

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Caracterización del órgano yuxtaoral

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Antonio José Mérida García

DIRECTORES

Prof. Dr. José Ramón Mérida Velasco
Prof. Dr. José Antonio Vega Álvarez

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

CARACTERIZACIÓN DEL ÓRGANO YUXTAORAL

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Antonio José Mérida García

DIRECTORES

Prof. Dr. José Ramón Mérida Velasco

Prof. Dr. José Antonio Vega Álvarez

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA

PROGRAMA DE DOCTORADO
INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS MÉDICO-QUIRÚRGICAS



CARACTERIZACIÓN DEL ÓRGANO YUXTAORAL

TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR
ANTONIO JOSÉ MÉRIDA GARCÍA

DIRECTORES
PROF. DR. JOSÉ RAMÓN MÉRIDA VELASCO
PROF. DR. JOSÉ ANTONIO VEGA ÁLVAREZ

Madrid, 2022

A mi familia.

AGRADECIMIENTOS

Quiero comenzar expresando mi agradecimiento a los Directores de este trabajo de Tesis Doctoral, que finalmente hoy ve la luz, Prof. Mérida Velasco y Prof. J.A. Vega Álvarez, pues con su constancia y dedicación me han ido adentrando en este apasionante mundo de la investigación morfológica básica del que difícilmente se puede salir una vez que se penetra en él. Este agradecimiento es doble porque no sólo me han dado en todo momento su estímulo, consejo y dirección, sino que además me han ido introduciendo en todo lo que supone la metódica y sistemática que hay que seguir a la hora de realizar un trabajo de investigación. Todo ello ha dejado una huella imborrable y nunca podré olvidar lo que significa un verdadero Maestro.

Quiero, de igual forma, expresar mi agradecimiento a J. Suárez Quintanilla, B. Martín Biedma, J.C. de Vicente, L.M. Junquera y al Grupo de investigación SINPO de la Universidad de Oviedo, del que forman parte J. Martín Cruces y J.L. Cobo, ya que fruto de nuestra colaboración se pudo llevar a cabo la publicación sobre el órgano yuxtaoral en la revista *Annals of Anatomy*. Por motivos análogos, ha de quedar aquí plasmado mi agradecimiento a los miembros del Grupo de Investigación 920202 de la Universidad Complutense de Madrid, con los que he colaborado, J.A. Murillo González, L.A. Arráez Aybar, E. Martínez Sanz y J. Catón, así como a J. Martín Cruces, del Grupo de investigación SINPO de la Universidad de Oviedo, y a T. Cobo, del Departamento de Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas de la Universidad de Oviedo, con los que he firmado el artículo publicado en *Oral Diseases*.

Quiero mostrar mi especial gratitud a la Profa. E. Martínez Sanz, ya que sus consejos y ayuda han sido esenciales a la hora de elaborar esta memoria. Muchas gracias, Elena.

Un agradecimiento especial, también, para Alicia Cerro y Dolores Arroyo, por su paciencia y buen hacer en el procesamiento de las muestras en el laboratorio del Departamento de Anatomía y Embriología de la Universidad Complutense de Madrid.

Finalmente, agradecer muy sinceramente a todas las personas que donaron sus cuerpos a la ciencia y permitieron llevar a cabo este trabajo. Los resultados de las investigaciones anatómicas pueden aumentar nuestros conocimientos y mejorar la atención a los futuros pacientes; por ello, los donantes y sus familias merecen nuestra mayor gratitud siempre.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	3
RESUMEN	7
SUMMARY	13
INTRODUCCIÓN	19
Preámbulo	19
Antecedentes históricos	20
Embriología.....	21
Anatomía	26
Histología.....	31
Patología.....	34
JUSTIFICACIÓN	39
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	43
HIPÓTESIS	43
OBJETIVO GENERAL.....	44
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
MATERIAL Y MÉTODOS	47
Material Fetal	47
Material Adulto	47
Procedimientos de disección.....	48
Procedimientos histológicos.....	51
Inmunohistoquímica convencional de muestras fetales	52
Inmunofluorescencia en muestras fetales	54
Inmunohistoquímica de muestras de adulto.....	55

RESULTADOS	59
Resultados en especímenes fetales.....	59
Estudio histológico.....	59
Estudio inmunohistoquímico.....	61
Resultados en especímenes adultos.....	64
Estudio macroscópico.....	64
Estudio histológico.....	66
Inmunohistoquímica y tinción con rojo picosirius.....	66
DISCUSIÓN	71
Aspectos macroscópicos en adultos.....	71
Aspectos histológicos del JOO	75
Parénquima.....	75
Estroma.....	79
Características ontogénicas del estroma	80
Colágeno y Órgano yuxtaoral	82
Inervación y vascularización	85
Aspectos inmunohistoquímicos.....	86
Aspectos funcionales del órgano yuxtaoral.....	88
Patología.....	91
CONCLUSIONES	97
BIBLIOGRAFÍA	101
PUBLICACIONES DERIVADAS DE ESTA TESIS DOCTORAL	117
• Mérida-García, A. J., Murillo-González, J., Martínez-Sanz, E., Catón, J., Arráez-Aybar, L. A., Martín-Cruces, J., Cobo, T., Vega, J. A., y Mérida-Velasco, J. R. (2021). Functional hypothesis of the juxtaoral organ: Role of collagens type I and III. <i>Oral Diseases</i> . https://doi.org/10.1111/odi.13959	
• Suárez-Quintanilla, J., Martín-Cruces, J., Martín-Biedma, B., Cobo, J. L., Mérida-García, A. J., de Vicente, J. C., Junquera, L. M., Mérida-Velasco, J. R., y Vega, J. A. (2020). The juxta-oral organ of Chievitz (organum yuxtaorale) updated: Embryology, anatomy, function and pathology. <i>Annals of Anatomy</i> , 232, 151582. https://doi.org/10.1016/j.aanat.2020.151582	

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

- ASIC Canales ASIC (del inglés: *acid-sensing ion channels*)
- *Bmp7* *Bone Morphogenetic Protein 7*
- CD34 Cúmulo de diferenciación 34, antígeno de células progenitoras hematopoyéticas (del inglés: *Cluster of Differentiation 34*)
- CKs Citoqueratinas
- DAB Diaminobencidina
- E Día de gestación (del inglés: *Embryonic day*)
- EE. UU. Estados Unidos de Norteamérica
- EGF Factor de crecimiento epidérmico (del inglés: *epidermal growth factor*)
- GFAP Proteína ácida fibrilar glial (del inglés: *glial fibrillary acidic protein*)
- GL Longitud mayor (del inglés: *Greatest Length*)
- Glut1 Transportador anti-glucosa1 (del inglés: *anti-glucose transporter1*)
- h hora/s
- IF Filamentos intermedios (del inglés: *Intermediate filaments*)
- H&E Hematoxilina y eosina (tinción histológica)
- HNK-1 Asesino natural humano-1 (del inglés: *human natural killer-1*)
- IgG Inmunoglobulina G
- JCR *Journal Citation Reports*
- JOO Órgano yuxtaoral (del inglés, *Juxta-oral Organ*)
- kDa kiloDalton
- Ki67 Marcador nuclear de proliferación celular
- M Molar
- m. Músculo
- μ m Micrómetros
- min. Minutos
- mm Milímetros
- mM miliMolar
- NF Neurofilamento (del inglés: *neurofilament*)
- NGF Factor de crecimiento nervioso (del inglés: *nerve growth factor*)
- nM nanoMolar
- NSE Enolasa específica de neuronas (del inglés: *neuron-specific enolase*)
- NFP Proteínas de los neurofilamentos (del inglés: *neurofilament proteins*)
- P0 *Post-gestation day 0*

Abreviaturas 4

- p63 Marcador nuclear de proliferación celular
- panCK Pancitoqueratina
- PAS Tinción con Ácido periódico de Schiff (del inglés: Periodic Acid-Schiff)
- PBS Solución salina tamponada con fosfato (del inglés: *phosphate buffered saline*)
- PGP9.5 Producto genético proteico 9,5 (del inglés: *Protein Gene Product 9.5*)
- PIEZO2 Componente 2 del canal de iones mecanosensibles de tipo piezoeléctrico (del inglés: *Piezo Type Mechanosensitive Ion Channel Component 2*)
- PSR Tinción con rojo picrosirius (del inglés: *Picrosirius red*)
- S100P Proteína S100 (del inglés: *S100 Protein*)
- TBS Solución salina de Tris (del inglés: *Tris-Buffered Saline*)
- TGF Factor de crecimiento transformante (del inglés: *transforming growth factor*)
- TRPV Receptor de potencial transitorio V1 (del inglés: *transient receptor potential vanilloid*)
- VC Vértex-Cóccix
- °C Grados centígrados (*Celsius*)

RESUMEN

RESUMEN

CARACTERIZACIÓN DEL ÓRGANO YUXTAORAL

Antecedentes y objetivos

El órgano yuxtaoral (JOO) es una estructura constante, bilateral, que se sitúa en la región infratemporal. A pesar de haber sido descrito hace 137 años por Johan Henrik Chievitz, son muy escasos los trabajos que se han llevado a cabo para estudiarlo, por lo que algunos aspectos de su morfología, organización y función aún hoy en día no están totalmente aclarados.

El parénquima del JOO deriva del epitelio de la boca primitiva, del que se desconecta durante el desarrollo. En ratas, el mesénquima que constituye su estroma parece derivar de las células de la cresta neural. Además, está localizado en la región de los músculos masticadores y está –desde el comienzo de su desarrollo– en relación con el nervio bucal, del que recibe inervación.

En adultos, tiene forma fusiforme de 7-17 mm de longitud y 2 mm de grosor, aproximadamente. Su aspecto macroscópico es el de una fibra conectiva o un filete nervioso. Su extremo posterior se dispone entre el músculo pterigoideo medial y el rafe pterigomandibular. Su extremo anterior, entre la mandíbula y el músculo buccinador, caudal a la desembocadura del conducto parotídeo. Está inervado por 2-4 filetes nerviosos del nervio bucal. A pesar de esta exhaustiva descripción hay confusión en su localización, ya que la mayoría de los estudios se han realizado sobre piezas de biopsias de la región.

Histológicamente, el parénquima está formado por nidos de células epiteliales que forman un cordón multilobulado. Las células epiteliales parecen un epitelio escamoso no queratinizado. El parénquima está rodeado por tejido conectivo laxo que forma el *stratum fibrosum internum*, y que contiene fibras nerviosas mielinizadas y no mielinizadas. La cápsula del JOO está constituida por tejido conectivo denso (*stratum fibrosum externum*).

En la actualidad, el significado funcional del JOO sigue siendo desconocido. Algunos estudios han señalado que el JOO tenía una actividad de carácter secretorio en relación con su papel de órgano receptor. Otros estudios han sugerido una función mecanosensorial.

Clínicamente, el desconocimiento de la existencia de esta estructura puede conllevar diagnósticos erróneos de invasión perineural de un carcinoma en la región.

El objetivo de nuestro estudio es analizar la disposición topográfica para buscar parámetros de obtención del JOO y estudiar la organización y disposición de su estroma. Asimismo, se analiza la expresión de marcadores de canales iónicos activados en mecanorreceptores y marcadores de las cubiertas endoneurales y perineurales. Además, en adultos, también analizamos la organización, distribución y disposición del estroma del JOO y la expresión inmunohistoquímica de colágenos tipo I y III.

Metodología

Se han utilizado 4 fetos humanos de 28 a 35 semanas de desarrollo y 16 cadáveres de edades comprendidas entre 65-85 años, pertenecientes al Departamento de Anatomía y Embriología de la Universidad Complutense de Madrid. En los adultos, se disecó la región infratemporal. En los fetos se obtuvieron piezas de la misma región.

Mediante técnicas estándar de laboratorio, las secciones se tiñeron de forma rutinaria con hematoxilina-eosina, tricómico de Masson y tinción VOF-III. Además, se tiñeron subconjuntos de secciones con rojo picrosirius. En las secciones teñidas mediante esta técnica, las fibras de colágeno aparecen en color rojo-naranja y verde-amarillo. Ello permite diferenciar la organización y/o heterogeneidad de la orientación de las fibras de colágeno.

En las muestras fetales se realizó un análisis inmunohistoquímico con anti-NSE, anti-NFP, anti-PGP9.5, anti-S100P, anti-CD34 y anti-Glut1. Además, se utilizaron marcadores de mecanoproteínas: ASIC2, PIEZO2 y TRPV4. Mediante inmunofluorescencia también se utilizó anti-NF200. En las muestras de adultos se realizó el estudio con marcadores anti-colágeno I y III.

Resultados, discusión y conclusiones

La mayoría de las descripciones proceden de estudios de biopsias, por lo que faltan estudios sistemáticos de localización del JOO, y creemos que esa es la base de la disparidad en las descripciones de la localización topográfica del JOO. De ahí que se haya diseñado una forma de localizarlo –mediante la resección del tejido que rodea al nervio bucal–. En nuestro estudio, en 12 casos estaba incluido el JOO.

El examen histológico confirma la organización general del JOO descrita por otros autores, si bien nuestros resultados mostraron positividad para colágeno I y III en el estroma del JOO. El colágeno I predominaba en el tejido conectivo denso que forma la cápsula del JOO (*stratum fibrosum externum*), mientras que el colágeno III predominaba en el tejido conectivo laxo del interior (*stratum fibrosum internum*). Desde el punto de vista funcional, estos resultados pueden sugerir que el colágeno tipo I confiere al JOO solidez y resistencia a la tracción, mientras que el colágeno tipo III le proporciona propiedades elásticas ante los procesos de estiramiento que se producen en la región. Estos datos son muy interesantes, habida cuenta de la situación topográfica del JOO, que se sitúa en una región donde tienen lugar movimientos de masticación deglución y succión.

Los estudios inmunohistoquímicos en muestras fetales mostraron inmunorreacción positiva para ASIC2 en los troncos nerviosos próximos al JOO, en pequeños axones en el interior del mesénquima laxo, y algunos nidos de células epiteliales también mostraron un débil marcaje para ASIC2, mientras que no se detectó inmunorreacción para TRPV4. Por otro lado, PIEZO2 positivo se observó en los troncos nerviosos y en las fibras nerviosas aisladas dentro del parénquima, así como en las propias células epiteliales e, incluso, se observaron contactos aparentes entre las fibras nerviosas y las células del parénquima PIEZO2 positivas. Además, nuestros resultados mostraron que, en fetos, el mesénquima denso –que dará lugar al *stratum fibrosum externum*– fue intensamente inmunorreactivo para CD34, pero negativo para el Glut-1. Esta expresión sugiere características endoneurales/perineurales. Nuestros resultados sugieren que el JOO tiene una función mecanosensorial.

En definitiva, nuestro estudio amplía el conocimiento sobre la localización topográfica del JOO para evitar el sobrediagnóstico y los tratamientos innecesarios. También aporta la organización y distribución del colágeno tipo I y III en adultos, así como la expresión de marcadores generales y mecanoproteínas que sugieren una función mecanosensorial del JOO.

SUMMARY

SUMMARY

CHARACTERIZATION OF THE JUXTAORAL ORGAN

Background and objectives

The juxtaoral organ (JOO) is a constant, bilateral structure located in the infratemporal region. Although it was described 137 years ago by Johan Henrik Chievitz, little work has been done to study it in detail, so that some aspects of its morphology, organization and function are still not fully elucidated.

The parenchyma of the JOO is derived from the epithelium of the primitive mouth, from which it is disconnected during development. In rats, the mesenchyme that constitutes its stroma appears to be derived from neural crest cells. Furthermore, it is located in the region of the masticatory muscles and is - from the beginning of its development - in relation to the buccal nerve, from which it receives innervation.

In adults, it is fusiform in shape, approximately 7-17 mm long and 2 mm thick. Its macroscopic appearance is that of a connective fiber or nerve fillet. Its posterior end lies between the medial pterygoid muscle and the pterygomandibular raphe. Its anterior end, between the mandible and the buccinator muscle, caudal to the mouth of the parotid duct. It is innervated by 2-4 nerve fibers of the buccal nerve. Despite this exhaustive description, there is confusion as to its location, as most studies have been performed on biopsy specimens from the region.

Histologically, the parenchyma consists of nests of epithelial cells forming a multi-lobed cord. The epithelial cells resemble non-keratinized squamous epithelium. The parenchyma is surrounded by lax connective tissue forming the *stratum fibrosum internum*, which contains myelinated and unmyelinated nerve fibers. The capsule of the JOO is made up of dense connective tissue (*stratum fibrosum externum*).

At present, the functional significance of the JOO remains unknown. Initially, the JOO was considered to be a rudimentary or involuted structure. Some studies have considered the JOO to have a secretory activity in relation to its role as a receptor organ. Other studies have suggested a mechanosensory function.

Clinically, ignorance of the existence of this structure may lead to misdiagnosis of perineural invasion of a carcinoma in the region.

The aim of our study is to analyze the topographical arrangement to look for parameters for obtaining the JOO and to study the organization and arrangement of its stroma. We also try to provide some new data to clarify its function by expressing markers of activated ion channels in mechanoreceptors and markers of endoneural and perineural sheaths. In addition, in adults, we analyze the organization, distribution and arrangement of the JOO stroma and the immunohistochemical expression of type I and III collagens.

Methodology

Four human fetuses from 28 to 35 weeks of development and 16 cadavers aged between 65-85 years old were used (belonging to the Department of Anatomy and Embryology of the Complutense University of Madrid). In adults, the infratemporal region was dissected. In the fetuses, pieces of the same region were obtained.

Using standard laboratory techniques, histological sections were routinely stained with hematoxylin-eosin, Masson's trichrome and VOF-III staining. In addition, subsets of sections were stained with picosirius red. Under polarized light, in the sections stained by this technique, the collagen fibers appear red-orange and green-yellow. This makes it possible to differentiate the organization and/or heterogeneity of the orientation of collagen fibers in connective tissues.

Furthermore, immunohistochemical analysis of fetal samples was performed with anti-NSE, anti-NFP, anti-PGP9.5, anti-S100P, anti-CD34, and anti-Glut1. In addition, mechanoprotein markers for ASIC2, PIEZO2 and TRPV4 were used. Anti-NF200 was also used by immunofluorescence. In adult samples, the study was performed with anti-collagen I and III antibodies.

Results, discussion and conclusions

Most of the descriptions come from biopsy studies, so systematic studies of JOO localization are lacking. We believe that this is the basis for the disparity in the descriptions of the topographical localization of JOO. We have therefore devised a way of localizing it - by resection of the tissue surrounding the buccal nerve. In our study, the JOO was included in 12 cases.

Histological examination confirms the general organization of the JOO described by other authors. In addition, our results showed positivity for collagen I and III in the stroma of the JOO. Collagen I predominated in the dense connective tissue forming the capsule of the JOO (*stratum fibrosum externum*), whereas collagen III predominated in the lax connective tissue of the interior (*stratum fibrosum internum*). From a functional point of view, these results may suggest that type I collagen confers strength and tensile strength to the JOO, while type III collagen provides elastic properties to the stretching processes occurring in the region. These data are very interesting, given the topographical situation of the JOO, which is located in a region where chewing, swallowing and sucking movements take place. Moreover, it is located over the buccinator muscle, and this is the main muscle of the cheek (which is expandable).

Immunohistochemical studies on fetal samples showed positive immunoreactivity for ASIC2 in nerve trunks close to the JOO, in small axons within the lax mesenchyme, and some nests of epithelial cells also showed weak labelling for ASIC2, while no immunoreactivity for TRPV4 was detected. Likewise, PIEZO2 positive was observed in nerve trunks and isolated nerve fibers within the parenchyma, as well as in the epithelial cells themselves, and even apparent contacts between nerve fibers and PIEZO2 positive parenchymal cells were observed. Furthermore, our results showed that, in fetuses, the dense mesenchyme - which will give rise to the *stratum fibrosum externum* - was strongly immunoreactive for CD34, but negative for Glut-1. This expression pattern suggests endoneural/perineural characteristics. Our results suggest that the JOO has a mechanosensory function.

Ultimately, our study adds to the knowledge about the topographical location of the JOO to avoid overdiagnosis and unnecessary treatments. It also provides the organization and distribution of type I and III collagen in adults, as well as the expression of general markers and mechanoproteins that suggest a mechanosensory function of the JOO.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Preámbulo

El órgano yuxtaoral (JOO, del inglés: *juxtaoral organ*) es una estructura constante en el cuerpo humano, aunque es poco conocida (Bommanavar y cols., 2017). Su aspecto histológico puede confundir al patólogo con una invasión perineural de un carcinoma mucoepidermoide (Sancheti y cols., 2015) e incluso ha sido considerado como una estructura pseudoneoplásica (Richardson, 2016). A pesar de los últimos avances en el estudio de esta estructura, su función aún no está totalmente aclarada.

En la investigación del órgano yuxtaoral hay dos autores que marcan hitos importantes: Johan Henrik Chievitz (1851-1901) y Wolfgang Zenker (1925). El primero descubrió esta controvertida estructura en embriones, en 1885, y, de hecho, hasta mediados del siglo pasado se conoció como órgano de Chievitz. El segundo profundizó en su anatomía e histología en humanos, y realizó también estudios de anatomía comparada, tratando de aclarar su función. Además, le dio el nombre de órgano bucotemporal y, posteriormente, el de órgano yuxtaoral (JOO), con el que se conoce en la actualidad.

Johan Henrik Chievitz (**Figura 1**), nació el 16 de octubre de 1851 en Svendborg (Dinamarca). Obtuvo la Licenciatura de Medicina en 1875, ganando la medalla de oro de la Universidad de Sorø por su Tesis Doctoral sobre la osificación. Destacó también por sus estudios sobre las glándulas salivares y la retina. En 1891 publicó un libro sobre el desarrollo fetal. Murió en Copenhague, el 6 de octubre de 1901, debido a la tuberculosis que padecía.



Figura 1. Fotografía de Johan Henrik Chievitz (1851-1901). Tomada de Al Aboud y cols., 2014.

Wolfgang Zenker (**Figura 2**) nació en febrero, en 1925, en Brunn, Moravia (Austria). Tras un amplio periplo enseñando anatomía que le llevó por Viena (1958-1964), Bochum (Alemania, 1965-1969), y, de nuevo, Viena (1969-1977), finalmente, en 1977 llegó al Instituto Anatómico de la Facultad de Medicina de Zúrich (Suiza), del que fue director y, desde 1992, es profesor emérito. Sus discípulos lo describen como un gran anatómico, humanista y violonchelista.



Figura 2. Wolfgang Zenker fotografiado en 1970, en la Facultad de Medicina de Viena. Tomada de Krejs, 2015.

Antecedentes históricos

El objeto de nuestro estudio es la caracterización del JOO. Con el fin de poder aclarar los aspectos más controvertidos de esta estructura, así como para poder evaluar los resultados de nuestro estudio y discutir con los diferentes autores sus aportaciones, es necesaria una revisión detallada del estado actual del tema.

Sobre el órgano yuxtaoral podemos destacar 4 tipos de estudios, imbricados unos con otros a lo largo del tiempo: de desarrollo, morfológicos, histológicos y patológicos. El análisis de estos estudios nos permitirá entender la problemática actual de este órgano, considerado por muchos investigadores, aún hoy en día, como una estructura anatómica enigmática.

Embriología

Johan Henrik Chievitz, estudiando el desarrollo de las glándulas salivares, descubrió una formación epitelial delgada cerca del conducto de drenaje de la glándula parótida en embriones humanos de 7,5 a 15 mm de longitud (Chievitz, 1885). Según él, se desarrolló a partir del epitelio de la pared lateral de la cavidad oral, a nivel de la comisura bucal, invaginándose. En un feto de 10 semanas de desarrollo, se localizaba medial al músculo masetero, mandíbula y músculo pterigoideo medial, sin conexión con el epitelio bucal. Desde entonces, la mayoría de los autores lo han referido como órgano de Chievitz.

En 1911, Bujard reconoció esta estructura en un espécimen de 35 mm de longitud (vértex-cóccix, VC), sin conexión con el epitelio bucal o el conducto parotídeo, confirmando los estudios de Chievitz (Bujard, 1911). Ese mismo año, Weishaupt interpretó que este cordón epitelial correspondía a una rama lateral rudimentaria del conducto parotídeo, y lo denominó "*ramus mandibularis ductus parotidae*" (Weishaupt, 1911). Para este autor representa el esbozo de una glándula salivar abortiva. Por su parte, Schulte lo llamó "inclusión orbital" (Schulte, 1913) y Brachet "tracto bucofaríngeo" (Brachet, 1919).

Broman, en 1916, tras sus observaciones en dos especies de focas antárticas, sugirió que esta estructura representaba la posición inicial de la glándula parótida desde el punto de vista filogenético. Su secreción ayudaría a deglutir y, tras un cambio en la dieta, se desarrollaría más oralmente la glándula parótida con una secreción de tipo seroso (Broman, 1916). Pocos años más tarde, Bollea consideró que esta estructura aparece como consecuencia de la fusión y crecimiento de los procesos mandibular y maxilar (Bollea, 1924).

Todas estas descripciones fueron revisadas en un excelente trabajo publicado en 1935 por Ramsay. Este autor señaló que "*en un embrión humano, en el fondo del surco bucal, aparecen dos estructuras constantes, el órgano de Chievitz y el esbozo de la parótida*", y continuaba "*el órgano aparece primero (8-11 mm de longitud VC), de ahí que haya escapado a muchos investigadores y haya sido descrito como esbozo de la parótida*". Según su descripción, el órgano se relacionaba con los músculos masetero y pterigoideo medial, y cruzaba al nervio bucal. En los especímenes de mayor tamaño, el órgano de Chievitz se localizaba próximo al conducto parotídeo, de ahí que, según sus escritos, "*algunos investigadores hayan concluido que el órgano de Chievitz es una rama del conducto parotídeo*". Sin embargo, esa proximidad es secundaria, ya que

el lugar de origen es diferente. Además, finalizaba su trabajo indicando que esta estructura es una formación rudimentaria y transitoria que desaparece antes del nacimiento (Ramsay, 1935).

Tras este trabajo hay un largo paréntesis en los estudios publicados dedicados a esta estructura.

Algunos años más tarde, en una monografía sobre la cirugía de parótida y sus fundamentos morfológicos, Böhme recopiló sus estudios sobre la morfogénesis de la glándula parótida en 12 especímenes humanos, comprendidos entre los 20 y 60 mm de longitud VC. En el embrión de 20 mm reportó cómo aparecían los esbozos de la glándula parótida y el órgano de Chievitz, aunque no encontró relaciones entre ambos (Böhme, 1966).

Más adelante, la reconstrucción tridimensional del JOO, a partir de secciones seriadas de embriones de ratón, mostró que este órgano es más largo y más complejo en ratones que en humanos (Grüneberg, 1971). Además, Grüneberg también informó de que en ratones estaba mucho más extendido en el área craneofacial y dividió el órgano en tres partes: cuello, cuerpo y cola.

Kleiss y Kleiss (1985), en su artículo dedicado al Profesor Wolfgang Zenker, por aquel entonces Director del Instituto Anatómico de Zúrich, señalaron que el órgano de Chievitz se desarrollaba, en humanos, a partir del epitelio del fondo del surco bucal, invaginándose en el mesénquima, y desde el comienzo se relacionaba con el nervio bucal. Según estos autores, esta estructura se desarrollaba antes que las glándulas salivares. Entre sus conclusiones destacan que las células epiteliales que se invaginan darán lugar al parénquima, que se va desarrollando en estrecha unión con el nervio bucal. El mesénquima se organiza alrededor del parénquima en tres capas:

- Una capa fibrosa interna, formada por tejido conectivo laxo.
- Una capa de fibras nerviosas procedentes del nervio bucal.
- Una capa fibrosa externa, formada por capas concéntricas de fibras de colágeno y elásticas.

Además, señalaron que el parénquima muestra dos tipos de células: unas externas, más oscuras, y otras internas, más claras, que pueden confundirse con la luz de un conducto. Mostraron, también, que los núcleos de las células epiteliales externas se orientan hacia la membrana basal (Kleiss y Kleiss, 1985).

En 2005, Mérida-Velasco y cols., en su estudio de la morfogénesis del órgano yuxtaoral en 55 embriones y 90 fetos humanos, señalaban tres periodos en el desarrollo de esta estructura (**Figura 3**):

- 1) Periodo de condensación e invaginación (estadios 16-17 de Carnegie). La invaginación del epitelio se produce durante el estadio 17 de Carnegie, en un mesénquima que no aparece condensado.
- 2) Periodo de desconexión del epitelio bucal e inervación por el nervio bucal (estadios 18-23 de Carnegie). Durante este periodo tiene lugar la inervación de la estructura, de modo que se observan fibras del nervio bucal que inervan el JOO. La inervación del órgano fue confirmada por inmunohistoquímica con anti-NF-300 (200KDa).
- 3) Período de formación de la cápsula, a partir de la 11ª semana de desarrollo.

Este trabajo señalaba que no parece que sea esencial la interacción epitelio-mesénquima, al menos en las etapas iniciales del desarrollo del órgano, como sí ocurre en las glándulas salivares (Mérida-Velasco y cols., 2005).

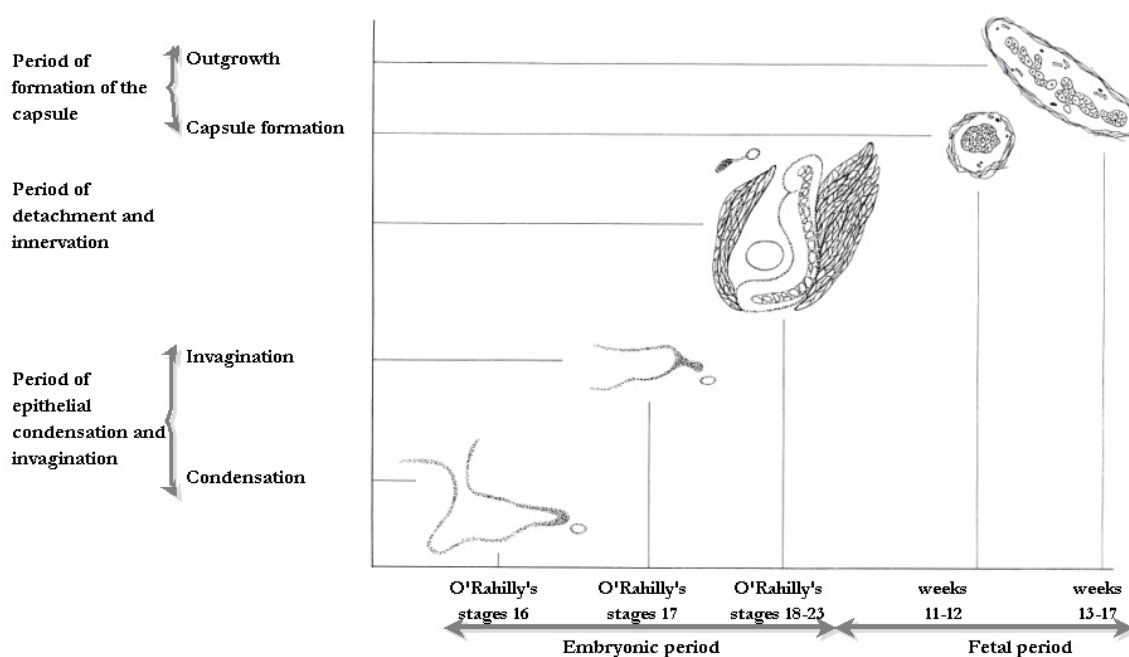


Figura 3. Diagrama esquemático con el resumen de la morfogénesis del JOO, tomado de Mérida-Velasco y cols., 2005.

Posteriormente, se llevó a cabo un estudio del desarrollo del JOO en ratones mutantes *Bmp7^{lacZ}*, que tienen una intensa expresión de *lacZ* en el componente epitelial del JOO en homo y heterocigotos (Ito y cols., 2009). Así, Ito y cols. reportaron que el esbozo del órgano apareció en el día de gestación 12 (E12; E, del inglés: *Embryonic day*), desconectándose del epitelio en E12,5. En cualquier caso, el órgano presentaba una

disposición muy compleja y alargada: desde el masetero alcanzaba la parte anterior del músculo temporal, a nivel de la órbita, paralelo al nervio bucal; después descendía hasta la porción distal del tercer molar, y finalizaba en el espacio submucoso del paladar blando (**Figura 4**). Además, este trabajo reveló que, en ratones, el órgano persistía en los especímenes adultos (Ito y cols., 2009).

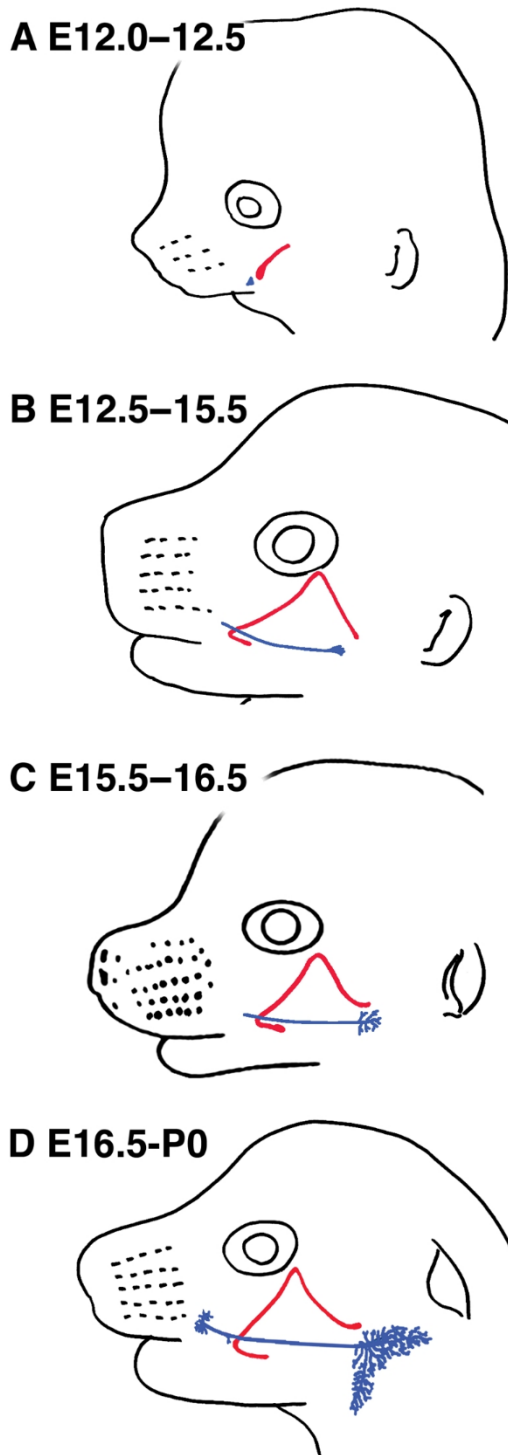


Figura 4. Diagrama esquemático del desarrollo del JOO de ratón. Vistas laterales del JOO en desarrollo (color rojo) y de la glándula parótida (color azul) en E12.0-12.5 (A), E12.5-15.5 (B), E15.5-16.5 (C) y E16.5-P0 (D), que se proyectan sobre el perfil de los embriones o de un ratón recién nacido. Tomado de Ito y cols., 2009.

En el 2012, Velasco y cols. publicaron un estudio sobre el desarrollo en embriones de rata (E14-E19). El esbozo del órgano aparecía en E14, y durante E15 se invagina y desconecta del epitelio bucal. En E16, el JOO mostraba tres partes que se relacionaban con los músculos masetero, temporal, pterigoideo medial, y el tensor del velo del paladar. Su disposición era compleja y parecida a la descrita previamente por Ito y cols. (2009) en ratones. No obstante, estos autores señalaron que el mesénquima que rodea al esbozo del órgano, durante E14, mostraba inmunotinción positiva para HNK-1, un marcador de células de origen crestoneural (Velasco y cols., 2012).

Más recientemente, Kobayashi y cols. (2015), en un interesante trabajo histológico y ultraestructural en ratones, informaron de los cambios en el parénquima y en la vaina mesenquimal del JOO durante los periodos prenatal y postnatal. Este estudio confirmó mediante inmunorreacción que las ramas del nervio bucal invaginan al JOO en ratones. Además, informaron que la panCK era un buen marcador para poder visualizar el parénquima durante el desarrollo. El parénquima era inmunorreactivo para CK14 y la microscopia electrónica mostró que las células epiteliales no estaban polarizadas ni queratinizadas. La tinción negativa para CK18, sugirió que el parénquima tenía un desarrollo diferente al glandular. La expresión negativa para Ki67 y positiva para p63 sugirió que el parénquima tenía un ciclo celular muy lento a diferencia de otras células epiteliales. La positividad para Glut1 del estrato fibroso externo y los datos ultraestructurales sugirió que tenía características perineurales. Los cambios en las terminaciones sensoriales y en el estrato fibroso externo en recién nacidos sugirió que estaba relacionado con los cambios en la alimentación.(Kobayashi y cols., 2015).

En resumen, el órgano de Chievitz se ha descrito en numerosas especies animales, incluyendo, entre otros, reptiles, aves, peces, anfibios y mamíferos (Ramsay, 1935; Zenker y Halzl, 1953; Zenker y Salzer, 1961; Boyd y Hughes, 1960; Grüneberg, 1971; Jeanneret-Gris, 1980; Kleiss y Kleiss 1985; Ito y cols., 2009; Kobayashi y cols., 2015; Velasco y cols., 2012). Como conclusión de todos estos estudios del desarrollo podemos resaltar los siguientes aspectos sobre el JOO:

1. Es una formación, constante y bilateral, que deriva del epitelio de la boca primitiva, del que se desconecta durante el desarrollo.
2. Tiene un componente mesenquimal que forma su estroma.
3. Se dispone en la región de los músculos masticadores.

4. Su disposición anatómica es más compleja en ratones y ratas que en humanos, ya que en estos casos se relaciona con el paladar blando.
5. Está inervado por el nervio bucal.
6. El JOO se relaciona con la glándula parótida, pero no muestra conexiones con ella.

Anatomía

En 1953, Wolfgang Zenker describió en adultos humanos la disposición del órgano de Chievitz en la región infratemporal y lo denominó “órgano bucotemporal” (Zenker, 1953). Este autor señaló que esta estructura no presentaba signos de involución en el adulto. Dos años más tarde, describió en adultos sus límites y disposición en el que denominó “espacio bucotemporal” (Zenker, 1955). La fascia del músculo temporal se dividía en dos láminas, una delgada que cubre al tendón del músculo hasta su inserción, y otra más medial que alcanza el músculo buccinador. Entre las dos láminas fasciales se delimita el espacio bucotemporal. Esta descripción ha sido seguida por la Escuela Alemana de Anatomía (Lang, 1995). El órgano de Chievitz se localiza en este espacio, adherido a la fascia. A través de esta fascia se relacionaba con el cuerpo adiposo de la mejilla (o de Bichat) (Zenker, 1955).

En 1962, en un nuevo texto, el órgano de Chievitz pasó a denominarse órgano yuxtaoral (Salzer y Zenker, 1962). En la actualidad, este es el término con el que se reconoce en la Nómina Anatómica Internacional (FIPAT, 2019).

En 1974, George B. Lutman en su trabajo titulado “*Epithelial nests in intraoral sensory nerve endings simulating perineural invasion in patients with oral carcinoma*”, informó de una estructura, para él desconocida, que encontró en 9 de 14 casos de pacientes a los que se había realizado una mandibulectomía por carcinoma. En este trabajo localizaba la citada estructura en la superficie medial de la mandíbula, cerca de la inserción del rafe pterigomandibular. Días más tarde, Kramer y Zenker enviaron una carta al editor de la revista *American Journal of Clinical Pathology* donde había sido publicado el trabajo de Lutman. En la carta hicieron constar el desconocimiento del JOO por parte de Lutman, resaltando que el JOO es una estructura típicamente localizada en el espacio bucotemporal, adyacente a la fascia bucotemporal, e inervado por el nervio bucal. Además, esquematizaron la situación y localización del JOO señalando que estaban de acuerdo con Lutman en que el JOO no era una neoplasia, pero que podía dar lugar a confusión si se realizaba un estudio histológico de la región a partir de una biopsia (Kramer y Zenker, 1974) (**Figura 5**).

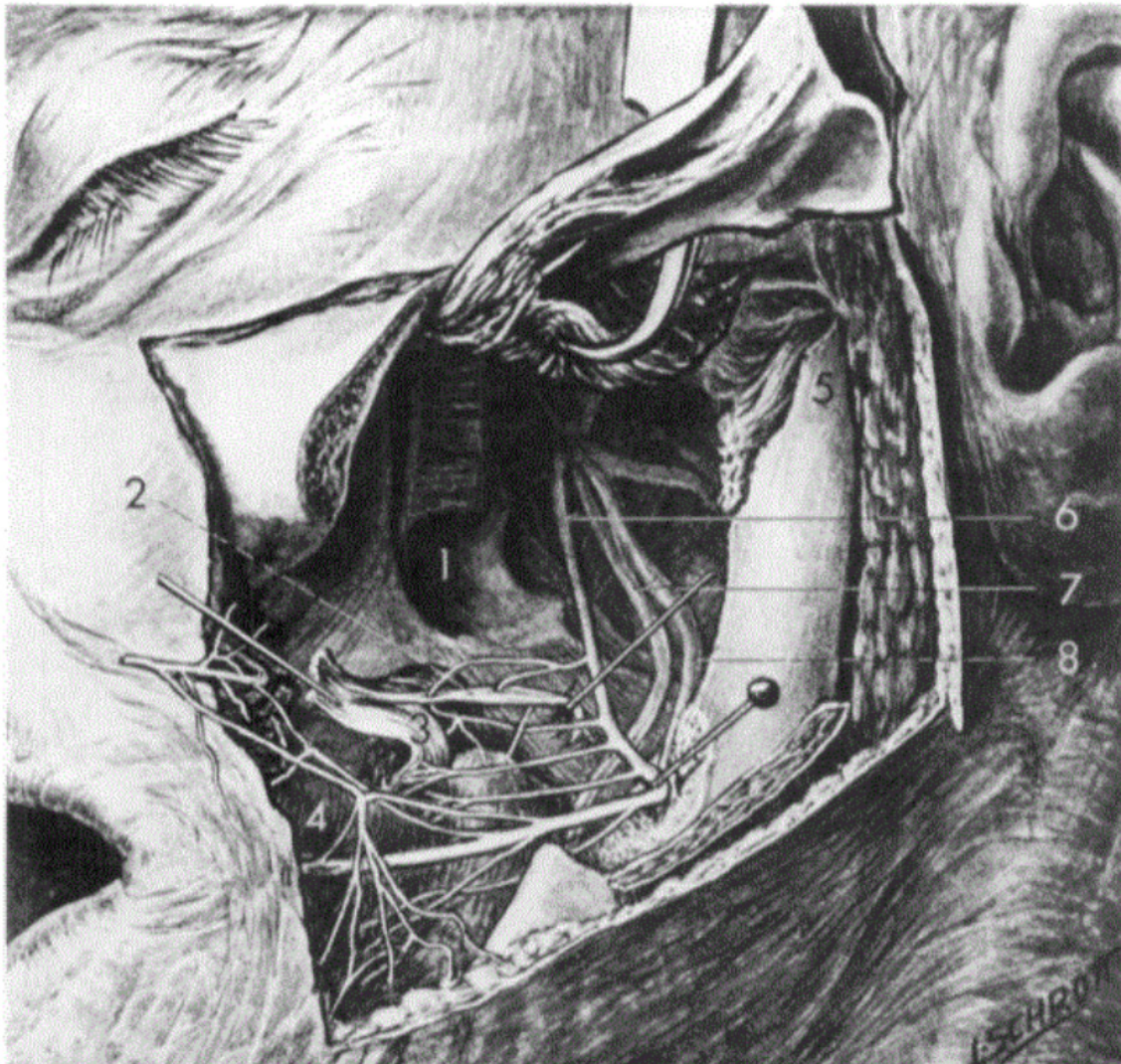


Figura 5. Representación esquemática de la situación topográfica del JOO y su innervación en un hombre adulto. 1, lámina lateral de la pterigoides; 2, órgano yuxtaoral; 3, fascia bucotemporal; 4, músculo buccinador; 5, cuello de la mandíbula; 6, nervio bucal; 7, nervio lingual; 8, nervio alveolar inferior. Tomado de Krammer y Zenker, 1974.

Los estudios del grupo de Zenker hacen que sea citado en la 11ª edición del libro de anatomía de Benninghoff y Goertler (Benninghoff y Goertler, 1979). En la actualidad también ha sido representado y descrito en la 24ª edición del Atlas Sobotta de anatomía humana (**Figura 6**) (Paulsen y Waschke, 2018).

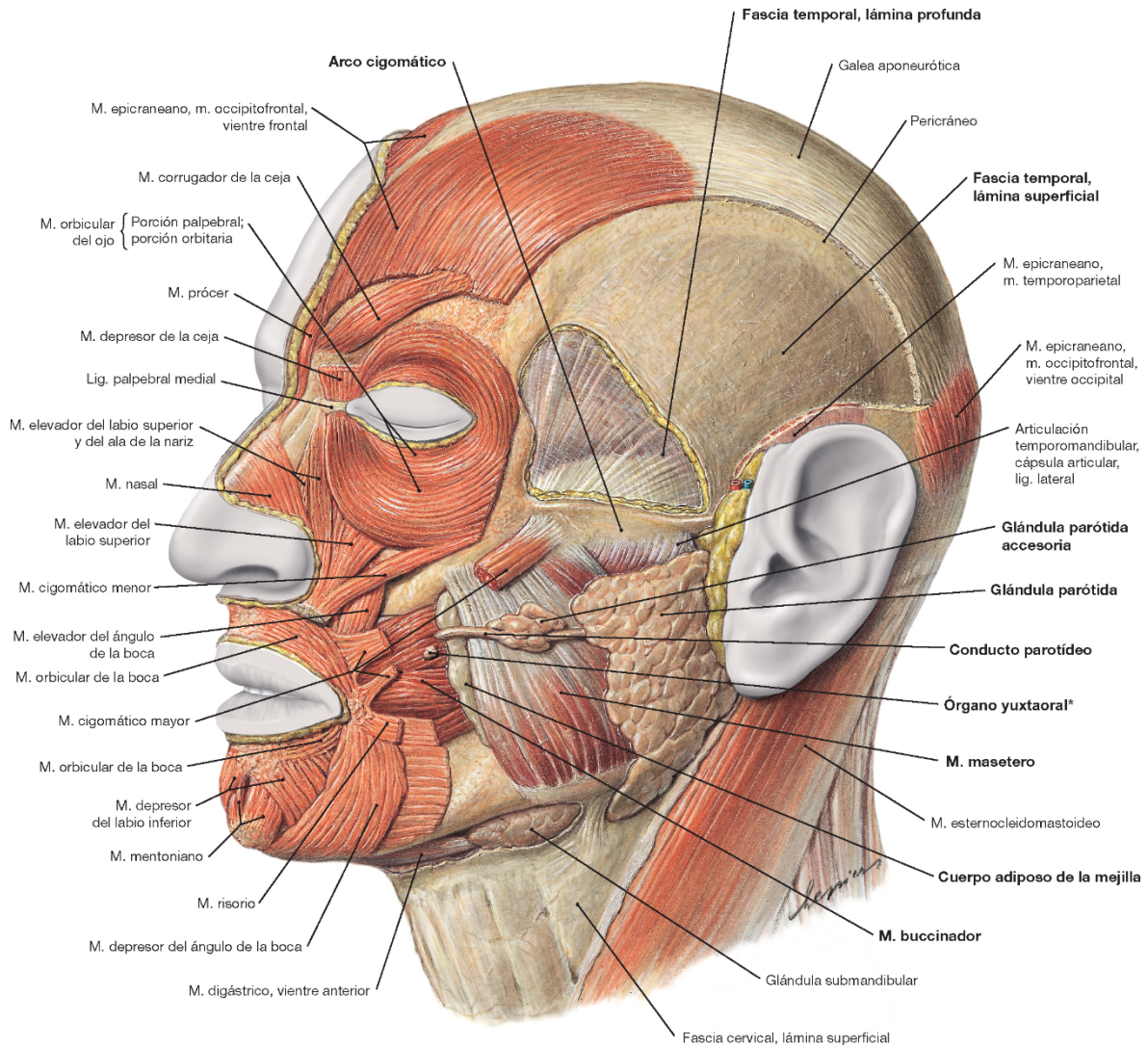


Figura 6. Representación esquemática de los músculos faciales y masticadores (visión lateral oblicua). Se han retirado las fascias del m. buccinador y del m. masetero, así como la fascia parotídea y, en parte, la lámina superficial de la fascia cervical. Tomado del Atlas Sobotta (Paulsen y Waschke, 2018). Textualmente, el atlas hace constar lo siguiente: “Cerca del lugar en el que el conducto parotídeo atraviesa el m. buccinador, se encuentra el órgano yuxtaoral (*órgano de Chievitz) sobre el m. buccinador. Se trata de un órgano epitelial de unos 5 × 3 mm, localizado en la mejilla, en el que solo se encuentran nervios y tejido conectivo muy celular y que está rodeado por una vaina perineural. La función de este órgano no se comprende del todo; se plantea que sufre cambios dinámicos durante la masticación, la deglución y la fonación, y parece que también es responsable de que no nos mordamos la mejilla al masticar”.

En las revisiones de D’Andrea y cols. (1999) y Pantanowitz y Balogh (2003) se recogían los principales eventos de la anatomía descriptiva del JOO, que podemos resumir en los siguientes puntos:

- El JOO se localiza en el espacio bucotemporal.
- Tiene una forma fusiforme, con una longitud de 7-17 mm, y un grosor aproximado de 2 mm.

- Su extremo posterior está en relación con el musculo pterigoideo medial y el rafe pterigomandibular. Su extremo anterior se dispone sobre el musculo buccinador, caudal a la desembocadura del conducto parotídeo.
- Está inervado por dos o cuatro filetes nerviosos del nervio bucal.
- Su disección macroscópica es difícil, ya que tiene un aspecto similar a una fibra conectiva o un nervio.

Ante lo expuesto, podemos deducir que esta estructura, aunque bien descrita por la Escuela Alemana de Anatomía en cuanto a su disposición y localización, no aparece recogida en otros libros de texto. Los estudios macroscópicos de la misma son muy escasos, probablemente por la dificultad de su disección y de su reconocimiento visual. De hecho, la mayoría de los estudios están realizados sobre material resecado para biopsias, por sospecha tumoral (**Tabla 1**).

Tabla 1. Hallazgos del JOO en material procedente de biopsias y/o resecciones quirúrgicas, ordenados cronológicamente.

Referencia (Autor/res, año)	Observaciones y comentarios
(Lutman, 1974)	JOO en 9 de 14 casos de mandibulectomías por cáncer.
(Leibl y cols., 1976)	Examen de 100 biopsias de tejido de la región bucotemporal. Un caso de hiperplasia nodular del JOO en mujer de 68 años.
(Tschen y Fechner, 1979)	Estudio de bloques de 25 adultos, entre 26 y 84 años, sin patología mucosa intraoral, incluyendo neoplasias. El JOO se localiza en 11 casos unilateralmente y en tres casos bilateralmente.
(Klacsman y Taxy, 1980)	En un periodo de tres meses observan el JOO en 2 resecciones quirúrgicas rutinarias.
(Sciubba y Sachs, 1980)	Varón de 41 años con un Schwannoma en el nervio alveolar inferior. Hallazgo del JOO.
(Mikó y Molnár, 1981)	Varón de 57 años. JOO en tejido procedente de una biopsia de un carcinoma mucoepidermoide de grado medio.
(Geist y cols., 1984)	Mujer de 59 años. Durante un reconocimiento de su empresa se le observó una masa en la región retromolar.
(Soucy y cols., 1990)	Niña de 5 años con una masa intraoral a nivel de la rama ascendente de la mandíbula derecha.
(Hültenschmidt y cols., 1991)	En resecciones de tejido blando de la región retromolar de 40 autopsias se localizó el JOO en 10 casos.

(Vadmal y cols., 1998)	Niño de 12 años con una tumoración en el lado interno de la mandíbula izquierda, entre el 1º y 2º molar, que se extiende medial al masetero.
(Bénateau y cols., 2003)	Tumoración en un niño por hamartoma neuroide del JOO.
(Ide y cols., 2003a)	Varón de 74 años. El JOO se halla en el tejido para la biopsia tras la resección de un carcinoma escamoso.
(Ide y cols., 2003b)	Varón de 63 años con hamartoma del JOO.
(Kim y cols., 2005)	Mujer de 34 años. Se localiza el JOO en tejido procedente de la extracción de un 3º molar.
(Kusafuka y Kameya, 2007)	Mujer de 41 años con un carcinoma mucoepidermoide lingual, con sospecha de metástasis en región pterigoidea.
(Roşu y cols., 2014)	Varón de 74 años con tumoración en la región temporal derecha. Tumor benigno del JOO.
(Wadhwan y cols., 2015)	Mujer de 46 años diagnosticada de un carcinoma de células escamosas en la mucosa bucal derecha.
(Cheng y cols., 2016)	Reporte de 2 casos: 1º Hombre de 39 años. Lesión de 3 cm, firme y mal definida, que afecta a la lengua y suelo de boca. Glosectomía parcial. En la pieza aparece un hamartoma del JOO. 2º Mujer de 50 años. Aparece el JOO en la resección de una cicatriz postquirúrgica, tras la extirpación de un carcinoma mucoepidermoide de bajo grado de glándula salivar menor.
(Kimizuka y cols., 2021)	Varón de 59 años: JOO en pieza resecada quirúrgicamente de un carcinoma de células escamosas en la lengua.

La descripción por tanto de la localización del JOO es confusa y dispar. Para Roşu y cols. (2014) se sitúa en la región temporal. Ramos-Vega y Roa (2019) han señalado que en un espécimen adulto asiático, conservado en cortes en plastinación, se observó una estructura bilateral que correspondía al órgano yuxtaoral, de aspecto glandular, extendida entre la mucosa del triángulo retromolar (a nivel del rafe pterigomandibular), medial a la rama mandibular, anteromedial al músculo pterigoideo medial y lateral a la base de la lengua. Kennedy (2020) realizó una auditoría, en la base de datos PubMed, de los casos diagnosticados de JOO, y estructuras neuroepiteliales similares, identificados en tejidos blandos orales procedentes de muestras quirúrgicas. Para ello utilizó los términos: “JOO”, “estructuras

neuroepiteliales y “oral”, excluyendo los casos sin detalles del sitio anatómico o sin fotografías de la interpretación histológica. Además, los casos con características sugerentes de un diagnóstico alternativo también fueron excluidos. Así, recopiló 19 casos diagnosticados de JOO y estructuras neuroepiteliales similares, de los cuales, aproximadamente el 53% se encontraban dentro de los tejidos blandos de la zona retromolar, un 26% se situaban bucalmente a la mandíbula, un 11% adyacentes a la tuberosidad maxilar y el 11% restante dentro de la región lingual posterior.

Histología

Desde los trabajos del grupo de Zenker, el JOO se describe como un órgano formado por un parénquima rodeado por un estroma conectivo (Salzer y cols., 1965; Salzer y Zenker, 1968; Zenker, 1982; Zenker y Salzer, 1961). El parénquima está formado por nidos de células epiteliales que forman un cordón multilobulado. Los nidos epiteliales están rodeados por una membrana basal que lo separa del estroma. Las células epiteliales parecen un epitelio escamoso no queratinizado. Los nidos epiteliales estaban formados por 1-3 capas de células. Los nidos de mayor tamaño presentaban unas células en su interior polimórficas, con aspecto arremolinado, con un citoplasma PAS positivo de gran tamaño, y núcleo redondeado, de tamaño variable, y oligocromáticos. Esta disposición fue denominada “centros claros” por Zenker y Salzer (1961). También, se ha descrito que el parénquima está formado por dos tipos de células: las denominadas tipo I son células parecidas a queratinocitos y las tipo II son de tipo dendrítico y parecidas a células epidérmicas de Langerhans (Mayr y Salzer, 1967). Sin embargo, esto no se observó en especímenes de hámster (Jeanneret-Gris, 1980), rata (Salzer y cols., 1964) y cobaya (Mayr, 1979).

En su estudio, Müller y Zenker (1981) demostraron histoquímicamente la actividad de varias enzimas en el parénquima del JOO. Estos autores informaron de dos patrones de actividad, no sujetos ni al sexo ni a la edad. El tipo I mostraba una fuerte actividad para fosfatasa alcalina y anhidrasa carbónica, y baja actividad para esterasas inespecíficas. En el tipo II la actividad enzimática era todo lo contrario –tenía similitudes con la actividad de las células de las glándulas salivares y diferente a las de la mucosa oral–. Estos estudios sugirieron que el JOO tenía una función receptora, aunque la función del parénquima permanecía desconocida.

También se han realizado algunos estudios inmunohistoquímicos en el JOO en diversas especies (**Tabla 2**).

Tabla 2. Caracterización inmunohistoquímica del órgano yuxtaoral.

Referencia	Especie	Inmunomarcaje positivo	Inmunomarcaje negativo	Información adicional
(Soucy y cols., 1990)	Humano	NSE y GFAP	Sin especificar	Informe de un caso de biopsia en una niña de 5 años
(Hültenschmidt y cols., 1991)	Humano	Proteína S-100, CKs 8, 18 y 19, TPA (+++ en la porción epitelial interna del JOO; NSE (++++ en las fibras nerviosas del tejido conectivo laxo)	Proteína S-100, CKs 8, 18 y 19, TPA en la porción epitelial externa del JOO	Estudio realizado en resecciones de tejido blando de la región retromolar; de 40 autopsias se localizó el JOO en 10 casos
(Mandl y cols., 1993)	Humano	CK KL1 y CK 19	Desmina, cromogranina, NSE y proteína S-100	Muestras de un JOO procedentes de biopsias. También se realizó una microscopía electrónica de transmisión. Artículo en alemán
(Vadmal y cols., 1998)	Humano	Vimentin (+++), CK CAM5.2, CK AE1/AE3 (+) y antígeno de la membrana epitelial (+)	proteína S-100, actina de músculo liso, cromogranina, synaptophysin, NSE y GFAP	Caso de un tumor intraoral en una niña de 12 años
(Ide y cols., 2003b)	Humano	CKs AE1/AE3, 34BE12, MNF116 (++) en las células epiteliales CK14 (+) en las células escamosas centrales; CK10 y CK19, (++) en las células escamosas centrales y (+) en las células periféricas basales	CK13, CK18, filagrina, involucrina, antígeno epitelial de membrana	Varón de 63 años con hamartoma del JOO.
(Ide y cols., 2004)	Humano	Proteína S-100, NSE, proteína de neurofilamentos 2F11, antígeno de la membrana epitelial E29 y CKs AE1/AE3, 34bE12 y MNF116	cromogranina y synaptophysin	Informe de un caso de biopsia en un hombre de 35 años
(Bahcelioglu y cols., 2005)	Perro	EGF-r, TGF- α y NGF- β	Sin especificar	Los autores sugirieron una función neurosecretora para la JOO
(Kim y cols., 2005)	Humano	CKs AE1/E, vimentina, Proteína S-100, NSE, NCAM	Cromogranina, synaptophysin, RET, neurofilamento PGP9.5	Mujer de 34 años. Se localiza el JOO en tejido procedente de la extracción de un 3º molar.
(Kusafuka y Kameya, 2007)	Humano	Pan-CK AE-1/3, CK 19, queratina de alto peso molecular y proteína Melan-A	CK7, CK20, vimentin, proteína S-100, melanosoma humana, CEA, E-cadherina, CK14, cromogranina -A y synaptophysin	Informe de un caso de biopsia en una mujer japonesa de 44 años
(Velasco y cols., 2012)	Rata (embriones)	HNK-1 (en E14 y E15)	HNK-1 (de E16 a E19)	Los autores estudiaron el desarrollo de las ratas, desde E14 hasta E19

(Roşu y cols., 2014)	Humano	CK 8 (+), cromogranina A (+++), NSE (+++), proteína S-100 y α -actina	Pan-CK, antígeno común leucocitario, antígeno carcinoembrionario, and vimentina	Informe de un caso de biopsia en un hombre rumano de 71 años con un tumor temporal
(Kobayashi y cols., 2015)	Ratón	CK14, NF, Ki67 (en ratones de 2 semanas), p63 y Glut1 (ratones de 2 y 8 semanas)	CK18, Ki67 (en ratones de 8 semanas) y Glut1 (en ratones de una semana)	Los autores estudiaron varias etapas de desarrollo en ratones
(Cheng y cols., 2016)	Humano	CD56 y proteína S-100	Sin especificar	Hamartoma del JOO a partir de una glosectomía parcial.

(+) inmunomarcaje débil; (+++), inmunomarcaje intenso; ASIC, acid-sensing ion channels; CKs, Citoqueratinas; E, día embrionario; EGF, epidermal growth factor; GFAP, glial fibrillary acidic protein; Glut1, anti-glucose transporter1; HNK-1, human natural killer-1; NF, neurofilament; NGF, nerve growth factor; NSE, Neuron-specific enolase; PIEZO2, Piezo Type Mechanosensitive Ion Channel Component 2; TGF, transforming growth factor; TPA, tissue polypeptide antigen; TRPV, transient receptor potential vanilloid.

Así, hay evidencias de positividad en el parénquima ante varias citoqueratinas (CK10, CK14, CK19, citoqueratinas de cadena ligera KL-1 y panCK). Sin embargo, el JOO no mostró reacción para otras citoqueratinas como CK7 y CK20. Algunos nidos epiteliales mostraron estructuras de aspecto vesicular, con contenido coloide mucin-negativo. Además, la comunicación de estas vesículas con el estroma también ha sido observada (Zenker y Salzer, 1961) y, para el grupo de Zenker, estos datos han sugerido que el órgano puede tener una actividad secretora.

El parénquima está rodeado por tejido conectivo laxo que forma el *stratum fibrosum internum (propium)* que contiene fibras nerviosas mielinizadas y no mielinizadas, que constituyen el *stratum nervosum*. La cápsula del JOO está constituida por tejido conectivo denso (*stratum fibrosum externum*). El *stratum fibrosum internum (propium)* contiene fibras colágenas y elásticas en el seno de una sustancia fundamental homogénea (Müller y Zenker, 1981).

A pesar de esta exhaustiva descripción histológica, el órgano yuxtaoral no aparece recogido en los libros especializados de histología de la región oral. No obstante, si es recogido en la Nómina Histológica Internacional (FICAT, 2008).

La histología en gran medida está aclarada, pero hay algunos aspectos que aún son controvertidos, como son:

1. El análisis de la inmunexpresión ante algunos anticuerpos es contradictorio, según los diferentes autores.
2. Los estudios inmunohistoquímicos se han realizado, fundamentalmente, sobre el parénquima y el *stratum nervosum*.
3. No hay referencias de estudios de la organización e inmunexpresión de colágeno en el estroma del JOO.

Patología

En 1974, Lutman informó que, en 9 de 14 casos de sujetos mandibulectomizados por algún tipo de carcinoma, en los bloques de tejido resecado entre la mandíbula y el rafe pterigomandibular, se observó tejido muscular, fibroadiposo, glándulas salivares menores y tejido conectivo denso compatible con el rafe pterigomandibular, así como una estructura neuroepitelial. No fueron observados signos anaplásicos ni queratinización. Estos hallazgos simulaban una invasión perineural en individuos diagnosticados de carcinoma (Lutman, 1974). Basándose en este estudio, Tschén y Fechner (1979)

analizan los bloques de 25 autopsias de adultos obtenidos en la región del ángulo de la mandíbula, de aproximadamente 2 cm de diámetro, que incluían mucosa oral, submucosa, músculo esquelético y mandíbula. El JOO fue observado en 11 casos, bilateralmente, y en 3 casos, unilateralmente. Concluyen que el conocimiento de la situación de esta estructura normal evitaría la resección amplia, por la errónea interpretación de invasión perineural de un carcinoma (Tschen y Fechner, 1979). Por su parte, en 1979 Danforth y Baughman analizaron autopsias en cadáver y comprobaron la existencia del JOO, y confirmaron la posibilidad de confundir esta estructura con carcinomas en la región (Danforth y Baughman, 1979).

En la literatura científica se han descrito numerosos casos en los que se observó el JOO en tejido de biopsias por diferentes tumores. Además, también se describen tumoraciones como hiperplasia y hamartomas del JOO (ver **Tabla 1**).

En los tratados de Patología recientes, se recogen las características histológicas del JOO. Todos ellos resaltan el hecho de que el hallazgo del órgano en una biopsia puede confundirse con un carcinoma o una invasión perineural metastásica (Gnepp, 2009; Mills, 2012; Goldblum y cols., 2017; Thompson y Wenig, 2016). La posibilidad de aparición de tumores benignos e hiperplasias del órgano también ha sido recogida en algunos tratados (Gnepp, 2009; Mills, 2012). Se ha informado de las características histológicas que permiten un diagnóstico diferencial con carcinomas y otras patologías (Mills y cols., 2000; Pantanowitz y Balogh, 2003).

Recientemente, el JOO ha sido considerado como una estructura pseudoneoplásica que puede producir diagnósticos erróneos en biopsias intraoperatorias si no es conocida la existencia del mismo, ni son identificadas sus características histológicas (Richardson, 2016).

Por otro lado, queremos señalar que la literatura recoge trabajos que describen estructuras neuroepiteliales localizadas en la mandíbula (Jensen y cols., 1979), en el maxilar (Eversole y Leider, 1978; Wysocki y Wright, 1981; Tosios y cols., 2022), o en la lengua (Mair y cols., 2013; Palazzolo y cols., 2014), que pueden simular el aspecto del JOO.

Tras el análisis de este apartado parece claro que el desconocimiento de la existencia del JOO y, por tanto, su topografía y características histológicas, puede producir errores en el diagnóstico, bien intraoperatorio o en el examen de tejido resecado en las biopsias. Esto

puede llevar a resecciones quirúrgicas más amplias de lo necesario ya que el órgano puede coexistir con tumoraciones en la región, como ha sido descrito en la literatura.

JUSTIFICACIÓN

JUSTIFICACIÓN

Tal y como ha quedado expuesto en el apartado anterior, son muy escasos los estudios realizados sobre el JOO, habida cuenta que fue descubierto en 1885 por Chievitz; hasta la fecha no alcanzan a un centenar los artículos que se han publicado sobre el mismo. En una búsqueda bibliográfica en PubMed con las palabras “juxtaoral organ” salen 51 registros, mientras que con las palabras “Chievitz’s organ” son sólo 47 registros.

Podemos resumir los aspectos en los que la mayoría de los investigadores están de acuerdo en los siguientes puntos:

- El JOO es una estructura que aparece en la mayoría de los animales, con diferente disposición topográfica, pero con un aspecto histológico similar.
- El JOO es una estructura constante y bilateral que se desarrolla durante el periodo embrionario y fetal humano. No es una estructura en estado de involución.
- El JOO está relacionado con la glándula parótida durante el desarrollo.
- En el hombre se localiza en la región de los músculos masticadores.
- La mayoría de los autores consideran que tiene una función mecanorreceptora y está innervado por el nervio bucal.

A pesar de que su situación topográfica ha sido bien definida por el grupo de Zenker (Escuela Alemana de Anatomía), su aspecto morfológico, parecido a un pequeño nervio o tracto conectivo, hace muy difícil su identificación durante la disección. Por tanto, habría que definir algún parámetro, que nos permita obtener material que contenga el JOO para su posterior procesado y estudio. Hasta ahora la mayoría de los estudios se han realizado sobre piezas de biopsia.

Su descripción histológica está prácticamente aclarada. No obstante, la mayoría de los estudios inmunohistoquímicos se han realizado para tratar de conocer la naturaleza del parénquima y las estructuras nerviosas que contiene. Prácticamente no existen estudios que se hayan focalizado sobre las características y disposición del estroma del órgano.

Por otro lado, a pesar de su inclusión en la Nomenclatura Anatómica Internacional y en la Nomenclatura Histológica Internacional, sólo aparece descrito en libros de Patología. Este hecho, unido a la escasez de estudios sobre el JOO, condiciona el desconocimiento de su existencia por parte de médicos y odontólogos. Este desconocimiento puede conllevar en determinadas condiciones a errores diagnósticos y de tratamiento.

Creemos que lo expuesto justifica la realización de este estudio para tratar de obtener más información sobre su situación topográfica, sus características histológicas e inmunohistoquímicas, utilizando nuevos marcadores y, finalmente, un análisis histológico e inmunohistoquímico de la organización del estroma del órgano.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS

Estudios ecográficos han informado que los movimientos fetales en el embrión humano comienzan en la 6ª semana del desarrollo (Humphrey, 1968; De Vries y cols., 1986; De Vries y Fong, 2006). Estos movimientos se observan en las extremidades, cabeza, movimientos respiratorios y de la mandíbula. Por otro lado, se ha descrito que durante este periodo existe un verdadero “complejo articular meckeliano” que permitiría los movimientos de apertura y cierre de la boca (Mérida-Velasco y cols., 1990). Además se han definido los periodos de desarrollo de la articulación temporomandibular en humanos (Mérida-Velasco y cols., 1999):

- Periodo blastemático, 7ª-8ª semana de desarrollo.
- Periodo de cavitación, 9ª-11ª semana de desarrollo.
- Periodo de maduración: a partir de la 12ª semana de desarrollo.

Parece evidente, por tanto, que los especímenes humanos de periodo fetal (a partir de 28 semanas de desarrollo) presentan movimientos de masticación y deglución, por lo que el análisis histológico e inmunohistoquímico del JOO en estos especímenes, con marcadores de canales iónicos activados en mecanorreceptores sensoriales cutáneos, es importante, y que su positividad podría sugerir una actividad mecanorreceptora del JOO.

La disección reglada del espacio pterigomandibular nos permitirá tratar de comprobar el aspecto macroscópico del JOO y sus características morfológicas que pudieran diferenciarlo de las estructuras vecinas. En caso de no existir una diferenciación morfológica clara con las estructuras circundantes, se optaría por extirpar el tejido que rodea al nervio bucal en este espacio a fin de, tras su análisis, poder diferenciar al JOO. La obtención de diferentes piezas del JOO nos permitirá realizar un estudio histológico e inmunohistoquímico del estroma del órgano, para tratar de dilucidar su disposición y distribución de colágeno I y III con la técnica de Picrosirius red (PSR).

En relación con la hipótesis desarrollada en el apartado anterior se establecen los siguientes objetivos:

OBJETIVO GENERAL

Analizar la disposición topográfica del JOO y estudiar su histología y, especialmente, la organización y disposición de su estroma. Asimismo, tratar de comprobar la expresión de los marcadores de canales iónicos activados en mecanorreceptores durante el periodo fetal tardío.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

En los especímenes fetales:

1. Describir la expresión inmunohistoquímica para detectar fibras nerviosas y componentes sensoriales (enolasa específica de neuronas, NSE; proteína S100, S100P; NFP; NF200).
2. Describir la expresión inmunohistoquímica de Glut1 y CD34, para marcar las cubiertas endoneurales y perineurales.
3. Describir la expresión de canales iónicos mecanizados (ASIC2, TRPV4 y Piezo2).

En los especímenes adultos:

1. Disección de la región pterigomandibular para tratar de localizar el JOO y evaluar sus características morfológicas.
2. Determinar parámetros para la obtención del JOO en piezas extirpadas.
3. Describir la histología del JOO en secciones parasagitales (longitudinales al eje mayor del JOO) y frontales.
4. Describir la organización, distribución y disposición del estroma del JOO, así como su la expresión inmunohistoquímica de colágenos tipos I y III.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y MÉTODOS

Material Fetal

Se utilizaron 4 fetos humanos (2 hembras y 2 varones), de 28, 32, 34 y 35 semanas de desarrollo, pertenecientes al Departamento de Anatomía y Embriología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid. Los ejemplares procedían de donaciones de abortos espontáneos y no presentaban ningún signo de malformación. Los especímenes fueron disecados en fresco, bilateralmente, según el siguiente proceder:

- 1.- Se reseco la piel de la región de la mejilla.

- 2.- Se disecó el plano superficial y, tras extirpar la glándula parótida y su conducto de drenaje, se resecaron las ramas extra parotídeas del nervio facial.

- 3.- Se accedió al plano del músculo masetero, que se desinserta, y rodeando el borde anterior de la rama de la mandíbula accedemos al plano interpterigoideo en la fosa pterigomandibular.

- 4.- Se identificaron los músculos pterigoideos y se extirpó todo el plano, incluido el cuerpo adiposo de la boca. Las piezas obtenidas se fijaron con paraformaldehído al 4%.

Material Adulto

Se utilizaron dieciséis muestras de cabezas de cadáveres fijadas con formol al 15% (nueve hombres y siete mujeres; edad de 65 a 85 años al momento de la muerte). Los ejemplares se obtuvieron del antiguo Departamento de Anatomía y Embriología II (ocho ejemplares) y del Centro de Donación de Cuerpos y Salas de Disección (ocho ejemplares) de la Universidad Complutense de Madrid. En todos los casos se realizó una disección bilateral de la fosa infratemporal. El estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki. Todas las personas revelaron su consentimiento informado por escrito para el uso de su cuerpo con fines científicos antes de la muerte y todos los

cadáveres se obtuvieron siguiendo los procedimientos legales que rigen la donación de cuerpos.

Procedimientos de disección

En el procedimiento de la disección de la región infratemporal, se siguió la técnica descrita por Isolan y cols. (2007) y Von Arx y Lozanoff (2017) (**Figuras 7, 8 y 9**).

1.- Se realizó una amplia incisión preauricular en los lados derecho e izquierdo de la cabeza, y el colgajo obtenido se desplazó anteriormente.

2.- Se extirparon la fascia y la glándula parótida, conservando el conducto parotídeo. Este se mantuvo rechazado anteriormente, como referencia, desde su entrada en el músculo buccinador.

3.- Se disecaron y extirparon las ramas extraparotídeas del nervio facial.

4.- Se limpió y resecó el músculo masetero; la fascia temporal superficial y su almohadilla grasa se eliminaron.

5.- Se identificaron la arteria temporal superficial y el nervio auriculotemporal sobre la fascia temporal profunda. A continuación, se cortó y extrajo el arco cigomático.

6.- Se cortó la apófisis coronoides de la mandíbula (proceso muscular) y se reflejó hacia arriba, junto con el tendón del músculo temporal; antes de este paso se comprobó que el nervio bucal no penetraba en el músculo ni en el tendón del m. temporal.

7.- En 4 casos, se disecó el nervio bucal y el tejido circundante para observar las posibles características morfológicas del JOO.

8.- En 2 casos, se inyectó suero fisiológico por la arteria carótida primitiva para la limpieza del árbol arterial. Posteriormente, se inyectó látex coloreado para facilitar su

posterior disección. La pieza se fijó en formol al 15% por inmersión (Mérida-Velasco y cols., 1993; Rodríguez-Vázquez y cols., 1998).

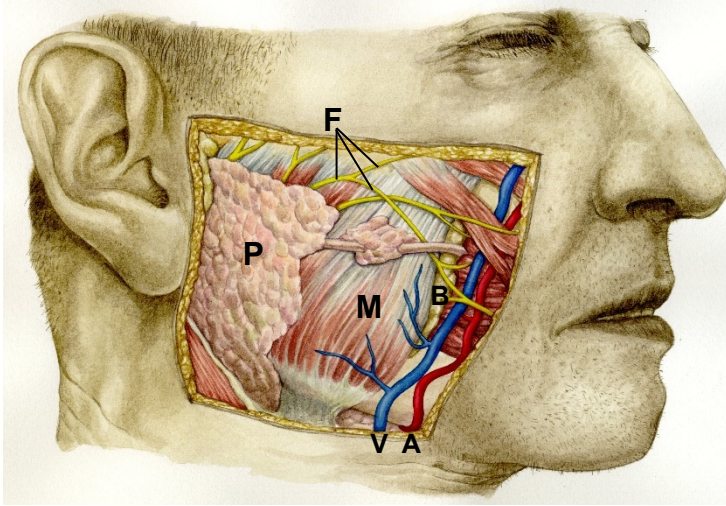


Figura 7. Representación esquemática de la región parotídea y de la mejilla. **P**, glándula parotídea; **M**, músculo masetero; **F**, ramos extraparotídeos del nervio facial; **V**, vena facial; **A**, arteria facial; **B**, cuerpo adiposo de la mejilla (de Bichat). Ilustración realizada por Cristina Navarro Collin.

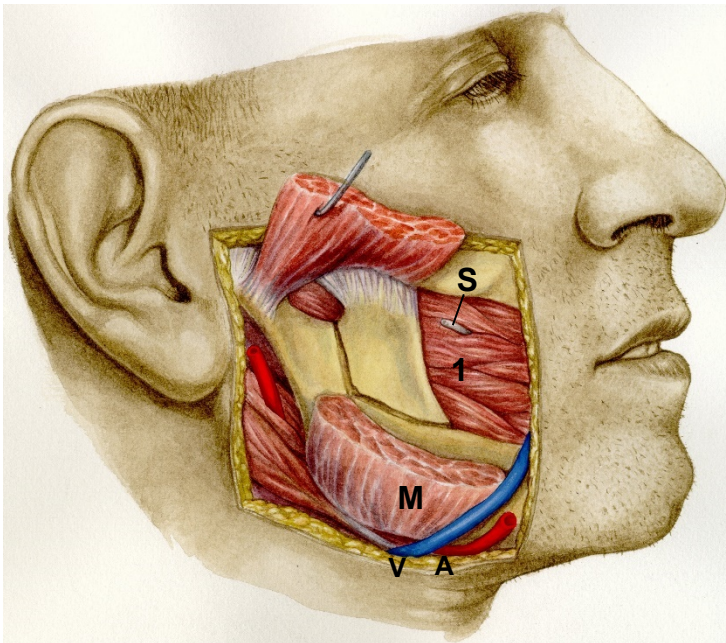


Figura 8. Representación esquemática de la osteotomía de la apófisis coronoides de la mandíbula. La glándula parotídea ha sido extirpada y el músculo masetero (**M**) está seccionado y rebatido cranealmente. **V**, vena facial; **A**, arteria facial; **S**, conducto excretor de la glándula parotídea (de Stenon); **1**, músculo buccinador. Ilustración realizada por Cristina Navarro Collin.

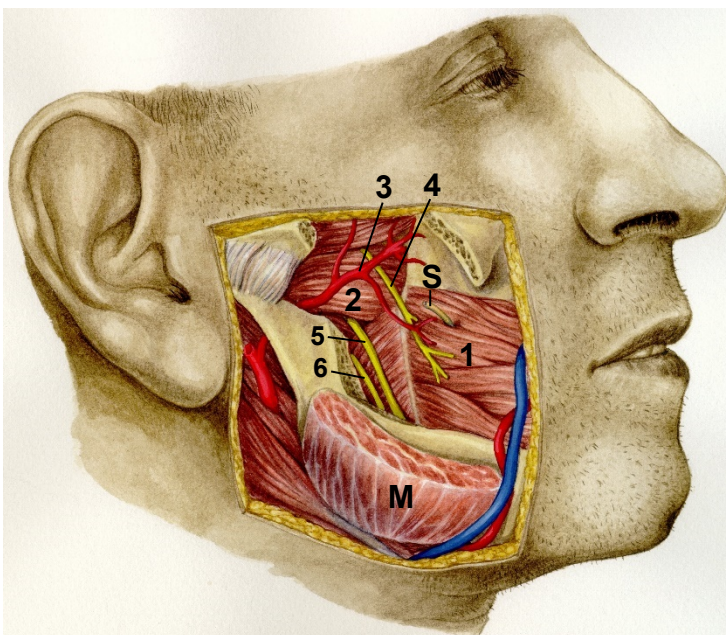


Figura 9. Representación esquemática de la fosa infratemporal, una vez realizada la osteotomía de la apófisis coronoides y del arco cigomático (asa de la calavera). **M**, músculo masetero; **S**, conducto excretor de la glándula parotídea (de Stenon); **1**, músculo buccinador; **2**, músculo pterigoideo lateral; **3**, arteria maxilar; **4**, nervio bucal; **5**, nervio lingual; **6**, nervio dentario inferior. Ilustración realizada por Cristina Navarro Collin.

9.- En 10 casos, se resecó el nervio bucal y el tejido circundante, desde su acceso a la región pterigomandibular –entre las cabezas superior e inferior del músculo pterigoideo lateral– hasta alcanzar la superficie externa del músculo buccinador.

10.- A continuación, estas preparaciones se fijaron en formaldehído al 4,5% durante 24 horas. Las disecciones se realizaron con lupa (2,5x) y se fotografiaron utilizando una cámara digital Canon EOS 600D; las figuras del presente documento se prepararon utilizando Adobe Photoshop CS6™.

Procedimientos histológicos

Después de la fijación, los bloques de tejido de las muestras (tanto fetal como adulto) se deshidrataron en concentraciones crecientes de etanol, se diafanizaron en xilol y se incluyeron en parafina a 60°C. A continuación, las muestras se seccionaron (a 7 µm de espesor), de forma seriada, a lo largo de los planos parasagital, transversal y frontal, utilizando un micrótopo estándar.

Para el análisis histológico, las secciones se tiñeron de forma rutinaria con hematoxilina y eosina (H&E), tricrómico de Masson y tinción VOF-III (Sarasquete y Gutiérrez, 2005). Las secciones teñidas se examinaron con un microscopio Nikon Eclipse E400 y se fotografiaron usando una cámara digital Nikon DXM 1200.

Además, se tiñeron subconjuntos de secciones con PSR (PSR Stain Kit; Abcam, Cambridge, Reino Unido). Bajo luz polarizada, en las secciones teñidas mediante esta técnica, las fibras de colágeno aparecen en color rojo-naranja y verde-amarillo. Ello permite diferenciar la organización y/o heterogeneidad de la orientación de las fibras de colágeno en los tejidos conectivos (Lattouf y cols., 2014). Estas secciones se visualizaron usando un microscopio Nikon Eclipse Ti equipado con un filtro polarizador y se fotografiaron usando una cámara digital Nikon DS-Fi1 (Nikon Corp., Tokio, Japón). Se evaluaron no menos de tres secciones diferentes por muestra. Además, al menos dos investigadores independientes observaron e identificaron el JOO en las secciones.

Inmunohistoquímica convencional de muestras fetales

Se llevó a cabo sobre secciones desparafinizadas y rehidratadas. Después de un lavado de 5 minutos en una solución de TBS (solución tris buffer pH 7.4), se inhibió la actividad de la peroxidasa endógena durante 10 minutos con una solución tampón de H₂O₂ al 3%; después, las secciones se lavaron en el mismo tampón durante 10 minutos. A continuación, se bloquearon las uniones inespecíficas con albúmina sérica bovina al 10%, durante 20 minutos, y las secciones, sin lavar, se incubaron durante toda la noche (*overnight*) a 4°C en una cámara húmeda, con los anticuerpos primarios que se incluyen en la **Tabla 3**.

Tras la incubación con el anticuerpo primario, las secciones se lavaron en TBS (15 min.) y después se incubaron durante 30 minutos, a temperatura ambiente, con el anticuerpo secundario (Dako EnVision labelled polymer-HR anti-conejo IgG o anti-ratón IgG). Finalmente, tras un lavado en TBS, se reveló la inmunorreacción con una solución de 3-3' diaminobencidina (DAB, kit de revelado de Dako).

El control de la especificidad de la inmunorreacción se realizó omitiendo el anticuerpo primario, sustituyendo el anticuerpo primario por suero de ratón o conejo preinmune, y utilizando soluciones de trabajo con preabsorción específica. En estas condiciones no se observó inmunorreacción específica.

La inmunohistoquímica de las muestras fetales se realizó en los laboratorios del Departamento de Morfología y Biología Celular (Grupo SINPOS) de la Universidad de Oviedo. Para ello, se utilizó un microscopio Leica Bond™ Max de tinción automatizado y un Leica Bond™ Polymer Refine Detection Kit (Leica Biosystems™, Newcastle, Reino Unido), siguiendo las instrucciones del fabricante (Suárez-Quintanilla y cols., 2020).

Tabla 3. Anticuerpos primarios utilizados en el estudio inmunohistoquímico convencional en muestras fetales.

Anticuerpo / Antígeno	Origen y especificidad	Dilución	Proveedor
Marcadores generales			
anti-NSE (clon BBS/NC/VI-H14)	Ratón	1:1000	Dako ^a
anti-NFP (clon RT-97)	Ratón	1:200	Boehringer-Mannheim ^b
anti-PGP9.5	Conejo	1:2000	Abcam ^c
anti-S100P (clon 4C4.9)	Ratón	1:1000	Thermo Fisher Scientific ^d
anti-CD34 (clon QB-END/10)	Ratón	Prediluido	Master Diagnostica ^e
anti-Glut 1	Ratón	0,5 µg/ml	Cell Marque ^f
Marcadores mecanoproteínas			
ASIC2 1	Conejo	1:200	Lifespan Biosciences ^g
PIEZO2 2	Conejo	1:200	Sigma-Aldrich ^h
TRPV4 3	Conejo	1:200	Abcam ^c

ASIC2: acid-sensing ion channel 2, Glut 1: transportador de glucosa 1 (glucose transporter 1), NFP: proteínas de los neurofilamentos (neurofilament proteins), NSE: enolasa neuronal específica (neuron-specific enolase), PGP9.5: Producto genético proteico 9,5 (Protein Gene Product 9.5), S100P: proteína S100, TRPV4: transient receptor potential vanilloid 4.

^a: Glostrup, Dinamarca; ^b: Mannheim, Germany; ^c: Rockville, MD, USA; ^d: Freemont, CA, USA; ^e: Granada, España; ^f: Seattle, WA, USA; ^g: Seattle, WA, USA; ^h: Saint Louis, MS, USA.

1: ASIC2: anticuerpo policlonal desarrollado en conejo contra un péptido sintético del dominio extracelular de ASIC de ratón conjugado con una proteína transportadora.

2: PIEZO2: Anticuerpo policlonal desarrollado contra un péptido sintético de la región N-terminal del PIEZO2 humano. Secuencia: VFGFWAFGKHSAAADITSSLSSEDQVPGPFLVMVLIQFGTMVVDRALYLRK

3: TRPV4: Anticuerpo policlonal desarrollado contra un péptido sintético correspondientes a la secuencia de aminoácidos 720-769 interna dentro de la región amino terminal con la secuencia VDEVNWSHWNQNLGIINEDPGKNETYQYGFSTVGRLLRRDRWSSVPRV.

Inmunofluorescencia en muestras fetales

Para la reacción de inmunofluorescencia se siguió el siguiente procedimiento: las secciones se incubaron durante 1 h a temperatura ambiente en suero normal de cabra (NGS) al 10% (Sigma, EE. UU.) y Triton X-100 al 0,2% (Merck, Alemania) diluido en solución salina tamponada con fosfato (PBS). Se incubaron en anticuerpo monoclonal de ratón dirigido contra neurofilamento 200 kDa (NF-200; cloneNE-14, Sigma, EE. UU.), en una dilución 1:150 a 4°C durante 48 horas, y luego se lavaron en PBS (3 × 15 min.). A esto le siguió una incubación a 4°C, durante 24 h, con la fracción de inmunoglobulina de suero de cabra anti-ratón conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FITC) (Chemicon, Temecula, CA, EE. UU.) diluida 1:100. Las secciones se lavaron en PBS (3 × 15 min.) y se montaron sin deshidratación, en medio de montaje Vectashield (Vector, Burlingame, CA, EE. UU.). Todas las diluciones de anticuerpos se llevaron a cabo en Triton X-100 al 0,2%, NGS al 1% en MPBS al 0,1% a pH 7,4. Los controles se trataron de la misma manera que antes, excepto que se eliminó la incubación en la solución de anticuerpo primario para demostrar que los anticuerpos secundarios reaccionaron solo con su respectivo anticuerpo primario. Las secciones se estudiaron utilizando un microscopio Zeiss Axioplan Z Imaging equipado con un sistema de adquisición de imágenes digitales llamado Metamorph (versión 4.5) (Universal Imaging Corp.).

Inmunohistoquímica de muestras de adulto

La inmunohistoquímica en secciones de parafina se realizó siguiendo el protocolo del kit Vectastain® Universal® ABC Elite (PK-7200; Vector Laboratories Ltd., Peterborough, Reino Unido). Brevemente, secciones de 7 µm de espesor se desparafinizaron y rehidrataron de forma rutinaria y, a continuación, se las sometió a un proceso de recaptación antigénica inducida por calor utilizando tampón Tris-EDTA-T (base Tris 10 mM, solución EDTA 1 mM y Tween 20 al 0,05%; pH 9,0) a 100°C utilizando una olla a presión. Después se inactivó la actividad de la peroxidasa endógena mediante H₂O₂ al 3% a temperatura ambiente durante 30 minutos. Luego, se bloquearon las uniones inespecíficas con el suero de caballo del kit. Las secciones se incubaron con los anticuerpos primarios durante la noche en cámara húmeda a 4° C. Se utilizaron los siguientes anticuerpos primarios: monoclonal anti-colágeno tipo I desarrollado en ratón (SC-59772, 1:200; Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, EE. UU.); policlonal anti-colágeno de tipo III desarrollado en conejo (BS-0549R, 1: 200; Bioss Antibodies Inc., Woburn, MA, EE. UU.). A continuación, las secciones se incubaron con un anticuerpo secundario universal biotinilado, seguido de la incubación del reactivo PK-7200 durante 30 minutos. Finalmente, los cortes se incubaron con solución de sustrato de peroxidasa DAB SK-4100 (Vector Laboratories Ltd., Peterborough, Reino Unido) hasta que se reveló la tinción; se contrastaron con hematoxilina, se lavaron, deshidrataron, se montaron en un medio de montaje permanente. Las imágenes se capturaron mediante un microscopio Leica DMR y se fotografiaron con una cámara digital Leica DFC 320 (Leica Geosystems AG, St. Gallen, Suiza). Como controles se procesaron secciones representativas de la misma manera omitiendo el anticuerpo primario (Mérida-García y cols., 2021).

RESULTADOS

RESULTADOS

Resultados en especímenes fetales

Estudio histológico

El JOO es una estructura fusiforme que se localiza entre los músculos pterigoideo medial, masetero y buccinador, relacionándose con el tronco del nervio bucal y con el conducto excretor de la glándula parótida. Su extremo posterior se relaciona con glándulas salivales menores, localizadas sobre el músculo buccinador (**Fig. 10a**).

En el espécimen de 28 semanas de desarrollo, el JOO aparecía constituido por un parénquima, formado por un cordón epitelial denso con ramificaciones (**Figs. 10b y 10c**). Rodeando las ramificaciones del cordón epitelial se observa mesénquima laxo, que dará lugar al *stratum fibrosum internum*. Periféricamente estas estructuras están envueltas por mesénquima más denso dispuesto en capas, que dará lugar al *stratum fibrosum externum* (**Figs. 10b y 10c**). En el mesénquima denso se observan algunos fibroblastos (**Fig. 10c**).

El JOO está rodeado de troncos nerviosos gruesos que proceden del nervio bucal y se relacionan con el *stratum fibrosum externum*. Los troncos nerviosos van acompañados de vasos arteriales que proceden de la arteria bucal (**Fig. 10a**). Los nervios penetran en el JOO por los extremos y por su zona media (**Figs. 10d y 10e**). En el *stratum fibrosum externum* se observan troncos nerviosos de diferente tamaño (**Figs. 10b, 10c y 10e**). Finalmente, finos filetes nerviosos se observan en el *stratum fibrosum internum* en proximidad con el parénquima del órgano (**Fig. 10f**).

A las 32 semanas de desarrollo, se observan algunos cambios en el parénquima del órgano. Se aprecia con nitidez que los nidos epiteliales son de dos tipos. Unos pequeños con las células epiteliales periféricas alineadas en relación con la membrana basal y escasas células en el interior. Otros nidos de mayor tamaño presentaban células, dispuestas periféricamente a modo de empalizada, con unos núcleos muy densos mientras que en el interior del nido se observan células epiteliales más claras con citoplasma irregular. Estas células internas tienen el citoplasma y el núcleo pálidos (**Figs. 10g y 10h**).

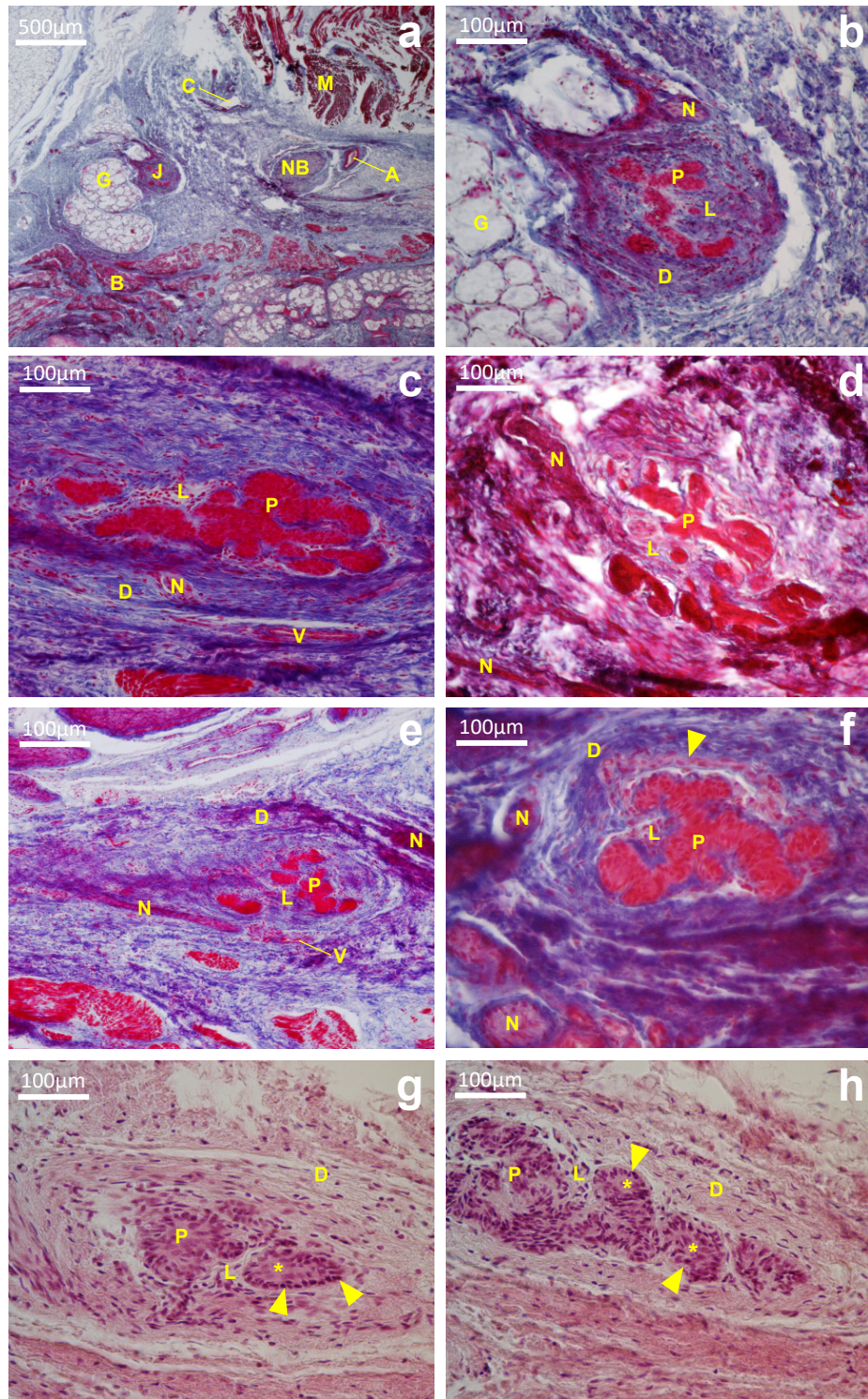


Figura 10. a-f) Feto humano de 28 semanas de desarrollo. Tinción de azocarmin. Secciones transversales. Músculo buccinador, B; Músculo masetero, M; Órgano yuxtaoral, J; Glándula salivar, G; Nervio bucal, NB; Arteria bucal, A; Conducto excretor parotídeo, C; Parénquima del órgano yuxtaoral, P; Estrato fibroso externo, D; Estrato fibroso interno, L; Nervio, N; Filete nervioso, cabeza de flecha; Vaso, V. **g-h)** Feto humano de 32 semanas de desarrollo. Tinción con hematoxilina-eosina. Secciones transversales. Algunos nidos epiteliales presentan células alineadas en la periferia, con núcleos muy densos (cabezas de flecha). En el interior aparecen células de citoplasma irregular y núcleos oligocromáticos (asterisco). Parénquima del órgano yuxtaoral, P; Estrato fibroso externo, D; Estrato fibroso interno, L.

Estudio inmunohistoquímico

Los islotes de células epiteliales presentaron inmunorreacción definida para la enolasa neuronal específica (NSE) y la proteína S100, y era muy marcada la reacción para los axones nerviosos. Hay formaciones nerviosas que tienen un aspecto corpuscular, y están localizadas en el *stratum fibrosum externum*, y fibras nerviosas en el *stratum fibrosum internum* (Figs. 11a y 11b). En este último aparecían axones nerviosos nervios que presentaban inmunorreacción positiva para los marcadores nerviosos NFP y PGP9.5 (Figs. 11c y 11d). Algunos axones se localizaron en proximidad y en estrecho contacto con los islotes epiteliales (Figs. 11a, 11b y 11c). Estos axones mostraron positividad para neurofilamento por inmunofluorescencia (Figs. 11e y 11f). El *stratum fibrosum externum* fue intensamente inmunorreactivo para CD34, pero negativo para el Glut1 (transportador de glucosa 1) (Figs. 11g y 11h).

En cuanto a los canales iónicos mecanosensibles analizados, se detectó inmunorreacción positiva para ASIC2 en los troncos nerviosos próximos al JOO en pequeños axones en el interior del *stratum fibrosum internum* y algunos nidos de células epiteliales mostraron un débil marcaje para ASIC2, mientras que no se detectó inmunorreacción para TRPV4 (Figs. 12a y 12b). Por su lado, PIEZO2 se observó en los troncos nerviosos y en las fibras nerviosas aisladas dentro del parénquima, así como en las propias células epiteliales. Además, se observaron contactos aparentes entre las fibras nerviosas y las células del parénquima PIEZO2 positivas (Figs. 12c y 12d).

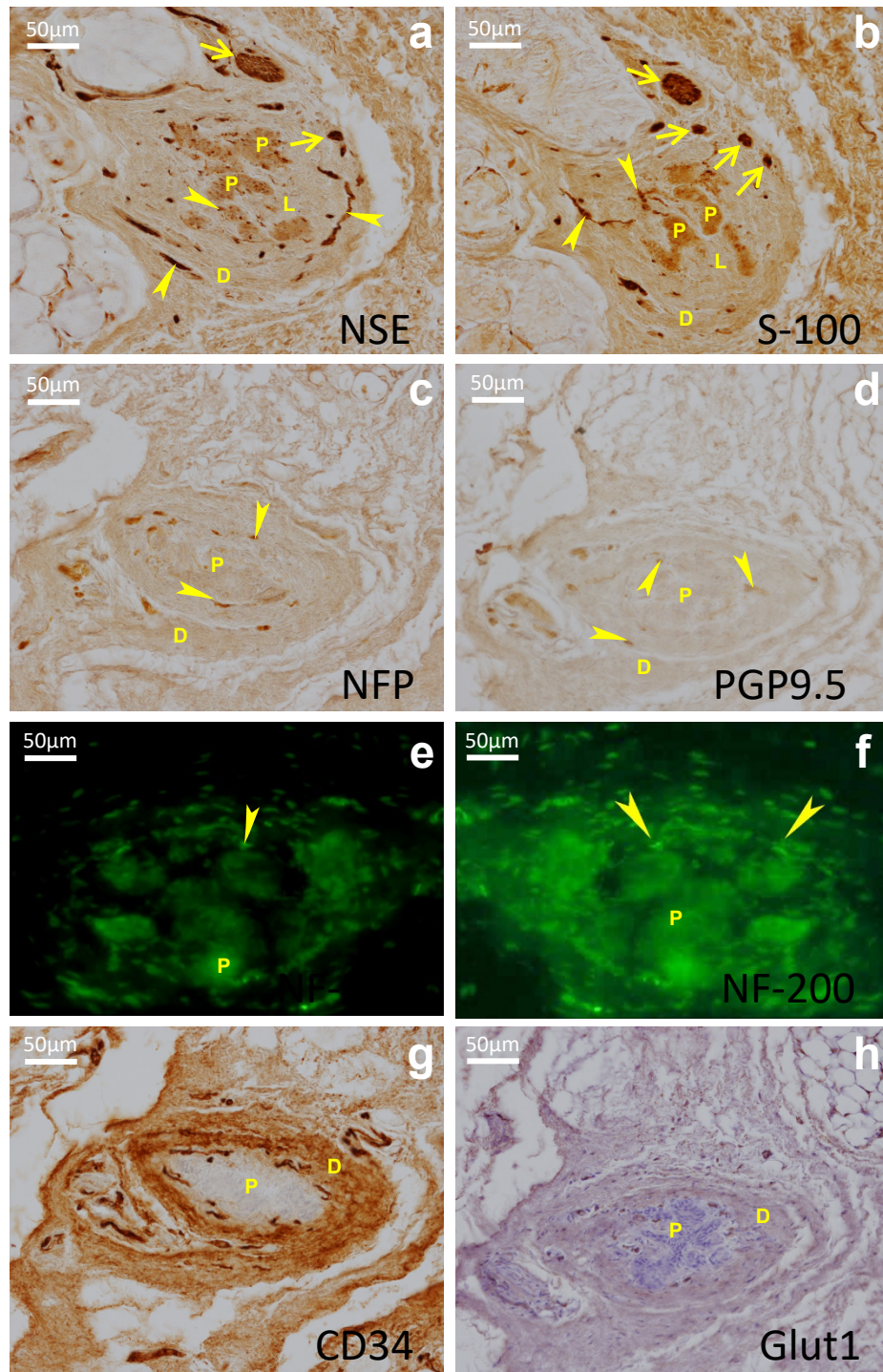


Figura 11. a-h) Feto humano de 28 semanas de desarrollo. Expresión inmunohistoquímica de enolasa neuroespecífica (NSE), **a**; Proteína S-100, **b**; Neurofilamento (NFP), **c**; PGP9.5, **d**; Expresión de neurofilamento (NF200) con inmunofluorescencia, **e**, **f**; Expresión con CD34, **g**; Expresión con Glut1, **h**. Parénquima del órgano yuxtaoral, P; Estrato fibroso externo, D; Estrato fibroso interno, L; Nervio, N; Formaciones corpusculares, flechas; Fibras nerviosas, cabezas de flecha.

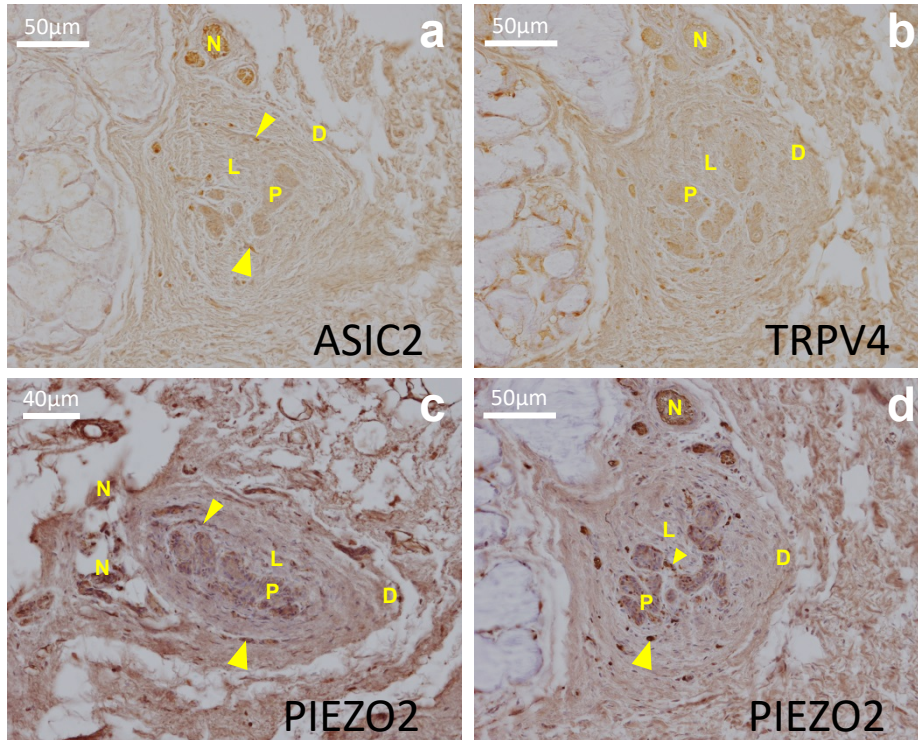


Figura 12. a-d Feto humano de 28 semanas de desarrollo. Expresión inmunohistoquímica de canales iónicos mecanosensibles ASIC2, **a**; TVRP4, **b**; PIEZO2, **c-d**. Parénquima del órgano yuxtaoral, P; estrato fibroso externo, D; estrato fibroso interno, L; nervio, N; fibra nerviosa, cabeza de flecha.

Resultados en especímenes adultos

Estudio macroscópico

En 4 casos se disecó la fosa infratemporal para alcanzar la región pterigomandibular; se rechazó el músculo masetero y, posteriormente, se hizo osteotomía de la apófisis coronoides (proceso muscular) de la mandíbula (**Figs. 13a y 13b**). Así, se accedió a la porción pterigomandibular de la fosa infratemporal, que está limitada lateralmente por la cara medial de la mandíbula y la inserción del músculo temporal. Medialmente se disponen los músculos pterigoideo medial y lateral y el rafe pterigomandibular, donde se originan los músculos constrictor superior de la faringe y buccinador. Este último forma parte de la región de la mejilla. Los nervios lingual, alveolar mandibular y la rama para inervar a los músculos milohioideo y vientre anterior del digástrico son visibles, así como la arteria maxilar (**Figs. 13c, 13d, 13e y 13h**).

El nervio bucal accede a la fosa entre las cabezas (fascículos) superior e inferior del músculo pterigoideo lateral. El nervio bucal describe una curva de concavidad anterosuperior. Inicialmente se dispone en la porción pterigomandibular de la fosa infratemporal y después se dispone sobre la cara lateral del músculo buccinador, en la región de la mejilla, caudal a la desembocadura del conducto excretor de la glándula parótida. Medialmente el nervio bucal se relaciona con el rafe pterigomandibular. En ningún caso hemos observado una estructura macroscópica que pudiera sugerir la morfología del JOO (**Figs. 13d y 13e**).

En los dos casos en los que se disecó la región, previa inyección de látex coloreado, tampoco se pudo distinguir una estructura macroscópica que pudiera sugerir la morfología del JOO (**Figs. 13f y 13g**).

Finalmente, en 10 casos bilateralmente, se optó por acceder a la región de forma similar y una vez localizado el nervio bucal en su acceso a la fosa infratemporal entre las cabezas del músculo pterigoideo lateral, se optó por reseca el tejido circundante al nervio, para su posterior análisis histológico (**Fig. 13 h**). Se analizó histológicamente el material reseca y en 12 casos se observó el JOO.

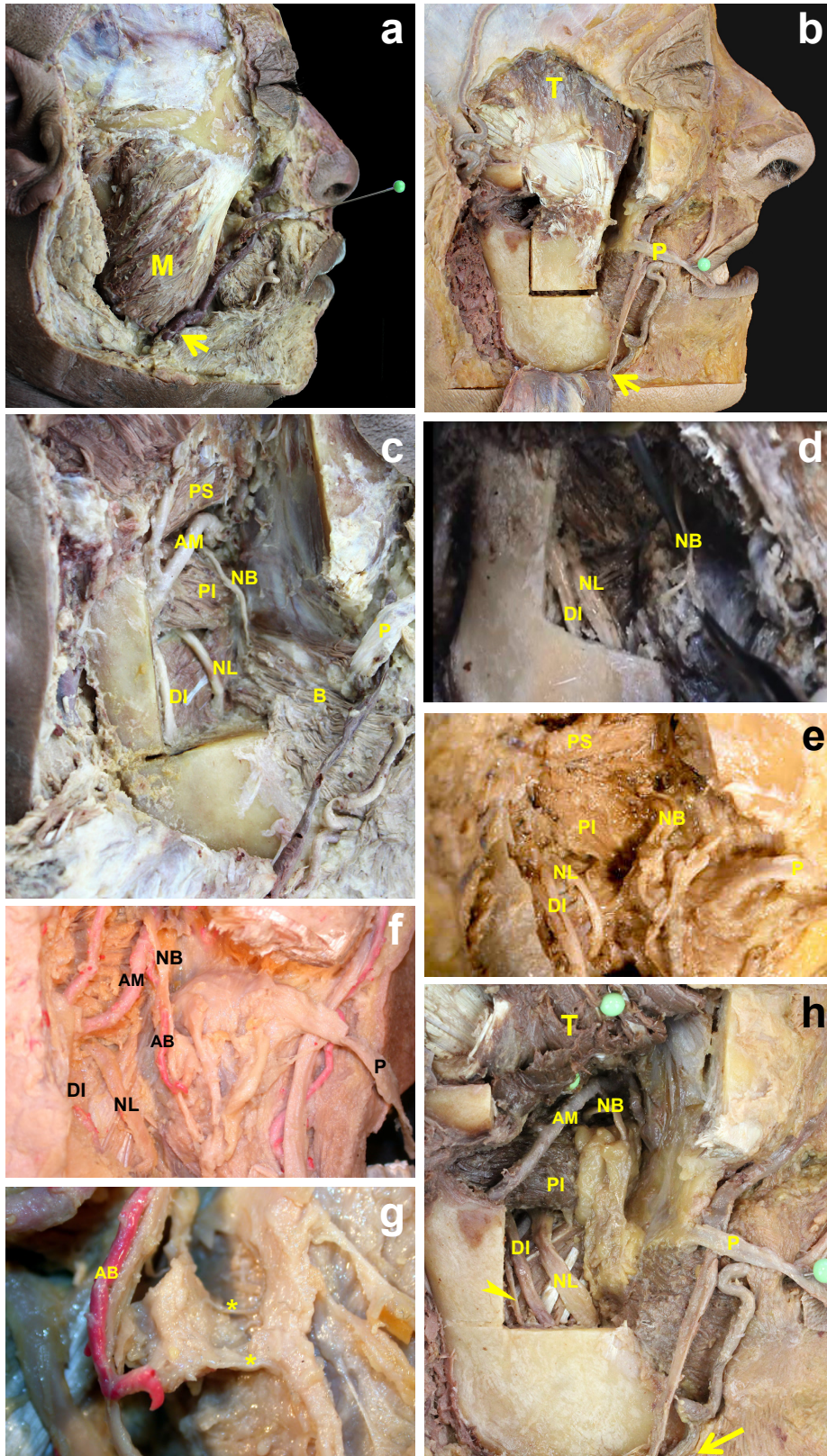


Figura 13. Diseción, en adultos, de los planos de abordaje de la fosa infratemporal (vista lateral derecha). **a)** Plano superficial. **b)** Resección del músculo masetero y osteotomía de la mandíbula y del arco cigomático. **c-e)** Fosa infratemporal disecada. **f-g)** Diseción de la fosa infratemporal tras la inyección con látex coloreado en rojo por vía carotídea. Se disecan las finas ramas del nervio bucal rodeadas de tejido conectivo. **h)** Diseción de la fosa infratemporal para resecar el tejido conectivo que se relaciona con el nervio bucal. Arteria bucal, AB; arteria maxilar, AM; músculo buccinador, B; nervio alveolar mandibular, DI; músculo masetero, M; conducto excretor de la glándula parótida, P; fascículo/cabeza inferior del músculo pterigoideo lateral, PI; fascículo/cabeza superior del músculo pterigoideo lateral, PS; nervio bucal, NB; nervio lingual, NL; músculo temporal, T; ramo para los músculos milohioideo y vientre anterior del digástrico, cabeza de flecha; vasos faciales, flecha; ramos finos del nervio bucal, asterisco.

Estudio histológico

Las secciones longitudinales muestran el JOO como una estructura cilíndrica de longitud variable entre 0,6-1,1 cm de longitud y 0,1-0,2 mm de grosor, rodeada de tejido conectivo laxo con abundantes adipocitos. El estroma del órgano está formado por tejido conectivo denso, que forma la cápsula organizada en capas concéntricas en las que aparecen fibroblastos alargados y vasos (*stratum fibrosum externum*). En el interior, el estroma está formado por tejido conectivo laxo menos celular dispuesto entre los nidos de células epiteliales (*stratum fibrosum internum*) (**Figs. 14 a y 14b**).

La cápsula presenta en los extremos y en la zona central del órgano, un número variable de haces de tejido conectivo denso con vasos y filetes nerviosos. En el *stratum fibrosum internum (propium)* aparecen fibras nerviosas en relación con los nidos epiteliales y pequeños vasos (**Figs. 14c y 14d**). En el *stratum fibrosum externum* se observan algunos fibroblastos dispuestos en el sentido de las capas concéntricas (**Fig. 14e**).

El parénquima del JOO está formado por nidos epiteliales interconectados de aspecto multilobular. Los nidos epiteliales están rodeados por una membrana basal que aparece como una delgada lamina densificada (**Figs. 14e y 14f**). Las secciones frontales muestran que los nidos epiteliales tienen una considerable variación en tamaño y forma. Los nidos de mayor tamaño muestran células epiteliales con un citoplasma claro y un núcleo redondeado u oval polarizado hacia la membrana basal. Las células internas muestran grandes citoplasmas de coloración más clara y su disposición era arremolinada o concéntrica (**Figs. 14b, 14e y 14f**). Algunos nidos muestran pequeñas vesículas con material amorfo, rodeadas de una densa membrana (**Figs. 14c, 14g y 14h**).

Inmunohistoquímica y tinción con rojo picrosirius

Los resultados inmunohistoquímicos mostraban la positividad para colágeno I y III en el estroma del JOO. El colágeno I predomina en el tejido conectivo denso que forma la cápsula (*stratum fibrosum externum*) del JOO, mientras que el colágeno III predominaba en el tejido conectivo laxo del interior (*stratum fibrosum internum*). La tinción con PSR y el tricómico (VOF-III) mostraba la organización en capas circulares del *stratum fibrosum externum*, mientras que el tejido colágeno se disponía predominantemente radial en el *stratum fibrosum internum* (**Figs. 15a, 15b, 15c y 15d**).

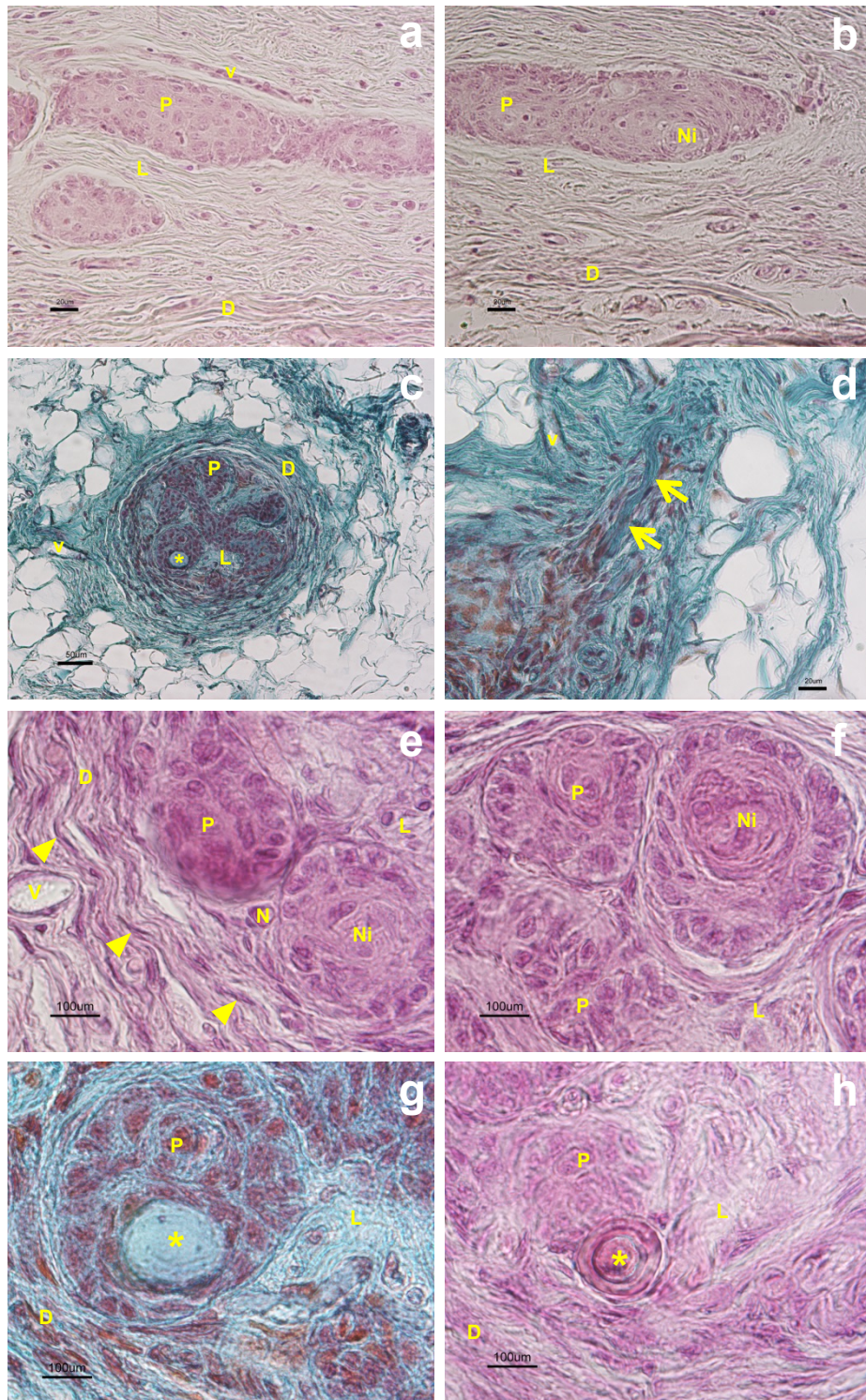


Figura 14. Histología del órgano yuxtaoral del adulto. **a-b]** Secciones longitudinales, tinción hematoxilina-eosina. **c-h]** Secciones coroneales; tinción VOF-III, **c,d,g]** tinción hematoxilina-eosina, **e,f,h.** Estrato fibroso externo, D; Estrato fibroso interno, L; Nervio, N; Parénquima del órgano yuxtaoral, P; Vasos, V; Fibroblasto, cabeza de flecha; Vesículas, asterisco. **(e,d)** Haces de tejido conectivo denso con gruesas fibras de colágeno (flechas) fijan el órgano yuxtaoral en el tejido conectivo laxo de la región y llevan estructuras nerviosas y vasculares. **(b,e,f)** Se muestran nidos (Ni) epiteliales formados por células periféricas, en relación con la membrana basal y células internas de citoplasma irregular, arremolinadas.

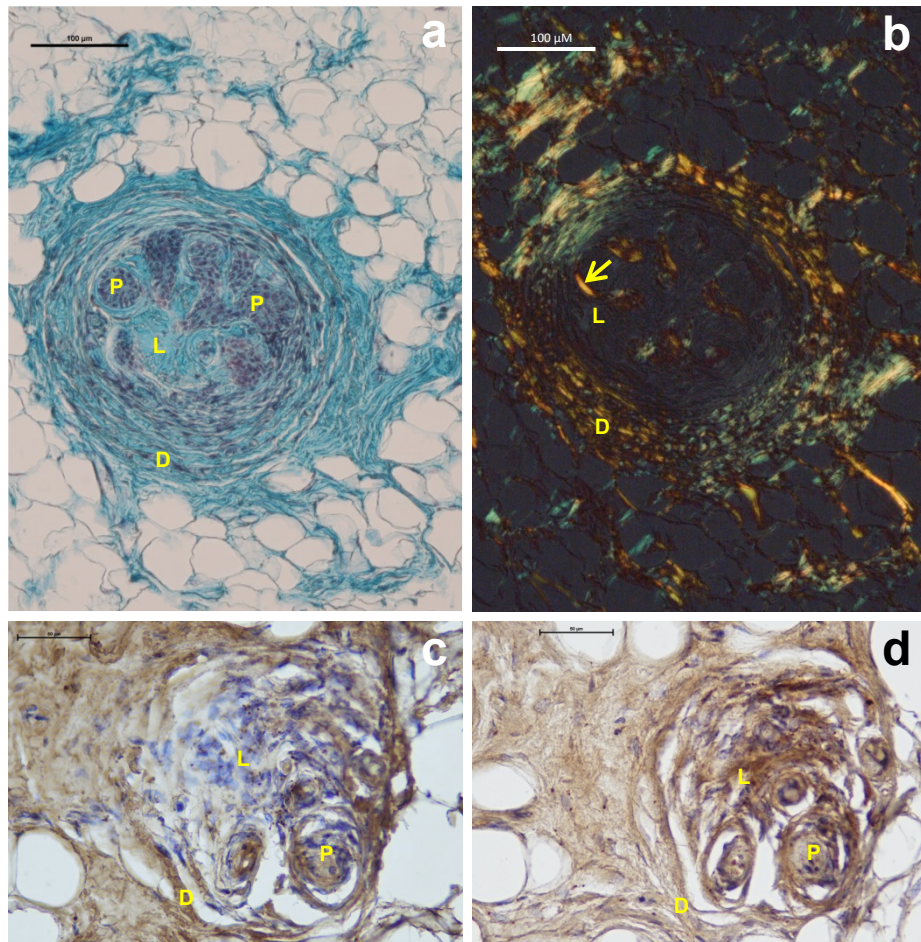


Figura 15. Secciones frontales del órgano yuxtaoral adulto. **a)** tinción con VOF III. **b)** técnica de rojo picosirius (PSR); disposición radial del colágeno (flecha). **c,d)** Expresión inmunohistoquímica de colágenos tipos I (c) y III (d). Estrato fibroso externo, D; Estrato fibroso interno, L; Parénquima del órgano yuxtaoral, P.

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

Tratando de dar respuesta a los objetivos planteados en el actual estudio –cuyos resultados ya han sido pormenorizados no sólo en esta memoria, sino que también han sido objeto de dos publicaciones en revistas internacionales con factor de impacto JCR (Suárez-Quintanilla y cols., 2020; Mérida-García y cols., 2021)–, planteamos esta ‘Discusión’ en diferentes apartados, imbricando todos los estudios existentes, de fetos y adultos, para tratar de entender las características del JOO en humanos.

Aspectos macroscópicos en adultos

El término “órgano yuxtaoral” aparece recogido en la Terminología Histológica Internacional (FICAT, 2008) y en la Terminología Anatómica Internacional (FIPAT, 2019). En el libro “Feneis. Nomenclatura anatómica ilustrada” (Dauber, 2021) se define el *Organum yuxtaorale* (órgano yuxtaoral) como probablemente un órgano receptor en el tejido conectivo, alrededor del cuerpo adiposo de la mejilla, sobre la fascia bucofaríngea del músculo buccinador. No obstante, es una estructura poco conocida; probablemente ha contribuido a este hecho la escasez de estudios desde su descripción a finales del siglo XIX por Chievitz (Chievitz, 1885). De ahí que haya aspectos aún no aclarados sobre la anatomía y función de este órgano.

Los primeros estudios morfológicos macroscópicos hay que datarlos a mediados del siglo XX. Zenker (1955) describió que la fascia interna del músculo temporal se divide en dos capas cerca de la inserción del músculo. Una lámina permanece adherida al músculo y al tendón que se inserta en la mandíbula. La otra lámina tendinosa, más gruesa, continúa medialmente hacia abajo y se fusiona con el tejido fascial del músculo buccinador. Entre las dos capas fasciales, hay un espacio tisular de tamaño variable denominado espacio bucotemporal. Está limitado medialmente por la fascia temporal, que forma la pared superomedial del espacio. La pared opuesta bordea el espacio del cuerpo adiposo de la mejilla. El espacio bucotemporal contiene al órgano bucotemporal (órgano de Chievitz), que aparece adherido a la superficie convexa de la fascia. La inserción de la fascia bucotemporal se encuentra aproximadamente a 2 cm detrás del sitio donde el conducto parotídeo perfora el músculo buccinador. Esta descripción ha sido seguida por la escuela anatómica alemana (Benninghoff y Goerttler, 1979; Lang, 1995; Paulsen y Waschke, 2018).

En el año 1974, George B. Lutman publicó un artículo en la revista *American Journal of Clinical Pathology*. En él, llamaba la atención sobre una estructura que aparecía en

biopsias en la región infratemporal y que podía aparentar una invasión tumoral. Esta publicación dio lugar a un ‘comentario al Editor’ de la revista redactado por Kramer y Zenker (1974). Estos señalaban que el JOO se localizaba en la región bucotemporal y que su localización típica y topografía ya había sido descrita (Zenker, 1953; Zenker, 1954; Salzer y Zenker, 1962). Además, en este comentario aportaban una representación esquemática de la situación topográfica del JOO (ver **Figura 5**). Si analizamos la imagen se comprueba que corresponde a la región infratemporal en la que se han extirpado las ramas extraparotídeas del nervio facial y la glándula parótida. En el esquema se representa la resección del músculo masetero y la osteotomía del proceso muscular de la mandíbula para observar la fosa infratemporal. En la fosa, junto a los nervios bucal, lingual, alveolar inferior y la fascia bucotemporal, fijándose en el músculo buccinador, se representa el JOO.

Tras estas descripciones de la topografía del JOO, la mayoría de los autores han utilizado la denominación de “espacio bucotemporal” cuando se refieren a la localización del JOO. Sin embargo, esta denominación no está recogida por la Terminología Anatómica Internacional (FIPAT, 2019).

A parte de los estudios del grupo de Zenker, no se ha realizado un análisis sistemático para tratar de localizar al JOO. Por tanto, desde nuestra perspectiva, dos factores han podido influir en el desconocimiento de esta estructura: uno, la falta de estudios de la topografía y localización del JOO; el otro, que la descripción histológica del JOO suele ser un hallazgo accidental en muestras de biopsias rutinarias por tumoraciones en la región (ver **Tabla 1**). Estos hechos condicionan que no se mencione el JOO en estudios morfológicos macroscópicos realizados en la fosa infratemporal. Sirvan como ejemplos trabajos recientes en los que se realizan estudios anatomoquirúrgicos de la fosa infratemporal (Isolan y cols., 2007; Casale y Bordoni, 2021); e incluso un trabajo en el que se disecaron y examinaron veinte fosas infratemporales usando técnicas microoperatorias con aumentos de 3–40× donde se obtuvo información sobre las interrelaciones de los contenidos de la fosa infratemporal (Joo y cols., 2013); u otro en el que se describe el curso y distribución del nervio bucal (Takezawa y cols., 2018); o aquel en el que se reportan disecciones minuciosas que describen la distribución del nervio mandibular en la fosa infratemporal y sus relaciones con los músculos inervados por él (Shimokawa y cols., 2004); o en relación con la inervación de la articulación temporomandibular (Kucukguven y cols., 2022); o en abordajes para estudiar la vascularización de la región (Iwanaga y cols., 2022).

En nuestra opinión, la falta de parámetros morfológicos macroscópicos que permitan la localización del JOO incide en la disparidad de las descripciones sobre su localización topográfica pues, como hemos indicado, la mayoría de las descripciones proceden de estudios de biopsias (ver **Tabla 1**). Algunos autores informaron de que el JOO está estrechamente relacionado con el músculo pterigoideo medial (Tschen y Fechner, 1989; Sancheti y cols., 2015; D'Andrea y cols., 2015; Kimizuka y cols., 2021), o que se sitúa en el tejido blando del área de la rama ascendente de la mandíbula (Palazzolo y cols., 2014), o en la región retromolar (Mikó y Molnár, 1980; Geist y cols., 1984; Ramos-Vega y Roa, 2019), o en relación con el tercer molar (Kim y cols., 2015). Otros, por su parte, han descrito que el JOO está situado en la zona de inyección del bloqueo del nervio alveolar inferior (Danforth y Baughman, 1979; Kamat y cols., 2015). Algunos autores informaron que el JOO se localiza en el tejido blando de la región del ángulo de la mandíbula, en relación con la fascia bucotemporal: su extremo posterior estaría en relación con el músculo pterigoideo medial, cerca del rafe pterigomandibular, con su extremo anterior situado caudal al conducto excretor de la glándula parótida, a nivel de su desembocadura en el músculo buccinador (D'Andrea y cols., 1999; Pantanowitz y Balogh 2003). Por su parte, Roşu y cols. (2014) publicaron que el JOO se localiza en la región temporal.

Ramos-Vega y Roa (2019), en su estudio sobre los cortes en plastinación de un sujeto asiático, describieron que el JOO estaba ubicado en la submucosa del triángulo retromolar, a nivel del rafe pterigomandibular, medial a la rama mandibular, anteromedial al músculo pterigoideo medial y lateral a la base de la lengua. También informaron que el JOO está estrechamente relacionado con el nervio lingual y las raíces del 3º molar inferior. En su reciente revisión bibliográfica, Kennedy (2020) señaló que la localización del JOO más común, según un criterio odontológico, es lingual a la mandíbula, pero según otros trabajos puede localizarse bucal a la mandíbula y en la región posterior de la lengua.

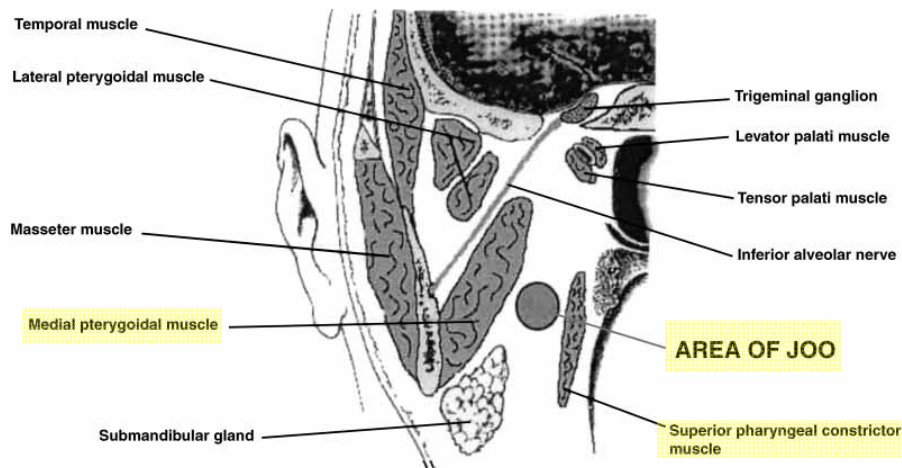


Figura 16. Esquema del área ocupado por el JOO, entre el músculo constrictor superior de la faringe y el pterigoideo medial. Tomado de Bénateau y cols. (2003).

Además, algunos autores representan esquemáticamente la disposición y localización del JOO en una situación que, desde nuestra perspectiva, puede inducir a confusión, ya que lo ubican medial al músculo pterigoideo medial y lateral al músculo constrictor superior de la faringe (Bénateau y cols., 2003; **Figura 16**). Nosotros creemos que en esta localización sólo estaría situada la parte más posterior del JOO.

Otro factor que ha podido contribuir a la confusión sobre la localización del JOO son los trabajos que compararon formaciones neuroepiteliales localizadas en la región oral con el JOO. Se ha informado de la presencia de estructuras neuroepiteliales localizadas en la mandíbula (Jensen y cols., 1979; George y cols., 1984), en el maxilar (Eversole y Leider, 1978; Wysocki y Wright, 1981; Tosios y cols., 2022), o en la lengua (Mair y cols., 2013), que pueden simular el aspecto del JOO. Es más, para Wysocki y Wright (1981) el JOO puede ser un resto embriológico. Por su parte, Palazzolo y cols. (2014) consideraron que el tejido neuroepitelial en relación con las papilas gustativas de la región posterior de la lengua, observado en los casos que reportan en su artículo, no puede ser identificado como restos embriológicos, sino que son formaciones histológicamente similares al JOO. Sin embargo, en algunos tratados de 'Patología quirúrgica' se describe el JOO dentro del apartado de anomalías congénitas (Goldblum y cols., 2017).

A pesar de todo lo anteriormente expuesto, parece claro que el JOO es una estructura que está bien definida desde su origen en embriones humanos. Se origina a partir del epitelio del surco transversal de la boca primitiva, en relación con el nervio bucal (Kleiss y Kleiss, 1985; Mérida-Velasco y cols., 2005). Similares resultados se obtuvieron en ratones (Ito y cols., 2009; Kobayashi y cols., 2015) y en ratas (Velasco y cols., 2012). Por tanto, el JOO no es un resto epitelial del desarrollo y la aparición de estructuras epiteliales asociadas a nervios no pueden ser consideradas como variaciones anatómicas en la posición del JOO.

Nosotros hemos abordado la región infratemporal en adultos siguiendo la técnica descrita por Isolan y cols. (2007) y Von Arx y Lozanoff (2017) para tratar de localizar y comprobar las relaciones del JOO. En los primeros 4 casos no pudimos encontrar ningún dato morfológico que pudiera permitir identificar al JOO macroscópicamente. Para tratar de ayudar en la disección se optó por la inyección con látex coloreado (en rojo) del sistema vascular carotídeo, ya que los datos bibliográficos indicaban que esta estructura estaba muy inervada y vascularizada. Sin embargo, sólo pudimos comprobar la existencia de estructuras similares a pequeños ramos nerviosos rodeados de tejido conectivo que aparecían en la región. Por tanto, consideramos lógico que con los medios usuales de

disección anatómicoquirúrgica pueda pasar desapercibido el JOO en estudios macroscópicos de la fosa infratemporal, tal como hemos señalado anteriormente.

D'Andrea y cols. (2015) señalaron que el JOO no se observa macroscópicamente, pero con un microscopio de disección se puede ver como una hebra de tejido sólido, blanca y plana, que parece un nervio. En la disección, el JOO puede confundirse con fibras de tejido conectivo, ya que está relacionado con la fascia bucotemporal. Ante esta situación, en 10 casos (bilateralmente) se optó por reseca el tejido conectivo que rodea al nervio bucal, una vez localizado este, en su emergencia a la región –entre los fascículos superior e inferior del músculo pterigoideo lateral–. El examen histológico de este material demostró que en 12 de las 20 muestras estaba incluido el JOO.

Aspectos histológicos del JOO

La mayoría de los autores informaron que, en humanos, el JOO es una estructura neuroepitelial alargada de 7 a 17 mm de largo y 1 a 2 mm de ancho, bilateral y no comunicada con el conducto de la glándula parótida ni con la cavidad oral (D'Andrea y cols., 1999; Pantanowitz y Tschen, 2004; Pantanowitz y Balogh en Mills, 2012; D'Andrea y cols., 2015; Bommanavar y cols., 2017; Ramos-Vega y Roa, 2019). Nuestros resultados coinciden con estas descripciones.

Histológicamente, el grupo de Zenker describió el JOO formado por un parénquima rodeado por un estroma conectivo (Zenker y Salzer, 1961; Salzer y cols., 1965; Salzer y Zenker, 1968; Zenker, 1982). Este grupo describió que el JOO era una estructura multilobulada con una cápsula fibrosa densa (*stratum fibrosum externum*) y un parénquima, constituido por nidos –redondos o alargados– de células epiteliales escamosas no queratinizadas, rodeado de un estroma de tejido conectivo laxo (*stratum fibrosum internum* o *propium*) que es rico en pequeñas ramas nerviosas del nervio bucal –que forman el estrato nervioso (*stratum nervosum*)–. Prácticamente todos los autores han seguido esta descripción histológica en sus trabajos e incluso así aparece también en los tratados de histología para patólogos (Mills, 2012).

Parénquima

El parénquima del JOO está formado por un cordón de células epiteliales escamosas no queratinizadas, de aspecto multilobulado, que forman nidos de diferentes tamaños interconectados. Los nidos epiteliales están rodeados por una membrana basal que los separa del estroma. Algunos trabajos describen, también, que los nidos epiteliales

estaban formados por 1-3 capas de células epiteliales, y que los cordones epiteliales permitían reconocer un cierto grado de estratificación (Zenker y Salzer, 1961).

Los nidos de mayor tamaño presentaban unas células en su interior polimórficas, con aspecto arremolinado, con un citoplasma PAS positivo de gran tamaño y núcleo redondeado, de tamaño variable, y oligocromáticos. Esta disposición fue denominada “centros claros” por Zenker y Salzer (1961). Imágenes de esta disposición han sido publicadas por algunos autores (Tschen y Fechner, 1979; Danforth y Baughman, 1979; Geist y cols., 1984; Mandl y cols., 1993; Pantanowitz y Balogh en Mills, 2012). Por su parte, Hültenschmidt y cols. (1991) informaron que sus estudios sugieren que las células epiteliales maduran desde la periferia del parénquima hacia el centro.

Durante el desarrollo se informó que, en especímenes humanos de 155 mm GL, los nidos epiteliales están formados por dos tipos de células, unas periféricas en relación con la membrana basal y otras internas más pálidas, que incluso parecen vacuolizadas. Estas últimas, por su aspecto más claro, pueden simular la luz de un conducto de una glándula salivar (Kleiss y Kleiss, 1985). A partir de las 11-12 semanas de desarrollo, en humanos, aparecían unas formaciones exofíticas en el parénquima constituidas por una capa de células epiteliales que rodean a otras con citoplasma más claro (Mérida-Velasco y cols., 2005).

Nuestros resultados confirman estas observaciones. En especímenes de 32 semanas algunos nidos epiteliales presentaban esta disposición. En adultos, los nidos epiteliales de mayor tamaño mostraban células con un citoplasma claro y un núcleo redondeado u oval polarizado hacia la membrana basal. Las células internas mostraban grandes citoplasmas de coloración más clara y su disposición era arremolinada. Este tipo celular se asemeja a la disposición de las células del corpúsculo de Hassall del timo. De hecho, en su ‘Tratado de Histología’, Fawcett (1995) expone que las células epiteliales tipo 6, de tinción mucho más pálida y situadas en la médula tímica, tienen un núcleo eucromático con un nucleolo prominente. Su citoplasma tiene forma de una cisterna larga paralela, con un contenido granular de densidad moderada. Algunas células de tipo 6 son redondeadas y otras aplanadas, y se disponen envolviéndose unas a otras. Es más, en una de sus microfotografías se describe la morfología del corpúsculo de Hassall de un niño de 8 años, indicando que está formado por un conjunto concéntrico de células reticulares modificadas. Asimismo, podemos encontrar una descripción similar en el tratado de histología de Geneser (**Figura 17**).

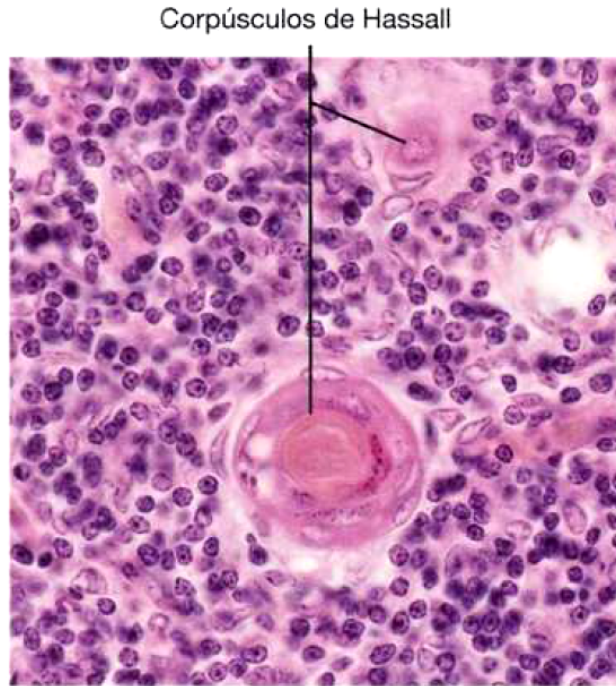


Figura 17. Imagen al microscopio óptico de corpúsculos de Hassall en la médula del timo. Corte teñido con hematoxilina-eosina. x440. Tomado Geneser et al. (2015).

Además, nosotros hemos descrito en nuestros resultados que algunos nidos epiteliales mostraban unas vesículas con material amorfo y una nítida membrana. Estas vesículas fueron descritas por Zenker y Salzer (1961), quienes informaron que, sin ningún género de duda, la presencia de esas vesículas con material coloide sugería la actividad secretora de las células parenquimatosas. Estos autores, sugerían una actividad paracrina del JOO. De hecho, estas vesículas ya aparecían en artículo de Müller y Zenker (1981; **Figura 18**) titulado '*Enzyme-histochemistry of the juxtaoral organ in man ("organ of Chievitz")*'.

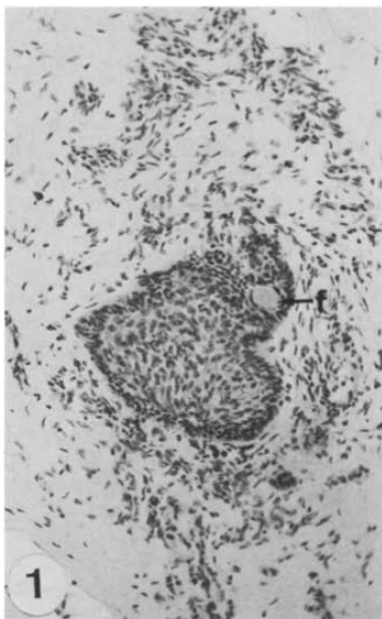


Figura 18. Parénquima del JOO con un folículo donde se observa una masa coloide metacromática de diferente densidad. Tomada de Müller y Zenker, 1981.

Hültenschmidt y cols. (1991) describieron formaciones quísticas con contenido metacromático similares a folículos hipofisarios coloidales. Recientemente, Ito y cols. (2009) informaron que los ratones estudiados no presentaron vesículas de secreción en el parénquima del JOO. Para estos autores esta ausencia podría sugerir que el JOO no tiene función exocrina ni endocrina. Kobayashi y cols. (2015), en su estudio en ratones, tampoco observaron vesículas en el parénquima.

Por otro lado, también, se ha descrito que el parénquima está formado por dos tipos de células: las tipo I, similares a queratinocitos, y las tipo II, que son de tipo dendrítico y parecidas a células epidérmicas de Langerhans (Mayr y Salzer, 1967). Sin embargo, esto no se observó en especímenes de hámster (Jeanneret-Gris, 1980), rata (Salzer y cols., 1964) y cobaya (Mayr, 1979).

Zenker y cols. (1961) estudiaron el comportamiento del órgano ante reacciones histoquímicas. Posteriormente, Müller y Zenker (1981) informaron sobre la actividad y distribución de varias enzimas en el JOO humano, comparando los resultados con los obtenidos tras aplicar las mismas técnicas a la mucosa oral, la glándula parótida y pequeñas glándulas salivares de la región oral, estructuras que –topográfica y ontogénicamente– están en relación con el JOO. Sus resultados sugirieron que la actividad enzimática podría ser la expresión de los estados de actividad del órgano. En base a estos resultados, consideraron que esta estructura tenía una función secretora. Esta hipótesis se vería reforzada por el hecho, según ellos, de que, experimentalmente, en ratas hipofisectomizadas se produjo una disminución del volumen total del órgano y los núcleos de las células epiteliales mostraron una disminución significativa de su diámetro. La disminución de tamaño era menos marcada en los núcleos de las células epiteliales de la glándula submandibular y los cambios eran insignificativos en las células del tejido conectivo, mientras que no había cambios en las células del estrato basal de la mucosa (Salzer y Zenker, 1968; Fasching y cols., 1974).

Se ha sugerido que la inervación del JOO por nervio bucal influye sobre la morfología del parénquima. Lischka (1969) investigó los efectos de la denervación ipsilateral y contralateral del JOO en la rata. Los núcleos de las células epiteliales periféricas, en relación con la membrana basal, inicialmente en el lado homolateral a la denervación, aumentaron de tamaño, pero a las tres semanas eran más pequeños. Por el contrario, los contralaterales mostraron hipertrofia.

Estroma

Dos estructuras forman el estroma según los estudios histológicos del grupo de Zenker: el *stratum fibrosum externum* que constituye la cápsula del JOO y el *stratum fibrosum internum (propium)*. El primero está constituido por tejido conectivo denso mientras que el segundo está formado por tejido conectivo laxo (Zenker y Salzer, 1961; Salzer y Zenker, 1962; Mayr, 1979).

Nuestro estudio mostró que en especímenes de 28 semanas de desarrollo el estroma estaba constituido por tejido mesenquimal laxo que se relaciona directamente con el parénquima. Este tejido se introducía entre nidos epiteliales y dará lugar al *stratum fibrosum internum (propium)*. Periféricamente, tejido conectivo denso dispuesto en capas, formaba la cápsula del JOO y mostraba algunos fibroblastos. Este dará lugar al *stratum fibrosum externum*. Salzer y Zenker (1962) consideraron erróneamente que el *stratum fibrosum internum (propium)* sólo era visible después del nacimiento. Nosotros no hemos observado que la cápsula del JOO durante el desarrollo esté unida a la fascia bucotemporal, tal y como describieron Kleiss y Kleiss (1985).

Por otro lado, se ha descrito que durante la 11-12 semana de desarrollo el parénquima del JOO estaba rodeado de tejido conectivo que correspondía a la cápsula del órgano (Mérida-Velasco y cols., 2005). En el actual estudio, hemos observado que, en especímenes fetales, a través de la cápsula se relacionaba con tejido conectivo laxo que se disponía entre los músculos pterigoideo medial y masetero, lateralmente y el músculo buccinador, medialmente. Además, comprobamos que el extremo dorsal del órgano se relacionaba con glándulas salivares menores dispuestas sobre el músculo buccinador. El nervio y la arteria bucal se relacionaban con la cápsula del JOO. Similares resultados fueron descritos por Kleiss y Kleiss (1985) y Mérida-Velasco y cols. (2005).

En adultos, nuestras observaciones han confirmado desde el punto de vista histológico los resultados del grupo de Zenker. Así nuestros estudios mostraron, mediante las tinciones histológicas (HE, tricrómico VOF-III y PSR), que la disposición del colágeno era circular en capas a nivel el *stratum fibrosum externum* y radial a nivel del *stratum fibrosum internum*.

Además, hemos observado que existían haces de tejido conectivo denso, que contenían fibras nerviosas y vasos en los extremos y la zona media del JOO. Estos haces contenían gruesas fibras de colágeno. Para nosotros, es a través de estos haces como le llega la

inervación y vascularización al JOO y contribuyen a sustentar al órgano en la región, ya que en este plano intermuscular predomina fundamentalmente el tejido conectivo laxo con abundantes adipocitos. Esta disposición ya estaba esbozada durante el desarrollo en especímenes de 28 semanas. No obstante, el grupo de Zenker describió que el JOO estaba en relación con la fascia bucotemporal, como ya hemos señalado anteriormente.

Por otro lado, queremos resaltar que, tanto en fetos como en adultos, nosotros hemos localizado el JOO en el plano intermuscular. Por tanto, no coincidimos con las descripciones de algunos autores que informaron su situación en relación con la submucosa de la región oral (Mikó y Molnár, 1981; Ramos-Vega y Roa, 2019).

Características ontogénicas del estroma

El estroma del JOO deriva del mesénquima. En especímenes de 87 mm GL se pueden distinguir los *stratum fibrosum internum* y *externum* (Kleiss y Kleiss, 1985). Por su parte, Mérida-Velasco y cols. (2005) informaron que a partir de la 11ª semana de desarrollo era posible distinguir la cápsula del JOO. En ratas, Velasco y cols. (2012) mostraron inmunorreactividad positiva para HNK-1 del mesénquima que rodeaba el parénquima del JOO durante el E14 y E15, por lo que sugerían la participación de la cresta neural en el desarrollo del JOO.

Recientemente se ha informado que las células positivas ante el CD34 tienen un origen del mesodermo y de la cresta neural embrionaria, y de células madre pluripotentes de sangre periférica en la vida postnatal. Entre las células positivas para CD34 se encuentran los fibroblastos/fibroцитos del estroma (Díaz-Flores y cols., 2014). Por otro lado, el Glut-1 es una isoforma del transportador de glucosa que se expresa en el perineuro y en el endotelio de los vasos sanguíneos endoneurales que discurren entre las fibras nerviosas periféricas (Takebe y cols., 2008). Nuestros resultados mostraron que, en fetos, el mesénquima denso que dará lugar al *stratum fibrosum externum* fue intensamente inmunorreactivo para CD34, pero negativo para el Glut-1. Además, hemos resaltado que en el mesénquima denso durante el periodo fetal y el *stratum fibrosum externum* del JOO en adultos, aparecían células con morfología típica de fibroblastos.

En los vertebrados la cresta neural muestra un carácter único: la capacidad de migrar a través de rutas en el embrión para alcanzar e invadir todos los tejidos y órganos, mientras producen gran cantidad de tipos de células diferenciadas. Esto es muy llamativo a nivel de la cabeza y cuello, donde producen melanocitos, nervios periféricos y ganglios, así

como derivados mesenquimales. De ahí que se haya considerado la cuarta capa embrionaria y se le haya designado como ectomesénquima o mesectodermo (Espinosa-Medina y cols., 2014; Le Douarin y Dupin, 2012, 2016; Dupin y cols., 2018; Furlan y Adameyko, 2018). Experimentos de trasplante en embriones en aves (pollo/codorniz) y, más recientemente, el mapeo genético del destino en el ratón, han demostrado que los derivados ectomesenquimales de la cresta neural craneal en amniotas incluyen condrocitos y células óseas, células musculares lisas y pericitos, tendones, células dérmicas y de otros tejidos conectivos, adipocitos, células estromales y endoteliales de la córnea y, en mamíferos, odontoblastos (Le Douarin y Kalcheim, 1999; Minoux y Rijli, 2010; Le Douarin y Dupin, 2012, 2016; Furlan y Adameyko, 2018) (**Figura 19**). Por otro lado, cultivos *in vitro* de células de la cresta neural cefálica mostraron combinaciones variables de seis fenotipos distintos: células gliales, neuronas, melanocitos, fibroblastos, condrocitos y osteoblastos (Dupin y cols., 2018).

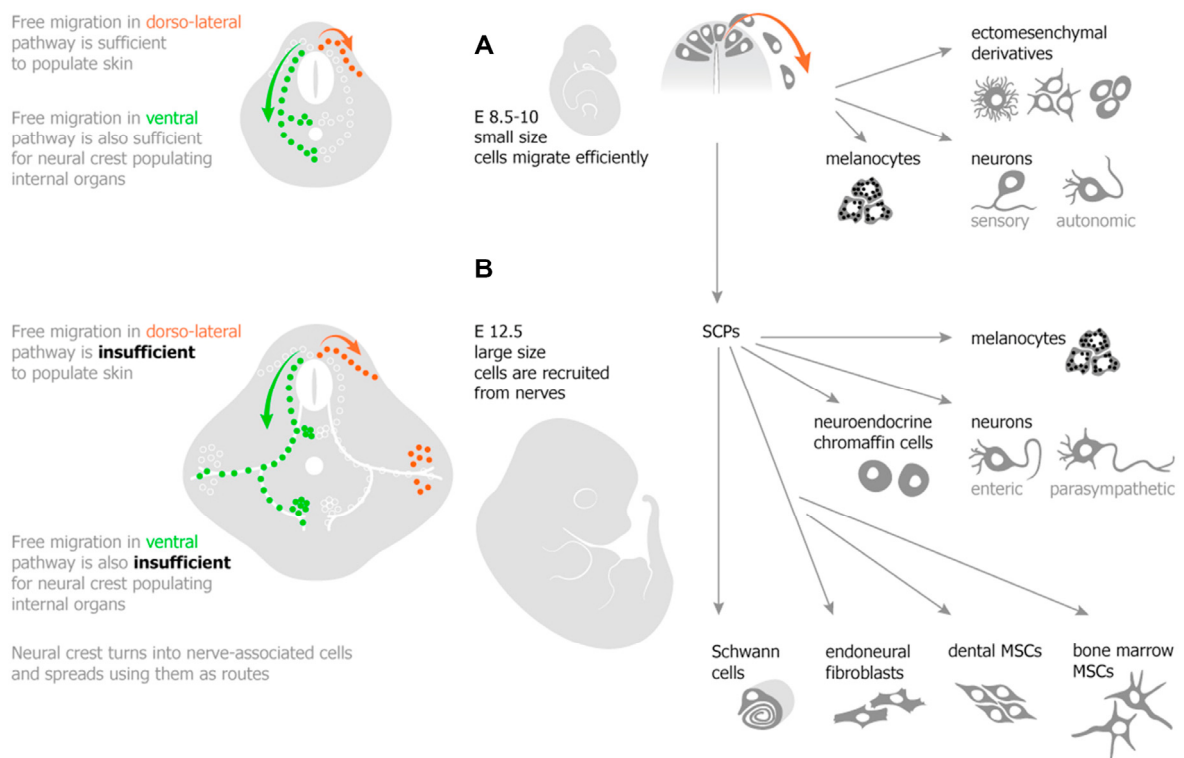


Figura 19. Esquema que muestra los precursores migratorios de la cresta neural craneal (A) y de las células de Schwann asociadas a los nervios (B) en el embrión de ratón. Estos representan una fuente duradera de progenitores multipotentes disponibles en cualquier localización corporal debido a la diversificación de las estrategias de diseminación. Tomado de Furlan y Adameyko (2018).

Otro interesante trabajo mostró gránulos de melanina en las células dispersas del estroma del JOO. Estos autores consideraron que los melanocitos podrían derivar de células de la cresta neural que acompañaron a los nervios que se encuentran en el

estroma del JOO (Ide y cols., 2003). Consideramos que el estroma del JOO puede ser un derivado de la cresta neural. Nuestros resultados en fetos mostraron que el *stratum fibrosum externum* tenía una expresión inmunofenotípica que sugiere características endoneurales/perineurales (Joseph y cols., 2004; Richard y cols., 2012; Díaz-Flores y cols., 2014; Furlan y Adameyko, 2018).

Para Hültenschmidt y cols. (1991) todo el órgano está rodeado por una vaina similar al perineuro. De esta forma el perineuro que envuelve a las fibras nerviosas que alcanzan el JOO, se continua con las láminas de la cápsula.

Nuestros resultados en fetos humanos mostraron una reacción negativa para Glut-1. Sin embargo, Kobayashi y cols. (2015) en su estudio, en embriones de ratón, observaron la reacción positiva para Glut-1 del *stratum fibrosum externum* y sugirieron que era similar al del perineuro de los nervios, ya que ambos tejidos eran morfológicamente idénticos.

Colágeno y Órgano yuxtaoral

El tejido conectivo se denomina también tejido de sostén, dado que representa el esqueleto que sostiene tejidos y órganos. El tejido conectivo se caracteriza por tener células y sustancias extracelulares, en su mayor parte secretadas por uno de los tipos celulares (fibroblastos), que en condiciones normales representan una proporción de tejido mayor que las células. En conjunto, esta sustancia se denomina matriz extracelular y está constituida por fibras incluidas en una matriz amorfa que contiene líquido tisular. Las fibras del tejido conectivo son de tres tipos, colágeno, reticulares y elásticas. La matriz amorfa está compuesta por proteoglicanos y glucosaminoglicanos que forman geles muy líquidos. Los distintos tipos de células, las fibras y la matriz amorfa aparecen en cantidades variables en distintas partes del organismo, por lo que confieren a los diferentes tejidos conectivos propiedades funcionales específicas (Geneser, 2015).

Las fibras de colágeno son las más frecuentes en el tejido conectivo. Hasta la fecha, se han identificado 28 tipos diferentes de colágenos (Ricard-Blum, 2011; Karsdal y cols., 2017). Estos tipos se pueden agrupar en 6 grupos:

1.- Colágenos formadores de fibrillas (I, II, III, V, XI, XXVI, XXVII).

2.- Colágenos asociados a fibrillas con hélices triples interrumpidas (IX, XII, XIV, XVI, XIX, XX, XXI, XXII, XXIV). Estos no forman fibrillas por sí mismos, pero están asociados con la superficie de fibrillas de colágeno.

- 3.- Los colágenos formadores de red (IV, VIII, X).
- 4.- Colágenos anclados a membrana (XIII, XVII, XXIII, XXV).
- 5.- Colágenos interconectados, microfibrillas (VI, VII, XV).
- 6.- Colágenos cortos de desarrollo (XXVI, XXVIII).

Los colágenos tipo I, tipo II y tipo III representan el 80-90% del total de colágeno del organismo y se denominan colágenos "clásicos" formadores de fibrillas. El colágeno tipo I es el que aparece en mayor cantidad en el organismo, forma parte de la dermis, los vasos sanguíneos, los tendones y los huesos, las fascias y la cápsula de los órganos, córnea y muchos tejidos conectivos con la excepción de cartílago hialino, cerebro y vítreo.

El tipo III también está muy difundido y suele aparecer junto con el colágeno tipo I. Durante el desarrollo el colágeno tipo I y III parecen expresarse de manera coordinada como sugiere un estudio, mediante hibridación de ARN in situ, de las diferentes etapas de desarrollo (E7.5 a E17.5) del embrión de ratón (Niederreither y cols., 1995).

En principio se sugirió que el colágeno tipo III no estaba presente en el hueso (Rossert y de Crombrughe, 2002). Sin embargo, Keene y cols., (1991) demostraron que el hueso humano contiene colágeno tipo III tras un análisis histológico y utilizando anticuerpos monoclonales encontraron fibras que contienen colágeno tipo III en todas las muestras de sujetos entre 30 semanas de desarrollo y 30 años. También forma parte de la fibras reticulares. El colágeno tipo III es muy abundante en el tejido conectivo laxo y en las paredes de los vasos, en el estroma de diversas glándulas y en algunos órganos como el bazo, riñón y útero. Es también muy abundante en tejidos elásticos (von der Mark, 1981). Durante el desarrollo del ratón, el colágeno III era abundante en corazón, pulmón, ovario y cerebro e hígado, pero no en el cerebro o el hígado del ratón adulto (Yue y cols., 2014). Otra función del colágeno tipo III es la interacción con las plaquetas en la cascada de coagulación de la sangre y también es una molécula de señalización importante en la cicatrización de heridas (Kuivaniemi y Tromp, 2019).

La función de las fibras de colágeno es, sobre todo, fortalecer el tejido conectivo. La fibrillas de colágeno son flexibles, lo que permite una cierta movilidad al tejido conectivo y, al mismo tiempo, presentan una gran resistencia a la tracción en sentido longitudinal.

El colágeno tipo I proporciona rigidez en el hueso y biomecánicamente define propiedades relativas a la carga y la tracción. Después de calcificación proporciona resistencia y rigidez a la torsión. El colágeno tipo III, es abundante en órganos que deben resistir al estiramiento como útero, intestino, vasos sanguíneos, vejiga, placenta o vesícula biliar (Fawcett, 1998; Gelse y cols., 2003; Geneser, 2015; Kuivaniemi y Tromp 2019).

Se ha descrito que el *stratum fibrosum externum* está compuesto por colágeno tenso que envuelve todo el órgano y que el *stratum fibrosum internum (propium)* contiene fibras de colágeno y elásticas en el seno de una sustancia fundamental homogénea (Zenker y Salzer, 1961; Jeanneret-Gris, 1980; Müller y Zenker, 1981; Pantanowitz y Balogh 2003 D'Andrea y cols., 2015). En el interior de estos estratos de tejido conectivo se han descrito fibroblastos, mastocitos, linfocitos, numerosos capilares además de fibras de colágeno (D'Andrea y cols., 2015; Bahcelioglu y cols., 2005).

En el apartado del estroma ya hemos analizado la disposición de los estratos conectivos, tanto en fetos como en adultos. En este último caso mediante técnicas histológicas convencionales y la técnica de rojo picrosirius.

En la literatura sobre el JOO no hay estudios sobre la expresión de colágeno tipo I y III en su estroma. Dicha información es crucial para la comprensión de la función del JOO, ya que los colágenos tienen funciones estructurales y contribuyen a las propiedades mecánicas, la organización y forma de los tejidos (Ricard-Blum, 2011).

Nuestros resultados mostraron positividad para colágeno I y III en el estroma del JOO. El colágeno I predomina en el tejido conectivo denso que forma la cápsula (*stratum fibrosum externum*) del JOO, mientras que el colágeno III predominaba en el tejido conectivo laxo del interior (*stratum fibrosum internum*). En el diámetro de las fibrillas de colágeno tipo III es más pequeño que el de colágeno tipo I (Birk y Silver, 1984) y pueden los colágenos tipo I y III a veces aparecer en las mismas fibrillas y en esa situación colágeno tipo III regula el diámetro de las fibrillas (Fleischmajer y cols., 1990; Cameron y cols., 2002). Tal y como hemos reseñado anteriormente, la distribución de los tipos de colágeno I y III es importante para entender la función del estroma del JOO. Desde el punto de vista funcional, estos resultados pueden sugerir que el colágeno tipo I confiere al JOO solidez resistencia a la tracción y el colágeno tipo III le proporciona propiedades elásticas, ante los procesos de estiramiento que se producen en la región. No es de extrañar, por tanto, que en el tejido conectivo laxo que lo forma, hayan sido descritas fibras elásticas.

En la literatura se informó que la disposición del colágeno tipo III es importante para la función de órganos expansibles como la vejiga o la aorta (Chang y cols., 1998; Silver y cols., 2001) e incluso en estudios clínicos se ha observado que el aumento de colágeno tipo III aumenta la elasticidad de la vagina en mujeres postmenopáusicas tras la administración de láser de dióxido de carbono (CO₂) (Bretas y cols., 2022). Estos datos son muy interesantes, habida cuenta de la situación topográfica del JOO. Se sitúa en una región donde tienen lugar movimientos de masticación deglución y succión, además se sitúa sobre el músculo buccinador y este es el principal musculo en la mejilla que es expansible.

Inervación y vascularización

Prácticamente hay unanimidad en los autores al describir la inervación y vascularización del JOO. Nosotros confirmamos que depende del nervio y arteria bucal.

Hemos comprobado que los pedículos vasculonerviosos se localizaron en los extremos del órgano y en su parte media, tanto en especímenes fetales como en adultos. Además, informamos en nuestros resultados que estos pedículos vasculonerviosos estaban constituidos por tejido conectivo con gruesas fibras de colágeno que permitían la sujeción del JOO en el tejido conectivo de la fosa infratemporal. Zenker (1982) informó que el nervio bucal emitía 2-4 ramas para el JOO.

Nuestros estudios histológicos mostraron que los ramos del nervio bucal alcanzaban el tejido conectivo denso que forma la cápsula del JOO, durante el periodo fetal y en adultos, para distribuirse en ramos de diferentes tamaños en el tejido conectivo laxo en relación con el parénquima. La rica vascularización e inervación del JOO sugiere que no es una estructura en involución o atrófica. Es más, los estudios experimentales de Lischka (1969) en ratas mostraron que el nervio bucal proporcionó alguna actividad trófica para el parénquima del JOO.

Por otro parte, creemos que a pesar de las numerosas fibras nerviosas que aparecen en el estroma del JOO, no puede considerarse un *stratum nervosum* como está establecido desde los trabajos del grupo de Zenker.

Aspectos inmunohistoquímicos

Tal y como hemos expuesto en la **Tabla 2**, algunos autores han analizados la expresión inmunohistoquímica del JOO, fundamentalmente a partir de material de biopsias en humanos o en estudios en animales (perro, rata, ratón).

En el perro, Bahcelioglu y cols. (2005) informaron que el JOO tiene, al menos, un origen epitelial, ya que la mayoría de sus células mostraron reacción positiva para EFG-r y TGF- α . Kobayashi y cols. (2015) informaron que el parénquima, en ratones de 2 semanas era positivo para Ki67, mientras que mostró reacción negativa a las 8 semanas de edad, persistiendo positivo para p63. Para estos autores, el ciclo celular de las células parenquimatosas del JOO en ratones adultos era muy lento a diferencia de las células epiteliales orales.

Especial interés ha tenido para la mayoría de los autores la expresión de filamentos intermedios. Pero han informado de resultados contradictorios. Las células del parénquima para algunos estudios expresaban vimentina (Vadmal y cols. 1998; Kim y cols., 2005), sin embargo, para Roşu y cols. (2014) esta era negativa. La desmina era negativa para Mandl y cols. (1993).

Sin lugar a dudas, los filamentos intermedios más estudiados han sido las citoqueratinas. Las células internas de los nidos epiteliales eran positivas para las citoqueratinas 8,18 y 19. Sin embargo, no mostraron inmunorreactividad las células externas periféricas relacionadas con la membrana basal (Hültenschmidt y cols. (1991). Para Ide y cols. (2003b) la reacción fue negativa para las citoqueratinas 13 y 18 y muy positiva para las citoqueratinas 10 y 19 en las células centrales y débilmente positiva en la externas basales. Otras citoqueratinas se expresaban de forma uniforme y la citoqueratina 14 débilmente en las células centrales. Kusafuka y Kameya (2007) informaron que los nidos epiteliales eran positivos para citoqueratinas de alto peso molecular, incluida la 19, pero negativas para la 7,14 y 20. Más recientemente, Kobayashi y cols. (2015) reportaron que en ratones era positiva la reacción para la citoqueratina 14, pero negativa para la 18.

En cualquier caso, podemos incidir que las células del parénquima desde el punto de vista histológico, como ya hemos expresado, son células epiteliales de dos tipos, unas periféricas y otras centrales o internas con características morfológicas diferentes. Estos datos son corroborados por la diferencias en la expresión de citoqueratinas que mostraron en los informes reseñados.

Los filamentos intermedios (IF) están involucrados en funciones celulares clave, como la polarización, la migración y la protección contra grandes deformaciones. Los recientes estudios de Nunes Vicente y cols. (2022), evidencian que la extensibilidad de la vimentina se debe al despliegue de sus subunidades y no a su deslizamiento, estableciéndose así un vínculo directo entre la organización estructural y sus propiedades mecánicas.

Desde el punto de vista funcional, hemos de resaltar que las citoqueratinas son responsables de proteger las células epiteliales del stress mecánico y de actuar como plataformas de señalización. El citoesqueleto de queratina forma un andamio supracelular que conecta las adherencias desmosómicas célula-célula. Se ha sugerido que las citoqueratinas confieren rigidez a las células epiteliales a modo de la estructura de acero de un edificio (Magin y cols., 2007). Por otro lado, se informó que las citoqueratinas tienen propiedades similares a las de los sólidos viscoelásticos. Con una deformación creciente, muestran endurecimiento y ceden con relativa rapidez para recuperan sus propiedades al cesar la deformación (Ma y cols., 1999).

Desde los estudios histológicos del grupo de Zenker se describe que el JOO presenta un *stratum nervosum* (Zenker y Salzer, 1961; Müller y Zenker, 1981). Este está formado por fibras nerviosas mielinizadas y no mielinizadas y abundantes corpúsculos sensoriales (Pantanowitz y Balogh, 2003). Hay numerosos autores que han analizado la expresión inmunohistoquímica de fibras nerviosas y componentes sensoriales. Sin embargo, los resultados son igualmente contradictorios.

Las fibras nerviosas eran positivas para NSE y proteína S-100 (Soucy y cols., 1990; Hültenschmidt y cols. 1991; Ide y cols. 2004; Roşu y cols. 2014; Kim y cols. 2015; Cheng y cols., 2016). Sin embargo, eran negativas según Vadmal y cols. (1998). Nuestros resultados mostraron que, en fetos de 28 semanas de desarrollo, una inmunorreacción muy marcada para NSE y proteína S-100 en las fibras nerviosas. Además, las células epiteliales del parénquima mostraron una débil reacción para estos marcadores. Bahcelioglu y cols. (2005) en su estudio en perros, informaron de inmunorreacción positiva para NFG- β en las células del parénquima

En el mesénquima que dará lugar al *stratum fibrosum internum (propium)*, aparecían axones nerviosos que mostraron positividad para PGP9.5. y neurofilamento (NFP200) por inmunofluorescencia. Estos axones se localizaron en proximidad y en estrecho contacto con los islotes epiteliales. Estos resultados no son coincidentes con los obtenidos por Kim y cols. (2005) –en humanos– y Kobayashi y cols. (2015) –en ratones–.

En cuanto a estructuras nerviosas sensoriales, se han identificado corpúsculos de Pacini, arborizaciones simples de los corpúsculos de Ruffini, corpúsculos glomerulares, corpúsculos sensoriales simples laminares (Zenker, 1982; Malinovský y cols., 1992; Malinovský, 1996; Ide y cols., 2004; D'Andrea y cols., 2015), por lo que la JOO se considera una estructura mecanosensorial compleja (Malinovský y cols., 1992).

Nosotros identificamos mediante NSE y proteína S100, estructuras de aspecto corpuscular que estaban localizadas en el mesénquima denso periférico, que dará lugar al *stratum fibrosum externum*.

En la actualidad se han encontrado diferentes canales iónicos activados en neuronas mecanosensoriales y mecanorreceptores, especialmente cutáneos (Del Valle y cols., 2012). En particular, y enfocados en humanos, los siguientes canales iónicos activados se encontraron en los mecanorreceptores sensoriales cutáneos: canales iónicos sensibles al ácido 1 y 2 (ASIC1 y ASIC2, respectivamente), receptor potencial transitorio vaniloide 4 (TRPV4) y canónico 6 (TRPC6) (Calavia y cols., 2010; Cabo y cols., 2015; Alonso-González y cols., 2017) y Piezo2 en células de Merkel y el axón de los corpúsculos de Meissner (García-Mesa y cols., 2017; García-Piqueras y cols., 2019).

Nuestros estudios han sido los primeros en analizar la expresión de los canales iónicos mecanosensibles en el JOO en fetos. Se detectó inmunorreacción positiva para ASIC2 en los troncos nerviosos próximos al JOO, en pequeños axones en el interior del mesénquima laxo y algunos nidos de células epiteliales mostraron un débil marcaje para ASIC2, mientras que no se detectó inmunorreacción para TRPV4. Por otro lado, PIEZO2 positivo se observó en los troncos nerviosos y en las fibras nerviosas aisladas dentro del parénquima, así como en las propias células epiteliales e incluso, se observaron contactos aparentes entre las fibras nerviosas y las células del parénquima PIEZO2 positivas.

Nuestros resultados fueron coincidentes con los de autores que informaron que por su rica inervación y por la presencia de diferentes morfotipos de corpúsculos sensoriales, el JOO tiene una función mecanosensorial (Mayr 1979; Jeanneret-Gris, 1980; Malinovský y cols., 1992; Malinovský, 1996; Mandl y cols., 1993; D'Andrea y cols., 1999).

Aspectos funcionales del órgano yuxtaoral

En la actualidad, el significado funcional de JOO sigue siendo desconocido. Inicialmente se consideró que el JOO era una estructura rudimentaria o en involución, que

desaparecía tras un corto periodo de desarrollo (Ramsay, 1935; Leibl y cols., 1976; Wysocki y Wright, 1981). Otros consideraron que era una estructura de naturaleza indeterminada (Moral, 1913). Algunos autores consideraron que el JOO era un órgano vestigial, quizás de la glándula parótida en desarrollo, o una estructura epitelial atrapada entre los procesos maxilares y mandibulares durante el desarrollo (Gnepp, 2009).

Los trabajos recientes de embriología en humanos (Mérida-Velasco y cols., 2005), en ratones (Ito y cols., 2009; Kobayashi y cols., 2015) y ratas (Velasco y cols., 2012) han demostrado que el JOO es constante y bilateral. Su parénquima deriva del epitelio de la boca primitiva del que se desconecta durante el desarrollo. De este modo, parece que no es una estructura en involución, ni es tampoco un resto embriológico como ha sido sugerido por algunos autores (Cheng y cols., 2016).

Como ya se ha señalado en esta memoria, los estudios del grupo de Zenker consideraron que el JOO tenía una actividad funcional de carácter secretorio en relación con su papel de órgano receptor (Zenker y cols. 1961; Zenker y Salzer, 1961; Salzer y Zenker, 1962; Mayr y Salzer, 1967; Müller y Zenker, 1981; Kleiss y Kleiss, 1991). Bahcelioglu y cols., (2005) informaron que el JOO es una estructura neurosecretora, basándose en la presencia de gránulos con inmunorreactividad positiva al NGF- β en células parenquimatosas cercanas al vaso sanguíneo.

Sin embargo, debido a que tiene una rica inervación y están presentes diferentes morfotipos de corpúsculos sensoriales, se supone que JOO tiene una función mecanosensorial (Mayr, 1979; D'Andrea y cols., 1999; Jeanneret-Gris, 1980a; Malinovský y cols., 1992; Malinovský, 1996; Mandl y cols., 1993). Malinovský y cols. (1996) presumieron que JOO es una formación nerviosa sensorial compleja que tiene funciones mecanosensoriales multimodales ya que contiene diferentes tipos de fibras nerviosas sensoriales y corpúsculos (fibras intraepiteliales, arborizaciones simples, corpúsculos de Ruffini, corpúsculos glomerulares, corpúsculos lamelares simples).

Nuestros estudios confirmaron las numerosas fibras nerviosas que aparecían en el mesénquima laxo, en relación con el parénquima del JOO en especímenes fetales. Además, en adultos hemos señalado la presencia de estas estructuras nerviosas en situación similar mediante técnicas histológicas. Por otro lado, estructuras similares a corpúsculos fueron definidas en la cápsula mesenquimal del JOO durante el desarrollo. Finalmente, nuestro estudio es el primero que mostró inmunorreactividad positiva a ASIC2 en pequeños axones en el interior del mesénquima laxo y un débil marcaje en

algunos nidos de células epiteliales. Por su lado, PIEZO2 se observó en los troncos nerviosos y en las fibras nerviosas aisladas dentro del parénquima, así como en las propias células epiteliales. Nuestro estudio sugiere que el JOO es un mecanorreceptor porque, además de su rica inervación, las células epiteliales y las fibras nerviosas mostraron inmunorreactividad positiva para el canal iónico mecanizado PIEZO2.

Nuestro estudio también aportó otra evidencia indirecta sobre esta posible función, la disposición del colágeno tipo I y III en el estroma. Hemos comprobado que el colágeno tipo I predomina en el *stratum fibrosum externum*, con una disposición circular en capas y en los anclajes vasculonerviosos del JOO en el adulto, mientras que el colágeno tipo III predomina en el *stratum fibrosum internum* y tiene una disposición esencialmente radial. De este modo, el colágeno tipo I confiere solidez resistencia a la tracción y el colágeno tipo III le proporciona propiedades elásticas.

Malinovský y cols., (1996) informaron que el JOO representa un órgano mecanosensorial importante y complicado que da información al sistema nervioso central durante todas las actividades de cavum oris y sus paredes laterales. JOO presumiblemente sirve como un mecanosensor en la pared lateral de la cavidad bucal (Pantanowitz y Balogh, 2003). En cuanto a la función del JOO debemos tener en cuenta, en primer lugar, la importancia de la pared lateral de la cavidad oral durante sus diferentes actividades: cambios dinámicos en la succión, deglución, masticación, habla, reflejos protectores, tono de esta pared (D'Andrea y cols., 1999).

Hay algunas evidencias indirectas del desarrollo del JOO que pueden sugerir su función. Como el órgano parece estar ya completamente desarrollado en hámsteres recién nacidos, podría suponerse una función mecanosensorial relacionada con los reflejos nutricionales (Jeanneret-Gris, 1980). En ratones, Kobayashi y cols. (2015) reportaron que la maduración funcional del JOO estaba relacionada con el cambio en la dieta, de líquida a sólida y, por tanto, con la masticación.

Durante el desarrollo en humanos, Mérida-Velasco y cols. (1999) identificaron tres etapas en el desarrollo de la articulación temporomandibular. La primera es la etapa blastemática (7^a-8^a semanas de desarrollo), que se corresponde con el inicio de la organización del cóndilo y el disco articular y la cápsula. La segunda etapa es la etapa de cavitación (9^a-11^a semanas de desarrollo), en la que se inicia la formación de la cavidad articular inferior y el inicio de la condrogénesis condilar. La semana 11^a marca el inicio de la organización de la cavidad articular superior. Y la tercera etapa es la etapa de maduración (después de

la 12 semana de desarrollo). Este estudio identificó el periodo crítico de desarrollo de la articulación temporomandibular entre la 7ª y 11ª semanas de desarrollo.

En humanos, se ha informado que la apertura refleja de la boca se realiza a partir de la 7ª-8ª semanas de desarrollo (Humphrey, 1968) en la articulación incudomaleolar, que se establece entre el extremo posterior del cartílago de Meckel y el yunque del oído medio (complejo articular meckeliano) (Mérida-Velasco y cols., 1990).

Por otro lado, los movimientos de ascenso y descenso de la faringe durante la deglución se realizan a través del espacio existente entre la columna y la faringe. Este espacio está dividido en dos partes uno anterior espacio retrofaríngeo/retroesofágico y otro posterior denominado espacio peligroso. Estos espacios están separados por la fascia alar (Standring, 2015). En su estudio sobre el desarrollo de esta fascia, López-Fernández y cols. (2019) consideraron que durante a la 7ª semana del desarrollo se producía la formación de la fascia alar, y coincidía con los movimientos reflejos de la boca.

Parece que hay evidencias que muestran que los especímenes humanos tienen una actividad funcional antes de su maduración morfológica. Esto permite movimientos de deglución y masticación a partir de la 7ª semana de desarrollo. Es por tanto probable que el JOO cuyas características morfológicas hemos expuesto este diseñado para recoger y transmitir esta compleja actividad funcional.

Patología

Como hemos señalado en el apartado de Introducción, fue Lutman (1974) quien informó que, en los bloques de tejido resecado por un carcinoma localizado entre la mandíbula y el rafe pterigomandibular, se observó una estructura neuroepitelial sin signos anaplásicos ni queratinización, que simulaba una invasión perineural. Basándose en este estudio, otros analizaron los bloques de 25 autopsias de adultos obtenidos en la región del ángulo de la mandíbula. Esta estructura neuroepitelial fue observada en 11 casos, bilateralmente, y en 3 casos, unilateralmente. Los autores concluyen que el conocimiento de la situación de esta estructura normal evitaría la resección amplia, por la errónea interpretación de invasión perineural de un carcinoma (Tschen y Fechner, 1979). Ese mismo año, Danforth y Baughman confirmaron la posibilidad de confundir esta estructura con carcinomas en la región (Danforth y Baughman, 1979).

En la literatura científica se han descrito numerosos casos en los que se observó el JOO en tejido de biopsias por diferentes tumores. Además, también se describen

tumoraciones como hiperplasia y hamartomas del JOO (ver **Tabla 1**). El JOO ha sido considerado como una estructura pseudoneoplásica (Richardson, 2016).

En los tratados de Patología recientes, se recogen las características histológicas del JOO. Todos ellos resaltan el hecho de que el hallazgo del órgano en una biopsia puede confundirse con un carcinoma o una invasión perineural metastásica (Gnepp, 2009; Mills, 2012; Goldblum y cols., 2017; Thompson y Wenig, 2016). La posibilidad de aparición de tumores benignos e hiperplasias del órgano también ha sido recogida en algunos tratados (Gnepp, 2009; Mills, 2012). Se ha informado de las características histológicas que permiten un diagnóstico diferencial con carcinomas y otras patologías (Mills y cols., 2000; Pantanowitz y Balogh, 2003) (**Tabla 3**).

Tabla 3. Características microscópicas útiles para diferenciar entre el órgano yuxtaoral (de Chievitz) y la invasión perineural por carcinoma. Tomado de Pantanowitz y Balogh, 2003.

Órgano yuxtaoral	Carcinoma
Puede verse epitelio intra y perineural	Es probable que el epitelio se localice predominantemente en el espacio perineural
Membrana basal presente alrededor de los islotes epiteliales	Pérdida de la membrana basal
Células basaloides centrales pálidas y exteriores más oscuras	Las células pueden mostrar una menor organización celular
Artefacto de retracción común entre el parénquima y los nervios	Las células malignas son más propensas a colisionar directamente con los nervios
Células parenquimatosas banales	Pueden observarse células malignas pleomórficas en los carcinomas de alto grado
Ausencia de mitosis	Figuras mitóticas raramente presentes
Secreciones negativas a la mucina en estructuras pseudoglandulares	Posible secreción de mucina si hay adenocarcinoma
Ausencia de queratina y de gránulos de queratohialina	En el carcinoma escamoso queratinizante pueden observarse perlas de queratina y gránulos de queratohialina
Capas organizadas de tejido conectivo envolvente	Estroma ocasionalmente más desorganizado
Estroma de tejido conectivo laxo y denso sin inflamación	Posible reacción estromal desmoplásica-inflamatoria

Müller describe las características del JOO en el apartado de lesiones no neoplásicas aportando los principales diagnósticos diferenciales e insistiendo en la importancia de la comunicación del patólogo con el cirujano para evitar un diagnóstico erróneo de estructuras como carcinoma invasivo ya que el JOO puede parecer una invasión perineural.

PRINCIPALES DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

- Carcinoma de células escamosas neurotrópico invasivo
 - Falta de membrana basal
 - Pleomorfismo y/o figuras mitóticas
 - Queratinización o perlas de queratina
- Carcinoma mucoepidermoide
 - Quística, con mucocitos y células epidermoides
- Carcinoma quístico adenoide
 - Proclividad perineural fuerte
 - Tiende a tener núcleos pequeños e hiper cromáticos

Teniendo en cuenta que el trígono retromolar es una localización de preferencia de los tumores mucoepidermoides, y que la escisión tumoral extensa puede incluir al JOO, tanto el cirujano como el patólogo deberían conocer las características de esta estructura para evitar diagnósticos erróneos que, bien por el tratamiento o el pronóstico, pueden tener un impacto significativo en la calidad de vida del paciente.

Los aspectos clínicos más relevantes han sido puestos de manifiesto recientemente por Favero y cols. (2022) (**Tabla 4**).

Tabla 4. Relevancia clínica del órgano yuxtaoral. Tomado de Favero y cols. (2022).

Órgano yuxtaoral	Peligros clínicos
Lumen y células escamosas	Tumores de las glándulas salivales Carcinomas escamosos (probablemente identificación errónea del órgano yuxtaoral)
Lateralmente a las paredes de la cavidad oral En los tejidos blandos de la zona del trígono retromolar	Cánceres orales Tumores mucoepidermoides
Nidos epiteliales Asociación con el tejido nervioso	Cánceres orales Invasión perineural de las células tumorales
Focos glandulares llenos de coloide (raro)	Tumores mucoepidermoides

En definitiva, se necesitan más estudios del JOO para entender su función y extender y ampliar el conocimiento de esta estructura entre los médicos en general y sobre todo los patólogos orales, cirujanos maxilofaciales y odontólogos para evitar el sobrediagnóstico y los tratamientos innecesarios.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. Confirmamos la estructura histológica del JOO propuesta por el grupo de Zenker, si bien consideramos que el abundante número de fibras nerviosas en el JOO no debe considerarse como un estrato.
2. En especímenes fetales se comprobó una abundante inervación del JOO mediante marcadores de fibras nerviosas y componentes sensoriales (NSE, proteína S100, PGP9.5, NFP y NF200). Formaciones de aspecto corpuscular fueron observadas en el estrato fibroso externo con proteína S100.
3. La expresión positiva en fetos de canales iónicos ASIC2 en pequeños axones en el interior del mesénquima laxo, que dará lugar al *stratum fibrosum internum*, y un marcaje débil en algunos nidos de células epiteliales, así como PIEZO2 positivo en los troncos nerviosos y en las fibras nerviosas aisladas dentro del parénquima, sugiere una función mecanosensorial.
4. El mesénquima denso, que dará lugar al *stratum fibrosum externum* fue intensamente inmunorreactivo para CD34, pero negativo para el Glut-1. Esta expresión inmunorreactiva le confiere características perineurales, sugiriendo un origen a partir de la cresta neural.
5. En adultos, mediante disección es difícil localizar el JOO, ya que su aspecto macroscópico es similar a un cordón conectivo o un ramo nervioso fino.
6. La resección del tejido conectivo que rodea al nervio bucal en la fosa infratemporal permite obtener, en la mayoría de los casos, muestras con el JOO.
7. El colágeno tipo I predomina en el *stratum fibrosum externum*, con una disposición en capas concéntricas, y el colágeno tipo III predomina en el *stratum fibrosum internum*, con una disposición radial.
8. La organización del estroma del JOO sugiere que el colágeno tipo I le confiere solidez y resistencia al estiramiento, mientras que el colágeno tipo III le proporciona elasticidad.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

A

Al Aboud, D., Aboud, K., y Qurash, H. (2014). Juxtaoral Organ of Chievitz and the Scientist Behind It. *Oral y Maxillofacial Pathology Journal*, 5(2), 476-477. <https://doi.org/10.5005/10037-1016>

Alonso-González, P., Cabo, R., San José, I., Gago, A., Suazo, I. C., García-Suárez, O., Cobo, J., y Vega, J. A. (2017). Human Digital Meissner Corpuscles Display Immunoreactivity for the Multifunctional Ion Channels Trpc6 and Trpv4. *The Anatomical Record*, 300(6), 1022-1031. <https://doi.org/10.1002/ar.23522>

B

Bahcelioglu, M., Calguner, E., Erdogan, D., Elmas, C., Gozil, R., Keskil, S., y Kadioglu, D. (2005). The immunohistochemical approach to determine the origin and possible function of the juxtaoral organ in dogs. *Saudi Medical Journal*, 26(10), 1529-1534.

Bénateau, H., Rigau, V., Comoz, F., Benchemam, Y., Galateau, F., y Compère, J. F. (2003). Tumour of the juxtaoral organ. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 32(1), 101-103. <https://doi.org/10.1054/ijom.2002.0305>

Benninghoff, A., y Goertler, K. (1979). *Lehrbuch der Anatomie des Menschen* (Ferner, H. y Staubesand, J. 11, Vol. 2). Urban y Schwarzenberg.

Birk, D. E., y Silver, F. H. (1984). Collagen fibrillogenesis in vitro: Comparison of types I, II, and III. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 235(1), 178-185. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(84\)90266-2](https://doi.org/10.1016/0003-9861(84)90266-2)

Böhme, P. E. (1966). *Die Parotischirurgie und ihre morphologischen Grundlagen*. Thieme.

Bollea, M. (1924). Sull' organo di Chievitz dell' uomo e di alcuni mammiferi. *Arch. Ital. Anat. Embriol.*, 21, 464-486.

Bommanavar, S. B., Hema, K. N., y Baad, R. (2017). Juxtaoral organ of Chievitz: An innocuous organ to be known. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology: JOMFP*, 21(1), 162-164. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_22_17

Boyd, J. D., y Hughes, A. F. W. (1960). Aberrant Nerve Fibres in Human Development. *Development*, 8(2), 119-129. <https://doi.org/10.1242/dev.8.2.119>

Brachet, A. (1919). Sur le tractus bucco-pharyngien; organe de Chievitz. 'Orbital inclusion'. *C.R. Hebd. Soc. Biol.*, 71, 923-925.

Bretas, T. L. B., Issa, M. C. A., Fialho, S. C. a. V., Villar, E. a. G., Velarde, L. G. C., y Pérez-López, F. R. (2022). Vaginal collagen I and III changes after carbon dioxide laser application in postmenopausal women with the genitourinary syndrome: A pilot study. *Climacteric: The Journal of the International Menopause Society*, 25(2), 186-194. <https://doi.org/10.1080/13697137.2021.1941850>

Broman, I. (1916). Die Parotis der Chiropteraeinae. Oberlippendrüse. *Anatomischer Anzeiger*, 49, 65-71.

Bujard, F. (1911). Reconstructions plastiques des glandes salivaires. *Anatomischer Anzeiger*, 38, 115-127.

C

Cabo, R., Alonso, P., Viña, E., Vázquez, G., Gago, A., Feito, J., Pérez-Moltó, F. J., García-Suárez, O., y Vega, J. A. (2015). ASIC2 is present in human mechanosensory neurons of the dorsal root ganglia and in mechanoreceptors of the glabrous skin. *Histochemistry and Cell Biology*, 143(3), 267-276. <https://doi.org/10.1007/s00418-014-1278-y>

Calavia, M. G., Montaña, J. A., García-Suárez, O., Feito, J., Guervós, M. A., Germanà, A., del Valle, M., Pérez-Piñera, P., Cobo, J., y Vega, J. A. (2010). Differential Localization of Acid-Sensing Ion Channels 1 and 2 in Human Cutaneous Pacinian Corpuscles. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 30(6), 841-848. <https://doi.org/10.1007/s10571-010-9511-2>

Cameron, G. J., Alberts, I. L., Laing, J. H., y Wess, T. J. (2002). Structure of type I and type III heterotypic collagen fibrils: An X-ray diffraction study. *Journal of Structural Biology*, 137(1-2), 15-22. <https://doi.org/10.1006/jsbi.2002.4459>

Casale, J., y Bordoni, B. (2021). Anatomy, Head and Neck, Infratemporal Fossa. En *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537034/>

Chang, S. L., Howard, P. S., Koo, H. P., y Macarak, E. J. (1998). Role of type III collagen in bladder filling. *Neurourology and Urodynamics*, 17(2), 135-145. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1520-6777\(1998\)17:2<135::aid-nau7>3.0.co;2-e](https://doi.org/10.1002/(sici)1520-6777(1998)17:2<135::aid-nau7>3.0.co;2-e)

Cheng, E., Cohen, M. A., y Scognamiglio, T. (2016). Neuroepithelial Structure Resembling the Juxtaoral Organ of Chievitz: Usual Morphology in an Unusual Location. *International Journal of Surgical Pathology*, 24(8), 721-722. <https://doi.org/10.1177/1066896916660620>

Chievitz, J. H. (1885). Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Speicheldrüsen. *Archiv für Anatomie, Physiologie und Wissenschaftliche Medizin*, 9, 401-436.

D

D'Andrea, V., Malinovsky, L., Biancari, F., Spyrou, M., Dibra, A., Malinovska, V., Hees, H., Gallenzi, P., Cristalli, M. P., Di Matteo, F. M., y De Antoni, E. (1999). The Chievitz juxtaparotid organ. *Il Giornale Di Chirurgia*, 20(5), 213-217.

D'Andrea, V., Panarese, A., di Matteo, F. M., Favoriti, P., Favella, L., Arcieri, S., y Filippini, A. (2015). Chievitz' juxtaparotid organ, free from cancer. *Annali Italiani Di Chirurgia*, 86, 503-507.

Danforth, R. A., y Baughman, R. A. (1979). Chievitz's organ: A potential pitfall in oral cancer diagnosis. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology*, 48(3), 231-236. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(79\)90009-4](https://doi.org/10.1016/0030-4220(79)90009-4)

Dauber, W. (2021). *Feneis, Nomenclatura anatómica ilustrada* (11ª ed.). Elsevier.

De Vries, J. I. P., y Fong, B. F. (2006). Normal fetal motility: An overview. *Ultrasound in Obstetrics y Gynecology: The Official Journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*, 27(6), 701-711. <https://doi.org/10.1002/uog.2740>

De Vries, J. I., Visser, G. H., y Prechtel, H. F. (1986). Fetal behaviour in early pregnancy. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 21(5-6), 271-276. [https://doi.org/10.1016/0028-2243\(86\)90003-1](https://doi.org/10.1016/0028-2243(86)90003-1)

Díaz-Flores, L., Gutiérrez, R., Garcia, M. P., Sáez, F. J., Valladares, F., y Madrid, J. F. (2014). CD34+ stromal cells/fibroblasts/fibrocytes/telocytes as a tissue reserve and a principal source of mesenchymal cells. Location, morphology, function and role in pathology. *Histol Histopathol*, 29, 831-870. <https://doi.org/10.14670/HH-29.831>

Dupin, E., Calloni, G. W., Coelho-Aguiar, J. M., y Le Douarin, N. M. (2018). The issue of the multipotency of the neural crest cells. *Developmental Biology*, 444 Suppl 1, S47-S59. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.03.024>

E

Espinosa-Medina, I., Outin, E., Picard, C. A., Chettouh, Z., Dymecki, S., Consalez, G. G., Coppola, E., y Brunet, J.-F. (2014). Neurodevelopment. Parasympathetic ganglia derive from Schwann cell precursors. *Science (New York, N.Y.)*, *345*(6192), 87-90. <https://doi.org/10.1126/science.1253286>

Eversole, L. R., y Leider, A. S. (1978). Maxillary intraosseous neuroepithelial structures resembling those seen in the organ of Chievitz. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology*, *46*(4), 555-558. [https://doi.org/10.1016/0030-4220\(78\)90385-7](https://doi.org/10.1016/0030-4220(78)90385-7)

F

Fasching, W., Mayr, R., Rastl, P., y Schreinzer, W. (1974). Effect of Hypophysectomy on Size of Cell-Nuclei of Several Organs of Rat—Contribution to Exploration of Function of Juxtaoral Organ. *Zeitschrift Fur Anatomie Und Entwicklungsgeschichte*, *145*(2), 197-218. <https://doi.org/10.1007/BF00519729>

Favero, G., Rezzani, R., y Rodella, L. F. (2022). The Juxtaoral Organ: From Anatomy to Clinical Relevance. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, *12*(2), 552. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12020552>

Fawcett, D. W. (1995). *Tratado de histología* (12^a). McGraw-Hill Interamericana.

FICAT. (2008). *Federative International Committee on Anatomical Terminology. Terminologia Histologica: International Terms for Human Cytology and Histology*. Lippincott Williams y Wilkins.

FIPAT. (2019). *The Federative International Programme for Anatomical Terminology. Terminologia Anatomica. International Anatomical Terminology. A programme of the International Federation of Associations of Anatomists (IFAA)* (2.^a ed.). <https://fipat.library.dal.ca/ta2/>

Fleischmajer, R., MacDonald, E. D., Perlish, J. S., Burgeson, R. E., y Fisher, L. W. (1990). Dermal collagen fibrils are hybrids of type I and type III collagen molecules. *Journal of Structural Biology*, *105*(1-3), 162-169. [https://doi.org/10.1016/1047-8477\(90\)90110-x](https://doi.org/10.1016/1047-8477(90)90110-x)

Furlan, A., y Adameyko, I. (2018). Schwann cell precursor: A neural crest cell in disguise? *Developmental Biology*, *444* Suppl 1, S25-S35. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.02.008>

G

- García-Mesa, Y., García-Piqueras, J., García, B., Feito, J., Cabo, R., Cobo, J., Vega, J. A., y García-Suárez, O. (2017). Merkel cells and Meissner's corpuscles in human digital skin display Piezo2 immunoreactivity. *Journal of Anatomy*, 231(6), 978-989. <https://doi.org/10.1111/joa.12688>
- García-Piqueras, J., García-Mesa, Y., Cárcaba, L., Feito, J., Torres-Parejo, I., Martín-Biedma, B., Cobo, J., García-Suárez, O., y Vega, J. A. (2019). Ageing of the somatosensory system at the periphery: Age-related changes in cutaneous mechanoreceptors. *Journal of Anatomy*, 234(6), 839-852. <https://doi.org/10.1111/joa.12983>
- Geist, E. T., Adams, T. O., y Carr, R. F. (1984). The organ of Chievitz: Its importance in the microscopic diagnosis of oral carcinoma. *Journal of Oral Medicine*, 39(3), 177-179.
- Gelse, K., Pöschl, E., y Aigner, T. (2003). Collagens—Structure, function, and biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55(12), 1531-1546. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.08.002>
- Geneser, F., Brüel, A., Christensen, E. I., Trantum-Jensen, J., y Qvortrup, K. (2015). *Geneser Histología* (4ª ed.). Editorial Medica Panamericana.
- Gnepp, D. R. (2009). *Diagnostic Surgical Pathology of the Head and Neck E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Goldblum, J. R., Lamps, L. W., McKenney, J. K., y Myers, J. L. (2017). *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology*. Elsevier.
- Grüneberg, H. (1971). Exocrine glands and the Chievitz organ of some mouse mutants. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 25(2), 247-261.

H

- Hültenschmidt, D., Vogel, J., y Stoll, P. (1991). [Chievitz's organ (the juxtaoral organ): Morphological and immunohistochemical studies]. *Deutsche Zahn-, Mund-, Und Kieferheilkunde Mit Zentralblatt*, 79(7), 565-570.

Humphrey, T. (1968). The development of mouth opening and related reflexes involving the oral area of human fetuses. *The Alabama Journal of Medical Sciences*, 5(2), 126-157.

I

Ide, F., Mishima, K., y Saito, I. (2003a). Melanin pigmentation in the juxtaoral organ of Chievitz. *Pathology International*, 53(4), 262-263. <https://doi.org/10.1046/j.1320-5463.2003.01466.x>

Ide, F., Mishima, K., y Saito, I. (2003b). Juxtaoral organ of Chievitz presenting clinically as a tumour. *Journal of Clinical Pathology*, 56(10), 789-790. <https://doi.org/10.1136/jcp.56.10.789>

Ide, F., Mishima, K., y Saito, I. (2004). Pacinian corpuscle in the juxtaoral organ of Chievitz. *Journal of Oral Pathology y Medicine: Official Publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 33(7), 443-444. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2004.00183.x>

Isolan, G. R., Rowe, R., y Al-Mefty, O. (2007). Microanatomy and surgical approaches to the infratemporal fossa: An anaglyphic three-dimensional stereoscopic printing study. *Skull Base: Official Journal of North American Skull Base Society ... [et Al.]*, 17(5), 285-302. <https://doi.org/10.1055/s-2007-985193>

Ito, M., Nakashima, M., Yoshioka, M., y Imaki, J. (2009). Organogenesis of the juxta-oral organ in mice. *Journal of Anatomy*, 215(4), 452-461. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2009.01118.x>

Iwanaga, J., Ibaragi, S., Okui, T., Hur, M.-S., Kageyama, I., y Tubbs, R. S. (2022). An anatomical study of the blood supply to the mylohyoid muscle: The so-called «mylohyoid branch» of the inferior alveolar artery is an arterial anastomosis. *Annals of Anatomy = Anatomischer Anzeiger: Official Organ of the Anatomische Gesellschaft*, 240, 151852. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2021.151852>

J

Jeanneret-Gris, B. (1980). Ultrastructure de l'organe juxta-oral. *Archives d'anatomie microscopique et de morphologie expérimentale*, 69(3), 197-214.

Jensen, J. L., Wuerker, R. B., Correll, R. W., y Erickson, J. O. (1979). Epithelial islands associated with mandibular nerves. Report of two cases in the walls of mandibular

cysts. *Oral Surgery, Oral Medicine, and Oral Pathology*, 48(3), 226-230.
[https://doi.org/10.1016/0030-4220\(79\)90008-2](https://doi.org/10.1016/0030-4220(79)90008-2)

Joo, W., Funaki, T., Yoshioka, F., y Rhoton Jr, A. L. (2013). Microsurgical anatomy of the infratemporal fossa. *Clinical Anatomy*, 26(4), 455-469.
<https://doi.org/10.1002/ca.22202>

Joseph, N. M., Mukoyama, Y.-S., Mosher, J. T., Jaegle, M., Crone, S. A., Dormand, E.-L., Lee, K.-F., Meijer, D., Anderson, D. J., y Morrison, S. J. (2004). Neural crest stem cells undergo multilineage differentiation in developing peripheral nerves to generate endoneurial fibroblasts in addition to Schwann cells. *Development*, 131(22), 5599-5612. Scopus. <https://doi.org/10.1242/dev.01429>

K

Kamat, M. S., Puranik, R., y Shrinivas Vanaki, V. V. (2015). Organ of Chievitz: Revisited. *International Journal of Oral y Maxillofacial Pathology*, 6(1), 35-37.

Karsdal, M. A., Nielsen, S. H., Leeming, D. J., Langholm, L. L., Nielsen, M. J., Manon-Jensen, T., Siebuhr, A., Gudmann, N. S., Rønnow, S., Sand, J. M., Daniels, S. J., Mortensen, J. H., y Schuppan, D. (2017). The good and the bad collagens of fibrosis—Their role in signaling and organ function. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 121, 43-56. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.07.014>

Keene, D. R., Sakai, L. Y., y Burgeson, R. E. (1991). Human bone contains type III collagen, type VI collagen, and fibrillin: Type III collagen is present on specific fibers that may mediate attachment of tendons, ligaments, and periosteum to calcified bone cortex. *Journal of Histochemistry y Cytochemistry*, 39(1), 59-69.
<https://doi.org/10.1177/39.1.1983874>

Kim, H.-S., Jin-Hak, K., Cha, I.-H., Kim, T.-S., Ryu, M.-H., y Kim, J. (2005). Juxtaoral Organ of Chievitz- A Case Report -. *The Korean Journal of Pathology*, 39(4), 265-268.

Kimizuka, S., Fujihara, H., Ito, Y., Takeda, A., Yamada, H., y Hamada, Y. (2021). Clinical pitfall with Chievitz's organ: A case report of tongue cancer patient. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology*, 33(3), 272-275.
<https://doi.org/10.1016/j.ajoms.2020.11.002>

- Klacsman, P. G., y Taxy, J. B. (1980). Juxtaoral organ of Chievitz. *The American Journal of Surgical Pathology*, 4(3), 307-309. <https://doi.org/10.1097/00000478-198006000-00018>
- Kleiss, C., y Kleiss, E. (1985). [Morphogenetic aspects of the juxtaoral organ (Chievitz's organ) in the human]. *Zeitschrift Fur Mikroskopisch-Anatomische Forschung*, 99(1), 59-74.
- Kobayashi, Y., Nakashima, M., Wakakuri, T., Imaki, J., y Ito, M. (2015). Histology and immunohistochemistry of the developing juxta-oral organ in mice. *Annals of Anatomy = Anatomischer Anzeiger: Official Organ of the Anatomische Gesellschaft*, 198, 49-57. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2014.11.004>
- Krammer, E. B., y Zenker, W. (1974). Letter: Neuroepithelial structures in the oral cavity. *American Journal of Clinical Pathology*, 62(4), 571-574. <https://doi.org/10.1093/ajcp/62.4.571>
- Krejs, G. J. (2015). Zum 90. Geburtstag: Wolfgang Zenker, Lehrer der klassischen Anatomie | univ-innere-medizin. *UNIVERSUM INNERE MEDIZIN*. <https://www.sudetendeutsche-akademie.eu/HabelArtikel/UIM6Krejs.pdf>
- Kucukguven, A., Demiryurek, M. D., y Vargel, I. (2022). Temporomandibular joint innervation: Anatomical study and clinical implications. *Annals of Anatomy = Anatomischer Anzeiger: Official Organ of the Anatomische Gesellschaft*, 240, 151882. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2021.151882>
- Kuivaniemi, H., y Tromp, G. (2019). Type III collagen (COL3A1): Gene and protein structure, tissue distribution, and associated diseases. *Gene*, 707, 151. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.05.003>
- Kusafuka, K., y Kameya, T. (2007). Juxtaoral organ of Chievitz, radiologically suspicious for invasion of lingual squamous cell carcinoma. *Pathology International*, 57(11), 754-756. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1827.2007.02161.x>

L

- Lang, J. (1995). *Clinical Anatomy of the Masticatory Apparatus and Peripharyngeal Spaces*. G. Thieme Verlag.
- Lattouf, R., Younes, R., Lutomski, D., Naaman, N., Godeau, G., Senni, K., y Changotade, S. (2014). Picrosirius red staining: A useful tool to appraise collagen networks in

normal and pathological tissues. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry: Official Journal of the Histochemistry Society*, 62(10), 751-758. <https://doi.org/10.1369/0022155414545787>

Le Douarin, N. M., y Dupin, E. (2012). The neural crest in vertebrate evolution. *Current Opinion in Genetics y Development*, 22(4), 381-389. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2012.06.001>

Le Douarin, N. M., y Dupin, E. (2016). The Pluripotency of Neural Crest Cells and Their Role in Brain Development. *Current Topics in Developmental Biology*, 116, 659-678. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2015.10.008>

Le Douarin, N. M., y Dupin, E. (2018). The «beginnings» of the neural crest. *Developmental Biology*, 444 Suppl 1, S3-S13. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.07.019>

Le Douarin, N. M., y Kalcheim, C. (1999). *The Neural Crest* (2ª). Cambridge University Press.

Leibl, W., Pflüger, H., y Kerjaschki, D. (1976). A case of nodular hyperplasia of the juxtaoral organ in man. *Virchows Archiv. A, Pathological Anatomy and Histology*, 371(4), 389-391. <https://doi.org/10.1007/BF00428057>

Lischka, M. (1969). [The juxtaoral organ of the rat after denervation]. *Zeitschrift Fur Anatomie Und Entwicklungsgeschichte*, 129(3), 268-273.

López-Fernández, P., Murillo-González, J., Arráez-Aybar, L. A., de la Cuadra-Blanco, C., Moreno-Borreguero, A., y Mérida-Velasco, J. R. (2019). Early stages of development of the alar fascia (human specimens at 6–12 weeks of development). *Journal of Anatomy*, 235(6), 1098-1104. <https://doi.org/10.1111/joa.13074>

Lutman, G. B. (1974). Epithelial nests in intraoral sensory nerve endings simulating perineural invasion in patients with oral carcinoma. *American Journal of Clinical Pathology*, 61(2), 275-284. <https://doi.org/10.1093/ajcp/61.2.275>

M

Ma, L., Xu, J., Coulombe, P. A., y Wirtz, D. (1999). Keratin Filament Suspensions Show Unique Micromechanical Properties. *Journal of Biological Chemistry*, 274(27), 19145-19151. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.27.19145>

- Magin, T. M., Vijayaraj, P., y Leube, R. E. (2007). Structural and regulatory functions of keratins. *Experimental Cell Research*, 313(10), 2021-2032. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2007.03.005>
- Mair, Y., Sabharwal, A., Xu, B., Chen, F., y Aguirre, A. (2013). Neuroepithelial Structures Similar to Juxtaoral Organ of Chievitz Present in the Mandibular Torus of a 41-year-old Man. *North American Journal of Medicine and Science*, 6(2), 100-102.
- Malinovský, L. (1996). Sensory nerve formations in the skin and their classification. *Microscopy Research and Technique*, 34(4), 283-301. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0029\(19960701\)34:4<283::AID-JEMT2>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0029(19960701)34:4<283::AID-JEMT2>3.0.CO;2-Q)
- Malinovský, L., D'Andrea, V., Cavallotti, C., Bartolo, M., Todini, A., y Malinovská, V. (1992). A contribution to the morphology of tortuosity of arteries, aneurysms and arteriomegaly. *Cor Et Vasa*, 34(5-6), 434-442.
- Mandl, L., Nerlich, A., Pankratz, H., y Hübner, G. (1993). [The juxta-oral organ (Chievitz organ)—A sensory organ in the bucco-temporal area?]. *Der Pathologe*, 14(4), 205-209.
- Mayr, R. (1979). Morphologische Hinweise auf eine rezeptorische Funktion des juxtaoralen. *Organs. Verh. Anat. Ges.*, 73, 1043-1045.
- Mayr, R., y Salzer, G. M. (1967). [New studies on the juxta-oral organ]. *Verhandlungen Der Anatomischen Gesellschaft*, 62, 361-365.
- Mérida-García, A. J., Murillo-González, J., Martínez-Sanz, E., Catón, J., Arráez-Aybar, L. A., Martín-Cruces, J., Cobo, T., Vega, J. A., y Mérida-Velasco, J. R. (2021). Functional hypothesis of the juxtaoral organ: Role of collagens type I and III. *Oral Diseases*. <https://doi.org/10.1111/odi.13959>
- Mérida-Velasco, J. R., Rodríguez-Vázquez, J. F., de la Cuadra-Blanco, C., Salmerón, J. I., Sánchez-Montesinos, I., y Mérida-Velasco, J. A. (2005). Morphogenesis of the juxtaoral organ in humans. *Journal of Anatomy*, 206(2), 155-163. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2005.00377.x>
- Mérida-Velasco, J. R., Rodríguez-Vázquez, J. F., y Jiménez-Collado, J. (1990). Meckelian articular complex. *Eur Arch Biol*, 101, 447-453.

- Mérida-Velasco, J. R., Rodríguez-Vazquez, J. F., y Jiménez-Collado, J. (1993). The relationships between the temporomandibular joint disc and related masticatory muscles in humans. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 51(4), 390-395. [https://doi.org/10.1016/S0278-2391\(10\)80352-0](https://doi.org/10.1016/S0278-2391(10)80352-0)
- Mérida-Velasco, J. R., Rodríguez-Vázquez, J. F., Mérida-Velasco, J. A., Sánchez-Montesinos, I., Espín-Ferra, J., y Jiménez-Collado, J. (1999). Development of the human temporomandibular joint. *The Anatomical Record*, 255(1), 20-33. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(19990501\)255:1<20::AID-AR4>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(19990501)255:1<20::AID-AR4>3.0.CO;2-N)
- Mikó, T., y Molnár, P. (1981). The juxtaoral organ-a pitfall for pathologists. *The Journal of Pathology*, 133(1), 17-23. <https://doi.org/10.1002/path.1711330103>
- Mills, S. E. (2012). *Histology for Pathologists* (4^a ed.). Lippincott Williams y Wilkins.
- Mills, S. E., Frierson, H. F., y Gaffey, M. J. (2000). *Tumors of the Upper Aerodigestive Tract and Ear*. Armed Forces Institute of Pathology.
- Minoux, M., y Rijli, F. M. (2010). Molecular mechanisms of cranial neural crest cell migration and patterning in craniofacial development. *Development*, 137(16), 2605-2621. <https://doi.org/10.1242/dev.040048>
- Moral, H. (1913). Über die ersten Entwicklungsstadien der Glandula parotis. *Anatomische Hefte*, 47(2), 383-489.
- Müller, E., y Zenker, W. (1981). Enzyme-histochemistry of the juxtaoral organ in man («organ of Chievitz»). *Histochemistry*, 71(2), 279-290. <https://doi.org/10.1007/BF00507831>

N

- Niederreither, K., D'Souza, R., Metsäranta, M., Eberspaecher, H., Toman, P. D., Vuorio, E., y De Crombrughe, B. (1995). Coordinate patterns of expression of type I and III collagens during mouse development. *Matrix Biology*, 14(9), 705-713. [https://doi.org/10.1016/S0945-053X\(05\)80013-7](https://doi.org/10.1016/S0945-053X(05)80013-7)

P

- Palazzolo, M. J., Fowler, C. B., Magliocca, K. R., y Gnapp, D. R. (2014). Neuroepithelial structures associated with the subepithelial nerve plexus of taste buds: A fortuitous

finding resembling the juxtaoral organ of Chievitz. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 117(4), 497-501. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2013.12.403>

Pantanowitz, L., y Balogh, K. (2003). Significance of the juxtaoral organ (of Chievitz). *Head y Neck*, 25(5), 400-405; discussion 400. <https://doi.org/10.1002/hed.10209>

Pantanowitz, L., y Tschén, J. A. (2004). Organ of Chievitz. *Ear, Nose, y Throat Journal*, 83(4), 230.

Paulsen, F., y Waschke, J. (2018). *Sobotta. Atlas de anatomía humana vol 3: Cabeza, cuello y neuroanatomía* (24.^a ed., Vol. 3). Elsevier.

R

Ramos-Vega, V., y Roa, I. (2019). Juxtaoral organ: An anatomical finding to be considered. *Folia Morphologica*, 78(3), 643-646. <https://doi.org/10.5603/FM.a2019.0008>

Ramsay, A. J. (1935). Persistence of the organ of chievitz in the human. *The Anatomical Record*, 63(3), 281-293. <https://doi.org/10.1002/ar.1090630308>

Ricard-Blum, S. (2011). The collagen family. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(1), a004978. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004978>

Richard, L., Topilko, P., Magy, L., Decouvelaere, A.-V., Charnay, P., Funalot, B., y Vallat, J.-M. (2012). Endoneurial fibroblast-like cells. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 71(11), 938-947. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e318270a941>

Richardson, M. S. (2016). Familiar and unfamiliar pseudoneoplastic lesions of the head and neck. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 33(1), 24-30. <https://doi.org/10.1053/j.semmp.2015.09.004>

Rodríguez-Vázquez, J. F., Mérida-Velasco, J. R., Mérida-Velasco, J. A., y Jiménez-Collado, J. (1998). Anatomical considerations on the discomalleolar ligament. *The Journal of Anatomy*, 192(4), 617-621. <https://doi.org/10.1017/S0021878298003501>

Rosert, J., y de Crombrughe, B. (2002). Type I collagen: Structure, synthesis and regulation. En J.P. Bilezikian, L.G. Raisz, G.A. Rodan (Eds.). *Principles in Bone Biology* (pp. 189-210). Academic Press.

Roşu, Ş., Neamţu, C., y Totolici, B. (2014). Unusual lesion of the temporal region, benign tumor of the Chievitz's organ: A case report. *Romanian Journal of Morphology and Embryology = Revue Roumaine De Morphologie Et Embryologie*, 55(2 Suppl), 683-685.

S

Salzer, G. M., Stockinger, L., y Zenker, W. (1964). [THE ULTRASTRUCTURE OF THE JUXTAORAL ORGAN OF RATS]. *Zeitschrift Fur Zellforschung Und Mikroskopische Anatomie (Vienna, Austria: 1948)*, 62, 829-854.

Salzer, G. M., Stockinger, L., y Zenker, W. (1965). [The juxtaoral organ]. *Verhandlungen Der Anatomischen Gesellschaft*, 115, 479.

Salzer, G. M., y Zenker, W. (1962). *Das juxtaorale Organ | Karger Book* (Vol. 3). Bibliotheca Anatomica. <https://www.karger.com/Book/Home/216914>

Salzer, G. M., y Zenker, W. (1968). [Changes in the juxtaoral organ of the rat after hypophysectomy. Morphometrical studies]. *Zeitschrift Fur Zellforschung Und Mikroskopische Anatomie (Vienna, Austria: 1948)*, 84(1), 72-86.

Sancheti, S. M., Sawaimoon, S., y Zameer, M. A. L. (2015). Juxtaoral Organ of Chievitz, an Obscure Anatomical Structure Masquerading as Perineural Invasion of Mucoepidermoid Carcinoma: Case Report and Review of Literature. *International Journal of Surgical Pathology*, 23(6), 461-463. <https://doi.org/10.1177/1066896915568991>

Sarasquete, C., y Gutiérrez, M. (2005). New tetrachromic VOF stain (Type III-G.S) for normal and pathological fish tissues. *European Journal of Histochemistry: EJH*, 49(2), 211-227.

Schulte, H. W. (1913). The development of the salivary glands in man Contributions to the Anatomy and Development of the salivary glands in the mammalian. *Studies Cancer Allied Subjects*, 4, 15-72.

Sciubba, J. J., y Sachs, S. A. (1980). Schwannoma of the inferior alveolar nerve in association with the organ of Chievitz. *Journal of Oral Pathology*, 9(1), 16-28. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1980.tb01384.x>

- Shimokawa, T., Akita, K., Sato, T., Ru, F., Yi, S.-Q., y Tanaka, S. (2004). Penetration of muscles by branches of the mandibular nerve: A possible cause of neuropathy. *Clinical Anatomy (New York, N.Y.)*, 17(1), 2-5. <https://doi.org/10.1002/ca.10169>
- Silver, F. H., Horvath, I., y Foran, D. J. (2001). Viscoelasticity of the vessel wall: The role of collagen and elastic fibers. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 29(3), 279-301. <https://doi.org/10.1615/critrevbiomedeng.v29.i3.10>
- Soucy, P., Cimone, G., y Carpenter, B. (1990). An unusual intraoral mass in a child: The organ of Chievitz. *Journal of Pediatric Surgery*, 25(11), 1200. [https://doi.org/10.1016/0022-3468\(90\)90765-2](https://doi.org/10.1016/0022-3468(90)90765-2)
- Standing, S. (2015). *Gray's Anatomy: The Anatomical Basis of Clinical Practice* (41^a ed.). Elsevier Health Sciences.
- Suárez-Quintanilla, J., Martín-Cruces, J., Martín-Biedma, B., Cobo, J. L., Mérida-García, A. J., de Vicente, J. C., Junquera, L. M., Mérida-Velasco, J. R., y Vega, J. A. (2020). The juxta-oral organ of Chievitz (organum yuxtaorale) updated: Embryology, anatomy, function and pathology. *Annals of Anatomy = Anatomischer Anzeiger: Official Organ of the Anatomische Gesellschaft*, 232, 151582. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2020.151582>

T

- Takebe, K., Nio-Kobayashi, J., Takahashi-Iwanaga, H., y Iwanaga, T. (2008). Histochemical demonstration of a monocarboxylate transporter in the mouse perineurium with special reference to GLUT1. *Biomedical Research*, 29(6), 297-306. <https://doi.org/10.2220/biomedres.29.297>
- Takezawa, K., Ghabriel, M., y Townsend, G. (2018). The course and distribution of the buccal nerve: Clinical relevance in dentistry. *Australian Dental Journal*, 63(1), 66-71. <https://doi.org/10.1111/adj.12543>
- Thompson, L. D. R., y Wenig, B. M. (2016). *Diagnostic Pathology: Head and Neck E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Tosios, K. I., Giannoulis, G., Kaklamanis, L., y Choupis, K. (2022). A central maxillary tumor with bland cytology, partly sclerotic stroma, and neural involvement. Sclerosing odontogenic carcinoma or epithelial neurotropism in an odontogenic fibroma? *Oral Surgery*, 00(n/a), 1-6. <https://doi.org/10.1111/ors.12708>

Tschen, J. A., y Fechner, R. E. (1979). The juxtaoral organ of Chievitz. *The American Journal of Surgical Pathology*, 3(2), 147-150. <https://doi.org/10.1097/00000478-197904000-00005>

V

Vadmal, M. S., Rossi, M. B., Teichberg, S., y Hajdu, S. I. (1998). Intraoral tumor of Chievitz in a child. *Pediatric and Developmental Pathology: The Official Journal of the Society for Pediatric Pathology and the Paediatric Pathology Society*, 1(3), 230-233. <https://doi.org/10.1007/s100249900031>

Velasco, J. R. M., De La Cuadra Blanco, C., y Velasco, J. A. M. (2012). Development of the juxta-oral organ in rat embryo. *Anatomical Record (Hoboken, N.J.: 2007)*, 295(5), 769-775. <https://doi.org/10.1002/ar.22444>

Von Arx, T., y Lozanoff, S. (2017). *Clinical Oral Anatomy: A Comprehensive Review for Dental Practitioners and Researchers*. Springer. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-41993-0>

von der Mark, K. (1981). Localization of Collagen Types in Tissues. En D. A. Hall y D. S. Jackson (Eds.), *International Review of Connective Tissue Research* (Vol. 9, pp. 265-324). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-363709-3.50012-7>

W

Wadhwan, V., Venkatesh, A., Aggarwal, P., Reddy, V., y Sharma, P. (2015). Juxtaoral organ of Chievitz: A histopathological masquerade. *Indian Journal of Medical and Paediatric Oncology: Official Journal of Indian Society of Medical y Paediatric Oncology*, 36(3), 193. <https://doi.org/10.4103/0971-5851.166762>

Weishaupt, E. (1911). Ein rudimentärer seitengang des Ductus parotideus. Beitrag zur vergleichenden Entwicklungsgeschichte der Mundspeicheldrüsen. *Pflügers Arch. Ges. Physiol*, 1, 11-34.

Wysocki, G. P., y Wright, B. A. (1981). Intra-neural and perineural epithelial structures. *Head y Neck Surgery*, 4(1), 69-71. <https://doi.org/10.1002/hed.2890040113>

Y

Yue, F., Cheng, Y., Breschi, A., Vierstra, J., Wu, W., Ryba, T., Sandstrom, R., Ma, Z., Davis, C., Pope, B. D., Shen, Y., Pervouchine, D. D., Djebali, S., Thurman, R. E., Kaul, R., Rynes, E., Kirilusha, A., Marinov, G. K., Williams, B. A., ... Ren, B.

(2014). A comparative encyclopedia of DNA elements in the mouse genome. *Nature*, 515(7527), 355-364. <https://doi.org/10.1038/nature13992>

Z

Zenker, W. (1953). Organon bucco-temporale (Chievitzsches Organ): Ein nervös-epitheliales Organ beim Mensch. *Anatomischer Anzeiger*, 100, 257-265.

Zenker, W. (1955). Das "spatium buccotemporale" und die anderen Fascienräume der tiefen seitlichen Gesichts region. *Z. Anat. Entwickl. Gesch.*, 118, 371-390.


Zenker, W. (1982). *Juxtaoral Organ (chievitz' Organ): Morphology and Clinical Aspects*. Urban y Schwarzenberg.

Zenker, W., y Halzl, L. (1953). Beitrag Zur entwicklung des Chievitz'schen Organ beim Menschen. *Z. Anat. Entwickl. Gesch.*, 117, 215-236.

Zenker, W., y Salzer, G. M. (1961). Die Histologie Des Chievitz'schen Organs. *Cells Tissues Organs*, 44(4), 286-321. <https://doi.org/10.1159/000141729>

**PUBLICACIONES
DERIVADAS DE ESTA
TESIS DOCTORAL**

Functional hypothesis of the juxtaoral organ: Role of collagen types I and III

Antonio José Mérida-García¹ | Jorge Murillo-González^{2,3}  | Elena Martínez-Sanz^{2,3}  |
 Javier Catón^{2,3} | Luis A. Arráez-Aybar^{2,3} | José Martín-Cruces⁴ | Teresa Cobo^{5,6} |
 José Antonio Vega^{4,7} | José Ramón Mérida-Velasco^{2,3}

¹Servicio Oncología Médica, Complejo Asistencial, Zamora, Spain

²Facultad de Medicina, Departamento de Anatomía y Embriología, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

³Laboratorio de Desarrollo y Crecimiento Craneofacial, Facultad de Odontología, Grupo UCM de Investigación, Investigación en Desarrollo del Paladar y Fisura Palatina. Desarrollo Craneofacial, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

⁴Departamento de Morfología y Biología Celular, Grupo SINPOS, Universidad de Oviedo, Oviedo, Spain

⁵Departamento de Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas, Universidad de Oviedo, Oviedo, Spain

⁶Instituto Asturiano de Odontología, Oviedo, Oviedo, Spain

⁷Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago de Chile, Chile

Correspondence

Jorge Murillo-González, Facultad de Medicina, Departamento de Anatomía y Embriología, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, Spain.
 Email: jmurillo@med.ucm.es

Funding information

This work was partially supported by grant number PR87/19-22587 from Santander Bank/Complutense University of Madrid.

Keywords: collagens type I/III, function, histology, immunohistochemistry, juxtaoral organ

The juxtaoral organ (JOO) was first described in human embryos by (Chievitz, 1885). In human adults, it has been described in the buccotemporal space—located within the soft tissue between the medial surface of the mandible and the buccinator muscle—innervated by the buccal nerve (Zenker, 1953). Histologically, the JOO consists of parenchyma formed by nests of non-keratinizing squamous epithelial cells surrounded by two layers or strata of connective tissue that form the stroma—the stratum fibrosum externum (SE) and the stratum fibrosum internum (SI). In addition, the JOO is rich in small nerve branches that form the stratum nervosum (Zenker & Salzer, 1961). Some reviews have reported epithelial islands residing in peripheral nerves similar to JOO, cases of hyperplasia, hamartomas or neuroectodermal tumours; even in biopsies, the JOO can be misinterpreted as carcinomas (Pantanowitz & Balogh, 2003; D'Andrea et al., 2015; Suárez-Quintanilla et al., 2020).

The function of the JOO is not clearly defined. Despite numerous immunohistochemical studies on the JOO, there are no studies on the expression of collagen types I and III in its stroma (Table 1).

Such information is crucial for its understanding since collagens play structural roles and contribute to mechanical properties, organization and shape of tissues (Ricard-Blum, 2011). Thus, the objective of this work was to carry out a histological study of JOO after dissection of the infratemporal region in adult human cadavers, analysing the immunoexpression of collagen types I and III and its disposition (by using the picrosirius red staining technique).

For this study, sixteen formalin-fixed cadaver-head specimens were collected from the former Department of Anatomy and Embryology II and the Body Donation Centre of the Complutense University of Madrid. In all cases, a bilateral dissection of the infratemporal fossa was performed. In six cases, the JOO dissection was attempted, but it could not be identified macroscopically. In 10 cases, we explanted the region where the JOO was suspected to be. Therefore, the buccal nerve and surrounding tissue were resected, from its access to the pterygomandibular region until the buccinator muscle was reached (Figure 1). Histological examination allowed the JOO to be identified. The preparations were processed

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs License, which permits use and distribution in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non-commercial and no modifications or adaptations are made.

© 2021 The Authors. *Oral Diseases* published by Wiley Periodicals LLC.

TABLE 1 Immunohistochemical characterization of the juxtaoral organ

References	Species	Positive immunostaining	Negative immunostaining	Additional information
Soucy et al. (1990),	Human	NSE & GFAP	NS	Case report of a biopsy in a 5-year-old girl
Mandl et al. (1993)	Human	CK KL1 & CK 19	Desmin, chromogranin, NSE & S-100 protein	Samples of a juxtaoral organ from biopsies. Transmission electron microscopy was also performed. Article in German
Vadmal et al. (1998)	Human	Vimentin (+++), CK CAM5.2, CK AE1/AE3 (+) & epithelial membrane antigen (+)	S-100 protein, smooth muscle actin, chromogranin, synaptophysin, NSE & GFAP	Case report of an intraoral tumour in a 12-year-old girl
Ide et al. (2004)	Human	S-100 protein, NSE, neurofilament protein 2F11, epithelial membrane antigen E29 & CKs AE1/AE3, 34bE12 & MNF116	chromogranin & synaptophysin	Case report of a biopsy in a 35-year-old man
Bahcelioglu et al. (2005)	Dog	EGF-r, TGF- α & NGF- β	NS	Authors suggested a neurosecretory function for the JOO
Kusafuka and Kameya (2007)	Human	Pan-CK AE-1/3, CK 19, high molecular-weight keratin & Melan-A	CK7, CK20, vimentin, S-100 protein, human melanosome, CEA, E-cadherin, CK14, chromogranin-A & synaptophysin	Case report of a biopsy in a 44-year-old Japanese woman
Velasco et al. (2012)	Rat embryos	HNK-1 (in E14 & E15)	HNK-1 (from E16 to E19)	Authors studied from rat development, from E14 to E19
Kobayashi et al. (2015)	Mice	CK14, NF, Ki67 (in 2 week-old mice), p63 & Glut1 (both 2 & 8 week-old mice)	CK18, Ki67 (in 8 week-old mice) & Glut1 (in 1 week-old mice)	Authors studied several developmental stages in mice
Suárez-Quintanilla et al. (2020)	Human foetus	S100 protein, NSE, CD34, PIEZO2	ASIC2 & TRPV4	Foetal tissue. Authors suggested a mechanosensory role

Note: (+) weak staining; (+++), strong staining; ASIC, acid-sensing ion channels; EGF, epidermal growth factor; GFAP, glial fibrillary acidic protein; Glut1, anti-glucose transporter1; HNK-1, human natural killer-1; NF, neurofilament; NGF, nerve growth factor; NS, Not Specified; NSE, Neuron-specific enolase; PIEZO2, Piezo Type Mechanosensitive Ion Channel Component 2; TGF, transforming growth factor; TRPV, transient receptor potential vanilloid.

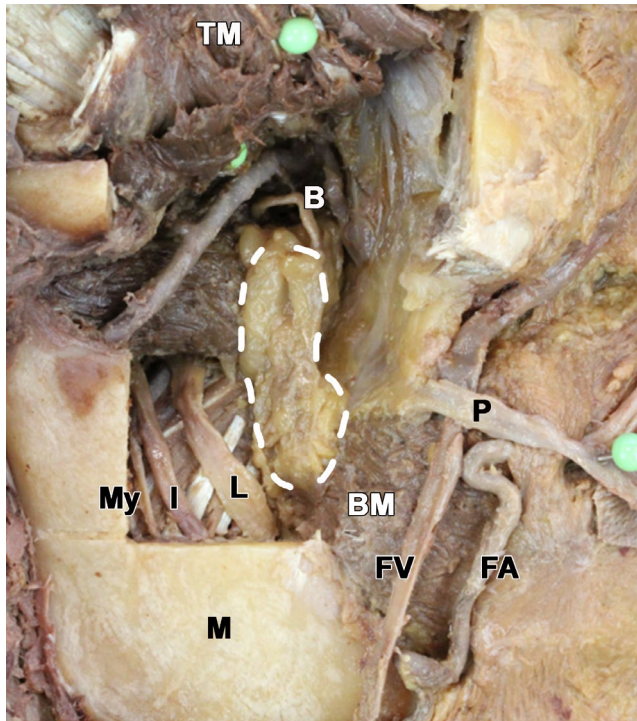


FIGURE 1 Lateral view of the dissection (right side). Aspect of the pterygomandibular region: the zygomatic arch, the coronoid process of the mandible and the temporalis tendon were cut; the dashed white line indicates the area where the tissue surrounded the buccal nerve (B) was resected. TM, temporalis muscle; M, mandible; FV, facial vein; FA, facial artery; P, parotid duct; BM, buccinator muscle; L, lingual nerve; I, inferior alveolar nerve; My, nerve branch to supply the mylohyoid muscle and the anterior digastric belly

and routinely stained, including picosirius red. Furthermore, immunohistochemistry on paraffin sections was performed following the protocol for the ready-to-use Vectastain (PK-7200). The following primary antibodies were used: mouse anti-collagen type I (sc-59772, 1:200) and rabbit polyclonal antibody anti-collagen type III (bs-0549R, 1:200).

According to our findings, the JOO is a fusiform structure of variable length (6–11 mm) and thick (1–2 mm), surrounded by loose connective tissue (Figure 2a). The parenchyma of the JOO is formed by interconnected nests of epithelial cells, of different size and shape, with a multilobular appearance (Figure 2b–d). In some nests, the internal cells show a whorl-like or concentric arrangement and a larger cytoplasm, and other nests show small vesicles with amorphous material (Figure 2e). The stroma was formed by dense connective tissue that forms the capsule (SE), organized in concentric layers (Figure 2b,e,f), in which type I collagen predominated (Figure 2g). Inside the stroma, the SI was formed by loose connective tissue, with a predominance of type III collagen, arranged radially between the epithelial nests (Figure 2f,h).

A range of immunohistochemical findings have been reported by immunohistochemical studies performed in different species and types of tissues, focused on the parenchyma or the nerves fibres

(Table 1). However, there are no previous studies of the expression of collagen I and III in the stroma that emphasize its role as a mechanoreceptor.

The role of the JOO stroma is important for its organization and morphological function. Previous studies suggested that the difference in the proportion of type I/III collagens, and the arrangement and size of the fibres are important characteristics for the mechanical resistance and elasticity of the tissues, since the elastic and dynamic properties are significantly different in both types of collagens (Asgari et al., 2017). We suggest that the SE formed predominantly by concentrically arranged collagen I, giving the JOO solidity and resistance to stretching and compression. The dense connective tissue that surrounds the small neurovascular bundles that reach the JOO serves to fix it to the neighbouring tissue. In addition, the SI principally formed by radially arranged collagen III provides the elastic properties to JOO. However, immunostaining of collagen type III is also slightly noticed in the SE. These results are consistent with the general distribution and function of collagen types (Gelse et al., 2003). Indeed, collagen type III is associated with collagen type I in many tissues (Kuivaniemi & Tromp, 2019).

The importance of the JOO stroma during development has been reported previously. In rats, there is evidence that it is derived from the neural crest (Velasco et al., 2012). Furthermore, it has also been suggested that the melanin pigmentation identified within the JOO stroma in human adults is produced by melanocytes derived from the neural crest (Ide et al., 2003). Recently, it has also been reported that the stroma presents perineural characteristics (Suárez-Quintanilla et al., 2020).

The JOO is located in the pterygomandibular region in relation to the buccal nerve. Its topographical relationships with the masticatory muscles, the buccinator muscle and the pterygomandibular raphe, as well as the organization of its stroma, suggest that JOO acts as a mechanoreceptor stimulated by actions such as chewing or swallowing.

The knowledge of the topography and histology of the JOO can help to avoid misinterpretations related to the invasive front of carcinomas. Indeed, some microscopic features have been reported to be helpful in differentiating between the JOO and invasive perineural carcinoma (Müller, 2016; Pantanowitz & Balogh, 2003). In addition, this report also suggests that the immunoexpression of collagen types I and III in the stroma of the JOO seems to be consistent with its role as a mechanoreceptor.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was partially supported by grant number PR87/19-22587 from Santander Bank/Complutense University of Madrid, to which we thank. However, the financial support has not influenced the results, and none of the authors discloses any conflict of interest. The authors also wish to sincerely thank those who donated their bodies to science so that anatomical research could be performed. Results from such research can potentially improve patient care and increase our overall knowledge. Therefore, these donors and their families deserve our highest gratitude.

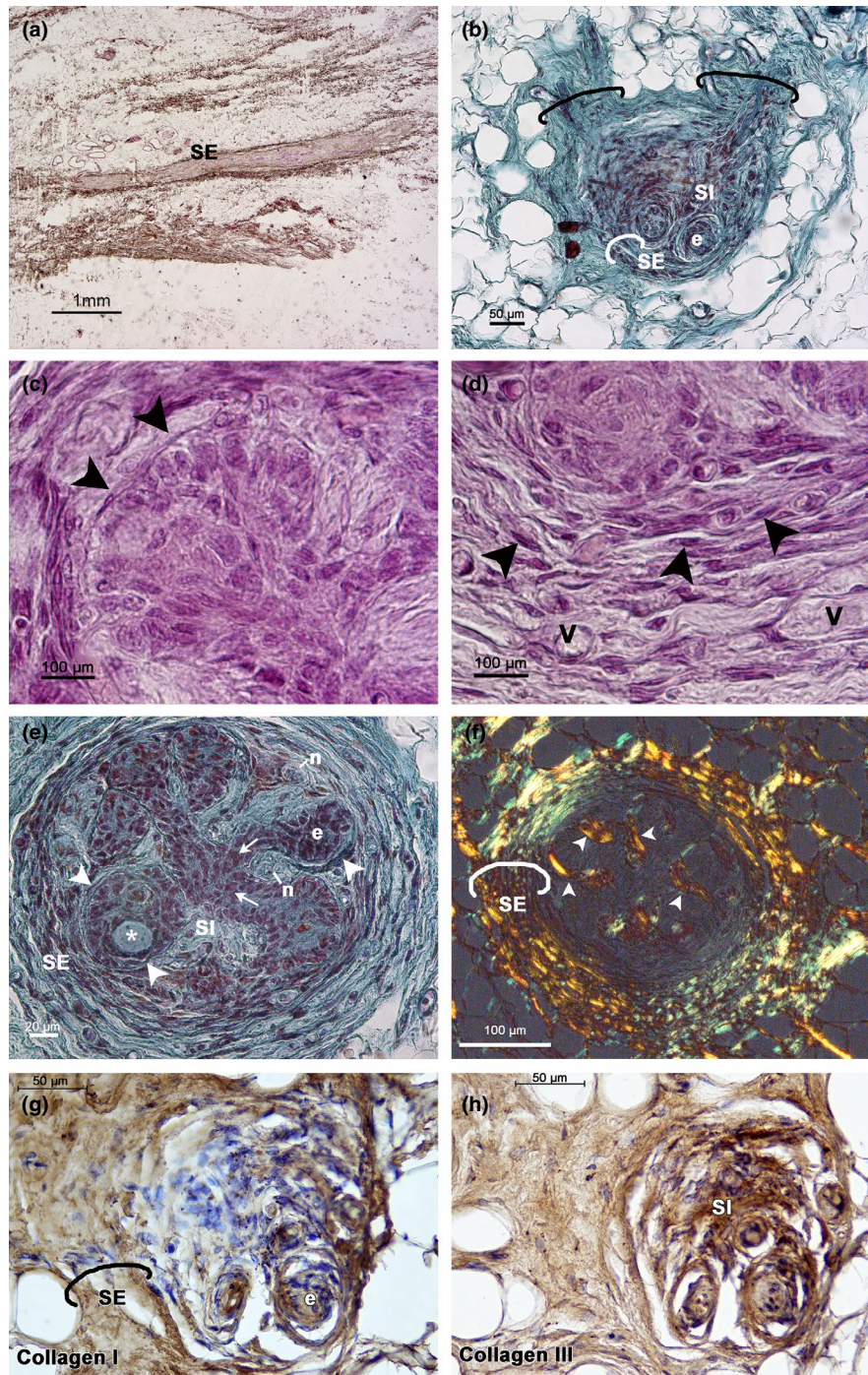


FIGURE 2 Juxtaoral organ (JOO) histology. (a) Longitudinal section of the JOO; haematoxylin–eosin staining. SE, stratum fibrosum externum. Scale bar, 1 mm. (b–h) Frontal histological sections of the JOO. (b) VOF-III staining showing that is made up of epithelial nests (e) that form the multilobulated parenchyma surrounded by loose connective tissue (stratum fibrosum internum, SI), and dense connective tissue (stratum fibrosum externum, SE) frame by the white line. The black line frames bundles of dense connective tissue attaching the JOO to the tissue surrounding it. Scale bar, 50 µm. (c) Detail of an epithelial nest where the nuclei of the peripheral epithelial cells are polarized towards the basement membrane (arrowheads). Scale bar, 100 µm. (d) Detail of the stratum fibrosum externum showing fibroblasts (arrowheads) and blood vessels (V). Scale bar, 100 µm. (e) Detail of the JOO showing nerve fibres (n) in the stratum fibrosum internum (SI) in relation to continuity between epithelial nests (arrows); white asterisk, vesicle with amorphous material; arrowheads, basement membrane. Scale bar, 20 µm. (f) Picrosirius red staining: the white line frames the stratum fibrosum externum (SE); the collagen of the SE is arranged in concentric layers and the collagen of the stratum fibrosum internum is arranged radially (arrowheads). Scale bar: 100 µm. (g) Immunohistochemistry of collagen I: the black line frames the SE (e, epithelial nest). Scale bar: 50 µm. (h) Immunohistochemistry of collagen type III was predominantly in the stratum fibrosum internum (SI); however, there is slight immunostaining in the stratum fibrosum externum. Scale bar: 50 µm



CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Antonio José Mérida-García: Conceptualization; Formal analysis; Investigation; Writing-review & editing. **Jorge Murillo-González:** Funding acquisition; Investigation; Supervision; Writing-original draft; Writing-review & editing. **Elena Martínez-Sanz:** Formal analysis; Writing-original draft; Writing-review & editing. **Javier Catón:** Formal analysis; Investigation; Writing-original draft; Writing-review & editing. **Luis A. Arráez-Aybar:** Investigation; Writing-review & editing. **José Martín-Cruces:** Formal analysis; Writing-review & editing. **Teresa Cobo:** Formal analysis; Writing-review & editing. **José Antonio Vega:** Formal analysis; Supervision; Writing-review & editing. **José Ramón Mérida-Velasco:** Conceptualization; Formal analysis; Supervision; Writing-original draft; Writing-review & editing.

ETHICAL APPROVAL

All the procedures followed in this study were in accordance with the ethical standards of the Complutense University of Madrid (Spain) and in accord with the Helsinki Declaration.

PEER REVIEW

The peer review history for this article is available at <https://publons.com/publon/10.1111/odi.13959>.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The authors declare that all the data of this study are available on request from the corresponding author, Jorge Murillo-González.

ORCID

Jorge Murillo-González  <https://orcid.org/0000-0002-3455-2378>

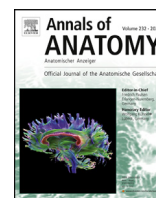
Elena Martínez-Sanz  <https://orcid.org/0000-0002-5492-8459>

REFERENCES

- Asgari, M., Latifi, N., Heris, H. K., Vali, H., & Mongeau, L. (2017). In vitro fibrillogenesis of tropocollagen type III in collagen type I affects its relative fibrillar topology and mechanics. *Scientific Reports*, 7(1), 1392. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01476-y>
- Bahcelioglu, M., Calguner, E., Erdogan, D., Elmas, C., Gozil, R., Keskil, S., & Kadioglu, D. (2005). The immunohistochemical approach to determine the origin and possible function of the juxtaoral organ in dogs. *Saudi Medical Journal*, 26(10), 1529–1534.
- Chievitz, J. H. (1885). Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Speicheldrüsen. *Archives of Anatomy and Physiology*, 9, 401–436.
- D'Andrea, V., Panarese, A., Di Matteo, F. M., Favoriti, P., Favella, L., Arcieri, S., & Filippini, A. (2015). Chievitz' juxtaoral organ, free from cancer. *Annali Italiani De Chirurgia*, 86, 503–507.
- Gelse, K., Pöschl, E., & Aigner, T. (2003). Collagens—structure, function, and biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55(12), 1531–1546. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.08.002>

- Ide, F., Mishima, K., & Saito, I. (2003). Melanin pigmentation in the juxtaoral organ of Chievitz. *Pathology International*, 53(4), 262–263. <https://doi.org/10.1046/j.1320-5463.2003.01466.x>
- Ide, F., Mishima, K., & Saito, I. (2004). Pacinian corpuscle in the juxtaoral organ of Chievitz. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 33(7), 443–444. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2004.00183.x>
- Kobayashi, Y., Nakashima, M., Wakakuri, T., Imaki, J., & Ito, M. (2015). Histology and immunohistochemistry of the developing juxtaoral organ in mice. *Annals of Anatomy*, 198, 49–57. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2014.11.004>
- Kuivaniemi, H., & Tromp, G. (2019). Type III collagen (COL3A1): Gene and protein structure, tissue distribution, and associated diseases. *Gene*, 707, 151–171. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.05.003>
- Kusafuka, K., & Kameya, T. (2007). Juxtaoral organ of Chievitz, radiologically suspicious for invasion of lingual squamous cell carcinoma. *Pathology International*, 57(11), 754–756. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1827.2007.02161.x>
- Mandl, L., Nerlich, A., Pankratz, H., & Hübner, G. (1993). The juxta-oral organ (Chievitz organ) – a sensory organ in the bucco-temporal area? *Der Pathologe*, 14(4), 205–209.
- Müller, S. (2016). Juxtaoral organ of Chievitz. In L. D. R. Thompson, & B. M. Wenig (Eds.), *Diagnostic pathology: Head and neck* (p. 377). Elsevier Health Sciences.
- Pantanowitz, L., & Balogh, K. (2003). Significance of the juxtaoral organ (of Chievitz). *Head and Neck*, 25(5), 400–405. <https://doi.org/10.1002/hed.10209>
- Ricard-Blum, S. (2011). The collagen family. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(1), a004978. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004978>
- Soucy, P., Cimone, G., & Carpenter, B. (1990). An unusual intraoral mass in a child: The organ of Chievitz. *Journal of Pediatric Surgery*, 25(11), 1200. [https://doi.org/10.1016/0022-3468\(90\)90765-2](https://doi.org/10.1016/0022-3468(90)90765-2)
- Suárez-Quintanilla, J., Martín-Cruces, J., Martín-Biedma, B., Cobo, J. L., Mérida-García, A. J., de Vicente, J. C., Junquera, L. M., Mérida-Velasco, J. R., & Vega, J. A. (2020). The juxta-oral organ of Chievitz (organum yuxtaorale) updated: Embryology, anatomy, function and pathology. *Annals of Anatomy*, 232, 151582. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2020.151582>
- Vadmal, M. S., Rossi, M. B., Teichberg, S., & Hajdu, S. I. (1998). Intraoral tumor of Chievitz in a child. *Pediatric and Developmental Pathology*, 1(3), 230–233. <https://doi.org/10.1007/s100249900031>
- Velasco, J. R., De La Cuadra Blanco, C., & Velasco, J. A. (2012). Development of the juxta-oral organ in rat embryo. *Anatomical Record*, 295(5), 769–775. <https://doi.org/10.1002/ar.22444>
- Zenker, W. (1953). Organon bucco-temporale (Chievitzsches Organ): Ein nervös-epitheliales Organ beim Mensch. *Anatomischer Anzeiger*, 100, 257–265.
- Zenker, W., & Salzer, G. M. (1961). Die Histologie des Chievitz'schen Organs. *Cells Tissues Organs*, 44(4), 286–321. <https://doi.org/10.1159/000141729>

How to cite this article: Mérida-García, A. J., Murillo-González, J., Martínez-Sanz, E., Catón, J., Arráez-Aybar, L. A., Martín-Cruces, J., Cobo, T., Vega, J. A., & Mérida-Velasco, J. R. (2021). Functional hypothesis of the juxtaoral organ: Role of collagen types I and III. *Oral Diseases*, 00, 1–5. <https://doi.org/10.1111/odi.13959>



MINIREVIEW

The juxta-oral organ of Chievitz (*organum yuxtaorale*) updated: Embryology, anatomy, function and pathology

J. Suárez-Quintanilla^a, J. Martín-Cruces^b, B. Martín-Biedma^c, J.L. Cobo^{b,d},
A.J. Mérida-García^e, J.C. de Vicente^{d,f}, L.M. Junquera^{d,f}, J.R. Mérida-Velasco^g, J.A. Vega^{b,h,*}

^a Departamento Ciencias Morfológicas, Universidad de Santiago de Compostela, Spain

^b Departamento de Morfología y Biología Celular, Grupo SINPOS, Universidad de Oviedo, Spain

^c Departamento de Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas, Universidad de Santiago de Compostela, Spain

^d Servicio de Cirugía Máxilofacial, Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo, Spain

^e Servicio Oncología Médica, Complejo Asistencial, Zamora, Spain

^f Departamento de Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas, Universidad de Oviedo, Spain

^g Departamento de Anatomía y Embriología, Instituto de Embriología, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

^h Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Chile, Santiago de Chile, Chile

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 May 2020

Received in revised form 5 July 2020

Accepted 26 July 2020

Keywords:

Juxtaoral organ

Embryology

Structure

Function

Mechanoreceptors

Piezo2 ion channel

ABSTRACT

Background: The Chievitz's organ or juxta-oral organ is a mysterious bilateral structure, phylogenetically preserved, which develops from the mouth epithelium as an invagination that loses connection to it in the prenatal period. It is located laterally to the walls of the oral cavity in an imprecise anatomical location and receives abundant innervation from the buccal nerve. Structurally it consists of non-keratinizing squamous-like neuroepithelial cells surrounded by two layers of connective tissue with nerve fibers and different morphotypes of sensory corpuscles. Its function is completely unknown although based on its rich innervation it is assumed that works as a mechanoreceptor.

Methods: We have performed immunohistochemistry for axonal and Schwann cells, and the putative mechanoproteins ASIC2, TRPV4 and Piezo2 in sections of fetal juxta-oral organ.

Results: Intraparenchymatous nerve fibers and sensory corpuscles were observed as well as immunoreactivity for Piezo2 in both nerve fibers and epithelial parenchymatous cells.

Conclusions: We add indirect evidence that the juxtaoral organ is a mechanoreceptor because in addition to its dense innervation, the epithelial cells and sensory nerve fibers display immunoreactivity for the mechanogated ion channel Piezo2. Based on current knowledge, the functional and clinical importance of the juxta-oral organ should be further investigated.

© 2020 Elsevier GmbH. All rights reserved.

1. Introduction

The Danish anatomist Johan Henrik Chievitz (1851–1901) discovered a thin longitudinal epithelial formation near the duct of the parotid gland in human embryos (Chievitz, 1885). Fifty year later, Ramsay (1935) observed that this organ is always present in human embryos and fetuses but disappears before birth. Thus, he considered this formation as a transient rudimentary structure representing an abortive salivary gland anlage since the development of the parotid gland and that organ are affected by the

same mutations (Grüneberg, 1971). Nevertheless, further investigations demonstrated it persisted in adulthood (Zenker, 1982, 1953) and, at present, it is regarded as an epithelial remnant of the oral cavity development (Malinovsky et al., 1996). Throughout time, this structure has received different names such as Chievitz's organ, orbital inclusion, juxtaparotid organ, buccopharyngeal tract, and buccotemporal organ (Grüneberg, 1971; Mérida-Velasco et al., 2005). Nevertheless, the name currently used is juxta-oral (JO) proposed by Salzer and Zenker (1961) and thus it is recognized in Terminologia Histologica International terms for human cytology and histology (Allen, 2009) and in the International Anatomical Terminology (Monkhouse, 2001).

In addition to man, the occurrence of JO has been reported in fish, amphibians, reptiles, birds and other mammals (Boyd and Hughes, 1960; Grüneberg, 1971; Jeanneret-Gris, 1980a; Salzer and Zenker, 1968; Zenker, 1982; Zenker and Halzl, 1953). Its persis-

* Corresponding author at: Departamento de Morfología y Biología Celular, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud – Universidad de Oviedo, C/ Julián Clavería, 6 – Planta 9^a, 33006 Oviedo, Spain.

E-mail address: javega@uniovi.es (J.A. Vega).

tence throughout phylogeny, as well as in adult subjects without signs of involution (Krammer and Zenker, 1974; Zenker, 1982), suggests that JOO is a stable structure likewise others epithelial bodies present around the oral cavity (Malinovsky et al., 1996, 1992).

However, despite 135 years of studies, the real importance of JOO is unknown and remains speculative. Thus, we decided to reexamine and update the anatomy, embryology and structure of JOO to try to clarify what this mysterious organ is. Furthermore, we added a personal contribution to the proposed mechanoreceptive function analyzing the innervation and the expression of putative mechanoproteins necessary or required for mechanosensing and mechanotransduction within JOO.

2. Embryology

The original description of JOO was carried out by Chievitz in 7.5–12 mm in length human embryos (Chievitz, 1885). According to him JOO develops from the ectoderm of the lateral wall of the oral cavity as a tubule in the sulcus buccalis region (*commissura buccalis*) that invaginates into the subjacent mesenchyme and thereafter, during prenatal development, the connection with the oral cavity disappears. For this reason, some authors reached the wrong conclusion that JOO is a transitory and rudimentary organ originated during development of the parotid gland (Grüneberg, 1971). Nevertheless, this view cannot be assumed since salivary glands develop later (Zenker, 1982).

Recent studies in man, rat and mice have reexamined the embryology of JOO. Mérida-Velasco et al. (2005) studied 55 human embryos and 95 fetuses at different stages of development. They observed that JOO was bilateral in all specimens examined, and described three main periods for JOO development: epithelial condensation and invagination (O'Rahilly stages 16–17), detachment from the oral epithelium and is innervation by branches of the buccal nerve (O'Rahilly stages 18–23), and formation of the connective tissue capsule (after week 11). The period of JOO detach is similar to that reported earlier by Kleiss and Kleiss (1985).

The same research team also investigated the development of JOO in rat, showing that it follows similar stages as in humans. JOO develops from an epithelial condensation at the end of the transverse groove of the primitive mouth at embryonic day 14 (E14), then invaginates and disconnects from the oral epithelium (E15), forming a solid epithelial cord (E16) with three parts (anterior, middle, and posterior). Interestingly, both the mesenchyme caudal to the anlage (E14) and the mesenchyme that surrounds the bud (E15) expressed positivity for HNK-1, a marker for neural crest derived cells (Velasco et al., 2012).

Kobayashi et al. (2015) studied the development of JOO in mice, which morphology is very different compared to humans. They used immunohistochemistry for cytokeratin (CK) to detect the organ and observed that JOO is adjacent to the fascia of the masticatory muscles during all developmental stages examined. The parenchyma displayed immunoreactivity for CK and p63 which are typical markers of the basal cells of the stratified epithelium. The epithelial parenchyma was ensheathed by layers of mesenchymal cells with perineurial characteristics (display glucose transporter 1 immunoreactivity). Between the epithelial parenchyma and mesenchymal sheath sensory endings (originated from the buccal nerve) and bundles of elastic fibers were observed. This immunohistochemical embryonic pattern remained identical in newborn and adult animals.

On the other hand, the observation that the mutant mouse allele *Bmp7*(lacZ) displayed intense lacZ expression during development in the epithelial parenchyma of JOO and salivary glands consented to Ito et al. (2009) perform an elegant study on the embryology of JOO in mice visualizing whole-mount embryos by β -gal stain-

ing. JOO appears at E12 as an epithelial cord originated from oral epithelium at the *commissura buccalis* and is soon separated from it to locate in the submucosal space in the buccal mucosa. The *commissura buccalis* is a part of the buccal mucosa forming the distal wall of the sulcus buccalis and connecting the upper (maxillary) and lower (mandibular) parts of the buccal mucosa (Zenker, 1982). Thereafter, the anterior and posterior ends of the cord extend anteriorly to the lateral fascia of the masseter on the mandible and posteriorly to the submucosal space of the soft palate. In each part of the JOO, the parenchymal component forms an epithelial cord of non-keratinized cuboidal cells surrounded by basement membrane and connective tissue and possess abundant nerves.

3. Anatomy

The incidence of JOO has been reported to be variable, probably because most studies have been performed on surgical resections or autopsy. On the other hand, the JOO is not a macroscopic apparent organ. Leibl et al. (1976) encountered 1 in 100 consecutive adult autopsies whereas Tschen and Fechner (1979) observed 14 in 25. There is common agreement that JOO in humans is an elongated neuroepithelial structure 7 to 17 mm in length and 1 to 2 mm width, bilateral, non-communicated with the parotid gland duct or the oral cavity. Conversely, there is not a common opinion with respect to its localization (Kennedy, 2020). Pantanowitz and Balogh (2003) affirm that JOO is situated within the soft tissue overlying the angle of the mandible in the buccotemporal space contained in the *fascia buccotemporalis* in front of the nerve *buccalis*, which innervates it by two to four thin branches. According to those authors “the aboral end of the organ is close to the medial pterygoid muscle, near the raphe pterygomandibularis, and the oral end descends caudally to where the parotid duct penetrates the buccinator muscle” (Fig. 1). The buccotemporal space is limited medially by m. *buccinator*, and laterally by the mandible and the mandibular insertion of the m. *temporalis*. It contains the buccal nerve, buccal artery and venous plexus, several lymphoid nodes, and the buccal fat pad.

Other authors indicate that JOO is localized deep to the medial pterygoid muscle at the level of the pterygomandibular raphe and in close relation to fibers of the buccal nerve (Krammer and Zenker, 1974) (Fig. 1), in the pterygomandibular space (Sanchei et al., 2015), “deep in the wall of the cheeks overlying the angle of the mandible normally present in the buccotemporal space” (Tschen and Fechner, 1979), in the submucosa associated with the retromolar triangle at the level of the pterygomandibular raphe (Ramos-Vega and Roa, 2019), or in the “soft tissue on the lingual aspect of the posterior mandible” (Kennedy, 2020). Occasionally it was observed in the posterior tongue in close association with the subepithelial nerve plexus of taste buds (Palazzolo et al., 2014). Rosu et al. (2014) reported that it is normally present in the temporal region.

In addition to the well delimited JOO small neuroepithelial islands in close association with small nerves can be detected disperse in the mucosa covering the oral cavity. In 53% of cases, these structures lay within the soft tissue lingual to the mandible in the retromolar area, 26% were placed buccal to the mandible, 11% lay adjacent to the maxillary tuberosity and 11% were within the posterior tongue (Kennedy, 2020).

4. Structure

Histologically, JOO consists of an inner core (parenchyma) surrounded by two layers or strata of connective tissue (the *stratum fibrosum externum* -capsule-, and the *stratum fibrosum internum*, both originated from the stroma), and the *stratum nervosum* (Fig. 2). It is richly innervated but the occurrence of blood vessels within

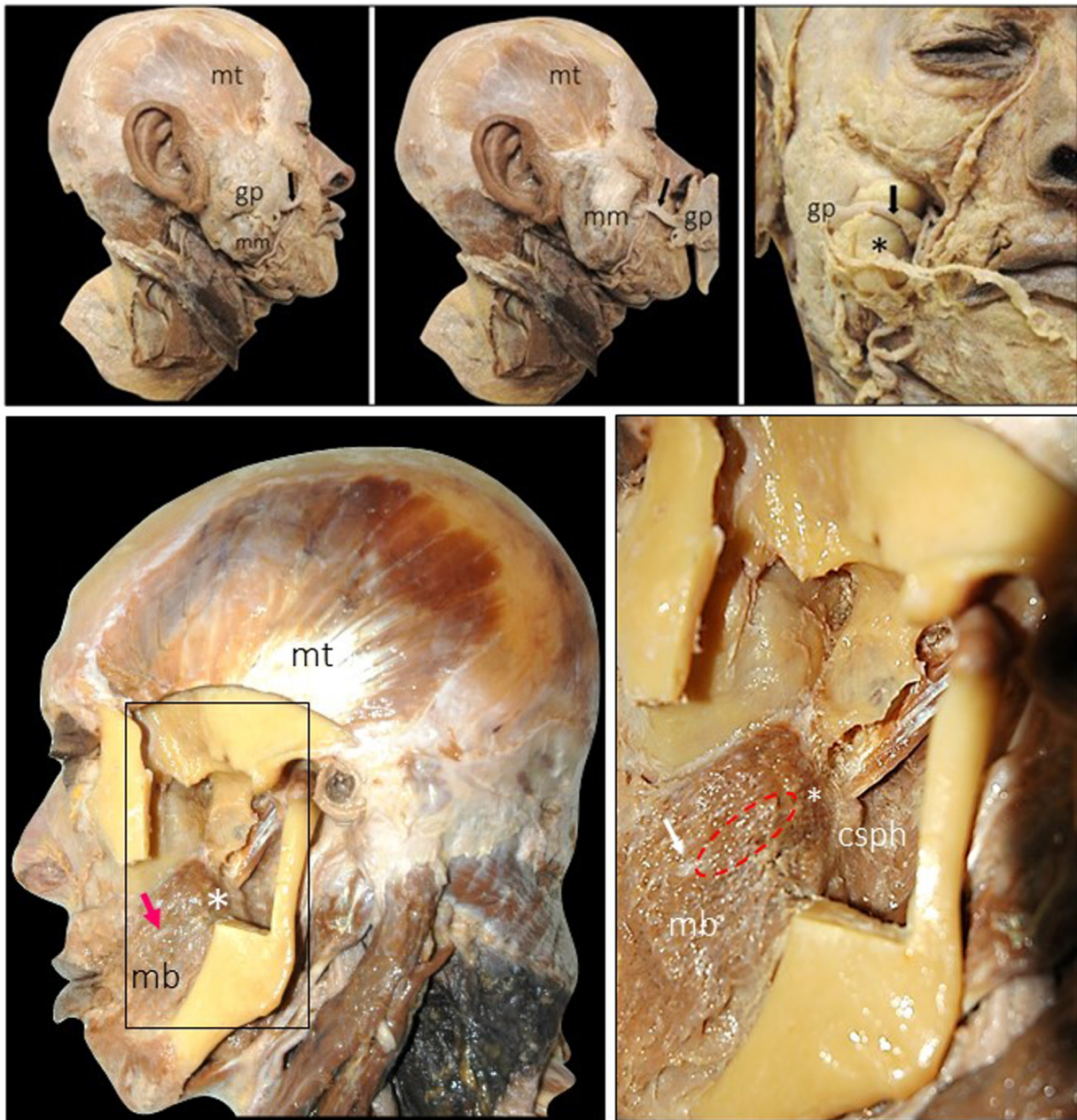


Fig. 1. Dissection of the superficial planes of the face and the buccotemporal space. Red ellipse corresponds to the placement of JOO. *csp*: *m. constrictor pharynx superior*; *gp*: glandula parotidea; *mb*: *m. buccinator*; *mt*: *m. temporalis*; black arrows: ductus parotidea; black asterisk: body of buccal fat pad (Bichat's fat pad); white arrow: end of ductus parotidea; white asterisk: *raphe pterygomandibularis*. In the bottom figures a part of the body and ramus of the mandible, the zygomatic ramus and *m. temporalis* tendon were removed to see the *m. buccinator*. The red dotted line indicates the main localization of JOO lateral to *m. buccinator* and anterior to *raphe pterygomandibularis* (white asterisk). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

JOO was never reported (Salzer et al., 1965; Salzer and Zenker, 1968; Zenker and Salzer, 1961) although the capillaries occur in the stratum nervosum and among the capsule layers (Zenker, 1982).

4.1. Inner core (parenchyma)

Is a mass of epithelium formed by non-keratinizing squamous-like neuroepithelial cells. Some authors distinguished two types of cells: the more numerous cells (type I) that contain granular vesicles, and the less frequent cells (type II) that have long processes and are distributed among the others (Jeanneret-Gris, 1980b; Klacsmann and Taxy, 1980; Mayr, 1968, 1967). Occasionally, a gland-like lumen or a follicle filled with colloid-like mucin-negative material was encountered. The larger nests of epithelium are com-

posed of cells with a clear PAS-positive cytoplasm and round or oval nuclei, centrally located cells, forming "light centers" (Zenker and Salzer, 1961). Intercellular bridges can be seen toward the center of the cell nests. Melanin pigmentation has been reported in the JOO (Ide et al., 2003a, 2003b).

Consistently with the epithelial origin, the cells display p63, CK10, CK14, CK19 and light-chain CK (KL-1) immunoreactivity (Ide et al., 2003a, 2003b; Mandl et al., 1993). Kusafuka and Kameya (2007) reported a structure positive for pan-CK, the central squamous cells being positive for CK19 and the basal cells for high molecular weight keratin and Melan-A, whereas the nerves were positive for S100 protein and PGP 9.5; conversely the JOO organ was negative for CK7, CK14, CK20, S100 protein, E-cadherin, chromogranin A and synaptophysin. The immunohistochemical results

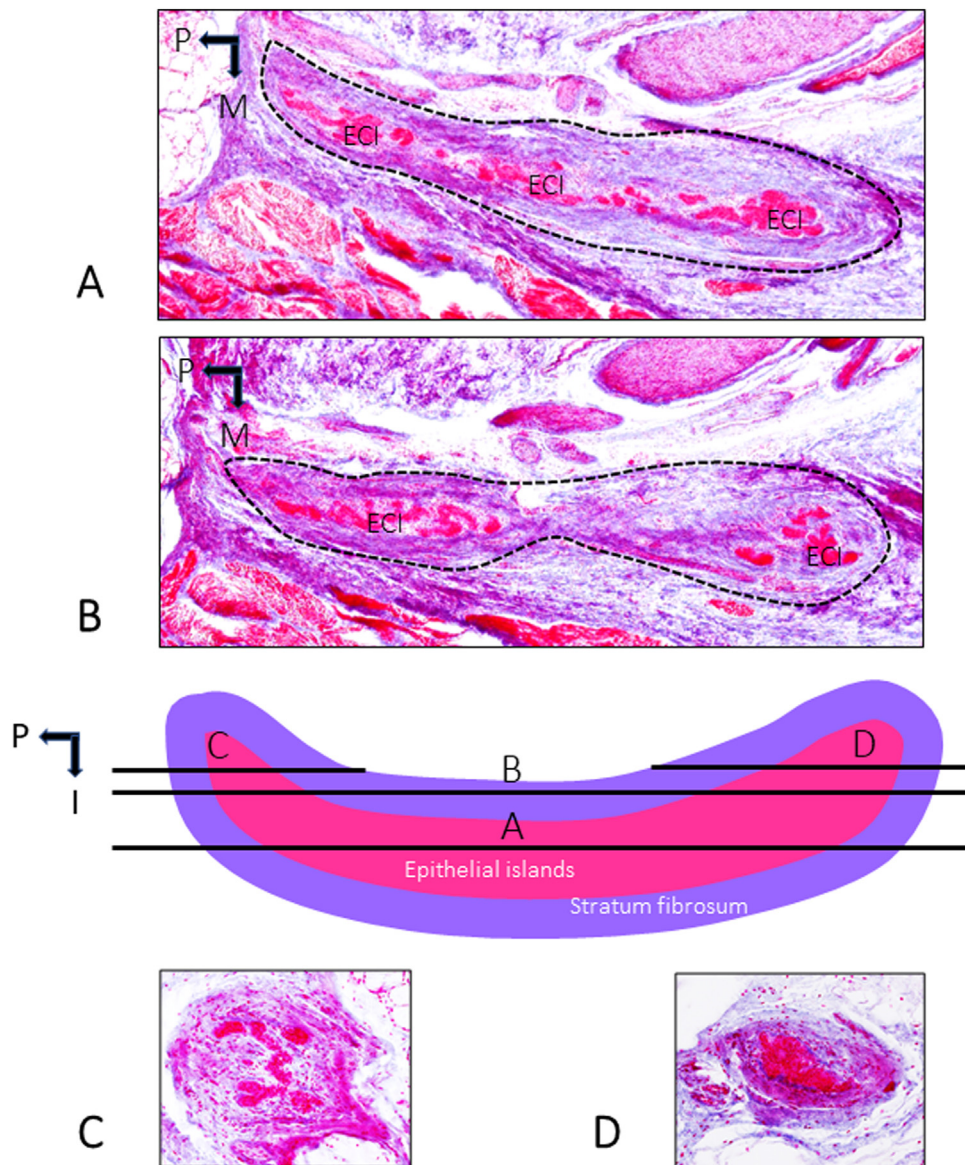


Fig. 2. Structure of right juxtaoral organ in a human fetus of 28 weeks of gestation. Masson's trichromatic staining. In the schema lines indicates the sections levels in A to D. Sections A and B are separated 200 μ m. ECI: epithelial cell islands; I: inferior; M: medial; P: posterior.

obtained for [Kim et al. \(2005\)](#) are quite different since they found positivity for cytokeratin AE1/3, vimentin, S100 protein, neuron specific enolase, neural cells-adhesion molecule while the cells were negative for chromogranin A, synaptophysin, RET, neurofilament protein and PGP 9.5. On the other hand, [Bahcelioglu et al. \(2005\)](#) observed immunoreactivity for growth factors and their receptors (epidermal growth factor receptors, transforming growth factor- α , nerve growth factor- β) in the capsular epithelial cells and connective tissue. These results may point out that JOO cells may be of mesothelial or epithelial origin, and the occurrence of NGF- α positive granules in close relationship with blood vessels suggest a neurosecretory function for JOO.

Single nerve fibers occur in the parenchyma localized among cells and sometimes formed simple arborizations that are in contact with the most superficial ones ([Jeanneret-Gris, 1980a](#); [Malinovsky et al., 1996](#)).

4.2. *Stratum fibrosum internum and stratum fibrosum externum*

Formed of layered loose and dense connective tissue, respectively, that surrounds the organ. Both *stratum fibrosum* display

perineurial characteristics as shown by immunohistochemical staining (glucose transporter 1).

4.3. *Stratum nervosum*

It is formed by myelinated and un-myelinated nerve fibers and abundant sensory corpuscles ([Pantanowitz and Balogh, 2003](#)), and for this reason JOO is regarded as a complex mechanosensory structure ([Malinovsky et al., 1992](#); [Mériida-Velasco et al., 2005](#)). The sensory nerve formations identified include Pacinian corpuscles, Ruffini's corpuscles simple arborizations, glomerular corpuscles, lamellar simple sensory corpuscles ([D'Andrea et al., 2015](#); [Ide et al., 2004](#); [Malinovsky et al., 1996, 1992](#); [Zenker, 1982](#)), and one unique kind of sensory endings found between the epithelial parenchyma and the mesenchymal sheath ([Kobayashi et al., 2015](#)). These nerves and sensory corpuscles were immunoreactive for neurofilament, chromogranin, neuron-specific enolase, and S-100 protein ([Mandl et al., 1993](#); [Mériida-Velasco et al., 2005](#)). [Soucy et al. \(1990\)](#) found positive immunostaining for GFAP and neuron-specific enolase but [Mandl et al. \(1993\)](#) and [Vadmal et al. \(1998\)](#) reported negative

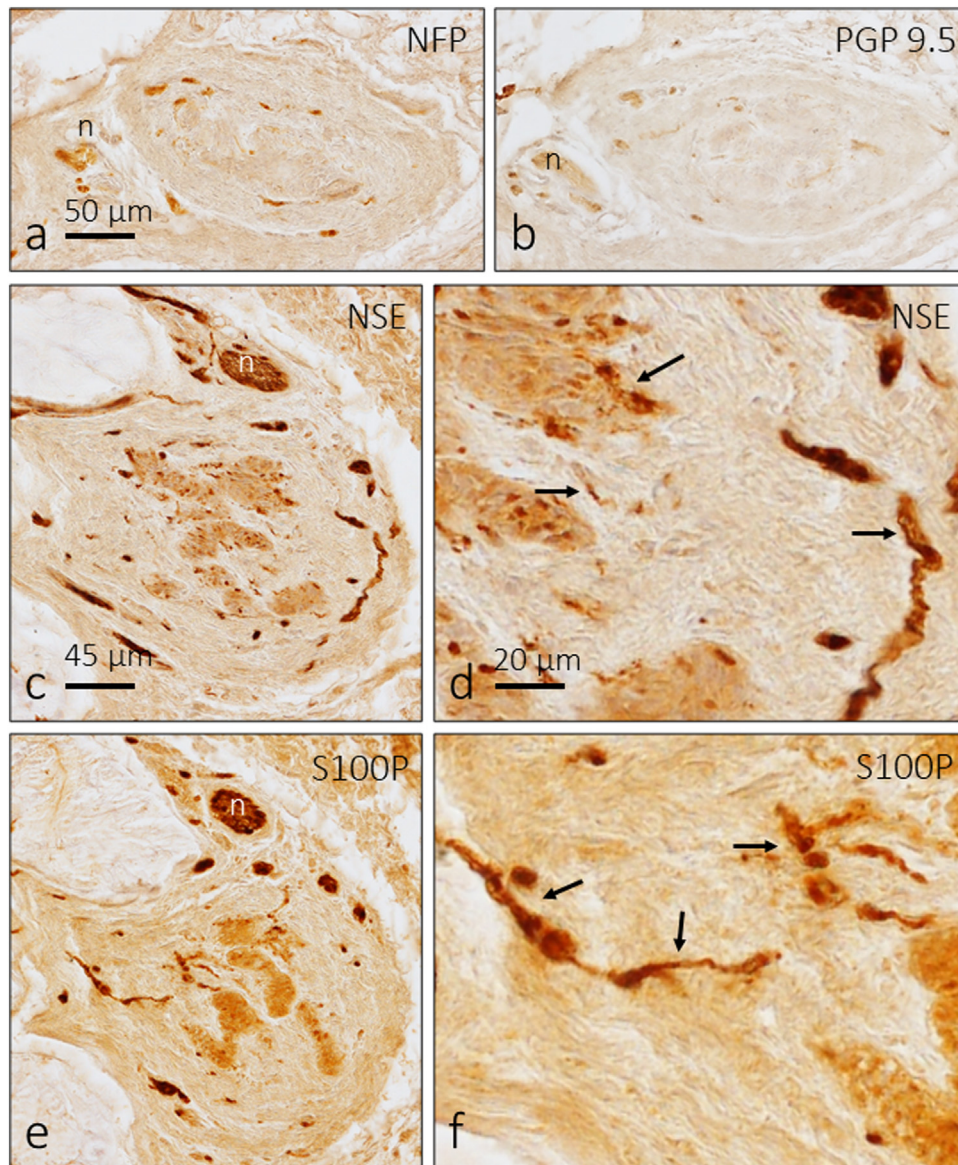


Fig. 3. Immunohistochemical detection of nerve markers in JJO of a human fetus of 28 weeks of gestation. Neurofilament proteins and PGP 9.5 label nerve profiles in the stratum nervosum of the organ, whereas neuron-specific enolase and S100 protein label nerves in the stratum fibrosum and isolated nerve fibers within the parenchyma. n: nerve trunk. Arrows indicate nerve fibers.

results for the same markers. In this layer mast cells, fibrocytes, pigment cells, lymphocytes have been also found.

5. Physiology

The functional significance of JJO remains unknown. Different functions have been attributed to JJO although a sensory role predominates. [Mayr \(1979\)](#) and [Zenker \(1982\)](#) considered JJO a secretory organ, whereas for [Pantanowitz and Balogh \(2003\)](#) and [Bahcelioglu et al. \(2005\)](#) it is a neurosecretory structure based on the presence of granules in cells near the blood vessel.

However, because it has a rich innervation and different morphotypes of sensory corpuscles are present, a mechanosensory function is supposed for JJO ([D'Andrea et al., 1999](#); [Jeanneret-Gris, 1980a](#); [Malinovsky et al., 1996, 1992](#); [Mandl et al., 1993](#); [Mayr, 1979](#)). [Malinovsky et al. \(1996\)](#) presumed that JJO it a complex sensory nerve formation which has multimodal mechanosensory functions as it contains different kinds of sensory nerve fibers and corpuscles (intraepithelial fibers, simple arborizations, Ruffini's

corpuscles, glomerular corpuscles, simple lamellar corpuscles). According to those authors JJO represents an important and complicated mechanosensory organ which gives to the central nervous system information during all activities of cavum oris and its lateral walls. JJO presumably serves as a mechanosensor in the lateral wall of the oral cavity ([Pantanowitz and Balogh, 2003](#)). As to the function of the JJO we must take into account, first of all, the significance of the lateral wall of the oral cavity during its different activities: dynamic changes at sucking, swallowing, mastication, speech, protecting reflexes, tonus of this wall ([D'Andrea et al., 1999](#)). As the organ seems to be fully developed already in newborns it could be hypothesized a mechanosensory role related to nutritional reflexes ([Jeanneret-Gris, 1980a](#)).

6. Pathology

The seemingly esoteric and minute JJO has considerable importance for the surgical pathologist because the presence of squamous epithelial nests intimately admixed with numerous small nerves

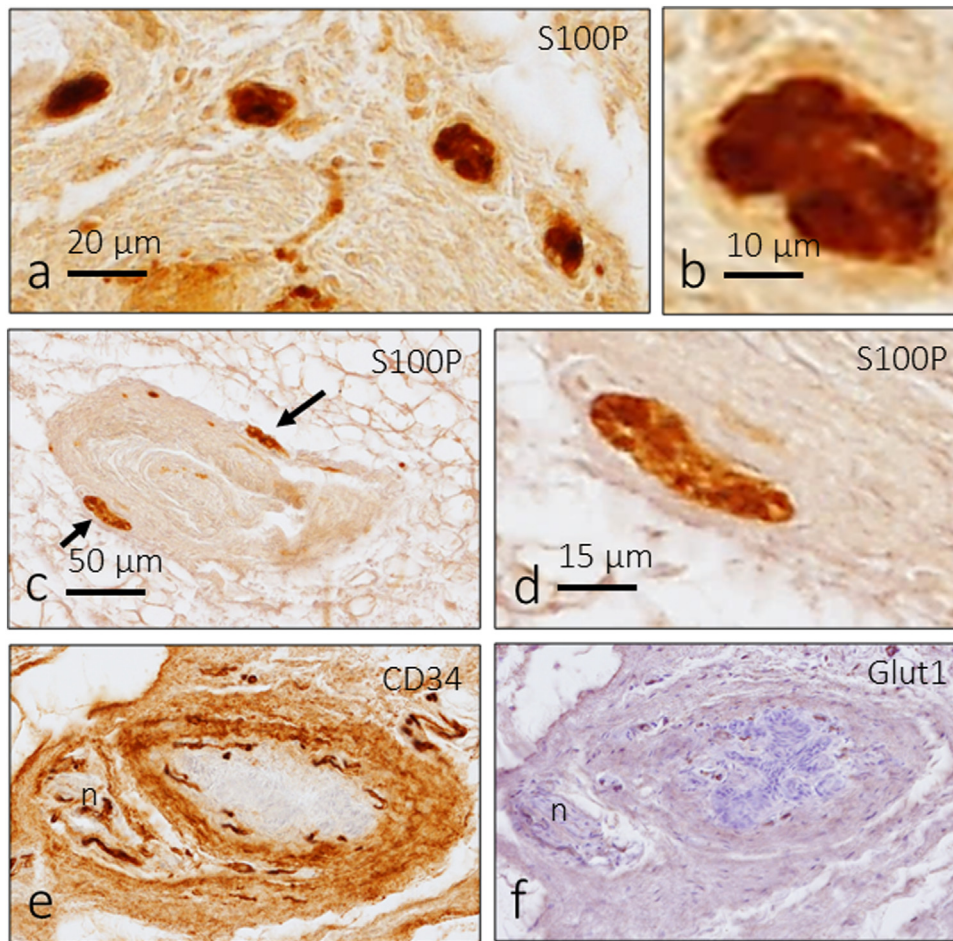


Fig. 4. Apparent sensory nerve formations (corpuscles?) in the stratum fibrosum of JJO immunostained for S100 protein. The strata fibrosum display strong immunoreactivity for CD34 but was unreactive for glucose-transport 1.

may be misinterpreted as perineural invasion by squamous cell carcinoma (Lutman, 1974). Cases of clinically enlarged (Soucy et al., 1990) and hyperplastic (Leibl et al., 1976) JJOs have been described, or even a benign tumor (Rosu et al., 2014), but carcinoma originating from this organ has not been reported. In a case of a mucoepidermoid carcinoma with lymphatic spread in the retromolar region, the epithelial nests of the JJO were correctly recognized and this was crucial in determining the precise extent of the malignant process (Mikó and Molnár, 1981). Occasionally, epithelial islands in the area of localization of JJO could be misinterpreted as an invasive carcinoma, a mucoepidermoid carcinoma, an odontogenic tumor such as ameloblastoma or adenomatoid odontogenic tumor, a perineural invasion by a carcinoma (Sancheti et al., 2015), or even a thyroid carcinoma (Pantanowitz and Balogh, 2003). For example, epithelial islands may reside within peripheral nerves in the maxilla (Eversole and Leider, 1978) and mandible (Jensen et al., 1979).

7. Evidences for a mechanosensory function of JJO

The conversion of mechanical stimuli into electrical signals occurs through mechanically gated ion channels present along the primary sensory neurons and in cells contacting them, for example Schwann cells, Schwann-related cells forming a part of the sensory corpuscles or the specialized epithelial Merkel cells that contact sensory axons. To be a candidate for sensing or transducing the mechanical stimuli, the mechanically gated ion channel must be present in the right location. However, even if expressed

properly in place and time they could accessory protein for the mechano-gated ion channel and not a part of the ion channel itself (Delmas and Coste, 2013; Ranade et al., 2015; Roudaut et al., 2012; Tsunozaki and Bautista, 2009). At present different mechano-gated ion channels have been found in mechanosensory neurons and mechanoreceptors, especially the cutaneous ones (Del Valle et al., 2012). In particular, and focused in humans, the following putative mechano-gated ion channels were found in cutaneous sensory mechanoreceptors: acid-sensing ion channels 1 and 2 (ASIC1 and ASIC2, respectively), transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) and canonical 6 (TRPC6) (Alonso-González et al., 2017; Cabo et al., 2015; Calavia et al., 2010) and Piezo2 was found in Merkel cells and the axon of Meissner corpuscles (García-Mesa et al., 2017; García-Piqueras et al., 2019). Thus, if JJO is a mechanoreceptor it should express any putative mechano-gated ion channel in addition to display a dense innervation.

Here we approached this topic exploring the occurrence of nerves, sensory nerve formations and putative mechano-gated ion channels in samples of human fetus JJO ($n=3$) at 28 weeks of development. This material was obtained from the Collection of the Embryology Institute of the Universidad Complutense de Madrid. A total of 30 sections from paraffin-embedded material were analyzed. Deparaffinized and rehydrated sections were processed for indirect immunohistochemistry using a Leica Bond™ Max automated stained and a Leica Bond™ Polymer Refine Detection Kit (Leica Biosystems™, Newcastle, UK) following the manufacturer's instructions. Furthermore, hematoxylin, eosin and Masson's trichromic structural techniques were used. We used

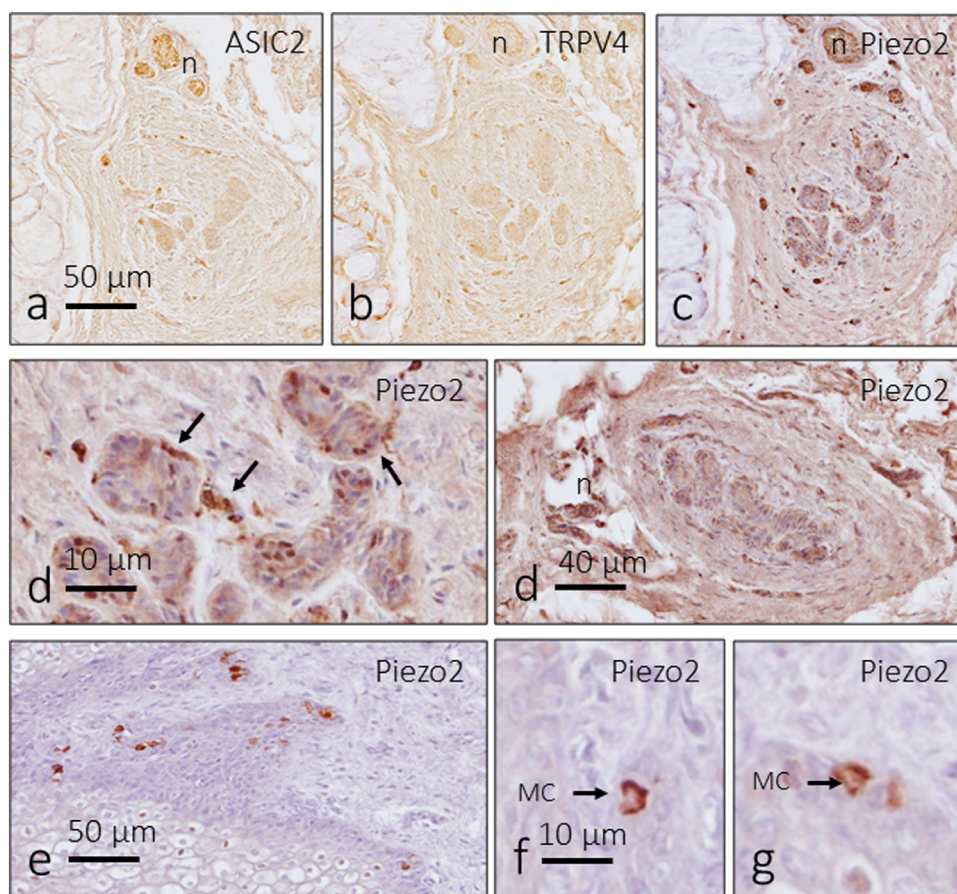


Fig. 5. Immunohistochemical detection of mechano-gated ion channels in a human fetus of 28 weeks of gestation. ASIC2 was detected in the nerve trunks supplying JOO and lightly in the epithelial cells, TRPV4 was absent, and Piezo2 was present in nerve trunks, nerve profile in the stratum nervosum, isolated nerve fibers within the parenchyma (arrows in d) and in the epithelial cells themselves. Piezo2 immunoreactivity was found in Merkel's cells (arrows) of the oral mucosa. MC: Merkel's cells; n: nerve trunk.

immunohistochemistry to detect nerve fibers and sensory corpuscle components (neuron-specific enolase, NSE; S100 protein, S100P; CD34 and Glut1 to label endoneurial and perineurial covers of sensory corpuscles; Vega et al., 2009) and mechano-gated ion channels (ASIC2, TRPV4 and Piezo2). The following antibodies were: Anti-ASIC2 (Lifespan, diluted 1:200, Biosciences, Seattle, WA, USA); anti-CD34 (clone QB-END/10, used prediluted, Master Diagnostica, Granada, Spain); anti-glucose transporter 1 (diluted 0.5 µg/ml, Cell Marque, Seattle, WA, USA); anti-neuron-specific enolase (clone BBS/NC/VI-H14, diluted 1:1000, Dako, Glostrup, Denmark); anti-neurofilament protein (clone RT-97, diluted 1:1000, Boehringer-Mannheim; anti-PGP 9.5 (Abcam, diluted: 1:1000, Rockville, MD, USA); anti-Piezo2 (Sigma-Aldrich, diluted 1:200, Saint Louis, MS, USA); anti-S100 protein (clone 4C4.9, diluted 1:2000, ThermoFisherScientific, Fremont, CA, USA); anti-TRPV4 (Abcam, diluted 1:100, Cambridge, UK).

In our opinion, JOO is a spindle-shaped structure formed by clusters of epithelial cells surrounded by a thick capsule of connective tissue (Fig. 2). Nerve profiles displaying immunoreactivity for neurofilament protein (Fig. 3a) or PGP 9.5 (Fig. 3b) were found in nerve trunks reaching the organ, and also in the so-called *stratum nervosum*. The islands of epithelial cells displayed faint but specific immunoreactivity for neuron-specific enolase (Fig. 3c and d) and S100 protein (Fig. 3e and f). Furthermore, nerve fibers were found within JOO parenchyma in close contact with the epithelial cells (Fig. 3d and f). Inside the *stratum nervosum* sensory corpuscle-like structures were observed (Fig. 4a–d) which cannot be assimilated to any known morphotype. The strata fibrosum were intensely immunoreactive for CD34 (Fig. 4e) but negative

for glucose-transporter 1 (Fig. 4f). CD34 positive structures resembling capillaries were found in the most superficial part of the parenchyma.

Regarding the analyzed mechano-gated ion channels, ASIC2 was detected restricted to the nerve trunks supplying JOO and were lightly in the epithelial cells (Fig. 5a), TRPV4 was regularly absent (Fig. 5b) and Piezo2 was detected in nerve trunks, nerve profile in the stratum nervosum, isolated nerve fibers within the parenchyma and in the epithelial cells themselves. Moreover, apparent contacts between nerve fibers and cells were observed (Fig. 5c and d). In supporting the specificity of Piezo2 immunoreactivity sparse Merkel's cells were found in the oral mucosa (Fig. 5e–g). All together these findings lend strong support to the mechanosensory function of JOO.

8. Concluding remarks

Despite numerous studies on the development, structure and innervation of the JOO, no definitive conclusion has been reached on its possible functional significance, although we have provided indirect evidences that it may be a mechanoreceptor at least during development. In adult humans this is due, at least in part, to the difficulty of locating and analyzing it systematically given the impression of anatomical studies on its location. It would be necessary to label JOO *in situ* which can consent a detailed dissection and subsequent analysis of the organ.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Ethical statement

The material used in the study was not subject to ethical statement.

References

- Allen, W.E., 2009. Terminologia anatomica: international anatomical terminology and Terminologia Histologica: International Terms for Human Cytology and Histology. *J. Anat.* 215, 221, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-7580.2009.1093-1.x>.
- Alonso-González, P., Cabo, R., San José, I., Gago, A., Suazo, I.C., García-Suárez, O., Cobo, J., Vega, J.A., 2017. Human digital meissner corpuscles display immunoreactivity for the multifunctional ion channels Trpc6 and Trpv4. *Anat. Rec.* 300, 1022–1031, <http://dx.doi.org/10.1002/ar.23522>.
- Bahcelioglu, M., Calguner, E., Erdogan, D., Elmas, C., Gozil, R., Keskil, S., Kadioglu, D., 2005. The immunohistochemical approach to determine the origin and possible function of the juxtaoral organ in dogs. *Saudi Med. J.* 26, 1529–1534.
- Boyd, J., Hughes, F., 1960. Aberrant nerve fibres in human development. *Development* 8, 119–129.
- Cabo, R., Alonso, P., Viña, E., Vázquez, G., Gago, A., Feito, J., Pérez-Moltó, F.J., García-Suárez, O., Vega, J.A., 2015. ASIC2 is present in human mechanosensory neurons of the dorsal root ganglia and in mechanoreceptors of the glabrous skin. *Histochem. Cell Biol.* 143, 267–276, <http://dx.doi.org/10.1007/s00418-014-1278-y>.
- Calavia, M.G., Montaña, J.A., García-Suárez, O., Feito, J., Guervós, M.A., Germanà, A., Del Valle, M., Pérez-Piñera, P., Cobo, J., Vega, J.A., 2010. Differential localization of acid-sensing ion channels 1 and 2 in human cutaneous pacinian corpuscles. *Cell. Mol. Neurobiol.* 30, 841–848, <http://dx.doi.org/10.1007/s10571-010-9511-2>.
- Chievitz, J.H., 1885. Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Speicheldrüsen. *Arch. Anat. Physiol.* 9, 401–436.
- D'Andrea, V., Malinovsky, L., Biancari, F., Spyrou, M., Dibra, A., Malinovska, V., Hees, H., Gallenzi, P., Cristalli, M.P., Di Matteo, F.M., De Antoni, E., 1999. The Chievitz juxtaoral organ. *G. Chir.* 20, 213–217.
- D'Andrea, V., Panarese, A., Di Matteo, F.M., Favoriti, P., Favella, L., Arcieri, S., Filipini, A., 2015. Chievitz' juxtaoral organ, free from cancer. *Ann. Ital. Chir.* 86, 503–507.
- Del Valle, M.E., Cobo, T., Cobo, J.L., Vega, J.A., 2012. Mechanosensory neurons, cutaneous mechanoreceptors, and putative mechanoproteins. *Microsc. Res. Tech.* 75, 1033–1043, <http://dx.doi.org/10.1002/jemt.22028>.
- Delmas, P., Coste, B., 2013. Mechano-gated ion channels in sensory systems. *Cell* 155, 278, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.09.026>.
- Eversole, L.R., Leider, A.S., 1978. Maxillary intraosseous neuroepithelial structures resembling those seen in the organ of Chievitz. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 46, 555–558, [http://dx.doi.org/10.1016/0030-4220\(78\)90385-7](http://dx.doi.org/10.1016/0030-4220(78)90385-7).
- García-Mesa, Y., García-Piqueras, J., García, B., Feito, J., Cabo, R., Cobo, J., Vega, J.A., García-Suárez, O., 2017. Merkel cells and Meissner's corpuscles in human digital skin display Piezo2 immunoreactivity. *J. Anat.* 231, 978–989, <http://dx.doi.org/10.1111/joa.12688>.
- García-Piqueras, J., García-Mesa, Y., Cárcaba, L., Feito, J., Torres-Parejo, I., Martín-Biedma, B., Cobo, J., García-Suárez, O., Vega, J.A., 2019. Ageing of the somatosensory system at the periphery: age-related changes in cutaneous mechanoreceptors. *J. Anat.* 234, 839–852, <http://dx.doi.org/10.1111/joa.12983>.
- Grüneberg, H., 1971. Exocrine glands and the Chievitz organ of some mouse mutants. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 25, 247–261.
- Ide, F., Mishima, K., Saito, I., 2004. Pacinian corpuscle in the juxtaoral organ of Chievitz. *J. Oral Pathol. Med.* 33, 443–444, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0714.2004.00183.x>.
- Ide, F., Mishima, K., Saito, I., 2003a. Melanin pigmentation in the juxtaoral organ of Chievitz. *Pathol. Int.* 53, 262–263, <http://dx.doi.org/10.1046/j.1320-5463.2003.01466.x>.
- Ide, F., Mishima, K., Saito, I., 2003b. Juxtaoral organ of Chievitz presenting clinically as a tumour. *J. Clin. Pathol.* 56, 789–790, <http://dx.doi.org/10.1136/jcp.56.10.789>.
- Ito, M., Nakashima, M., Yoshioka, M., Imaki, J., 2009. Organogenesis of the juxtaoral organ in mice. *J. Anat.* 215, 452–461, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-7580.2009.01118.x>.
- Jeaneret-Gris, B., 1980a. The ultrastructure of the juxta-oral organ. *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.* 69, 197–214.
- Jeaneret-Gris, B., 1980b. The ultrastructure of the juxta-oral organ (author's transl). *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.* 69, 197–214.
- Jensen, J.L., Wuerker, R.B., Correll, R.W., Erickson, J.O., 1979. Epithelial islands associated with mandibular nerves. Report of two cases in the walls of mandibular cysts. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 48, 226–230, [http://dx.doi.org/10.1016/0030-4220\(79\)90008-2](http://dx.doi.org/10.1016/0030-4220(79)90008-2).
- Kennedy, R., 2020. Neuroepithelial structures of the oral soft tissues including the juxtaoral organ of Chievitz: a literature review and audit of diagnosed cases. *Head Neck Pathol.*, <http://dx.doi.org/10.1007/s12105-020-01131-5>.
- Kim, H.S., Kim, J.H., Cha, I.H., Kim, T.S., Ryu, M.H., Kim, J., 2005. Juxtaoral organ of Chievitz: a case report. *Korean J. Pathol.* 39, 265–268.
- Klacsman, P.G., Taxy, J.B., 1980. Juxtaoral organ of Chievitz. *Am. J. Surg. Pathol.*, <http://dx.doi.org/10.1097/0000478-198006000-00018>.
- Kleiss, C., Kleiss, E., 1985. Über einige morphogenetische Einzelheiten des juxtaoralen (oder Chievitz'schen) Organs beim Menschen. *Zeitschrift für Mikroskopisch-Anatomische Forsch. – Abteilung 2* (99), 59–74.
- Kobayashi, Y., Nakashima, M., Wakakuri, T., Imaki, J., Ito, M., 2015. Histology and immunohistochemistry of the developing juxta-oral organ in mice. *Ann. Anat.* 198, 49–57, <http://dx.doi.org/10.1016/j.aanat.2014.11.004>.
- Krammer, E., Zenker, W., 1974. Comments on oral neuroepithelial structures. *Am. J. Clin. Pathol.* 62, 571–574, <http://dx.doi.org/10.1093/ajcp/62.4.571>.
- Kusafuka, K., Kameya, T., 2007. Juxtaoral organ of Chievitz, radiologically suspicious for invasion of lingual squamous cell carcinoma. *Pathol. Int.* 57, 754–756, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1827.2007.02161.x>.
- Leibl, W., Pflüger, H., Kerjaschki, D., 1976. A case of nodular hyperplasia of the juxtaoral organ in man. *Virchows Arch. A* 371, 389–391, <http://dx.doi.org/10.1007/BF00428057>.
- Lutman, G., 1974. Epithelial nests in intraoral sensory nerve endings simulating perineural invasion in patients with oral carcinoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 61, 275–284, <http://dx.doi.org/10.1097/00006534-197407001-00034>.
- Malinovsky, L., Umlauf, R., Cavallotti, C., Malinovska, V., Hees, H., Vega, J.A., D'Andrea, V., 1996. Sensory systems around cavum oris in man. *Dtsch. Zeitschrift für Akupunkt.* 39, 136–139.
- Malinovsky, L., Umlauf, R., D'Andrea, V., Malinovska, V., Vega, J.A., 1992. Morphophysiological characteristics and classification of the Chievitz' juxtaoral organ. *Dtsch. Zeitschrift für Akupunkt.* 35, 110–113.
- Mandl, L., Nerlich, A., Pankratz, H., Hübner, G., 1993. The juxta-oral organ (Chievitz organ) – a sensory organ in the bucco-temporal area? *Pathologie* 14, 205–209.
- Mayr, R., 1979. Morphologische Hinweise auf eine rezeptorische Funktion des juxtaoralen Organs. *Verh. Anat. Ges.* 73, 1043–1045.
- Mayr, R., 1968. Neue Untersuchungen über das juxtaorale Organ. *Verh. Anat. Ges. Erg.* 121, 361–365.
- Mayr, R., 1967. Elektronenmikroskopische Untersuchungen am juxtaoralen Organ des Menschen. *Z. Zellforsch.* 81, 135–154, <http://dx.doi.org/10.1007/BF00670840>.
- Mérida-Velasco, J.A.R.A.R., Rodríguez-Vázquez, J.F., de la Cuadra-Blanco, C., Salmerón, J.I., Sánchez-Montesinos, I., Mérida-Velasco, J.A.R.A.R., 2005. Morphogenesis of the juxtaoral organ in humans. *J. Anat.* 206, 155–163, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-7580.2005.00377.x>.
- Mikó, T., Molnár, P., 1981. The juxtaoral organ – a pitfall for pathologists. *J. Pathol.* 133, 17–23, <http://dx.doi.org/10.1002/path.1711330103>.
- Monkhouse, W.S., 2001. Terminologia Anatomica. International Anatomical Terminology. By the FEDERATIVE COMMITTEE ON ANATOMICAL TERMINOLOGY (FCAT). (Pp. x+292. with CD-Rom; EUR 40.39 hardback; ISBN 3 13 115251 6.) Stuttgart: Georg Thieme. 1998. *J. Anat.* 199, 741–742, <http://dx.doi.org/10.1046/j.1469-7580.2001.199607412.x>.
- Palazzolo, M.J., Fowler, C.B., Magliocco, K.R., Gnepp, D.R., 2014. Neuroepithelial structures associated with the subepithelial nerve plexus of taste buds: a fortuitous finding resembling the juxtaoral organ of Chievitz. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* 117, 497–501, <http://dx.doi.org/10.1016/j.oooo.2013.12.403>.
- Pantanowitz, L., Balogh, K., 2003. Significance of the juxtaoral organ (of Chievitz). *Head Neck* 25, 400–405, <http://dx.doi.org/10.1002/hed.10209>.
- Ramos-Vega, V., Roa, I., 2019. Juxtaoral organ: an anatomical finding to be considered. *Folia Morphol.* 78, 643–646, <http://dx.doi.org/10.5603/FM.a2019.0008>.
- Ramsay, A.J., 1935. Persistence of the organ of Chievitz. *Anat. Rec.* 63, 281–293.
- Ranade, S.S., Syeda, R., Patapoutian, A., 2015. Mechanically activated ion channels. *Neuron* 87, 1162–1179, <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2015.08.032>.
- Rosu, S., Neamtu, C., Totolici, B., 2014. Unusual lesion of the temporal region, benign tumor of the Chievitz's organ: a case report. *Rom. J. Morphol. Embryol.* 55, 683–685.
- Roudaut, Y., Lonigro, A., Coste, B., Hao, J., Delmas, P., Crest, M., 2012. Touch sense: functional organization and molecular determinants of mechanosensitive receptors. *Channels (Austin)* 6, 234–245, <http://dx.doi.org/10.4161/chan.22213>.
- Salzer, G.M., Stockinger, L., Zenker, W., 1965. Das juxtaorale Organ. *Verh. Anat. Ges.* 115, 479.
- Salzer, G.M., Zenker, W., 1968. Veränderungen am juxtaoralen Organ der Ratte nach Hypophysektomie – Morphometrische Untersuchungen. *Zeitschrift für Zellforsch. und Mikroskopische Anat.* 84, 72–86, <http://dx.doi.org/10.1007/BF00345983>.
- Sanchetti, S.M., Sawaimoon, S., Zameer, M.A.L., 2015. Juxtaoral organ of Chievitz, an obscure anatomical structure masquerading as perineural invasion of mucocutaneous carcinoma. *Int. J. Surg. Pathol.* 23, 461–463, <http://dx.doi.org/10.1177/1066896915568991>.
- Soucy, P., Cimone, G., Carpenter, B., 1990. An unusual intraoral mass in a child: the organ of Chievitz. *J. Pediatr. Surg.* 25, 1200, [http://dx.doi.org/10.1016/0022-3468\(90\)90765-2](http://dx.doi.org/10.1016/0022-3468(90)90765-2).
- Tschen, J.A., Fechner, R.E., 1979. The juxtaoral organ of Chievitz. *Am. J. Surg. Pathol.* 3, 147–150, <http://dx.doi.org/10.1097/0000478-197904000-00005>.
- Tsunozaki, M., Bautista, D.M., 2009. Mammalian somatosensory mechanotransduction. *Curr. Opin. Neurobiol.* 19, 362–369, <http://dx.doi.org/10.1016/j.conb.2009.07.008>.

- Vadmal, M.S., Rossi, M.B., Teichberg, S., Hajdu, S.I., 1998. Intraoral tumor of Chievitz in a child. *Pediatr. Dev. Pathol.* 1, 230–233, <http://dx.doi.org/10.1007/s100249900031>.
- Vega, J.A., García-Suárez, O., Montaña, J.A., Pardo, B., Cobo, J.M., 2009. The Meissner and Pacinian sensory corpuscles revisited new data from the last decade. *Microsc. Res. Tech.* 72, 299–309, <http://dx.doi.org/10.1002/jemt.20651>.
- Velasco, J.R.M., De La Cuadra Blanco, C., Velasco, J.A.M., 2012. Development of the juxta-oral organ in rat embryo. *Anat. Rec. Adv. Integr. Anat. Evol. Biol.* 295, 769–775, <http://dx.doi.org/10.1002/ar.22444>.
- Zenker, W., 1982. Juxtaoral organ (Chievitz's organ). Morphology and clinical aspects. Balt. Urban Schwarz.
- Zenker, W., 1953. Organon bucco-temporale (Chievitzsches Organ); ein nervös-epitheliales Organ beim Mensch. *Anat. Anz.* 100, 257–265.
- Zenker, W., Halzl, L., 1953. Beitrag zur Entwicklung des Chievitzschen Organ beim Menschen. *Anat. Entw. Gesch.* 117, 215–236.
- Zenker, W., Salzer, G.M., 1961. Die Histologie des Chievitz'schen Organs. *Cells Tissues Org.* 44, 286–321, <http://dx.doi.org/10.1159/000141729>.