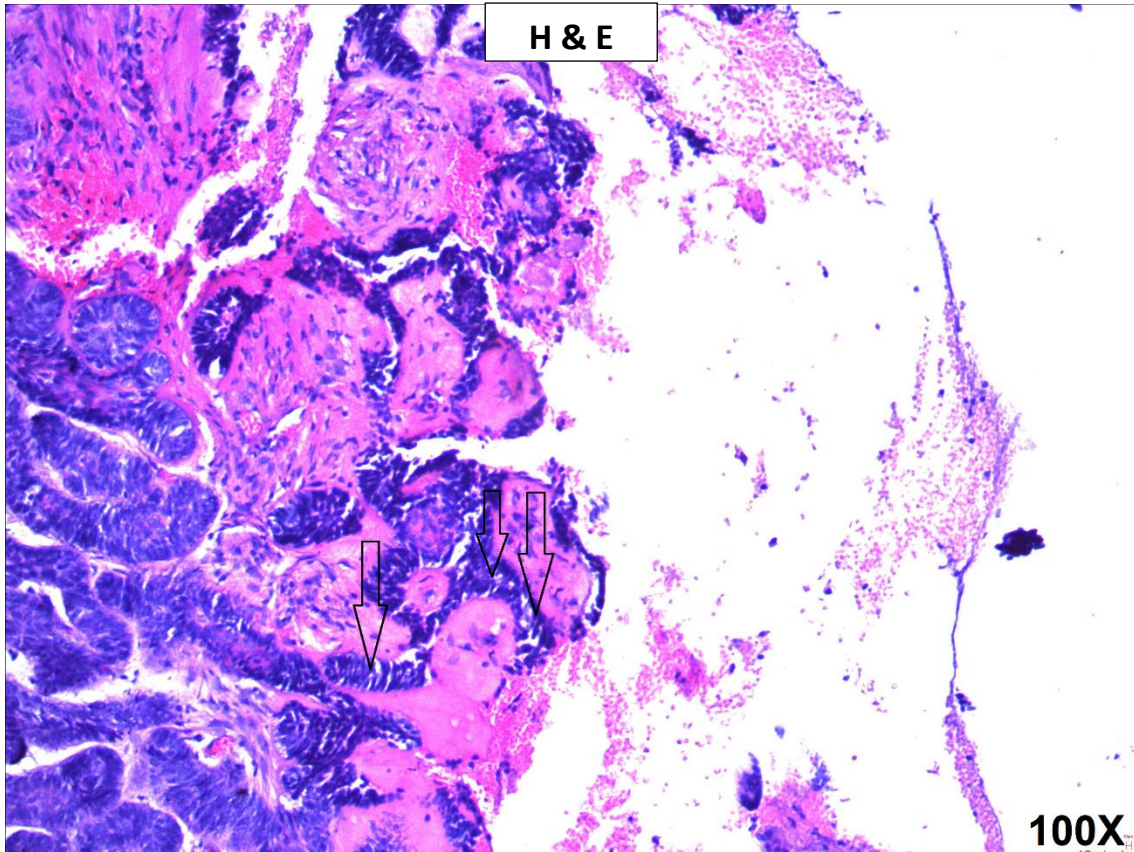


**Imagen 28.** Fotografía a 400X. Islas de epitelio odontogénico rodeadas de un estroma fibroso donde se observa el hiperchromatismo de los núcleos celulares de los estratos basales.



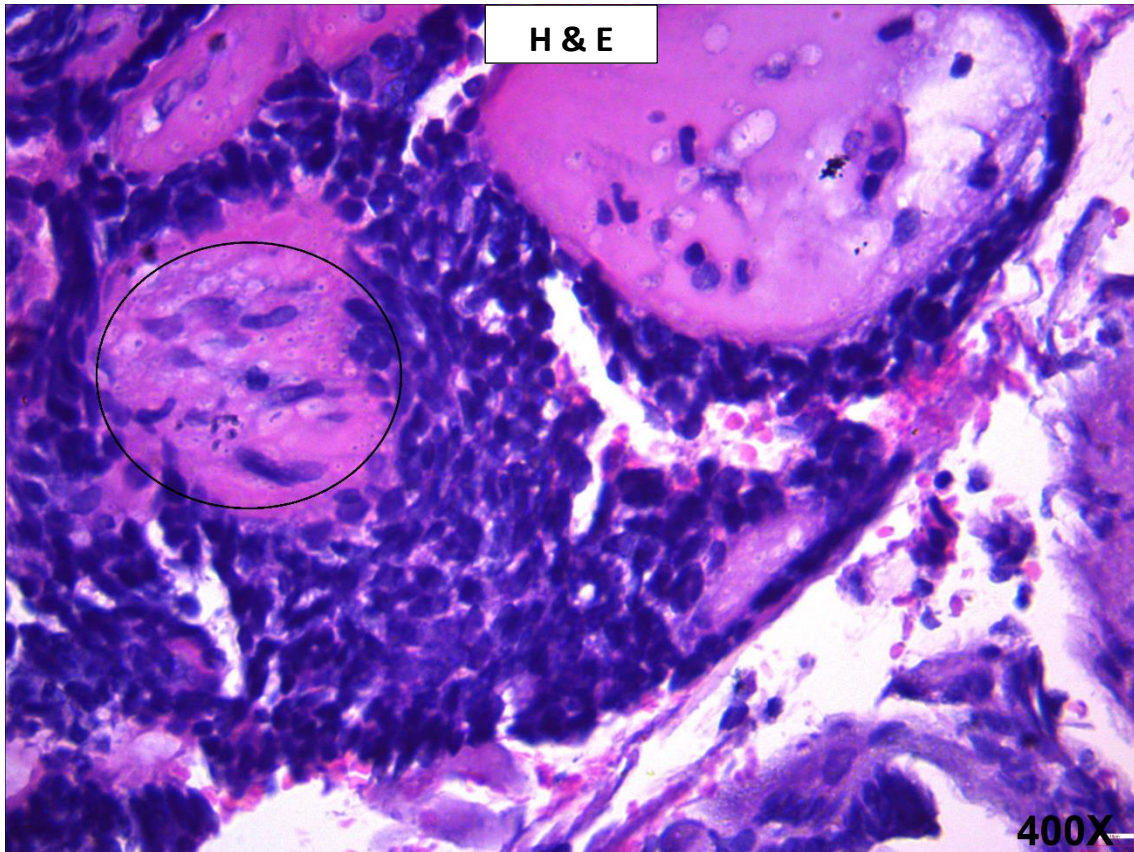


**Imagen 29.** Fotografía a 400X. Islas de epitelio odontogénico rodeadas de un estroma fibroso donde se observa la disposición en empalizada de los núcleos basales, así como el hiperchromatismo nuclear.

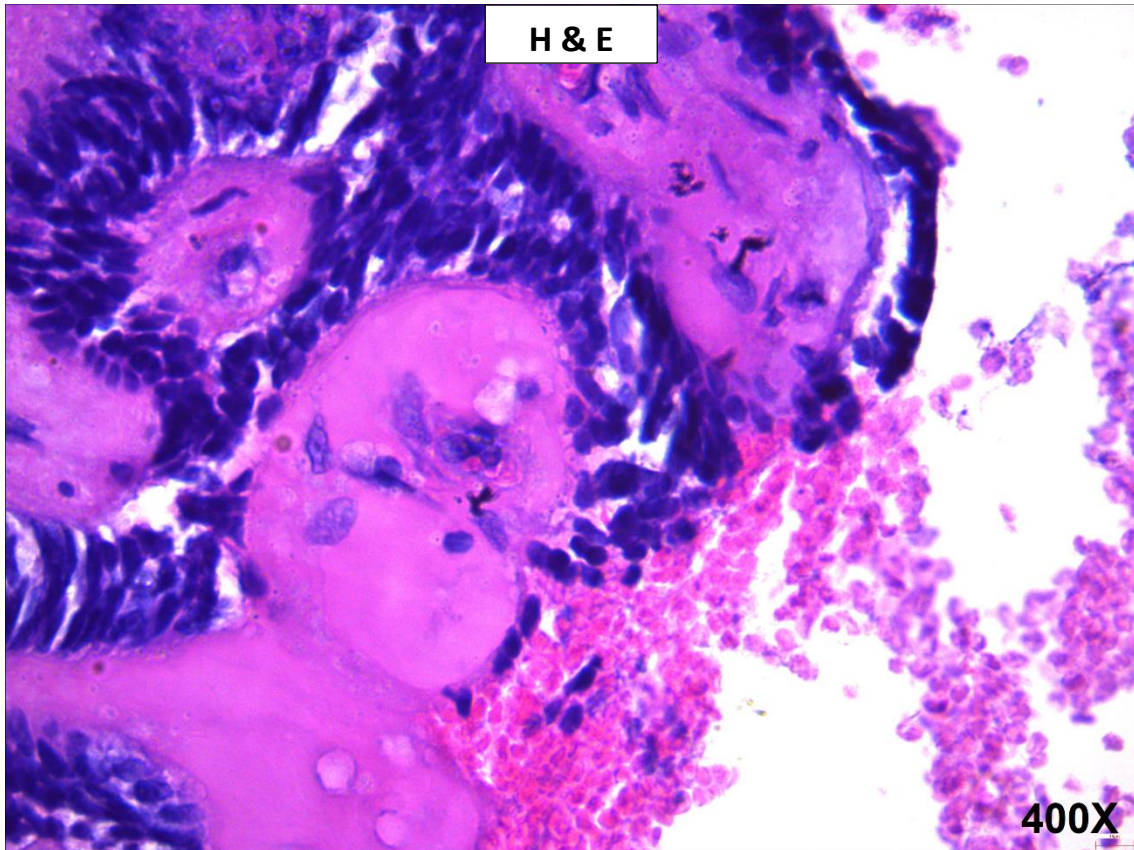


**Imagen 30.** Fotografía a 100X. Islas de tejido odontogénico rodeadas de un estroma fibroso donde se observa la disposición en empalizada de los núcleos basales, así como el hiper cromatismo nuclear.



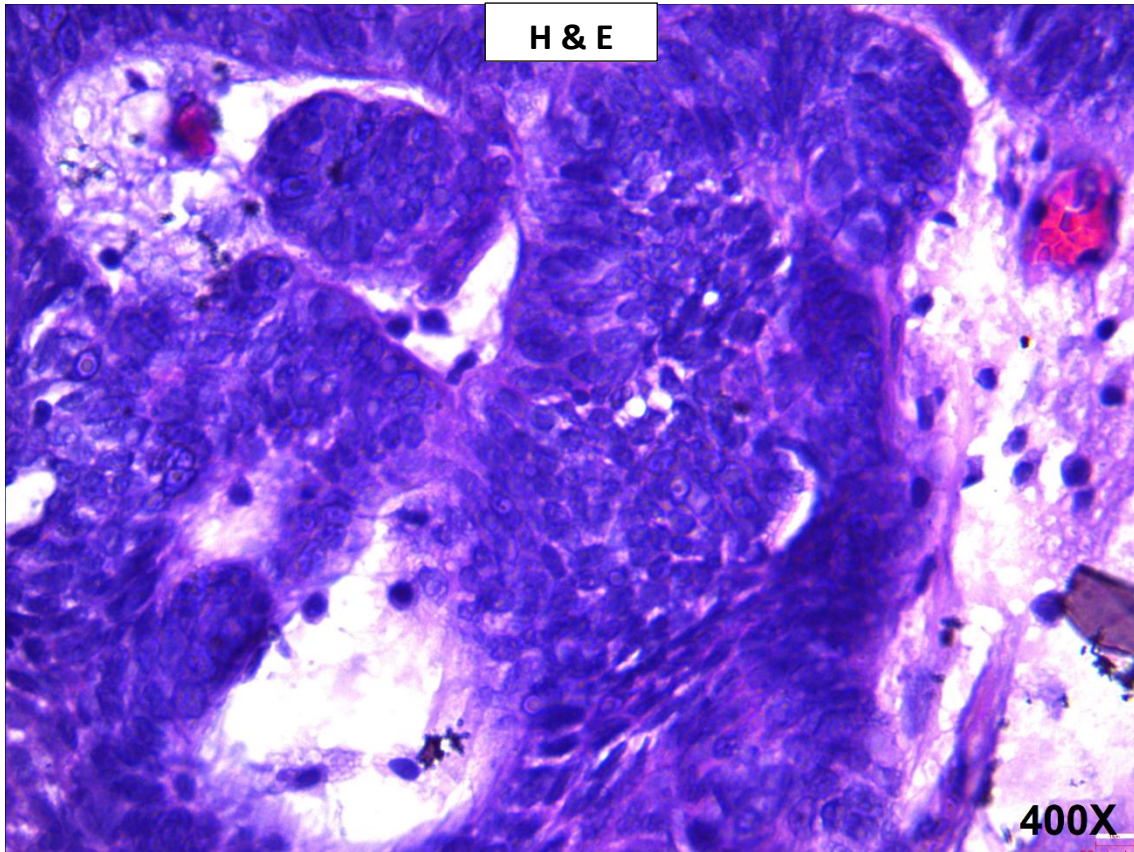


**Imagen 31.** Fotografía a 400X. Islas de tejido odontogénico en cuyo centro se puede ver la vacuolización del citoplasma celular basal.

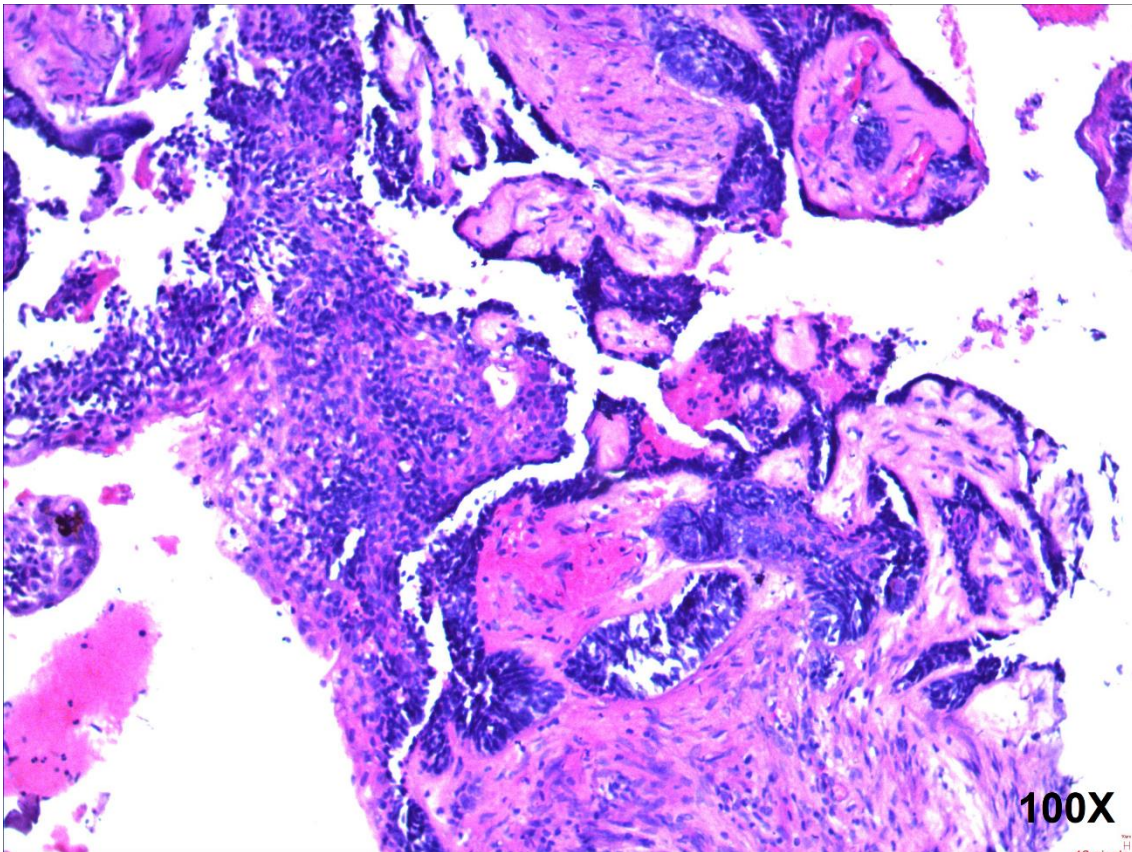


**Imagen 32.** Fotografía a 400X. Islas de tejido odontogénico rodeadas de un estroma fibroso, donde se observa la polarización invertida de los núcleos basales del epitelio quístico (núcleos ubicados en la extremidad distal de la célula, o sea alejados de la basal).





**Imagen 33.** Fotografía a 400X. Islas de tejido odontogénico en la que se ha producido la pérdida de la cohesión, similar a las células poliédricas del retículo estrellado del órgano del esmalte o gelatina del esmalte.



**Imagen 34.** Fotografía a 100X. Corte histológico de un ameloblastoma, donde se observan células del tejido odontogénico entremezcladas en el tejido conjuntivo. Hialinización del conectivo adyacente a la membrana basal. Se observa claramente cómo las células han perdido la estructura que presentan habitualmente en el tejido odontológico.

**Anexo IV. Tablas obtenidas tras la realización de la estadística comparativa.**

Las siguientes tablas son algunos de los ejemplos, a modo ilustrativo, de los resultados obtenidos tras la realización de la prueba X<sup>2</sup> de estadística comparativa.

Statistical Tests		
	X2	2 Tailed P
Uncorrected	1.2	0.2733
Mantel-Haenszel	1	0.3173
Corrected	0	1
	1 Tailed P	2 Tailed P
Mid P Exact	0.25	
Fisher Exact	0.5	1

**Tabla 19.** Test estadístico para KI67 en carcinomas de células escamosas y ameloblastomas.

Statistical Tests		
	X2	2 Tailed P
Uncorrected	0.6667	0.4142
Mantel-Haenszel	0.5556	0.4561
Corrected	0	1
	1 Tailed P	2 Tailed P
Mid P Exact	0.275	
Fisher Exact	0.5	1

**Tabla 20.** Test estadístico para OCT3 en carcinomas de células escamosas y ameloblastomas.



<b>Statistical Tests</b>		
	<b>X2</b>	<b>2 Tailed P</b>
<b>Uncorrected</b>	0.875	0.3496
<b>Mantel-Haenszel</b>	0.75	0.3865
<b>Corrected</b>	0	1
	<b>1 Tailed P</b>	<b>2 Tailed P</b>
<b>Mid P Exact</b>	0.2857	
<b>Fisher Exact</b>	0.5714	1

**Tabla 21.** Test estadístico para CK19 en carcinomas de células escamosas y ameloblastomas.