



**UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
ESCUELA DE GRADUADOS**

**SOBRE EXPRESIÓN DE c-erbB-2 EN TUMOR
ODONTOGÉNICO QUERATOQUÍSTICO NO ASOCIADO
AL SÍNDROME CARCINOMA BASOCELULAR NEVOIDE**

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGISTER EN CIENCIAS
ODONTOLÓGICAS CON MENCIÓN EN CIRUGÍA Y TRAUMATOLOGÍA ORAL
Y MÁXILOFACIAL**

Autor: Dr. Fernando Daniel Fernigrini Elizalde

Docente responsable: Dr. Máximo Hernández Rodier

**SOBRE EXPRESIÓN DE c-erbB-2 EN TUMOR ODONTOGÉNICO
QUERATOQUÍSTICO NO ASOCIADO AL SÍNDROME CARCINOMA
BASOCELULAR NEVOIDE.**

**TESIS PARA OPTAR AL GRADODE MAGISTE EN CIENCIAS
ODONTOLÓGICAS CON MENCIÓN EN CIRUGÍA Y TRAUMATOLOGÍA ORAL
Y MÁXILOFACIAL**

Autor:

Dr. Fernigrini Elizalde Fernando Daniel

Docente tutor responsable:

Dr. Hernández Rodier Máximo

Colaborador:

Dr. Venegas Rojas Bernardo

AGRADECIMIENTOS

Dr. Bernardo Venegas Rojas

Instituto de Referencia de Patología Oral (IREPO)

Tecnóloga Verónica Ríos

INDICE

Introducción	1
Aspectos teóricos	4
Etiología y patogénesis	4
Histología y características ultraestructurales	6
Características histológicas	6
Características ultraestructurales	7
Historia natural e inmunohistoquímica	8
Consideraciones embriológicas	8
Indicadores de influencia genética en la patogénesis	9
Marcadores tumorales y de proliferación celular en tumor odontogénico queratoquístico	11
Expresión de gp38	11
Receptor de factor de crecimiento epitelial (RFCE)	11
Expresión de ANPC, p53, Ki-67, RON	12
Expresión de las oncoproteínas bcl-2 y bcl-1	17
El gen del Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide y el Tumor Odontogénico Queratoquístico	18
Evidencia de un factor genético en la etiología del Queratoquiste Odontogénico esporádico	19
Manejo quirúrgico del Tumor Odontogénico Queratoquístico	22
Opciones quirúrgicas convencionales	22
Enucleación y curetaje	22
Enucleación y ostectomía periférica	23
Resección ósea	23
Descompresión y marsupialización como tratamiento del Tumor Odontogénico Queratoquístico	24
Excisión de la mucosa adherida suprayacente en conjunto con la enucleación y tratamiento del defecto óseo con solución de Carnoy	25
El uso de crioterapia con nitrógeno líquido en el manejo del Tumor Odontogénico Queratoquístico	27
Recidiva	29
Abordaje molecular para el diagnóstico del Tumor Odontogénico Queratoquístico	30
El c-erbB-2	33
Hipótesis	35
Objetivos	36
Materiales y Método	37
Resultados	40
Discusión	42
Conclusiones	43
Sugerencias	44
Resumen	45
Referencias bibliográficas	46
Anexos y apéndices	54
Carcinoma de mama c-erbB-2 positivo	55

Tumor Odontogénico Queratoquístico c-erbB-2 positivo.

Tinción leve

57

Tinción moderada

74

INTRODUCCIÓN

El queratoquiste odontogénico era considerado un quiste del desarrollo con su origen en restos epiteliales de la lámina dental, o en proliferaciones del estrato basal del epitelio que recubre el estomodeo (Stoelinga, 2003a). Esta patología se caracteriza por su alto grado de recurrencia (Shear, 2003a), potencial comportamiento agresivo y la asociación al Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide (SCBN) o síndrome de Gorlin-Goltz.

Es fundamentalmente este alto grado de recurrencia, lo que ha motivado un sin número de estudios moleculares, histológicos y clínicos que intentan explicarlo, acrecentar el conocimiento sobre esta patología, como así también proponer diversas alternativas de tratamiento. Muchos de estos estudios también han tenido como objeto lograr un diagnóstico diferencial con otras patologías quísticas o entre el queratoquiste odontogénico esporádico y el asociado al SCBN y así permitir un diagnóstico temprano de los pacientes con este síndrome.

A su vez, también ha llevado a desarrollar distintas estrategias quirúrgicas para tratar de disminuir el grado de recurrencia. Esto, sólo lo ha logrado con mayor efectividad la resección (Blanas et al., 2000), pero claro con todas las dificultades de rehabilitación funcional y estética que conlleva (Ghali y Connor, 2003), y lo que no es menos, el impacto o efecto psicológico que ocasiona al paciente la mutilación o pérdida de una parte de su cuerpo, y en un territorio tan particular como es el facial.

A pesar de todo esto la recurrencia se presenta (Shear, 2003a) y aún no se ha hallado un tratamiento ideal o con un grado de recurrencia bajo o aceptable. Y es que, lo que clínicamente se presenta como un problema, enfrentarse a una recurrencia de queratoquiste odontogénico, en algunos casos más de una vez en el mismo paciente, no es más que un indicador de que aún nos quedan por conocer diversas facetas de esta patología. Si bien en numerosas ocasiones, el queratoquiste odontogénico muestra características clínicas y una imagen histológica típica que permiten identificarlo, en otras situaciones su presentación histológica no es la clásica, dificultando el diagnóstico y, lo variado de su comportamiento clínico hace difícil su tratamiento.

Ahlfors et al., (1984), basados en su estudio clínico proponen considerar al queratoquiste odontogénico como una neoplasia quística benigna. Con el paso del tiempo se fueron acumulando trabajos histológicos que evidenciaban la expresión de marcadores tumorales (Li et al., 1995; 1996; Slootweg, 1995; Shear, 2002) reforzando esta idea. Suma a este cúmulo de evidencia, el antecedente de expresión del receptor de factor de crecimiento epitelial en queratoquistes odontogénicos (Li et al., 1993).

En el año 2005 la Organización Mundial de la Salud (OMS), en su nueva clasificación de tumores odontogénicos, lo ubica dentro de las neoplasias benignas con el nombre de "Tumor Odontogénico Queratoquístico". Por esta razón de aquí en adelante me referiré al queratoquiste odontogénico como tumor odontogénico queratoquístico.

El c-erbB-2 es un receptor de membrana que pertenece a la familia del receptor de factor de crecimiento epitelial que juega un rol importante en la regulación de procesos como crecimiento, supervivencia y diferenciación celular (Zwick et al., 1999). Está documentado que entre el 20% y 30% de los pacientes con cáncer de mama, las células tumorales presentan amplificación y/o sobre expresión de c-erbB-2. Este estado se asocia con mayor agresividad de la patología, y menor sobrevida cuando se lo compara con casos que no sobre expresan c-erbB-2 (Selvarajan et al., 2004). También se ha observado que la sobre

expresión de c-erbB-2 es un factor pronóstico en el carcinoma oral de células escamosas (Chen et al., 2004)

Con estos antecedentes y teniendo en cuenta el origen epitelial del tumor odontogénico queratoquístico, se planteó la hipótesis: “el tumor odontogénico queratoquístico sobre expresa c-erbB-2”.

La sobre expresión de estos receptores, en particular el c-erbB-2, ayuda a comprender o explicar en parte el comportamiento clínico del tumor odontogénico queratoquístico, dadas las funciones observadas de este receptor, aportando conocimiento sobre esta patología.

El desarrollo y avance en otros campos como la biología y farmacología molecular van aportando conocimientos y posibles alternativas a aplicar en el área bucomáxilofacial (Todd y August, 2003). Así el diseño y aplicación de nuevos fármacos moleculares (destinados a un blanco molecular específico) para el tratamiento de neoplasias, abre todo un terreno de investigación y posibilidades de tratamiento en aquellas patologías que expresan estos blancos moleculares (Workman y Kaye, 2002).

Este es el caso de trastuzumab (Herceptin®), un anticuerpo monoclonal dirigido contra el receptor de factor de crecimiento epitelial tipo 2 (HER2, c-erbB-2), actualmente aprobado por la Food and Drug Administration (FDA, 1998). Además de este medicamento, existen otros aún en fase de evaluación, destinados a uno o varios miembros de la familia de receptores de factor de crecimiento epitelial como Cetuximab, Iressa (Tabla I) (Bono y Rowinsky, 2002).

Agente	Laboratorio	Clase química	Fase de desarrollo	Blanco/Mecanismo de acción
ZD1839 (Iressa®)	Astra Zeneca	Quinazolina	Fase II-III	Inhibe competitivamente la unión de ATP en el sitio de unión de ATP del dominio tirosín kinasa interno de ErbB1
OSI-774 (Tarceva®)	OSI/Genentech	Quinazolina	Fase II-III	Inhibe competitivamente la unión de ATP en el sitio de unión de ATP del dominio tirosín kinasa interno de ErbB1
PKI 116	Novartis	Pirrolopirimidina	Fase I	Inhibe competitivamente la unión de ATP en el sitio de unión de ATP del dominio tirosín kinasa interno de ErbB1
GW2016	GlaxoSmithKline	Quinazolina	Fase I	Inhibe competitivamente la unión de ATP en el sitio de unión de ATP del dominio tirosín kinasa interno de ErbB1 y ErbB2
EKB-569	Genetics Institute Wyeth-Ayerst	3-Cianoquino- lina	Fase I	Se une irreversiblemente en el sitio de unión de ATP en el dominio tirosín kinasa interno de ErbB1. Inhibe el crecimiento de células tumorales que sobre expresan ErbB1 o ErbB2. Bloquea irreversiblemente la actividad tirosín kinasa de receptores ErbB
CI-1033	Pfizer	Quinazolina	Fase I	Inhibe competitivamente la unión de ATP en el sitio de unión de ATP del dominio tirosín kinasa interno de todos los receptores ErbB, particularmente ErbB1 y ErbB2.

Tabla I: Moléculas pequeñas inhibitoras selectivas de receptores tirosín kinasa ErbB en desarrollo clínico (Bono y Rowinsky, 2002).

El estudio de la sobre expresión de estos receptores en el tumor odontogénico queratoquístico da lugar a nuevas posibilidades de tratamiento, ya sea con alguno de éstos fármacos (tabla I) o con nuevos medicamentos destinados a estos receptores.

En este trabajo se presenta una revisión bibliográfica sobre el tumor odontogénico queratoquístico que permite ubicarnos en la situación actual de esta patología en cuanto a conocimiento, métodos y dificultades en el diagnóstico, alternativas de tratamiento quirúrgico y controversias que se presentan al momento de analizar la bibliografía e intentar llegar a conclusiones certeras o válidas para el tratamiento. Junto a esto, se describe el c-erbB-2, para comprender su posible participación en la patogenia del tumor odontogénico queratoquístico, y su relación con el comportamiento clínico.

ASPECTOS TEÓRICOS

Etiología y patogénesis del tumor odontogénico queratoquístico.

En el pasado se consideraba que el tumor odontogénico queratoquístico se originaba a partir del primordium (germen) de un diente, antes que la mineralización tomara lugar. Esta es la razón por la cual también fue llamado quiste primordial. A medida que pasó el tiempo, fue ganando lugar la idea de que jugaban un rol importante los remanentes de la lámina dental, debido particularmente a que muchos tumores odontogénicos queratoquísticos guardaban una relación atípica con los dientes, cuando aparecían en el área dentada. Su frecuente presentación en la rama mandibular se explicaba mediante la hipótesis de que prolongaciones de la lámina dental eran, probablemente, las responsables del desarrollo de “queratoquistes” en esta región.

Hay una tendencia a señalar a la lámina dental como el origen epitelial más probable del tumor odontogénico queratoquístico, pero hay poca evidencia real de esta hipótesis. La lámina dental comienza como una invaginación de la capa basal del epitelio que recubre los futuros procesos alveolares del maxilar y la mandíbula, a las 6 semanas de gestación. Es una banda de epitelio que se desarrolla desde anterior a posterior y mantiene su conexión con el epitelio suprayacente hasta la formación de los gérmenes de la dentición decidua. Después de esto, pierde su conexión por desintegración. Sin embargo, pueden permanecer remanentes epiteliales, los cuales suelen encontrarse más comúnmente en la encía o inclusive en el periodonto, debido a que los dientes pasan la zona donde se desarrolla la lámina dental, cuando erupcionan. Cuando se estudian embriones humanos, con frecuencia se observan microquistes que se originan a partir de remanentes epiteliales de la lámina dental. Sin embargo, estos no presentan las características que son típicas de los tumores odontogénicos queratoquísticos (Stoelinga, 2003a).

Hacia lingual de los gérmenes mandibulares o hacia palatino de los gérmenes maxilares de la dentición temporaria, se desarrollan prolongaciones de la lámina dental que finalmente dan origen a los gérmenes de la dentición permanente. Los gérmenes de los molares permanentes se originan de extensiones posteriores de la lámina dental. Estas extensiones que formarán los gérmenes del primer, segundo y tercer molar permanente, no tienen conexión con el epitelio suprayacente. Posibles remanentes de esta parte de la lámina dental podrían quedar atrapados en la encía que corresponde a la zona molar, o también podrían ser encontrados en el periodonto, debido a que estos restos epiteliales podrían quedar encerrados parcialmente en la cripta ósea donde se desarrollarán éstos gérmenes dentarios. Quistes periodontales laterales, o quistes foliculares laterales, pueden tener su origen en estos residuos epiteliales de la lámina dental ya que algunos de estos quistes presentan características de tumores odontogénicos queratoquísticos.

Posibles prolongaciones de la lámina dental, podrían localizarse hacia distal de la cripta del tercer molar. Estos restos podrían seguir un desarrollo similar al de las prolongaciones que dan origen al tercer molar. La presencia ocasional de un cuarto molar, evidencia la validez de esta hipótesis. Es probable que cuando no se forma un cuarto molar, estas prolongaciones se ubiquen distal al tercer molar, posiblemente en una cripta ósea.

Observaciones histológicas de la pared de tumores odontogénicos queratoquísticos, han revelado la presencia de islas epiteliales y microquistes, y los porcentajes van desde el 25% hasta un 60% aproximadamente (Ahlfors et al., 1984; Woolgar et al., 1987). Los

investigadores llegaron a la conclusión de que éstos representan remanentes activos de lámina dental. La idea de que la lámina dental es la fuente principal de epitelio para el origen del tumor odontogénico queratoquístico, probablemente surge del hecho de que no se conocen otras invaginaciones epiteliales en esta área.

Stoelinga (2003a), sin embargo, no está convencido de que la lámina dental sea la principal fuente de las islas epiteliales encontradas en las paredes de estos tumores, ni de que es el origen principal del tumor odontogénico queratoquístico. Él sostiene tres razones para esta duda. Primero, un estudio prospectivo realizado en tumores odontogénicos queratoquísticos recurrentes y en tumores odontogénicos queratoquísticos primarios ha mostrado que la mayoría de estos cúmulos epiteliales y microquistes son encontrados donde la pared del quiste está unida a la mucosa que lo recubre. Cúmulos epiteliales solitarios en otras partes de la pared quística, sólo fueron vistos esporádicamente. Dado que más de la mitad de los tumores odontogénicos queratoquísticos están localizados en la rama ascendente de la mandíbula, y a menudo las perforaciones de la parte anterior de la rama mandibular están localizadas en una zona alta de la misma, es difícil explicar que prolongaciones de la lámina dental tengan un rol en estos casos, porque deberían estar ubicados en la parte superior del tercer molar o inmediatamente posterior a éste, y cerca del hueso o incluso dentro del hueso.

Hay dos posibles razones de por qué otros autores nunca han mencionado la relación topográfica entre la mucosa que recubre el quiste y las islas epiteliales. Primero, los cirujanos generalmente no extirpan la mucosa que recubre esta parte del “queratoquiste”, por lo que el patólogo no es orientado en lo concerniente a las relaciones anatómicas exactas entre el quiste y su tejido blando, y el hueso circundante. Segundo, cuando la mucosa es escindida para lograr acceso al quiste, algunas islas epiteliales y microquistes son removidos juntos con el quiste y aparecen en la pared quística. El patólogo informa su presencia sin conocer cuál es su relación topográfica con la mucosa. Estos dos factores contribuyen a la continua confusión y refleja la ignorancia de lo importante que es extirpar la mucosa suprayacente.

La segunda causa por la que duda este autor es que ocasionalmente ha visto un fenómeno de proliferación de la capa basal del epitelio que recubre un tumor odontogénico queratoquístico. Este fenómeno es visto con frecuencia en pacientes que sufren el Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide. Pareciera ser que la capa basal del epitelio oral mantiene la capacidad de formar nuevas invaginaciones, tales como la lámina dental. Cuando éstas han perdido su conexión con el epitelio de recubrimiento, aparecen como islas epiteliales o microquistes.

La tercer razón que tiene este autor para dudar es que en la literatura hay por lo menos cuatro casos de tumores odontogénicos queratoquísticos recurrentes en injertos óseos después de resecciones parciales de mandíbula como tratamiento de tumores odontogénicos queratoquísticos. Él, sostiene que estas recidivas implican que los quistes recurrentes han derivado de un origen fuera del injerto óseo, más bien a partir de los tejidos blandos que recubren el injerto. Al revisar estos casos le resulta difícil entender que la lámina dental haya sido la causa de estos nuevos “queratoquistes”. Una amplia resección, incluyendo los dientes, debiera haber erradicado posibles remanentes de la lámina dental.

Cualquiera que pudiera ser la verdad referida al origen de los restos epiteliales, remanentes de la lámina dental o prolongaciones de la capa basal de la mucosa suprayacente, éstos son encontrados principalmente en las zonas donde los tumores odontogénicos queratoquísticos se unen con la mucosa. Esto fue demostrado

inequívocamente en estudios prospectivos sobre tumor odontogénico queratoquísticos primarios y recurrentes. En los casos de “queratoquistes primarios”, fueron vistos en aproximadamente el 60% de los casos en que la mucosa fue extirpada. La excisión de la mucosa fue realizada sólo en los casos en que los quistes fueron diagnosticados preoperatoriamente como “queratoquistes odontogénicos” en la rama ascendente de la mandíbula o en el maxilar posterior. En estos especímenes se vieron con frecuencia grupos de islas epiteliales o microquistes juntos (Stoelinga, 2001).

Histología y características ultraestructurales del tumor odontogénico queratoquístico.

En comparación con otros quistes de los maxilares, el tumor odontogénico queratoquístico es inusual porque presenta características clínicas que le son propias como: comportamiento potencialmente agresivo, alto índice de recurrencia, y está asociado al Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide o síndrome de Gorlin-Goltz. La característica histológica patognomónica, presencia de paraqueratina, es única entre todos los quistes inflamatorios o del desarrollo, que ocurren en los maxilares. La presencia de paraqueratina, asociada con otros hallazgos histológicos característicos, es tan distintiva que el diagnóstico histopatológico usualmente es inequívoco.

Para comenzar, es importante definir dos entidades específicas en discusión. Histológicamente, el tumor odontogénico queratoquístico está compuesto de un epitelio plano estratificado paraqueratinizado y raramente puede presentar focos de ortoqueratinización. Este tumor ocurre esporádicamente o puede estar asociado al Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide. En contraste, el quiste odontogénico ortoqueratinizado, como el nombre lo indica, está compuesto exclusivamente de epitelio que presenta ortoqueratinización. Aunque inicialmente se pensaba que era un subtipo de “queratoquiste odontogénico”, se ha establecido que tiene características clínicas, histológicas, y biológicas que lo diferencian del tumor odontogénico queratoquístico. Además este quiste no se presenta en asociación al Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide.

Características histológicas del tumor odontogénico queratoquístico.

Las características histológicas típicas del tumor odontogénico queratoquístico incluyen un epitelio escamoso estratificado paraqueratinizado. El epitelio es delgado, con un espesor de 6 a 10 células aproximadamente, y ausencia de crestas epiteliales, lo que produce la característica interface plana entre el epitelio y el tejido conectivo. Es común la separación entre el epitelio y el tejido conectivo subyacente, ésta es ocasionada por la degradación de colágeno en la región yuxtaepitelial, mediada por metaloproteinasas.

Por definición, el tumor odontogénico queratoquístico está compuesto por epitelio paraqueratinizado, aunque raramente puede observarse pequeños focos de ortoqueratinización. Las áreas de paraqueratinización muestran una superficie corrugada, y puede haber queratina en el lumen. Hay una capa basal bien definida compuesta de células cilíndricas o cuboides. Las áreas de ortoqueratinización presentan células basales más bajas compuestas por células cuboides o escamosas. Se ha descrito la presencia de displasias epiteliales en tumores odontogénicos queratoquísticos, y se ha reportado la aparición de carcinoma escamocelular en tumores odontogénicos queratoquísticos sindrómicos y no sindrómicos. La relación entre la presencia de displasia epitelial y el desarrollo de

carcinoma en tumores odontogénicos queratoquísticos no está clara dado que son extremadamente raras.

Pueden observarse mitosis en la región basal y parabasal. Estudios sobre el promedio del conteo de mitosis, han mostrado que el índice de proliferación del queratoquiste (promedio=8) es mayor que el de quistes no odontogénicos (promedio=2,3) y que el de quistes radiculares (promedio=4,5), y es más similar al observado en ameloblastoma y lámina dental. La tinción inmunohistoquímica para el antígeno de proliferación Ki-67 muestra numerosas células en ciclo en la pared epitelial localizadas principalmente en el estrato suprabasal.

La pared de tejido conectivo del tumor odontogénico queratoquístico está compuesta de tejido fibroso rico en mucopolisacáridos y está libre de inflamación. En ocasiones en las cuales presenta inflamación o se ha infectado se observa metaplasia del recubrimiento epitelial transformándose en epitelio escamoso estratificado no queratinizado. Paradójicamente, el epitelio del tumor odontogénico queratoquístico con inflamación tiene un índice de proliferación más alto que el de uno sin inflamación, aunque no se conoce el mecanismo por el cual ocurre esto. En estas circunstancias puede confundirse el tumor odontogénico queratoquístico con otro quiste odontogénico del desarrollo o inflamatorio. También ha sido reportada la metaplasia cartilaginosa en la pared del tumor odontogénico queratoquístico, pero este hallazgo es raro. Pequeños quistes “hijos” o “satélites” pueden estar presentes en la pared de tejido conectivo del tumor, aunque este hallazgo es más frecuente cuando el tumor odontogénico queratoquístico ocurre como un componente del Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide.

Características ultraestructurales del tumor odontogénico queratoquístico.

Numerosos investigadores han estudiado las características ultraestructurales del tumor odontogénico queratoquístico (Donoff et al., 1972; Wysocki y Sapp, 1975; Philipsen et al., 1976; citados en Jordan, 2003). Hallazgos ultraestructurales típicos incluyen profundos pliegues epiteliales, pocas capas de paraqueratina pero uniforme y un pequeño corrugado superficial. La superficie celular se caracteriza por uniones desmosómicas, complejas series de depresiones y elevaciones, con espacios intercelulares más angostos en el estrato espinoso que en las regiones más profundas. Las células basales muestran algunas variaciones, pero las más comunes son del tipo columnar alto. Estas células basales tienen tonofilamentos, desmosomas, hemidesmosomas, y organelas celulares similares a otros tipos de células basales de epitelio escamoso estratificado queratinizado. El glucógeno es una característica usual del citoplasma en las células del tumor odontogénico queratoquístico, y se ha sugerido que hay un incremento del contenido de glucógeno en los tumores odontogénicos queratoquísticos relacionados al Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide. Es clara la transición entre las células epiteliales y la paraqueratina.

Philipsen et al. (1976) observaron que la capa basal estaba separada del tejido conectivo subyacente por una notoria lámina densa. Las fibras de colágeno adyacentes mostraban disolución y algunas veces desaparecían completamente, conteniendo un material floculento. Estos hallazgos han sido reportados por otros autores, aunque Herbener et al. (1991) no encontraron evidencia de estos cambios y sugirieron que estos hallazgos eran un artefacto relacionado a la fijación con formalina. Subsecuentemente se ha reportado que en especímenes frescos de tumores odontogénicos queratoquísticos hay ruptura de colágeno, la cual no es un artefacto. Donoff et al. (1972) han mostrado que la disolución del colágeno en

la región yuxtaepitelial está causada por un incremento de la actividad colagenolítica en el tumor odontogénico queratoquístico.

Hay diferencias distintivas entre el tumor odontogénico queratoquístico paraqueratinizado y el quiste odontogénico ortoqueratinizado. La morfología superficial del quiste odontogénico ortoqueratinizado es más uniforme y está completamente cubierta por una capa de escamas de queratina. A medida que las células maduran hay un incremento de tonofilamentos, y el estrato granular consiste en una capa compacta de células degeneradas, que contienen grandes cantidades de gránulos de queratohialina. La superficie luminal consiste en una capa compacta de láminas de ortoqueratina.

Un número de características histológicas ha sido sugerido para tratar de explicar el comportamiento clínico más agresivo del tumor odontogénico queratoquístico, en contraste con otros quistes odontogénicos. Estos incluyen mayor recuento de mitosis, mayor grado de recambio del epitelio, y colagenasa activa.

El-Labban y Aghabeig (1990) compararon el volumen, densidad superficial y ultraestructura de los vasos sanguíneos en tumores odontogénicos queratoquísticos y quistes dentígeros; la premisa fue que la angiogénesis es una característica de neoplasias benignas y evidencia de esto en tumores odontogénicos queratoquísticos podría explicar el comportamiento. Aunque no hubo diferencia significativa de la vascularización en general, sí hubo diferencia en los hallazgos ultraestructurales entre los distintos tipos de quiste. El tumor odontogénico queratoquístico mostró capilares fenestrados y degeneración del recubrimiento endotelial con trombosis asociada, características no observadas en los quistes dentígeros. Sugirieron que estos cambios en el tumor odontogénico queratoquístico podrían deberse a cambios rápidos en el fluido del tumor odontogénico queratoquístico, tal vez relacionados al alto grado de proliferación epitelial. También especularon que un incremento en el número de plaquetas visto en los trombos capilares del tumor odontogénico queratoquístico podría estimular el crecimiento y viabilidad de las células epiteliales, quizás por factores de crecimiento inespecíficos.

Tumor odontogénico queratoquístico: historia natural e inmunohistoquímica.

Consideraciones embriológicas.

Los investigadores generalmente están de acuerdo en que el queratoquiste es una "anomalía del desarrollo" que tiene su origen en el epitelio odontogénico. La mayoría de la evidencia disponible señala dos fuentes principales de epitelio de las cuales deriva el quiste: la lámina dental o sus remanentes, y extensiones de las células basales del epitelio oral suprayacente.

La evidencia derivada principalmente de estudios, en queratoquistes de pacientes con Síndrome de Carcinoma Basocelular Nevoide (Gorlin-Goltz), ha sugerido que el quiste podría surgir directamente de la lámina dental. Con frecuencia son observados microquistes satélites en la pared del quiste principal, naciendo aparentemente, a partir de remanentes de la lámina dental.

El desarrollo dental en humanos se inicia en la sexta semana de gestación, en este período hay un engrosamiento local del ectodermo del estomodeo en respuesta a un estímulo del ectomesénquima originado en la cresta neural. Esto es seguido por el desarrollo de la lámina dental y la condensación de células del ectomesénquima. La lámina dental se invagina más profundo en el ectomesénquima y, diez gérmenes dentarios deciduos se desarrollan en cada maxilar. Durante el estadio de casquete del desarrollo

dental, prosigue el crecimiento epitelial, dando origen a los órganos del esmalte de la dentición permanente. Durante el período de campana la lámina dental comienza a desintegrarse quedando pequeñas islas epiteliales, restos epiteliales de Serrés. Todos los estadios del desarrollo dental involucran interacciones secuenciales y recíprocas entre el epitelio y el mesénquima.

Los investigadores piensan que la lámina dental que da origen a los órganos del esmalte de los molares permanentes se extiende hacia distal, profundo a la mucosa y se desintegra, dejando sus residuos en la submucosa y el hueso. Normalmente no se encuentran residuos de la lámina dental en la región molar de los maxilares, e intentos de identificar estos residuos en maxilares normales, aparentemente no han tenido éxito. Frecuentemente se observan restos (islas, cadenas) de lámina dental en la pared de queratoquistes. Un estudio de cortes histológicos seriados de 52 especímenes de tejido excindido del área retromolar en pacientes sometidos a exodoncia de terceros molares, encontró que 39 especímenes presentaban restos epiteliales similares al epitelio odontogénico, localizados lejos del epitelio oral suprayacente, profundos en el tejido conectivo o submucosa. Los investigadores concluyeron que estos cúmulos podrían ser las hamartias referidas por Stoeltinga, pero no fueron capaces de determinar, si éstos se originaron en la lámina dental o en la capa basal de epitelio oral (Ostrofsky, 1980; citado en Shear, 2003b).

Indicadores de influencia genética en la patogénesis del queratoquiste.

Desde el momento en que se estableció la asociación del queratoquiste con el Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide, se acumuló considerable evidencia para soportar la idea de que el o los estímulos para la formación del tumor odontogénico queratoquístico están genéticamente determinados (Domínguez y Keszler, 1988). También se señaló correctamente que el queratoquiste puede ocurrir como lesión única o múltiple sin otras características del síndrome (Ahlfors et al., 1984).

En un estudio se presentó como sugerencia que la presencia de un queratoquiste sin otras características del síndrome, podría representar la forma menos completa de expresión del Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide. En este trabajo los resultados podían ser interpretados como evidencia a favor o en contra de esta hipótesis (Woolgar et al., 1987). La presencia frecuente de quistes satélites, aparentemente derivados de la lámina dental, en la pared de queratoquistes, sugirió a Browne (1975) que había clones de remanentes epiteliales de la lámina dental, genéticamente anormales predispuestos a proliferaciones exuberantes.

La idea de que por lo menos el origen de algunos queratoquistes sea a partir de la proliferación de células basales del epitelio oral, ha sido propuesta principalmente por Stoeltinga et al (2003; 1975). Ellos han demostrado histológicamente la presencia de islas epiteliales en la mucosa superficial a queratoquistes extirpados, especialmente en la rama ascendente de la mandíbula. Este fenómeno es particularmente notable en aquellos queratoquistes de pacientes con el Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide. Estas islas epiteliales fueron encontradas a veces, como extensiones o profundizaciones desde la capa basal del epitelio superficial, y los autores creyeron que el quiste podría estar adherido a la mucosa oral a través de fenestraciones en el hueso. Aunque reconocieron que remanentes de la lámina dental, en el área dentada, podrían ser considerados la fuente principal para el desarrollo de queratoquistes en esta región, ellos sostuvieron que inclusive éstos estarían localizados primariamente en la encía y que debería esperarse adhesiones gingivales de estos quistes. Sin embargo, frecuentemente los queratoquistes están localizados en la rama

ascendente de la mandíbula, y no presentan relación a un folículo dental o lámina dental. Tales quistes, ellos concluyen, podrían haberse originado de proliferaciones celulares, a veces referidas como hamartías de células basales, provenientes de la mucosa oral suprayacente.

Considerando lo que se sabe actualmente sobre la influencia genética en la patogénesis del queratoquiste, tanto el esporádico como los relacionados al Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide, tales proliferaciones de células basales o hamartías podrían ser inducidas por activación de células basales ya sea directamente o por influencia del ectomesénquima residual en el área dentada de los maxilares. Sobre la base de esta presuntiva patogénesis, Stoelinga y varios colaboradores (2001) han propuesto que el epitelio de recubrimiento superficial debería ser excindido junto con el queratoquiste, ya que esto podría evitar recidivas originadas en islas epiteliales residuales o microquistes. Sin embargo, ellos reconocieron que después de esta extirpación el epitelio superficial reparado podría tener el mismo potencial que el epitelio original, de producir queratoquistes.

Aunque el hallazgo consistente de una capa paraqueratósica en los queratoquistes es muy raro de ver en otros quistes mandibulares, esto puede estar relacionado a su origen, epitelio odontogénico primordial, esencialmente la lámina dental, la cual todavía no se ha diferenciado y retiene el potencial inherente de su tejido madre, el epitelio del estomodeo u oral. Los investigadores a menudo han notado que la lámina dental puede dar origen a queratina. A diferencia del queratoquiste, los quistes dentígeros están tapizados por epitelio reducido del esmalte, el cual sólo raramente tiene la capacidad de formar queratina, mientras que los quistes radiculares desarrollados a partir de los restos epiteliales de Malassez, también parecen tener poco potencial de queratinización.

La influencia del ectomesénquima, que conforma la pared del queratoquiste, sobre la histomorfología del epitelio ha sido demostrada mediante el transplante de paredes de queratoquiste en ratones atímicos (Vedtofte et al., 1982; citado en Shear, 2003b). El epitelio quístico proliferaba y a veces formaba un nuevo queratoquiste en el tejido huésped. El epitelio conservaba sus típicas características histológicas en la medida en que fuera soportado por su propia cápsula de tejido conectivo. Sin embargo, las proliferaciones epiteliales sobre tejido conectivo del huésped, mostraron una morfología alterada. En la mayoría de los especímenes el epitelio era queratinizado pero atrófico, y las células basales eran aplanadas. La posibilidad de que el defecto primario en los queratoquistes pudiera ser de la pared fibrosa del mesénquima, en vez que de las células epiteliales, fue sugerida por Browne (1975), y otros investigadores se han referido sobre la influencia del ectomesénquima en las recidivas (Shear y Altini, 1976; Voorsmit et al., 1981; citados en Shear 2003b).

De manera similar, experimentos in vitro sobre especímenes de tejidos frescos de tres queratoquistes y tres quistes dentígeros, mostraron una diferencia considerable en la capacidad de crecimiento (Stenman et al., 1986). El crecimiento de las células epiteliales alcanzó un máximo después de 14 a 16 días in vitro, luego de este tiempo el crecimiento fue más lento, y se detuvo después de 3 a 4 semanas. Células similares a fibroblastos aparecieron en los cultivos in vitro entre los días 10 y 14, y al cabo de dos a tres "pasajes" la mayoría de las células epiteliales habían desaparecido y los cultivos consistían principalmente de células similares a fibroblastos. Las células epiteliales en crecimiento mostraron moderada a alta actividad de NADH-diaforasa y fosfatasa ácida, la cual fue más intensa cerca de las células fibroblásticas en proliferación. Estas reacciones histoquímicas in vitro fueron similares a las demostradas en secciones de tejido de queratoquistes,

comparadas con otros quistes odontogénicos. Los autores consideraron el alto nivel de actividad enzimática en las células epiteliales adyacentes a las células fibroblásticas de particular interés y, citando los hallazgos del estudio en ratones atímicos (Vedtofte et al., 1982) sugirieron que la estrecha relación con las células mesenquimales de la cápsula del quiste era esencial para el mantenimiento de esta capacidad metabólica.

Marcadores tumorales y de proliferación celular en tumor odontogénico queratoquístico.

En los pasados diez años, una cantidad sustancial de publicaciones ha provisto soporte experimental a la creencia, ya sospechada por la evidencia clínica, de que el tumor odontogénico queratoquístico era una neoplasia benigna y que su ocurrencia estaba genéticamente determinada, ya sea en su forma esporádica o como parte del Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide.

Expresión de gp38 en el epitelio del queratoquiste.

La gp38 es una glicoproteína de superficie celular específica del epitelio, que se expresa intensamente en el carcinoma de células basales pero no en carcinoma de células escamosas u otro desorden proliferativo de epitelio escamoso. En vistas de la asociación del queratoquiste y el carcinoma de células basales en el Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide, se planteó la hipótesis de que el queratoquiste podría expresar proteínas comunes, no expresadas en epitelio oral normal. High et al. (1993; citados en Shear, 2003b) investigaron la distribución de gp38 en la membrana epitelial de 30 queratoquistes paraqueratinizados y 6 ortoqueratinizados. Secciones del material procesado en parafina mostraron una consistente tinción intensa en la superficie celular de la capa basal y suprabasal de los 30 queratoquistes paraqueratinizados, aunque no se mencionó si alguno de ellos estaba relacionado al síndrome. Todos los casos ortoqueratinizados fueron negativos.

La gran especificidad de esta técnica para queratoquistes paraqueratinizados sugiere una alteración en la expresión genética que también se observa en carcinoma de células basales, pero no en tejido normal, y los investigadores creen que esto podría avalar la idea de que los queratoquistes paraqueratinizados tienen potencial neoplásico. Se creyó que el resultado negativo de los seis casos ortoqueratinizados y su comportamiento clínico menos agresivo, incluyendo su falta de relación con el síndrome, justifica que sean considerados como diferentes entidades clinicopatológicas, que requieren o merecen un tratamiento distinto (High et al., 1993; citados en Shear, 2003).

Receptor de factor de crecimiento epitelial (RFCE).

Shrestha et al. (1992) investigaron la expresión del receptor de factor de crecimiento epitelial (RFCE) en 67 quistes odontogénicos y 35 tumores odontogénicos, utilizando un anticuerpo monoclonal para RFCE, con el fin de determinar la presencia y significado de este receptor de membrana. Las células epiteliales de los quistes odontogénicos fueron positivas para la tinción del RFCE, pero no detectaron presencia de RFCE en los tumores odontogénicos. Estos resultados les sugirieron que los mecanismos de proliferación celular o los factores de crecimiento intervinientes eran diferentes para quistes y tumores odontogénicos.

En 1993, Li et al. publican otro estudio referido a la expresión de RFCE en 35 quistes odontogénicos, de los cuales 13 eran queratoquistes, 6 ameloblastomas y 7 granulomas

periapicales que contenían restos epiteliales de Malassez en proliferación, utilizando un panel de anticuerpos monoclonales para RFCE (clon E30, F4 y C11). El epitelio odontogénico mostró inmunorreactividad en todos los especímenes, con los tres anticuerpos, siendo el clon E30 el que dio la reacción más intensa. En su estudio destacaron que la intensidad de la tinción disminuía progresivamente desde la capa basal hacia la capa más superficial. Además observaron que los quistes odontogénicos del desarrollo y los ameloblastomas expresaron un nivel mayor de tinción para el RFCE que los quistes inflamatorios y los restos epiteliales de los granulomas. También agregaron que la tinción era más débil en las zonas en las que el epitelio estaba en relación con infiltrado inflamatorio, por lo que concluyeron que el grado de expresión del RFCE estaba relacionado a la presencia de infiltrado inflamatorio en el tejido conectivo adyacente al epitelio, y que no hay diferencia en la expresión del receptor entre quistes del desarrollo y ameloblastomas.

El mismo grupo (Li et al., 1997) realizó otro trabajo que complementa el anterior, determinando la expresión de factor de crecimiento transformante alfa (FCT- α), factor de crecimiento epitelial (FCE), y factor de crecimiento transformante beta (FCT- β) en 27 tumores odontogénicos queratoquísticos, 10 quistes dentígeros y 10 quistes radiculares. Las membranas epiteliales de todos los quistes mostraron reactividad para FCT- α , el cual se localizó principalmente en la capa basal y suprabasal. Los tumores odontogénicos queratoquísticos expresaron mayores niveles de FCT- α que los quistes dentígeros y radiculares. La reactividad para el FCE predominó en la capa suprabasal siendo similar en todos los grupos, y menor que la del FCT- α . También se observó la expresión de ambos receptores en células endoteliales, fibroblastos y células inflamatorias en la pared del quiste. La tinción más intensa del FCT- β en los quistes odontogénicos fue extracelular, en el tejido fibroso de la cápsula. Los autores concluyeron que estos resultados, junto con los de estudios previos sobre RFCE (Li et al., 1993), indican una expresión diferencial de FCT- α , FCE y su receptor común (RFCE) entre los diferentes tipos de quistes odontogénicos, sugiriendo que estos factores de crecimiento podrían estar involucrados en su patogenia, ya sea por vía autocrina, paracrina o ambas.

Expresión de antígeno nuclear de proliferación celular, p53, Ki-67, regiones de organización nucleolar.

En busca de explicaciones moleculares para la evidencia acumulada de que el queratoquiste es una lesión agresiva, y que debe ser considerada como una neoplasia, muchos artículos fueron publicados en la década pasada sobre la expresión de p53, antígeno nuclear de proliferación celular (ANPC), Ki-67, y en menor medida de regiones de organización nucleolar, tanto en queratoquistes esporádicos como en los asociados al Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide. Estos marcadores tienen en común su expresión en células en proliferación activa, particularmente neoplásicas.

La primera investigación para demostrar el incremento de expresión de la proteína p53 en algunos queratoquistes fue de Ogden et al.. La proteína p53 es producto de la mutación del gen de supresión tumoral p53. Esta proteína tiene una vida media corta en células normales y no puede ser detectada por técnica inmunohistoquímica, pero cuando sucede la mutación, la proteína producto del p53 es más estable y puede ser detectada con esta técnica. Muchos estudios han demostrado la proteína p53 en una amplia variedad de lesiones malignas, pero no en células normales.

La primera investigación en este campo fue hecha sobre una serie de 12 queratoquistes, 12 quistes dentígeros y 12 quistes radiculares, usando preparados fijados y procesados con técnica de rutina. Los queratoquistes fueron los únicos, entre los tres tipos de quistes, en los cuales se detectó p53, mostrando reacción positiva 5 de los 12 casos. Todos los queratoquistes fueron positivos para ANPC (Ogden et al., 1992; citados en Shear, 2003b).

El antígeno nuclear de proliferación celular es ampliamente considerado como marcador de multiplicación celular y está asociado con procesos de reparación de ADN y estimulación por factores de crecimiento. La tinción positiva del ANPC indica que las células positivas para p53 estaban en división activa, ya que regiones similares fueron positivas para ambos antígenos. Las células que resultaron positivas para p53 fueron en su mayoría células basales, mientras que la tinción para ANPC fue positiva en todas las células basales y la mayoría de las células parabasales. Dos queratoquistes de un paciente con Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide fueron examinados en diferentes tiempos, el primero fue positivo para p53 y el segundo, 3 años más tarde, fue negativo. Lo mismo sucedió en un segundo paciente en que se examinaron dos quistes siendo uno de ellos positivo para p53 y el otro negativo.

Los autores fueron cautelosos en la interpretación de sus resultados enfatizando que el anticuerpo que ellos usaron, CMI, reconocía tanto la forma natural como la mutante de p53, y no debería concluirse que la positividad en algunos de los casos indicara neoplasia. Ellos también señalaron que la tinción positiva en queratoquistes fue más débil que la observada en cáncer oral. Los autores pensaron que las siguientes características: la tendencia a la recurrencia, la asociación con el Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide, la frecuente multiplicidad, el alto índice mitótico reportado por algunos autores, y la reacción positiva para ANPC en todos los queratoquistes de su muestra puede indicar alguna significancia en el hallazgo de que sólo los queratoquistes, y no otros quistes mandibulares, mostraron reacción positiva para p53.

En otra investigación sobre la actividad de ANPC en secciones con fijación de rutina e incluidas en parafina de, queratoquistes, quistes dentígeros y quistes radiculares, el recubrimiento epitelial de queratoquistes contenía el mayor número de células positivas para ANPC, de las cuales la mayoría estaba en la capa suprabasal y menos del 5% en la capa basal (Li et al., 1994). La cuenta total de células ANPC positivas fue significativamente mayor ($P < 0,005$) que la de quistes dentígeros y radiculares, probablemente debido al mayor número de células suprabasales positivas en queratoquistes, aunque no hubo diferencia significativa en la cuenta de células basales positivas. Los autores creen que estos resultados fueron consistentes con estudios anteriores, los cuales indicaban mayor actividad proliferativa en la membrana de queratoquistes, en acuerdo con su comportamiento clínico más agresivo.

Fue de interés la distribución predominante de células ANPC positivas en la capa suprabasal, en contraste con una baja reacción positiva de células basales, en la membrana de queratoquistes. Los autores concluyeron que la ubicación predominante de células ANPC positivas en la capa suprabasal, junto con otros estudios que han mostrado incremento de la expresión del receptor de factor de crecimiento epitelial (Li et al., 1993) y p53 (Li et al., 1996) en el epitelio de queratoquistes sugiere que ocurre un proceso único de proliferación y diferenciación en la membrana de estos quistes.

Desarrollando esta línea de investigación, Li et al. (1995), llevaron a cabo un estudio inmunohistoquímico de Ki-67 en queratoquistes esporádicos, recurrentes y asociados al Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide, usando la misma metodología que en el estudio

de ANPC. El antígeno Ki-67 está presente en todos los estadios activos del ciclo celular, y se ha observado que su inmunorreactividad tiene estrecha correlación con otras variables de proliferación celular. Su principal limitación en evaluar la proliferación celular *in situ* ha sido la necesidad de tejido congelado fresco, pero esta limitación ha sido superada mediante el uso de procedimiento con microondas (recuperación de antígeno). En una revisión reciente de la proteína Ki-67, los investigadores señalaron que a pesar de la considerable información disponible sobre su estructura, localización, y regulación, poco se sabe sobre su función. Estudios han mostrado la capacidad de la expresión de la proteína Ki-67 como factor pronóstico en muchas neoplasias malignas, particularmente aquellas de mama. Los investigadores también han sugerido que podría tener un rol predictivo en algunos cánceres tales como los de próstata en el que el tumor de un paciente individual puede ser tratado de manera específica basado en el grado de expresión de Ki-67.

En el estudio, el patrón de tinción de las secciones de parafina de queratoquistes esporádicos tratadas con microondas, fue similar a aquellas secciones frescas congeladas. La tinción positiva estaba esencialmente confinada al núcleo celular, particularmente el nucléolo, aunque también estuvo presente la tinción citoplasmática de las células basales.

Hubo correlación significativa entre los niveles de Ki-67 y ANPC ($r=0,92$; $P<0,001$) en las tres variedades de quistes. El epitelio de queratoquistes contenía el mayor número de células Ki-67 positivas de los tres, la mayoría de las cuales estaba en la capa suprabasal ($P<0,006$). Sin embargo el número de células basales positivas en queratoquistes fue significativamente menor que en los otros dos tipos de quistes ($P<0,003$).

No hubo diferencia significativa en la cuenta de Ki-67 entre queratoquistes esporádicos y recurrentes ($P<0,30$), pero el número de células Ki-67 en queratoquistes asociados al Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide fue significativamente mayor que en los otros grupos ($P<0,003$). Más del 90% de las células Ki-67 en todos los grupos de queratoquistes fueron detectadas en la capa suprabasal. Sólo cuatro de los nueve preparados relacionados al síndrome presentaban quistes satélites o agrupaciones sólidas de células epiteliales en la pared quística. Generalmente estos especímenes contenían menos células Ki-67 positivas, la tinción era más débil, y se encontraban principalmente en las células basales (Li et al. 1995).

Analizando la significación de estos hallazgos, los autores postularon que no era posible atribuir inequívocamente diferencias en la expresión de ANPC para identificar células en proliferación. Aunque se ha mostrado en muchos estudios que la expresión de ANPC se correlaciona con la fase S del ciclo celular, no está necesariamente vinculada al ciclo celular, porque esta expresión de ANPC también está relacionada a procesos de reparación de ADN y podría expresarse en células que no están sintetizando ADN. Ellos consideraron al antígeno Ki-67 como un marcador más específico de células en proliferación, con expresión máxima durante la fase S. En su estudio, el mayor nivel de proliferación celular en queratoquistes, demostrado por la reactividad de Ki-67, comparado con otros quistes odontogénicos, avalan los hallazgos de otros investigadores que han llegado a la misma conclusión. Ellos sugirieron que el estudio actual confirma la predominante distribución suprabasal de células en proliferación (Li et al. 1995).

Considerando el alto índice de recurrencia de los queratoquistes y el hallazgo de que no hubo diferencia significativa en la proliferación celular entre queratoquistes esporádicos y recurrentes, indicado por la reactividad de Ki-67, los autores sugirieron que la extirpación incompleta sería la responsable de esta característica (el alto índice de recurrencia), más que el potencial intrínseco de crecimiento. Por otra parte, la observación de que los

recuentos de células Ki-67 positivas en la membrana epitelial de queratoquistes asociados al Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide, fue casi dos veces en comparación con queratoquistes esporádicos, indicó un mayor nivel de actividad proliferativa en los primeros. Esto fue reflejado en la multiplicidad de quistes y mayor número de quistes satélites e islas epiteliales en los pacientes con el síndrome, sugiriendo que habría un factor genético, posiblemente relacionado a funciones defectuosas de supresión tumoral, que causaría la mayor actividad proliferativa de su membrana epitelial (Li et al. 1995).

El Mutardi et al. (1996) se refirieron sobre ser cautos en la interpretación de los niveles de actividad del ANPC en queratoquistes. En este artículo la atención fue dirigida a la posibilidad de su detección en otras circunstancias distintas a la síntesis de ADN, tales como procesos de reparación y la influencia de los factores de crecimiento epitelial y derivado de plaquetas. El estudio demostró tinción nuclear de ANPC en todos los casos de una muestra de 41 queratoquistes, predominantemente en la capa suprabasal y ocasionalmente en las células basales y más superficiales. El recuento en los quistes asociados al Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide (SCBN) fue mayor que en el grupo de esporádicos ($P < 0,05$), y el recuento de ANPC en los casos recurrentes fue menor que en el "de novo sample", aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa ($P = 0,18$).

Otra investigación sobre la expresión de ANPC en una serie de 12 queratoquistes, 8 quistes dentígeros, 12 quistes radiculares, y 22 ameloblastomas, mostró que de los quistes, el queratoquiste contenía el mayor número de células ANPC positivas ($P < 0,0001$), la mayoría de las cuales estaba localizada en la capa suprabasal, aunque algunas células basales fueron positivas. La mayoría de las células positivas en los quistes dentígeros y radiculares estuvieron localizadas en la capa basal. Todas las variedades de ameloblastoma mostraron un recuento de ANPC significativamente mayor que los queratoquistes ($P < 0,00001$). (Piatelli et al., 1998; citados en Shear, 2003b)

La pregunta de que sí la inflamación en el queratoquiste podría influir en el comportamiento y tratamiento de éste, llevó a un estudio inmunohistoquímico sobre la expresión de las proteínas ANPC, Ki-67 y la expresión inmunohistoquímica de regiones de organización nucleolar (AgRON), en diez queratoquistes sin inflamación y diez con inflamación (de Paula et al., 2000). Utilizando la misma metodología que otros investigadores en este campo, los autores hallaron que el número total de células y el recuento de células ANPC positivas y Ki-67 positivas fue significativamente mayor en los queratoquistes con inflamación que en los sin inflamación ($P = 0,01$). El número promedio del recuento de células ANPC positivas y Ki-67 positivas fue significativamente mayor en la capa suprabasal que en la basal de queratoquistes con y sin inflamación ($P = 0,01$). Los queratoquistes con inflamación mostraron números de células ANPC positivas y Ki-67 positivas significativamente mayor en la capa basal y suprabasal que los queratoquistes sin inflamación ($P = 0,01$), y un mayor porcentaje de células ANPC positivas y Ki-67 positivas en la capa basal pero no en la suprabasal ($P = 0,01$). El número promedio de AgRON por núcleo fue significativamente mayor en los queratoquistes con inflamación ($P = 0,01$) (de Paula et al., 2000).

La hiperplasia epitelial en respuesta a un estímulo inflamatorio es un fenómeno bien conocido, que es visto particularmente en quistes radiculares que son de origen inflamatorio. Los quistes odontogénicos del desarrollo también presentan este cambio ante la presencia del estímulo inflamatorio que resulta de la infección o trauma. Sin embargo la hiperplasia epitelial es reversible, mientras que hay considerable evidencia de que la proliferación epitelial en el queratoquiste, distinta a la producida por la inflamación, no lo

es. Presumiblemente, los niveles positivos aumentados de ANPC y Ki-67 en el queratoquiste podrían revertirse siempre y cuando el estímulo inflamatorio desapareciera.

Un estudio inmunohistoquímico combinado de proteína p53 y Ki-67 en queratoquistes, quistes dentígeros y radicales, ameloblastoma y carcinoma odontogénico, también mostró que los queratoquistes presentaban mayor número de células Ki-67 positivas y con una distribución más uniforme que los quistes dentígeros y radicales. En el queratoquiste, las células positivas se hallaron principalmente en la capa inmediatamente superficial al estrato basal, y las células basales positivas fueron observadas raramente (Slootweg, 1995). En los otros dos tipos de quiste (radicular y dentígero) las células Ki-67 positivas estaban principalmente en la capa basal, excepto en áreas de inflamación, dónde la tinción positiva fue en todas las capas.

La tinción nuclear para p53 se detectó en 42 de los 45 casos examinados. La mayoría de los casos presentó tinción leve o intensa. Núcleos teñidos de manera intensa, fueron hallados más comúnmente en queratoquistes (11/13), ameloblastomas (6/9), y carcinoma odontogénico (2/2). El epitelio de quistes dentígeros y radicales fue fundamentalmente negativo o contenía sólo células débilmente teñidas. Hubo una relación distintiva entre la intensidad de la tinción y la lesión que clínicamente estaba caracterizada por proliferación: ameloblastoma, carcinoma odontogénico y queratoquiste. Los investigadores postularon que era la sobre expresión de proteína p53 (intensidad de la tinción), más que el mayor número de células p53 positivas, lo que estaba relacionado a la mayor capacidad proliferativa del queratoquiste (Slootweg, 1995).

Otro estudio inmunohistoquímico comparó la expresión de proteína p53 en queratoquistes únicos no recurrentes con queratoquistes recurrentes y aquellos en pacientes con SCBN. Quince de treinta casos que comprendían el total de la muestra de queratoquistes, fueron positivos, de los cuales 8 de 15 eran no recurrentes, 4 de 10 eran recurrentes, y 3 de 5 eran de casos asociados al síndrome. Estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. La intensidad de la tinción fue variable y débil comparada con el control de casos de displasia epitelial o carcinoma de células escamosas. Las células teñidas eran principalmente solitarias y distribuidas de manera irregular, sólo ocasionalmente se observaban en grupos, y estaban localizadas en la capa basal y suprabasal, no sólo en la membrana del quiste primario sino también en los quistes satélites y restos epiteliales de la pared quística. No hubo relación significativa entre la expresión de proteína p53 y la presencia de proliferaciones de células basales, quistes satélites o islas de epitelio odontogénico en la pared fibrosa de los quistes (Lombardi et al., 1995; citados en Shear, 2003b).

La frecuencia de células p53 positivas en este estudio, fue similar a la del estudio de Ogden (1992), pero el patrón e intensidad de la tinción fueron diferentes, dado que la mayoría de las células basales de los queratoquistes fueron positivas en este último, mientras que en el estudio en discusión la tinción fue dispersa. El estudio de Slootweg presentaba un promedio mucho mayor de células positivas. Los estudios de Ogden (1992) y Lombardi (1995) usaron el anticuerpo CM-1, mientras que Slootweg (1995) usó el BP53-12-1. Ambos anticuerpos están dirigidos contra el tipo natural y mutante de proteína p53.

Los autores del artículo en discusión (Lombardi et al. 1995) argumentaron que, aunque el comportamiento clínico relativamente agresivo y localmente invasivo del queratoquiste podría ser consistente con el de neoplasias benignas y podría explicar la presencia de proteína p53 mutante, u otro tipo inactivo de ésta, otros factores podrían ser quirúrgicos. El hecho de que p53 fue demostrada inmunohistoquímicamente en varias lesiones reactivas, y

el tipo natural de p53 en algunos procesos fisiológicos, indica que podrían estar involucrados otros mecanismos de estabilización, distintos a la mutación genética.

Un estudio similar conducido sobre la expresión de proteína p53 en 11 queratoquistes esporádicos, 5 recurrentes y 6 asociados al síndrome, usó tres anticuerpos para p53, clon BP53-12, clon 1801 y CM policlonal. También se estudiaron cinco quistes dentígeros y 5 quistes radiculares (Li et al., 1996). El objetivo de esta investigación era determinar si había alguna relación entre la reactividad de p53 y la proliferación de células epiteliales, como lo observado por la expresión de Ki-67 en un estudio previo (Li et al., 1995). Los autores también deseaban determinar la presencia de mutación genética de p53 en dos especímenes inmunopositivos, usando secciones frescas, congeladas de un caso esporádico y otro asociado al síndrome. Su metodología y evaluación de los preparados para la primera parte del estudio, fue la misma que la utilizada para la investigación previa sobre ANPC y Ki-67 (Li et al., 1994; 1995).

De los tres anticuerpos evaluados, BP53-12 dio la tinción nuclear más intensa y consistente. Usando este anticuerpo fueron detectadas células epiteliales p53 positivas en los tres quistes odontogénicos, aunque la intensidad de la tinción, número de células positivas y su distribución variaba entre los distintos tipos de quistes. Subjetivamente, el queratoquiste contenía invariablemente el mayor número y tinción más intensa de células positivas, pero aún en los queratoquistes, la tinción era variable y débil comparada con carcinoma de células escamosas. Cuantitativamente el recuento fue significativamente mayor en la membrana de queratoquistes esporádicos, comparado con los quistes dentígeros y radiculares ($P < 0,01$). La distribución de células positivas en el queratoquiste fue predominantemente suprabasal, mientras que los quistes dentígeros y radiculares mostraban una distribución en células basales significativamente mayor ($P < 0,005$ para ambos). Excluyendo los casos de SCBN, hubo una correlación significativa entre los grupos de p53 y Ki-67 ($P < 0,01$) (Li et al., 1996).

El análisis para los exones 5 a 10 del gen p53 no mostró anomalía en el patrón de bandas. El análisis de secuencia de ADN de los dos especímenes frescos congelados no revelaron mutaciones entre los exones 5 a 9, lo cual cubrió la zona ("hot spots") de mutación de p53 en varios tumores humanos, incluyendo el carcinoma oral de células escamosas. Ellos concluyeron que la sobre expresión inmunohistoquímica de p53 por queratoquistes comparada con la de otros quistes odontogénicos, no fue el resultado de mutación genética de p53. Los autores creen que la sobreproducción o estabilización del producto normal de p53 parece estar relacionada a la proliferación celular. La excepción, señalaron, sería en los queratoquistes asociados al síndrome, en los cuales la actividad proliferativa incrementada, probablemente sería el resultado de factores asociados con el gen del SCBN ubicado en el cromosoma 9q22.3-q31 (Li et al., 1996).

Expresión de las oncoproteínas bcl-2 y bcl-1 (ciclina D1).

Se llevó a cabo un estudio diferente para determinar si el comportamiento agresivo de los queratoquistes asociados al SCBN muestra diferencias en el grado de proliferación celular, expresión de oncoproteínas y genes de supresión tumoral, cuando es comparado con la variedad esporádica. Para abordar el tema se examinó la expresión de las oncoproteínas bcl-2 y bcl-1 (ciclina D1) (Lo Muzio et al., 1999). Los autores también discutieron el trabajo que se había hecho sobre el gen PTCH.

El gen bcl-2, localizado en el cromosoma 18q21, se caracteriza por su habilidad de detener la apoptosis (muerte celular programada), sin promover la proliferación celular. La

proteína bcl-2 se expresa fisiológicamente en el estrato basal del epitelio de la rinofaringe y piel. Se ha reportado la sobre expresión de esta proteína bcl-2 en muchas neoplasias humanas de bajo grado, y esta inhibición de la apoptosis ha sido considerada como una de las vías más comunes de la tumorigénesis. Otros estudios han mostrado que la ciclina D1 (bcl-1), localizada en el cromosoma 11q13 y expresada en la fase G1 del ciclo celular, estaba amplificada, reclutada (reciclada) o sobre expresada en una amplia variedad de tumores, incluyendo los de cabeza y cuello (Lo Muzio et al., 1999).

A diferencia de otros grupos, los cuales todos encontraron algún grado de tinción positiva en quistes esporádicos, los investigadores encontraron que la expresión de proteína p53 estaba asociada significativamente con los queratoquistes relacionados al síndrome y nunca en queratoquistes esporádicos ($P < 0,05$). Los resultados no fueron uniformes en el grupo relacionado al síndrome, 15 de 16 casos fueron positivos pero en grado variado. Ellos concluyeron que la sobre expresión de p53 en su muestra de queratoquistes asociados al síndrome, cuando se consideraba en asociación con la mayor actividad de ANPC en este grupo, indicaba un respaldo válido para la existencia de un fenotipo más agresivo del queratoquiste relacionado al síndrome. No hubo diferencia significativa en la actividad de la proteína bcl-2 entre queratoquistes esporádicos y sindrómicos. ($P > 0,05$). Las células epiteliales teñidas siempre se localizaron basalmente (Lo Muzio et al., 1999).

Todos los queratoquistes mostraron algún grado de células ANPC positivas, pero la mayor parte de los queratoquistes relacionados al síndrome exhibieron mayores niveles de tinción que la muestra de esporádicos, involucrando frecuentemente el espesor total del epitelio. Este hallazgo avala la visión de que el comportamiento más agresivo del queratoquiste relacionado al síndrome puede ser el resultado del mayor grado de proliferación celular del epitelio de la membrana. Ellos encontraron grados variados de sobre expresión de ciclina D1 (bcl-1) en el grupo sindrómico, mientras que todos los queratoquistes esporádicos fueron negativos ($P < 0,05$). La técnica inmunocitoquímica detecta sólo células que sobre expresan ciclina D1, y no células en proliferación normal. La tinción positiva de bcl-1 en todos los queratoquistes asociados al síndrome sugiere que la expresión de este oncogén ha sido alterada en un paso de progresión neoplásica que precede a aquel del gen p53. Lo Muzio et al. (1999) creen que el resultado negativo de bcl-1 en todos los queratoquistes esporádicos de su muestra constituye evidencia de que el queratoquiste asociado al síndrome exhibe un fenotipo celular más agresivo, consistente con una lesión progresiva neoplásica.

En otro artículo también referido a factores relacionados al ciclo celular y la apoptosis Kimi et al. (2001) concluyeron que sus resultados sugerían que los queratoquistes asociados al SCBN podría ser una entidad distinguible del tumor odontogénico queratoquístico esporádico. Agregaron que no hubo diferencia entre queratoquiste primario y recurrente.

El gen del Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide y el queratoquiste.

Investigadores mostraron que el gen del SCBN mapeado en el cromosoma 9q22, probablemente funciona como supresor tumoral, dada la delección de esta región en muchas neoplasias relacionadas al síndrome. Siguiendo esta línea, un análisis de seis queratoquistes de cuatro pacientes con SCBN y 14 queratoquistes esporádicos para siete polimorfismos que incluían el cromosoma 9, proveyó la primera evidencia molecular de un mecanismo de dos etapas en la patogénesis de estos quistes (Levanat et al., 1996; citados en Lo Muzio et al., 1999). Cinco de los seis queratoquistes relacionados al síndrome, y 4 de los 14 queratoquistes esporádicos mostraron pérdida del alelo en dos o más locus de 9q22. Esto

significó que las membranas quísticas habían perdido la copia normal de la región del SCBN, aunque conservaban una copia mutante. Tres ejemplares que mostraron pérdida del alelo fueron de dos hermanos. En conjunción con el análisis de su madre afectada, se encontró que cada quiste conservaba el alelo mutante y pérdida del alelo del padre no afectado. Dos queratoquistes de un paciente con el síndrome, que aparecieron en lados opuestos de la mandíbula tenían el mismo patrón de pérdida del alelo, lo cual llevó a los autores a sugerir que esta mutación genética ocurría en un estadio temprano de la embriogénesis y creaba un gran campo de células con pérdida de la heterocigocidad (LOH). Debido a que todos los tejidos orales adyacentes (tejido conectivo, hueso, mucosa suprayacente) estudiados en el mismo momento conservaban la heterocigocidad, los autores estaban seguros de que había una clara relación entre el cambio molecular observado y el defecto de desarrollo (Levanat et al., 1996; citados en Lo Muzio et al., 1999).

La diferencia en la frecuencia de pérdida del alelo entre queratoquistes “hereditarios” (asociados al síndrome) y los casos esporádicos fue estadísticamente significativa ($P < 0,05$; test exacto de dos colas de Fisher). Considerando la significativa menor frecuencia de pérdida de heterocigocidad hallada en los queratoquistes esporádicos, los autores sugirieron que los quistes que no mostraban esta alteración tal vez han experimentado mutaciones puntuales de ambas copias del gen del síndrome, pero esto sucedería por un mecanismo diferente. Estudios familiares mostraron que el homólogo normal del gen del síndrome se había perdido y que el homólogo mutante se había conservado en el quiste. Los autores concluyeron que sus resultados proveían un fuerte apoyo a la idea de que la inactivación del gen del SCBN era un paso importante en la patogénesis del queratoquiste. (Levanat et al., 1996; citados en Shear 2003b).

Hubo más soporte a la idea de que el queratoquiste asociado al síndrome podría ser explicado por un mecanismo de dos etapas. Los investigadores sugirieron que podría haber una inactivación del gen homocigota del PTCH en una célula progenitora de la lámina dental, llevando a una migración anormal, diferenciación anormal, o falla para experimentar la muerte celular programada. Los autores postularon que la inactivación del gen PTCH en queratoquistes asociados al síndrome y la sobre expresión de bcl-1 no eran hallazgos incidentales sino causales en su patogénesis. La inactivación del gen PCTH podría llevar a la pérdida de control de la actividad proliferativa en la membrana de queratoquistes esporádicos y actuar sinérgicamente con la sobre expresión de ciclina D1 encontrada en queratoquistes del síndrome. Esta sobre expresión en el SCBN, junto con el comportamiento clínico más agresivo y sobre expresión de bcl-1 y p53, avalan la idea de que el queratoquiste, al menos el relacionado al SCNB debería ser considerado como una neoplasia quística benigna. Los investigadores creen que la ciclina D1 y el gen de supresión tumoral p53, podrían ser dos, entre los factores genéticos y ambientales implicados en el amplio espectro y grados de manifestaciones clínicas en pacientes con SCBN. (Lo Muzio et al. 1999).

Evidencia de un factor genético en la etiología del tumor odontogénico queratoquístico esporádico.

En 1996, el mismo año en que fue publicado el artículo de Levanta et al., Lench et al. argumentaron que debido a que el gen del SCBN fue mapeado en el cromosoma 9q22.3-q31 y dado que la pérdida de heterocigocidad para estos marcadores de ADN había sido demostrada en carcinomas esporádicos de células basales, el gen del SCBN también podría

ser un factor en queratoquistes esporádicos. En lo que describieron como un estudio piloto, ellos encontraron que del ADN aislado a partir del epitelio de seis queratoquistes esporádicos, tres mostraron LOH para una serie de marcadores polimórficos del cromosoma 9q22.3-q31 (Lench et al., 1996; citados en Shear, 2003b).

La región más pequeña de superposición definida por la observación de puntos de ruptura de la delexión, contenía la región que había sido definida en estudios de LOH en carcinomas de células basales y el locus del SCBN. Esta pérdida del alelo proveyó evidencia para involucrar un gen de supresión tumoral en una región cromosómica particular. Los autores creyeron que sus resultados fortalecían la hipótesis de que el producto del gen del SCBN funcionaba como un supresor tumoral y pensaban que era posible que el queratoquiste representara una de las primeras manifestaciones clínicas de inactivación homocigota del gen SCBN. Debido a la pérdida de heterocigocidad en esta región del cromosoma 9q en un grupo de neoplasias epiteliales, incluyendo carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, y carcinoma de células transicionales, ellos pensaron que sus resultados fortalecían la hipótesis de que el queratoquiste debía ser considerado como una neoplasia benigna (Lench et al., 1996; citados en Shear, 2003b).

Basados en la teoría de inactivación homocigota del gen de supresión tumoral de Knudson (1971; citado en Shear, 2003b) los autores sugirieron que donde hay múltiples queratoquistes presentes en el paciente con SCBN, ya está presente una mutación predisponente en la línea germinal y sólo se requiere un evento mutacional en la célula somática para la inactivación homocigota y la progresión neoplásica, mientras que en queratoquistes esporádicos se requiere de dos eventos mutacionales independientes en la célula somática (Lench et al., 1996; citados en Shear, 2003b).

Siguiendo esta línea de investigación, ADN de queratoquistes de 16 pacientes con SCBN fue evaluado y analizado. Fueron detectadas cuatro mutaciones de los 10 después del secuenciado directo de ADN por reacción de polimerización en cadena de exones amplificados. Más análisis detectó una mutación adicional. Ellos no fueron capaces de detectar LOH, o la presencia de una segunda mutación inactivadora en el tejido de queratoquiste examinado. Sin embargo ellos pensaron que estas mutaciones existían y que una limitación en el procedimiento de evaluación de mutaciones o la presencia de células estromales contaminantes era responsable de enmascarar los productos mutantes. Las células contaminantes podrían haber causado amplificación selectiva del alelo normal del gen PTCH del ADN aislado de tejido de queratoquistes (Lench et al., 1996; citados en Shear, 2003b).

Ellos consideraron que estas cinco mutaciones de líneas germinales de pacientes con SCBN, estaban de acuerdo con el rol del PTCH como un gen supresor tumoral. Especularon sobre la similitud que comparte PTCH con la proteína APC, la cual presenta mutación en la poliposis colónica familiar y adenomas esporádicos. Ambas son proteínas citoplasmáticas involucradas en complejas cascadas de señales que podrían funcionar como “genes compuertas” donde la inactivación de un gen compuerta es requerida para pasar “el portal” genético hacia el proceso neoplásico en un tejido. Ellos sugirieron que mutaciones en PTCH y APC podrían llevar a una adhesión célula-célula anormal lo cual resultaría en pérdida de señales entre células vecinas y la formación de células proliferativas anormales que son blancos para más “golpes”(alteraciones, mutaciones)genéticos (Lench et al., 1996; citados en Shear, 2003b).

En un estudio de tres queratoquistes esporádicos y tres asociados al síndrome, fue reportada más información sobre mutaciones del gen PTCH (Barreto et al., 2000). Las

mutaciones fueron encontradas en tres queratoquistes, de los cuales dos eran relacionados al síndrome y una en queratoquiste esporádico. En el queratoquiste esporádico, esta mutación estaba ausente en el ADN de sangre periférica del paciente. Los autores fueron incapaces de demostrar una segunda mutación inactivante en alguno de los queratoquistes relacionados al síndrome, y especularon que la mutación debía existir pero había sido enmascarada por procedimientos técnicos.

Barreto et al. (2000) también tomaron la hipótesis de las “dos mutaciones” (two hits), para avalar la idea de que los carcinomas de células basales relacionados al síndrome y los queratoquistes probablemente provienen de células precursoras que contienen una primer mutación hereditaria y la pérdida del alelo representa la pérdida del alelo normal. Pensaron que los carcinomas esporádicos de células basales y los queratoquistes podrían surgir de células susceptibles en las cuales han ocurrido dos mutaciones somáticas, de los cuales uno se manifiesta como la pérdida del alelo. También especularon que el PTCH podría funcionar como un gen compuerta. En los términos de este modelo, las células del queratoquiste, después de perder la función del PTCH se convierten en blanco de otras alteraciones genéticas. Concluyeron que su estudio proveía más evidencia sobre el rol del PTCH en la formación de queratoquistes esporádicos y relacionados al síndrome. Señalaron que debido a que la pérdida de un gen supresor tumoral es por definición una característica de células tumorales, esto fortalecía la hipótesis de que el queratoquiste debería ser considerado como una neoplasia quística benigna. (Barreto et al., 2000).

Otra contribución para resolver los mecanismos genéticos involucrados en la patogénesis del queratoquiste, particularmente los esporádicos, fue reportada en una presentación de póster en la reunión de la Asociación Internacional de Patólogos Orales en el año 2000 (Nawshad et al., 2000). Este grupo estudió 25 especímenes, de los cuales 19 fueron fijados con formol y procesados con técnica de rutina y 8 fueron preparados frescos congelados. Había 21 casos esporádicos y 4 casos asociados al síndrome. Fue extraído ADN de las membranas epiteliales, se aplicó cinco marcadores polimórficos de ADN que “mapearon” el cromosoma 9q22.3-q31 y fueron examinados para LOH (loss of heterozygosity, pérdida de heterocigocidad). Quince queratoquistes esporádicos y todos los queratoquistes relacionados al síndrome fueron positivos para la mayoría de los marcadores. Ocho casos mostraron expresión positiva de PTCH, mayormente en la capa suprabasal, con una distribución irregular o pequeños grupos de células. Cinco casos fueron positivos para el oncogén sonic hedgehog (Shh), en el tercio superficial del epitelio. Las células PTCH no coexpresaban el Shh pero estaban cercanas, a veces en células adyacentes. La correlación positiva entre ambos fue fuerte ($P=0,0002$). Dos de los queratoquistes esporádicos y los cuatro asociados al síndrome exhibieron LOH significativa (Nawshad et al., 2000).

Nawshad et al. (2000) sugirieron que la expresión del supresor tumoral PTCH y el oncogén Shh puede causar la pérdida de función de PTCH y por lo tanto llevar al desarrollo del queratoquiste. Pensaron que sus resultados avalaban la idea de que el queratoquiste debe ser considerado como una neoplasia quística benigna y que los queratoquistes esporádicos y relacionados al síndrome podrían seguir diferentes vías en su patogénesis.

Manejo quirúrgico del tumor odontogénico queratoquístico.

Opciones quirúrgicas convencionales.

Dado el nuevo entendimiento del comportamiento biológico del tumor odontogénico queratoquístico, y las razones hipotéticas de las recidivas, ha cambiado y evolucionado el tratamiento. Los “métodos conservadores” de tratamiento, tales como enucleación y marsupialización, han producido menos que óptimos resultados. Esto no descarta el uso de la marsupialización como un coadyuvante de las opciones quirúrgicas más convencionales. Varias modalidades quirúrgicas han evolucionado en un intento de disminuir el grado de recurrencia, incluyendo curetaje, ostectomía periférica, excisión de la mucosa suprayacente en caso de perforación de la cortical, y resección ósea en la forma de ostectomía marginal o segmental. Las características del paciente son determinantes importantes, incluyendo la salud general, posibilidad de seguimiento, y si el paciente padece el Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide. Las características importantes de la lesión incluyen si el quiste es solitario, múltiple o recurrente, unilocular o multilocular, la apariencia de los bordes radiográficos y la localización.

La terminología aplicada al manejo quirúrgico de las lesiones intraóseas es variable y no está estandarizado. En vista de la variabilidad, es útil una revisión de la terminología en relación con las opciones quirúrgicas convencionales para el manejo del queratoquiste. Las opciones convencionales incluyen: enucleación y curetaje, enucleación y ostectomía periférica y resección ósea sin continuidad del defecto (resección marginal) o, con continuidad del defecto (resección segmental).

La enucleación hace referencia a la separación de la lesión en virtud del contenido de la lesión, junto con el tejido conectivo que la encapsula y circunscribe, es decir, la cápsula, derivada de la lesión o del hueso periférico. En la enucleación no se remueve hueso, sólo el necesario para el acceso quirúrgico. El curetaje se refiere a la remoción, por raspado, de la lesión y un espesor inmensurable del hueso que la rodea. Típicamente, el curetaje es llevado a cabo mediante el uso de instrumentos manuales como curetas o cucharillas para hueso. La ostectomía periférica es la remoción, mediante instrumental rotatorio, de un espesor variable de hueso, junto con la lesión. El curetaje difiere de la ostectomía periférica sólo en el hecho de que la primera usa instrumental manual y la segunda instrumental rotatorio. La resección ósea puede resultar en una continuidad del defecto, resección segmental, o no, resección marginal. Ambas remueven una porción mensurable del hueso que rodea la lesión.

Enucleación y curetaje.

La enucleación simple del quiste (sin curetaje) no es considerada como un método apropiado de tratamiento para el tumor odontogénico queratoquístico. Los porcentajes de recurrencia son mayores con este método de tratamiento y van desde 9% hasta 65%. Varios estudios han mostrado que la enucleación simple del quiste, en una sola pieza, puede reducir el porcentaje de recurrencia. Por otro lado, dada la delgada y friable membrana del queratoquiste y el dificultoso acceso a éste, especialmente en la zona del ángulo de la rama mandibular, la excisión en una sola pieza puede ser una maniobra difícil. La recomendación es realizar por lo menos un curetaje después de la remoción del quiste.

Enucleación y ostectomía periférica.

La ostectomía periférica es usada fundamentalmente como un coadyuvante cuando puede ser evitada la resección. Casi todas las teorías de recidiva involucran la posibilidad de dejar fragmentos de membrana quística o de la cápsula en la cavidad ósea (Brannon, 1977). A medida que aumenta el tamaño, el borde puede volverse irregular o arciforme, o puede verse comprometido el acceso quirúrgico, existiendo un mayor riesgo de no extirpar completamente el queratoquiste. La ostectomía periférica con instrumental rotatorio permite al cirujano remover tanto hueso como sea necesario para asegurarse de que se ha eliminado toda posible membrana residual. Uno de los problemas inherentes a la ostectomía y el curetaje, es la imposibilidad de medir la cantidad de hueso eliminada (la profundidad de la ostectomía).

Resección ósea.

Tal vez la forma más extensa de tratamiento indicada para el manejo de casos seleccionados de tumores odontogénicos queratoquísticos es la resección ósea, marginal o segmental. Aunque algunos autores consideran este tratamiento demasiado radical para un quiste benigno, la resección en bloque es la única modalidad de tratamiento citada consistentemente en series de casos con cero índice de recidiva. La resección ósea en bloque debe ser considerada como dos abordajes quirúrgicos distintos: resección marginal que preserva la continuidad del hueso, y la resección segmental que viola o interrumpe la continuidad ósea, requiriendo una reconstrucción adicional.

La diferencia primaria entre la resección ósea en bloque y las otras modalidades de manejo del hueso periférico, como ostectomía o curetaje, es la extirpación de la lesión in toto con un margen de hueso alrededor. Se reduce de manera importante cualquier posibilidad de violar o romper la cápsula, o dejar remanentes de quiste. La delgada membrana quística, en conjunción con un acceso pobre y la frecuente forma multilocular o borde arciforme pueden hacer prever al cirujano una remoción incompleta y recidiva. Los investigadores han sugerido que la resección puede ser la única terapia apropiada frente a un queratoquiste recurrente. Williams y Connor (1994) recomiendan la resección para incluir la mayor extensión del queratoquiste primario o recurrente. Es importante mencionar la falta de consenso concerniente al margen de seguridad requerido en la resección primaria para asegurar la excisión de todos los posibles quistes satélites. Algunas publicaciones han sugerido que un mínimo de 5mm de margen óseo es adecuado (Scharfetter et al., 1989).

Cuando es posible, la resección ósea de elección es la marginal. Cuando ésta deja sólo una pequeña porción del borde inferior mandibular, se puede realizar fijación intermaxilar por dos semanas (Bataineh, Al Qudah, 1998).

La resección segmental, la cual viola o interrumpe la continuidad de la mandíbula, es tal vez el tratamiento más extenso. La necesidad de reconstrucciones complejas con subsecuentes injertos óseos, pérdida del nervio alveolar inferior, y la deformidad estética, son algunas de las secuelas potenciales inherentes a la resección segmental. Hay pocas indicaciones absolutas para este tipo de resección: lesiones recurrentes/extensas, afectación del cóndilo, fractura patológica causada por un queratoquiste no tratado, degeneración ameloblastosa o carcinomatosa.

Cuando el queratoquiste involucra el maxilar superior tiene mayor potencial para extenderse y destruir las estructuras circundantes. El hueso menos denso y los límites

anatómicos poco definidos permiten un rápido crecimiento del queratoquiste y una considerable dificultad en el tratamiento por enucleación con medidas coadyuvantes conservadoras.

Descompresión y marsupialización como tratamiento del tumor odontogénico queratoquístico.

La descompresión y marsupialización de los quistes de los maxilares fue sugerida por Partsch en 1892, y en muchas partes del mundo todavía se describen como procedimiento de Partsch I. Éste fue considerado como un tratamiento definitivo para los quistes y esencialmente consistía en la remoción de la mucosa suprayacente y el hueso, seguido por la excisión de la membrana quística superficial. De ser posible se sutura la membrana quística a la mucosa oral y el defecto se empaqueta con gasa para mantener la cavidad abierta. El fundamento de la técnica es que descomprime el quiste y detiene el crecimiento. Es un procedimiento no asociado a infección postoperatoria, aunque con el tiempo se vio que no siempre era exitoso sobre la eliminación del quiste. En la era preantibiótica, a menudo era el tratamiento de elección, debido a que la enucleación del quiste con cierre primario solía fallar con dehiscencia de la herida e infección subsiguiente, esta situación fácilmente avanzaba a osteomielitis y pérdida de hueso.

Con el advenimiento de los antibióticos el manejo de los quistes maxilares cambió. La enucleación y cierre primario, sin injerto, o con injerto óseo inmediato o diferido, se volvió el tratamiento más aceptado, ya que con una cobertura antibiótica adecuada y técnica estéril se obtenía resultados más rápidos y predecibles.

Por definición, la descompresión de un quiste involucra cualquier técnica que libera la presión dentro del quiste, evitando su crecimiento. Se piensa que el crecimiento de los quistes ocurre por una combinación de presión osmótica y resorción ósea por presión junto con la liberación de prostaglandinas y factores de crecimiento. La descompresión por cualquier medio parece cambiar el entorno y disminuye la cantidad liberada de interleukina- α (Ninomlya et al., 2002).

La descompresión puede realizarse haciendo una pequeña apertura en el quiste y manteniéndola abierta con algún tipo de drenaje. Este tratamiento apunta a detener el crecimiento del quiste y producir alguna disminución de su tamaño para alejarlo de estructuras vitales como el nervio alveolar inferior y dientes en la mandíbula o, el seno maxilar y fosas nasales en el maxilar superior. Este tratamiento requiere la subsecuente enucleación, permitiendo realizarla con menos riesgos de complicaciones.

Por otro lado, la marsupialización implica convertir el quiste en una cavidad comunicada ampliamente con la cavidad oral u otra cavidad. Esto significa exponer la membrana quística al ambiente bucal, y un tratamiento más definitivo para la cavidad quística. Los quistes mandibulares son marsupializados hacia la cavidad oral y los quistes maxilares pueden ser marsupializados a la cavidad bucal, el seno maxilar o la cavidad nasal.

Aunque es difícil encontrar resultados de trabajos recientes, hay un acuerdo general en que la marsupialización en pacientes jóvenes resulta en una remodelación completa o casi completa de la cavidad quística, rellenándose con hueso, permitiendo la erupción dental. Sin embargo en pacientes adultos o mayores de edad, los resultados son menos predecibles y los pacientes permanecen durante mucho tiempo con esta cavidad que debe ser lavada regularmente. De todas maneras, el quiste ha detenido su crecimiento y ha dejado de ser una entidad patológica.

Marsupialización.

El tratamiento consiste en excisión de la mucosa suprayacente y la apertura de una ventana de tamaño apropiado (no menor de 1 cm. de diámetro) hacia la cavidad quística, suturando la membrana quística a la mucosa oral donde sea posible. Luego de la cirugía inicial, cuando se determina que ya no es necesaria la permanencia de un drenaje, éste se retira y se empaqueta la cavidad con gasa yodoformada y se deja por 7 a 10 días. En el momento de remover la gasa se instruye al paciente para realizar lavajes de la cavidad 2 veces por día con solución fisiológica.

En la zona posterior de la mandíbula hay una tendencia a que se cierre la cavidad dado que la mucosa bucal tiende a invaginarse hacia la cavidad quística. Las cavidades en esta área se mantienen abiertas por medio de un elemento protésico, que puede ser construido en acrílico o puede usarse un tubo nasotraqueal suturado a la mucosa. El tubo se corta con una longitud de 1,5cm aproximadamente y permanece hasta que la cavidad se reduce de tamaño de tal forma que el tubo toca el fondo de la cavidad. De esta manera, cuando se retira el tubo, la cavidad remanente no tiene más de 1,5cm de profundidad.

Aún no se sabe qué sucede con el epitelio quístico, si éste sufre metaplasia a mucosa oral normal o, si sufre una sustitución gradual por mucosa bucal normal desde los bordes de la lesión.

La marsupialización requiere mucha colaboración por parte del paciente, quien debe realizar lavajes diarios y concurrir a los controles regularmente. Por esta razón sólo un pequeño grupo de pacientes puede ser escogido para realizar este tratamiento.

En contraste, la descompresión simple del queratoquiste implica la colocación de un drenaje en el quiste para permitir su disminución de tamaño antes de la enucleación definitiva por cualquier método elegido. La técnica de descompresión debe realizarse hasta que estructuras importantes (seno maxilar, fosa nasal, nervios, piezas dentarias) puedan preservarse de manera predecible, y hasta que el tamaño del defecto sea tal que no requiera injerto óseo después de la enucleación.

En su estudio, Pogrel (2003) concluye que en un selecto grupo de pacientes, la indicación de tratamiento agresivo del queratoquiste requiere que sea revisada. Los tumores odontogénicos queratoquísticos pueden responder a uno de los tratamientos menos invasivos, la marsupialización o descompresión, lo cual refuerza la paradoja de que aunque pueden ser verdaderas neoplasias quísticas benignas, según la nueva evidencia, estos pueden responder a un tratamiento simple.

Excisión de la mucosa adherida suprayacente en conjunto con la enucleación del quiste y tratamiento del defecto óseo con solución de Carnoy.

Tratamiento técnica.

Stoelinga (2003b) propone la siguiente técnica quirúrgica para el tratamiento del tumor odontogénico queratoquístico. Cuando se sospecha de esta patología, particularmente en la rama ascendente de la mandíbula, debe definirse el área en la cual se espera una fenestración en el borde anterior. Cuando es grande, ésta puede ser palpada, pero en la mayoría de los casos puede ser definida fácilmente utilizando una aguja. Si se realiza una biopsia por aspiración, el área puede ser definida en el momento de la infiltración de la mucosa con anestesia, usando la aguja como prueba. En el sector posterior del maxilar, uno

debe asumir que el tumor odontogénico queratoquístico está adherido a la mucosa en la zona de la tuberosidad, la que usualmente es gruesa.

En la mandíbula, la operación comienza con una incisión alrededor del área dónde se presume la fenestración anterior. Preferiblemente la incisión es algo más ancha que al fenestración ósea esperada. Luego, la incisión se continúa hacia delante siguiendo el margen gingival, cuando están presentes los dientes, o sobre la cresta del reborde alveolar si el paciente es edéntulo. Este abordaje permite una buena exposición de la cortical externa (lateral) de la rama ascendente de la mandíbula, el ángulo mandibular y la porción horizontal. Después se continúa hacia la zona del triángulo retromolar. Esta área también debe ser expuesta, lo cual a menudo requiere la desinserción de fibras del músculo temporal. A continuación se separa el mucoperiostio lingual para asegurar que se mantiene el contacto con el hueso y así evitar el daño al nervio lingual.

Después se aísla la mucosa adherida al queratoquiste. Con un periostótomo pequeño o legra (freer), se explora la fenestración y se agranda la abertura tanto como sea necesario para enuclear el queratoquiste. Este procedimiento debe ser llevado a cabo con mucha atención por posibles adherencias al tejido blando, particularmente en el lado lingual. Éste debe ser disecado, de manera tal de conservar la integridad de la membrana quística. La misma consideración es tenida en cuenta cuando el quiste está adherido al nervio alveolar inferior. El quiste es extirpado junto con la mucosa adherida suprayacente.

Seguido a esto, el defecto óseo se limpia mediante lavajes, y se eliminan posibles restos de membrana quística o quistes satélites si están presentes. Las áreas en donde el queratoquiste estaba adherido al tejido blando son tratadas selectivamente con electrocoagulación. El defecto óseo es tratado con solución de Carnoy, para lo cual se usa pequeñas tómulas de gasa montadas.

El defecto se torna negro debido a la tinción de la sangre, lo cual debe ser lavado o removido con una cureta. La totalidad del defecto óseo es topicado con gasas embebidas en solución de Carnoy para asegurarse de que todas las áreas han sido tratadas. Finalmente el defecto es limpiado, lavado y se empaqueta gasa yodoformada y envaselinada. Los bordes de la incisión pueden ser suturados pero el defecto se deja abierto.

Para los quistes en la zona dentada que son diagnosticados preoperatoriamente como tumor odontogénico queratoquístico, debe realizarse la enucleación cuidadosa y a veces es necesaria la excisión de la encía o mucosa si el queratoquiste está adherido a ésta. El defecto puede ser tratado con solución de Carnoy, pero debe tenerse cuidado de no dañar los dientes vecinos. Estos defectos deberían ser tratados selectivamente con solución de Carnoy.

En el maxilar superior el protocolo es algo diferente. La cirugía comienza con una incisión alrededor de la tuberosidad, seguida de una extensión posterior y otra anterior a lo largo del margen cervical de los dientes o sobre el reborde alveolar. Se levanta el colgajo mucoperiostico, y generalmente se observa una fenestración en vestibular, que guía al cirujano sobre la localización del quiste. Esta fenestración es agrandada tanto como sea necesario para lograr un acceso adecuado que permita la enucleación completa de la lesión junto con la mucosa adherida de la tuberosidad.

En esta etapa es importante remover la pared ósea que aún pueda estar separando el seno maxilar de la cavidad quística. Una vez que la cavidad ha sido lavada y examinada por la posible presencia de quistes satélites o restos de membrana quística, las áreas donde el queratoquiste estaba adherido al tejido blando pueden ser tratadas selectivamente con electrocoagulación. No se realiza la topicación de las paredes óseas bucal y palatina debido

a que puede producir necrosis de éstas. Sólo es tratada selectivamente, con solución de Carnoy, la zona del proceso alveolar y de la tuberosidad.

Para finalizar, se realiza el cierre de la incisión y se empaqueta el seno maxilar con gasa envaselinada a través de una contrapertura en la pared lateral de la fosa nasal. Esta gasa es retirada 5 días después. Como alternativa puede colocarse un drenaje en la contrapertura nasal, el cual puede usarse para realizar lavajes del seno por varios días.

También se ha propuesto usar la solución de Carnoy previo a la enucleación (Voorsmit, 1985; citado en Stoelinga, 2003b). Después de aspirar el contenido quístico o de lavar la cavidad, se inyecta la solución de Carnoy, después de lo cual se realiza la enucleación. La enucleación se hace así algo más fácil ya que aumenta la resistencia de la membrana quística, disminuyendo la posibilidad de desgarro de la misma. Es importante lavar con alcohol 95% inmediatamente después de colocar la solución de Carnoy, si no puede dificultar el diagnóstico adecuado de la lesión por parte del patólogo.

La muestra que es enviada al estudio patológico debe contener el queratoquiste en conjunto con la mucosa adherida. Debe pedirse específicamente el estudio del área entre la superficie de la mucosa y la membrana quística, en busca de grupos de islas epiteliales o quistes satélites.

Seguimiento postoperatorio.

En los controles postquirúrgicos inmediatos, la gasa empaquetada se cambia cada 7 a 10 días hasta que la totalidad de la cavidad es cubierta o rellena de tejido de granulación y, preferiblemente cubierta por epitelio, esto requiere generalmente tres a cuatro cambios de gasa. En general se toman radiografías postoperatorias inmediatas y a los 6 meses para controlar la reparación ósea. Los controles a largo plazo se realizan anualmente durante los primeros 5 años, y cada 2 años de ahí en adelante.

El uso de crioterapia con nitrógeno líquido en el manejo del tumor odontogénico queratoquístico.

El propósito de la criocirugía es matar y destruir células. Este propósito quirúrgico involucra varios efectos criobiológicos que dependen del congelamiento controlado y descongelado.

Principios de la criocirugía.

El mecanismo de muerte celular y tisular por medio de la criocirugía involucra los siguientes procesos: formación intracelular y extracelular de cristales de hielo, alteraciones osmóticas y de electrolitos, desnaturalización de complejos lipoprotéicos, y estasia vascular. La estasia vascular, que involucra arterias y venas dentro de la bola de hielo, provoca la muerte celular y necrosis isquémica de los tejidos tratados. Hay algunas consideraciones referidas a la temperatura exacta que debe ser alcanzada para destruir células de mamíferos. Considerando las diferentes técnicas y agentes usados para criocirugía, se asume que debe alcanzarse una temperatura de por lo menos 20°C bajo cero (Bradley y Fisher, 1975; citados en Schmidt, 2003).

Criocirugía, técnica oral.

Enucleación.

Independientemente de la técnica de criocirugía usada, el tumor odontogénico queratoquístico debe ser enucleado apropiadamente. El fundamento principal del manejo del queratoquiste es que la criocirugía es un complemento y todos los principios de la enucleación deben ser realizados cuidadosamente: se debe prestar atención a la mucosa suprayacente y a los elementos quísticos adheridos a ésta, enucleación minuciosa de toda la membrana quística y remoción de los dientes involucrados. El cirujano no debe considerar conservar dientes que normalmente serían extraídos con otro procedimiento quirúrgico. No debe confiarse a la crioterapia la destrucción de células o elementos quísticos (remanentes de membrana quística) retenidas alrededor de las raíces dentarias. Aunque se realice crioterapia con nitrógeno líquido, conservar los dientes relacionados con el tumor odontogénico queratoquístico resultará en recurrencia del queratoquiste.

Técnica de criocirugía.

Las técnicas aceptables para los procedimientos de criocirugía oral incluyen el criosonda con gel hidrosoluble y el spray de nitrógeno líquido. (Se describirán las dos técnicas en relación a sus ventajas, desventajas, complicaciones y efectividad.)

Criosonda con gel hidrosoluble.

Se llena una parte del defecto con gel hidrosoluble. Una vez que la criosonda está inmersa en la cavidad rellena con el gel, se activa. El proceso de congelación se continúa por 2 minutos y después se permite que la bola de hielo se descongele. Al igual que con la técnica del spray de nitrógeno líquido el procedimiento de congelación se realiza tres veces. Una ventaja potencial de ésta técnica es la posibilidad de congelar partes de cavidades irregulares a favor de la gravedad. El gel colocado en una porción de la cavidad, en contra de la gravedad, rápidamente fluye hacia la parte profunda de la cavidad. Debido a que el congelamiento del gel no es uniforme, sólo debe tratarse pequeñas porciones de la cavidad por vez. Luego que la criosonda es colocada en el centro del gel, debe observarse que el hielo se propaga hasta incluir la totalidad del gel. Debe observarse la formación de cristales de hielo sobre la cortical externa. Una limitación significativa de la técnica con la criosonda es el área limitada de congelación, por lo tanto esta técnica sólo debe ser empleada en cavidades pequeñas.

Spray de nitrógeno líquido.

El spray de nitrógeno líquido puede introducirse dentro de la cavidad de varias maneras diferentes. La cavidad puede rociarse con nitrógeno líquido con un sistema cerrado como el Kryospray II unit[®] (Brymill Corporation, Vernon, Connecticut), que es pequeño, portátil y es cómodo para la crioterapia intraoral.

Para la aplicación de nitrógeno líquido, también puede usarse un sistema abierto que consiste en un embudo de acero inoxidable con un extremo angosto y otro ancho. El extremo angosto se introduce en la cavidad, el nitrógeno líquido puede verterse cuidadosamente dentro de la cavidad hasta confirmar que todas las áreas del defecto son tratadas. Esta metodología presenta la dificultad de no alcanzar las porciones de la cavidad

en contra de la gravedad. Los cambios de posición de la mesa quirúrgica pueden ayudar a superar este problema.

La principal desventaja de la técnica con nitrógeno líquido es el daño que se produce en los tejidos adyacentes por el derrame de éste, por lo que se debe prestar mucha atención a la protección de los tejidos cuando se realiza esta técnica.

La ventaja de usar el spray de nitrógeno líquido es el grado de congelación que se produce.

Indicaciones de la crioterapia para el manejo del tumor odontogénico queratoquístico.

La técnica de enucleación y crioterapia con nitrógeno líquido no es el tratamiento de elección para todos los pacientes con tumor odontogénico queratoquístico.

Una ventaja de la crioterapia es que mantiene la arquitectura ósea lo que facilita la nueva formación ósea. Los pacientes experimentan una recuperación significativa de la sensibilidad después de la aplicación de nitrógeno líquido al nervio alveolar inferior.

Los estudios sugieren que la crioterapia ayuda a disminuir el grado de recidiva, especialmente en lesiones que tienen historia de recurrencia. (Schmidt, Pogrel, 2001)

Otra indicación para criocirugía son lesiones mandibulares grandes e irregulares, en las cuales la enucleación de la membrana quística puede ser dificultosa y en las que pueden estar involucradas estructuras vitales, como el nervio alveolar inferior. La descompresión requiere mucha colaboración del paciente para realizar los lavajes y asistir a los controles, por lo que en los casos de pacientes poco colaboradores la crioterapia con nitrógeno líquido puede ofrecer un tratamiento más definitivo.

Recidiva.

Crowley et al. (1992) reportaron sobre 449 tumores odontogénicos queratoquísticos, de los cuales 55 (12,2%) eran ortoqueratinizados y 7 (1,6%) presentaban epitelio paraqueratinizado y ortoqueratinizado. Este estudio no aporta detalles sobre una examinación sistemática del seguimiento de los pacientes pero menciona los casos que presentaron recidiva. Hubo una diferencia considerable entre los índices de recidiva del tipo paraqueratinizado (47,8%) y la variante ortoqueratinizado (2,2%).

Se debe enfatizar una característica de la recurrencia del queratoquiste. La mayoría de las recidivas generalmente aparecen dentro de los primeros 5 años después de la cirugía. Sin embargo, las recidivas tardías (más allá de los 5 años) ocurren, y cuando se observa críticamente los grupos de pacientes con seguimiento por más de 5 años, la afirmación previa debe ser replanteada. Hay pocos estudios disponibles con verdaderos seguimientos a largo plazo, por esta razón, aunque el manejo tradicional del tumor odontogénico queratoquístico ha sostenido la creencia de que el seguimiento por un período de 5 años es adecuado para encontrar las recidivas, otros investigadores piensan que es más apropiado un seguimiento de 10 años dado el gran número de recurrencias después de 5 años (Choung et al., 1982).

Abordaje molecular para el diagnóstico de tumor odontogénico queratoquístico esporádico y asociado al síndrome carcinoma basocelular nevoide.

Importancia de los marcadores moleculares en el manejo clínico del tumor odontogénico queratoquístico.

Hasta hace poco tiempo, los determinantes moleculares del comportamiento clínico del tumor odontogénico queratoquístico, eran desconocidos.

¿Hay algún beneficio clínico o terapéutico en la identificación de genes o redes de genes que llevan al desarrollo del tumor odontogénico queratoquístico?

Los biomarcadores, moléculas asociadas con estados de enfermedad, pueden proveer un diagnóstico más rápido y seguro permitiendo diferenciar el tumor odontogénico queratoquístico de otros quistes odontogénicos y tumores, e incluso identificar subtipos de tumores odontogénicos queratoquísticos. Por ejemplo, biomarcadores específicos para el tumor odontogénico queratoquístico permitiría diferenciar a éste de otros quistes intraóseos usando pequeñas cantidades de tejido o aspirado celular (August et al., 2000). Otro alcance de importancia es que posibilitaría identificar tempranamente pacientes con el Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide, favoreciendo el seguimiento y tratamiento temprano.

La identificación de biomarcadores permitiría mejorar el tratamiento de los pacientes con tumor odontogénico queratoquístico. Los porcentajes de recidiva, que son entre 3% y 62,5%, han sido relacionados con características clínicas como el tamaño y tipo de tratamiento. Los biomarcadores podrían ser usados para identificar tumores odontogénicos queratoquísticos que presenten mayor predisposición biológica a ser refractarios al tratamiento, permitiendo a los clínicos elegir un tratamiento adecuado e identificar pacientes que requieren un seguimiento más cuidadoso. Queratoquistes extensos o refractarios al tratamiento podrían ser tratados con quimioterapia basado en características moleculares específicas. Finalmente, el diagnóstico basado en la detección de marcadores moleculares, podría requerir pequeñas cantidades de tejido o el uso de tejidos más accesibles, evitando técnicas más invasivas para la realización de biopsias. (Bigler et al., 2002).

Diagnóstico basado en la histología de tumor odontogénico queratoquístico esporádico y relacionado al síndrome carcinoma basocelular nevoide.

El tumor odontogénico queratoquístico como tumor quístico.

Debido a varias características celulares y a su comportamiento clínico, se considera al tumor odontogénico queratoquístico como una neoplasia quística benigna, más que como un quiste. Las neoplasias comparten algunas características en su comportamiento, aunque en grados variables. Entre las muchas características descritas en células neoplásicas hay cinco alteraciones importantes de la fisiología celular que les son comunes: 1- autosuficiencia en señales de crecimiento, 2- insensibilidad a señales inhibitorias de crecimiento, 3- evasión de la muerte celular programada (apoptosis), 4- potencial de proliferación ilimitado, y 5- angiogénesis sostenida. Las células que presentan un comportamiento neoplásico maligno, además presentan las capacidades de invadir los tejidos y de producir metástasis.

Identificación y selección de biomarcadores de tumor odontogénico queratoquístico.

Fundamentos de la base molecular en biología tumoral.

La apariencia y comportamiento clínico de los tumores resulta de la alteración de múltiples vías y redes de vías moleculares. A medida que las células presentan más alteraciones, sus características estructurales y fisiológicas se vuelven más aberrantes. Las características morfológicas que pueden apreciarse por microscopía de luz, no reflejan necesariamente cada vía o función molecular alterada, como proliferación, apoptosis, y angiogénesis. Lesiones histológicamente idénticas, pueden presentar un comportamiento clínico distinto. Para sumar a la complejidad, se cree ampliamente que las vías actúan como redes de señales más que como reguladores de características únicas. La alteración de una vía reguladora crítica puede tener consecuencias celulares complejas y de amplio alcance, mientras que otras alteraciones de las vías pueden pasar desapercibidas debido a redundancias en la red de vías.

Cambios en la estructura o cantidad de ADN, ARNm y proteína pueden alterar la función de una vía y la red de vías asociadas. Alteraciones de una vía (cascada de señales) confiere características celulares que distinguen la célula tumoral de su contraparte normal.

La aplicación clínica de los biomarcadores, a menudo está limitada por la posibilidad de identificar blancos (ADN, ARNm, proteína) que sean sensibles y específicos para la enfermedad. El éxito de un análisis depende de su sensibilidad (capacidad de detectar la mínima cantidad de sustrato) y de su especificidad (capacidad de distinguir muestras normales de patológicas). Los análisis de marcadores únicos son proclives a resultados falsos negativos debido a la elección errónea de un componente de la vía (la vía puede estar involucrada, pero un componente distinto puede ser la causa subyacente), o del blanco molecular (ADN, ARNm, proteína), degradación de la muestra, y/o insensibilidad o mala realización del método de detección. Los análisis de marcadores únicos pueden presentar resultados falsos positivos debido a contaminación del tejido, o presencia del blanco causada por algún proceso relacionado pero distinto. Los análisis de múltiples marcadores o “perfiles” pueden proveer una identificación más sensible y específica de la enfermedad, pero son más costosos y difíciles de realizar (Todd et al., 2002; citados en Todd y August 2003).

Direcciones futuras: promesas y dificultades.

El estudio del tumor odontogénico queratoquístico ilustra el potencial y dificultades de trasladar el conocimiento básico de la enfermedad hacia la aplicación clínica. Aunque aparentemente simple, identificar un blanco molecular es difícil. Estudios genéticos “elegantes” han identificado un defecto en la red de señales hedgehog como un determinante molecular fundamental en la patogénesis del tumor odontogénico queratoquístico. Sin embargo, estas alteraciones no son específicas de un elemento de la red ni propias de los queratoquistes. Otras investigaciones que estudiaron factores conocidos, importantes en tumores, proliferación y biología epitelial han obtenido resultados variados. Los tamaños de muestra son pequeños, la calidad del tejido utilizado es probablemente muy variable, e incluso hay una gran variabilidad entre estudios que usan una misma técnica. Actualmente, el traslado de marcadores moleculares hacia la aplicación clínica parece remoto.

Los marcadores moleculares en tumores odontogénicos queratoquísticos pueden tener importantes aplicaciones clínicas. Ellos pueden diferenciar mejor los queratoquistes de otros quistes, y aún entre subtipos de tumores odontogénicos queratoquísticos. Incluso el diagnóstico puede tener importantes implicancias para el manejo del paciente, sin embargo, ¿qué tipo de marcador debe ser usado? Claramente, el abordaje o blanco (ADN, ARNm, proteína) depende de cual ofrece la mayor sensibilidad o especificidad y mejor estandarización o reproducibilidad.

Una mayor comprensión del tumor odontogénico queratoquístico y su biología molecular, mejorará el tratamiento en el futuro. Un conocimiento básico de la patogénesis del queratoquiste está surgiendo pero está lejos de ser completo. Actuales y nuevos factores moleculares descubiertos, que contribuyen al desarrollo del tumor odontogénico queratoquístico, pueden algún día, ser explotados como un set de marcadores diagnósticos. Eventualmente, este conocimiento también podrá ser usado para mejorar el manejo de pacientes con tumores odontogénicos queratoquísticos esporádicos y asociados al síndrome (Todd y August, 2003).

El c-erbB-2.

La subfamilia de receptor de factor de crecimiento epitelial (RFCE) consiste de cuatro receptores estrechamente relacionados: el RFCE (también ErbB1), el receptor Her2 (ErbB2/neu), HER3 (ErbB3) caracterizado por un dominio kinasa impar, y HER4 (ErbB4). Cuando son estimulados, los miembros de la familia de RFCE pueden formar complejos homo o heterodiméricos que llevan a la fosforilación de residuos específicos de tirosina. Numerosos estudios han investigado la significación de la heterodimerización y la combinación cruzada entre los miembros de la familia del RFCE. Por lo menos ocho factores de crecimiento han sido caracterizados, y estos son divididos en tres grupos sobre la base de su afinidad para unirse y activar distintos receptores, homo o heterodímeros, de esta familia. Dentro de la red de señales de esta familia de RFCE, ErbB2 juega un rol central porque es el compañero preferido por los otros miembros de la familia para formar heterodímeros. Ambos, la variedad de heterodímeros formados entre los miembros de la familia de RFCE cuando se activan, y el gran número de ligandos, contribuyen a la complejidad de la red de señales de la familia de EGFR (Zwick et al., 1999).

El receptor Her2

El receptor de factor de crecimiento epitelial 2 (ErbB-2/HER2^{P185}) es un miembro de Tipo I de la familia de receptores tirosín kinasa. La familia también incluye el receptor de factor de crecimiento endotelial (RFCEV), HER3, y HER4. Estos receptores están codificados por genes relacionados a la homeostasis y comparten una extensa secuencia homóloga, sugiriendo un mecanismo similar de activación y transducción de señales. Estos receptores funcionan formando hétero- u homodímeros con miembros de la familia.

El c-erbB-2/ HER2^{P185} es un protooncogen localizado en el cromosoma 17q21 (Lian y Tan, 2002; citados en Selvarajan et al., 2004) que codifica una glicoproteína transmembrana de 185 Kd que participa en una red de interacciones receptor-receptor. Estas interacciones regulan la muerte celular, crecimiento y proliferación, principalmente a través de MAP y kinasas.

Datos actuales indican que c-erbB-2 actúa como correceptor o como una subunidad compartida, prolongando y acrecentando la activación de proteínas involucradas en la cascada de transducción de señales (FDA, 1998).

Expresión normal del Her2^{P185} y su rol en la embriogénesis

Tinciones inmunohistoquímicas muestran que HER2/neu normalmente se expresa ampliamente en tejido adulto diferenciado y tejido fetal derivado de las tres capas embriogénicas germinales. Se reportó tinción de alta intensidad en el tracto gastrointestinal y, en los túbulos proximales y asa de Henle del tracto urinario.

Estudios recientes demostraron que la expresión de HER2/neu es crucial para el desarrollo cardíaco y del SNC (FDA, 1998).

Rol del HER2^{P185} en la transducción de señales

La literatura sostiene un rol normal para HER2/neu como el compañero preferido de todos los otros miembros de la familia. Muchos ligandos que se unen a EGFR (receptor de factor de crecimiento epitelial), HER3 y HER4 han sido caracterizados. El factor de crecimiento epitelial (FCE) y el factor de crecimiento transformante alfa (FCT- α), están

entre los ligandos para RFCE, y heregulin/NDF (factor de diferenciación neu) es el ligando para HER3 y HER4. No ha sido encontrado un ligando específico para HER2.

La unión del ligando al receptor específico induce un cambio conformacional del receptor, lo cual resulta en: a) autofosforilación de tirosina e b) incremento de afinidad en la unión para los otros receptores.

El incremento en la afinidad de unión resulta en la formación de hétero/homodímeros. Como resultado de la unión del ligando, se activan las tirosín kinasas intracelulares y transfosforilan al compañero de unión (ej. HER2^{P185}). Estos eventos inician la cascada de transducción de señales. El último paso en la activación de todos los miembros de la familia Erb es la mitogénesis (FDA, 1998).

Sobre expresión de HER2^{P185}

En humanos, la transformación oncogénica de HER2/neu se relaciona invariablemente con la sobre expresión de la proteína. Debido a su actividad kinasa constitutiva, la sobre expresión de HER2/neu resulta en un aumento de las actividades de fosforilación. La actividad tirosín kinasa constitutiva lleva a un incremento del grado de proliferación, resistencia al factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α), disminución de la expresión de moléculas de adhesión (E-caderinas e integrinas), e incremento en la secreción de factor de crecimiento de endotelio vascular (FCEV) (FDA, 1998).

HIPÓTESIS

“El epitelio del tumor odontogénico queratoquístico no asociado al síndrome carcinoma basocelular nevoide sobre expresa el receptor c-erbB-2”.

OBJETIVO

Evaluar la sobre expresión de c-erbB-2 en el epitelio del tumor odontogénico queratoquístico no asociado al Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide.

Clasificar la sobre expresión de c-erbB-2 en: negativa, leve, moderada e intensa, según el grado de tinción del epitelio.

MATERIALES Y MÉTODO

El presente es un estudio descriptivo, con muestreo por conveniencia. El tamaño de muestra se determinó según la fórmula para variables cualitativas nominales, $(1,645/d)^2 \cdot p \cdot (1-p)$. Donde $d=0,08$, y $p=0,1$.

La búsqueda de los casos se realizó en el Instituto de Referencia de Patología Oral (IREPO) Santiago de Chile, Chile. Del listado de casos correspondientes a “queratoquistes odontogénicos” se identificaron aquellos con diagnóstico de tumor odontogénico queratoquístico no asociado al SCBN, se buscaron los cortes histológicos teñidos con hematoxilina eosina y fueron observados al microscopio óptico. De esta manera se escogieron los que presentaban la histopatología característica del tumor odontogénico queratoquístico, a saber, epitelio plano estratificado paraqueratinizado, células basales cuboides con núcleos dispuestos en empalizada, unión del epitelio al tejido conectivo plana, es decir ausencia de crestas epiteliales. No se tuvo en cuenta si se trataba de recidiva o no.

Los criterios de inclusión que se tuvieron en cuenta fueron:

1. Casos con diagnóstico de tumor odontogénico queratoquístico no asociado al síndrome carcinoma basocelular nevoide.
2. Presentar la histología característica del tumor odontogénico queratoquístico.

Criterios de exclusión:

1. Casos con diagnóstico de tumor odontogénico queratoquístico asociado al síndrome carcinoma basocelular nevoide.
2. Presencia de infiltrado inflamatorio que produzca cambios en el epitelio.
3. Presencia de hemorragia que dificulte o impida la observación del epitelio.
4. Casos de un paciente ya seleccionado.

En los casos en que un paciente tenía más de una biopsia se escogió la que presentaba características histológicas más representativas de la patología. En otras palabras, cada preparado pertenece a pacientes distintos.

Los 35 preparados seleccionados corresponden a la casuística del IREPO desde el año 1997 a 2004.

Una vez obtenidos los casos que cumplían con los criterios antes mencionados, se buscaron las inclusiones en parafina correspondientes a cada uno para ser reprocesadas y teñidas con la técnica inmunohistoquímica.

Técnica inmunohistoquímica para detección de oncoproteína c-erbB-2.

La realización de la técnica se llevó a cabo en el laboratorio de patología del Hospital Carlos van Buren. Cada reactivo utilizado en la técnica fue usado en la forma y los tiempos sugeridos por el proveedor, excepto la dilución del anticuerpo primario que se estandarizó previamente, con la finalidad de lograr un rendimiento óptimo del reactivo.

La estandarización se realizó de la siguiente manera:

El liofilizado de anticuerpo primario fue reconstituido con agua bidestilada (100 microlitros). Luego se efectuaron 3 diluciones de acuerdo a los cálculos, para obtener dilución de 1:40, 1:80 y 1:100. Las diluciones se realizaron con buffer fosfato (PBS) a pH 7,4 recién preparado.

Una vez obtenidas las diluciones se realizó la tinción de cortes de carcinoma de mama con cada dilución según la técnica descrita a continuación y se observaron al microscopio para evaluar el mejor control positivo. Los parámetros tenidos en cuenta para la evaluación

fueron: intensidad de la tinción y tinción de fondo. De esta manera se seleccionó la dilución 1:100, que fue la utilizada para la tinción de los preparados.

Se realizaron cortes de 5 micrones de espesor en micrótomo rotatorio, dos cortes por cada inclusión en parafina. Los cortes se dejaron secar toda la noche en estufa a 37°C. Seguido a esto se realizó la desparafinación e hidratación de los cortes colocándolos en 3 xiloles, 3 alcoholes de 100°, 2 alcoholes de 96° y 1 alcohol de 70°, durante 5 minutos en cada líquido.

Se bloqueó la actividad de peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno al 3% durante 10 minutos, seguido por el lavado en buffer fosfato (PBS) a pH 7,4. Se aplicó suero bloqueador de proteínas durante 10 minutos para bloquear los sitios de unión no específicos y a continuación sólo se retiró el exceso, sin lavar las muestras. No se realizó la recuperación de antígeno. Luego se colocó el anticuerpo primario (anticuerpo monoclonal murino NCL-CBE-356[®], Novocastra Laboratories) a las muestras y se incubaron en cámara húmeda a 4°C durante toda la noche, según la dilución determinada. Al día siguiente las muestras se lavaron con buffer fosfato (PBS) a pH 7,4 para eliminar los excesos y se colocó el anticuerpo secundario (Histostain-Plus[®] kit, Zymed Laboratories Inc.) durante 10 minutos. A continuación se lavó con buffer fosfato a pH 7,4, seguido de la incubación con enzima conjugada (Streptavidina) durante 10 minutos. Se lavó en buffer fosfato a pH 7,4 y se agregó el cromógeno DAB (Histostain-Plus[®] kit, Zymed Laboratories Inc.) durante 5 minutos. Se lavó en buffer y después en agua corriente. Luego se realizó la tinción de los núcleos celulares con hematoxilina de Harris durante 20 segundos y se procedió a deshidratar en batería de deshidratación de la siguiente manera: un alcohol de 70°, dos alcoholes de 96°, tres alcoholes de 100° y tres xiloles, durante 2 minutos en cada uno. Se cubrieron las muestras con cubreobjetos, el medio adhesivo utilizado fue resina sintética Flotexx[®]. No se realizó recuperación de antígeno.

En la misma lámina histológica se pusieron dos cortes, correspondientes al mismo caso. En la parte superior de la lámina se colocó el corte tratado con el anticuerpo primario, y en la parte inferior el corte de control negativo, en el cual se sustituyó el anticuerpo primario por buffer fosfato (PBS).

Como control positivo se utilizó carcinoma de mama que se sabía positivo para c-erbB-2. Éste se procesó junto con todos los preparados de tumor odontogénico queratoquístico no asociado al SCBN (ver anexo).

Así obtenidos los preparados teñidos para c-erbB-2, fueron evaluados en microscopio óptico por dos observadores independientes y clasificados según el grado de tinción de la membrana celular de las células epiteliales del tumor odontogénico queratoquístico. Cuando no se observó tinción de la membrana o la tinción correspondía a menos del 10% de las células se consideró como negativo. La tinción pobre, casi imperceptible, de la membrana celular en más del 10% de las células se consideró leve. La tinción débil a modesta en más del 10% de las células se consideró como moderado y la tinción fuerte, definida de la membrana celular de más del 10% de las células se consideró como intensa.

El nivel de acuerdo interobservador fue analizado mediante el test de Cohen kappa con la siguiente correlación: 1-0,81 casi perfecto; 0,8-0,61 alto; 0,6-0,41 moderado; 0,4-0,21 normal; 0,2-0,01 leve; 0,00 pobre. Para este análisis se utilizó el programa Minitab[®].

Para documentar el estudio se tomaron fotografías de los casos con tinción positiva para c-erbB-2, con cámara digital montada en microscopio óptico (Microscopio Nikon OPTIPHOT-2[®], cámara Nikon DN100[®], Digital Net Camera[®]), con aumento de 100x,

400x y 600x. Las fotografías se tomaron del preparado con tinción positiva y del control negativo, intentando fotografiar el mismo sector. También se documentó el control positivo.

Los datos se muestran con estadística descriptiva porcentual conforme al total de la muestra.

RESULTADOS

Del total de la muestra, trece (13) casos presentaron sobre expresión de c-erbB-2 correspondiendo al 37,14%, de los cuales 12 (34,29%) mostraron tinción leve y 1 (2,85%) mostró tinción moderada para c-erbB-2. Veintidós casos no presentaron tinción para c-erbB-2, correspondiendo al 62,86%.

Tabla II: Sobre expresión de c-erbB-2

	Negativo	Leve	Moderado	Intenso
TOQ	22	12	1	0

Gráfico 1: Sobre expresión de c-erbB-2

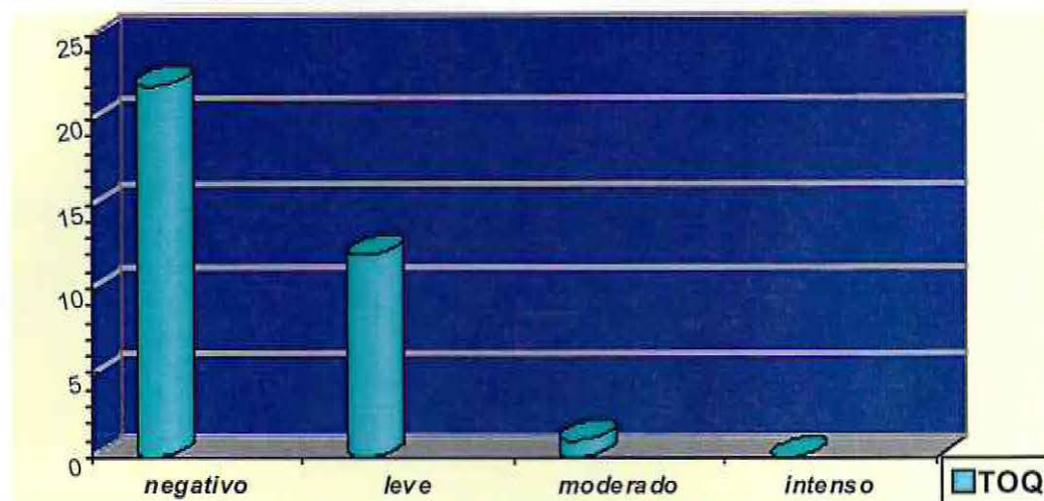
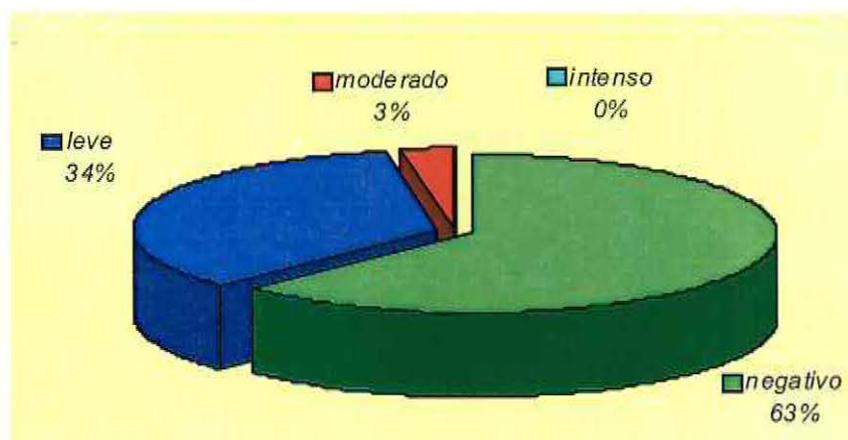


Tabla III: Sobre expresión porcentual de c-erbB-2

	Negativo	Leve	Moderado	Intenso
TOQ	62,86%	34,29%	2,86%	0%

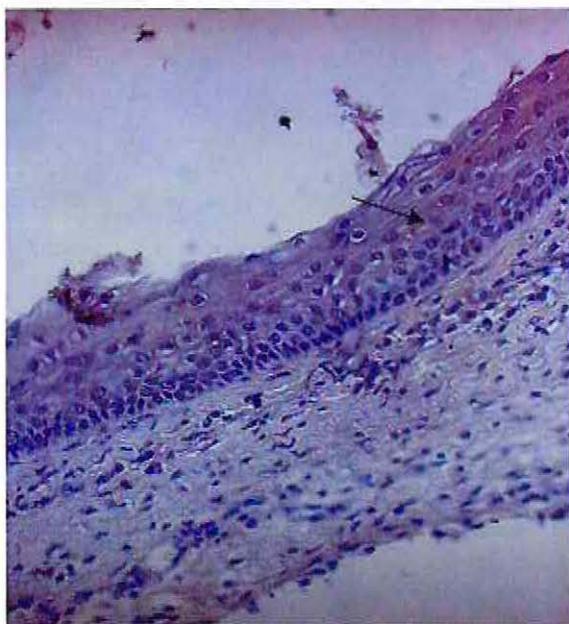
Gráfico 2: Sobre expresión porcentual de c-erbB-2



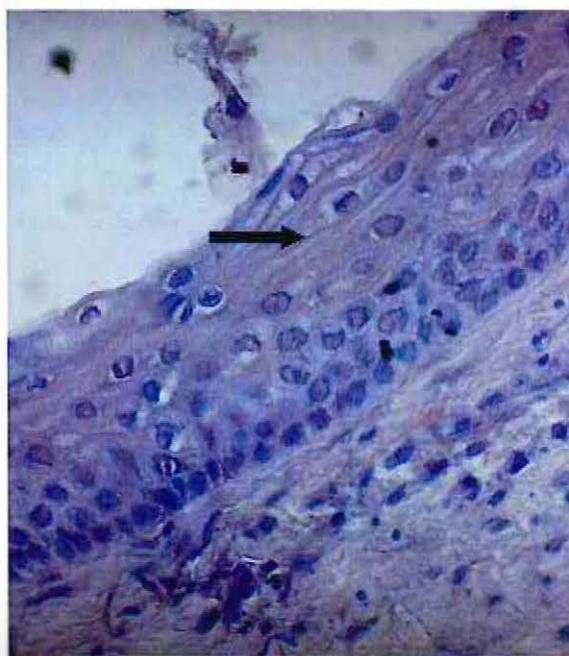
De acuerdo a la fórmula para determinar el tamaño de muestra, los resultados obtenidos poseen un nivel de confianza de 95%, con un margen de error de 8%.

El test de Cohen kappa presentó un valor de 1, lo que equivale a un acuerdo interobservador casi perfecto.

Los casos que presentaron sobre expresión c-erbB-2 mostraron una tinción uniforme de la membrana celular en todas las capas del epitelio, sin variaciones evidentes en el grado de tinción entre una zona y otra del mismo preparado.



Tinción positiva leve, de la membrana celular (flecha), para c-erbB-2 (400 x).



Tinción positiva leve, de la membrana celular (flecha), para c-erbB-2. Mismo caso a mayor aumento (600 x).

DISCUSIÓN

El alto porcentaje de recidiva del tumor odontogénico queratoquístico, su comportamiento potencialmente agresivo, y la relación con el Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide (SCBN), junto con la falta de un tratamiento efectivo, ha mantenido la preocupación en muchos autores y ha motivado la realización de diversos estudios destinados a un mayor conocimiento y comprensión de esta patología, para lograr resultados más satisfactorios en el tratamiento.

El resultado obtenido en este estudio confirma que el 37,1% de los casos de tumor odontogénico queratoquístico sobre expresa la oncoproteína c-erbB-2.

Actualmente la o las líneas de investigación que pueden lograr cambios significativos en el tratamiento de esta patología están relacionadas o se basan en la identificación de marcadores tumorales que sirvan de blanco a nuevos medicamentos antineoplásicos, en desarrollo (Gómez, De Marco, 2005).

En el presente estudio se utilizó el anticuerpo monoclonal liofilizado NCL-CBE-356, clon 10 A 7 (Novo Castra Laboratories®), que reconoce el dominio externo de la oncoproteína c-erbB-2, para preparados incluidos en parafina.

La oncoproteína c-erbB-2 posee una estructura similar al receptor de factor de crecimiento epitelial y es miembro de una gran familia de receptores de factores de crecimiento de superficie celular. La oncoproteína c-erbB-2 es detectable en una proporción de carcinomas de mama y otros adenocarcinomas, como así también carcinoma de células transicionales y carcinoma oral de células planas (Chen et al., 2004). En cáncer de mama, c-erbB-2 es un marcador establecido de pronóstico pobre y puede predecir la respuesta al tratamiento (Selvarajan et al., 2004). Chen et al. (2004) concluyen que el nivel de c-erbB-2 en sangre es un parámetro útil para monitorear el estado de la enfermedad así como el efecto de la terapia en pacientes con carcinoma oral de células planas.

A diferencia de otros estudios, este trabajo se realizó sólo con tumores odontogénicos queratoquísticos no asociados al SCBN, con un tamaño de muestra que permite extrapolar el resultado al universo, con un nivel de confianza de 95% y un margen de error de 8%. De este modo sirve de referencia para la planificación de nuevos estudios que sigan esta línea de investigación.

El conocimiento de biomarcadores relacionados con neoplasias malignas, la comprensión o conocimiento de su participación en vías y/o redes de cascadas de señales, y el desarrollo de técnicas para su estudio, ha llevado a la realización de numerosos trabajos. Entre los marcadores estudiados se encuentran: p53 (Li et al., 1996; Slootweg, 1995), gp38 (High et al., 1993; citados en Shear, 2003b), RFCE (Li et al., 1993), PTCH (Barreto et al., 2002; 2000), bcl-1 y bcl-2 (Lo Muzio et al., 1999) relacionados al comportamiento celular neoplásico y, Ki-67, ANPC (Li et al., 1995; 1994) como marcadores de proliferación celular. Varios de estos estudios presentan el inconveniente de que la cantidad de queratoquistes evaluados son pocos, y más bien tienden a comparar entre distintas patologías quísticas y tumorales como ser quiste dentífero, quistes inflamatorios y ameloblastoma. Esto, en mi opinión es poco útil, arroja poca información nueva, sólo contribuye a confirmar lo que ya se sabe y no permite concluir dado el escaso número de cada patología.

CONCLUSIONES

- La sobre expresión de c-erbB-2 mostrada en este estudio, se suma a la lista de otros marcadores tumorales avalando que el Tumor Odontogénico Queratoquístico sea considerado una neoplasia benigna.
- En los últimos años se han identificado o conocido distintas alteraciones celulares en los tumores odontogénicos queratoquísticos. Estas alteraciones son variadas y se manifiestan por la expresión de proteínas que también se expresan en procesos neoplásicos. A su vez el grado de expresión de éstas es variable de un caso a otro, manifestándose de dos maneras: 1- La cantidad de células positivas para dicha proteína o marcador. 2- La intensidad de la tinción para dicho marcador. Siendo para algunos autores más significativa la intensidad de la tinción que el primero.
- De los marcadores identificados en los estudios podríamos considerar dos grupos, uno con marcadores que indican una mayor actividad proliferativa por parte de las células, pero no necesariamente un comportamiento neoplásico, y otro con marcadores que son comunes a células neoplásicas (p53, c-erbB-2, bcl) que sí indicarían un comportamiento celular neoplásico.
- Los datos obtenidos en este estudio, en conjunto con los aportados por la literatura, sustentan la idea de que los mecanismos, o alteraciones celulares involucradas en el desarrollo de tumores odontogénicos queratoquísticos son variados. Esto podría explicar o estaría de acuerdo con los diversos comportamientos clínicos observados, siendo algunos casos más agresivos que otros.
- Dado que las alteraciones celulares involucradas en la patogenia de los tumores odontogénicos queratoquísticos son diversas, debemos pensar que también las posibilidades de tratamiento son diversas, siendo un error aplicar el mismo tratamiento a todos los casos. Los avances en la identificación de estas alteraciones celulares y la utilización de estas nuevas técnicas son de gran importancia para abordar el tratamiento del tumor odontogénico queratoquístico de una manera más racional, permitiendo el desarrollo de protocolos e intentar un pronóstico en cada caso.
- La identificación de marcadores tumorales, junto con el desarrollo de nuevas drogas antineoplásicas dirigidas a éstos, abre la posibilidad de nuevos tratamientos sustentados por una base científica.

SUGERENCIAS

En la técnica inmunohistoquímica no se utilizó recuperación de antígeno. Estas técnicas de recuperación de antígeno se realizan para optimizar la reacción del anticuerpo primario (marcador) con el antígeno que se está estudiando, fundamentalmente con los tejidos fijados en formol e incluidos en parafina, dado que estos procedimientos de fijación e inclusión pueden producir cambios en la conformación de la molécula, que resultan en un enmascaramiento del sitio de unión, impidiendo el reconocimiento por parte del anticuerpo.

Es decir que utilizando técnicas de recuperación de antígeno existe la posibilidad de que la reacción sea más intensa, que la cantidad de casos positivos sea mayor, o ambas. Por lo que es recomendable realizar la recuperación de antígeno en estudios futuros y contrastar los resultados con los de este estudio.

A partir del resultado obtenido en este trabajo se pueden planificar nuevos estudio tomando en cuenta este valor para determinar el tamaño de la muestra. Así mismo, sería importante ampliar el tamaño de la muestra para evaluar correlación de variables como edad y sexo.

Además, el hallazgo de sobre expresión de c-erbB-2 en algunos tumores odontogénicos queratoquísticos no asociados al SCBN hace pensar en la posibilidad de que algunos tumores odontogénicos queratoquísticos asociados al Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide (SCBN) también sobre expresen el c-erbB-2 por lo que sería importante desarrollar esta línea de investigación en estos casos.

El c-erbB-2 podría cumplir un rol en la patogenia del tumor odontogénico queratoquístico cuando se sobre expresa, determinado por su actividad.

Debido a que los pacientes que padecen carcinoma de mama que sobre expresan c-erbB-2 presentan este marcador en la sangre y la saliva (Bigler et al., 2002) y su identificación en la circulación es útil para su seguimiento o evolución, teniendo carácter pronóstico, se podría realizar estudios para evaluar si en los casos de tumores odontogénicos queratoquísticos que sobre expresan c-erbB-2 también se halla el marcador en la sangre y/o saliva. Aunque en los pacientes con tumor odontogénico queratoquístico clínicamente no sea tan relevante ya que puede ser más práctica la tinción inmunohistoquímica de los preparados de biopsia junto con el control clínico radiográfico.

Dado que en los casos de carcinoma de mama que sobre expresan c-erbB-2 clínicamente presentan mayor agresividad y una sobrevida menor que los casos que no sobre expresan c-erbB-2 (Selvarajan et al., 2004), se podría pensar que los tumores odontogénicos queratoquísticos que sobre expresan c-erbB-2 tengan un comportamiento clínico más agresivo, por lo tanto la identificación de este marcador tumoral puede orientar al cirujano máxilofacial a decidir un tratamiento menos conservador.

Lo expuesto anteriormente muestra la relevancia de este trabajo como punto de partida, justificando la realización de más estudios sobre este marcador tumoral en tumores odontogénicos queratoquísticos, ya sea como los propuestos, u otros alternativos que se pudieran plantear.

También se plantea aquí como sugerencia, aunque tal vez sobrepase los alcances de este estudio, la posibilidad de evaluar el c-erbB-2 en otras patologías tumorales de origen epitelial e interés bucomáxilofacial, como el ameloblastoma, entre otros.

RESUMEN

El tumor odontogénico queratoquístico tiene su origen en restos epiteliales de la lámina dental, o proliferaciones del estrato basal del epitelio que recubre el estomodeo. Esta patología se caracteriza por su alto grado de recurrencia, potencial comportamiento agresivo y la asociación al Síndrome Carcinoma Basocelular Nevoide (SCBN).

El c-erbB-2/HER2^{P185} es un protooncogen que codifica una glicoproteína transmembrana de 185 Kd que participa en una red de interacciones receptor-receptor regulando la muerte celular, el crecimiento y proliferación, principalmente a través de MAP y kinasas.

La transformación oncogénica de c-erbB-2 se relaciona invariablemente con la sobre expresión de la proteína. Debido a su actividad kinasa constitutiva, la sobre expresión de c-erbB-2 resulta en un aumento de las actividades de fosforilación produciendo incremento del grado de proliferación, resistencia al factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), disminución de la expresión de moléculas de adhesión (E-caderinas e integrinas), e incremento en la secreción de factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF).

Hipótesis: "El epitelio del tumor odontogénico queratoquístico no asociado al síndrome carcinoma basocelular nevoide sobre expresa el receptor c-erbB-2".

Objetivo: Observar la sobre expresión de c-erbB-2 en tumor odontogénico queratoquístico no asociado al SCBN. Clasificar en negativa, leve, moderado o intenso, según el grado de tinción del epitelio.

Resultados: Del total de la muestra, trece (13) casos presentaron sobre expresión de c-erbB-2 correspondiendo al 37,14%, de los cuales 12 (34,29%) mostraron tinción leve y 1 (2,86%) mostró tinción moderada para c-erbB-2. Veintidós casos no presentaron tinción para c-erbB-2, correspondiendo al 62,86%.

El test de Cohen kappa presentó un valor de 1, lo que equivale a un acuerdo interobservador casi perfecto.

Conclusión: El resultado de este estudio respalda el desarrollo de nuevos trabajos siguiendo esta línea de investigación

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahlfors E, Larsson A, Sjögren S (1984) "The odontogenic keratocyst: a benign cystic tumor?" en *J Oral Maxillofac Surg* 42, pp. 10-19.

August M, Faquin WC, Troulis MJ, Kaban LB (2003) "Dedifferentiation of odontogenic keratocyst epithelium after cyst decompression" en *J Oral Maxillofac Surg* 61, pp. 678-683.

August M, Faquin WC, Troulis M, Kaban LB (2000) "Differentiation of odontogenic keratocysts from nonkeratinizing cysts by use of fine-needle aspiration biopsy and cytokeratin-10 staining" en *J Oral Maxillofac Surg* 58, pp. 935-940.

Barreto DC, Bale AE, De Marco L, Gomez RS, (2002) "Immunolocalization of PTCH protein in odontogenic cysts and tumors" en *J Dent Res* 81 (11), pp. 757-760.

Barreto DC, Gomez RS, Bale AE, Boson WL, De Marco L (2000) "PTCH gene mutations in odontogenic keratocysts" en *J Dent Res.* 79 (6), pp. 1418-22.

Bataineh AB, Al Qudah MA (1998) "Treatment of mandibular odontogenic keratocysts" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 86, pp. 42-7.

Bigler LR, Streckfus ChF, Copeland L, Burns R, Dai X, Kuhn M, Martin P, Bigler SA (2002) "The potential use of saliva to detect recurrence of disease in women with breast carcinoma" en *J Oral Pathol Med.* 31, pp. 421-31.

Blanas N, Freund B, Schwartz M, Furst IM, (2000) "Systematic review of the treatment and prognosis of the odontogenic keratocyst" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 90, pp.553-8.

Bono de JS, Rowinsky EK (2002) "The ErbB receptor family: a therapeutic target for cancer" en *Trends in Molecular Medicine* vol. 8 num. 4 A trends guide to cancer therapeutic (Review) Suppl. 2002, pp. 19-26.

Brannon RB (1977) "The odontogenic keratocyst: a clinicopathologic study of 312 cases. Part II. Histologic features" en *Oral Surg* vol. 43, num. 2, pp. 233-55.

Brannon RB (1976) "The odontogenic keratocyst: a clinicopathologic study of 312 cases. Part I. Clinical features" en *Oral Surg* vol. 42, num. 1, pp. 54-72.

Brøndum N, Jensen VJ (1991) "Recurrence of keratocyst and decompression treatment" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 72, pp. 265-9.

Cohen MM Jr. (1999) "Nevoid basal cell carcinoma syndrome: molecular biology and new hypotheses" en *Int J Oral Maxillofac Surg* 28, pp. 216-223.

Crowley TE, Kaugars GE, Gunsolley JC (1992) "Odontogenic keratocysts: a clinical and histological comparison of the parakeratin and orthokeratin variants" en *J Oral Maxillofac Surg.* 52, pp. 22-6.

Chen CH, Lin YS, Lin CC, Yang YH, Ho YP, Tsai CC (2004) "Elevated serum levels of a c-erbB-2 oncogene product in oral squamous cell carcinoma patients" en *J Oral Pathol Med* Nov. vol. 33, num. 10, pp. 589-94.

Choung R, Donoff RB, Guralnick W (1982) "The odontogenic keratocyst" en *J Oral Maxillofac Surg.* 40, pp. 797-802.

da Silva MJA, Machado de Sousa SO, Corrêa L, Carvalhosa AA, Cavalcanti de Araújo V (2002) "Immunohistochemical study of the orthokeratinized odontogenic cyst: a comparison with the odontogenic keratocyst" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 94, pp. 732-7.

Degould MD, Goldberg JS (1991) "Recurrence of an odontogenic keratocyst in a bone graft" en *Int J Oral Maxillofac Surg* 20, pp. 9-11.

de Paula AMB, Carvalhais JN, Domingues MG, Barreto DC, Mesquita RA (2000) "Cell proliferation markers in the odontogenic keratocyst: effect of inflammation" en *J Oral Pathol Med.* 29, pp. 477-82.

Dominguez FV, Keszler A (1988) "Comparative study of keratocysts, associated and non-associated with nevoid basal cell carcinoma syndrome" en *J Oral Pathol* 17, pp. 39-42.

El-Hajj G, Anneroth G (1996) "Odontogenic keratocysts – a retrospective clinical and histologic study" en *Int J Oral Maxillofac Surg* 25, pp. 124-129.

El-Labban NG, Aghabeig B (1990) "A comparative stereologic and ultrastructural study of blood vessels in odontogenic keratocysts and dentigerous cysts" en *J Oral Pathol Med* 19, pp. 442-6.

El Mutardi A, Grehan D, Toner M, McCartan BE (1996) "Proliferating cell nuclear antigen staining in syndrome and nonsyndrome odontogenic keratocysts" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 81, pp. 217-20.

Ézsiás A(2001) "Longitudinal in vivo observations on odontogenic keratocyst over a period of 4 years" en *Int J Oral Maxillofac Surg* 30, pp. 80-82.

Field JK, Spandidos DA (1987) "Expression of oncogenes in human tumours with special reference to the head and neck region" en *J Oral Pathol* 16, pp. 97-107.

Food and Drug Administration (1998) "Clinical Review of BLA 98-0369 Herceptin® Trastuzumab (rhuMab HER2)" September 25, 1998.

Fornatora ML, Reich RF, Chotkowski G, Freedman PD (2001) "Odontogenic keratocyst with mural cartilaginous metaplasia: A case report and a review of the literature" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 92, pp. 430-4.

Giuliani M, Grossi GB, Lajolo C, Bisceglia M, Herb KE (2006) "Conservative management of a large Odontogenic Keratocyst: report of a case and review of the literature" en *J Oral Maxillofac Surg* 64, pp. 308-316.

Ghali GE, Connor MS (2003) "Surgical management of the odontogenic keratocyst" en *Oral Maxillofacial Surg Clin N Am.* vol. 15, num. 3, The Odontogenic Keratocyst, August 2003, pp. 383-392.

Gomez RS, De Marco L (2005) "Possible molecular approach to the treatment of odontogenic keratocyst" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* Letter to the editor, May 2005, pp. 527-528.

Grinspan D (1983) *Enfermedades de la boca. Semiología, patología, clínica y terapéutica de la mucosa bucal.* Tomo V, Buenos Aires, Editorial Mundi S.A.I.C. y F. Capítulo LII, "Blastomas y pseudoblastomas de los maxilares" pp. 3989-3997.

Herbener GH, Gould AR, Neal DC, Farman AG (1991) "An electron and optical microscopic study of juxtaposed odontogenic keratocyst and carcinoma" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 71, pp. 322-8.

High AS, Quirke P, Hume WJ (1987) "DNA-ploidy studies in a keratocyst undergoing subsequent malignant transformation" en *J Oral Pathol* 16, pp. 135-138.

Howell RE, Handlers JP, Aberle AM, Abrams AM, Melrose RJ (1988) "CEA immunoreactivity in odontogenic tumors and keratocysts" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 66, pp. 576-80.

Hwang BT, Sugihara K, Yamashita S (1984) "Scanning electron microscopic study of odontogenic keratocysts" en *Oral Surg* 58, pp. 568-574.

Jordan RCK (2003) "Histology and ultrastructural features of the odontogenic keratocyst" en *Oral Maxillofacial Surg Clin N Am.* vol. 15, num. 3, The Odontogenic Keratocyst, August 2003, pp. 325-333.

Kimi K, Kumamoto H, Ooya K, Motegi K (2001) "Immunohistochemical analysis of cell-cycle and apoptosis-related factors in lining epithelium of odontogenic keratocysts" en *J Oral Pathol Med* 30, pp. 434-42.

Kubota Y, Oka S, Nakagawa S, Shirasuna K (2002) "Interleukin-1 α enhances type I collagen-induced activation of matrix metalloproteinase-2 in odontogenic keratocyst fibroblasts" en *J Dent Res* 81, num. 1, pp. 23-27.

- Kubota Y, Nitta S, Oka S, Nakagawa S, Ninomiya T, Shirasuna K (2001) "Discrimination of ameloblastomas from odontogenic keratocysts by cytokine levels and gelatinase species of the intracystic fluids" en *J Oral Pathol Med* 30, pp. 421-7.
- Lench NJ, High AS, Markham AF, et al (1996) "Investigation of chromosome 9q22.3q31 DNA marker loss in odontogenic keratocysts" en *Eur J Cancer*; 32 B, pp. 202-6.
- Levanat S, Gorlin RJ, Fallet S, Johnson DR, Fantasia JE, Bale AE (1996) "A two-hit model for developmental defects in Gorlin syndrome" en *Nat Genet.* 12, pp. 85-7.
- Li TJ, Browne RM, Matthews JB (1997) "Immunocytochemical expression of growth factors by odontogenic jaw cyst" en *Mol Pathol* Feb. 50, num. 1, pp. 21-7.
- Li TJ, Browne RM, Prime SS, Paterson IC, Matthews JB (1996) "p53 Expression in odontogenic keratocyst epithelium" en *J Oral Pathol Med.* 25, pp. 249-55.
- Li TJ, Browne RM, Matthews JB (1995) "Epithelial cell proliferation in odontogenic keratocyst: immunocytochemical study of Ki-67 in simple, recurrent and basal cell nevus syndrome (BCNS)-associated lesions" en *J Oral Pathol Med.* 24, pp. 221-6.
- Li TJ, Browne RM, Matthews JB (1994) "Quantification of PCNA+ cells within odontogenic jaw cyst epithelium" en *J Oral Pathol Med* 23, pp. 184-189.
- Li TJ, Browne RM, Matthews JB (1993) "Expression of epidermal growth factor receptors by odontogenic jaw cysts" en *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 423, num. 2, pp. 137-44.
- Lo Muzio L, Staibano S, Pannone G, Bucci P, Nocini PF, Bucci E, (1999) "Expression of cell cycle and apoptosis-related proteins in sporadic odontogenic keratocysts and odontogenic keratocysts associated with the nevoid basal cell carcinoma syndrome" en *J Dent Res.* 78, num. 7, pp. 1345-53.
- Maeda Y, Hirota J, Yoneda K, Osaki T (1990) "Immunohistochemical study of jaw cysts: different existence of keratins in odontogenic and non-odontogenic epithelial linings" en *J Oral Pathol Med* 19, pp. 289-94.
- Makowski GJ, MCGuff S, Van Sickels JE (2001) "Squamous cell carcinoma in a maxillary odontogenic keratocyst" en *J Oral Maxillofac Surg* 59, pp. 76-80.
- Marker P, Brøndum N, Clausen PP, Bastian HL (1996) "Treatment of large odontogenic keratocysts by decompression and later cystectomy" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 82, pp. 122-31.
- Matthews JB, Browne RM (1987) "An immunocytochemical study of the inflammatory cell infiltrate and epithelial expression of HLA-DR in odontogenic cysts" en *J Oral Pathol* 16, pp. 112-117.

Meara JG, Pilch BZ, Shah SS, Cunningham MJ (2000) "Cytokeratin expression in the odontogenic keratocyst" en *J Oral Maxillofac Surg* 58, pp. 862-865.

Meiselman F (1994) "Surgical Management of the Odontogenic keratocyst: conservative approach" en *J Oral Maxillofac Surg* 52, pp. 960-963.

Morgan TA, Burton ChC, Qian F (2005) "A retrospective review of treatment of the odontogenic keratocyst" en *J Oral Maxillofac Surg* 63, pp. 635-639.

Myoung H, Hong SP, Hong SD, Lee JI, Lim ChY, Choung PH, Lee JH, Choi JY, Seo BM, Kim MJ (2001) "Odontogenic keratocyst: review of 256 cases for recurrence and clinicopathologic parameters" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 91, pp. 328-33.

Nakamura N, Mitsuyasu T, Mitsuyasu Y, Taketomi T, Higuchi Y, Ohishi M (2002) "Marsupialization for odontogenic keratocysts: long-term follow-up analysis of the effects and changes in growth characteristics" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 94, pp. 543-53.

Nawshad AI, Savage NW, Young WG, Smyth I, Wicking C (2000) "Allelic losses in chromosome 9q22.3-31q in odontogenic keratocysts [abstract]" en *J Oral Pathol Med*. 29, p. 353.

Neville BW et al., (2002) en *Oral and maxillofacial pathology*. Segunda edición. Philadelphia, Saunders. Capítulo 15, "Odontogenic cysts and tumors" pp. 594-597.

Ninomlya T, Kubota Y, Koji T, Shirasuna K (2002) "Marsupialization inhibits interleukin-1 α expression and epithelial cell proliferation in odontogenic keratocysts" en *J Oral Pathol Med* 31, pp. 526-33.

Ohki K, Kumamoto H, Ichinohasama R, Sato T, Takahashi N, Ooya K (2004) "PTC gene mutations and expression of SHH, PTC, SMO, and GLI-1 in odontogenic keratocysts" en *Int J Oral Maxillofac Surg* 33, pp. 584-592.

Pavelic B, Levanat S, Crnic I, Kobler P, Anic I, Manojlovic S, Sutalo J (2001) "PTCH gene altered in dentigerous cysts" en *J Oral Pathol Med* 30, pp. 569-76.

Philippou S, Ruhl GH, Mandelartz E (1990) "Scanning electron microscopic studies and x-ray microanalysis of hyaline bodies in odontogenic cysts" en *J Oral Pathol Med* 19, pp. 447-52.

Piatelli A, Fioroni M, Santinelli A, Rubini C (1998) "Expression of proliferating cell nuclear antigen in ameloblastomas and odontogenic cysts" en *Oral Oncol*. 34, pp. 408-12.

Pogrel MA (1993) "The use of liquid nitrogen cryotherapy in the management of locally aggressive bone lesions" en *J Oral Maxillofac Surg* 51, pp. 269-273.

Pogrel MA (2003) "Decompression and marsupialization as a treatment for the odontogenic keratocyst" en *Oral Maxillofacial Surg Clin N Am.* vol. 15, num. 3, The Odontogenic Keratocyst, August 2003, pp. 415-27.

Pogrel MA, Jordan RCK (2004) "Marsupialization as a definitive treatment for the odontogenic keratocyst" en *J Oral Maxillofac Surg* 62, pp. 651-655.

Salmassy DA, Pogrel MA (1995) "Liquid nitrogen cryosurgery and immediate bone grafting in the management of aggressive primary jaw lesions" en *J Oral Maxillofac Surg* 53, pp. 784-790.

Sapp JP, Eversole LR, Wysocki GP (1998) en *Patología Oral y Máxilofacial Contemporánea*, Madrid, Ediciones Harcourt S.A. Quistes de las regiones orales. Quistes odontógenos, pp. 45-47.

Scharfetter K, Balz-Herrmann C, Lagrange W, Koberg W, Mittermayer C (1989) "Proliferation kinetics: study of the growth of keratocysts" en *J Craniomaxillofac Surg.* 17, pp. 226-32.

Schmidt BL (2003) "The use of liquid nitrogen cryotherapy in the management of the odontogenic keratocyst" en *Oral Maxillofacial Surg Clin N Am.* vol. 15, num. 3, The Odontogenic Keratocyst, August 2003, pp. 393-405.

Schmidt BL, Pogrel MA (2001) "The use of enucleation and liquid nitrogen cryotherapy in the management of odontogenic keratocysts" en *J Oral Maxillofac Surg.* 59, pp. 720-5.

Selvarajan S, Bay BH, Chng MJ, Tan PH (2004) "The Hercep Test and routine C-erbB-2 immunohistochemistry in breast cancer: any difference?" en *Ann Acad Med Singapore* 33, pp. 473-6.

Shear M (2003a) "Odontogenic keratocysts: clinical features" en *Oral Maxillofac Surg Clin N Am* vol. 15, num. 3, The Odontogenic Keratocyst, August 2003, pp. 335-345.

Shear M (2003b) "Odontogenic keratocysts: natural history and immunohistochemistry" en *Oral Maxillofac Surg Clin N Am* vol. 15, num. 3, The Odontogenic Keratocyst, August 2003, pp. 347-362.

Shear M (2002) "The aggressive nature of the odontogenic keratocyst: is it a benign cystic neoplasm? Part 3. Immunocytochemistry of cytokeratin and other epithelial cell markers" [abstract] en *Oral Oncol* 38, pp. 407-15.

Shear M (1994) "Developmental odontogenic cysts. An update" en *J Oral Pathol Med* 23, pp. 1-11.

Shrestha P, Yamada K, Higashiyama H, Mori M (1992) "Epidermal growth factor receptor in odontogenic cysts and tumors" [abstract] en *J Oral Pathol Med* 21, pp. 314-7.

Slootweg PJ (1995) "p53 protein and Ki-67 reactivity in epithelial odontogenic lesions: an immunohistochemical study" en *J Oral Pathol Med*. 24, pp. 393-7.

So F, Daley TD, Jackson L, Wysocki GP (2001) "Immunohistochemical localization of fibroblast growth factors FGF-1 and FGF-2, and receptors FGFR2 and FGFR3 in the epithelium of human odontogenic cysts and tumors" en *J Oral Pathol Med* 30, pp. 428-33.

Stenman G, Magnusson B, Lennartsson B, Juberg-Ode M (1986) "In vitro growth characteristics of human odontogenic keratocysts and dentigerous cysts" en *J Oral Pathol* 15, pp. 143-145.

Stoeltinga PJW. (2003a) "Etiology and pathogenesis of keratocyst" en *Oral Maxillofacial Surg Clin N Am*. vol. 15, num. 3, The Odontogenic Keratocyst, August 2003, pp. 317-24.

Stoeltinga PJW. (2003b) "Excision of the overlying, attached mucosa, in conjunction with cyst enucleation and treatment of the bony defect with Carnoy solution" en *Oral Maxillofacial Surg Clin N Am*. vol. 15, num. 3, The Odontogenic Keratocyst, August 2003, pp. 407-14.

Stoeltinga PJW (2001) "Long-term follow-up on keratocysts treated according to a defined protocol" en *Int J Oral Maxillofac Surg*. 30, pp. 14-25.

Stoeltinga PJW, Cohen MM Jr., Morgan AF (1975) "The origin of keratocysts in the basal cell nevus syndrome" en *J Oral Surg* 33, pp. 659-663.

Todd R., August M. (2003) "Molecular approaches to the diagnosis of Sporadic and Nevoid Basal Cell Carcinoma Syndrome-Associated Odontogenic Keratocysts" en *Oral Maxillofacial Surg Clin N Am*. vol. 15, num. 3, The Odontogenic Keratocyst, August 2003, pp. 447-61.

Williams TP, Connor FA (1994) "Surgical management of the odontogenic keratocyst: aggressive approach" en *J Oral Maxillofac Surg*. 52, pp. 964-6.

Wilson DF, Ross AS (1978) "Ultrastructure of odontogenic keratocysts" en *Oral Surg* vol. 45, num. 6, pp. 887-893.

Woolgar JA, Rippin JW, Browne RM (1987) "A comparative study of the clinical and histological features of recurrent and non-recurrent odontogenic keratocysts" en *J Oral Pathol* 16, pp. 124-128.

Workman P, Kaye SB (2002) "Translating basic cancer research into new cancer therapeutics" en *Trends in Molecular Medicine* vol. 8, num. 4 A trends guide to cancer therapeutics (Review) Suppl. 2002, pp. 1-18.

Zhang L, Rosin MP (2001) "Loss of heterozygosity: a potential tool in management of oral premalignant lesions?" en *J Oral Pathol Med* 30, pp. 513-20.

Zhao Y-F, Wei J-X, Wang S-P (2002) "Treatment of odontogenic keratocysts: a follow-up of 255 Chinese patients" en *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 94, pp. 151-6.

Zwick E, Hackel PO, Prenzel N, Ullrich A (1999) "The EGF receptor as central transducer of heterologous signalling systems" en *Trends in Pharmacological Sciences* vol. 20, num. 10, pp. 408-412.

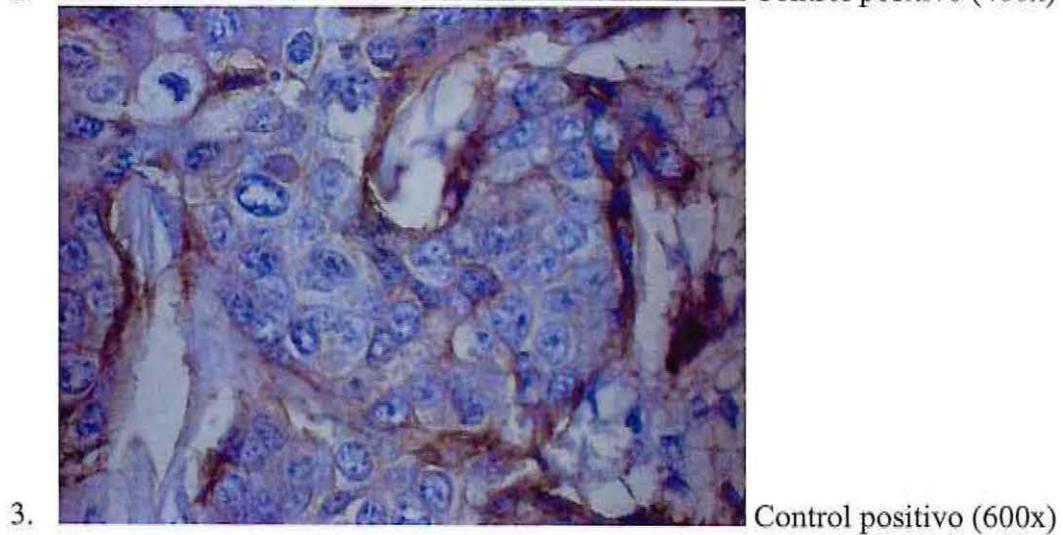
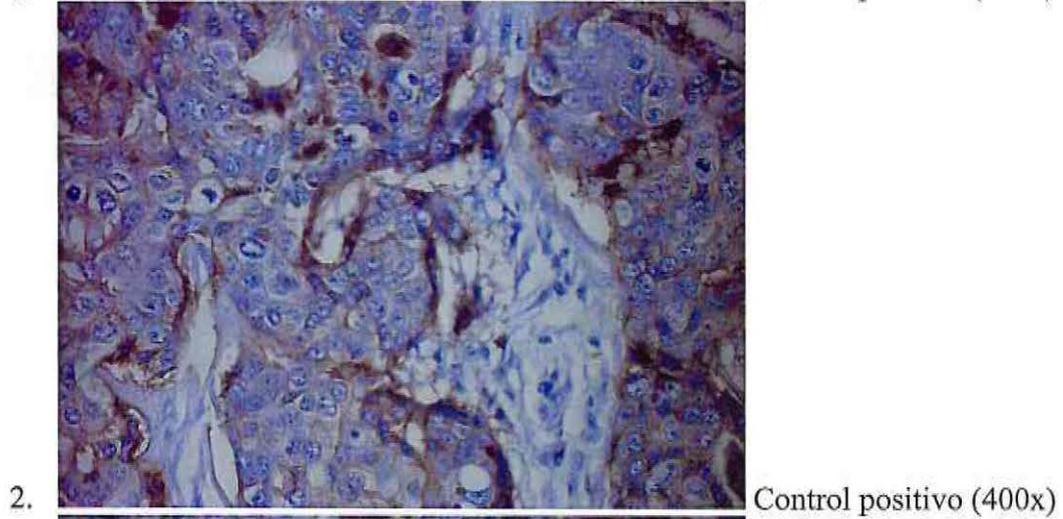
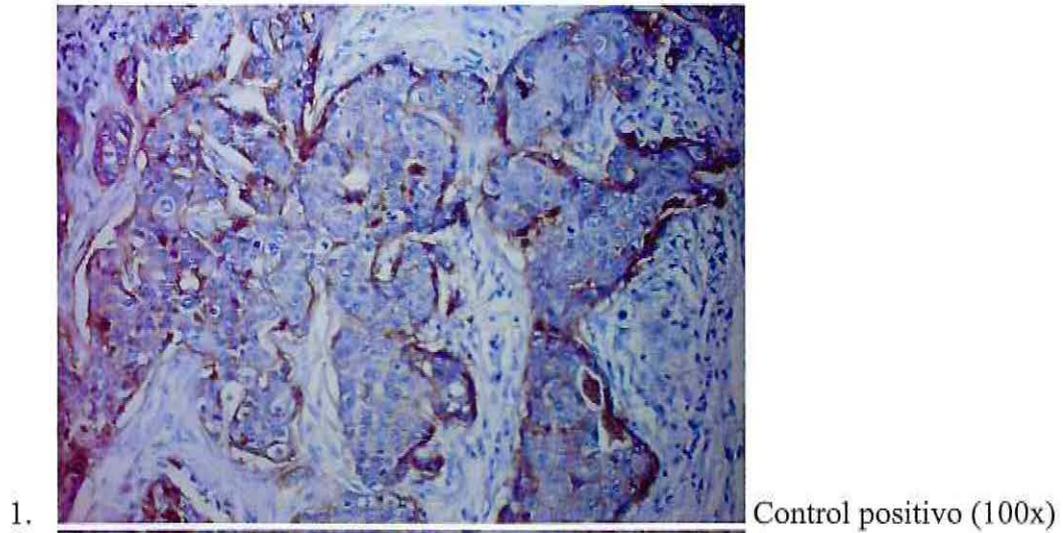
ANEXO

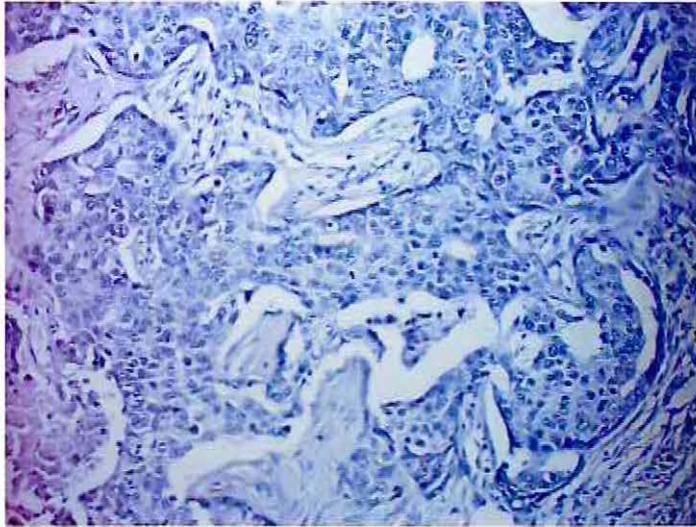
Control positivo y negativo de carcinoma de mama.

Imágenes tumores odontogénicos queratoquísticos c-erbB-2 positivos.

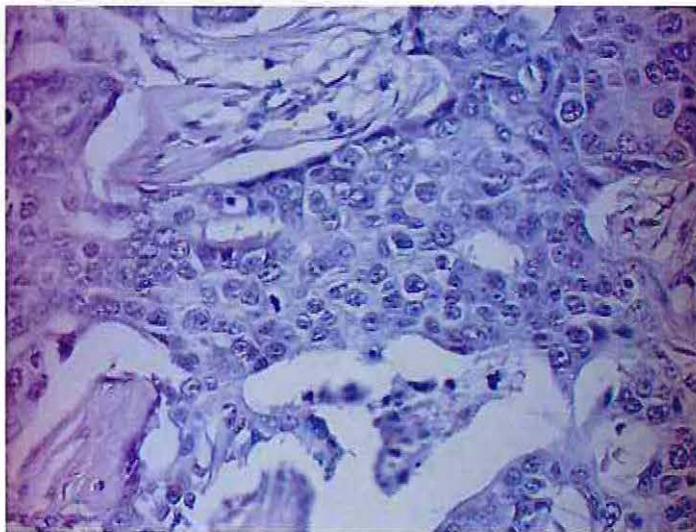
Imágenes controles negativos

Carcinoma de mama c-erbB-2 positivo

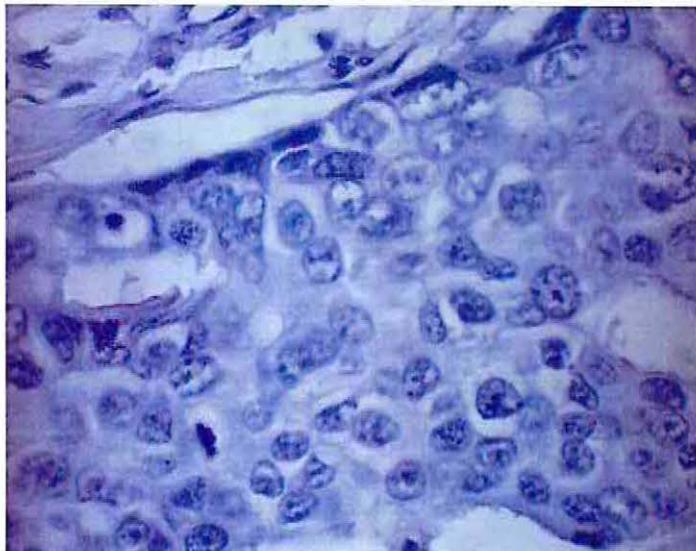




4. Control negativo (100x)

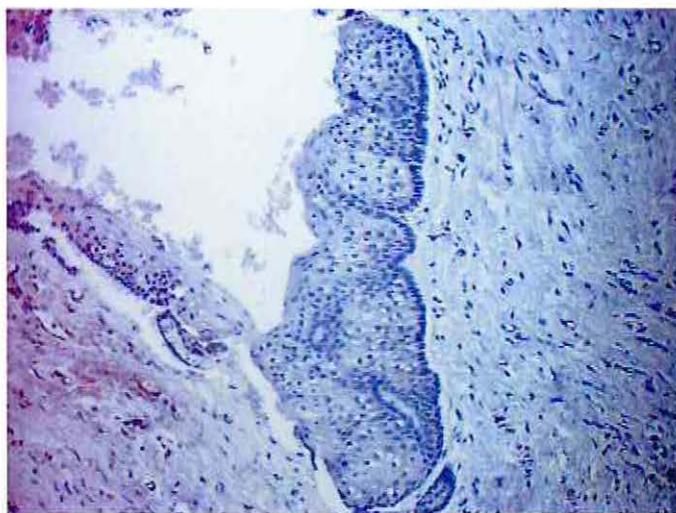


5. Control negativo (400x)



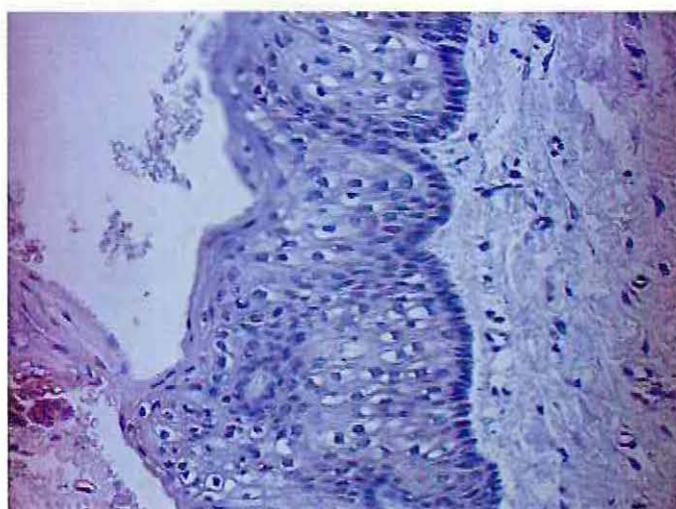
6. Control negativo (600x)

Tumor odontogénico queratoquístico c-erbB-2 positivo.
Tinción leve.



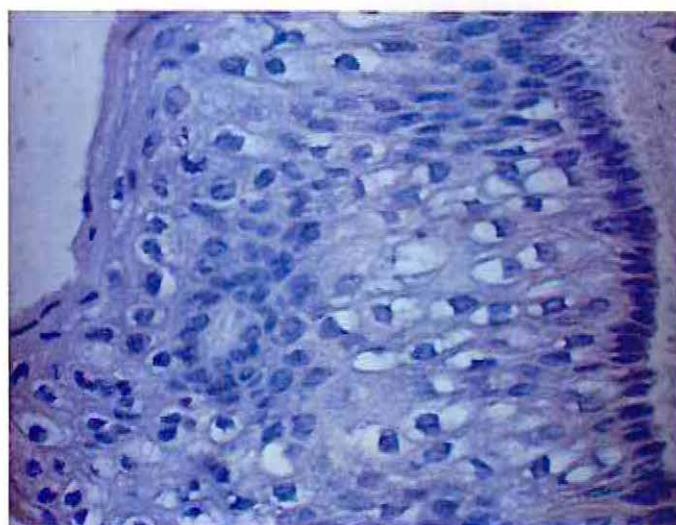
7.

Control positivo (100x)



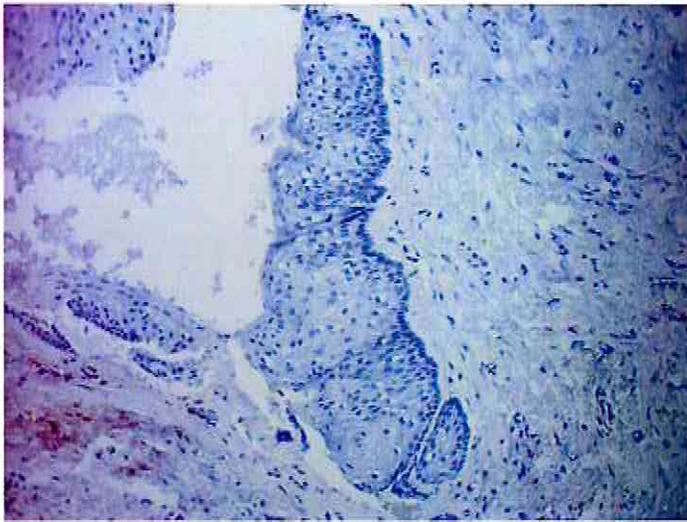
8.

Control positivo (400x)



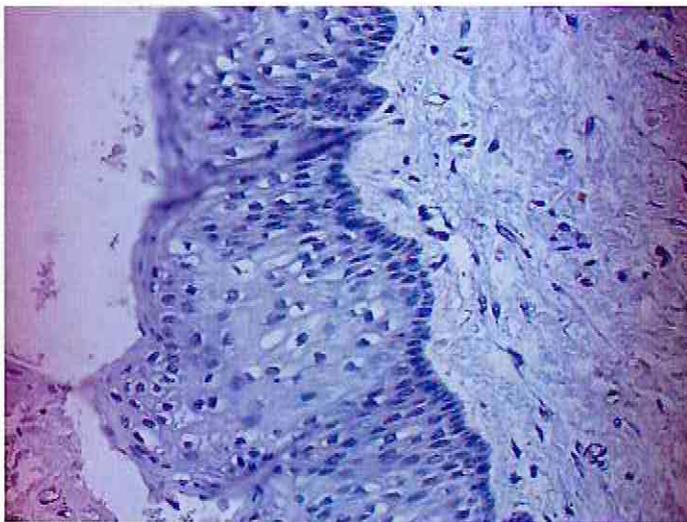
9.

Control positivo (600x)



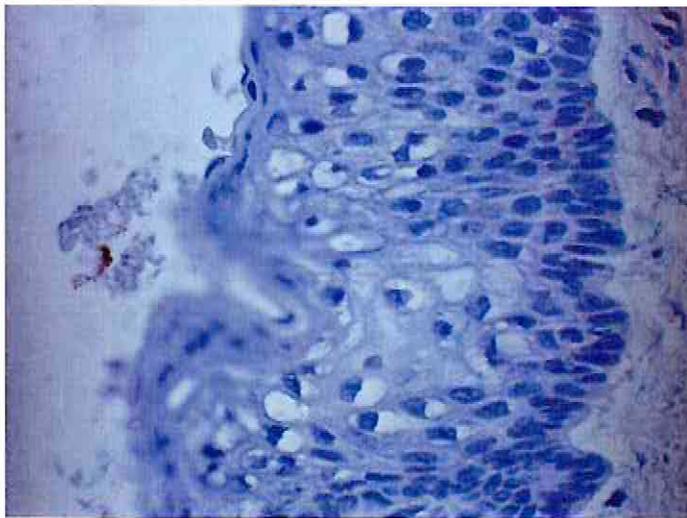
10.

Control negativo (100x)



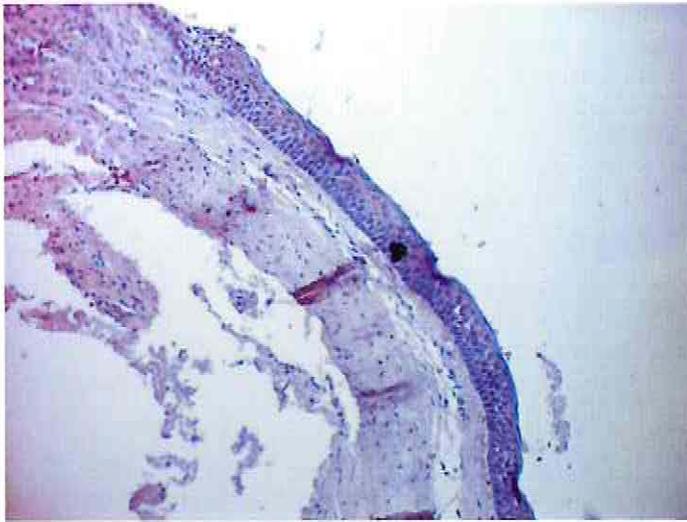
11.

Control negativo (400x)



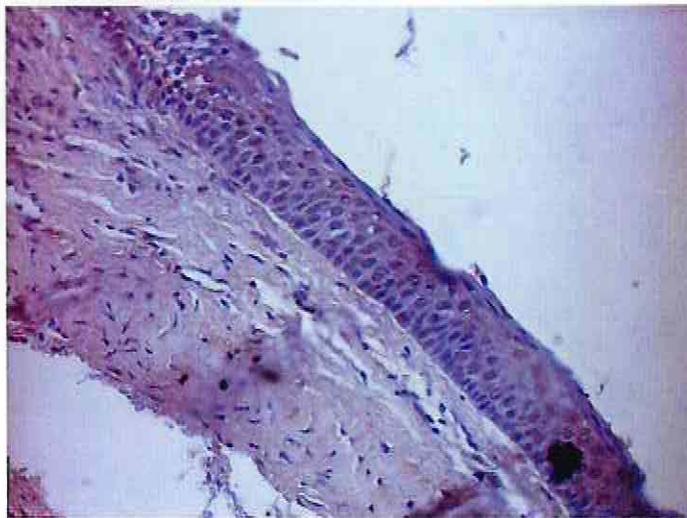
12.

Control negativo (600x)



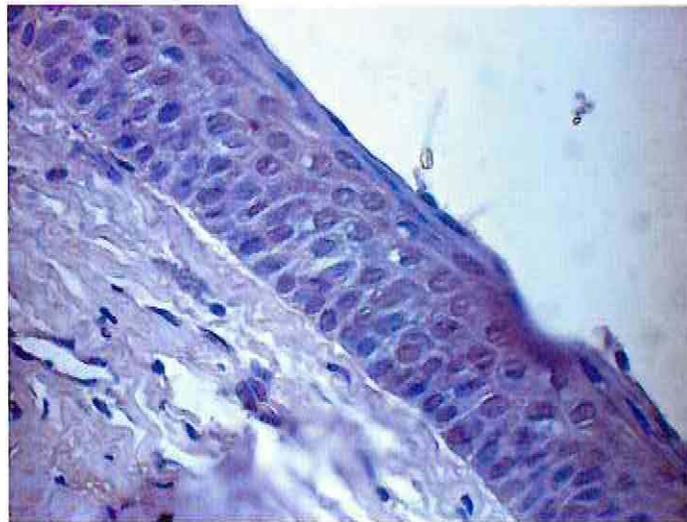
13.

Control positivo (100x)



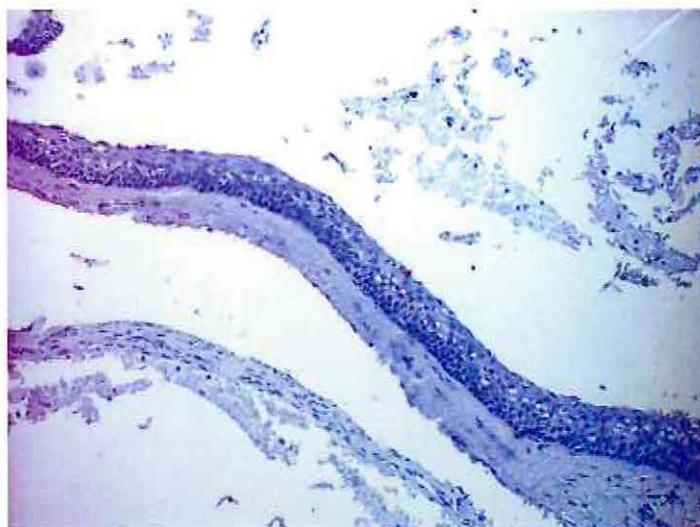
14.

Control positivo (400x)

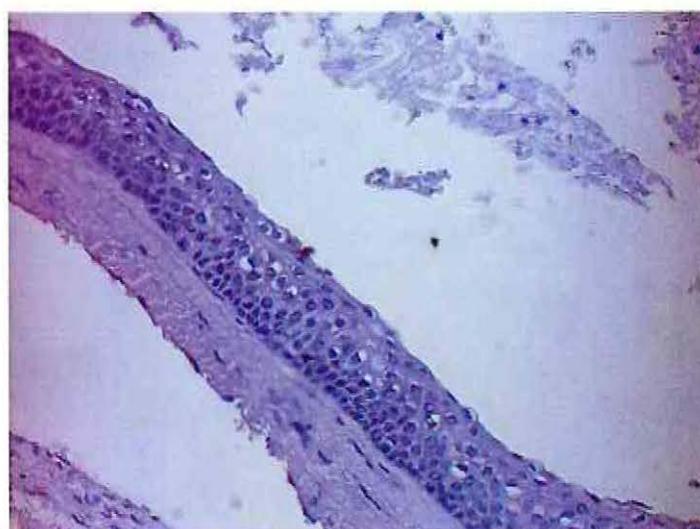


15.

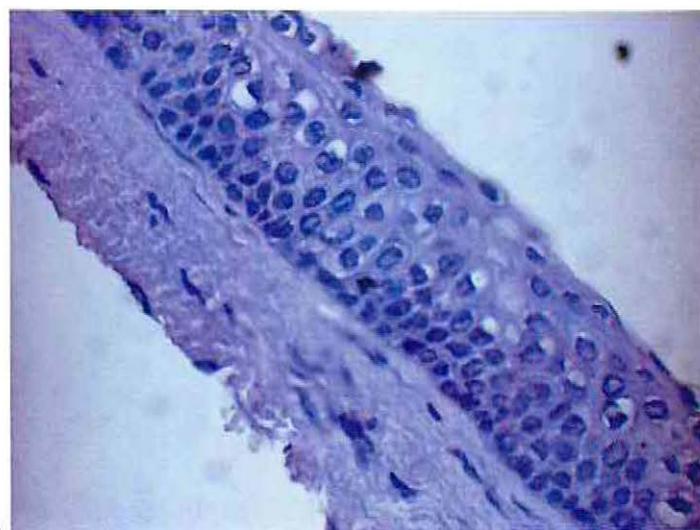
Control positivo (600x)



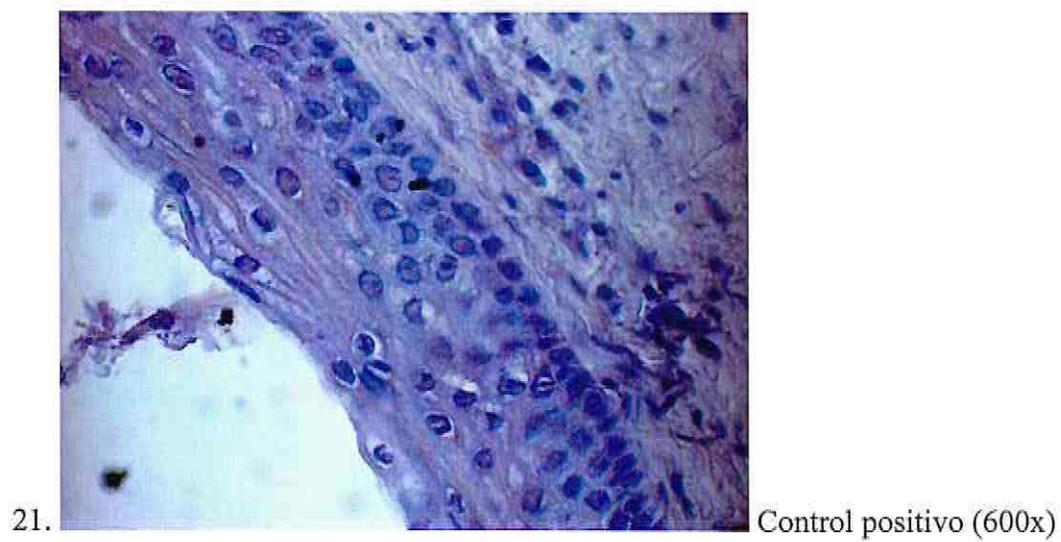
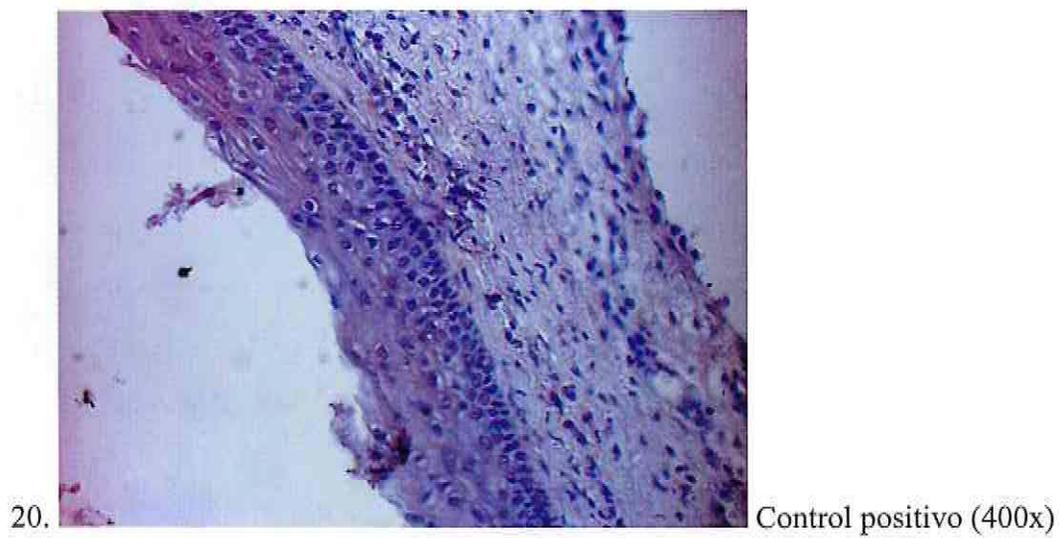
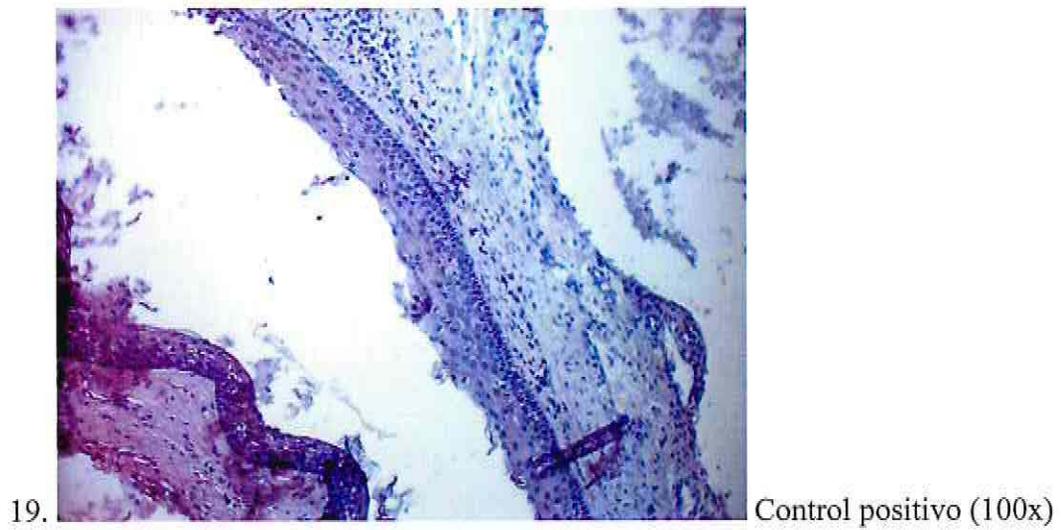
16. Control negativo (100x)

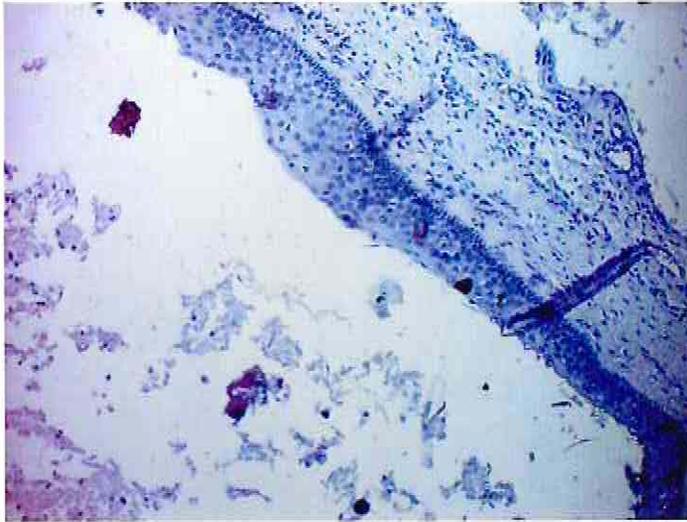


17. Control negativo (400x)



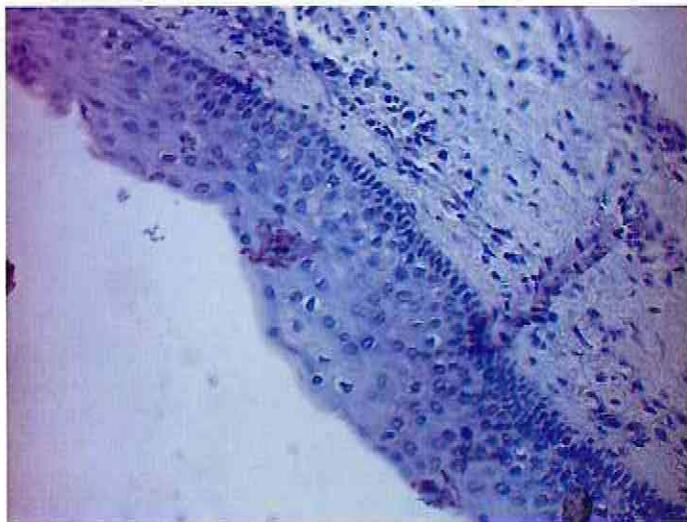
18. Control negativo (600x)





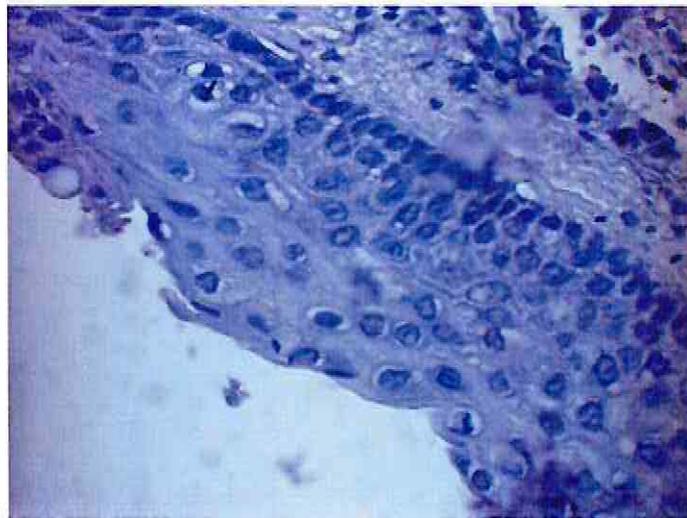
22.

Control negativo (100x)



23.

Control negativo (400x)



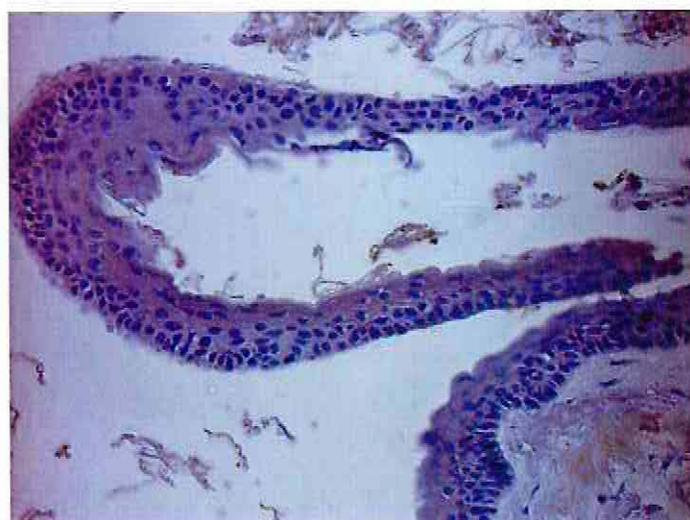
24.

Control negativo (600x)



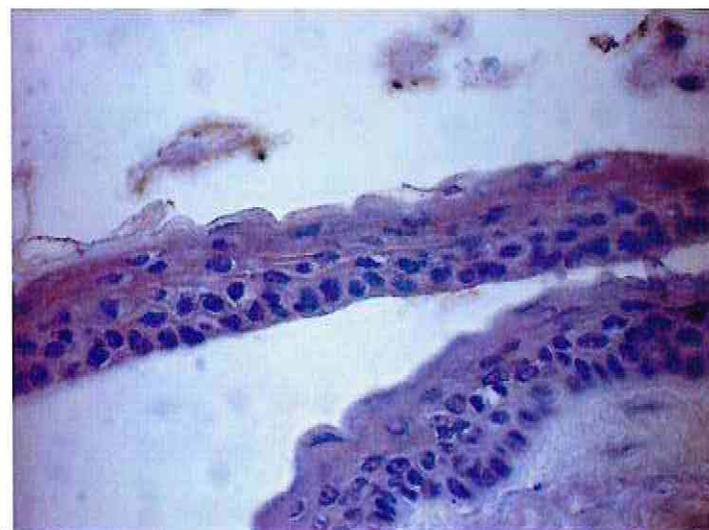
25.

Control positivo (100x)



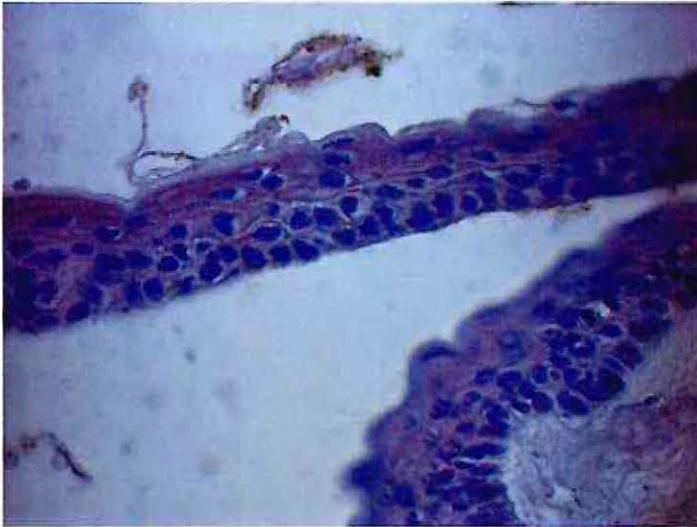
26.

Control positivo (400x)



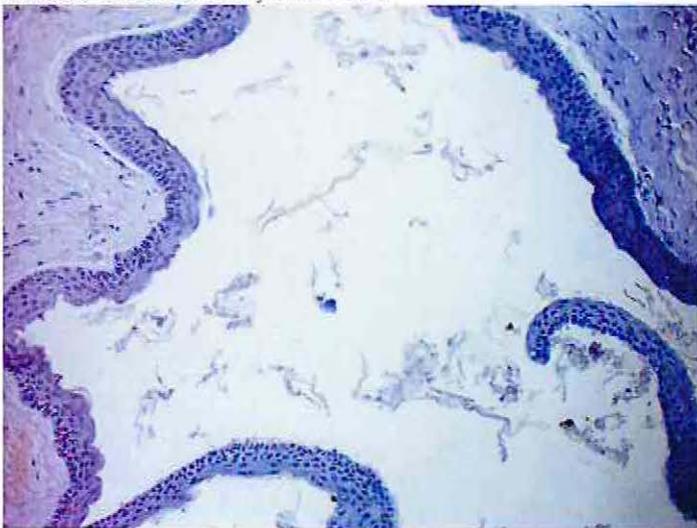
27.

Control positivo (600x)

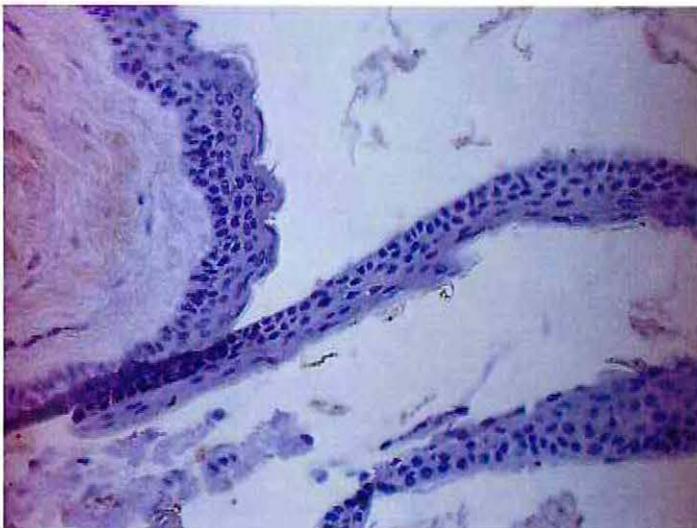


28. Control positivo (600x)

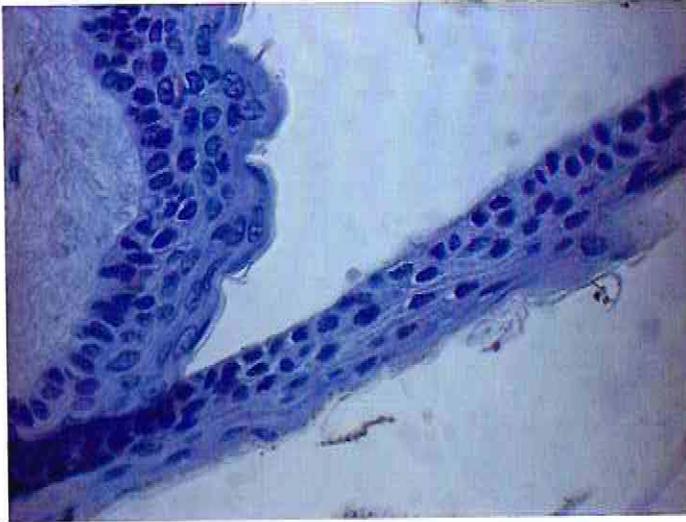
mismo caso foto 28, otra zona



29. Control negativo (100x)

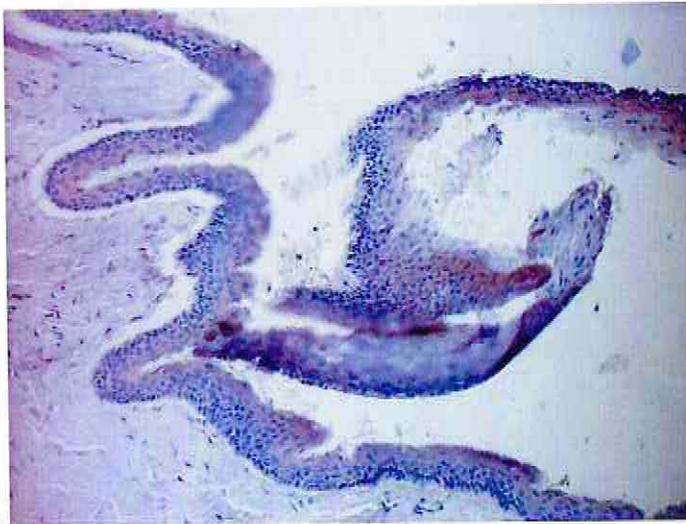


30. Control negativo (400x)



31.

Control negativo (600x)



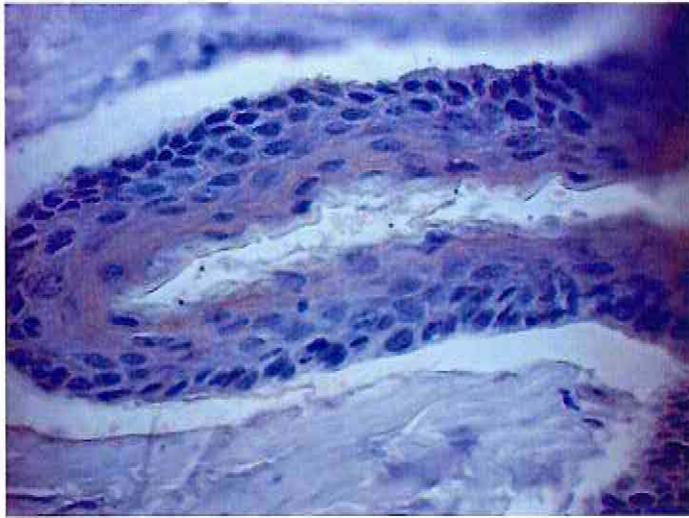
32.

Control positivo (100x)



33.

Control positivo (400x)



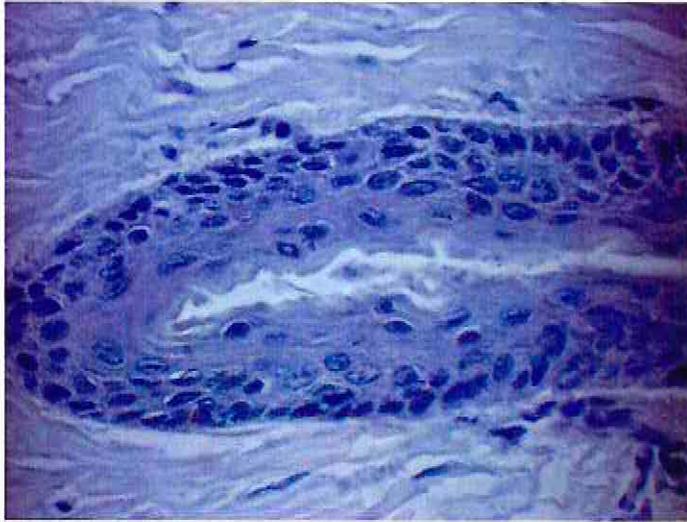
34. Control positivo (600x)



35. Control negativo (100x)

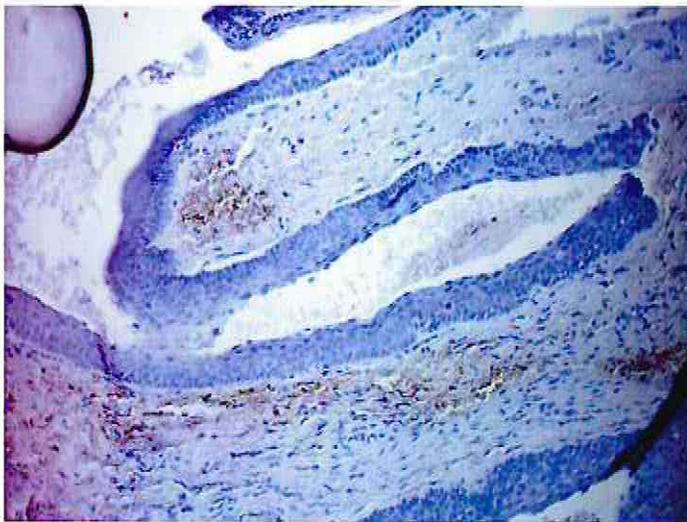


36. Control negativo (400x)



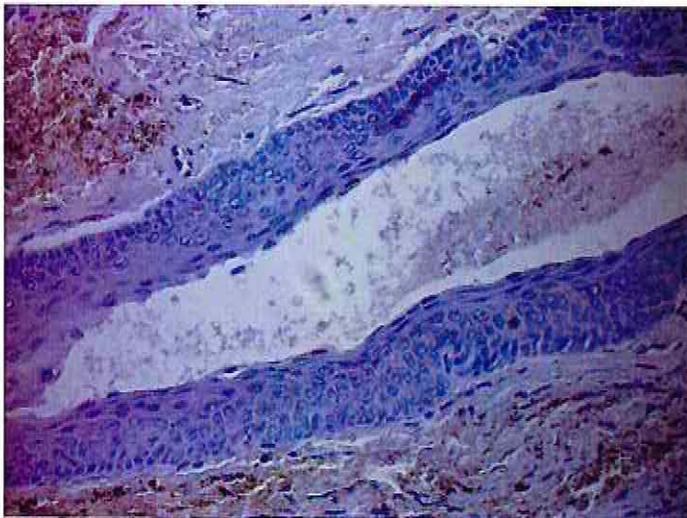
37.

Control negativo (600x)



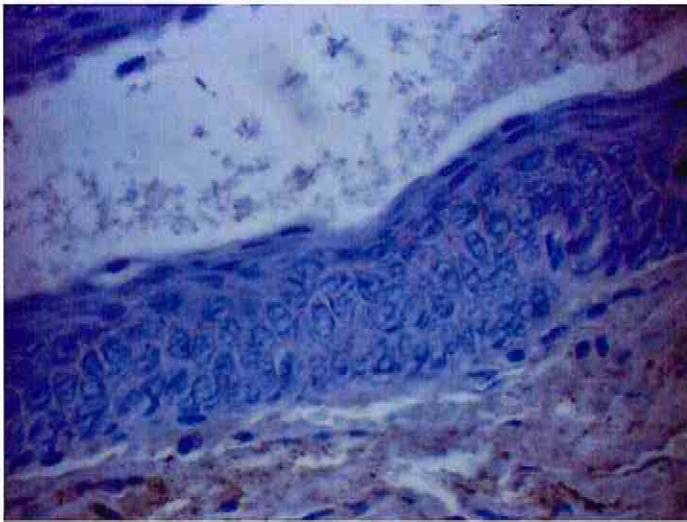
38.

Control positivo (100x)



39.

Control positivo (400x)



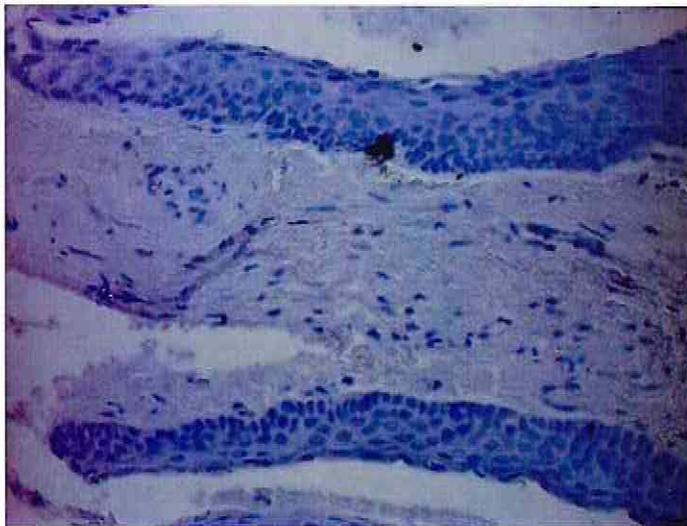
40.

Control positivo (600x)



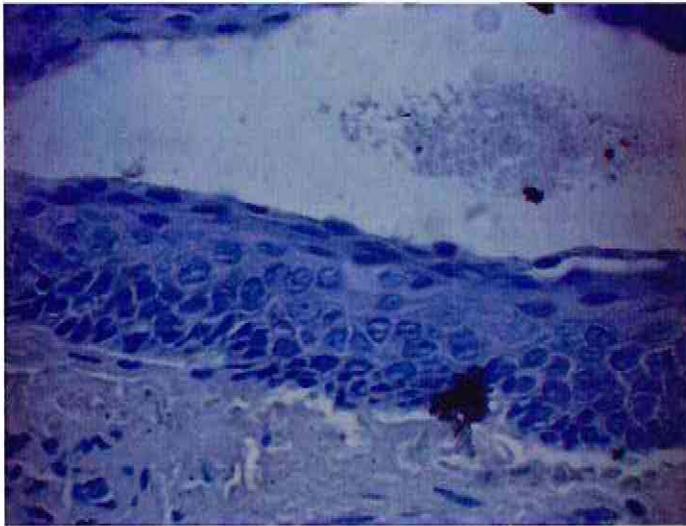
41.

Control negativo (100x)



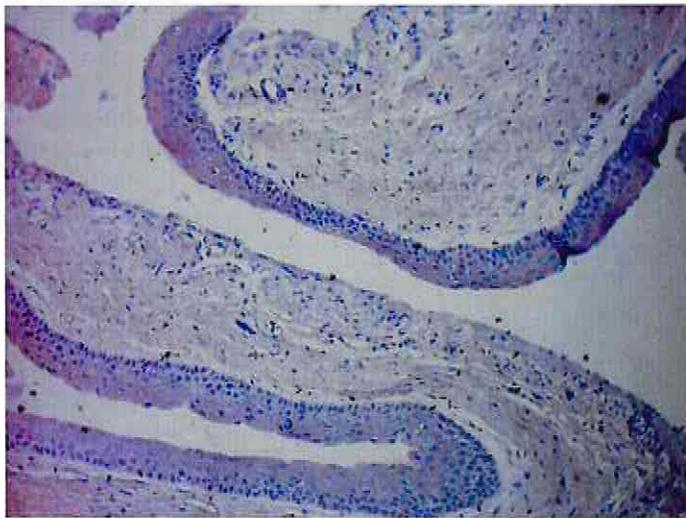
42.

Control negativo (400x)



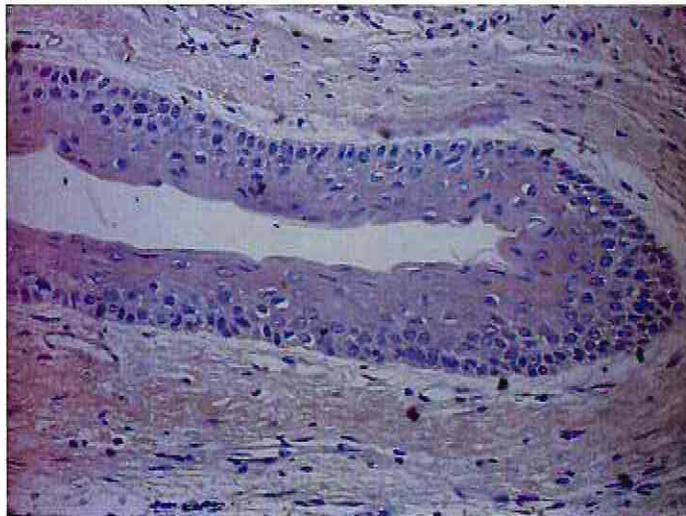
43.

Control negativo (600x)



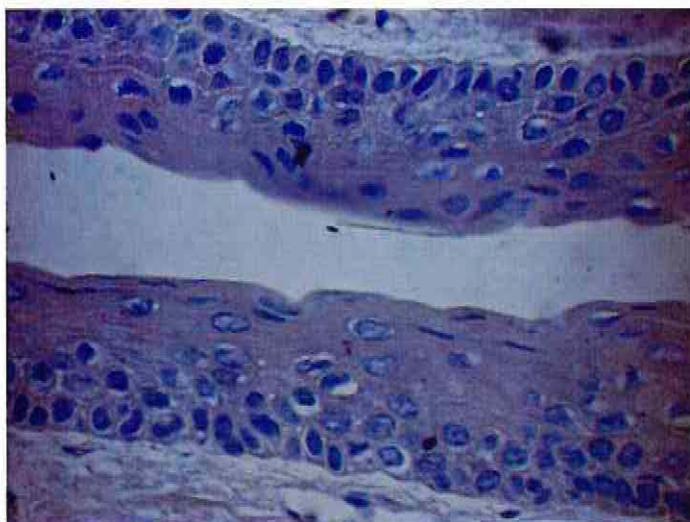
44.

Control positivo (100x)



45.

Control positivo (400x)



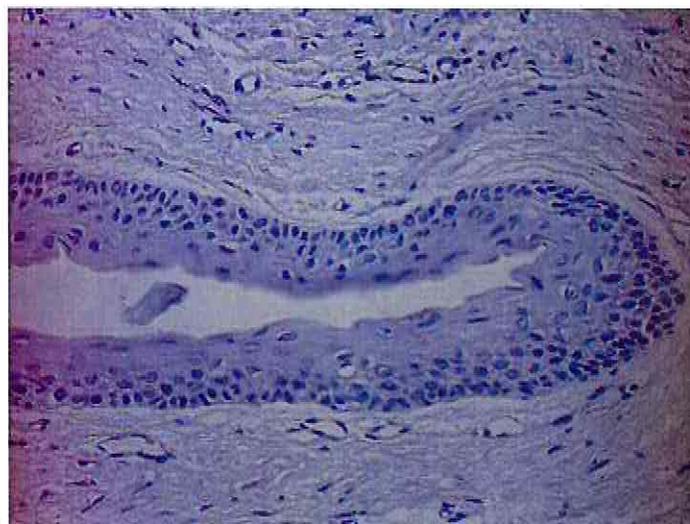
46.

Control positivo (600x)



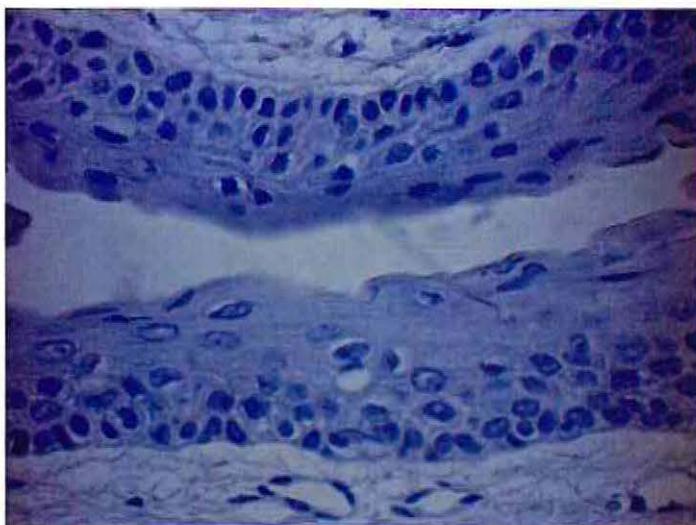
47.

Control negativo (100x)



48.

Control negativo (400x)



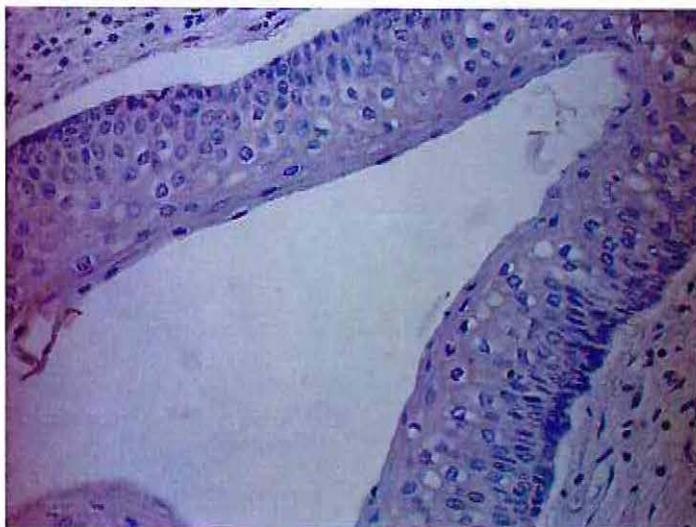
49.

Control negativo (600x)



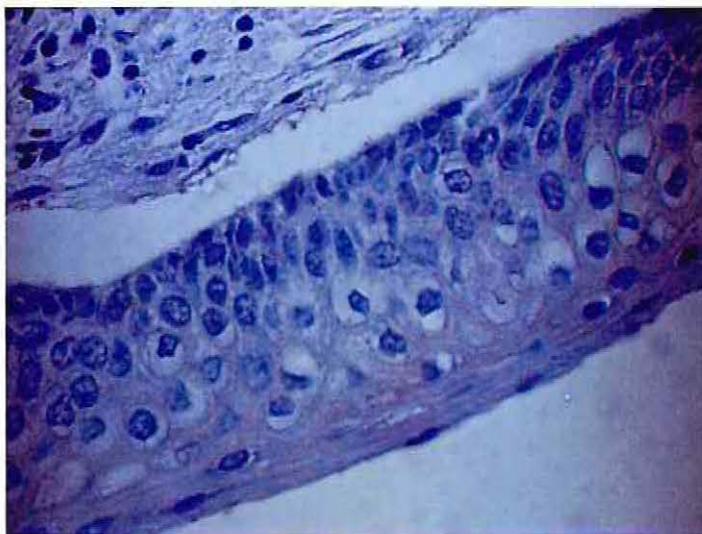
50.

Control positivo (100x)



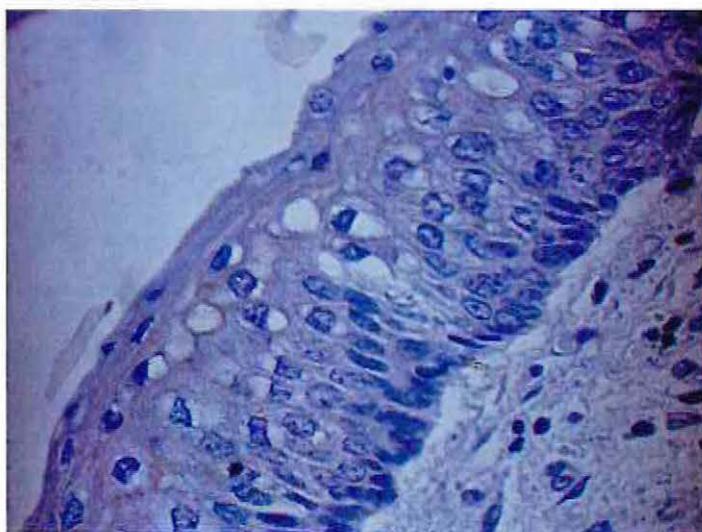
51.

Control positivo (400x)



52.

Control positivo (600x)



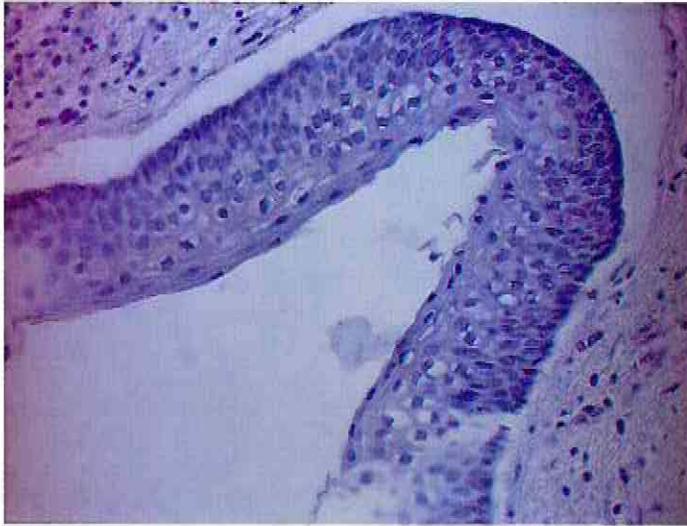
53.

Control positivo (600x)



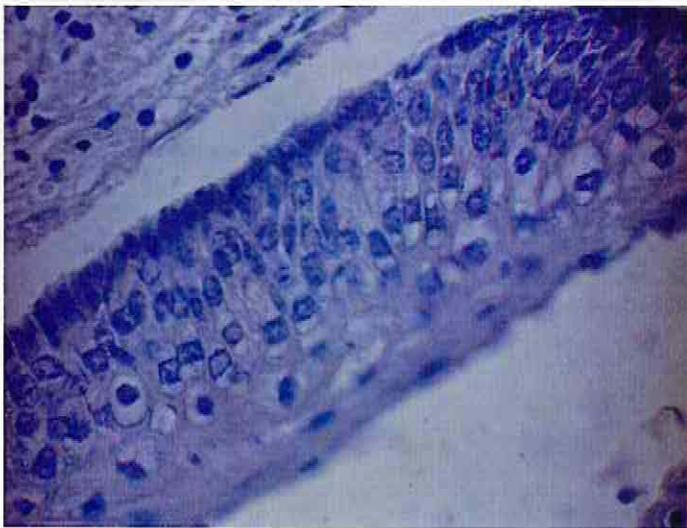
54.

Control negativo (100x)



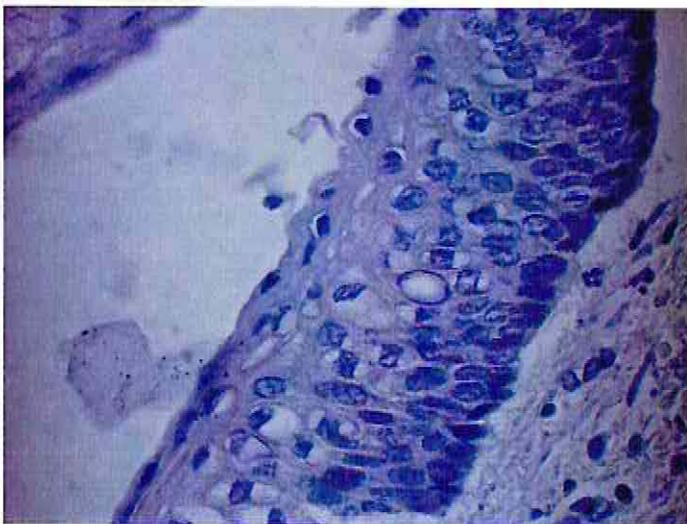
55.

Control negativo (400x)



56.

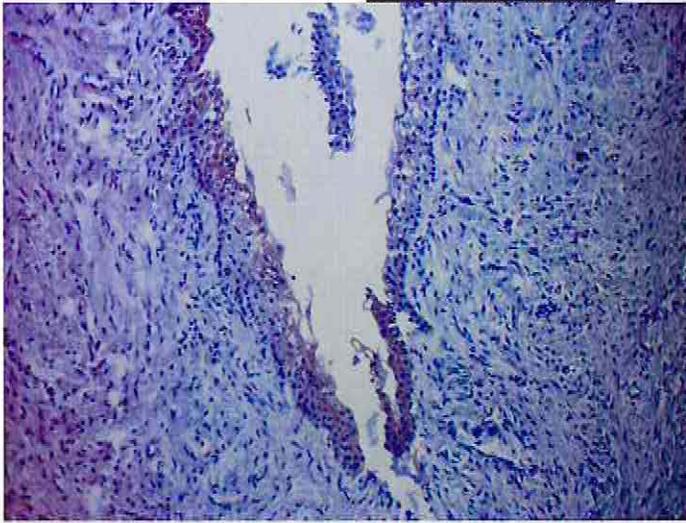
Control negativo (600x)



57.

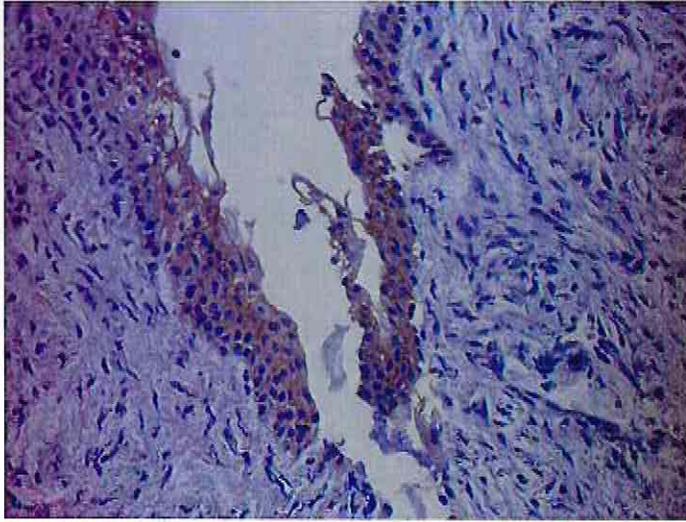
Control negativo (600x)

Tumor odontogénico queratoquístico c-erbB-2 positivo.
Tinción moderada.



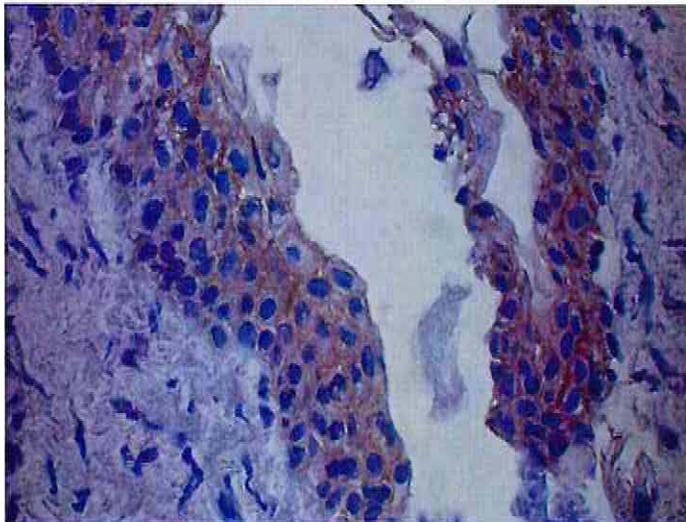
58.

Control positivo (100x).



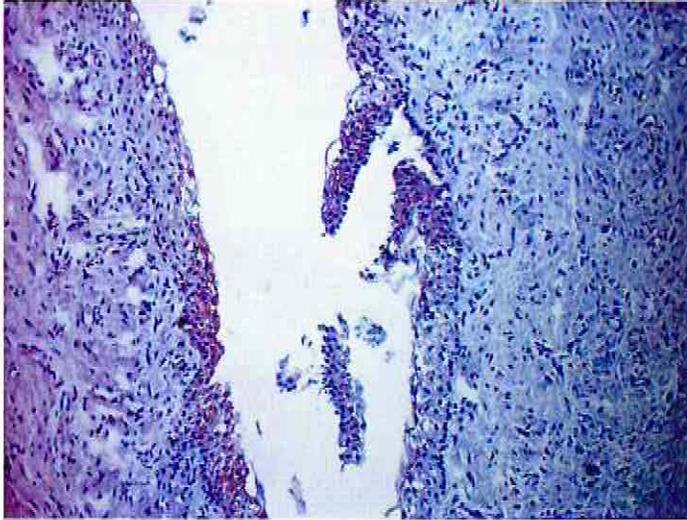
59.

Control positivo (400x)

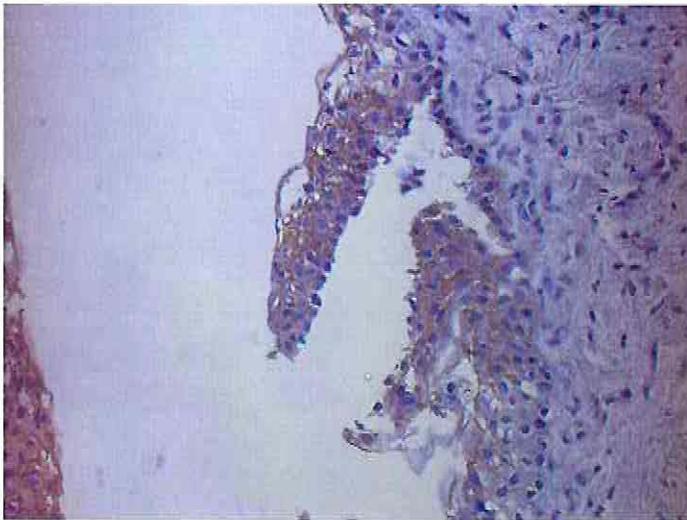


60.

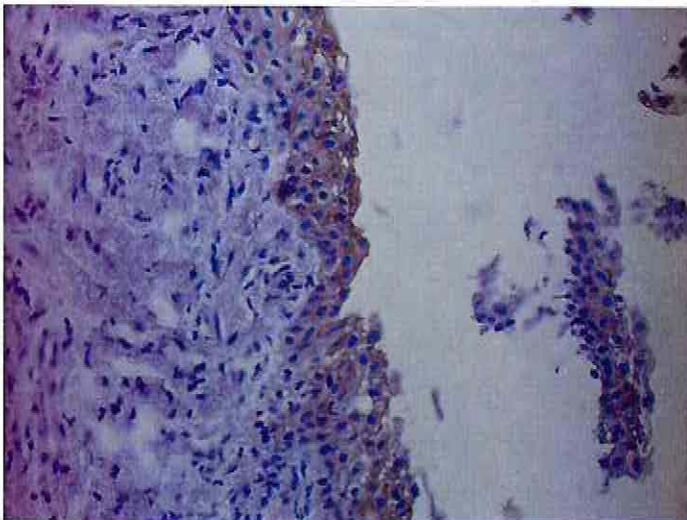
Control positivo (600x)



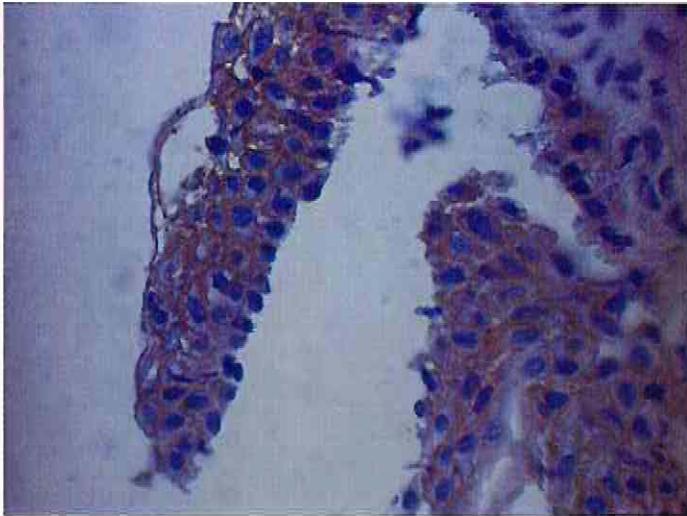
61. Control positivo (100x)



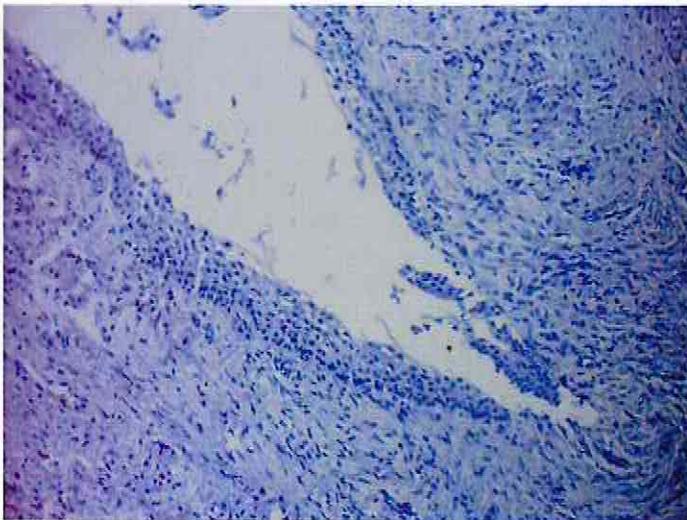
62. Control positivo (400x)



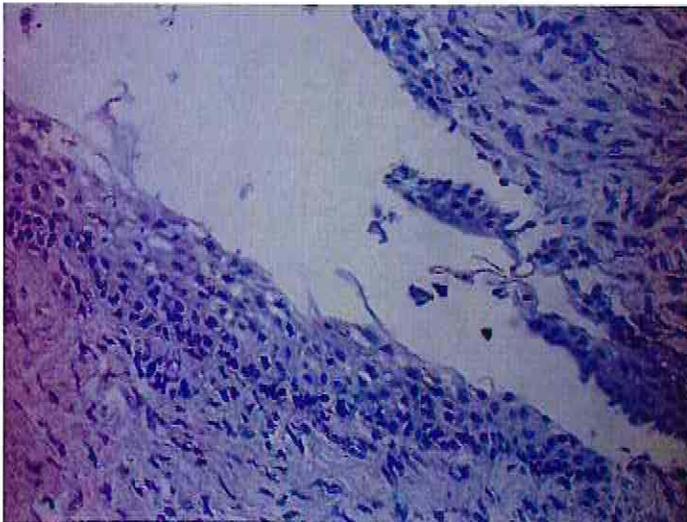
63. Control positivo (400x)



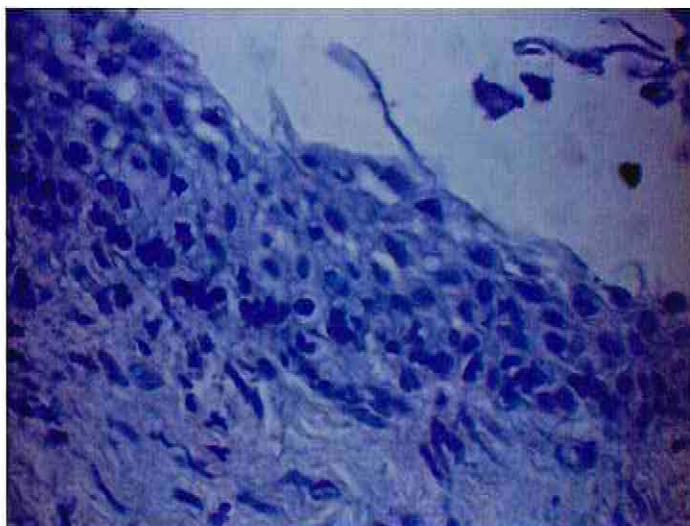
64. Control positivo (600x)



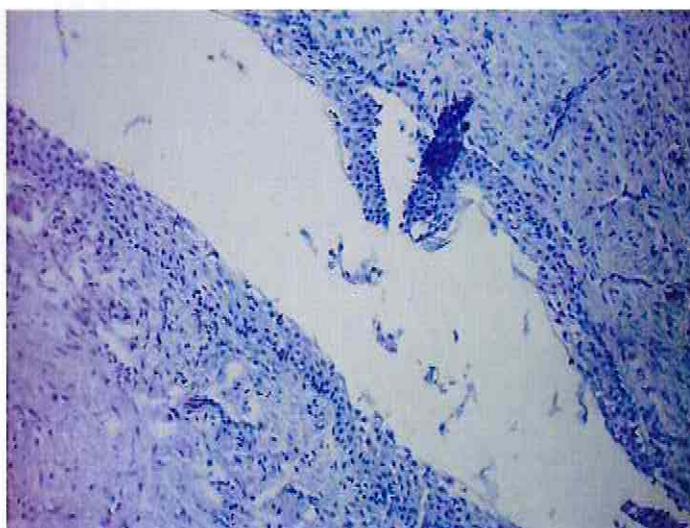
65. Control negativo (100x)



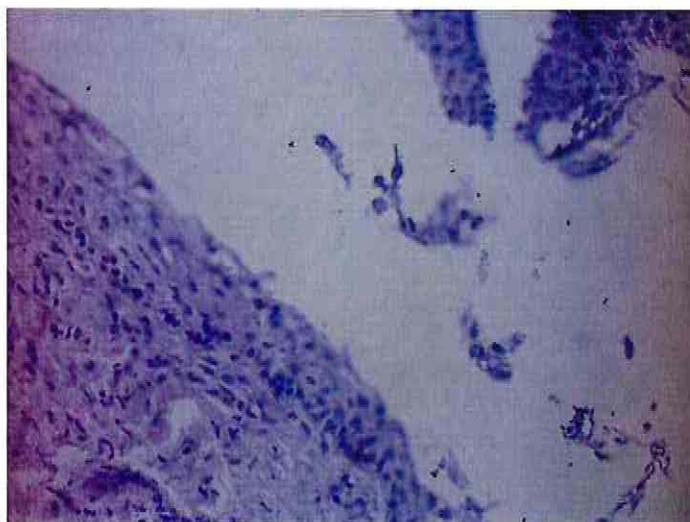
66. Control negativo (400x)



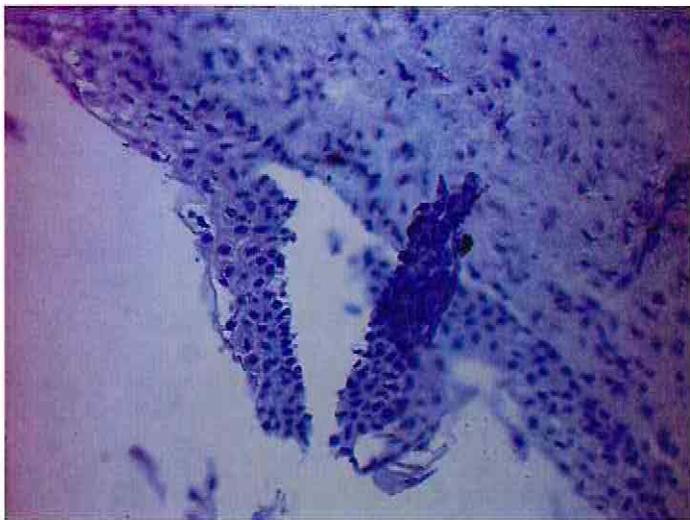
67. Control negativo (600x)



68. Control negativo (100x)

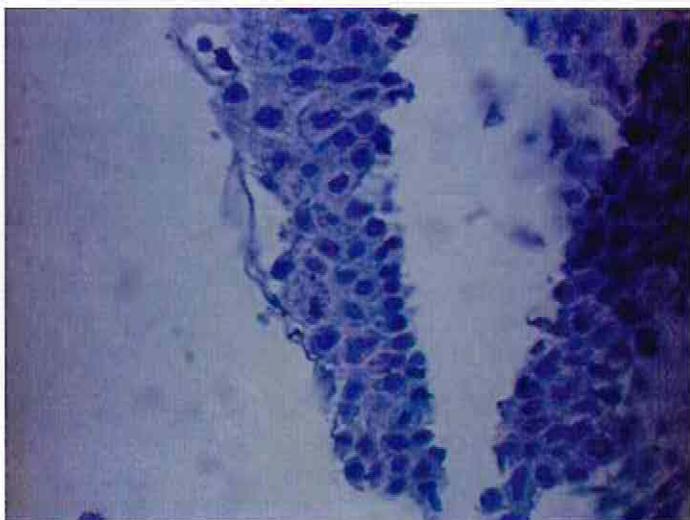


69. Control negativo (400x)



70.

Control negativo (400x)



71.

Control negativo (600x)